



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
INSTITUTO DE BIOLOGÍA  
SISTEMÁTICA

**SISTEMÁTICA DE PROTEOCEFÁLIDOS (PLATYHELMINTHES, EUCESTODA) DE  
MÉXICO Y FILOGENIA MOLECULAR DEL ORDEN PROTEOCEPHALIDEA A LA  
LUZ DE NUEVA INFORMACIÓN**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**ALINE ROJAS SÁNCHEZ**

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. VIRGINIA LEÓN RÈGAGNON  
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: M EN C LUIS GARCÍA PRIETO  
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM  
DR. MANUEL FERIA ORTIZ,  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA, UNAM

MÉXICO, D.F.

SEPTIEMBRE, 2015



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.



Dr. Isidro Ávila Martínez  
Director General de Administración Escolar, UNAM  
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión del Subcomité por Campo de Conocimiento de Biología Evolutiva y Sistemática del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 1° de junio de 2015, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna **ROJAS SÁNCHEZ ALINE** con número de cuenta **302098620** con la tesis titulada **"Sistemática de proteocefálicos (Platyhelminthes, Eucestoda) de México y filogenia molecular del Orden Proteocephalidea a la luz de nueva información"**, realizada bajo la dirección de la **DRA. VIRGINIA LEÓN REGAGNÓN**:

Presidente: DR. ALEJANDRO FRANCISCO OCEGUERA FIGUEROA  
Vocal: DR. ROGELIO ROSAS VALDÉZ  
Secretario: M. EN C. LUIS GARCÍA PRIETO  
Suplente: DRA. BLANCA ESTELA HERNÁNDEZ BAÑOS  
Suplente: DRA. NORMA LETICIA MANRÍQUEZ MORÁN

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

Atentamente  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Cd. Universitaria, D.F., a 3 de agosto de 2015.

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA  
COORDINADORA DEL PROGRAMA



c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

## AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México UNAM, por haberme brindado la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca que me otorgó para la elaboración de este proyecto.

Al apoyo PAEP 2013 con el cual se pudo financiar parte de una estancia de investigación.

Este estudio se pudo llevar a cabo gracias a los siguientes proyectos:

- The amphibians and reptiles and their parasites of Mexico, a megadiverse country. NSF DEB-0102383.
- The herpetofauna and associated parasites of Mexico, a megadiverse country: Phase II. NSF DEB-01613802.
- Consolidación de la Biblioteca de Códigos de Barras de la Biota Mexicana. Proyecto No. 194045. Convocatoria para apoyo a las Redes Temáticas de Investigación CONACyT 2012.
- Diversidad genética de helmintos parásitos de anfibios en el Occidente de México. Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, DGAPA, UNAM. Proy. No. IN203911-3.
- Diversidad de helmintos en mamíferos silvestres en regiones terrestres prioritarias del Sureste Mexicano. Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, DGAPA, UNAM. Proy. No. IN208011.
- Biodiversidad de metazoarios parásitos de mamíferos silvestres pequeños y medianos en regiones terrestres prioritarias del sur de la República Mexicana. Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, DGAPA, UNAM. Proy. No. IN220113.

De manera muy especial, le agradezco mucho a mi tutora principal de tesis, la Dra. Virginia León Règagnon por haberme brindado el apoyo cuando lo necesitaba, por su comprensión, paciencia y atención, sin ella este estudio no hubiera podido ser llevado a cabo.

Agradezco a los miembros de mi Comité Tutor, el M. en C. Luis García Prieto quien me ha guiado y asesorado en todo momento en la realización de esta tesis, así también al Dr. Manuel Feria Ortiz por su apoyo, disposición y observaciones para este trabajo.



## **AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL**

A la Universidad Nacional Autónoma de México "UNAM" por ser mi alma máter. Por haberme brindado la oportunidad para llevar a cabo parte de mis metas y ver materializados algunos de mis sueños.

Al Instituto de Biología y al laboratorio de la Colección Nacional de Helminetos en donde pude trabajar y concluir mi estudio.

A los profesores del posgrado y al personal del Instituto de Biología y del Posgrado en Ciencias Biológicas que son parte fundamental para el desarrollo de todo proyecto de investigación.

A Armando Tovar Garza le agradezco muy especialmente por su ayuda en la facilitación de algunos hospederos de este estudio, por su amabilidad y disponibilidad.

A los diestros herpetólogos Angélica Lizarraga Valencia y Gabriel Barrios Quiroz que me ayudaron en la identificación y manejo de los hospederos recolectados para este trabajo.

A los integrantes de mi jurado, el M. en C. Luis García Prieto, la Dra. Norma Leticia Manríquez Morán, los Dres. Rogelio Rosas Valdez y Alejandro Francisco Ocegüera Figueroa y a la Dra. Blanca Estela Hernández Baños por haber revisado este estudio y por la aportación de sus acertadas observaciones.

Muy especialmente al M. en C. Luis García Prieto por habernos facilitado el préstamo de material requerido para este estudio, por haberme acompañado en campo y por su colaboración en el laboratorio para el estudio morfológico de los parásitos de este trabajo. Porque fuiste parte fundamental para el desarrollo de esta tesis, tus certeras observaciones marcaron la pauta para su seguimiento y culminación. Por tu apoyo, paciencia, disponibilidad, entusiasmo, amabilidad, y aún más por tu invaluable amistad te agradezco. Has sido y es parte esencial para el desarrollo de muchos de los trabajos de la mayoría de los alumnos de helmintología, muchos títulos se deben en parte a él.

A la Dra. Rosario Mata López por su dirección y tiempo, y por habernos facilitado material para este estudio.

Al Dr. Gerardo Pérez Ponce de León quien fue parte de mi comité tutor y me otorgó su ayuda, sugerencias, consejos y amistad durante mi proyecto de tesis.

Al Dr. Alejandro Francisco Ocegüera Figueroa por su interés, empeño y entusiasmo en el proceso de la generación de conocimiento, porque sus opiniones son muy valiosas y certeras, y por su amistad, gracias.

Agradezco al Curador del Departamento de Invertebrados en el Museo de Historia Natural, Ginebra, Suiza Jean Mariaux por su amabilidad y por haberme permitido el uso de las instalaciones para realizar mi estancia de investigación.

Muy especialmente agradezco a Alain de Chambrier, Investigador asociado en el Departamento de Invertebrados en el Museo de Historia Natural de Ginebra, Suiza por haberme permitido conocer a alguien excepcional en todos los aspectos, por su gran amabilidad, paciencia, tiempo, conocimiento, por su extravagante y deliciosa cocina, por su entusiasmo, por su recibimiento y mi estadía en su hogar, muchísimas gracias por haberme permitido conocerle. A tu linda esposa por su candidéz, amabiliidad y sentido del humor y por haberme recibido en su hogar. Gracias a ambos por la estancia tan agradable que viví.

Al Dr. Tomás Scholz Director Suplente, Profesor de Parasitología y encargado del laboratorio de Helmintología en el Instituto de Parasitología del Centro de Biología, Academia de Ciencias de la República Checa, le agradezco mucho su ayuda, su paciencia, su disponibilidad, su entusiasmo, su amabilidad, sus críticas, por haberme facilitado un lugar para permanecer durante mi estancia, por su tiempo, por sus observaciones, por sus consejos, y porque mientras estuve en su academia me brindó todas las facilidades para poder realizar parte de mi trabajo sin que nada me faltara. A su agradable esposa por su amabilidad y recibimiento. Gracias por la gran experiencia.

A Martina Borovková de la República Checa y a Janik Pralong del Museo de Historia Natural, Ginebra por su disposición, trato afable y ayuda técnica. A Simona, una persona muy especial quien también me ofreció su ayuda, amistad y compañía. Anirban Ash le agradezco su paciencia y gentileza así como tiempo dedicados en la ayuda del procesamiento de mi material durante mi estancia de investigación.

Por su apoyo en el campo y en la recolección de helmintos les agradezco a Angeles Romero, David Hernández, Rodolfo Pérez, Uriel, Samantha, Karla, Jorge, Lulú, Lupita, Amalia y Nayeli, solo con su valiosa ayuda este proyecto pudo salir adelante.

Le agradezco a Angeles Romero Mayén que ha sido una gran amiga, que es capaz de brindar su ayuda a quien lo necesite, porque me ha dado su apoyo sin habérselo

solicitado, en malos y buenos momentos. También gracias a ti pude seguir adelante con este proyecto. Gracias por ser.

Les agradezco a Tony, Bere, Lety y a sus hijas, David Osorio, Angeles, Lupita, Sonia, Ricardo, Fany, Lore, Brenda, Rodolfo Pérez, Uriel, Samantha, Karla, Jorge, Lulú, Lupita, Mario, Amalia, Nayeli, Samara, Aldo, Yahir, Victor y Tania, Ana, Carlos, Jesús por acompañarme en esta etapa y por su excepcional compañía, gracias por su disposición y por ser tan buenos compañeros. Si olvido a alguien disculpen, la mala memoria de esta autora es la responsable.

A mi amiga Perlita, mi conciencia hasta la fecha de mi vida, gracias a Dios, vamos por más!  
A mis amigos Karina, Samanta, Claus, Nash, Shofis, Iván, Anaid, Erik, Mariela, Verito, Leo, Angeles, Chayito, y a mis amigos de baile con los que he bailado sin parar. Es y ha sido muy gratificante compartir momentos con todos ellos!

Con todo mi amor, le agradezco a Dios por mi hermana Michelle Rojas Sánchez, sin ti mi vida no sería la misma, definitivamente! Porque eres un ser magnífico, muy especial, único. Por toda tu ayuda, por tu cariño, paciencia, coraje, carácter. Porque tengo la certeza de tu amor, gracias por estar conmigo, siempre será así!

A mis papás, porque el amor, la paciencia y comprensión que me han brindado me ha impulsado a ser lo que soy. Porque aún contra todas las adversidades son los mejores padres que pude haber tenido.

## **GRACIAS A DIOS**

"ESTE TRABAJO VA DEDICADO A MI FAMILIA"

# ÍNDICE

|   |     |
|---|-----|
| <b>LISTA DE CUADROS</b> .....   | III |
| <b>LISTA DE FIGURAS</b> .....   | IV  |
| <b>RESUMEN</b> .....  | 1   |
| <b>ABSTRACT</b> .....   | 2   |
| <b>1 INTRODUCCIÓN</b> .....   | 3   |
| <b>2 ANTECEDENTES</b> .....   | 4   |
| 2.1 Marcadores moleculares.....   | 4   |
| 2.2 Biología de los proteocefálidos.....  | 5   |
| 2.3 Historia taxonómica del orden.....  | 6   |
| 2.4 Contexto de los proteocefálidos en México.....  | 10  |
| 2.5 Biología de los hospederos.....   | 13  |
| <b>3 OBJETIVOS</b> .....  | 15  |
| <b>4 MATERIAL Y MÉTODO</b> .....  | 15  |
| 4.1 Área de estudio.....  | 15  |
| 4.2 Recolecta de hospederos.....  | 16  |
| 4.3 Obtención de helmintos.....   | 18  |
| 4.4 Procesamiento de secuencias.....  | 18  |
| 4.4.1 <i>Extracción de DNA, amplificación y secuenciación de los fragmentos de los genes utilizados</i> ..... | 18  |
| 4.4.2 <i>Secuencias ya disponibles y grupos externos</i> .....  | 19  |
| 4.4.3 <i>Edición y alineamiento de secuencias y bases de datos generadas</i> .....                            | 20  |
| 4.5 Evaluación de distancias genéticas.....   | 21  |
| 4.6 Análisis filogenéticos.....   | 21  |





|   |     |
|---|-----|
| <b>9.2 Anexo II.</b> Técnicas de tinción.....   | 125 |
| <b>9.3 Anexo III.</b> Cuadro 17. Especies del género <i>Ophiotaenia</i> parásitas de anfibios registrados en América (modificación de de Chambrier & Gil de Pertierra, 2012)..... | 126 |
| <b>9.4 Anexo IV.</b> Cuadro 18. Especies del género <i>Ophiotaenia</i> parásitas de reptiles registrados en América (adaptado de de Chambrier et al., 2010).....                  | 127 |
| <b>9.5 Anexo V.</b> Imágenes de las especies descritas en México.....   | 128 |
| <b>9.6 Anexo VI.</b> Observaciones adicionales.....   | 132 |

## LISTA DE CUADROS

|  |    |
|--|----|
| <b>Cuadro 1.</b> Clasificación del orden Proteocephalidea.....   | 7  |
| <b>Cuadro 2.</b> Especies de proteocefalideos registrados en anfibios, reptiles y mamíferos de México.....   | 11 |
| <b>Cuadro 3.</b> Material herpetológico de este trabajo.....   | 17 |
| <b>Cuadro 4.</b> Hospederos positivos con proteocefálicos y número de parásitos en cada uno de ellos.....  | 25 |
| <b>Cuadro 5.</b> Porcentajes de distancias genéticas entre las especies de <i>Ophiotaenia</i> caracterizadas.....  | 26 |
| <b>Cuadro 6.</b> Medidas y porcentajes comparativos de <i>Ophiotaenia</i> spp. descritas en México (tomadas de las descripciones originales) y de <i>Ophiotaenia</i> sp. 1.....                          | 42 |
| <b>Cuadro 7.</b> Medidas y porcentajes comparativos de <i>Ophiotaenia</i> spp. descritas en México (tomadas de las descripciones originales) y de <i>Ophiotaenia</i> sp. 2 descrita en este trabajo..... | 49 |
| <b>Cuadro 8.</b> Medidas y porcentajes comparativos de <i>Ophiotaenia</i> spp. descritas en México (tomadas de las descripciones originales) y de <i>Ophiotaenia</i> sp. 3 descrita en este trabajo..... | 55 |
| <b>Cuadro 9.</b> Medidas y porcentajes comparativos de <i>Ophiotaenia</i> spp. descritas en México (tomadas de las descripciones originales) y de <i>Ophiotaenia</i> sp. 4 descrita en este trabajo..... | 60 |

|   |     |
|---|-----|
| <b>Cuadro 10.</b> Medidas y porcentajes comparativos de <i>Ophiotaenia</i> spp. descritas en México (tomadas de las descripciones originales) y de <i>Ophiotaenia</i> sp. 5 descrita en este trabajo.....   | 65  |
| <b>Cuadro 11.</b> Medidas y porcentajes comparativos de <i>Ophiotaenia</i> spp. descritas en México (tomadas de las descripciones originales) y de <i>Ophiotaenia</i> sp. 6 descrita en este trabajo.....   | 71  |
| <b>Cuadro 12.</b> Medidas y porcentajes comparativos de <i>Ophiotaenia</i> spp. descritas en México (tomadas de las descripciones originales) y de <i>Ophiotaenia</i> sp. 7 descrita en este trabajo.....   | 78  |
| <b>Cuadro 13.</b> Medidas y porcentajes comparativos de <i>Ophiotaenia</i> spp. descritas en México (tomadas de las descripciones originales) y de <i>Ophiotaenia</i> sp. 8 descrita en este trabajo.....   | 84  |
| <b>Cuadro 14.</b> Medidas y porcentajes comparativos de <i>Ophiotaenia</i> spp. descritas en México (tomadas de las descripciones originales) y de <i>Ophiotaenia</i> sp. 9 descrita en este trabajo.....   | 90  |
| <b>Cuadro 15.</b> Medidas y porcentajes comparativos entre las especies de este trabajo.....  | 91  |
| <b>Cuadro 16.</b> Claves de acceso de las secuencias de los genes 28S y COI de especies de proteocefalideos obtenidos del genbank (incluyendo grupos externos no proteocefálicos), más 40 secuencias del gen 28S y 35 del COI generadas en el presente estudio..... | 117 |
| <b>Cuadro 17.</b> Especies del género <i>Ophiotaenia</i> parásitas de anfibios registrados en América (modificación de de Chambrier & Gil de Pertierra, 2012).....  | 126 |
| <b>Cuadro 18.</b> Especies del género <i>Ophiotaenia</i> parásitas de reptiles registrados en América (adaptado de de Chambrier et al., 2010).....  | 127 |

## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1.</b> Árbol de máxima verosimilitud con valores bootstrap basado en secuencias de COI.....                       | 27 |
| <b>Figura 2.</b> Árbol de máxima verosimilitud con valores bootstrap, obtenido del análisis de secuencias del 28S rDNA..... | 29 |

|   |       |
|---|-------|
| <b>Figura 3.</b> Acercamiento del árbol de máxima verosimilitud con valores bootstrap, obtenido de un análisis del 28S rDNA.....  | 30-32 |
| <b>Figura 4.</b> <i>Ophiotaenia</i> sp. 1.....  | 39    |
| <b>Figura 5.</b> <i>Ophiotaenia</i> sp. 2.....  | 45,46 |
| <b>Figura 6.</b> <i>Ophiotaenia</i> sp. 3.....  | 51    |
| <b>Figura 7.</b> <i>Ophiotaenia</i> sp. 4.....  | 57    |
| <b>Figura 8.</b> <i>Ophiotaenia</i> sp. 5.....  | 62    |
| <b>Figura 9.</b> <i>Ophiotaenia</i> sp. 6.....  | 67,68 |
| <b>Figura 10.</b> <i>Ophiotaenia</i> sp. 7.....   | 75    |
| <b>Figura 11.</b> <i>Ophiotaenia</i> sp. 8.....   | 81    |
| <b>Figura 12.</b> <i>Ophiotaenia</i> sp. 9.....   | 86    |
| <b>Figura 13.</b> <i>Ophiotaenia filaroides</i> (La Rue, 1909) La Rue, 1911 (tomado de La Rue, 1909), escólices y proglótido maduro.....                                | 128   |
| <b>Figura 14.</b> <i>Ophiotaenia magna</i> Hannum, 1925 (tomado de Hannum, 1925), escólex y proglótido maduro.....  | 129   |
| <b>Figura 15.</b> <i>Ophiotaenia micruricola</i> (Shoop & Corkum, 1982) Ammann & de Chambrier, 2008 (tomado de Shoop & Corkum, 1982), escólex y proglótido maduro.....  | 129   |
| <b>Figura 16.</b> <i>Ophiotaenia nattereri</i> (Parona, 1901) La Rue, 1911 (tomado de La Rue, 1914; Parona, 1901 no presentó dibujos), escólex y proglótido maduro..... | 130   |
| <b>Figura 17.</b> <i>Ophiotaenia perspicua</i> La Rue, 1911 (tomado de La Rue, 1914) escólex y proglótido maduro.....   | 130   |
| <b>Figura 18.</b> <i>Ophiotaenia racemosa</i> (Rudolphi, 1819) La Rue, 1911 (tomado de La Rue, 1914), escólex y proglótido maduro.....                                  | 131   |
| <b>Figura 19.</b> <i>Ophiotaenia variabilis</i> (Brooks, 1978) Ammann & de Chambrier, 2008 (tomado de Brooks, 1978), escólex y proglótido maduro.....                   | 131   |

## RESUMEN

El orden Proteocephalidea es un grupo de cestodos acetabulados de los más evolucionados; sus hospederos incluyen peces Neopterigios de agua dulce, anfibios, reptiles, y una especie descrita del tlacuache *Didelphis marsupialis* en México. Además del amplio espectro de hospederos definitivos, los parásitos de este grupo son interesantes porque poseen una diversidad morfológica relativamente amplia, especialmente en el escólex. Varios taxones de este orden son grupos no monofiléticos. A pesar del uso de la morfología y las herramientas moleculares en la inferencia filogenética dentro del orden, permanecen muchas relaciones que aún no se resuelven, adicionalmente nada se conoce sobre las relaciones filogenéticas de proteocefálidos de anfibios, y poco sobre los de reptiles. Lo anterior impide una evaluación robusta de la historia evolutiva de este grupo de cestodos. Para resolver esta carencia de información, se analizaron varias especies de anfibios y reptiles mexicanos con el fin de recolectar proteocefálidos y generar por primera vez secuencias moleculares del gen 28S para incorporarlo en una hipótesis filogenética previa.

Se recolectaron las siguientes especies de anfibios: *Lithobates megapoda*, *L. montezumae*, *L. zweifeli*, *L. vaillanti*, *Lithobates* sp., y los reptiles: *Thamnophis melanogaster*, *T. eques*, *Thamnophis* sp. y *Nerodia* sp., en localidades del Distrito Federal y en los estados de Jalisco, México, Michoacán y Veracruz. De 60 ranas, solo seis individuos de las especies *L. megapoda*, *L. zweifeli*, *L. vaillanti* y *Lithobates* sp. presentaron de uno a dos proteocefálidos; por su parte, 22 de 77 culebras revisadas de las especies *Thamnophis melanogaster*, *T. eques* y un individuo del género *Nerodia*, estuvieron parasitados con uno a cinco proteocefálidos.

Los proteocefálidos de anfibios y de reptiles mexicanos incorporados en un análisis filogenético del orden se agruparon en el árbol de acuerdo al tipo de hospedero al que parasitan, generando clados integrados por proteocefálidos de culebras, ranas y tlacuaches respectivamente. Los parásitos de tlacuaches del género *Thaumasioscolex* formaron un clado que se relaciona con parásitos de serpientes venenosas del género *Ophiotaenia*, mientras que los de culebras y ranas son cercanos a proteocefálidos de peces y de algunas tortugas. Los resultados obtenidos de las distancias corregidas de las secuencias generadas para el gen COI, apoyan la independencia de las especies caracterizadas en este trabajo, lo que a su vez también se corrobora con los valores obtenidos a nivel intraespecífico. Con base en la morfología se detectaron especies diferentes y probablemente no descritas, parásitas de colúbridos y ranas, y se asignaron al género *Ophiotaenia*. No obstante, en este y previos estudios, las especies del género

forman un grupo polifilético, por lo que es necesaria su reestructuración, una vez definida la posición de la especie tipo (*O. perspicua*).

## ABSTRACT

Proteocephalidea is an acetabuled group, i.e., one of the more evolved cestode orders; their members parasitize freshwater neopterygians, amphibians, reptiles and one species was described from the mammal *Didelphis marsupialis* in Mexico. These parasites have a wide spectrum of definitive hosts as well as a relatively wide morphological diversity, especially in scolex morphology. The phylogenetic relationships within the order are unresolved, in spite of numerous attempts with morphologic and molecular tools; likewise, phylogeny of amphibian proteocephalids is completely unknown and those of the parasites of reptiles has been neglected. This avoid a wide assessment on the evolutionary history of these tapeworms. In order to resolve this lack of information, we analyzed several species of mexican amphibians and reptiles to collect proteocephalideans and generate for the first time in Mexico molecular sequences of the gene 28S to incorporate them in the previous phylogenetic hypotheses.

Amphibians (*Lithobates megapoda*, *L. montezumae*, *L. zweifeli*, *L. vaillanti*, *Lithobates* sp.) and reptiles (*Thamnophis melanogaster*, *T. eques*, *Thamnophis* sp. and *Nerodia* sp.) were collected in Distrito Federal and Jalisco, México, Michoacán and Veracruz States. Only six of 60 frogs (*L. megapoda*, *L. zweifeli*, *L. vaillanti* and *Lithobates* sp.) harbored one or two proteocephalids; 22 of 77 colubrids *T. melanogaster* and *T. eques* and one individual of the genus *Nerodia* were parasitized with one to five proteocephalids.

The proteocephalideans from Mexican amphibians and reptiles incorporated in the molecular phylogenetic analysis of the order form clusters on the tree, according the parasitized host, resulting in colubrids, frogs and opossum proteocephalid clades. The opossum's parasites, belonging to *Thaumasioscolex* genus, form a clade related with poisonous snakes parasites of the *Ophiotaenia* genus; on the other hand, the parasites from colubrids and frogs are closely related with the fish proteocephalids. The results obtained with the corrected distances of the generated sequences of the COI gene, support the independence of the species characterized in this work, which is also corroborated with the distances recorded in intraspecific levels. In the same way, based on morphology, different and probably undescribed species parasitizing colubrids and frogs were detected and classified in the *Ophiotaenia* genus. However, in this and previous studies, the species of the genus form a polyphyletic group, so its restructuring is necessary after the ubication of the type species (*O. perspicua*) in the phylogenetic tree of this group.



# 1 INTRODUCCIÓN

Los parásitos son de los grupos en los que cualquier cálculo sobre diversidad resulta subestimado. Esch & Fernández (1993) y Pérez-Ponce de León & García-Prieto (2001) señalan que prácticamente cualquier organismo que sea estudiado albergará interna o externamente al menos un tipo de parásito en su cuerpo; de esta manera, más del 50% de las especies totales serían consideradas parásitas. El término parásito, incluye a varios grupos taxonómicos, que comparten la característica de estar en asociación con otro organismo, causando un efecto negativo en su adecuación (Price, 1980). Dentro del grupo de los parásitos se encuentran los “helmitos”, designación que refiere a aquellos organismos de aspecto vermiforme que necesitan relacionarse obligatoriamente con un hospedero vivo de una especie diferente para sobrevivir (Coombs & Crompton, 1991). Este grupo no natural, incluye miembros de 4 Phyla: Platyhelminthes (gusanos planos), Acanthocephala (gusanos con proboscis armada), Nematoda (gusanos redondos) e Hirudinea (sanguijuelas) (Pérez-Ponce de León et al., 2011).

Los individuos del Phylum Platyhelminthes o gusanos planos se caracterizan por la compresión dorso-ventral de su cuerpo, su carácter acelomado y su simetría bilateral; incluye a la clase Turbellaria cuyos organismos son de vida libre, y otras clases completamente parásitas, como Digenea, Monogeneoidea y Cestoda (Schmidt, 1986; Hemphill & Gottstein, 2011). A esta última clase, pertenecen los helmitos del presente estudio.

Con base en un análisis molecular en el cual se combinaron fragmentos de genes ribosomales nucleares de la subunidad mayor y menor (ssrDNA; lsrDNA, por sus siglas en inglés), e información de fragmentos contiguos de gran tamaño (superando los 4000 pb) de genoma mitocondrial, la clase Cestoda está integrada por los siguientes órdenes: Amphilinidea, Gyrocotylidea, Caryophyllidea, Spathebothriidea, Trypanorhyncha, Tetracyllidea, Nippotaeniidea, Proteocephalidea, Lecanicephalidea, Tetrabothriidea, Litobothriidea, Haplobothriidea, Diphyllbothriidea, Bothriocephalidea, Diphyllidea, Cyclophyllidea, Phyllobothriidea y Rhinebothriidea, todos, excepto los dos primeros pertenecientes a la subclase Eucestoda (Waeschenbach et al., 2012; Caira et al., 2014). La combinación de información genética proveniente de varios marcadores, ha brindado información complementaria a la filogenia de los cestodos, pues ha arrojado resultados contrastantes a hipótesis previas y en otros casos, las ha corroborado (Waeschenbach et al., 2012). A diferencia de la clasificación de Jones et al. (1994) quienes consideran 14 órdenes, Waeschenbach et al. (2012) incluyen a Diphyllbothriidea y Bothriocephalidea (propuestos previamente por Kuchta et al., 2008 al suprimir a Pseudophyllidea),

Litobothriidea y Rhinebothriidea; mientras que Phyllobothriidea se propuso recientemente (Caira et al., 2014).

De los cestodos anteriormente mencionados, los que integran el orden Proteocephalidea son considerados como un modelo potencial para estudiar la relación parásito-hospedero; en algunos estudios, se ha indicado que la mayoría de las especies del orden exhiben una estrecha especificidad hospedatoria (Scholz & de Chambrier, 2003), como se observó en un estudio filogenético molecular, en el que de Chambrier et al. (2004) propusieron un agregado denominado "*Proteocephalus*" que incluye a varias especies que parasitan peces de agua dulce holárticos. De la misma manera, estos autores infirieron una fuerte asociación entre los proteocefalideos Sudamericanos con la subfamilia de peces Pimelodinae, aunque esporádicamente, estos parásitos también pueden colonizar algunos otros peces siluriformes. Asimismo, la hipótesis filogenética de Hypsa et al. (2005) revela clados claramente diferenciados entre los cuales se puede inferir cierta orientación de los proteocefálicos a determinado grupo de hospederos.

Dichas características los hace adecuados para estudios de coevolución parásito-hospedero. Adicionalmente, una gran diversidad morfológica, sobre todo en relación con el escólex los hace un modelo apropiado para estudiar las adaptaciones morfológicas al parasitismo, y además, pueden aportarnos conocimiento sobre la evolución y filogenia de los órdenes que poseen cuatro ventosas al igual que Proteocephalidea.

En relación a los hospederos que parasitan, el conocimiento de los proteocefálicos de reptiles es reducido, mientras que en cuanto a los proteocefálicos de anfibios no existe información incorporada en alguna hipótesis filogenética, ni de reptiles de México. Esta carencia de información resulta en una gran limitante para los estudios filogenéticos de este grupo de parásitos.

Por lo anterior, aunado a la falta y ausencia de información de este grupo de parásitos en determinados grupos de hospederos, este trabajo se enfocó al estudio de los proteocefálicos que parasitan el intestino de algunas especies de anfibios y reptiles en México.

## **2 ANTECEDENTES**

### **2.1 Marcadores moleculares**

Una de las subunidades del complejo citocromo oxidasa es el COI, complejo que es codificado por el genoma mitocondrial y coadyuva en el transporte de electrones

(Madigan et al., 2004). Una región del COI se ha utilizado en la identificación específica de los organismos; la región COI del código de barras está compuesta de aproximadamente 650 pares de bases, representando la primera mitad del gen mitocondrial citocromo “c” oxidasa subunidad I (Li et al., 2011). Esta zona arroja mejor resolución a nivel interespecífico que las secuencias del ITS, al presentar mayores diferencias inter que intraespecíficas; además, la citocromo “c” oxidasa I exhibe diferencias representativas que no se observan en otros genes mitocondriales que codifican proteínas (Moszczyńska et al., 2009; Stoeckle et al., 2005); es por ello que esta región del DNA se ha utilizado para identificar y diferenciar especies de platelmintos en trabajos recientes (Morgan & Blair, 1998; Moszczyńska et al., 2009; Galimberti et al., 2012; Zhang et al., 2014), razón por la cual se probará en este trabajo.

de Chambrier et al. (2004) publicaron una hipótesis filogenética de los proteocefálicos que incluyó 71 secuencias, entre las cuales se incorporaron otras nuevas generadas por ellos. Ésta se sustentó en la subunidad ribosomal grande 28S rRNA, y no incorporó ningún proteocefálico de anfibios, mientras que, en cuanto a proteocefálicos de escamados incluyeron pocas secuencias, y ninguna que pertenezca a hospederos mexicanos. Este gen ha sido ampliamente utilizado para estudiar este grupo de organismos (Zehnder & Mariaux, 1999; Olson et al., 2001; de Chambrier et al., 2004).

El gen 28S se compone de más de 5000 bases y codifica para componentes estructurales del RNA en ribosomas; partes de este gen se encuentran altamente conservadas (incluso en grupos filogenéticamente distantes) y otras son relativamente variables (Barker et al., 1993). Dicho gen presenta una mayor tasa evolutiva comparada con la de la subunidad pequeña ribosomal 18S rRNA que no es informativa dentro del orden, razón por la cual Zehnder & Mariaux (1999) la eligieron para su trabajo. Por lo previamente mencionado, este gen es la base de la presente tesis.

Así, en este trabajo se aportan secuencias nuevas de los genes COI y 28S de proteocefálicos de anfibios y escamados recolectados de algunos estados de la República, además de información morfométrica de los cestodos adultos recuperados.

## **2.2 Biología de los proteocefálicos**

La etimología del nombre del orden Protocephalidea Mola, 1928, proviene del griego “Protos” (primero) y “cefale” (cabeza); constituyen un grupo morfológicamente muy diverso, poseen cuatro ventosas musculares sobre el escólex, que pueden ser simples, biloculares, triloculares o tetraloculares. De igual forma, el escólex puede poseer

un órgano apical, una ventosa apical o un órgano similar a un rostelo armado con ganchos, e incluso presentar o no un metascolex (Scholz & de Chambrier, 2003).

El estróbilo usualmente es anapolítico, y acraspedota con proglótidos bien definidos, que se pueden diferenciar por su estado de desarrollo, surgiendo del cuello los proglótidos inmaduros, continuándose con los maduros y finalmente los grávidos. Los proglótidos maduros son más anchos que largos o cuadrados y los grávidos por lo general son más largos que anchos. Su parénquima está dividido en una región cortical y otra medular, generalmente separados por una musculatura longitudinal interna que puede ser reducida o inconspicua. Los órganos reproductores pueden ser medulares o encontrarse en varias combinaciones entre la médula y la corteza. Poros genitales laterales. Contienen numerosos testículos (de 20 a más de 500) y vitelógenas foliculares a lo largo de los márgenes laterales de los proglótidos, un ovario bilobulado posterior y un útero medio con divertículos laterales y aperturas longitudinales en proglótidos grávidos (Rego, 1994; Scholz & de Chambrier, 2003).

Su desarrollo ontogenético comienza con una oncósfera, seguida de tres estadios larvarios bien diferenciados morfológicamente, denominados procercoide, merocercoide y plerocercoide. Los primeros tres mencionados se pueden desarrollar dentro del copépodo (primer hospedero intermediario). El plerocercoide se puede desarrollar en un segundo hospedero intermediario, un hospedero paraténico o incluso en el hospedero definitivo, y el adulto se desarrolla en el hospedero definitivo. Son parásitos adultos del intestino de peces Neopterigios, anfibios, reptiles y hay una especie descrita en el marsupial *Didelphis marsupialis* (Scholz & de Chambrier, 2003).

### **2.3 Historia taxonómica del orden**

La primer especie de proteocefárido fue descrita por Muller en 1780 e incluida en el género *Taenia* Linnaeus, 1758. Hasta 1858 todas las especies de Proteocephalata (como se denominaba antiguamente al orden) se incluían en el género *Taenia* y en ese año Weinland erigió el género *Proteocephalus* para designar a parásitos de anfibios y peces. Posteriormente, con base en la propuesta de La Rue (1911 y 1914) los proteocefáridos podían dividirse en dos familias: Proteocephalidae La Rue, 1911 y Monticelliidae La Rue, 1911 ambas dentro del orden Tetrphyllidea y diferenciadas por ese autor, de acuerdo con la localización de las gónadas y el útero con respecto al parénquima cortical (Freze, 1965).

Entre las décadas de los 20's y los 40's del siglo XX, Woodland unificó al grupo Proteocephalata dentro de la familia Proteocephalidae con un esquema de 8 subfamilias

fundadas por Mola en 1929, rechazando la sugerencia de Mola de incluir estos parásitos en el orden Proteocephalidea Mola, 1928, que más tarde fue validado por Yamaguti en 1959. Como resultado de una revisión del grupo, Freze (1965) propone a Proteocephalata Spassky, 1957 como suborden, a Proteocephaloidea Southwell, 1930 y Monticellioidea Frese, 1963 como superfamilias y reconoce a tres familias, Proteocephalidae La Rue, 1911, Ophiotaeniidae Frese, 1963 y Monticelliidae La Rue, 1911 (Freze, 1965). Sin embargo, la familia Ophiotaeniidae nunca fue aceptada y autores como Schmidt solo retienen dos familias (de Chambrier et al., 2004).

De acuerdo con la morfología, ontogenia, ciclo biológico y distribución, Rego (1995) propuso la supresión de la familia Monticelliidae manteniendo cinco subfamilias, sin embargo el esquema más ampliamente usado, es el que consideraba a dos familias, Proteocephalidae y Monticelliidae (de Chambrier et al., 2004). Recientemente, de Chambrier et al. (2009a) presentaron un sistema de claves para la determinación de las subfamilias de la familia Proteocephalidae, orden Proteocephalidea, basado en la disposición de los diferentes órganos genitales con relación a la musculatura longitudinal interna; dicho esquema de clasificación es una modificación del trabajo que Khalil realizó en 1960. La clasificación de estas subfamilias será utilizada en el presente trabajo. Hasta el 2003, el orden Proteocephalidea se estructuraba por alrededor de 400 especies (Scholz & de Chambrier, 2003). Actualmente, 63 géneros y 13 subfamilias lo constituyen (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Clasificación del orden Proteocephalidea.

| Subfamilias                      | Géneros   |
|----------------------------------|---|
| Acanthotaeniinae<br>Freze, 1963  | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <i>Acanthotaenia</i> Linstow, 1903</li> <li>2. <i>Australotaenia</i> de Chambrier &amp; de Chambrier, 2010</li> <li>3. <i>Kapsulotaenia</i> Freze, 1963</li> <li>4. <i>Rostellotaenia</i> Freze, 1963</li> <li>5. <i>Vandiermenia</i> de Chambrier &amp; de Chambrier, 2010</li> </ol>  |
| Corallobothriinae<br>Freze, 1965 | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <i>Corallobothrium</i> Fritsch, 1886</li> <li>2. <i>Corallotaenia</i> Freze, 1965</li> <li>3. <i>Essexiella</i> Scholz, de Chambrier, Mariaux &amp; Kuchta, 2011</li> <li>4. <i>Megathylacoides</i> Jones, Kerly &amp; Sneed, 1965</li> <li>5. <i>Megathylacus</i> Woodland, 1934</li> <li>6. <i>Paraproteocephalus</i> Chen, 1962</li> </ol> |



|                                     |  |
|-------------------------------------|--|
|                                     | 7. <i>Sciadocephalus</i> Diesing, 1850   |
| Endorchiinae<br>Woodland, 1934      | 1. <i>Endorchis</i> Woodland, 1934<br>2. <i>Myzophorus</i> Woodland, 1934  |
| Ephedrocephalinae<br>Mola, 1929     | 1. <i>Ephedrocephalus</i> Diesing, 1850  |
| Gangesiinae<br>Mola, 1929           | 1. <i>Electrotaenia</i> Nybelin, 1942<br>2. <i>Gangesia</i> Woodland, 1924<br>3. <i>Pangasiocestus</i> Scholz & de Chambrier, 2012<br>4. <i>Postgangesia</i> Akhmerov, 1969<br>5. <i>Ritacestus</i> de Chambrier, Scholz, Ash & Kar, 2011<br>6. <i>Silurotaenia</i> Nybelin, 1942<br>7. <i>Vermaia</i> Nybelin, 1942 |
| Marsypocephalinae<br>Woodland, 1933 | 1. <i>Marsypocephalus</i> Wedl, 1861   |
| Monticelliinae<br>Mola, 1929        | 1. <i>Choanoscolex</i> La Rue, 1911<br>2. <i>Goezeella</i> Fuhrmann, 1916<br>3. <i>Lenhataenia</i> de Chambrier, 2008<br>4. <i>Monticellia</i> La Rue, 1911<br>5. <i>Paramonticellia</i> Pavanelli & Rego, 1991<br>6. <i>Spasskyellina</i> Freze, 1965<br>7. <i>Spatulifer</i> Woodland, 1934                        |
| Peltidocotylinae<br>Woodland, 1934  | 1. <i>Amazotaenia</i> de Chambrier, 2001<br>2. <i>Jauella</i> Rego & Pavanelli, 1985<br>3. <i>Luciaella</i> Gil de Pertierra, 2009<br>4. <i>Mariauxiella</i> de Chambrier & Rego, 1995<br>5. <i>Peltidocotyle</i> Diesing, 1850  |
| Proteocephalinae<br>La Rue, 1911    | 1. <i>Barsonella</i> de Chambrier, Scholz, Beletew & Mariaux, 2009<br>2. <i>Brayela</i> Rego, 1984<br>3. <i>Brooksiella</i> Rego, Chubb & Pavanelli, 1999<br>4. <i>Cangatiella</i> Pavanelli & Machado dos Santos, 1991<br>5. <i>Cairaella</i> Coquille & de Chambrier, 2008   |

|   |   |
|---|---|
|   | <ol style="list-style-type: none"> <li>6. <i>Chambriella</i> Rego, Chubb &amp; Pavanelli, 1999</li> <li>7. <i>Crepidobothrium</i> Monticelli, 1900</li> <li>8. <i>Deblocktaenia</i> Odening, 1963</li> <li>9. <i>Euzetiella</i> de Chambrier, Rego &amp; Vaucher, 1999</li> <li>10. <i>Glanitaenia</i> de Chambrier, Zehnder, Vaucher &amp; Mariaux, 2004</li> <li>11. <i>Macrobothriotaenia</i> Freze, 1965</li> <li>12. <i>Margaritaella</i> Arredondo &amp; Gil de Pertierra, 2012</li> <li>13. <i>Ophiotaenia</i> La Rue, 1911</li> <li>14. <i>Proteocephalus</i> Weinland, 1858</li> <li>15. <i>Pseudocrepidobothrium</i> Rego &amp; Ivanov, 2001</li> <li>16. <i>Scholzia</i> de Chambrier, Rego &amp; Gil de Pertierra, 2005</li> <li>17. <i>Tejidotaenia</i> Freze, 1965</li> <li>18. <i>Tenuispinosus</i> Feng Wei, 1997</li> <li>19. <i>Thaumasioscolex</i> Cañeda-Guzmán, de Chambrier &amp; Scholz, 2001</li> </ol> |
| Rudolphiellinae<br>Woodland, 1935                                       | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <i>Rudolphiella</i> Fuhrmann, 1916</li> </ol>   |
| Sandonellinae<br>Khalil, 1960   | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <i>Sandonella</i> Khalil, 1960</li> </ol>   |
| Testudotaeniinae<br>de Chambrier,<br>Coquille, Mariaux &<br>Tkach, 2009 | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <i>Testudotaenia</i> (Magath, 1924)</li> </ol>  |
| Zygobothriinae<br>Woodland, 1933  | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <i>Ageneiella</i> de Chambrier &amp; Vaucher, 1999</li> <li>2. <i>Amphoteromorphus</i> Diesing, 1850</li> <li>3. <i>Gibsoniella</i> Rego, 1984</li> <li>4. <i>Harriscolex</i> Rego, 1987</li> <li>5. <i>Houssayela</i> Rego, 1987</li> <li>6. <i>Nomimoscolex</i> Woodland, 1934</li> <li>7. <i>Vaucheriella</i> de Chambrier, 1987</li> <li>8. <i>Zygobothrium</i> Diesing, 1850</li> </ol>  |

## 2.4 Contexto de los proteocefálicos en México

Con base en Paredes-León et al. (2008) y Diez-Tellez (2011), en los vertebrados silvestres de México se ha registrado un total de ocho géneros del orden Proteocephalidea, distribuidos en tres subfamilias, Corallobothriinae, Proteocephalinae y Zygobothriinae, todos pertenecientes a la familia Proteocephalidae, única en el orden. De los ocho géneros, *Amphoteromorphus*, *Corallobothrium*, *Megathylacoides*, *Monticellia* y *Proteocephalus* parasitan peces, *Ophiotaenia* anfibios, *Crepidobothrium*, *Ophiotaenia* y *Proteocephalus* se encuentran en reptiles y *Thaumasioscolex* en mamíferos. De acuerdo a información recopilada de Paredes-León et al. (2008) y Diez-Tellez (2011), en México se han registrado un total de 21 taxa; de éstos, 16 son especies nominales que en estado adulto parasitan vertebrados, nueve se han encontrado en peces, una en anfibios, cinco en escamados y una en mamíferos.

Para este estudio solo se caracterizaron morfológicamente a los proteocefálicos de anfibios y reptiles, mientras que en los análisis filogenéticos se incluyeron además los recolectados de mamíferos, por lo que a continuación se presenta el registro previo de las especies de proteocefálicos parásitos de anfibios, reptiles y mamíferos mexicanos (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Especies de proteocefalideos registrados en anfibios, reptiles y mamíferos de México.

| Especie de parásito   | Hospedero original                                      | Localidad original                 | Hospedero en México                    | Entidad Federativa en México | Localidad en México  | Autor que lo reporta en dicha localidad                     |
|---|---|------------------------------------|--|------------------------------|----------------------|---|
| <b><i>Crepidobothrium gerrardi</i></b> (Baird, 1860)                            | <i>Boa constrictor</i> (1)                              | América del Sur                    | <i>Boa constrictor</i> (A-E/I)         | ND                           | ND                   | MacCallum, 1921   |
| <b><i>Ophiotaenia filaroides</i></b> (La Rue, 1909) La Rue, 1911                | <i>Ambystoma tigrinum</i> (2)                           | Kansas, Nebraska, E.U.             | <i>Ambystoma tigrinum</i> (A-I)        | EM                           | Laguna de Zumpango   | García-Prieto, 1986   |
|   |   |                                    | <i>Lithobates berlandieri</i> (A-I)    | NL                           | La Laguna Higueras   | León-Règagnon et al., 2005                                  |
|   |   |                                    | <i>Lithobates dunnii</i> (A-I)         | Mich                         | Lago de Pátzcuaro    | Pulido-Flores, 1994   |
|   |   |                                    | <i>Lithobates montezumae</i> (A-I)     | D.F.                         | Lago de Xochimilco   | Macías-Palacios, 1963                                       |
| <b><i>O. magna</i></b> Hannum, 1925   | <i>Lithobates catesbianus</i> ; <i>L. clamitans</i> (3) | Oklahoma, Texas, E.U.              | <i>Lithobates montezumae</i> (A-I)     | EM                           | Lago de Texcoco      | Lamothe-Argumedo et al., 1997                               |
|   |   |                                    | <i>Lithobates montezumae</i> (A-I)     | D.F.                         | Lago de Xochimilco   | Macías-Palacios, 1963                                       |
| <b><i>O. micruricola</i></b> (Shoop & Corkum, 1982) Ammann & de Chambrier, 2008 | <i>Micrurus diastema</i>                                | -                                  | <i>Lithobates tarahumarae</i> (A-I)    | Son                          | Yecora               | Burseley & Goldberg, 2001                                   |
|   |   |                                    | <i>Micrurus diastema</i> (A-I)         | Oax                          | Valle Nacional       | Shoop & Corkum, 1982  |
| <b><i>O. nattereri</i></b> (Parona, 1901) La Rue, 1911                          | <i>Coluber</i> sp. (4)                                  | Liguria, Italia; Sao Paulo, Brasil | Culebra roja (A-I)                     | Chis                         | Mapastepec           | Flores-Barroeta, 1955                                       |
| <b><i>O. perspicua</i></b> La Rue, 1911   | <i>Nerodia rhombifer</i> (5)                            | Illinois, E.U.                     | <i>Crotalus</i> sp. (A-I)              | Hid                          | Tasquillo            | Flores-Barroeta et al., 1961                                |
|   |   |                                    | <i>Nerodia erythrogaster</i> (A-I)     | NL                           | Presa Rodrigo Gómez  | García-Prieto, 1986   |
|   |   |                                    | <i>Nerodia rhombifer werleri</i> (A-I) | Ver                          | Cerca de Tlacotalpan | Goldberg et al., 2012                                       |
| <b><i>O. racemosa</i></b> (Rudolphi, 1819) La Rue, 1911                         | <i>Coluber</i> sp. (4)                                  | Brasil                             | <i>Thamnophis eques</i> (A-I)          | D.F.                         | Lago de Xochimilco   | Cruz-Reyes, 1974  |
|   |   |                                    | <i>Thamnophis eques</i> (A-I)          | EM                           | Ciénaga de Lerma     | Cruz-Reyes, 1974  |
|   |   |                                    | <i>Thamnophis melanogaster</i> (A-I)   | EM                           | Ciénaga de Lerma     | Cruz-Reyes, 1974  |
|   |   |                                    | <i>Thamnophis melanogaster</i> (A-I)   | Mich                         | Lago de Pátzcuaro    | Cruz-Reyes, 1974  |
| <b><i>O. variabilis</i></b> (Brooks, 1978) Ammann & de Chambrier, 2008          | <i>Nerodia rhombifer</i> , <i>N. c. cyclopion</i> (6)   | Luisiana, E.U.                     | <i>Thamnophis eques</i> (A-I)          | EM                           | Ciénaga de Lerma     | Pérez-Ponce de León et al., 2001; Jimenez-Ruiz et al., 2002 |

|   |                              |  |                                      |      |                               |   |
|---|------------------------------|--|--------------------------------------|------|-------------------------------|---|
|   |                              |  | <i>Thamnophis eques</i> (A-I)        | Jal  | Lago de Chapala               | Pérez-Ponce de León et al., 2001; Jimenez-Ruiz et al., 2002 |
|   |                              |  | <i>Thamnophis eques</i> (A-I)        | Mich | Lago de Pátzcuaro             | Pérez-Ponce de León et al., 2001; Jimenez-Ruiz et al., 2002 |
|   |                              |  | <i>Thamnophis melanogaster</i> (A-I) | EM   | Ciénaga de Lerma              | Pérez-Ponce de León et al., 2001; Jimenez-Ruiz et al., 2002 |
|   |                              |  | <i>Thamnophis melanogaster</i> (A-I) | Jal  | Lago de Chapala               | Pérez-Ponce de León et al., 2001; Jimenez-Ruiz et al., 2002 |
|   |                              |  | <i>Thamnophis melanogaster</i> (A-I) | Mich | Lago de Cuitzeo               | Pérez-Ponce de León et al., 2001; Jimenez-Ruiz et al., 2002 |
|   |                              |  | <i>Thamnophis melanogaster</i> (A-I) | Mich | Lago de Pátzcuaro             | Pérez-Ponce de León et al., 2001; Jimenez-Ruiz et al., 2002 |
|   |                              |  | <i>Thamnophis melanogaster</i> (A-I) | Mich | Lago de Zacapu                | Pérez-Ponce de León et al., 2001                            |
|   |                              |  | <i>Thamnophis melanogaster</i> (A-I) | Mich | Lago de Zirahuén              | Pérez-Ponce de León et al., 2001                            |
| <b>Proteocephalus</b> sp.   |                              |  | <i>Leptodeira annulata</i> (A-I)     | Gro  | Carretera Acapulco-Aeropuerto | Rosas-Valdez, 2002  |
| <b>Proteocephalidae</b> gen. sp.  |                              |  | <i>Ambystoma dumerilii</i> (L-I)     | Mich | Lago de Patzcuaro             | García-Altamirano et al., 1993                              |
|   |                              |  | <i>Lithobates berlandieri</i> (L-I)  | NL   | La Laguna Higueras            | León-Règagnon et al., 2005                                  |
| <b>Proteocephalinae</b> gen. sp.  |                              |  | <i>Didelphis marsupialis</i> (A-I)   | Ver  | Laguna Escondida              | Cañeda-Guzmán, 1997   |
|   |                              |  | <i>Didelphis virginiana</i> (A-I)    | Ver  | Laguna Escondida              | Cañeda-Guzmán, 1997   |
|   |                              |  | <i>Didelphis virginiana</i> (A-I)    | Ver  | Los Tuxtlas                   | Cañeda-Guzmán, 1997   |
|   |                              |  | <i>Philander opossum</i> (A-I)       | Ver  | Los Tuxtlas                   | Cañeda-Guzmán, 1997   |
| <b>Thaumasiolecolex didelphidis</b><br>Cañeda-Guzmán, de Chambrier & Scholz, 2001 | <i>Didelphis marsupialis</i> |  | <i>Didelphis marsupialis</i> (A-I)   | Ver  | Los Tuxtlas                   | Cañeda-Guzmán et al., 2001                                  |

Claves: A, Adulto; E, Estómago; I, Intestino; L, Larva; ND, no determinada. Localidades: Chis, Chiapas; EM, Estado de México; E. U., Estados Unidos; D. F., Distrito Federal; Gro, Guerrero; Hid, Hidalgo; Jal, Jalisco; Mich, Michoacán; NL, Nuevo León; Oax, Oaxaca; Son, Sonora; Ver, Veracruz. En la primera columna se indica el nombre de la especie con el autor que la describió indicando con la palabra “en” la cita de donde se tomó la información. Los números que vienen después del nombre de la especie del primer hospedero en el que se reportó (segunda columna), indican la cita de donde se tomó la información de dicho registro: 1, de Chambrier, 1989; 2, La Rue, 1909; 3, Hanum, 1925; 4, La Rue, 1914; 5, La Rue, 1911; 6, Brooks, 1978.



## 2.5 Biología de los hospederos

### *Anfibios*

Las especies de anfibios de este estudio pertenecen al género *Lithobates*, taxón que predomina en el sur de Estados Unidos y México (Hillis & Wilcox, 2005).

*Lithobates zweifeli* (Hillis, Frost & Webb, 1984). Especie endémica cuya localidad tipo en México se localiza a 12 km de Teloloapan, Guerrero (Flores-Villela, 1993). Perteneció al grupo *tarahumarae* (Hillis & Wilcox, 2005), y se puede diferenciar del resto de las especies que forman el grupo porque en el cuerpo, carece de una franja oscura ventrolateral o marcas; presenta barras oscuras sobre la superficie dorsal de los muslos, cuyo ancho es usualmente casi de la mitad o más anchos que los espacios entre los límites. La hembra más grande puede medir 93 mm SVL; mientras que el macho más grande 75.3mm SVL; el tímpano es de casi la mitad del tamaño del ojo, y la distancia entre el ojo y el tímpano es ligeramente más que la mitad del diámetro del tímpano. Se distribuye en la cuenca del Balsas al sur de México en los estados de Guerrero, Michoacán, Morelos, Puebla y México, extendiéndose hacia el este en Oaxaca y hacia el noroeste en Jalisco y Colima (Webb, 2000).

*Lithobates megapoda* (Taylor, 1942) “rana patona”, se les puede encontrar en grandes lagos, estanques de carretera, pantanos y a lo largo de pequeños arroyos; entre las principales características distintivas de esta especie es la carencia de las siguientes características: tubérculos, tenar y palmas en las manos, tubérculos subarticulares distales en el tercer y cuarto dedos y tubérculo subarticular basal en el cuarto dedo del pie (Webb, 1996). Se le encuentra en el sur de Nayarit y oeste de Jalisco, este del norte de Michoacán, y sur de Guanajuato, a 823-1520 m de elevación (Frost, 2014).

*Lithobates vaillanti* Brocchi 1877 se distribuye en México desde Veracruz continuando al sur a lo largo de la costa del Atlántico hasta la costa del Pacífico en el sureste de Oaxaca y noroeste de Chiapas, en ambas costas de Nicaragua, al sur a través de Costa Rica y Panamá y hacia la costa del Pacífico en Colombia y Ecuador; los llamados de la especie se asemejan a gruñidos que consisten de cinco o seis pulsos con una frecuencia de 1000 Hz; presenta un tímpano de igual o mayor largo que el diámetro del ojo y exhibe una coloración café en la región dorsal y verde anteriormente, con algunas marcas café oscuras posterodorsal y lateralmente, además presenta secciones transversales variables en el fémur (Hillis & Sá, 1988).

*Lithobates montezumae* Baird, 1854 se distribuye desde el este de Jalisco y Michoacán al este a través del Estado de México, D. F., Morelos, Tlaxcala, Puebla y hacia el

norte a Hidalgo, Querétaro y el sur de San Luis Potosí en México; habita principalmente en bosques de pino-encino, sobre los 2000 m, y se reproduce en lagos y estanques grandes; puede sobrevivir en hábitats alterados (Santos-Barrera & Flores-Villela, 2004).

### *Reptiles*

Los géneros *Thamnophis* y *Nerodia* se clasifican en la Tribu Thamnophiini, subfamilia Natricinae y superfamilia Colubroidea. Esta subfamilia se conforma de 210 especies de colúbridos en 29 géneros, que se distribuyen en toda Asia, Europa, Norte de África, Oeste de África Sub-Sahariano, Norte y Centro América; aunque algunas de las especies de este grupo se pueden encontrar en hábitats secos y consumen invertebrados y mamíferos, la mayoría son de hábitos acuáticos y se alimentan de anfibios o peces (Guo et al., 2012). En la filogenia de los Squamata, Natricinae se encuentra entre los organismos más derivados (Pyron et al., 2013).

Los natricinos del nuevo mundo (tribu Thamnophiini), incluyen nueve géneros y aproximadamente 50 especies. Entre los mejor conocidos se encuentran *Thamnophis* (serpientes liga), *Nerodia* (serpientes acuáticas) y *Regina* (serpientes cangrejo), siendo los más diversos de la tribu los primeros dos (Alfaro & Arnold, 2001); asimismo, *Thamnophis* y *Regina* forman grupos parafiléticos, mientras que *Nerodia* es monofilético en la hipótesis de Pyron et al. (2013). Por su parte, entre algunas de las características de los organismos de este último género están su tamaño relativamente grande, temperamento agresivo y abundancia en muchas áreas de Estados Unidos (Lawson, 1987).

*Thamnophis eques* Reuss, 1834 “jarreteras”, presenta líneas amarillas prominentes, una cabeza ancha y una lengua roja; se alimenta principalmente en la interface agua-aire, ingiriendo ranas, peces, sanguijuelas, renacuajos y salamandras, mientras que en tierra, consume pequeños mamíferos, aves y lagartijas. Se clasifica como una especie generalista terrestre-acuático que forrajea principalmente sobre la superficie del agua, en las orillas y además se aleja del estanque (Drummond & Macias-Garcia, 1988). Su distribución comprende una pequeña parte del centro de Arizona y la región baja del río Gila en Nuevo México; en el país, se encuentra en la Sierra Madre Occidental y en el eje Neovolcánico abarcando los estados de Sonora, Chihuahua, Durango, Zacatecas, Nayarit, Jalisco, San Luis Potosí, Aguascalientes, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, Estado de México, Distrito Federal, Morelos, Puebla, Michoacán, Veracruz, Oaxaca y Nuevo León. Se distribuyen en altitudes que van de los 53 a los 2590 metros (Rossman et al., 1996).

*Thamnophis melanogaster* Wiegmann, 1830 “jarreteras”, especie clasificada como especialista acuática, se alimenta casi exclusivamente bajo el agua, ingiere peces, sanguijuelas, renacuajos, cangrejos; puede medir 864 mm de largo, tiene una coloración

oscura, lengua negra, la punta del hocico es corta, y junto con la cabeza son estrechas (Drummond & Macias-Garcia, 1988; Rossman et al., 1996). Se distribuye en los estados de Durango, Zacatecas, parte de Coahuila, Nayarit, Jalisco, Aguascalientes, Guanajuato, Querétaro, Estado de México y D. F., habiendo una población aislada en la cuenca del río Bavispe y el Fuerte en el oeste de Chihuahua, y posiblemente adyacente a Sonora; alcanza una altitud de los 1158 a los 2545 m (Rossman et al., 1996).

### **3 OBJETIVOS**

#### *Objetivo general*

- Ubicar a las especies de proteocefálicos de anfibios y reptiles mexicanos en el marco de la información filogenética disponible con base en el gen ribosomal 28S.

#### *Objetivos particulares*

- Incorporar por primera vez secuencias del gen 28S de proteocefálicos parásitos de anfibios a la filogenia preexistente del grupo
- Incorporar por primera vez secuencias del gen 28S de proteocefálicos parásitos de escamados mexicanos a la filogenia preexistente del grupo
- Caracterizar a las especies de proteocefálicos recolectados de anfibios y reptiles con base en caracteres morfológicos y validar su identificación con bases moleculares mediante el empleo del gen COI
- Actualizar la información sobre la distribución de los proteocefálicos en México.

### **4 MATERIAL Y MÉTODO**

#### **4.1 Área de estudio**

Las localidades en las que se realizó la recolecta de los hospederos para el presente estudio forman parte de la Mesa Central y son entidades en las que anteriormente se han registrado proteocefálicos (Cruz-Reyes, 1974; Pulido-Flores, 1994; Pérez-Ponce de León et al., 2001; Jimenez-Ruiz et al., 2002); además se incluye el registro y la secuencia de un organismo recolectado de Catemaco, Veracruz.

Con base en el estudio bibliográfico de Domínguez-Domínguez & Pérez-Ponce de León (2009), la Mesa Central es una región fisiográfica constituida por la Sierra Neovolcánica (considerado así por West en 1964 en Domínguez-Domínguez & Pérez-Ponce de León, 2009). Esta zona se ubica en el centro de México y comprende al Distrito Federal y a los estados de Guanajuato, Estado de México, Jalisco, Michoacán, Puebla, Oaxaca, Tlaxcala y Veracruz. Dicha región corresponde básicamente al sistema montañoso de la Faja Volcánica Transmexicana. El centro de México es una región compleja en cuanto a su historia geológica y presenta un relieve con variaciones altitudinales. Se constituye desde el extremo sur del altiplano Mexicano, limita al sur por la depresión del Balsas, al este por la Sierra Madre Oriental y al oeste por la Sierra Madre Occidental. Las elevaciones varían de los 1 800 a los 2 300 msnm, siendo considerablemente más alta y húmeda que la Mesa del Norte.

En Catemaco, Veracruz las altitudes van de los 10 a los 1400msnm; se limita al norte por el municipio de San Andrés Tuxtla, al este con el Golfo de México al sur con los municipios de Sotepan y Hueyapan de Ocampo y al oeste con los municipios de Hueyapan de Ocampo y San Andrés Tuxtla; entre el tipo de vegetación que se puede encontrar, están los pastizales, selva y el manglar; el clima es de semicálido a cálido con temperaturas que oscilan de los 20 a los 26°C y precipitación de 1900 a 4600mm (INEGI, 2009).

#### **4.2 Recolecta de hospederos**

Para este trabajo se recolectaron anfibios, escamados y mamíferos con la finalidad de obtener proteocefálidos, no obstante, aquellos obtenidos de los últimos hospederos solo se emplearon en los análisis filogenéticos con la finalidad de corroborar su posición en la filogenia, sin embargo ya hay una secuencia del gen 28S de la única especie de proteocefálido parásita de mamíferos (*Thaumasioscolex*) en la base de datos del genbank.

Las culebras y ranas utilizadas en este estudio, enlistadas en la Cuadro 3, fueron recolectadas por pescadores o comerciantes; el sacrificio de los organismos fue por sobredosis de 1 a 5 mililitros de xilocaína o pentobarbital sódico inyectadas en el cerebro a través del foramen.

**Cuadro 3.** Material herpetológico de este trabajo

| Hospedero                  | Fecha de recolecta           | Localidad     | Estado  | Hospederos revisados |
|----------------------------|------------------------------|---------------|---------|----------------------|
| ANFIBIOS                   |                              |               |         |                      |
| <i>Lithobates megapoda</i> | 13/07/13                     | Cuitzeo       | Mich    | 2                    |
| <i>L. montezumae</i>       | 09/04/13; 16/04/13; 21/05/13 | Ciénaga Lerma | Edo.Mex | 36                   |
| <i>L. montezumae</i>       | 13/07/13                     | Zacapu        | Mich    | 2                    |
| <i>L. zweifeli</i>         | 21/07/13                     | Puruarán      | Mich    | 9                    |
| <i>L. zweifeli</i>         | 04/07/04                     | Tumbiscatio   | Mich    | 1                    |
| <i>L. vaillanti</i>        | 09/09/05                     | Catemaco      | Ver     | 1                    |
| <i>Lithobates sp.</i>      | 22/05/13                     | Ciénaga Lerma | Edo.Mex | 2                    |
| <i>Lithobates sp.</i>      | 04/07/04                     | Arteaga       | Mich    | 2                    |
| <i>Lithobates sp.</i>      | 12/07/13                     | Zacapu        | Mich    | 5                    |
| REPTILES                   |                              |               |         |                      |
| <i>Nerodia sp.</i>         | 08/07/04                     | NE            | Mich    | 1                    |
| <i>Thamnophis eques</i>    | 09/05/13; 06/06/13           | Xochimilco    | D. F.   | 9                    |
| <i>T. eques</i>            | 16/04/13; 22/05/13           | Ciénaga Lerma | Edo.Mex | 9                    |
| <i>T. eques</i>            | 03/08/11                     | Zumpango      | Edo.Mex | 1                    |
| <i>T. eques</i>            | 12/07/13                     | Cuitzeo       | Mich    | 3                    |
| <i>T. eques</i>            | 12/07/13                     | Pátzcuaro     | Mich    | 1                    |
| <i>T. eques</i>            | 11/07/13                     | Zirahuén      | Mich    | 1                    |
| <i>T. melanogaster</i>     | 12/04/13; 09/05/13; 02/06/13 | Xochimilco    | D. F.   | 9                    |
| <i>T. melanogaster</i>     | 03/08/11                     | Zumpango      | Edo.Mex | 1                    |
| <i>T. melanogaster</i>     | 12/07/13                     | Cuitzeo       | Mich    | 18                   |
| <i>T. melanogaster</i>     | 12/07/13                     | Pátzcuaro     | Mich    | 3                    |
| <i>Thamnophis sp.</i>      | 12/04/13                     | Xochimilco    | D. F.   | 8                    |
| <i>Thamnophis sp.</i>      | 16/04/13                     | Ciénaga Lerma | Edo.Mex | 4                    |
| <i>Thamnophis sp.</i>      | 03/08/11                     | Zumpango      | Edo.Mex | 6                    |
| <i>Thamnophis sp.</i>      | 22/07/04                     | Magdalena     | Jal     | 1                    |
| <i>Thamnophis sp.</i>      | 14/09/05                     | Aristeo       | Mich    | 1                    |
| <i>Thamnophis sp.</i>      | 20/07/04                     | NE            | Mich    | 1                    |

Abreviaturas para los estados: D. F., Distrito Federal; Edo.Mex, Estado de México; Jal, Jalisco; Mich, Michoacán; Ver, Veracruz. NE, no establecida.

### 4.3 Obtención de helmintos

Con el uso de microscopios estereoscópicos (en el caso de los anfibios) y la ayuda de lámparas o luz natural que iluminó el contenido visceral vaciado en charolas, se revisaron los vísceras de todos los hospederos recopilados para este trabajo, en búsqueda de los cestodos bajo estudio siguiendo la técnica descrita por Lamothe-Argumedo (1997). Los parásitos se contaron *in situ*, y se registró toda la información relacionada en hojas de campo. Los cestodos se extrajeron con la ayuda de pinceles finos y agujas de disección, para colocarlos en cajas de Petri con solución salina al 0.65%. Posteriormente, los parásitos se fijaron con formol al 4% caliente y se preservaron en alcohol al 70%, etiquetados con sus respectivos datos de recolecta para su estudio en microscopía de luz. Asimismo, se recolectaron fragmentos de éstos para analizarlos molecularmente colocándolos directamente en alcohol al 100%.

### 4.4 Procesamiento de secuencias

#### 4.4.1 Extracción de DNA, amplificación y secuenciación de los fragmentos de los genes utilizados

Los fragmentos de cestodos recolectados para la extracción de DNA, se preservaron en alcohol al 100% y se almacenaron en un congelador a -20°C. Para la digestión de las muestras se usó proteinasa K (25 mg/ml), 500 µl de buffer STE y 75 µl de SDS al 10% y posteriormente se incubaron a 55°C durante 24 horas, y se extrajo DNA con la técnica fenol-cloroformo (Hillis et al., 1996). Otras muestras se extrajeron con el kit BS628 *EZ-10 Spin Column Genomic DNA* Bio Basic Inc, y se digirieron con 300 µl de solución ACL (Animal Cell Lysis Solution) y 20 µl de proteinasa k, incubadas a 55°C de 1 a 3 horas, agitando ocasionalmente. Se evaluó la cantidad de DNA en el espectofotómetro a través del programa Nanodrop 2000.

Los primers 28S-5' (5'-TAC CCG CTG AAC TTA AGC ATA T-3') y 28S-3' (5'-CTC CTT GGT CCG TGT TTC AAG AC-3') fueron utilizados para amplificar una porción del extremo 5' del gen 28S rRNA de 1149 pares de bases, esta zona comprende las regiones D1-D3 (Zehnder & Mariaux, 1999). Para el gen mitocondrial COI se amplificó la región del código de barras con los primers MplatCOX1dF (5'-TGTA AACGACGGCCAGTTTWCITTRGATCATAAG-3') y MplatCOX1dR (5'-CAGGAAACAGCTATGACTGAAAYAAIIGGATCICCACC-3'), y las colas M13F y M13R que se encuentran subrayadas al final de la región 5' de los primers degenerados MplatCOX1d

(ambos pares de primers amplifican la misma región), el tamaño de dicho fragmento es de aproximadamente 650 pares de bases (Moszczyńska et al., 2009).

Las condiciones de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) para los genes 28S y COI fueron las siguientes: buffer 10xNH<sub>4</sub> (1.5 µl), dNTP's 10mM (0.3 µl), MgCl<sub>2</sub> 50mM (0.75 µl), forward y reverse primers 10µM (0.24 µl), taq polimerasa Bioline (0.12 µl), 2 µl de DNA y agua destilada (9.85 µl). El volumen final por reacción fue de 15 µl.

La amplificación de los fragmentos de los genes se llevó a cabo en un termociclador Eppendorf Select Cyclor con los siguientes parámetros: desnaturalización inicial 94°C (5min para el 28S; 2min para el COI), 35 ciclos con 30s de desnaturalización del DNA a 94°C, 30s para la alineación de los primers (60°C para el 28S; 50°C para el COI), y 45s o 1min (28S; COI) a 72°C para la extensión del DNA. La extensión final fue de 10min a 72°C, preservando los amplificadores a -4°C. El tamaño de los productos de la PCR se evaluó en un gel de agarosa al 1.5% visualizando el DNA con Gel Red mezclado con Buffer al 6X. De algunas muestras en las que se obtuvieron amplificadores de diferente tamaño, (principalmente del gen COI) se hizo una purificación por centrifugación con el Kit *Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System Promega*. Se secuenciaron las dos hebras de todos los fragmentos de PCR del gen mitocondrial, mientras que de algunas muestras del 28S solo se secuenció una debido a la buen tamaño y calidad obtenidos, esto lo llevó a cabo personal encargado del Laboratorio de Biología Molecular de la Biodiversidad y la Salud del Instituto de Biología de la UNAM con el secuenciador automático ABI Prism 310 de Applied Biosystems.

En este trabajo se obtuvieron un total de 75 secuencias, de ellas 40 corresponden al gen 28S y 35 al COI. Se logró secuenciar los fragmentos de ambos genes de 34 individuos (Anexo I, Cuadro 16).

#### 4.4.2 *Secuencias ya disponibles y grupos externos*

Para llevar a cabo el análisis filogenético del orden, además de las secuencias generadas, se utilizaron las disponibles en la base de datos del Genbank (acceso en la red con la página <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) del gen 28S rDNA de todos los parásitos pertenecientes al orden Proteocephalidea, incluyendo las secuencias del grupo externo conformado por cuatro especies: *Acanthobothrium* sp. (Tetraphyllidea; Onchobothriidae), Tetraphyllidea, *Rhinebothrium maccalumi* (Rhinebothriidea; Rhinobothriidae) y *Phyllobothrium lactuca* (Phyllobothriidae; Phyllobothriidea), grupo

externo utilizado por de Chambrier et al. (2004). En total, de este gen se obtuvieron 150 secuencias del genbank (números de acceso, Anexo I, Cuadro 16).

Para el análisis de las secuencias obtenidas del COI se incluyó el grupo externo *Acanthobothrium* cf. *terezae* y cuatro secuencias de proteocefálicos obtenidas del Genbank (Anexo I, Cuadro 16).

#### 4.4.3 Edición y alineamiento de secuencias y bases de datos generadas

La edición de las secuencias se realizó con el programa de cómputo Geneious Pro 5.1.7 (Rozen & Skaletsky, 2000). Para corroborar la similitud con otras secuencias de organismos cercanos a los de este estudio, se realizó una búsqueda con Blast en la página del Genbank para cada secuencia obtenida.

Se generaron dos bases de datos nucleotídicas, una del gen COI (gen mitocondrial) y otra del 28S (gen nuclear). Cada una de ellas se alineó empleando MUSCLE (Edgar, 2004) a través de la página electrónica <http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle>.

Posteriormente las bases de datos se recortaron en los extremos para homogeneizar el número de caracteres por secuencia, y se originó una tercera al concatenar ambas bases, con la finalidad de contrastar los resultados con los obtenidos de los análisis de la base del gen nuclear. En seguida se describen las características de cada una de ellas, para detalles de los taxa Anexo I, Cuadro 16.

#### *Gen mitocondrial*

- COI: 41 secuencias (35 derivadas de este trabajo, 5 obtenidas del genbank incluyendo al grupo externo y cuatro correspondientes a especies de los géneros *Proteocephalus* y *Corallobothrium*, y una más tomada de Velarde-Aguilar, 2014 (clave 34805)). La matriz analizada incluye 486 nucleótidos alineados. Estos datos fueron analizados con *Máxima verosimilitud*.

La matriz del gen mitocondrial únicamente se analizó con máxima verosimilitud, como análisis preliminar, pues se cuentan con pocas secuencias de este gen para otros proteocefálicos, sin embargo, se efectuó dicho análisis para tener una idea del desempeño de éste en la investigación de las relaciones filogenéticas del grupo.



### *Gen nuclear*

- 28S: 190 secuencias (40 derivadas de este trabajo y 150 del genbank, incluyendo 4 que constituyen el grupo externo). La matriz analizada incluye 692 nucleótidos alineados. Estos datos fueron analizados con *Parsimonia*, *Máxima verosimilitud* e inferencia Bayesiana

### *28S+COI "Concatenado"*

- 28S+COI: 190 secuencias del gen 28S (40 derivadas de este trabajo y 150 del genbank, incluyendo 4 que constituyen el grupo externo), más 34 secuencias generadas en este estudio del COI. La matriz de datos incluye 1177 nucleótidos alineados. Estos datos fueron analizados con *Parsimonia*, *Máxima verosimilitud* y e inferencia *Bayesiana*.

## **4.5 Evaluación de distancias genéticas**

Las distancias genéticas corregidas de las secuencias generadas para el gen COI fueron obtenidas utilizando el modelo de sustitución Hasegawa, Kishino y Yano, 1985 (HKY85) con la ayuda del programa PAUP 4.0a136 (X86) Swofford (2014). Posteriormente fue construido un fenograma mediante el método de Neighbor Joining. Los valores obtenidos se presentan en porcentajes.

## **4.6 Análisis filogenéticos**

### 1. Análisis con Parsimonia

#### 28S, 28S+COI

La reconstrucción filogenética con Máxima Parsimonia se realizó mediante el uso del programa TNT (Goloboff et al., 2005), utilizando los siguientes parámetros: Sectorial search, tree fusing, 50 random addition sequences, 1 random seed, replace existing trees, auto constrain, además se corrió un análisis para obtener los valores bootstrap con 100 réplicas.

### 2. Análisis con Máxima Verosimilitud

#### COI, 28S, 28S+COI

Estos análisis se realizaron en el programa RAxML Versión 7.2.8 (Stamatakis, 2014), con los siguientes parámetros: -f (tipo de algoritmo seleccionado para el análisis) a (asigna pesos individuales a cada columna en el alineamiento) -s (nombre del archivo con extensión .phy) -o (grupo externo) -n (nombre de los outputs) -m GTRCAT (matriz de

substitución) -x (número azaroso de semilla a partir del cual comienza el bootstrap) -# 1000 (número de réplicas de bootstrap) -p (número azaroso de semilla para inferencia a través de parsimonia). Todos los parámetros libres del modelo fueron estimados por el programa.

### 3. Análisis Bayesiano

#### 28S, 28S+COI

Estos análisis se realizaron con el programa Mr Bayes v3.2.3 x64 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003) con los siguientes parámetros: lset nst=6 (modelo de sustitución GTR) rates=invgamma (distribución gamma de los sitios variables con una proporción de sitios invariables); unlink statefreq=(all) revmat=(all) shape(all) pinvar=(all) (separación de parámetros para cada partición); prset applyto=(all) ratepr=variable (prset usado para definir la distribución de las probabilidades anteriores sobre los parámetros del modelo; ratepr establece una proporción global igual para todas las particiones); mcmc ngen=4000000 y 3000000 (28S y 28S+COI respectivamente) relburnin=yes burninfrac=0.25 (porcentaje de burnin por default, eliminación de 25% de las primeras muestras de la cadena fría); nchains=4 savebrlens=yes (salvar ramas largas).

## 4.7 Análisis morfológico

### 4.7.1 Tinción

En el Centro de Biología de la Academia de Ciencias de la República Checa, Instituto de Parasitología, con la ayuda del Dr. Tomás Scholz y la asistencia técnica de la laboratorista Martina Borovková, los cestodos con clave 3523-04 (de *Thamnophis eques*, de San Pedro Tianguistenco, Estado de México, recolectado el 23 de mayo de 2013), y 3585-04 (de *T. eques*, del Lago Cuitzeo, Michoacán, recolectado el 20 de julio de 2013) se tiñieron con carmín hidroclicórico de Mayer (para ver preparación de la solución, consultar de Chambrier, 2001).

El resto de los cestodos se tiñió con paracarmín de Mayer en las instalaciones del Instituto de Biología de la UNAM. Para la preparación de esta solución consultar Lamothe-Argumedo (1997). Las técnicas de tinción se describen en el Anexo II.

Se tiñieron 42 proteocefálicos, que se montaron en 93 preparaciones.

#### 4.7.2 Cortes histológicos

El procedimiento se realizó con base en Scholz & de Chambrier de 2013 (no publicado), y se llevó a cabo en las instalaciones del Museo de Historia Natural de Ginebra (MHNG) con la ayuda del investigador Alain de Chambrier y la asistencia técnica de Janik Pralong.

Las siguientes muestras fueron procesadas para elaborar cortes histológicos transversales: 3523-02, 3523-06, X4 de *T. melanogaster* (Lago de Xochimilco, D. F., recolectado el 12 de abril de 2013); S1.1; S1. 2; S1.3 de *T. eques* (Lago Zumpango, Estado de México recolectado el 3 de agosto de 2012) y S2 de *T. melanogaster* (Lago Zumpango, Estado de México recolectado el 3 de agosto de 2012).

El método se describe brevemente: el material helmintológico se deshidrató en una serie de alcoholes graduales (75% (un día), 95% (dos horas) y 100% dos veces (dos horas y media y una hora, respectivamente), finalmente se colocaron en tolueno puro para su aclaración. Posteriormente se incluyeron en viales de vidrio con fondo cóncavo con parafina. Una vez fría, la parafina se retiró del cristal y se manipuló bajo el microscopio estereoscópico para cortarla y definir una forma cuadrangular que se colocó sobre una base de madera cuadrada de aproximadamente  $2\text{cm}^3$ , sellando ambos objetos con parafina. El cuadrado de parafina se cortó dándole una forma piramidal, cuya base menor rectangular debe ser de 1 a 2 mm de ancho. Posteriormente, se hicieron cortes de 12 a 15  $\mu\text{m}$  con un microtomo. Las secciones resultantes se unieron la una con la otra al cortar con el microtomo. Los cortes resultantes se colocaron en un portaobjetos y se tiñieron con hematoxilina de Weigert y se contratiñieron con eosina B al 1% acidificada con cinco gotas de ácido acético puro para 100ml de solución; para detalles de la preparación del colorante ver de Chambrier (2001).

Se generaron 95 preparaciones de cortes histológicos de 7 individuos.

#### 4.7.3 Caracterización morfométrica

Los individuos de cada especie fueron medidos con ayuda de un ocular micrométrico adaptado a un microscopio óptico Olympus CX40. Se realizaron esquemas de los escólices y proglótidos maduros, utilizando una cámara clara adaptada a un microscopio óptico. Para cada estructura se calculó el mínimo, el máximo y el promedio. Las medidas son expresadas en micrómetros a menos que otra cosa se indique.

Los ejemplares se determinaron con las claves taxonómicas de Schmidt (1986) y Khalil et al. (1994) y literatura especializada. Las preparaciones de cada especie se depositaron en la Colección Nacional de Helmintos (CNHE) del Instituto de Biología de la UNAM.

La caracterización de las especies recolectadas en este estudio se continúan con los siguientes datos: especie de hospedero(s) en los que se recolectaron y fecha de recolecta, localidad de recolecta, sitio de infección y claves originales del material (morfológico y molecular) sobre el cual se basó la caracterización morfométrica (detalles de claves, cuadro 16). Posteriormente, se continúa con una diagnosis diferencial en la que se discuten los rasgos utilizados para realizar su identificación, y los porcentajes de las distancias genéticas intra e interespecíficas, información que se compara con el resto de las especies caracterizadas en este trabajo.

Notas:

Al final de cada caracterización se presenta un cuadro comparativo de la especie de *Ophiotaenia* descrita y las registradas en México. Al término de todas las caracterizaciones se presenta un cuadro comparativo con información ampliada de los caracteres morfológicos de las nueve especies descritas.

Algunos datos de las especies del género *Ophiotaenia* parásitos de anfibios y reptiles en el continente Americano se señalan en los Anexos III y IV (Cuadros 17 y 18 respectivamente).

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Hospederos positivos a la infección con proteocefálidos

De las 60 ranas colectadas pertenecientes a cinco taxa, solo seis ejemplares se encontraron parasitados por proteocefálidos: *Lithobates megapoda*; *L. zweifeli*, *L. vaillanti* y *Lithobates* sp. Por su parte, 22 de 77 culebras revisadas de las especies *Thamnophis melanogaster*, *T. eques* y un individuo del género *Nerodia*, estuvieron parasitados con uno a más de cinco de los helmintos de estudio, Cuadro 4.

**Cuadro 4.** Hospederos positivos con proteocefálicos y número de parásitos en cada uno de ellos

| Hospedero                  | Localidad     | Estado  | Hospederos revisados | Hospederos positivos | Proteocefálicos por hospedero |
|----------------------------|---------------|---------|----------------------|----------------------|-------------------------------|
| ANFIBIOS                   |               |         |                      |                      |                               |
| <i>Lithobates megapoda</i> | Cuitzeo       | Mich    | 2                    | 1                    | 2                             |
| <i>L. montezumae</i>       | Ciénaga Lerma | Edo.Mex | 36                   | 0                    | 0                             |
| <i>L. montezumae</i>       | Zacapu        | Mich    | 2                    | 0                    | 0                             |
| <i>L. zweifeli</i>         | Puruarán      | Mich    | 9                    | 1                    | 1                             |
| <i>L. zweifeli</i>         | Tumbiscatio   | Mich    | 1                    | 1                    | 1                             |
| <i>L. vaillanti</i>        | Catemaco      | Ver     | 1                    | 1                    | 1                             |
| <i>Lithobates sp.</i>      | Ciénaga Lerma | Edo.Mex | 2                    | 0                    | 0                             |
| <i>Lithobates sp.</i>      | Arteaga       | Mich    | 2                    | 2                    | 1                             |
| <i>Lithobates sp.</i>      | Zacapu        | Mich    | 5                    | 0                    | 0                             |
| REPTILES                   |               |         |                      |                      |                               |
| <i>Nerodia sp.</i>         | NE            | Mich    | 1                    | 1                    | 5                             |
| <i>Thamnophis eques</i>    | Xochimilco    | D. F.   | 9                    | 0                    | 0                             |
| <i>T. eques</i>            | Ciénaga Lerma | Edo.Mex | 9                    | 2                    | 1, 4                          |
| <i>T. eques</i>            | Zumpango      | Edo.Mex | 1                    | 1                    | 3                             |
| <i>T. eques</i>            | Cuitzeo       | Mich    | 3                    | 1                    | 5                             |
| <i>T. eques</i>            | Pátzcuaro     | Mich    | 1                    | 0                    | 0                             |
| <i>T. eques</i>            | Zirahuén      | Mich    | 1                    | 0                    | 0                             |
| <i>T. melanogaster</i>     | Xochimilco    | D. F.   | 9                    | 2                    | 2, 1                          |
| <i>T. melanogaster</i>     | Zumpango      | Edo.Mex | 1                    | 1                    | 1                             |
| <i>T. melanogaster</i>     | Cuitzeo       | Mich    | 18                   | 9                    | 5,4,5,3,5,5,5,1,3             |
| <i>T. melanogaster</i>     | Pátzcuaro     | Mich    | 3                    | 1                    | 1                             |
| <i>Thamnophis sp.</i>      | Xochimilco    | D. F.   | 8                    | 1                    | 1                             |
| <i>Thamnophis sp.</i>      | Ciénaga Lerma | Edo.Mex | 4                    | 0                    | 0                             |
| <i>Thamnophis sp.</i>      | Zumpango      | Edo.Mex | 6                    | 0                    | 0                             |
| <i>Thamnophis sp.</i>      | Magdalena     | Jal     | 1                    | 1                    | 1                             |
| <i>Thamnophis sp.</i>      | Aristeo       | Mich    | 1                    | 1                    | 1                             |
| <i>Thamnophis sp.</i>      | NE            | Mich    | 1                    | 1                    | 1                             |

Abreviaturas para los estados: D. F., Distrito Federal; Edo.Mex, Estado de México; Jal, Jalisco; Mich, Michoacán; Ver, Veracruz.

## 5.2 Evaluación de distancias genéticas

Las distancias entre cada especie de *Ophiotaenia* caracterizada se muestran en el Cuadro 5. El árbol Neighbor Joining no se presenta en este trabajo, sin embargo, la topología fue la misma que la de la figura 1.

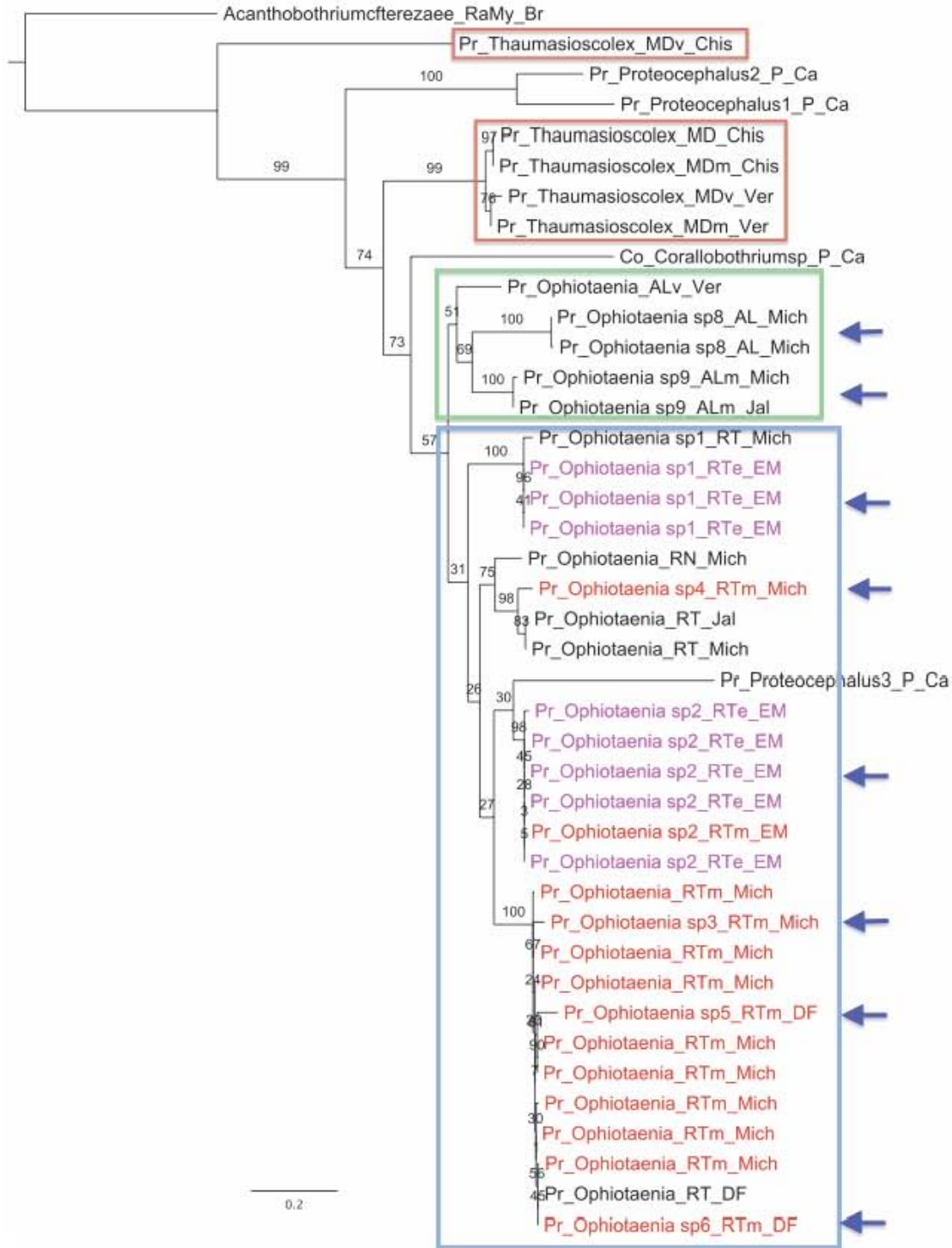
Cuadro 5. Porcentajes de distancias genéticas entre las especies de *Ophiotaenia* caracterizadas.

|                          | <i>Ophiotaenia</i><br>sp. 1 | <i>Ophiotaenia</i><br>sp. 2 | <i>Ophiotaenia</i><br>sp. 3 | <i>Ophiotaenia</i><br>sp. 4 | <i>Ophiotaenia</i><br>sp. 5 | <i>Ophiotaenia</i><br>sp. 6 | <i>Ophiotaenia</i><br>sp. 8 | <i>Ophiotaenia</i><br>sp. 9 |
|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| <i>Ophiotaenia</i> sp. 1 | –                           | 14-15                       | 14                          | 14                          | 14                          | 13                          | 19-20                       | 17                          |
| <i>Ophiotaenia</i> sp. 2 |                             | –                           | 10                          | 11                          | 12                          | 10                          | 18-19                       | 14-15                       |
| <i>Ophiotaenia</i> sp. 3 |                             |                             | –                           | 13                          | <b>6</b>                    | <b>2</b>                    | 20                          | 16                          |
| <i>Ophiotaenia</i> sp. 4 |                             |                             |                             | –                           | 12                          | 12                          | 16                          | 15                          |
| <i>Ophiotaenia</i> sp. 5 |                             |                             |                             |                             | –                           | <b>4</b>                    | 20                          | 18                          |
| <i>Ophiotaenia</i> sp. 6 |                             |                             |                             |                             |                             | –                           | 18                          | 14                          |
| <i>Ophiotaenia</i> sp. 8 |                             |                             |                             |                             |                             |                             | –                           | 14-16                       |
| <i>Ophiotaenia</i> sp. 9 |                             |                             |                             |                             |                             |                             |                             | –                           |

En negritas los valores más bajos

## 5.3 Análisis filogenéticos

En todos los análisis efectuados del 28S y el 28S+COI, se obtuvo prácticamente la misma topología. No obstante, los resultados de parsimonia, mostraron poco menos resolución que los otros análisis al arrojar más politomías, y aunque hay algunas diferencias en la topología de los árboles, se conservan las relaciones de los organismos bajo estudio en todas las filogenias. Debido a que la adición de las secuencias de COI de los organismos recolectados en esta tesis en la matriz concatenada no modifica la información obtenida únicamente con las secuencias de 28S, se eligió el árbol del gen 28S obtenido con máxima verosimilitud, como base para la discusión de este trabajo, especificando en caso necesario alguna diferencia relevante con las otras topologías obtenidas. Las figuras 1 y 2 corresponden a los árboles seleccionados, del gen COI y 28S respectivamente.



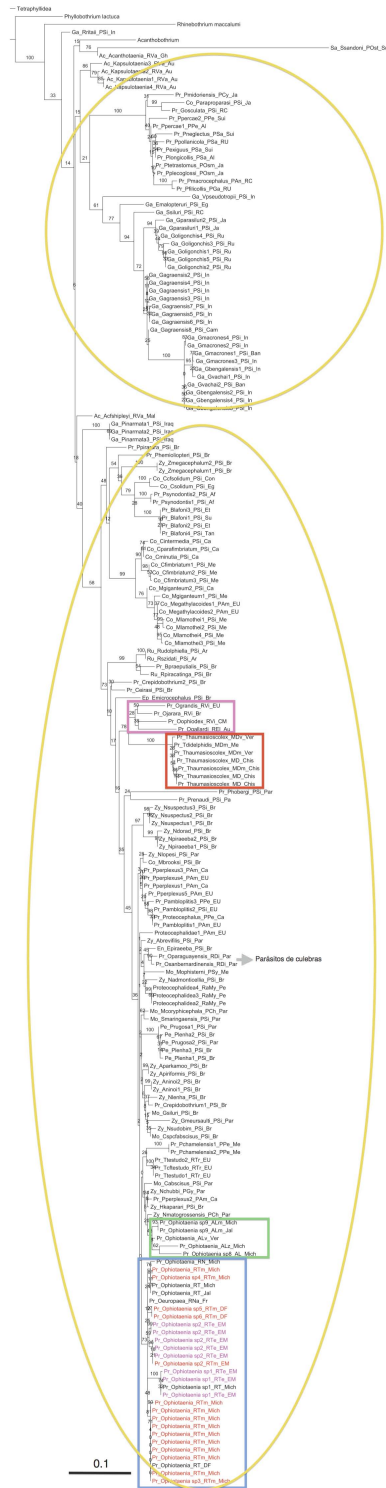
**Figura 1.** Árbol de máxima verosimilitud con valores bootstrap basado en secuencias de COI. Subfamilias abreviadas al comienzo de los nombres de los taxa obtenidos del genbank [Co, Corallobothriinae; Pr, Proteocephalinae]. Los nombres *Ophiotaenia* sp. 1 - 9 corresponden con las caracterizaciones morfológicas presentadas posteriormente y se señalan con flechas. Claves de hospederos: P, peces; A, anfibios (L, *Lithobates* sp.; Lm, *L. megapoda*; Lv, *L. vaillanti*); R, reptiles (N, *Nerodia* sp.; T, *Thamnophis* sp.; Te, *T. eques*; Tm, *T. melanogaster*); M, mamíferos (D, *Didelphis* sp.; Dm, *D. marsupialis*; Dv, *D. virginiana*). Claves de localidades: Ca, Canadá; Chis, Chiapas; DF, Distrito Federal; EM, Estado de México; Jal, Jalisco.

Jalisco; Mich, Michoacán; Ver, Veracruz. Proteocefalinos parásitos de tlacuaches (recuadros rojos); secuencias de *Ophiotaenia* spp. de ranas (recuadro verde); parásitos de culebras (recuadro azul). El ancho de la escala indica el número de sustituciones por sitio.

En este árbol se observa una clara separación de los parásitos dependiendo de los hospederos a los que parasitan. Por un lado, las especies de *Ophiotaenia* de culebras (recuadro azul), por otro las de ranas (recuadro verde) y finalmente los proteocefalinos de tlacuaches (recuadros rojos). Sin embargo, una especie de proteocefalino parásito de peces de Canadá se relaciona con algunos de los proteocefalinos de *Thamnophis eques* (letras rosas), mientras que las otras dos especies parásitas de peces en Canadá son hermanas de todos los parásitos de este estudio, exceptuando a una especie del género *Thaumasioscolex* en Chiapas.

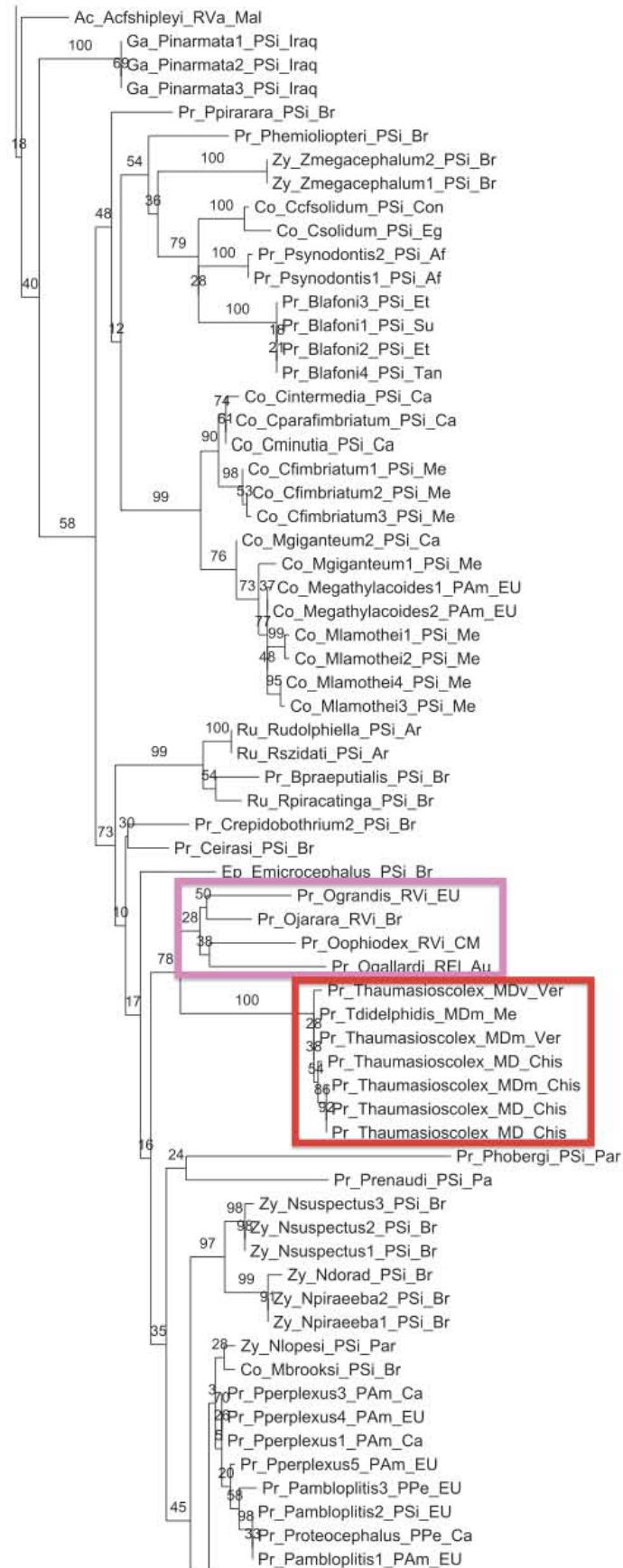
Asimismo, la especie de *Corallobothrium* de peces en Canadá es hermana del clado conformado por *Ophiotaenia* spp. de culebras y ranas (recuadro azul y verde).

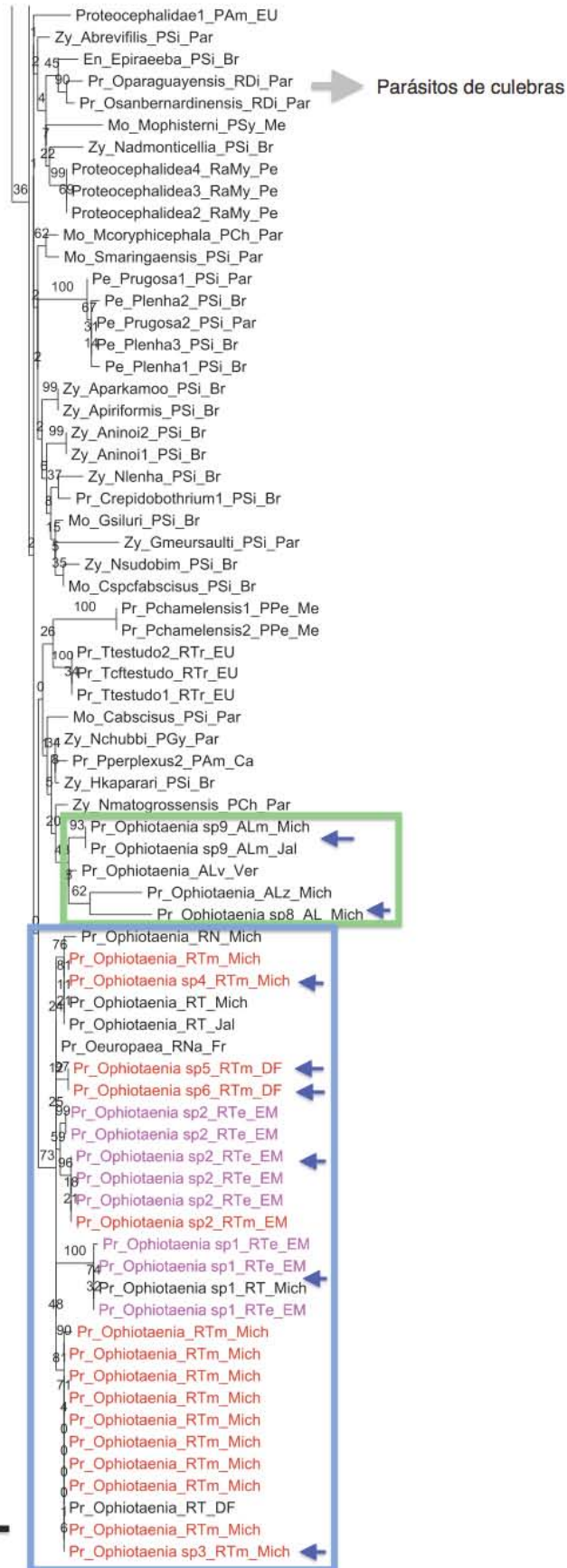




**Figura 2.** Árbol de máxima verosimilitud con valores bootstrap, obtenido del análisis de secuencias del 28S rDNA. Clado de especies parásitas de serpientes venenosas (recuadro rosa); parásitos de tlacuaches, exceptuando a *Thaumasiolelex didelphidis* parásito de didélfidos en México obtenido del genbank (recuadro rojo); parásitos de ranas (recuadro verde); parásitos de culebras (recuadro azul); con letras color rosa los de *Thamnophis eques* y con rojo los de *T. melanogaster*. En círculos amarillos se señalan dos grupos constituidos principalmente por parásitos de ciertas regiones. El ancho de la escala indica el número de sustituciones por sitio.







**Figura 3.** Acercamiento del árbol de máxima verosimilitud con valores bootstrap, obtenido de un análisis del 28S rDNA. Grupo externo: *Acanthobothrium* sp., *Phyllobothrium lactuca*, *Rhinebothrium maccallumi* y Tetraphyllidea gen. sp., (detalles en Anexo I, Cuadro 16). Subfamilias abreviadas al comienzo de los nombres de cada taxa [Ac, Acanthotaeniinae; Co, Corallobothriinae; En, Endorchiinae; Ep, Ephedrocephalinae; Ga, Gangesiinae; Mo, Monticelliinae; Pe, Peltidocotyliinae; Pr, Proteocephalinae; Ru, Rudolphiellinae; Sa, Sandonellinae; Te, Testudotaeniinae; Zy, Zygobothriinae]; seguidas por el nombre de la especie reducido a la primera letra del género más el epíteto específico; tipo de hospedero al que parasita y país de origen abreviado (columna 5 y 6 respectivamente, de Anexo I, Cuadro 16). Los individuos de este trabajo se clasificaron como *Ophiotaenia* sp. 1 a 9 (señaladas con flechas) o únicamente se indica el género (ya sea *Ophiotaenia* o *Thaumasioscolex*). Clado de las especies parásitas de serpientes venenosas (recuadro rosa); parásitos de tlacuaches (recuadro rojo); parásitos de ranas (recuadro verde); parásitos de culebras (recuadro azul). Especies de *Ophiotaenia* parásitas de *Thamnophis eques* y *T. melanogaster*. El ancho de la escala indica el número de sustituciones por sitio.

En esta filogenia se observan dos grandes clados, uno de ellos está constituido por parásitos de varanos de la familia Acanthotaeniinae de Australia y África, por el agregado de especies de *Proteocephalus* parásitos de peces de la región Paleártica (incluyendo varios organismos de Europa) erigido por de Chambrier et al. (2004) y por gangesinos principalmente de la región oriente de Asia. En el otro clado predominan los parásitos del continente Americano (incluidos los de este estudio), algunos de África, Asia, uno de Australia y uno de Europa. Doce de las trece subfamilias del orden Proteocephalidea están representadas en las filogenias de este trabajo, faltando únicamente Marsypocephalinae. Por su parte *Acanthobothrium* sp., una de las cuatro especies del grupo externo se intercala con el interno.

Los parásitos de distintos taxa de reptiles y peces se encuentran dispersos en toda la filogenia a diferencia de los de mamíferos y anfibios. No obstante, los individuos secuenciados en este trabajo forman tres clados bien definidos, disociándose por un lado en los proteocefalinos que parasitan didélfidos (recuadro rojo); otro clado para las especies de *Ophiotaenia* de ranas (recuadro verde) y otros para las de culebras (recuadro azul). Los proteocefalinos de tlacuaches (pertenecientes al género *Thaumasioscolex*, entre ellos la especie *T. didelphidis* obtenida del genbank) forman un grupo, y se relacionan con varias especies de *Ophiotaenia*. Por su parte, el taxón basal de las especies de *Ophiotaenia* de ranas es un parásito de peces.

Uno de los clados comprende a los parásitos de ranas, peces y tortugas, además del grupo de las especies parásitas de culebras de México y una de Francia, cuya posición dentro de este grupo no se definió.

En el árbol del gen COI casi todas las secuencias de los parásitos de *Thamnophis melanogaster* (incluyendo a *Ophiotaenia* sp. 5 y 6 hospedadas por esta especie de hospedero) se agruparon, mientras que en los análisis del 28S y concatenado, *Ophiotaenia* sp. 5 y 6 se encuentran en un clado separado. De forma semejante, en la filogenia del gen

mitocondrial, los individuos de la especie *Ophiotaenia* sp. 2 constituyen un grupo, mientras que en el resto de los análisis se disocian en dos clados que a su vez forman parte de uno solo.

## 5.4 Análisis morfológico

### 5.4.1 *Diagnosis diferencial a nivel subfamilia*

Siguiendo las clasificaciones propuestas por Schmidt (1986) y Jones et al. (1994) los cestodos caracterizados en este trabajo forman parte del orden Proteocephalidea Mola, 1928, pues presentan un escólex con cuatro ventosas y vitelógenas en dos bandas laterales y foliculares. La posición medular de los órganos genitales de nuestros ejemplares permitiría su incorporación a cuatro de las 13 subfamilias actualmente reconocidas para el orden Proteocephalidea (Cuadro 1): Acanthotaeniinae, Gangesiinae, Corallobothriinae y Proteocephalinae; sin embargo, las especies de las primeras dos subfamilias exhiben rostello sin y con ganchos respectivamente, y Corallobothriinae un metascolex (de Chambrier et al., 2009a), a diferencia de los parásitos del presente estudio que carecen de estas estructuras. Por lo mismo, los asignamos a la subfamilia Proteocephalinae.

### 5.4.2 *Diagnosis diferencial a nivel genérico*

La subfamilia Proteocephalinae La Rue, 1911, comprende 19 géneros (Cuadro 1). Los organismos estudiados en este trabajo difieren de la mayoría por las características que se señalan a continuación para cada uno: Las especies del género *Barsonella* de Chambrier, Scholz, Beletew & Mariaux, 2009 tienen un escólex con aberturas adicionales posteriores a cada ventosa, musculatura circular en el margen anterior de las ventosas, órgano apical glandular pequeño de pared delgada y parasita peces siluriformes en África (de Chambrier et al., 2009b); en *Brayela* Rego, 1984 el escólex es claviforme, las ventosas poco profundas y presenta lóbulos con forma de corazón invertido, además de tener un largo total de 6 a 9 mm y parasitar peces siluriformes en Sudamérica (de Chambrier et al., 2014); *Brooksiella* Rego, Chubb & Pavanelli, 1999 tiene metascolex y parasita peces siluriformes en Sudamérica (Rego et al., 1999); *Cangatiella* Pavanelli & Machado dos Santos, 1991 tiene vitelógenas que interrumpen la musculatura longitudinal interna ventralmente y pueden ser medulares y corticales, además de que parasita peces siluriformes en Sudamérica (Pavanelli et al., 1991); *Cairaella* Coquille & de Chambrier, 2008 parásito de lagartijas en Centroamérica, posee una red amplia de canales osmorregulatorios en el córtex, un escólex aplanado dorsoventralmente con ventosas

elongadas y musculatura circular bien desarrollada en su región anterolateral (Coquille & de Chambrier, 2008); *Chambriella* Rego, Chubb & Pavanelli, 1999 presenta un septo en las cavidades de cada ventosa del escólex y una región apical conspicua, parasita peces siluriformes en Sudamérica (Rego et al., 1999); *Crepidobothrium* Monticelli, 1900 posee ventosas grandes poco modificadas, con un margen posterior mellado y ventosas con forma de corazón, testículos en dos campos laterales y parasita reptiles en Sudamérica (Rego, 1994; Rego & Ivanov, 2001); *Deblocktaenia* Odening, 1963 se reportó en culebras de Madagascar y presenta un escólex muy ancho con cavidades divididas por septos en cada ventosa que la separan en cuatro cámaras musculares (Rego, 1994; de Chambrier et al., 2010); *Euzetiella* de Chambrier, Rego & Vaucher, 1999 muestra un estróbilo apolítico, escólex con ventosas uniloculares en forma de triángulo inverso y parasita peces siluriformes en Sudamérica (de Chambrier et al., 1999); *Glanitaenia* de Chambrier, Zehnder, Vaucher & Mariaux, 2004 parasita peces siluriformes Paleárticos y presenta un escólex no armado, con cuatro ventosas uniloculares y una ventosa apical bien desarrollada muy muscular con una cavidad profunda y testículos en un campo (de Chambrier et al., 2004); *Macrobothriotaenia* Freze, 1965 son organismos de 5-6 cm de largo, el escólex está muy modificado, es mucho más ancho que el cuello y se forma por cuatro lóbulos separados por surcos profundos, y ventosas con forma de pinzas que abren posterolateralmente y una bolsa del cirro larga que puede alcanzar la línea media del proglótido, y poros genitales postecuatorial, parasita serpientes de la familia Xenopeltidae en el Sureste de Asia (Scholz et al., 2013); *Margaritaella* Arredondo & Gil de Pertierra, 2012 parasita peces siluriformes en Sudamérica, presenta un escólex con un cluster (no rodeado por una membrana) de células glandulares con forma de gota debajo de las ventosas, testículos arreglados casi en un campo constituido por dos filas paralelas separadas por el útero, ovario que no alcanza la parte posterior del proglótido, tiene forma de "H" y ramas delgadas muy foliculadas en los bordes (Arredondo & Gil de Pertierra, 2012); *Proteocephalus* Weinland, 1858 presenta los testículos en un campo continuo a lo largo del proglótido (Rego, 1994); *Pseudocrepidobothrium* Rego e Ivanov, 2001 parasita peces siluriformes en la Amazonia y son cestodos con pocos proglótidos y un escólex con ventosas con forma de corazón con una muesca en la región anterior, Anexos ventrolaterales en los proglótidos, carecen de folículos vitelinos en la región preporal, útero sacular (Rego e Ivanov, 2001); *Scholzia* de Chambrier, Rego & Gil de Pertierra, 2005 presenta proglótidos craspedotas con cuatro velos lobulados (dos ventrales y dos dorsales) en la región posterior, escólex tetralobulado más ancho que el cuello, con cuatro ventosas ovales con forma de taza dirigidas anteriormente y una región apical muy arrugada, testículos en un campo y parasitan peces siluriformes en la región Neotropical (de Chambrier et al., 2005); *Tejidotaenia* Freze, 1965 presenta ventosas piriformes, pleomórficas, uniloculares, divididas ocasionalmente en dos partes, pero no formando

loculos verdaderos, testículos en uno o dos campos más compactos en la región anterior, ovario no basal y parasitan lagartijas "*Teiidae*" en Sudamérica (Rego & de Chambrier, 2000); *Tenuispinosus* Feng Wei, 1997 parasita peces siluriformes en China (<http://bug.tamu.edu/research/collection/hallan/Platyhelminthes/Family/Proteocephalidae.txt>); *Thaumasioscolex* Cañeda-Guzmán, de Chambrier & Scholz, 2001, tienen un gran tamaño (hasta 1 metro), escólex grande con cuatro lóbulos separados y ventosas en la cavidad externolateral que abren lateralmente, además de proglótidos grávidos inversamente craspedotas y parasitan mamíferos didélfidos en México (Cañeda-Guzmán et al., 2001).

Los organismos de estudio a diferencia de las especies de los géneros mencionados, presentan folículos vitelinos medulares (en el caso de organismos de los que se obtuvo material para realizar cortes histológicos), escólex inerte, con ventosas uniloculares y testículos dispuestos principalmente en dos campos laterales, características que corresponden al género *Ophiotaenia* La Rue, 1911 (de Chambrier et al., 2012).

#### 5.4.3 Caracterización morfométrica de las especies del género *Ophiotaenia*

Clase: Cestoda

Subclase: Eucestoda

Orden: Proteocephalidea

Familia: Proteocephalidae

Subfamilia: Proteocephalinae

Género: *Ophiotaenia*

##### 5.4.3.1 Especies parásitas de culebras

#### ***Ophiotaenia* sp. 1**

Proteocephalidae, Proteocephalinae. Platelminetos de aproximadamente 24 a 45 cm largo ( $x=36$ ,  $n=3$ ) y de 819 a 1mm ancho ( $x=940$ ,  $n=3$ ). Estróbilo acraspedota, anapolítico, compuesto de 287 a 409 proglótidos totales ( $x=348$ ,  $n=2$ ): 147 a 176 inmaduros ( $x=162$ ,  $n=2$ ), 32 a 41 ( $x=37$ ,  $n=2$ ) maduros, 10 a 25 ( $x=18$ ,  $n=2$ ) pregrávidos y 69 a 196 ( $x=133$ ,  $n=2$ ) grávidos.

Escólex alargado, ancho en la parte posterior y angosto hacia la anterior, con un largo de 619 a 1.24mm ( $x=930$ ,  $n=2$ ) y ancho máximo de 428 a 471 ( $x=450$ ,  $n=2$ ) y mínimo



de 273 a 382 ( $x=328$ ,  $n=2$ ); presenta dos pares de ventosas musculares uniloculares anterolaterales, cada uno orientado lateralmente, cuyo diámetro va de 59 a 69 ( $x=65$ ,  $n=7$ ). Órgano apical redondo, no armado, con un largo de 147 a 189 ( $x=168$ ,  $n=2$ ) y un ancho de 156 a 160 ( $x=158$ ,  $n=2$ ), representando el 41 al 59% ( $x=50$ ,  $n=2$ ) del ancho del escólex. Zona de proliferación de 6.6 a 19 mm ( $x=12$ ,  $n=3$ ) de largo. Cuello con un ancho de 291 a 300 ( $x=296$ ,  $n=2$ ).

Órganos internos medulares con algunas vitelógenas adyacentes a los paquetes musculares. Canal ventral de 6-35 ( $x=18$ ,  $n=3$ ) de ancho, presenta una pared delgada. Canal dorsal de 1 a 2 de ancho ( $x=1.5$ ,  $n=3$ ) con una pared gruesa. Canal ventral que en ocasiones se bifurca y se anastomosa en otros proglótidos (estas ramificaciones se traslapan en distintos planos), por lo general, atraviesa el último tercio del ovario, mientras que el dorsal lo hace al final del segundo tercio del ovario, aunque también pueden estar al mismo nivel y cruzar por en medio de la región lateral del proglótido. Ambos canales pasan entre los testículos. En ocasiones se observan algunos canales osmorregulatorios secundarios a lo largo del canal ventral.

Testículos redondos o elongados, en dos campos laterales, dispuestos en una o hasta en tres capas; con 24-87 ( $x=57$ ,  $n=630$ ) de largo y 17-69 ( $x=46$ ,  $n=630$ ) de ancho. Son numerosos, de 68 a 194 ( $x=127$ ,  $n=39$ ) por proglótido. Se solapan con la genitalia terminal y ocasionalmente con el útero, distribuyéndose desde el extremo anterior del proglótido (llegando a tocar el borde) hasta antes del ovario sin tocarlo. Vaso deferente fuertemente enrollado, alcanzando la línea media de los proglótidos. Bolsa del cirro de pared gruesa, elongada, 156-282 ( $x=232$ ,  $n=64$ ) de largo por 61-109 ( $x=84$ ,  $n=64$ ) de ancho, ocupando un 21-31% ( $x=25\%$ ,  $n=51$ ) del ancho de los proglótidos. El cirro mide de 119-249 ( $x=175$ ,  $n=60$ ) de largo y comprende el 49-98% ( $x=76\%$ ,  $n=60$ ) del largo de la bolsa del cirro. Atrio genital pequeño que en ocasiones no se observa; poros genitales irregularmente alternos, dispuestos en el 20-38% ( $x=29\%$ ,  $n=64$ ) del largo de los proglótidos.

Ovario bilobulado, con los extremos más angostos, 64-150 ( $x=112$ ,  $n=45$ ) de largo, abarcando el 5-12% ( $x=8\%$ ,  $n=45$ ) del largo del proglótido; 409-879 ( $x=653$ ,  $n=83$ ) de ancho, ocupando el 74-95% ( $x=81\%$ ,  $n=83$ ) del ancho de los proglótidos. Vagina 54 a 65% ( $x=59\%$ ) anterior, 35 a 46% ( $x=40\%$ ) posterior y 0 a 3% ( $x=1\%$ ) dorsal a la bolsa del cirro ( $n=274$ ); ligeramente más ancha que el canal vaginal, rodeados por células que son más numerosas en la región distal. Glándula de Mehlis con un diámetro de 54-124 ( $x=84$ ,  $n=80$ ), representando un 8-14% ( $x=10\%$ ,  $n=77$ ) del ancho de los proglótidos. Folículos vitelinos redondos a elongados, de 11-26 ( $x=19$ ,  $n=52$ ) de largo por 9-22 ( $x=14$ ,  $n=52$ ) de ancho, dispuestos en dos bandas laterales interrumpidas al nivel de la bolsa del cirro y la

vagina; no tocan el margen anterior y posterior de los proglótidos, habiendo un mayor espacio entre el margen anterior del proglótido y la banda folicular, mientras que en la parte posterior en proglótidos maduros las vitelógenas alcanzan la mitad del ovario; se distribuyen en el 83-95% ( $x=88\%$ ,  $n=49$ ) del largo de los proglótidos en el lado poral y en el 84-95% ( $x=91\%$ ,  $n=48$ ) del lado aporal.

Primordio uterino presente en los últimos proglótidos inmaduros. Formación uterina parecida al tipo 2 de acuerdo con de Chambrier et al. (2004). Útero con 20-36 ( $x=26$ ,  $n=43$ ) divertículos del lado poral y 19-39 ( $x=28$ ,  $n=43$ ) del lado aporal; presentan una pared delgada, pueden estar en dos o tres capas y ocupan del 30-65% ( $x=46\%$ ,  $n=20$ ) del ancho de los proglótidos grávidos. Se observan varias aperturas uterinas por proglótido, elongadas, redondas o amorfas, de distinto tamaño.

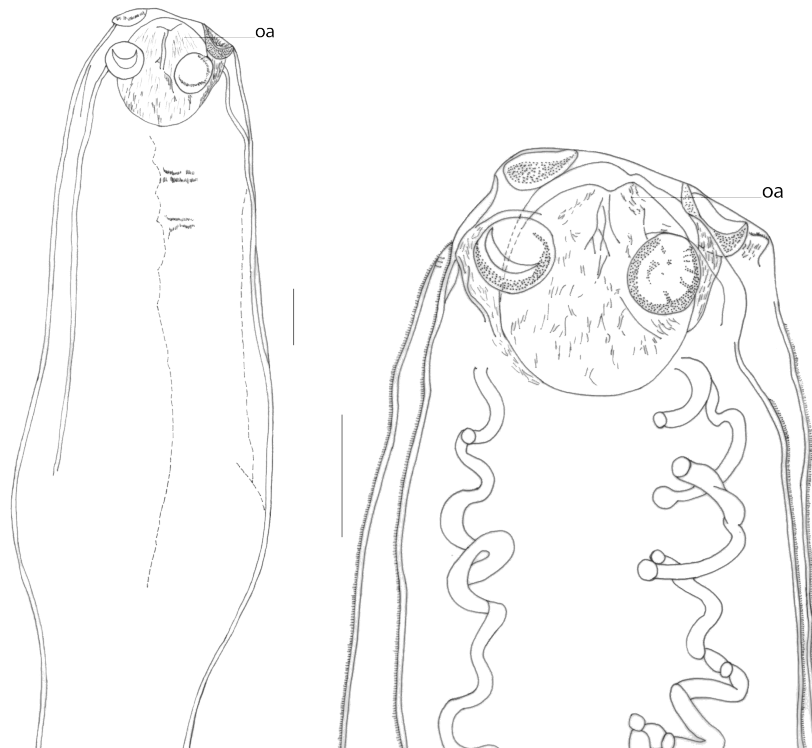
Hospederos: *Thamnophis eques* (Reuss, 1834), revisados el 1 agosto del 2012.

Localidad: Laguna de Zumpango, Estado de México. Se desconoce la localidad exacta del hospedero, debido a que fue capturado por comerciantes locales.

Sitio de infección: Intestino

Material: claves para morfología y molecular: S11, S12 y S13

No. CNHE: 9781-9784



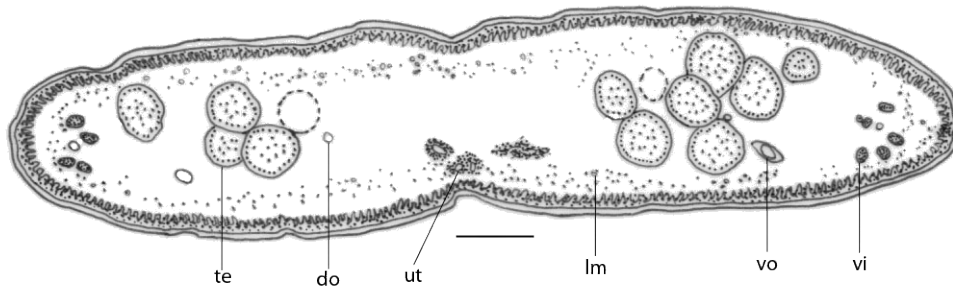
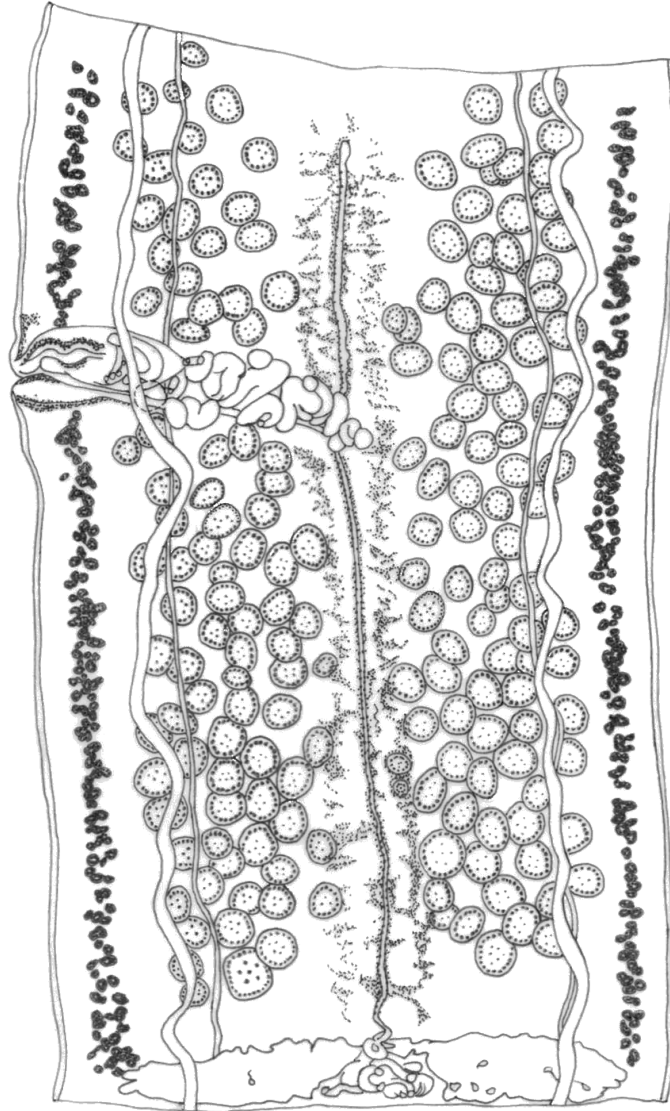


Figura 4. *Ophiotaenia* sp. 1: arriba derecha e izquierda imágenes del escólex, con diferentes acercamientos; vista ventral de proglótido maduro; corte transversal. Abreviaturas: **do**, canal osmorregulatorio dorsal; **lm**, musculatura longitudinal; **oa**, órgano apical; **te**, testículos; **ut**, útero; **vi**, vitelógenas; **vo**, canal osmorregulatorio ventral. Escalas: escólices y corte transversal 100  $\mu$ ; proglótido maduro 300  $\mu$ .

## Diagnosis diferencial

*Ophiotaenia* sp. 1 difiere del resto del material estudiado en colúbridos en este trabajo principalmente por la forma alargada del escólex que se angosta en la parte anterior y se ensancha hacia la posterior (figura 4), así como por la presencia de un órgano apical, que puede ocupar hasta el 59% del ancho del escólex; además su estróbilo mide entre 24.4-44.6 cm, siendo de los individuos más largos que se obtuvieron, y sus testículos están dispuestos en una a tres capas (Cuadro 15). Adicionalmente, los tres individuos caracterizados, junto con un cestodo recuperado de *Thamnophis* sp. de Michoacán, formaron un grupo monofilético en todos los análisis (Figuras 1 y 3); la distancia genética entre los primeros fue de cero, mientras que con respecto el individuo de Michoacán difieren en un 1%. En el resto de las especies de *Ophiotaenia* caracterizadas en este trabajo, la distancia genética va de 13 a 20% (Cuadro 5). Lo anterior indica que el individuo de Michoacán pertenece a *Ophiotaenia* sp. 1, aunque no se cuenta con el escólex ni suficiente material para su identificación morfológica.

Las especies del género *Ophiotaenia* que se han registrado en México en escamados son *Ophiotaenia nattereri*, *O. perspicua*, *O. racemosa* y *O. variabilis* descritas originalmente en colúbridos fuera de México; *O. micruricola* se recolectó por primera vez en el país, y se describió de la serpiente Elapidae *Micrurus diastema* y aunque *O. perspicua* originalmente se encontró en una culebra en Estados Unidos, en México se describió de *Crotalus* sp. y *Nerodia erythrogaster*, un vipérido y un natricido respectivamente (Cuadro 2).

De las especies que parasitan reptiles en México, ninguna posee órgano apical en contraste con *Ophiotaenia* sp. 1 (Cuadro 6). En el género *Ophiotaenia* se reconocen alrededor de 96 especies que parasitan anfibios y reptiles; de ellas, en América se han registrado 20 en anfibios (de Chambrier & Gil de Pertierra, 2012) y 28 en reptiles (de Chambrier et al., 2010) (Cuadros 17 y 18).

*Ophiotaenia* sp. 1, recolectada de *Thamnophis eques*, difiere de 20 de las 28 especies de *Ophiotaenia* descritas en reptiles en América por la presencia de un órgano apical (Brooks, 1978; Ammann & de Chambrier, 2008; Coquille & de Chambrier, 2008); de las restantes difiere por tener un escólex largo con dos anchuras, una máxima promedio de 450 y una mínima de 328, además de un órgano apical que ocupa del 41 al 59% del ancho del escólex. *Ophiotaenia catzeflisi* (de Chambrier, Vaucher & Renaud, 1992) Ammann & de Chambrier, 2008 presenta un escólex voluminoso, más ancho que largo, de 990-1220 de diámetro, y su órgano apical ocupa menos del 10% del ancho del escólex (de Chambrier et al., 1992); *O. faranciae* (Mac Callum, 1921) tiene 500 de diámetro en el

escólex (Ammann & de Chambrier, 2008); *O. gilberti* Ammann & de Chambrier, 2008 tiene escólex esférico de 140-145 de diámetro y 95-100 de largo, mientras que el órgano apical representa casi el 10% del ancho del escólex (Ammann & de Chambrier, 2008); en *O. grandis* (La Rue, 1911) Harwood, 1933 el diámetro va de 1000-1200 (La Rue, 1914) y un órgano apical que ocupa alrededor del 15% del ancho del escólex (Brooks, 1978); *O. jarara* (Fuhrmann, 1927) con un escólex con diámetro de 1220 (Ammann & de Chambrier, 2008); *O. joanae* (de Chambrier & Paulino, 1997) Ammann & de Chambrier, 2008 presenta un escólex con un diámetro de 480-790, y aunque el órgano apical puede ocupar alrededor del 50% del ancho del escólex, éste posee un metascolex ensanchado y de hasta 17 mm de largo (de Chambrier & Paulino, 1997); *O. marenzelleri* (Barrois, 1898) Railliet, 1899 exhibe un escólex de 1200 a 2000 de diámetro (la Rue, 1914; Ammann & de Chambrier, 2008) y *O. nicoleae* Coquille & de Chambrier, 2008, que tiene un escólex de 325-340 diámetro y 265-275 de largo y un órgano apical que ocupa aproximadamente el 8% del ancho del escólex (Coquille & de Chambrier, 2008).

Con base en lo anterior, se considera que el material descrito representa una especie nueva que será nombrada posteriormente.

**Cuadro 6.** Medidas y porcentajes comparativos de *Ophiotaenia* spp. descritas en México en escamados (tomadas de las descripciones originales) y de *Ophiotaenia* sp. 1

|   | <i>Ophiotaenia</i> sp. 1<br>S11, S12 y S13 | <i>O.micruricola</i> (Shoop & Corkum, 1982) Ammann & de Chambrier, 2008 | <i>O.nattereri</i> (Parona, 1901) La Rue, 1911 | <i>O.perspicua</i> La Rue, 1911 | <i>O.racemosa</i> (Rudolphi, 1819) La Rue, 1911 | <i>O.variabilis</i> (Brooks, 1978) Ammann & de Chambrier, 2008 |
|---|--|---|--|---------------------------------|---|--|
| <b>Hospedero</b>                        | <i>Thamnophis eques</i>                    | <i>Micrurus diastema</i>  | <i>Coluber</i> sp.                             | <i>Nerodia rhombifer</i>        | <i>Coluber</i> sp.                              | <i>Nerodia rhombifer</i> ,<br><i>N. c. cyclopion</i>           |
| <b>Entidades originales y en México</b> | Zumpango, EM                               | Méx: Oax  | It: Lig; Bra: S.P; Méx: Chis                   | E.U.: Illi; Méx: Hid, N.L, Ver  | Bra; Méx: D.F., E.M, Mich                       | E.U.:Lui; Méx: E.M, Jal, Mich                                  |
| <b>Estróbilo L (cm)</b>                 | 24.4-44.6 (36)                             | 26-29 (27)  | 7.5-25   | 36                              | 16  | 30   |
| <b>A (μ-mm)</b>                         | 819-1 (940)                                | -   | 1 mm   | 2 mm                            | 1 mm  | 800  |
| <b>Cuello (A)</b>                       | 291-300 (296)                              | 510-930 (720)   | -  | 170-425                         | -   | -  |
| <b>Escólex (L)</b>                      | 619-1.24mm (930)                           | 450-500 (475)   | -  | 270                             | -   | -  |
| <b>Amax/Amin</b>                        | 428-471 (450)/<br>273-382 (328)            | 720-760 (740)   | 240-250  | 355-408                         | 540   | 170-200 (184)  |
| <b>OA (P/A)</b>                         | P  | A   | A  | A                               | A   | A  |
| <b>Ventosas (D)</b>                     | 59-69 (65)                                 | 250-260 (255)/<br>300-310 (305)   | 120-150  | 105-170                         | 270-300   | 102-160 (130)  |
| <b>Testículos No.</b>                   | 68-194 (127)                               | 121-169 (140)   | 80-100   | 150-215                         | 100-120   | 77-253 (130)   |
| <b>L ó D</b>                            | 24-87 (57)                                 | 55-100 (75)   | 42   | 53-106                          | 72-78   | 31-93  |
| <b>A</b>                                | 17-69 (46)                                 | -   | -  | -                               | -   | -  |
| <b>% bc/Ap</b>                          | 21-31 (25)                                 | 14-20 (16)  | 28-33  | 25-33                           | <50   | 22-33 (26)   |
| <b>% Ant a PG</b>                       | 20-38 (29)                                 | 48-56 (51)  | <50  | 33-50                           | 33  | 15-35 (30)   |
| <b>Vagina/BC ant/post_dor/ven</b>       | ant/post<br>dor                            | ant/post  | ant/post                                       | ant/post                        | ant/post  | ant/post   |
| <b>Esf. vag (P/A)</b>                   | A  | A   | P  | P                               | ?   | A  |
| <b>RU (Po/Ap)</b>                       | 20-36 (26)/<br>19-39 (28)                  | 35-53 (40)  | 15-20  | 20-30                           | 20  | 49-90 (66)   |

Abreviaturas: Brasil (**Bra**): **S.P.**, Sao Paulo. Estados Unidos (**E.U.**): **Illi**, Illinois; **Lui**, Luisiana. Italia (**It**): **Lig**, Liguria. México (**Méx**): **Chis**, Chiapas; **D.F.**, Distrito Federal; **EM**, Estado de México; **Hid**, Hidalgo; **Jal**, Jalisco; **Mich**, Michoacán; **N.L.**, Nuevo León; **Oax**, Oaxaca; **Ver**, Veracruz. **A**, ancho; **Amax/Amin**, ancho máximo/ancho mínimo; **ant/post**, anterior/posterior; **bc ó BC**, bolsa del cirro; **D**, diámetro; **dor/ven**, dorsal/ventral; **Esf. vag**, esfínter vaginal; **L**, largo; **No.** número; **OA**, órgano apical; **P/A**, presente/ausente; **RU**, ramas uterinas (Po, lado poral; Ap, lado aporal); **% Ant a PG**, porcentaje del largo del límite anterior del proglótido al poro genital respecto al largo del proglótido; **% bc/Ap**, porcentaje del ancho de la bolsa del cirro respecto al ancho del proglótido.

## ***Ophiotaenia* sp. 2**

Proteocephalidae, Proteocephalinae. Estróbilo aplanado dorsoventralmente, acraspedota, anapolítico, de 17 a 18.4 cm de largo ( $x=17.8$ ,  $n=3$ ) y 364 a 1.4 mm ( $x=988$ ,  $n=3$ ) de ancho; compuesto por alrededor de 214 a 341 ( $x=276$ ,  $n=3$ ) proglótidos: 176 a 277 ( $x=226$ ,  $n=3$ ) inmaduros, 6 a 15 ( $x=12$ ,  $n=3$ ) maduros y 0 a 9 ( $x=5$ ,  $n=3$ ) pregrávidos y 27 a 41 ( $x=34$ ,  $n=3$ ) grávidos. Escólex de forma oval a redondeada, de 65 a 98 de largo ( $x=85$ ,  $n=3$ ), por 119 a 152 ( $x=134$ ,  $n=3$ ) de ancho; presenta dos pares de ventosas musculares uniloculares en la parte anterior, cada uno orientado lateralmente, cuyo diámetro va de 52 a 58 ( $x=56$ ,  $n=12$ ). Zona de proliferación de 2.6 a 5.8 mm ( $x=3.9$ ,  $n=3$ ) de largo.

Órganos internos medulares y musculatura bien desarrollada, con algunas vitelógenas contiguas a los paquetes musculares. El canal osmorregulador ventral puede estar ramificado, exhibe un ancho de 13-43 ( $x=29$ ,  $n=3$ ) y pared delgada, mientras que el dorsal tiene de 2-6.5 ( $x=3.3$ ,  $n=3$ ) de ancho y presenta pared gruesa. Los canales osmorreguladores pueden ser muy prominentes debajo del escólex al comienzo de la zona de proliferación, comprendiendo casi todo el ancho de la zona; atraviesan la región testicular a lo largo del proglótido, separándolos en 2 campos. Por lo general están al mismo nivel, pasando al comienzo del último tercio del ovario, aunque el canal dorsal puede ser más interno y a la altura de los testículos, puede rebasar la mitad de los campos laterales acercándose al útero. La bolsa del cirro y la vagina están entre ambos canales. En proglótidos inmaduros se observan algunos canales secundarios que salen del canal ventral y que desembocan hacia el tegumento, es difícil verlos en proglótidos maduros.

Testículos redondos o elongados, de 35-89 ( $x=52$ ,  $n=376$ ) de largo y 22-54 ( $x=40$ ,  $n=376$ ) de ancho, dispuestos en una o dos capas, en dos campos laterales, separados por los canales osmorregulatorios y solapados ocasionalmente al útero. Por proglótido, varían de 150 a 241 ( $x=204$ ,  $n=20$ ) y se distribuyen desde el extremo anterior del proglótido llegando a alcanzarlo o no, hasta antes del ovario sin alcanzarlo. Vaso deferente fuertemente enrollado que puede alcanzar o no la línea media de los proglótidos. Bolsa del cirro ovalada de pared gruesa, de 180-239 ( $x=217$ ,  $n=33$ ) de largo, por 52-89 ( $x=74$ ,  $n=33$ ) de ancho, ocupando un 18-22% ( $x=19\%$ ,  $n=23$ ) del ancho de los proglótidos. El cirro mide de 119-217 ( $x=177$ ,  $n=32$ ) de largo y constituye un 57-99% ( $x=83\%$ ,  $n=32$ ) del largo de la bolsa del cirro. Atrio genital inconspicuo que en algunas ocasiones no se observó. Poros genitales irregularmente alternos, distribuidos en el 17-29% ( $x=23\%$ ,  $n=34$ ) del largo de los proglótidos.

Ovario bilobulado, ocasionalmente con algunos espacios intercelulares y extremos más angostos. Presenta alargamientos en la región anterior de cada lóbulo, al final del segundo tercio o al comienzo del tercero; en algunos proglótidos este crecimiento es muy prolongado, dicho crecimiento puede semejarse con la forma de una mariposa en proglótidos grávidos. Mide 91-227 ( $x=157$ ,  $n=33$ ) de largo, comprendiendo el 8-18% ( $x=12\%$ ,  $n=33$ ) del largo del proglótido y 729-1mm ( $x=901$ ,  $n=34$ ) de ancho, abarcando el 73-88% ( $x=79\%$ ,  $n=34$ ) del ancho de los proglótidos.

Vagina 53-83% anterior ( $x=66\%$ ) y 17-43% posterior ( $x=32\%$ ), y 0-3.3% dorsal a la bolsa del cirro ( $n=94$ ), rodeada con células intensamente teñidas en la región distal. Se ensancha hacia la región terminal formando un bulbo cuyo tamaño se llega a extender desde la mitad del largo de la bolsa del cirro hasta todo su longitud y su anchura llega a ser la misma que el de la bolsa; en algunos proglótidos maduros el canal vaginal es igual de ancho que la vagina; ambos están rodeados por células, siendo más numerosas alrededor de la segunda. Esfínter vaginal ausente. Glándula de Mehlis con un diámetro de 87-141 ( $x=112$ ,  $n=33$ ), representando un 8-15% ( $x=10\%$ ,  $n=33$ ) del ancho de los proglótidos. Folículos vitelinos ovalados, de 13-22 ( $x=16.5$ ,  $n=49$ ) de largo por 9-18 ( $x=12$ ,  $n=49$ ) de ancho, dispuestos en dos campos laterales, interrumpidos al nivel de la genitalia terminal. Estas bandas foliculares no tocan los extremos anterior y posterior de los proglótidos, llegando hasta la mitad del ovario en la parte posterior en proglótidos maduros; ocupan el 88-96% ( $x=92\%$ ,  $n=30$ ) del largo de los proglótidos en el lado poral y 86-95% ( $x=92\%$ ,  $n=30$ ) del lado aporal.

Primordio de tallo uterino en proglótidos inmaduros. Formación uterina similar al tipo 2 de acuerdo con de Chambrier et al. (2004). Útero con 24-60 ( $x=39$ ,  $n=23$ ) divertículos porales y 24-57 ( $x=41$ ,  $n=23$ ) aporales. Divertículos uterinos de pared delgada, en una o dos capas, ocupando 39-70% ( $x=53$ ,  $n=26$ ) del ancho de los proglótidos grávidos. Apertura uterina longitudinal, oval, variable en arreglo y tamaño, que puede ocupar casi todo el largo del proglótido.

Hospederos: S2 de *Thamnophis melanogaster* (Peters, 1864), revisado el 1 agosto del 2012; SPT11 y 35234 recuperados de *T. eques* (Reuss, 1834) y revisados el 16 abril y 23 de mayo respectivamente, del 2013.

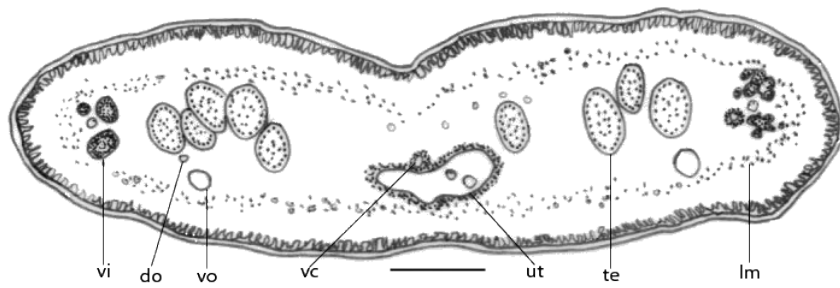
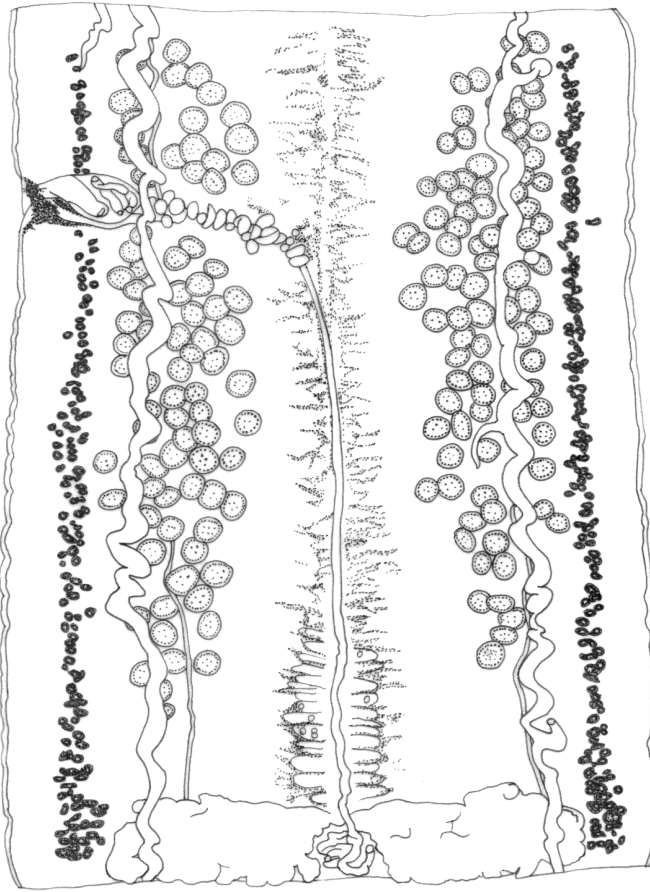
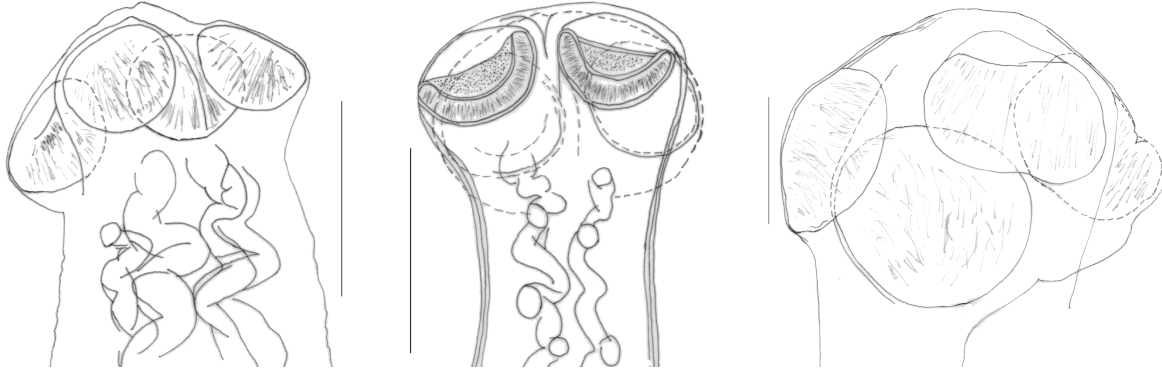
Localidades: S2, Laguna de Zumpango, Estado de México; SPT11 y 3523.4, Ciénaga de Lerma, Estado de México. Se desconoce la localidad exacta de los hospederos, debido a que fueron capturados por comerciantes de un mercado local.

Sitio de infección: Intestino

Material: claves para morfología y molecular S2; SPT11; clave morfología 35234, molecular 35235

No. CNHE: 9785-9788





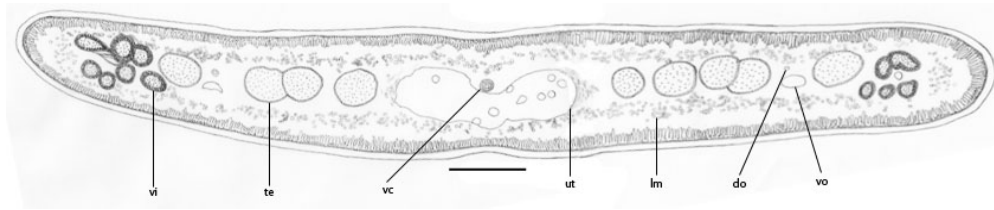


Figura 5. *Ophiotaenia* sp. 2: arriba escólices, de izquierda a derecha: S2, 35234 y SPT11; vista ventral de proglótido maduro de SPT11; cortes transversales de los organismos 35236 y S2. Abreviaturas: **do**, canal osmorregulatorio dorsal; **lm**, musculatura longitudinal; **te**, testículos; **ut**, útero; **vc**, canal vaginal; **vi**, vitelógenas; **vo**, canal osmorregulatorio ventral. Escalas: escólices y corte transversal 100  $\mu$ ; proglótido maduro 300  $\mu$ .

### Diagnosis diferencial

*Ophiotaenia* sp. 2, fue recuperada de las culebras *Thamnophis eques* y *T. melanogaster* en dos localidades. En los análisis filogenéticos, los individuos de *Ophiotaenia* sp. 2 se encuentran en el mismo clado (figuras 1 y 3), en tanto que la distancia genética entre ellos fue mínima, oscilando de 0 a 1%, mientras que la diferencia con las otras especies caracterizadas en este estudio fue de 10 a 19%.

A diferencia de *Ophiotaenia* sp. 1, *Ophiotaenia* sp. 2 carece de órgano apical (Figuras 4 y 5, Cuadro 15). Asimismo, el escólex, cuello y ventosas de esta especie presentaron las dimensiones más reducidas de entre todas las especies descritas en este estudio. De la misma forma, la proporción de la bolsa del cirro respecto al ancho del proglótido fue de un promedio de 19% en la especie en estudio, comparada con promedios de 33, 25 y 26% observados en *Ophiotaenia* sp. 3, 4 y 6. Adicionalmente, el número de testículos va de 150-241 (204) en *Ophiotaenia* sp. 2 en contraste con los 226-284 (261) de *Ophiotaenia* sp. 5.

Cabe destacar que en los análisis del 28S y concatenados, dos de los individuos de la especie *Ophiotaenia* sp. 2 parásitos de *Thamnophis eques* en el Estado de México, forman un clado independiente aunque anidado en el mismo clado anteriormente mencionado (figura 3), mientras que en la filogenia del mitocondrial únicamente se forma un clado con los individuos de *Ophiotaenia* sp. 2 (figura 1).

Respecto a las especies descritas en reptiles en México (Cuadro 7), *Ophiotaenia* sp. 2 difiere en el diámetro del escólex y de las ventosas, ya que ésta exhibe los valores más pequeños. Asimismo, *Ophiotaenia* sp. 2 es de las especies que presenta un mayor número de testículos, con 150-241 (204) (ver comparación con figuras 15, 16 y 18 Anexo V, correspondientes a *Ophiotaenia micruricola*, *O. nattereri* y *O. racemosa* respectivamente),

exceptuando a *O. perspicua* y *O. variabilis* que presentan 150-215 y 77-253 (130) respectivamente; sin embargo, en *Ophiotaenia* sp. 2 la proporción del largo de la bolsa del cirro respecto al ancho del proglótido es de 18-22% (19) y la distancia del extremo anterior de éste al poro genital va del 17-29% (23), mientras que en *O. perspicua* estos valores son 25-33% y 33-50% (Figura 5, 17 en Anexo 5), y presenta esfínter vaginal a diferencia de la especie descrita; en *O. variabilis* estos valores son de 22-33% (26) y 15-35% (30) (Figuras 5, 19 en Anexo 5), y además tiene un número muy elevado de ramas uterinas, 49-90 (66) versus 24-60 (39) poral y 24-57 (41) aporalmente en *Ophiotaenia* sp. 2.

Comparando a *Ophiotaenia* sp. 2 con las 28 especies de *Ophiotaenia* registradas en reptiles (Anexo IV, Cuadro 18), ésta difiere de ocho de ellas por la presencia de órgano apical (Brooks, 1978; Ammann & de Chambrier, 2008; Coquille & de Chambrier, 2008). En contraste con las 20 restantes (descartando a *Ophiotaenia micruricola* (Shoop & Corkum, 1982), *O. nattereri* (Parona, 1901), *O. perspicua* La Rue, 1911, *O. racemosa* (Rudolphi, 1819) y *O. variabilis* (Brooks, 1978), especies registradas en México, de las cuales ya se discutió anteriormente) el diámetro del escólex y las ventosas es muy pequeño en *Ophiotaenia* sp. 2 (119-152 (134) y 52-58 (56) respectivamente), comparado con los de *O. agkistrodontis* (Harwood, 1933) 850-950; 200-300 (Brooks, 1978); *O. arandasi* (dos Santos & Tayt-son-Rolas, 1973) 390; 190 (dos Santos & Tayt-son-Rolas, 1973); *O. azevedoi* (de Chambrier, Vaucher & Renaud, 1992) 690-735; 275-375 (de Chambrier et al., 1992); *O. barbouri* Pérez-Vigueras, 1934 con 730; 270 (Pérez-Vigueras, 1934) y *O. macrobothria* Rudin, 1917 con 400-500; 220-240 (Freze, 1965).

*Ophiotaenia azevedoi* (de Chambrier, Vaucher & Renaud, 1992), *O. calmettei* (Barrois, 1898), *O. crotali* Rodríguez-Lopez-Neyra & Diaz-Ungria, 1958, *O. euzeti* (de Chambrier, Vaucher & Renaud, 1992), *O. hyalina* Rudin, 1917, *O. paraguayensis* Rudin, 1917 y *O. sanbernardinensis* Rudin, 1917 (La Rue, 1914; Rodríguez-Lopez-Neyra & Diaz-Ungria, 1958; Freze, 1965; de Chambrier, 1990; de Chambrier et al., 1992) presentan esfínter vaginal, mientras que *Ophiotaenia* sp. 2 carece de éste.

Asimismo, *Ophiotaenia elongata* Fuhrmann, 1927 posee de 26 a 44 testículos (Freze, 1965), a diferencia de *Ophiotaenia* sp. 2 que presenta de 150 a 241 (204); en *O. flava* Rudin, 1917 la bolsa del cirro casi alcanza la línea media del cuerpo (Freze, 1965; Burse et al., 2005) y en *Ophiotaenia* sp. 2 ocupa del 18-22% (19). La descripción de *O. lactea* (Leidy, 1855) que realizó Leidy fue publicada por La Rue (1914); este autor la establece como especie inquirenda debido a su inadecuada descripción, pues como medidas Leidy solo incluye el largo y el ancho del parásito, por ello, en este trabajo no se le comparó con *Ophiotaenia* sp. 2. *Ophiotaenia habanensis* Freze & Rysavy, 1976 fue

reportada por estos autores en *Tropidophis pardalis* en Cuba (Schmidt, 1986) además, difiere de *Ophiotaenia* sp. 2 por presentar testículos en líneas laterales a lo largo del útero, esfínter vaginal y vagina posterior a la bolsa del cirro (de Chambrier, 1987).

Con base en lo anterior, se considera que el material descrito representa una especie nueva que será nombrada posteriormente.

**Cuadro 7.** Medidas y porcentajes comparativos de *Ophiotaenia* spp. descritas en México en escamados (tomadas de las descripciones originales) y de *Ophiotaenia* sp. 2 descrita en este trabajo.

|   | <i>Ophiotaenia</i> sp. 2<br>S2, SPT11, 35234/5                     | <i>O.micruricola</i> (Shoop & Corkum, 1982) Ammann & de Chambrier, 2008 | <i>O.nattereri</i> (Parona, 1901) La Rue, 1911 | <i>O.perspicua</i> La Rue, 1911 | <i>O.racemosa</i> (Rudolphi, 1819) La Rue, 1911 | <i>O.variabilis</i> (Brooks, 1978) Ammann & de Chambrier, 2008 |
|---|--|---|--|---------------------------------|---|--|
| <b>Hospedero</b>                        | S2: <i>T.melanogaster</i> ;<br>SPT11 y 35234/5:<br><i>T. eques</i> | <i>Micrurus diastema</i>  | <i>Coluber</i> sp.                             | <i>Nerodia rhombifer</i>        | <i>Coluber</i> sp.                              | <i>Nerodia rhombifer</i> ,<br><i>N. c. cyclopion</i>           |
| <b>Entidades originales y en México</b> | S2:Zum, EM; SPT11 y 3523.4: CL, EM                                 | Méx: Oax  | It: Lig; Bra: S.P; Méx: Chis                   | E.U.: Illi; Méx: Hid, N.L, Ver  | Bra; Méx: D.F., E.M, Mich                       | E.U.:Lui; Méx: E.M, Jal, Mich                                  |
| <b>Estróbil</b> L (cm)                  | 17-18.4 (17.8)   | 26-29 (27)  | 7.5-25   | 36                              | 16  | 30   |
| A (μ-mm)                                | 364-1.4 (988)  | -   | 1 mm   | 2 mm                            | 1 mm  | 800  |
| <b>Cuello</b> (A)                       | 81-111 (92)  | 510-930 (720)   | -  | 170-425                         | -   | -  |
| <b>Escólex</b> (L)                      | 65-98 (85)   | 450-500 (475)   | -  | 270                             | -   | -  |
| Amax/Amin                               | 119-152 (134)  | 720-760 (740)   | 240-250  | 355-408                         | 540   | 170-200 (184)  |
| <b>OA</b> (P/A)                         | A  | A   | A  | A                               | A   | A  |
| <b>Ventosas</b> (D)                     | 52-58 (56)   | 250-260 (255)/<br>300-310 (305)   | 120-150  | 105-170                         | 270-300   | 102-160 (130)  |
| <b>Testículos</b> No.                   | 150-241 (204)  | 121-169 (140)   | 80-100   | 150-215                         | 100-120   | 77-253 (130)   |
| L ó D                                   | 35-89 (52)   | 55-100 (75)   | 42   | 53-106                          | 72-78   | 31-93  |
| A                                       | 22-54 (40)   | -   | -  | -                               | -   | -  |
| <b>% bc/Ap</b>                          | 18-22 (19)   | 14-20 (16)  | 28-33  | 25-33                           | <50   | 22-33 (26)   |
| <b>% Ant a PG</b>                       | 17-29 (23)   | 48-56 (51)  | <50  | 33-50                           | 33  | 15-35 (30)   |
| <b>Vagina/BC</b><br>ant/post_dor/ven    | ant/post<br>dor  | ant/post  | ant/post                                       | ant/post                        | ant/post  | ant/post   |
| <b>Esf. vag</b> (P/A)                   | A  | A   | P  | P                               | ?   | A  |
| <b>RU</b> (Po/Ap)                       | 24-60 (39)/<br>24-57 (41)  | 35-53 (40)  | 15-20  | 20-30                           | 20  | 49-90 (66)   |

Abreviaturas: Brasil (**Bra**): **S.P**, Sao Paulo. Estados Unidos (**E.U.**): **Illi**, Illinois; **Lui**, Luisiana. Italia (**It**): **Lig**, Liguria. México (**Méx**): **CL**, Ciénaga de Lerma; **Chis**, Chiapas; **D.F.**, Distrito Federal; **EM**, Estado de México; **Hid**, Hidalgo; **Jal**, Jalisco; **Mich**, Michoacán; **N.L**, Nuevo León; **Oax**, Oaxaca; **Ver**, Veracruz; **Zum**, Zumpango. *T. eques*, *Thamnophis eques*; *T. melanogaster*, *Thamnophis melanogaster*. **A**, ancho; **Amax/Amin**, ancho máximo/ancho mínimo; **ant/post**, anterior/posterior; **bc** ó **BC**, bolsa del cirro; **D**, diámetro; **dor/ven**, dorsal/ventral; **Esf. vag**, esfínter vaginal; **L**, largo; **No.** número; **OA**, órgano apical; **P/A**, presente/ausente; **RU**, ramas uterinas (Po, lado poral; Ap, lado aporal); **% Ant a PG**, porcentaje del largo del límite anterior del proglótido al poro genital respecto al largo del proglótido; **% bc/Ap**, porcentaje del ancho de la bolsa del cirro respecto al ancho del proglótido.

### ***Ophiotaenia* sp. 3**

Proteocephalidae, Proteocephalinae. Estróbilo de 10 cm de largo y 1.3 mm de ancho, aplanado dorsoventralmente, acraspedota, compuesto de alrededor de 306 proglótidos: 296 inmaduros, aproximadamente 10 maduros; no presentó proglótidos pregrávidos y grávidos. Escólex redondo, con un largo de 119 y ancho de 174; presenta dos pares de ventosas musculares uniloculares en la parte anterior, cuyo diámetro va de 76 a 82 ( $x=79$ ,  $n=4$ ). La zona de proliferación y el cuello no se midieron por estar contraídos; la primera se observa prácticamente después del cuello.

Canal ventral de 9-19 ( $x=15$ ) de ancho con una pared delgada, y dorsal de 1-11 ( $x=5$ ) de ancho y pared gruesa. Ambos canales se solapan o están casi al mismo nivel, cruzando al final del segundo tercio del ovario o al comienzo del tercero. Son difíciles de observar en proglótidos maduros.

Testículos redondos o elongados, de 37-76 ( $x=55$ ,  $n=142$ ) de largo y 28-52 ( $x=37$ ,  $n=142$ ) de ancho, dispuestos en una o dos capas y distribuidos en dos campos laterales que ocasionalmente tienden a formar uno solo; no tocan el margen anterior del proglótido y tampoco el del ovario y se traslapan con las vitelógenas. Por proglótido hay de 196 a 271 ( $x=223$ ,  $n=7$ ). Vaso deferente enrollado que rebasa la mitad del proglótido. Bolsa del cirro abombada, de pared gruesa, de 154-215 ( $x=189$ ,  $n=8$ ) de largo, por 87-143 ( $x=119$ ,  $n=8$ ) de ancho, ocupando un 26-39% ( $x=33\%$ ,  $n=8$ ) del ancho de los proglótidos. El cirro mide 137-187 ( $x=157$ ,  $n=7$ ) de largo y comprende el 72-100% ( $x=84\%$ ,  $n=8$ ) del largo de la bolsa del cirro. Atrio genital pequeño. Poros genitales irregularmente alternos, dispuestos en el 25-31% ( $x=28\%$ ,  $n=9$ ) del largo de los proglótidos.

Ovario bilobulado con lóbulos anchos en los extremos y límite anterior más alto en algunos proglótidos maduros (cuya apariencia se asemeja a la de una mariposa); tiene un largo de 182-255 ( $x=204$ ,  $n=9$ ) que constituye el 10-15% ( $x=12\%$ ,  $n=9$ ) del largo del proglótido y un ancho de 409-573 ( $x=457$ ,  $n=8$ ), que comprende el 87-91% ( $x=89\%$ ,  $n=8$ ) del ancho de los proglótidos. Vagina 52% anterior y 48% posterior ( $n=25$ ) a la bolsa del cirro, ligeramente más ensanchada que el canal, rodeados de células que se tiñen intensamente en el área distal de la vagina. Glándula de Mehlis con un grosor de 56-74 ( $x=64$ ,  $n=8$ ), representando una proporción del 10-15% ( $x=12\%$ ,  $n=7$ ) respecto al ancho de los proglótidos. Folículos vitelinos oblongos, de 15-22 ( $x=17$ ,  $n=12$ ) de largo por 11-15 ( $x=14$ ,  $n=12$ ) de ancho, dispuestos en dos bandas laterales que no alcanzan el extremo anterior del proglótido. En la región posterior llegan a la mitad del ovario o la rebasan

ligeramente, ocupando el 86-94% ( $\bar{x}$ =90%,  $n$ =8) del largo de los proglótidos en el lado poral y 88-92% ( $\bar{x}$ =89%,  $n$ =8) aporalmente.

Primordio de tallo uterino presente en proglótidos inmaduros. Formación uterina semejante a la tipo 2 de acuerdo con de Chambrier et al. (2004) en proglótidos inmaduros y maduros, sin embargo no hay proglótidos pregrávidos ni grávidos.

Hospedero: *Thamnophis melanogaster* (Peters, 1864), revisado el 19 julio del 2013.

Localidad: Lago de Cuitzeo, Michoacán

Sitio de infección: Intestino

Material: Clave morfología 35828, molecular 35829

No. CNHE: 9789

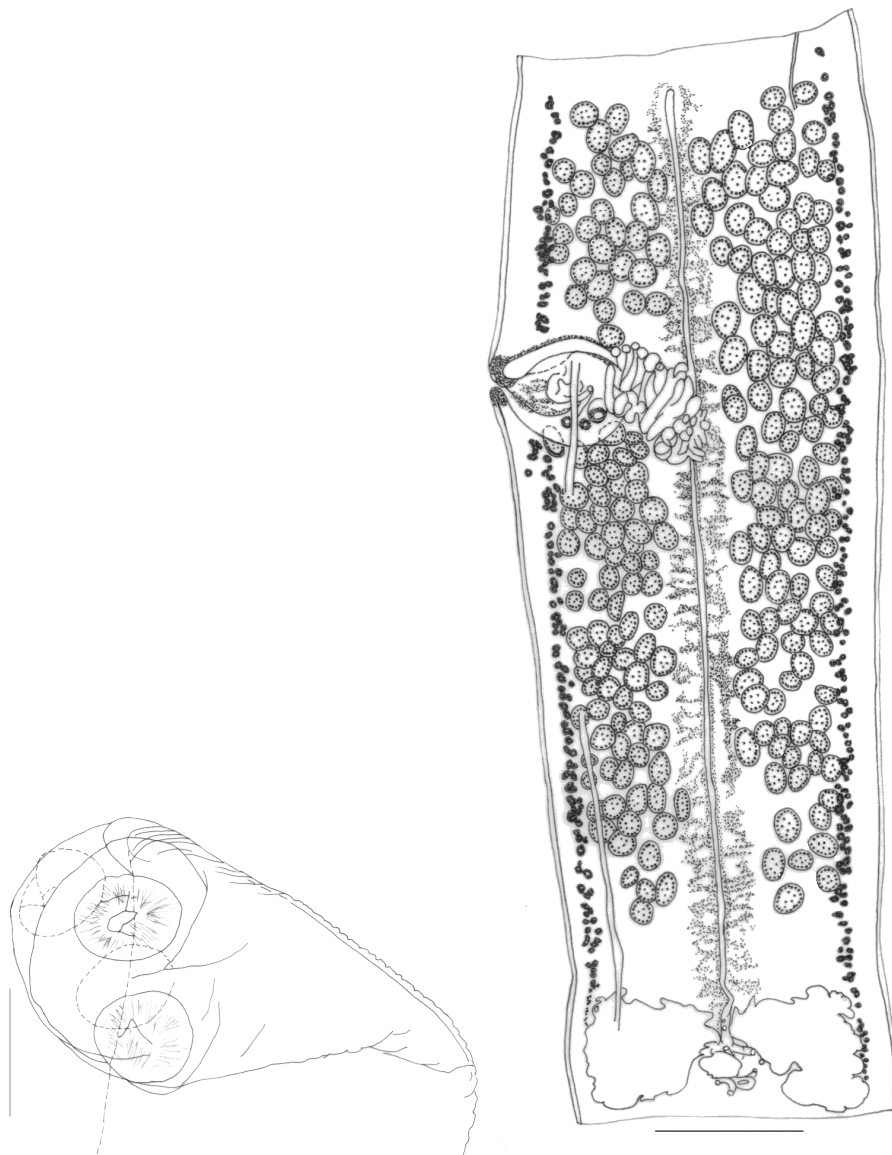


Figura 6. *Ophiotaenia* sp. 3: izquierda escólex, derecha vista ventral de proglótido maduro. Escalas: escólex 100  $\mu$  y proglótido maduro 300  $\mu$ .

## Diagnos diferencial

Respecto a las especies parásitas de culebras de este estudio, esta especie se caracteriza por no presentar órgano apical (figura 6), por lo que difiere de *Ophiotaenia* sp. 1 (Cuadro 15); de *Ophiotaenia* sp. 2 por los menores largo y ancho del escólex y diámetro en las ventosas: 65-98 (85), 119-152 (134) y 52-58 (56) respectivamente, versus 119, 174, 76-82 (79) en *Ophiotaenia* sp. 3, respectivamente. *Ophiotaenia* sp. 4 tiene 129-175 (152) testículos, mientras que en *Ophiotaenia* sp. 3 este número es más elevado: 196-271 (223); otras diferencias entre ambas subyacen en el porcentaje del ancho que ocupa la bolsa del cirro respecto al ancho del proglótido, el porcentaje del poro genital al límite anterior del proglótido respecto al largo de éste, la posición de la vagina respecto a la bolsa del cirro y el largo y el ancho del ovario (Cuadro 15).

De *Ophiotaenia* sp. 5 se diferencia por la forma del escólex, alargada en ésta y redondeada en *Ophiotaenia* sp. 3 (figuras 8 y 6 respectivamente); en el porcentaje del ancho que ocupa la bolsa del cirro respecto al ancho del proglótido (siendo mayor en *Ophiotaenia* sp. 3), en el largo del cirro, el largo y ancho del ovario. Finalmente de *Ophiotaenia* sp. 6, el material aquí descrito se distingue por el número de testículos, así como por su largo y ancho: 143-213 (189), 48-87 (68), 37-76 (53) respectivamente, y 196-271 (223), 37-76 (55), 28-52 (37) en *Ophiotaenia* sp. 3, además del porcentaje de la bolsa del cirro respecto al ancho del proglótido, su largo, el largo del cirro y el ancho del ovario, entre otras (Cuadro 15).

En los análisis filogenéticos, *Ophiotaenia* sp. 3 está incluida en un clado conformado por proteocefálicos cuyo hospedero es *Thamnophis melanogaster* de Michoacán y por un individuo de *Thamnophis* sp. de Xochimilco, D. F., organismos con los cuales presenta una distancia genética promedio de 2%, en tanto que con las otras especies descritas, las distancias van de 10 a 20%, excepto con *Ophiotaenia* sp. 5 y 6 con quienes guarda una distancia de 6 y 2%, respectivamente. Este último par de especies se agrupan con *Ophiotaenia* sp. 3 en el mismo clado (figura 1) en la filogenia del gen mitocondrial, mientras que en la del 28S están en distintos clados (figura 3).

La divergencia genética con *Ophiotaenia* sp. 5 y 6 no respalda la separación de estos individuos en taxones diferentes, por lo que hacen falta más organismos adultos para su estudio morfológico, ya que la descripción aquí presentada se basó solo en un individuo y no se tienen suficientes datos de la variación morfológica intraespecífica para determinar contundentemente si se trata de la misma especie, o se trate de varias especies con una divergencia genética interespecífica baja.



Comparando, la distancia genética con las especies del género *Proteocephalus* de Canadá es de 26-29% y con la especie de *Corallobothrium* de Canadá es 30%, mientras que con el grupo externo es 28%, valor menor respecto a algunos de los organismos de Canadá que pertenecen al mismo orden que *Ophiotaenia*.

Respecto a las especies registradas en reptiles en México (Cuadro 8), *Ophiotaenia* sp. 3 difiere de *O. micruricola* que tiene ventosas de 255 por 305 y sus testículos van de los 121-169 (140), mientras que en *Ophiotaenia* sp. 3 estos valores son de 76-82 (79) y 196-271 (223) respectivamente, además *O. micruricola* presenta un hundimiento en la región apical (figura 15, Anexo V) del escólex, característica no observada en *Ophiotaenia* sp. 3; *O. nattereri* y *O. perspicua* presentan un esfínter vaginal que no se observó en la especie en estudio, además el ancho del escólex y el diámetro de las ventosas es mayor en las especies mencionadas comparadas con *Ophiotaenia* sp. 3 (ver escólices y comparación del tamaño de las ventosas respecto al escólex versus los de *Ophiotaenia* sp. 3, figuras 6, 16, 17 correspondientes a *Ophiotaenia* sp. 3, *O. nattereri* y *O. perspicua*).

De *Ophiotaenia racemosa* difiere en el ancho del escólex (540), en comparación con 174 en *Ophiotaenia* sp. 3; de igual forma, el diámetro de las ventosas es mayor en esta especie (270-300), mientras que en *Ophiotaenia* sp. 3 es de 76-82 (79); el número de testículos también es distintivo, habiendo alrededor de 100-120 en *O. racemosa* y 196-271 (223) en *Ophiotaenia* sp. 3 (Figuras 6 y 18). De *Ophiotaenia variabilis* se distingue por el diámetro de las ventosas, el número de testículos, el largo o el diámetro de los testículos, el porcentaje de la bolsa del cirro respecto al ancho del proglótido (Figuras 6 versus 19).

Exceptuando a las cinco especies registradas en México, de las 19 especies restantes que parasitan reptiles en América, el material en estudio difiere de las que tienen órgano apical: *Ophiotaenia catzefflisi*, *O. faranciae*, *O. gilberti*, *O. grandis*, *O. jarara*, *O. joanae*, *O. marenzelleri* y *O. nicoleae* (Brooks, 1978; Ammann & de Chambrier, 2008; Coquille & de Chambrier, 2008). De *Ophiotaenia azevedoi*, *O. calmettei*, *O. crotali*, *O. euzeti*; *O. hyalina*, *O. paraguayensis* y *O. sanbernardinensis* (La Rue, 1914; Rodríguez-Lopez-Neyra & Diaz-Ungria, 1958; Freze, 1965; de Chambrier, 1990; de Chambrier et al., 1992) por la presencia de esfínter vaginal en éstas.

De igual forma en *Ophiotaenia* sp. 3 el ancho del escólex y diámetro de las ventosas son pequeños: 76-82 (79) comparado con los de *O. agkistrodontis*: 850-950; 200-300 (Brooks, 1978); *O. arandasi*: 390; 190 (dos Santos & Tayt-son-Rolas, 1973); *O. azevedoi*: 690-735; 275-375 (de Chambrier et al., 1992); *O. barbouri* con 730; 270 (Pérez-Vigueras, 1934) y *O. macrobothria*: 400-500; 220-240 (Freze, 1965). El número de testículos en *Ophiotaenia* sp. 3 va de los 196-271 (223) a diferencia de *Ophiotaenia*

*elongata* que cuenta con 26-44 (Freze, 1965) y *O. flava* con 45-60 (Freze, 1965). *Ophiotaenia lactea* se consideró en este trabajo como una especie inquirenda, tal como lo hizo La Rue (1914), por la incompleta descripción realizada por su autor original, y *O. habanensis* Freze & Rysavy, 1976 presenta testículos dispuestos en líneas laterales a lo largo del útero, esfínter vaginal y vagina posterior respecto con la bolsa del cirro (de Chambrier, 1987) a diferencia de *Ophiotaenia* sp. 3. Con base en lo anterior, se considera que el material descrito representa una especie nueva que será nombrada posteriormente.

**Cuadro 8.** Medidas y porcentajes comparativos de *Ophiotaenia* spp. descritas en México en escamados (tomadas de las descripciones originales) y de *Ophiotaenia* sp. 3 descrita en este trabajo.

|   | <i>Ophiotaenia</i> sp. 3<br>35828/9 | <i>O.micruricola</i> (Shoop & Corkum, 1982) Ammann & de Chambrier, 2008 | <i>O.nattereri</i> (Parona, 1901) La Rue, 1911 | <i>O.perspicua</i> La Rue, 1911 | <i>O.racemosa</i> (Rudolphi, 1819) La Rue, 1911 | <i>O.variabilis</i> (Brooks, 1978) Ammann & de Chambrier, 2008 |
|---|-------------------------------------|---|--|---------------------------------|---|--|
| <b>Hospedero</b>                        | <i>Thamnophis melanogaster</i>      | <i>Micrurus diastema</i>  | <i>Coluber</i> sp.                             | <i>Nerodia rhombifer</i>        | <i>Coluber</i> sp.                              | <i>Nerodia rhombifer</i> ,<br><i>N. c. cyclopion</i>           |
| <b>Entidades originales y en México</b> | Cuitzeo, Mich                       | Méx: Oax  | It: Lig; Bra: S.P; Méx: Chis                   | E.U.: Illi; Méx: Hid, N.L, Ver  | Bra; Méx: D.F., E.M, Mich                       | E.U.:Lui; Méx: E.M, Jal, Mich                                  |
| <b>Estróbil</b> L (cm)                  | 10                                  | 26-29 (27)  | 7.5-25   | 36                              | 16  | 30   |
| A (μ-mm)                                | 1.3                                 | -   | 1 mm   | 2 mm                            | 1 mm  | 800  |
| <b>Cuello</b> (A)                       | -                                   | 510-930 (720)   | -  | 170-425                         | -   | -  |
| <b>Escólex</b> (L)                      | 119                                 | 450-500 (475)   | -  | 270                             | -   | -  |
| Amax/Amin                               | 174                                 | 720-760 (740)   | 240-250  | 355-408                         | 540   | 170-200 (184)  |
| <b>OA</b> (P/A)                         | A                                   | A   | A  | A                               | A   | A  |
| <b>Ventosas</b> (D)                     | 76-82 (79)                          | 250-260 (255)/<br>300-310 (305)   | 120-150  | 105-170                         | 270-300   | 102-160 (130)  |
| <b>Testículos</b> No.                   | 196-271 (223)                       | 121-169 (140)   | 80-100   | 150-215                         | 100-120   | 77-253 (130)   |
| L ó D                                   | 37-76 (55)                          | 55-100 (75)   | 42   | 53-106                          | 72-78   | 31-93  |
| A                                       | 28-52 (37)                          | -   | -  | -                               | -   | -  |
| <b>% bc/Ap</b>                          | 26-39 (33)                          | 14-20 (16)  | 28-33  | 25-33                           | <50   | 22-33 (26)   |
| <b>% Ant a PG</b>                       | 25-31 (28)                          | 48-56 (51)  | <50  | 33-50                           | 33  | 15-35 (30)   |
| <b>Vagina/BC</b> ant/post               | ant/post                            | ant/post  | ant/post                                       | ant/post                        | ant/post  | ant/post   |
| <b>Esf. vag</b> (P/A)                   | A                                   | A   | P  | P                               | ?   | A  |
| <b>RU</b> (Po/Ap)                       | -                                   | 35-53 (40)  | 15-20  | 20-30                           | 20  | 49-90 (66)   |

Abreviaturas: Brasil (**Bra**): **S.P.**, Sao Paulo. Estados Unidos (**E.U.**): **Illi**, Illinois; **Lui**, Luisiana. Italia (**It**): **Lig**, Liguria. México (**Méx**): **Chis**, Chiapas; **D.F.**, Distrito Federal; **EM**, Estado de México; **Hid**, Hidalgo; **Jal**, Jalisco; **Mich**, Michoacán; **N.L.**, Nuevo León; **Oax**, Oaxaca; **Ver**, Veracruz. **A**, ancho; **Amax/Amin**, ancho máximo/ancho mínimo; **ant/post**, anterior/posterior; **bc** ó **BC**, bolsa del cirro; **D**, diámetro; **dor/ven**, dorsal/ventral; **Esf. vag**, esfínter vaginal; **L**, largo; **No.** número; **OA**, órgano apical; **P/A**, presente/ausente; **RU**, ramas uterinas (Po, lado poral; Ap, lado aporal); **% Ant a PG**, porcentaje del largo del límite anterior del proglótido al poro genital respecto al largo del proglótido; **% bc/Ap**, porcentaje del ancho de la bolsa del cirro respecto al ancho del proglótido.

#### ***Ophiotaenia* sp. 4**

Proteocephalidae, Proteocephalinae. Estróbilo aplanado dorsoventralmente, acraspedota, de 8.4cm de largo y 737 de ancho, compuesto de alrededor de 374 proglótidos: 369 son inmaduros y 5 maduros; no hay proglótidos pregrávidos ni grávidos. Escólex redondo, con un largo de 76 y ancho de 202; presenta dos pares de ventosas musculares uniloculares en la parte anterior, cuyo diámetro va de 61 a 87 ( $x=69$ ,  $n=4$ ). Canal ventral de 6-22 ( $x=14$ ) de ancho, con una pared delgada y dorsal de 2.1-2.6 ( $x=2.3$ ) de ancho de pared gruesa. Ambos canales cruzan al final del segundo tercio del ovario o al comienzo del tercero. Genitalia terminal dispuesta entre los canales osmorregulatorios.

Testículos redondos u oblongos, de 39-65 ( $x=50$ ,  $n=137$ ) de largo y 32-52 ( $x=43$ ,  $n=137$ ) de ancho, dispuestos en una sola capa, en dos campos laterales. Por proglótido hay 129 a 175 ( $x=152$ ,  $n=7$ ). Se distribuyen desde el límite anterior del proglótido (haciendo contacto con éste), hasta el extremo anterior del ovario sin alcanzarlo. En algunos proglótidos maduros se solapan con las vitelógenas. Vaso deferente fuertemente enrollado, que en proglótidos maduros alcanza la línea media y en algunos de éstos últimos apenas la rebasa. Bolsa del cirro ovalada, de pared gruesa, de 175-206 ( $x=190$ ,  $n=8$ ) de largo, por 52-76 ( $x=64$ ,  $n=8$ ) de ancho, comprendiendo el 23-27% ( $x=25\%$ ,  $n=5$ ) del ancho de los proglótidos. Cirro de 155-187 ( $x=168$ ,  $n=8$ ) de largo, que abarca el 79-95% ( $x=88\%$ ,  $n=8$ ) del largo de la bolsa del cirro. Atrio genital poco definido. Poros genitales irregularmente alternos, que se sitúan en el 19-27% ( $x=23\%$ ,  $n=6$ ) del largo de los proglótidos.

Ovario bilobulado con límites anteriores en el segundo o tercer tercio del ovario, o en ambos, que se proyectan hacia arriba. Mide 118-200 ( $x=151$ ,  $n=5$ ) de largo, ocupando el 7-10% ( $x=9\%$ ,  $n=5$ ) del largo del proglótido y 482-687 ( $x=600$ ,  $n=9$ ) de ancho, que incluye el 82-90% ( $x=84\%$ ,  $n=9$ ) del ancho de los proglótidos. Vagina 79% anterior, 16% posterior y 5% ventral a la bolsa del cirro ( $n=19$ ), ensanchada en la región distal; ésta y el canal exhiben células que son más numerosas en el área distal. Glándula de Mehlis con un diámetro de 65-98 ( $x=85$ ,  $n=9$ ), representando el 10-14% ( $x=12\%$ ,  $n=9$ ) del ancho de los proglótidos. Folículos vitelinos ovoides, de 15-22 ( $x=19$ ,  $n=20$ ) de largo y 11-19 ( $x=15$ ,  $n=20$ ) de ancho, dispuestos en dos campos laterales que se encuentran desde el extremo anterior del proglótido sin hacer contacto con éste y llegan a la mitad del largo del ovario; comprenden el 90-94% ( $x=92\%$ ,  $n=7$ ) del largo de los proglótidos poralmente y 91-96% ( $x=93\%$ ,  $n=7$ ) en el lado aporal.

Primordio de tallo uterino presente en proglótidos inmaduros. Formación uterina similar a la descrita como tipo 2 de acuerdo con de Chambrier et al. (2004). No se observó ninguna apertura, y no se cuenta con proglótidos pregrávidos ni grávidos.

Hospedero: *Thamnophis melanogaster* (Peters, 1864), revisado el 21 de julio del 2013

Localidad: Lago de Cuitzeo, Michoacán

Sitio de infección: Intestino

Material: clave morfología 359510, molecular 359511

No. CNHE: 9790

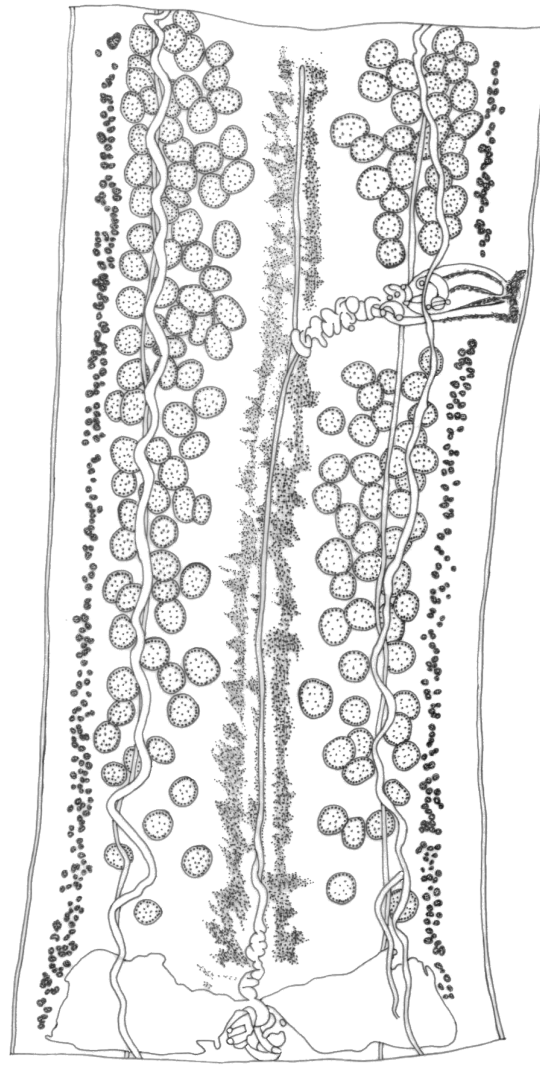


Figura 7. *Ophiotaenia* sp. 4: proglótido maduro, vista ventral. Escala, 300  $\mu$ . Nota: el dibujo del escólex no pudo hacerse debido a que el bálsamo en mal estado dañó la preparación.

## Diagnos diferencial

*Ophiotaenia* sp. 4 difiere del resto de las especies caracterizadas de colúbridos. De *Ophiotaenia* sp. 1 por carecer de órgano apical. Las especies *Ophiotaenia* sp. 3 y 4 se recolectaron de *Thamnophis melanogaster* en la localidad de Cuitzeo, Michoacán; asimismo, de ambas no se pudo obtener proglótidos pregrávidos ni grávidos. Estas especies de *Ophiotaenia* difieren en el número testicular: 196-271 (223) en *Ophiotaenia* sp. 3 y una menor cantidad en *Ophiotaenia* sp. 4: 129-175 (152); aún cuando el largo de la bolsa del cirro en ambas es muy similar, el ancho difiere considerablemente, siendo 87-143 (119) en *Ophiotaenia* sp. 3 y 52-76 (64) en *Ophiotaenia* sp. 4 (figuras 6 y 7 respectivamente); el porcentaje que ocupa el largo de la bolsa del cirro respecto al ancho del proglótido es de 26-39% (33) en *Ophiotaenia* sp. 3 y 23-27% (25) en *Ophiotaenia* sp. 4; la vagina es anterior, posterior y ventral a la bolsa del cirro en *Ophiotaenia* sp. 4 y solo se observó anterior y posterior en *Ophiotaenia* sp. 3. Adicionalmente, en los análisis filogenéticos los dos individuos aparecen anidados en clados diferentes.

Por otro lado, al compararla con *Ophiotaenia* sp. 2, el ancho del escólex y el tamaño de las ventosas es mayor en *Ophiotaenia* sp. 4, distinguiéndose además en el número testicular, en el porcentaje del ancho de la bolsa del cirro respecto al ancho del proglótido, en la posición de la vagina y ancho del ovario. En *Ophiotaenia* sp. 5 el número de testículos es mayor que en *Ophiotaenia* sp. 4, además, el porcentaje del largo de la bolsa del cirro respecto al ancho del proglótido es mayor, con un promedio de 25% en comparación con 19% en *Ophiotaenia* sp. 5; con *Ophiotaenia* sp. 6 se diferencia en el largo del escólex, diámetro de las ventosas, número testicular, largo y ancho de testículos y porcentaje de la distancia entre la región anterior del proglótido al poro genital respecto al largo del proglótido principalmente (figuras 8 y 9; Cuadro 15).

Al analizar la posición filogenética de *Ophiotaenia* sp. 4 con el gen COI, se observa separada de las demás especies de *Ophiotaenia* aquí caracterizadas, agrupándose con individuos recolectados de *Thamnophis* sp. y *Nerodia* sp. de Michoacán y de *Thamnophis* sp. de Jalisco (figura 1), organismos con los cuales la distancia genética es de 4, 9 y 5%, respectivamente; del resto de los taxa caracterizados diverge en 11 a 16%; de las especies del género *Proteocephalus* de Canadá diverge 25-29% y de la especie de *Corallobothrium* del mismo lugar de origen 27%; mientras que con el grupo externo la distancia es de 27%, valor intermedio respecto a los proteocefalideos de Canadá.

Con base en las especies registradas en reptiles en el país (Cuadro 9), se descarta a *O. micruricola* y *O. racemosa* por un ancho superior en el escólex y ventosas, además, la bolsa del cirro ocupa casi el 50% del ancho del proglótido en *O. racemosa* (figura 18,

Anexo V), versus 25% promedio en *Ophiotaenia* sp. 4 (figura 7), mientras que *O. micruricola* posee una ligera elevación en la región apical con una depresión inconspicua con forma de embudo, a diferencia del escolex inerme de *Ophiotaenia* sp. 4. *Ophiotaenia nattereri* y *O. perspicua* presentan esfínter vaginal y ventosas con un diámetro superior (Figuras 16 y 17 en Anexo V) al de *Ophiotaenia* sp. 4. Finalmente, las ventosas de *Ophiotaenia variabilis* superan el diámetro de *Ophiotaenia* sp. 4. El número de testículos en *Ophiotaenia variabilis* es muy variable y sus intervalos incluyen los valores de *Ophiotaenia* sp. 4; sin embargo, el número mínimo de testículos de *O. variabilis* no se observó en *Ophiotaenia* sp. 4; otra diferencia radica en el tamaño de los testículos, de 31 a 93 de diámetro en *O. variabilis* en contraste con un largo de 39-65 (50) y ancho de 32-52 (43) en *Ophiotaenia* sp. 4.

De las especies registradas en escamados en el continente, se distingue de las que exhiben órgano apical (Anexo IV, Cuadro 18) (Brooks, 1978; Ammann & de Chambrier, 2008; Coquille & de Chambrier, 2008); de las registradas en México; de *O. azevedoi*, *O. calmettei*, *O. crotali*, *O. euzeti*, *O. hyalina*, *O. paraguayensis* y *O. sanbernardinensis* (La Rue, 1914; Rodríguez-Lopez-Neyra & Diaz-Ungria, 1958; Freze, 1965; de Chambrier, 1990; de Chambrier et al., 1992) por la presencia de esfínter vaginal en éstas; de *O. agkistrodontis* se separa por el número de testículos y ancho del escolex: 85-142 (108) y 850-950 respectivamente (Brooks, 1978), valores que en *Ophiotaenia* sp. 4 van de 129-175 (152) y 202. Con base en el diámetro de las ventosas y número testicular de *O. arandasi*: 190 y 70 (dos Santos & Tayt-son-Rolas, 1973), se le diferencia de *Ophiotaenia* sp. 4 [61-87 (69) y 129-175 (152)]; el diámetro del escolex y el número de testículos en *O. barbouri* es 730 y 46-58 respectivamente (Pérez-Vigueras, 1934), en contraste, en *Ophiotaenia* sp. 4 estos valores son de: 202 y 129-175 (152); respecto a *O. macrobothria*, el diámetro de las ventosas es de 220-240 y el número de testículos va de 40-60 (Freze, 1965), en cambio en *Ophiotaenia* sp. 4 son de 61-87 (69) y 129-175 (152), respectivamente.

De forma semejante, el número de testículos es muy bajo en *Ophiotaenia elongata*: 26 a 44 (Freze, 1965); en *O. flava* la bolsa del cirro casi alcanza la línea media del ancho del proglótido (Freze, 1965; Bursey et al., 2005) y en *Ophiotaenia* sp. 4 ocupa del 23-27% (25). Como ya se había discutido anteriormente, *Ophiotaenia lactea* (Leidy, 1855), se consideró especie inquirienda y por falta de datos, no se comparó con *Ophiotaenia* sp. 4; en contraste con *Ophiotaenia* sp. 4, *O. habanensis* Freze & Rysavy, 1976 presenta testículos en líneas laterales a lo largo del útero, esfínter vaginal y vagina posterior a la bolsa del cirro (de Chambrier, 1987). Con base en lo anterior, se considera que el material descrito representa una especie nueva que será nombrada posteriormente.

**Cuadro 9.** Medidas y porcentajes comparativos de *Ophiotaenia* spp. descritas en México en escamados (tomadas de las descripciones originales) y de *Ophiotaenia* sp. 4 descrita en este trabajo.

|   | <i>Ophiotaenia</i> sp. 4<br>359511/10 | <i>O.micruricola</i> (Shoop & Corkum, 1982) Ammann & de Chambrier, 2008 | <i>O.nattereri</i> (Parona, 1901) La Rue, 1911 | <i>O.perspicua</i> La Rue, 1911 | <i>O.racemosa</i> (Rudolphi, 1819) La Rue, 1911 | <i>O.variabilis</i> (Brooks, 1978) Ammann & de Chambrier, 2008 |
|---|---------------------------------------|---|--|---------------------------------|---|--|
| <b>Hospedero</b>                        | <i>Thamnophis melanogaster</i>        | <i>Micrurus diastema</i>  | <i>Coluber</i> sp.                             | <i>Nerodia rhombifer</i>        | <i>Coluber</i> sp.                              | <i>Nerodia rhombifer</i> ,<br><i>N. c. cyclopion</i>           |
| <b>Entidades originales y en México</b> | Cuitzeo, Mich                         | Méx: Oax  | It: Lig; Bra: S.P; Méx: Chis                   | E.U.: Illi; Méx: Hid, N.L, Ver  | Bra; Méx: D.F., E.M, Mich                       | E.U.:Lui; Méx: E.M, Jal, Mich                                  |
| <b>Estróbilo L (cm)</b>                 | 8.4                                   | 26-29 (27)  | 7.5-25   | 36                              | 16  | 30   |
| <b>A (μ-mm)</b>                         | 737                                   | -   | 1 mm   | 2 mm                            | 1 mm  | 800  |
| <b>Cuello (A)</b>                       | 171                                   | 510-930 (720)   | -  | 170-425                         | -   | -  |
| <b>Escólex (L)</b>                      | 76                                    | 450-500 (475)   | -  | 270                             | -   | -  |
| <b>Amax/Amin</b>                        | 202                                   | 720-760 (740)   | 240-250  | 355-408                         | 540   | 170-200 (184)  |
| <b>OA (P/A)</b>                         | A                                     | A   | A  | A                               | A   | A  |
| <b>Ventosas (D)</b>                     | 61-87 (69)                            | 250-260 (255)/<br>300-310 (305)   | 120-150  | 105-170                         | 270-300   | 102-160 (130)  |
| <b>Testículos No.</b>                   | 129-175 (152)                         | 121-169 (140)   | 80-100   | 150-215                         | 100-120   | 77-253 (130)   |
| <b>L ó D</b>                            | 39-65 (50)                            | 55-100 (75)   | 42   | 53-106                          | 72-78   | 31-93  |
| <b>A</b>                                | 32-52 (43)                            | -   | -  | -                               | -   | -  |
| <b>% bc/Ap</b>                          | 23-27 (25)                            | 14-20 (16)  | 28-33  | 25-33                           | <50   | 22-33 (26)   |
| <b>% Ant a PG</b>                       | 19-27 (23)                            | 48-56 (51)  | <50  | 33-50                           | 33  | 15-35 (30)   |
| <b>Vagina/BC ant/post_ven</b>           | ant/post ven                          | ant/post  | ant/post                                       | ant/post                        | ant/post  | ant/post   |
| <b>Esf. vag (P/A)</b>                   | A                                     | A   | P  | P                               | ?   | A  |
| <b>RU (Po/Ap)</b>                       | -                                     | 35-53 (40)  | 15-20  | 20-30                           | 20  | 49-90 (66)   |

Abreviaturas: Brasil (**Bra**): **S.P**, Sao Paulo. Estados Unidos (**E.U.**): **Illi**, Illinois; **Lui**, Luisiana. Italia (**It**): **Lig**, Liguria. México (**Méx**): **Chis**, Chiapas; **D.F.**, Distrito Federal; **EM**, Estado de México; **Hid**, Hidalgo; **Jal**, Jalisco; **Mich**, Michoacán; **N.L**, Nuevo León; **Oax**, Oaxaca; **Ver**, Veracruz. **A**, ancho; **Amax/Amin**, ancho máximo/ancho mínimo; **ant/post**, anterior/posterior; **bc** ó **BC**, bolsa del cirro; **D**, diámetro; **Esf. vag**, esfínter vaginal; **L**, largo; **No.** número; **OA**, órgano apical; **P/A**, presente/ausente; **RU**, ramas uterinas (Po, lado poral; Ap, lado aporal); **ven**, ventral; **% Ant a PG**, porcentaje del largo del límite anterior del proglótido al poro genital respecto al largo del proglótido; **% bc/Ap**, porcentaje del ancho de la bolsa del cirro respecto al ancho del proglótido.



## ***Ophiotaenia* sp. 5**

Proteocephalidae, Proteocephalinae. Estróbilo acraspedota, anapolítico, aplanado dorsoventralmente de 30.7 cm de largo y 1.4 mm de ancho. Compuesto de alrededor de 404 proglótidos: 281 inmaduros, 10 maduros; 5 pregrávidos y 108 grávidos. Escólex alargado, con una protuberancia en el ápice (posiblemente resultado de contracción). Mide 206 de largo por 152 de ancho, presenta dos pares de ventosas musculares uniloculares en la parte anterior, con un diámetro de 61 a 69 ( $x=65$ ,  $n=4$ ). Zona de proliferación de 6.4 mm de largo por 610 de ancho. Cuello de 150 de ancho.

Canal ventral poco ramificado, de pared delgada de 19-22 ( $x=21$ ) de ancho y dorsal de 3-11 ( $x=7$ ) de ancho con una pared gruesa. Ambos canales suelen estar regularmente a la misma altura, al comienzo o a la mitad del tercer tercio del ovario. La bolsa del cirro y el canal vaginal están entre ambos canales.

Testículos redondos o elongados, de 37-67 ( $X=54$ ,  $n=147$ ) de largo y 30-61 ( $x=46$ ,  $n=147$ ) de ancho, dispuestos en dos capas; en proglótidos inmaduros se disponen en dos campos laterales, algunos invaden parte del útero; en proglótidos maduros y pregrávidos, los 2 campos laterales tienden a fusionarse en 1 solo campo; cada campo testicular se separa ligeramente por el canal dorsal y el ventral. Por proglótido, hay 226 a 284 ( $x=261$ ,  $n=8$ ) testículos. El vaso deferente alcanza la línea media del proglótido y la rebasa ligeramente en proglótidos maduros, pregrávidos y grávidos. Bolsa del cirro periforme, de pared gruesa, con 246-287 ( $x=262$ ,  $n=10$ ) de largo, por 69-102 ( $x=88$ ,  $n=10$ ) de ancho, ocupando un 18-21% ( $x=19\%$ ,  $n=10$ ) del ancho de los proglótidos. El cirro mide 206-271 ( $x=234$ ,  $n=9$ ) de largo y comprende el 81-96% ( $x=90\%$ ,  $n=9$ ) del largo de la bolsa del cirro. Atrio genital pequeño. Poros genitales irregularmente alternos, situados al final del primer tercio del proglótido, en el 25-35% ( $x=32\%$ ,  $n=8$ ) del largo de éstos.

Ovario bilobulado con extremos angostos, con un largo de 93-139 ( $x=116$ ,  $n=10$ ), ocupando el 10-13% ( $x=11\%$ ,  $n=9$ ) del largo del proglótido, y un ancho de 1.02-1.09 mm ( $x=1.04$  mm,  $n=10$ ) que constituye el 75-81% ( $x=79\%$ ,  $n=10$ ) del ancho de los proglótidos. Vagina 28% anterior, 65% posterior y 7% dorsal respecto a la bolsa del cirro ( $n=43$ ); más ancha que el canal vaginal, presentando ambos células en la periferia que son más numerosas en la región distal de la vagina. No hay esfínter vaginal. Glándula de Mehlis con un diámetro de 80-108 ( $x=98$ ,  $n=10$ ), representando un 6-8% ( $x=7\%$ ,  $n=10$ ) del ancho de los proglótidos. Folículos vitelinos elongados, de 17-26 ( $x=23$ ,  $n=26$ ) de largo por 11-22 ( $x=14$ ,  $n=26$ ) de ancho, dispuestos en dos bandas laterales que están a lo largo de casi todo el proglótido, excepto en los extremos anterior y posterior, dejando un espacio

ligeramente más amplio en la parte anterior; no se interrumpen al nivel de la genitalia terminal, pero si disminuyen en número. Estas bandas cupan el 90-94% (x=92%, n=9) del largo de los proglótidos en el lado poral y 90-95% (x=93%, n=9) del lado aporal.

Primordio de tallo uterino presente en proglótidos inmaduros. Formación uterina semejante a la de tipo 2 descrita por de Chambrier et al. (2004). Útero con 35-48 (x=40, n=11) divertículos del lado poral y 36-50 (x=43, n=11) del lado aporal. Ramas uterinas de pared delgada, algunas en al menos 2 capas, comprenden desde el 24% del ancho de los primeros proglótidos grávidos, hasta el 52% en los más grávidos (x=40%, n=7). Aperturas uterinas longitudinales de diferentes tamaños distribuidas azarosamente a lo largo del proglótido.

Hospedero: *Thamnophis melanogaster* (Peters, 1864), revisado el 12 abril del 2013.

Localidad: Xochimilco, Distrito Federal. Se desconoce la localidad exacta del hospedero, debido a que fue capturado por pescadores locales.

Sitio de infección: Intestino

Material: clave morfología y molecular, X2

No. CNHE: 9791

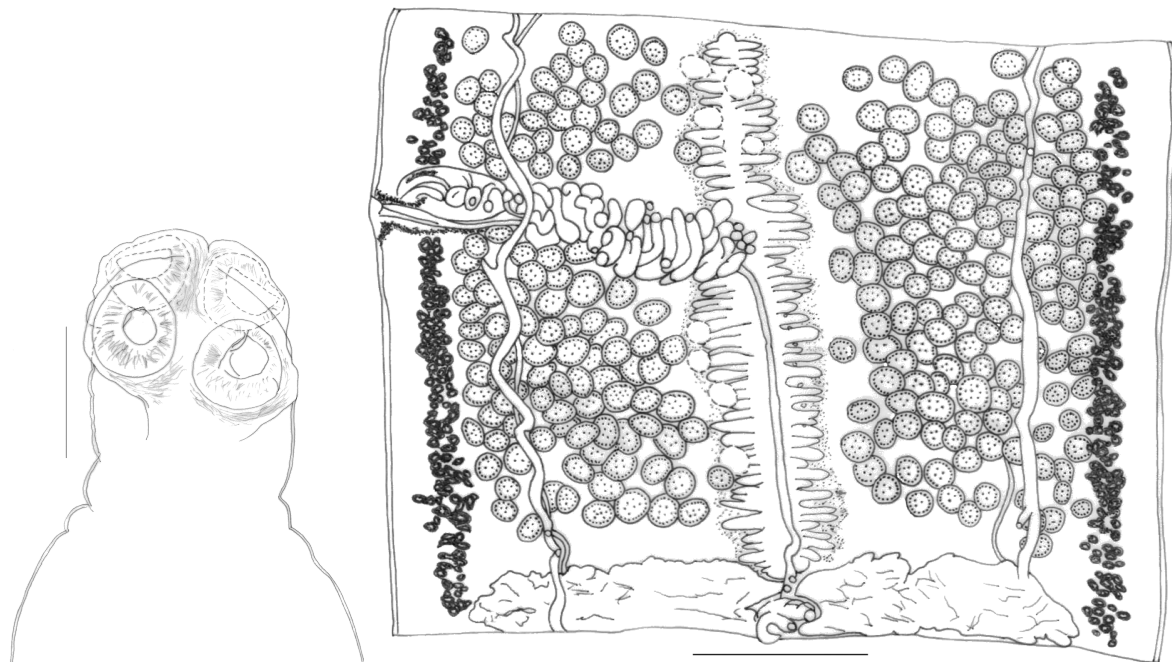


Figura 8. *Ophiotaenia* sp. 5: izquierda escólex, derecha vista ventral de proglótido maduro. Escalas: escólex 100  $\mu$  y proglótido maduro 300  $\mu$ .

## Diagnos diferencial

En contraste con las especies parásitas de culebras de este estudio, este individuo no presenta órgano apical a diferencia de *Ophiotaenia* sp. 1. Esta especie fue la que presentó el mayor número de testículos 226-284 (261), diferenciándose principalmente de *Ophiotaenia* sp. 4 y 6 cuyos valores testiculares son 129-175 (152) y 143-213 (189); además, en comparación con ambas la proporción del ancho de la bolsa del cirro respecto al ancho del proglótido fue menor en *Ophiotaenia* sp. 5: 18-21 (19), en contraste con 23-27 (25) y 24-30 (26) en *Ophiotaenia* spp. 4 y 6 respectivamente.

*Ophiotaenia* spp. 2 y 3 tienen un escólex menos largo, aunque el ancho es cercano entre ellas y *Ophiotaenia* sp. 5, no obstante, la forma de los escólices es diferente (figuras 5, 6 y 8); aunado a ello, se diferencian en el tamaño de las ventosas. Adicional a lo anterior, la mayor proporción de la bolsa del cirro respecto al ancho del proglótido, la posición de la vagina en relación a la bolsa del cirro y el mayor porcentaje del diámetro de la glándula de Mehlis en el ancho del proglótido de *Ophiotaenia* sp. 3, la diferencian de la especie aquí discutida. Asimismo, la divergencia genética obtenida entre *Ophiotaenia* sp. 5 respecto a todos los taxa caracterizados (exceptuando a *Ophiotaenia* sp. 3 y 6 con los que presenta una distancia de 6 y 4% respectivamente) va de 12 a 20% (Cuadro 5), en contraste con el 3-6% obtenidos en relación con los organismos del clado del análisis mitocondrial en el que se incluye *Ophiotaenia* sp. 5.

En las hipótesis filogenéticas generadas con el gen mitocondrial, *Ophiotaenia* sp. 5 parásita de *Thamnophis melanogaster* en Xochimilco, D. F. forma parte de un clado que comprende otras especies de *Ophiotaenia* parásitas también de *T. melanogaster* pero del estado de Michoacán; en este clado también están *Ophiotaenia* spp. 6 y 3, individuos que aparentemente corresponden a especies distintas con bases morfológicas y con los que diverge en un 4 y 6% respectivamente. Por otro lado, en los análisis con el gen nuclear (solo o concatenado con el mitocondrial) *Ophiotaenia* spp. 5 y 6 parásitas de *T. melanogaster* en el Distrito Federal aparecen como especies hermanas, formando un clado separado del resto de los individuos que parasitan a *T. melanogaster* y que fueron recolectados en Michoacán (figura 3). La distancia genética de *Ophiotaenia* sp. 5 con los otros individuos del mismo clado en el análisis mitocondrial (figura 1) va de 3-6%, y es de 12 a 20% con relación al resto de los taxa caracterizados. Dada la evidencia molecular y el hecho de que esta descripción morfológica se basó en un solo ejemplar, se requiere de más individuos para analizar su variabilidad morfológica y contrastarlo con la variabilidad genética.

La morfología de *Ophiotaenia* sp. 5 no coincide con la de las otras especies del género registradas en el país en reptiles: *O. micruricola* por su menor número testicular (figura 15, Anexo V) y mayor tamaño en escólex y ventosas; *O. nattereri* y *O. perspicua* por presentar esfínter vaginal, caracteres ausentes en la especie aquí mostrada; *O. racemosa* difiere en el ancho del escólex y diámetro de las ventosas (mayores en ésta); *O. variabilis* tiene ventosas con un diámetro de prácticamente el doble de las de *Ophiotaenia* sp. 5 (Figuras 19 (Anexo V) y 8 respectivamente), y sus ramas uterinas son muy numerosas de 49-90 (66), discordantes con las ramas promedio del lado poral y aporal: 35-50 (42) en *Ophiotaenia* sp. 5 (Cuadro 10).

Se separa de las especies de *Ophiotaenia* de América parásitas de reptiles que presentan un órgano apical (Anexo IV, Cuadro 18) (Brooks, 1978; Ammann & de Chambrier, 2008; Coquille & de Chambrier, 2008); de las que presentan esfínter vaginal: *O. azevedoi*, *O. calmettei*, *O. crotali*, *O. euzeti*, *O. hyalina*, *O. paraguayensis* y *O. sanbernardinensis* (La Rue, 1914; Rodríguez-Lopez-Neyra & Diaz-Ungria, 1958; Freze, 1965; de Chambrier, 1990 y de Chambrier et al., 1992); de *O. agkistrodontis* por el número de testículos y ancho del escólex: 85-142 (108) y 850-950 respectivamente (Brooks, 1978), valores que en *Ophiotaenia* sp. 5 van de 226-284 (261), 152; de *O. arandasi* por el diámetro de las ventosas y número testicular: 190 y 70 respectivamente (dos Santos & Tayt-son-Rolas, 1973), a diferencia de 61-69 (65) y 226-284 (261) en *Ophiotaenia* sp. 5, respectivamente; de *O. barbouri* por el diámetro del escólex y el número de testículos: 730 y 46-58 respectivamente (Pérez-Vigueras, 1934), en contraste con *Ophiotaenia* sp. 5 en donde estos valores son de: 152 y 226-284 (261).

De *Ophiotaenia macrobothria* por el diámetro de las ventosas: 220-240 y el número de testículos: 40-60 (Freze, 1965), que en *Ophiotaenia* sp. 5 van de 61-69 (65) y 226-284 (261), respectivamente; de forma semejante se separa de *O. elongata* por el número testicular: 26 a 44 (Freze, 1965); en *O. flava* la bolsa del cirro casi alcanza la línea media del ancho del proglótido (Freze, 1965; Bursey et al., 2005) y en *Ophiotaenia* sp. 5 ocupa del 18-21% (19). *Ophiotaenia lactea* (Leidy, 1855) se considera especie inquirienda en esta tesis por la falta de datos en su descripción original (La Rue, 1914), por lo que no se comparó con *Ophiotaenia* sp. 5; *O. habanensis* Freze & Rysavy, 1976 presenta testículos en líneas laterales a lo largo del útero, esfínter vaginal y vagina posterior a la bolsa del cirro (de Chambrier, 1987) en contraste con *Ophiotaenia* sp. 5.

**Cuadro 10.** Medidas y porcentajes comparativos de *Ophiotaenia* spp. descritas en México en escamados (tomadas de las descripciones originales) y de *Ophiotaenia* sp. 5 descrita en este trabajo.

|   | <i>Ophiotaenia</i> sp. 5 X2    | <i>O.micruricola</i> (Shoop & Corkum, 1982) Ammann & de Chambrier, 2008 | <i>O.nattereri</i> (Parona, 1901) La Rue, 1911 | <i>O.perspicua</i> La Rue, 1911 | <i>O.racemosa</i> (Rudolphi, 1819) La Rue, 1911 | <i>O.variabilis</i> (Brooks, 1978) Ammann & de Chambrier, 2008 |
|---|--------------------------------|---|--|---------------------------------|---|--|
| <b>Hospedero</b>                        | <i>Thamnophis melanogaster</i> | <i>Micrurus diastema</i>  | <i>Coluber</i> sp.                             | <i>Nerodia rhombifer</i>        | <i>Coluber</i> sp.                              | <i>Nerodia rhombifer</i> , <i>N. c. cyclopion</i>              |
| <b>Entidades originales y en México</b> | Xochimilco, D.F.               | Méx: Oax  | It: Lig; Bra: S.P; Méx: Chis                   | E.U.: Illi; Méx: Hid, N.L, Ver  | Bra; Méx: D.F., E.M, Mich                       | E.U.:Lui; Méx: E.M, Jal, Mich                                  |
| <b>Estróbilo L (cm)</b>                 | 30.7                           | 26-29 (27)  | 7.5-25   | 36                              | 16  | 30   |
| <b>A (μ-mm)</b>                         | 1.4                            | -   | 1 mm   | 2 mm                            | 1 mm  | 800  |
| <b>Cuello (A)</b>                       | 150                            | 510-930 (720)   | -  | 170-425                         | -   | -  |
| <b>Escólex (L)</b>                      | 206                            | 450-500 (475)   | -  | 270                             | -   | -  |
| <b>Amax/Amin</b>                        | 152                            | 720-760 (740)   | 240-250  | 355-408                         | 540   | 170-200 (184)  |
| <b>OA (P/A)</b>                         | A                              | A   | A  | A                               | A   | A  |
| <b>Ventosas (D)</b>                     | 61-69 (65)                     | 250-260 (255)/<br>300-310 (305)   | 120-150  | 105-170                         | 270-300   | 102-160 (130)  |
| <b>Testículos No.</b>                   | 226-284 (261)                  | 121-169 (140)   | 80-100   | 150-215                         | 100-120   | 77-253 (130)   |
| <b>L ó D</b>                            | 37-67 (54)                     | 55-100 (75)   | 42   | 53-106                          | 72-78   | 31-93  |
| <b>A</b>                                | 30-61 (46)                     | -   | -  | -                               | -   | -  |
| <b>% bc/Ap</b>                          | 18-21 (19)                     | 14-20 (16)  | 28-33  | 25-33                           | <50   | 22-33 (26)   |
| <b>% Ant a PG</b>                       | 25-35 (32)                     | 48-56 (51)  | <50  | 33-50                           | 33  | 15-35 (30)   |
| <b>Vagina/BC ant/post_dor/ven</b>       | ant/post dor                   | ant/post  | ant/post                                       | ant/post                        | ant/post  | ant/post   |
| <b>Esf. vag (P/A)</b>                   | A                              | A   | P  | P                               | ?   | A  |
| <b>RU (Po/Ap)</b>                       | 35-48(40)/<br>36-50(43)        | 35-53 (40)  | 15-20  | 20-30                           | 20  | 49-90 (66)   |

Abreviaturas: Brasil (**Bra**): **S.P.**, Sao Paulo. Estados Unidos (**E.U.**): **Illi**, Illinois; **Lui**, Luisiana. Italia (**It**): **Lig**, Liguria. México (**Méx**): **Chis**, Chiapas; **D.F.**, Distrito Federal; **EM**, Estado de México; **Hid**, Hidalgo; **Jal**, Jalisco; **Mich**, Michoacán; **N.L.**, Nuevo León; **Oax**, Oaxaca; **Ver**, Veracruz. **A**, ancho; **Amax/Amin**, ancho máximo/ancho mínimo; **ant/post**, anterior/posterior; **bc ó BC**, bolsa del cirro; **D**, diámetro; **dor/ven**, dorsal/ventral; **Esf. vag**, esfínter vaginal; **L**, largo; **No.** número; **OA**, órgano apical; **P/A**, presente/ausente; **RU**, ramas uterinas (Po, lado poral; Ap, lado aporal); **% Ant a PG**, porcentaje del largo del límite anterior del proglótido al poro genital respecto al largo del proglótido; **% bc/Ap**, porcentaje del ancho de la bolsa del cirro respecto al ancho del proglótido.

### ***Ophiotaenia* sp. 6**

Proteocephalidae, Proteocephalinae. Platelminetos de 17.4 cm de largo y 1.6 mm de ancho, aplanados dorsoventralmente. Estróbilo acraspedota, anapolítico, compuesto de alrededor de 356 proglótidos: 300 inmaduros, 7 maduros, 11 pregrávidos y 38 grávidos. Escólex redondo que visto apicalmente exhibe forma de trébol. Mide 150 de largo por 195 de ancho; presenta dos pares de ventosas musculares uniloculares en la región anterior, cada uno orientado lateralmente. Cada ventosa tiene un diámetro que va de 76 a 85 ( $x=80$ ,  $n=4$ ). Zona de proliferación de 4.7 mm de largo. Cuello de 169 de ancho.

Órganos internos medulares y musculatura bien desarrollada, con algunos folículos vitelinos adyacentes a los paquetes musculares. Canales osmorregulatorios ocasionalmente traslapados, que atraviesan el final del segundo tercio del ovario o al comienzo del tercero. Canal ventral de pared delgada de 9-13 ( $x=11$ ) de ancho y dorsal de pared gruesa de 3-6 ( $x=5$ ) de ancho. Se observan algunos canales osmorregulatorios secundarios en algunos proglótidos inmaduros. La bolsa del cirro y la vagina se encuentran entre los canales ventral y dorsal.

Testículos medulares, redondos o elongados, de 48-87 ( $x=68$ ,  $n=99$ ) de largo por 37-76 ( $x=53$ ,  $n=99$ ) de ancho, dispuestos en una sola capa y en dos campos laterales que se separan ligeramente por los canales osmorregulatorios. Por proglótido, hay de 143 a 213 ( $x=189$ ,  $n=6$ ). Se distribuyen desde el extremo anterior del proglótido hasta el extremo anterior del ovario sin llegar a tocar ambos extremos. En varias ocasiones los testículos invaden parte del tronco uterino. Vaso deferente fuertemente enrollado, que en proglótidos maduros llega a rebasar la línea media. Bolsa del cirro periforme, de pared gruesa, de 217-260 ( $x=241$ ,  $n=7$ ) de largo, por 100-130 ( $x=115$ ,  $n=7$ ) de ancho, ocupando un 24-30% ( $x=26\%$ ,  $n=7$ ) del ancho de los proglótidos. El cirro mide 217-258 ( $x=238$ ,  $n=7$ ) de largo y ocupa un 96-100% ( $x=99\%$ ,  $n=7$ ) del largo de la bolsa. Atrio genital pequeño; poros genitales irregularmente alternos, dispuestos en el 32-36% ( $x=34\%$ ,  $n=5$ ) del largo de los proglótidos.

Ovario medular, bilobulado, con extremos anchos en vista dorsoventral, mide 200-273 ( $x=226$ ,  $n=6$ ) de largo, abarcando el 8-12% ( $x=10\%$ ,  $n=5$ ) del largo del proglótido, y 764-919 ( $x=819$ ,  $n=6$ ) de ancho, ocupando el 89-95% ( $x=91\%$ ,  $n=6$ ) del ancho de los proglótidos; el límite anterior del último tercio de éste termina en una punta poco conspicua. Vagina 43% anterior y 57% posterior ( $n=47$ ) a la bolsa del cirro; se ensancha en la parte terminal y carece de esfínter. Presenta células que rodean a ésta y al canal vaginal, siendo más numerosas en la región distal de la vagina. Glándula de Mehlis con un

diámetro de 87-111 ( $x=99$ ,  $n=6$ ), representando un 9-13% ( $x=11\%$ ,  $n=6$ ) del ancho de los proglótidos. Folículos vitelinos oblongos, de 17-26 ( $x=20$ ,  $n=23$ ) de largo por 15-22 ( $x=17$ ,  $n=23$ ) de ancho, dispuestos en dos bandas laterales que no tocan los extremos del proglótido, dejando un espacio ligeramente mayor en la región posterior, en donde las vitelógenas no alcanzan a llegar a la mitad de la altura del ovario; en algunos proglótidos maduros se observan solapadas a la bolsa del cirro y la vagina, mientras que en otros, esto no pudo observarse debido a la sobretinción. Ocupan el 88-91% ( $x=90\%$ ,  $n=5$ ) del largo de los proglótidos en el lado poral y 90-92% ( $x=91\%$ ,  $n=5$ ) en el lado aporal.

Formación uterina similar a la del tipo 2, descrita por de Chambrier et al. (2004). Primordio de tallo uterino presente en proglótidos inmaduros. Útero con 26-39 ( $x=34$ ,  $n=7$ ) divertículos laterales del lado poral y 28-38 ( $x=34$ ,  $n=7$ ) del lado aporal, son de pared delgada y están en al menos 2 capas; comprenden el 41-49% ( $x=44\%$ ,  $n=7$ ) del ancho de los proglótidos grávidos. Apertura longitudinal vista en últimos proglótidos grávidos a lo largo de todo el proglótido sin llegar a los extremos anterior y posterior.

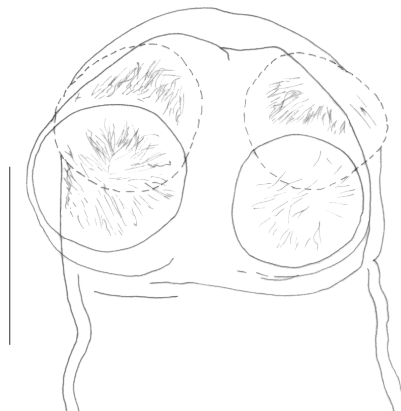
Hospedero: *Thamnophis melanogaster* (Peters, 1864), revisado el 12 abril del 2013.

Localidad: Xochimilco, Distrito Federal. Se desconoce la localidad exacta del hospedero, debido a que fue capturado por pescadores locales.

Sitio de infección: Intestino

Material: Clave morfológica y molecular, X4

No. CNHE: 9792, 9793



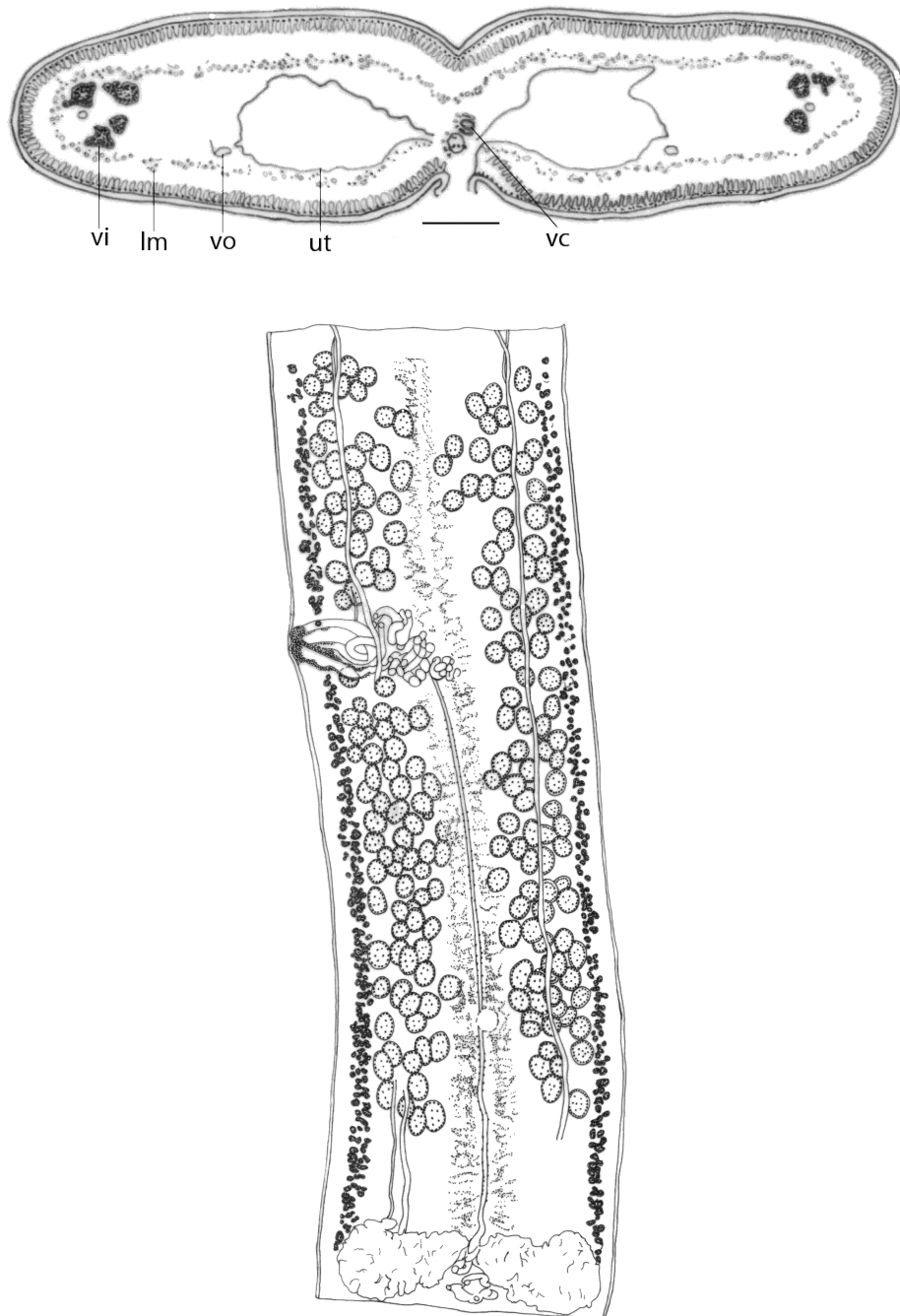


Figura 9. *Ophiotaenia* sp. 6: de arriba hacia abajo: escólex, corte transversal y vista ventral de proglótido maduro. Abreviaturas: **lm**, musculatura longitudinal; **ut**, útero; **vc**, canal vaginal; **vi**, vitelógenas; **vo**, canal osmorregulatorio ventral. Escalas: escólex y corte transversal 100  $\mu$ ; proglótido maduro 300  $\mu$ .



## Diagnos diferencial

Al igual que *Ophiotaenia* sp. 5, este parásito fue recolectado de *Thamnophis melanogaster* en la localidad de Xochimilco en el Distrito Federal; no presenta órgano apical, por lo que se distingue de *Ophiotaenia* sp. 1. De *Ophiotaenia* sp. 2 difiere (entre otras características) en el largo, ancho del escólex y diámetro de las ventosas: l=65-98 (85), a=119-152 (134), diam=52-58 (56), a diferencia de las medidas de *Ophiotaenia* sp. 6: l=150, a=195, diam=76-85 (80); el número de testículos en *Ophiotaenia* sp. 3 es mayor: 196-271 (223) comparado con 143-213 (189) en *Ophiotaenia* sp. 6 quien también tiene testículos de mayor tamaño comparados con los de *Ophiotaenia* sp. 3; *Ophiotaenia* sp. 4 tiene un escólex más corto, ventosas más pequeñas, testículos menos numerosos, una menor proporción del límite anterior del proglótido al poro genital respecto al largo del proglótido (entre otras características) en comparación con el de *Ophiotaenia* sp. 6. Un escólex más corto y más ancho, ventosas más grandes, testículos menos numerosos y más grandes, una mayor proporción del ancho de la bolsa respecto al ancho del proglótido son algunas de las características de *Ophiotaenia* sp. 6 que la distinguen de *Ophiotaenia* sp. 5 (Cuadro 15). La posición filogenética de esta especie se discutió en *Ophiotaenia* sp. 5.

De acuerdo con el análisis del gen mitocondrial, *Ophiotaenia* sp. 6 es parte de un clado que comprende a varios organismos con los que conserva una distancia de 0 a 4%, incluidos los individuos caracterizados como *Ophiotaenia* sp. 3 y 5; con el resto de las especies de *Ophiotaenia* caracterizadas la divergencia va de 10 a 18%. En el análisis del 28S, forma un clado exclusivo con *Ophiotaenia* sp. 5. La caracterización de esta especie enfrenta el problema de la falta de información sobre la variabilidad morfológica y genética, dado que se basa en un solo individuo. Con las especies del género *Proteocephalus* de Canadá, la distancia es de 24-29% y con la especie de *Corallobothrium* del mismo país es 27%, mientras que con el grupo externo es 26%, valor intermedio respecto a los proteocefalideos de Canadá a pesar de que el grupo externo se clasifica en otro orden.

Con referencia a las especies registradas en reptiles en México (Cuadro 11), *Ophiotaenia* sp. 6 no pertenece a *O. nattereri* y *O. perspicua* por la presencia de esfínter vaginal y un escólex y ventosas de mayor tamaño; de *O. micruricola* difiere en la proporción de la bolsa del cirro respecto al ancho del proglótido (menor en *O. micruricola*), en la posición del poro genital en relación con el largo del proglótido ( $x=51\%$  en *O. micruricola* y  $34\%$  en *Ophiotaenia* sp. 6), en las dimensiones superiores del escólex y ventosas de *O. micruricola* respecto a *Ophiotaenia* sp. 6 (Figuras 15 (Anexo V) y 9 respectivamente). De *Ophiotaenia racemosa* difiere en el ancho del escólex y diámetro de las ventosas (mayores en ésta en comparación con *Ophiotaenia* sp. 6, figuras 9, 18).

*Ophiotaenia variabilis* tiene ventosas de mayor tamaño que *Ophiotaenia* sp. 6 (Figuras 19 (Anexo V) y 9 respectivamente), y ramas uterinas muy numerosas: 49-90 (66), a diferencia de las ramas promedio del lado poral y aporal: 26-39 (34) en *Ophiotaenia* sp. 6 (Cuadro 11).

Además de no corresponder con la morfometría de las especies de *Ophiotaenia* registradas en México, se distingue de las especies americanas del género *Ophiotaenia* parásitas de reptiles que presentan un órgano apical (Anexo IV, Cuadro 18) (Brooks, 1978; Ammann & de Chambrier, 2008; Coquille & de Chambrier, 2008); de las que presentan esfínter vaginal: *O. azevedoi*, *O. calmettei*, *O. crotali*, *O. euzeti*, *O. hyalina*, *O. paraguayensis* y *O. sanbernardinensis* (La Rue, 1914; Rodríguez-Lopez-Neyra & Diaz-Ungria, 1958; Freze, 1965; de Chambrier, 1990 y de Chambrier et al., 1992); de *O. agkistrodontis* se separa por el número de testículos y ancho del escólex: 85-142 (108) y 850-950 respectivamente (Brooks, 1978), valores que en *Ophiotaenia* sp. 6 van de 143-213 (189), 195; de *O. arandasi* por el diámetro de las ventosas y número testicular: 190, 70 respectivamente (dos Santos & Tayt-son-Rolas, 1973), a diferencia de 76-85 (80) y 143-213 (189) en *Ophiotaenia* sp. 6.

De *Ophiotaenia barbouri* se separa por el diámetro del escólex y el número de testículos: 730 y 46-58, respectivamente (Pérez-Vigueras, 1934), en contraste con *Ophiotaenia* sp. 6 en donde el ancho del escólex es de: 195 y hay de 143-213 (189) testículos; de *O. macrobothria* por el diámetro de las ventosas: 220-240 y el número de testículos: 40-60 (Freze, 1965), que en *Ophiotaenia* sp. 6 van de 76-85 (80) y 143-213 (189) respectivamente; de *O. elongata* por un número testicular menor: 26 a 44 (Freze, 1965), a diferencia del número mayor de testículos en *Ophiotaenia* sp. 6; en *O. flava* la bolsa del cirro casi alcanza la línea media del ancho del proglótido (Freze, 1965; Bursey et al., 2005) y en *Ophiotaenia* sp. 6 ocupa del 24-30 (26). *Ophiotaenia lactea* (Leidy, 1855) se consideró especie inquirenda por la somera descripción realizada por su autor original (La Rue, 1914). En contraste con *Ophiotaenia* sp. 6, *O. habanensis* Freze & Rysavy, 1976 presenta testículos en líneas laterales a lo largo del útero, esfínter vaginal y vagina posterior a la bolsa del cirro (de Chambrier, 1987).

**Cuadro 11.** Medidas y porcentajes comparativos de *Ophiotaenia* spp. descritas en México en escamados (tomadas de las descripciones originales) y de *Ophiotaenia* sp. 6 descrita en este trabajo.

|   | <i>Ophiotaenia</i> sp. 6 X4    | <i>O.micruricola</i> (Shoop & Corkum, 1982) Ammann & de Chambrier, 2008 | <i>O.nattereri</i> (Parona, 1901) La Rue, 1911 | <i>O.perspicua</i> La Rue, 1911 | <i>O.racemosa</i> (Rudolphi, 1819) La Rue, 1911 | <i>O.variabilis</i> (Brooks, 1978) Ammann & de Chambrier, 2008 |
|---|--------------------------------|---|--|---------------------------------|---|--|
| <b>Hospedero</b>                        | <i>Thamnophis melanogaster</i> | <i>Micrurus diastema</i>  | <i>Coluber</i> sp.                             | <i>Nerodia rhombifer</i>        | <i>Coluber</i> sp.                              | <i>Nerodia rhombifer</i> ,<br><i>N. c. cyclopion</i>           |
| <b>Entidades originales y en México</b> | Xochimilco, D.F.               | Méx: Oax  | It: Lig; Bra: S.P; Méx: Chis                   | E.U.: Illi; Méx: Hid, N.L, Ver  | Bra; Méx: D.F., E.M, Mich                       | E.U.:Lui; Méx: E.M, Jal, Mich                                  |
| <b>Estróbilo L (cm)</b>                 | 17.4                           | 26-29 (27)  | 7.5-25   | 36                              | 16  | 30   |
| <b>A (μ-mm)</b>                         | 1.6                            | -   | 1 mm   | 2 mm                            | 1 mm  | 800  |
| <b>Cuello (A)</b>                       | 169                            | 510-930 (720)   | -  | 170-425                         | -   | -  |
| <b>Escólex (L)</b>                      | 150                            | 450-500 (475)   | -  | 270                             | -   | -  |
| <b>Amax/Amin</b>                        | 195                            | 720-760 (740)   | 240-250  | 355-408                         | 540   | 170-200 (184)  |
| <b>OA (P/A)</b>                         | A                              | A   | A  | A                               | A   | A  |
| <b>Ventosas (D)</b>                     | 76-85 (80)                     | 250-260 (255)/<br>300-310 (305)   | 120-150  | 105-170                         | 270-300   | 102-160 (130)  |
| <b>Testículos No.</b>                   | 143-213 (189)                  | 121-169 (140)   | 80-100   | 150-215                         | 100-120   | 77-253 (130)   |
| <b>L ó D</b>                            | 48-87 (68)                     | 55-100 (75)   | 42   | 53-106                          | 72-78   | 31-93  |
| <b>A</b>                                | 37-76 (53)                     | -   | -  | -                               | -   | -  |
| <b>% bc/Ap</b>                          | 24-30 (26)                     | 14-20 (16)  | 28-33  | 25-33                           | <50   | 22-33 (26)   |
| <b>% Ant a PG</b>                       | 32-36 (34)                     | 48-56 (51)  | <50  | 33-50                           | 33  | 15-35 (30)   |
| <b>Vagina/BC ant/post_dor/ven</b>       | ant/post                       | ant/post  | ant/post                                       | ant/post                        | ant/post  | ant/post   |
| <b>Esf. vag (P/A)</b>                   | A                              | A   | P  | P                               | ?   | A  |
| <b>RU (Po/Ap)</b>                       | 26-39(34)/<br>28-38(34)        | 35-53 (40)  | 15-20  | 20-30                           | 20  | 49-90 (66)   |

Abreviaturas: Brasil (**Bra**): **S.P.**, Sao Paulo. Estados Unidos (**E.U.**): **Illi**, Illinois; **Lui**, Luisiana. Italia (**It**): **Lig**, Liguria. México (**Méx**): **Chis**, Chiapas; **D.F.**, Distrito Federal; **EM**, Estado de México; **Hid**, Hidalgo; **Jal**, Jalisco; **Mich**, Michoacán; **N.L.**, Nuevo León; **Oax**, Oaxaca; **Son**, Sonora; **Ver**, Veracruz. **A**, ancho; **Amax/Amin**, ancho máximo/ancho mínimo; **ant/post**, anterior/posterior; **bc ó BC**, bolsa del cirro; **D**, diámetro; **dor/ven**, dorsal/ventral; **Esf. vag**, esfínter vaginal; **L**, largo; **No.** número; **OA**, órgano apical; **P/A**, presente/ausente; **RU**, ramas uterinas (Po, lado poral; Ap, lado aporal); **% Ant a PG**, porcentaje del largo del límite anterior del proglótido al poro genital respecto al largo del proglótido; **% bc/Ap**, porcentaje del ancho de la bolsa del cirro respecto al ancho del proglótido.

#### 5.4.3.2 Comentarios sobre la situación de *Ophiotaenia variabilis* en México

*Ophiotaenia variabilis* fue registrada en México como parásito de *Thamnophis eques* y *T. melanogaster* en Ciénaga de Lerma en el Estado de México, Lagos de Cuitzeo y Pátzcuaro en Michoacán y en Chapala Jalisco. Estos registros que fueron publicados por Pérez-Ponce de León et al. (2001). en nuestros muestreos se colectó material helmintológico cuyos hospederos y localidades coinciden con los muestreados por Jiménez-Ruiz (1999). A continuación presentamos algunos comentarios relacionados con la identidad de ambos lotes de material.

Una de las especies del género *Ophiotaenia* registrada en México es *Ophiotaenia variabilis*, especie que se recuperó de dos especies de hospederos: *Thamnophis eques* y *T. melanogaster*, registro en el país que se publicó por Pérez-Ponce de León et al. (2001), basado en el trabajo de tesis de Jiménez-Ruiz (1999) que determinó 819 ejemplares apoyándose en 60 ejemplares para hacer observaciones, 25 de los cuales fueron organismos adultos en los que se tomaron medidas; algunas de éstas no se ajustan a las descritas originalmente por Brooks (1978) para la especie (autor que basó su descripción en 15 especímenes, Figura 19), como el ancho del escólex: 148-304 (232), el diámetro de las ventosas: 53-129 (97), y el número de ramas uterinas: 16-71 (37) en Jiménez-Ruiz (1999) versus los intervalos registrados por Brooks (1978): 170-200 (184), 102-160 (130) y 49-90 (66) respectivamente, y aunque parte de los valores de Jiménez-Ruiz se incluyen en los intervalos de Brooks (1978), éstos pueden ser mayores o menores en comparación. Otras diferencias respecto a la diagnosis original subyacen en las dimensiones del ovario, intervalo del número testicular y proporción de la bolsa del cirro respecto al ancho del proglótido (Jiménez-Ruiz, 1999).

Otra diferencia son las especies de hospederos y la distribución de los mismos: mientras que los hospederos registrados por Jiménez-Ruiz son del género *Thamnophis*, *T. eques* [distribuidas en el suroeste de Estados Unidos; en México al noroeste y gran parte del centro incluyendo la Faja Volcánica Transmexicana, y parte del sur (Rossman et al., 1996)] y *T. melanogaster* [encontradas en México, en parte de la región occidental de la FVT, una porción del noroeste y al centro de la zona norte (Rossman et al., 1996)], los registros de Brooks son de *Nerodia*, *N. rhombifer* (sureste de Estados Unidos, norte de México en el lado este, la costa del golfo y Chiapas al Sur en el país, continuándose en Guatemala y Bécice) y *N. cyclopion* que es simpátrica con *N. rhombifer* en varios estados de E. U., excepto Georgia, Florida, Carolina del Sur y Kentucky que también se encuentran al sureste del mismo país (Uetz, 2006).

Asimismo, Brooks (1978) señaló la presencia de conductos excretores corticales reticulados asociados al sistema excretor que se anastomosan cerca de la región final de la

parte posterior del proglótido; mientras que Jiménez-Ruiz (1999) también hace referencia a los conductos pero en la región medular en contraste con la posición cortical que se indica por el primer autor; ambos sin haber mostrado cortes en sus descripciones, ni haberlos incluido en sus dibujos, y sin señalar si dichos conductos se conectan al canal osmorregulatorio ventral o dorsal. Jiménez-Ruiz (1999) mencionó que estos conductos son exclusivos de la especie, sin embargo en *Ophiotaenia* spp. 2, 4, 7 y 8 también se observó que el canal ventral se bifurcaba y se anastomosaba a lo largo del proglótido en distintos niveles (figuras 5, 7, 10 y 11). De forma semejante, en un organismo del género *Thaumasioscolex* de Chiapas parásito de *Didelphis marsupialis* (del cual únicamente se realizaron observaciones) se notó que su canal ventral también se bifurca y anastomosa, característica que no exhibe *Thaumasioscolex didelphidis* parásito de *Didelphis marsupialis* en Veracruz, descrito por Cañeda-Guzmán et al. (2001). Por lo anterior, es posible que *Ophiotaenia variabilis* sea un conjunto de varias especies.

#### 5.4.3.3 Especies parásitas de anfibios

##### ***Ophiotaenia* sp. 7**

Proteocephalidae, Proteocephalinae. Estróbilo de 22 cm de largo y 1.5 mm de ancho, aplanado dorsoventralmente, acraspedota, anapolítico, compuesto de más de 204 proglótidos: 108 inmaduros, 2 maduros, no se observaron proglótidos pregrávidos y hay 94 grávidos. Escólex redondeado, con una región apical prominente y achatada (en forma de meseta), con un largo de 182 y ancho de 341; presenta dos pares de ventosas musculares uniloculares en la parte anterior, cuyo diámetro va de 128 a 143 ( $x=137$ ,  $n=4$ ). Órgano apical muscular, no armado, con un largo de 39 y un ancho de 115, representando el 34% del ancho del escólex; hay células bajo este órgano distribuidas en forma de racimos. Zona de proliferación de 1.9 mm de largo.

Canales osmorregulatorios distribuidos en el último tercio del ovario, sobrepasándolo y en algunas ocasiones aproximándose más hacia las vitelógenas; pueden estar en el mismo nivel, o el dorsal acercarse más hacia la línea media del proglótido y el ventral más hacia las vitelógenas. Ambos se traslapan con los testículos. Canal ventral ramificado que luego se anastomosa, con un ancho de 22-37 ( $x=29$ ) y una pared delgada; canal dorsal de pared gruesa y ancho de 4-9 ( $x=6$ ). Genitalia terminal entre ambos canales.

Testículos redondos o elongados, de 43-63 ( $x=54$ ,  $n=63$ ) de largo y 41-58 ( $x=51$ ,  $n=63$ ) de ancho, dispuestos en una o dos capas, en dos campos laterales. Por proglótido

hay 127 a 151 ( $x=138$ ,  $n=3$ ) y ocasionalmente invaden parte del tronco uterino. Se distribuyen desde el borde anterior del proglótido (haciendo contacto con éste), hasta antes de llegar a los bordes anteriores de los lóbulos del ovario, alcanzándolos raramente en proglótidos grávidos. En varias ocasiones tocan las vitelógenas. Vaso deferente enrollado, con más circunvoluciones en proglótidos grávidos que en maduros; no alcanza la línea media del proglótido, solo en algunos de los primeros grávidos. Bolsa del cirro piriforme, elongada, de pared gruesa, de 273-300 ( $x=282$ ,  $n=3$ ) de largo, por 91-106 ( $x=99$ ,  $n=3$ ) de ancho, ocupando un 24-26% ( $x=25\%$ ,  $n=3$ ) del ancho de los proglótidos. El cirro mide 210-249 ( $x=226$ ,  $n=3$ ) de largo y constituye el 77-83% ( $x=80\%$ ,  $n=3$ ) del largo de la bolsa del cirro. La mayoría de las veces se observa un atrio genital pequeño, aunque ocasionalmente se observan dos poros genitales separados. Poros genitales irregularmente alternos, que se encuentran en el 21-24% ( $x=23\%$ ,  $n=3$ ) del largo de los proglótidos.

Ovario bilobulado, de 173-182 ( $x=176$ ,  $n=3$ ) de largo, ocupando el 15-17% ( $x=16\%$ ,  $n=3$ ) del largo del proglótido y un ancho de 707-750 ( $x=732$ ,  $n=3$ ) que abarca el 63-65% ( $x=64\%$ ,  $n=3$ ) del ancho de los proglótidos; presenta un istmo ancho, del cual surge un lóbulo con forma de puño en cada extremo, cuyos límites anteriores son más prominentes al madurar el estróbilo. De igual forma sucede con el istmo, el cual se va engrosando con dicho proceso. Vagina 42% anterior, 2% posterior y 55.5% dorsal a la bolsa del cirro ( $n=45$ ); posee forma de bulbo y junto con el canal vaginal exhiben células en la periferia que son más predominantes en la región distal de la vagina. Glándula de Mehlis con un diámetro de 104-119 ( $x=111$ ,  $n=3$ ), representando un 9-10.3% ( $x=9.6\%$ ,  $n=3$ ) del ancho de los proglótidos. Folículos vitelinos ovalados, de 14-22 ( $x=18$ ,  $n=21$ ) de largo por 11-19 ( $x=14$ ,  $n=21$ ) de ancho, dispuestos en dos campos laterales que ocupan el 94-96% ( $x=95\%$ ,  $n=3$ ) del largo de los proglótidos en el lado poral y 94-95% ( $x=94.5\%$ ,  $n=3$ ) en el lado aporal. No tocan el extremo anterior del proglótido, llegando ocasionalmente a los límites del posterior; hay un mayor espacio entre las vitelógenas y el margen anterior. Asimismo, en algunos proglótidos inmaduros y grávidos, éstas pueden llegar a traslaparse con la genitalia terminal disminuyendo en número.

Primordio de tallo uterino presente en proglótidos inmaduros. Formación uterina en proglótidos inmaduros y grávidos semejante a la de tipo 2 descrita por de Chambrier et al. (2004); sin embargo, difiere en proglótidos maduros, pues el tronco uterino es más grueso y delimitado. Útero con 16-29 ( $x=21$ ,  $n=6$ ) divertículos laterales del lado poral y 17-27 ( $x=22$ ,  $n=6$ ) del lado aporal, dispuestos en al menos 2 capas; de pared delgada, ocupando 38-59% ( $x=49$ ,  $n=5$ ) del ancho de los proglótidos grávidos. En estos proglótidos, se observaron algunas aperturas uterinas longitudinales de tamaño variable.

Hospedero: *Lithotates zweifeli* (Hillis, Frost & Webb, 1984), revisado el 4 de julio del 2004).

Localidad: Carretera Tumbiscatio de Ruíz-Playitas, Michoacán.

Sitio de infección: Intestino

Material: Clave morfología 1972.4

No. CNHE: 9794

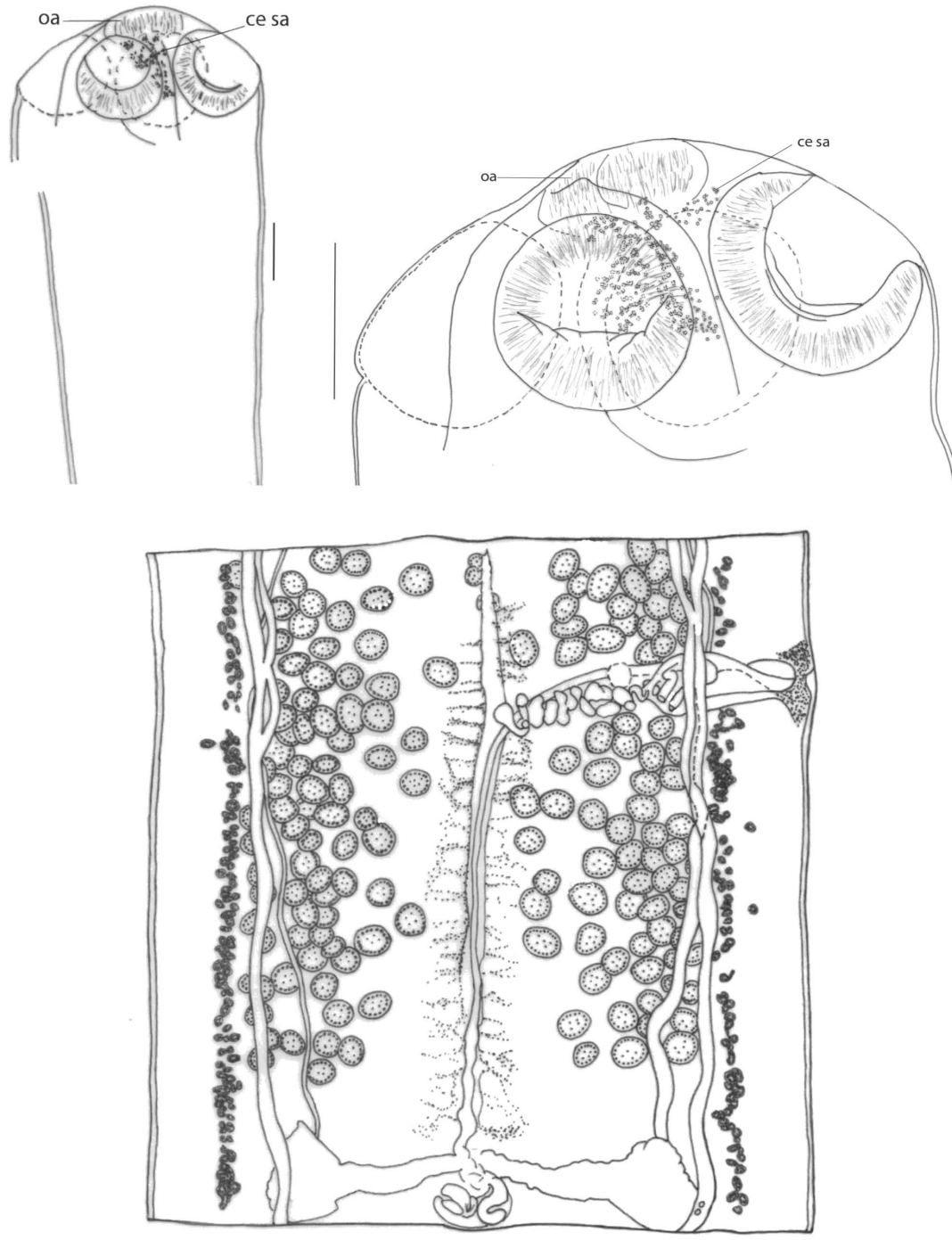


Figura 10. *Ophiotaenia* sp. 7: arriba escólex visto con diferentes acercamientos; abajo, vista ventral de proglótido maduro. Abreviaturas: **ce sa**, células subapicales; **oa**, órgano apical. Escalas: escólex 100  $\mu$ ; proglótido maduro 300  $\mu$ .

## Diagnos diferencial

Esta *Ophiotaenia* fue encontrada en la rana *Lithobates zweifeli* en Michoacán, desafortunadamente no fue posible obtener secuencias de DNA de individuos de este tipo morfológico; sin embargo, de acuerdo con sus características difiere del resto de las especies parásitas descritas en anfibios en este trabajo. De *Ophiotaenia* sp. 8, difiere en la forma del escólex (alargado y ancho hacia la región anterior y angosto hacia la posterior), mientras que en *Ophiotaenia* sp. 7, es redondeado; además *Ophiotaenia* sp. 8 presenta un órgano apical cilíndrico que ocupa del 6-10 (8) del ancho del escólex, en contraste con el 34% calculado en *Ophiotaenia* sp. 7 (figuras 10 y 11, respectivamente); finalmente, de igual forma que con *Ophiotaenia* sp. 8, *Ophiotaenia* sp. 9 presenta un escólex largo, que se ensancha hacia la región anterior y se angosta hacia la posterior (figura 12), versus redondeado en *Ophiotaenia* sp. 7 (Cuadro 15). Aunado a ello, *Ophiotaenia* sp. 9 carece de alguna estructura apical en el escólex y su vagina es 100% anterior respecto a la bolsa del cirro, rasgo que en *Ophiotaenia* sp. 7 se observó anterior, posterior y ventral (Cuadro 15).

*Ophiotaenia* sp. 7 exhibe un órgano apical que la diferencia de *Ophiotaenia magna* (figura 14, Anexo V), especie registrada en anfibios en México que carece de esta estructura. Por su parte, aunque *Ophiotaenia filaroides* posee tal estructura, se distingue de *Ophiotaenia* sp. 7 porque presenta un escólex más ancho, ventosas de mayor tamaño y testículos menos numerosos (366-460, 165-184 y 70-114, respectivamente), así como vagina anterior, mientras que en *Ophiotaenia* sp. 7 los valores de estas estructuras son 341, 128-143 (137), 127-151 (138) y la vagina abre anterior, posterior y dorsal en el poro genital (Cuadro 12); además, los órganos apicales de ambas tienen distintas características (figura 10 y 13 en Anexo V).

Entre las especies de *Ophiotaenia* conocidas en América, que son parásitas de anfibios y que presentan órgano apical (Anexo III, Cuadro 17), están *O. bonariensis*, *O. ecuadorensis*, *O. oumanskyi* y *O. saphena* (Freze, 1965; Dyer, 1986; de Chambrier & Gil de Pertierra, 2012). Se separa de *Ophiotaenia bonariensis* por un ancho escólex (800) que termina en punta en la región apical (Freze, 1965) en contraste con el escólex redondeado de 341 de ancho en *Ophiotaenia* sp. 7; *O. ecuadorensis* tiene ventosas de 200 de largo por 190 de ancho y el poro genital se sitúa ligeramente preecuatorial (Dyer, 1986) a diferencia de *Ophiotaenia* sp. 7 cuyas ventosas miden 128-143 (137) de diámetro y el poro genital se encuentra en el 21-24 (23) del largo del proglótido respecto al límite anterior; *O. oumanskyi* muestra varias células con inclusiones granulares debajo del órgano apical, estructura que ocupa el 14-17% del ancho del escólex (de Chambrier & Gil de Pertierra, 2012), mientras que en *Ophiotaenia* sp. 7, aunque si hay células bajo el órgano apical, estas son más numerosas que en *O. oumanskyi* y se arreglan en racimos; además el



órgano apical ocupa mayor espacio respecto al ancho del escólex: 34% (ver figura 10); *O. saphena* tiene un escólex con un largo de 200 a 250 y un ancho de 270 a 320, órgano apical sacular, elongado, rodeado de membranas basofílicas y relleno con una masa de núcleos y fibras dispersos azarosamente (Freze, 1965), en contraste con el órgano apical ancho con células en la región inferior dispuestas en forma de racimos y un escólex de 182 de largo y ancho de 341 en *Ophiotaenia* sp. 7. Con base en lo anterior, se considera que el material descrito representa una especie nueva que será nombrada posteriormente.

**Cuadro 12.** Medidas y porcentajes comparativos de *Ophiotaenia* spp. descritas en México en anfibios (tomadas de las descripciones originales) y de *Ophiotaenia* sp. 7 descrita en este trabajo.

|   | <i>Ophiotaenia</i> sp. 7<br>1972.4       | <i>O. filaroides</i><br>(La Rue, 1909) La Rue, 1911 | <i>O. magna</i><br>Hannum, 1925 |
|---|--|---|---------------------------------|
| <b>Hospedero</b>                        | <i>Lithobates zweifeli</i>               | <i>Ambystoma tigrinum</i>                           | <i>Lithobates catesbianus</i>   |
| <b>Entidades originales y en México</b> | Carr. Tumbiscatio de Ruíz-Playitas, Mich | E.U.: Kan, Neb; Méx: EM, N.L, Mich, D.F.            | E.U.: Ok, Tex; Méx: D.F., Son   |
| <b>Estróbilo L (cm)</b>                 | 22                                       | 8-11  | 60                              |
| <b>A (μ-mm)</b>                         | 1.5                                      | 800-900   | 1.5 mm                          |
| <b>Cuello (A)</b>                       | 341                                      | 300-360   | 500                             |
| <b>Escólex (L)</b>                      | 182                                      | -   | -                               |
| <b>Amax/Amin</b>                        | 341                                      | 366-460   | 455                             |
| <b>OA (P/A)</b>                         | P  | P   | A                               |
| <b>Ventosas (D)</b>                     | 128-143 (137)                            | 165-184   | 187                             |
| <b>Testículos No.</b>                   | 127-151 (138)                            | 70-114  | 100-125                         |
| <b>L ó D</b>                            | 43-63 (54)                               | 50-60   | 45-60                           |
| <b>A</b>                                | 41-58 (51)                               | -   | -                               |
| <b>% bc/Ap</b>                          | 24-26 (25)                               | -   | -                               |
| <b>% Ant a PG</b>                       | 21-24 (23)                               | 20  | 33-66                           |
| <b>Vagina/BC</b><br>ant/post/dor        | ant/post<br>dor                          | ant   | ant/post                        |
| <b>Esf. vag (P/A)</b>                   | A  | P   | A                               |
| <b>RU (Po/Ap)</b>                       | 16-29(21)/17-27(22)                      | 25-35   | 40-50                           |

Abreviaturas: Estados Unidos (E.U.): **Kan**, Kansas; **Neb**, Nebraska; **Ok**, Oklahoma; **Tex**, Texas. México (**Méx**): **D.F.**, Distrito Federal; **EM**, Estado de México; **Mich**, Michoacán; **N.L**, Nuevo León; **Son**, Sonora. **A**, ancho; **Amax/Amin**, ancho máximo/ancho mínimo; **ant/post/dor**, anterior/posterior/dorsal; **bc** ó **BC**, bolsa del cirro; **Carr**, Carretera; **D**, diámetro; **Esf. vag**, esfínter vaginal; **L**, largo; **No.** número; **OA**, órgano apical; **P/A**, presente/ausente; **RU**, ramas uterinas (Po, lado poral; Ap, lado aporal); **% Ant a PG**, porcentaje del largo del límite anterior del proglótido al poro genital respecto al largo del proglótido; **% bc/Ap**, porcentaje del ancho de la bolsa del cirro respecto al ancho del proglótido.

## ***Ophiotaenia* sp. 8**

Proteocephalidae, Proteocephalinae. Estróbilo de 8.7 a 12.7 cm de largo ( $x=10.7$ ,  $n=2$ ) y de 910 a 1 mm de ancho ( $x=955$ ,  $n=2$ ), aplanado dorsoventralmente, acraspedota, anapolítico, compuesto de alrededor de 151 a 193 ( $x=172$ ,  $n=2$ ) proglótidos: 118 a 138 ( $x=128$ ,  $n=2$ ) inmaduros, de 0 a 1 maduros, de 0 a 2 ( $x=1$ ,  $n=2$ ) pregrávidos y 31 a 54 ( $x=43$ ,  $n=2$ ) grávidos.

Escólex alargado, más ancho en la parte superior y angosto al nivel del cuello, con un largo de 500 a 519 ( $x=510$ ,  $n=2$ ); ancho máximo de 337 a 437 ( $x=387$ ,  $n=2$ ) y ancho mínimo de 273-350 ( $x=311$ ,  $n=2$ ); presenta dos pares de ventosas musculares uniloculares en la parte anterior, cuyo diámetro va de 102 a 145 ( $x=129$ ,  $n=7$ ). Órgano apical muscular, no armado, con un largo de 26 a 28 ( $x=27$ ,  $n=2$ ) y un ancho de 26 a 34 ( $x=30$ ,  $n=2$ ), representando el 6 al 10% ( $x=8\%$ ,  $n=2$ ) del ancho del escólex. Zona de proliferación de 1.2 a 2 mm ( $x=1.6$ ,  $n=2$ ) de largo. Cuello de 255 a 273 ( $x=264$ ,  $n=2$ ) de ancho.

Canales osmorregulatorios que pueden estar traslapados o adyacentes, el dorsal tiende a orientarse ligeramente hacia el centro y el ventral es más cercano a las vitelógenas; ambos atraviesan longitudinalmente la última parte del tercer tercio del ovario o pasan al lado de las vitelógenas, laterales al ovario. Ocasionalmente, se solapan con los testículos. Canal ventral de 15-39 ( $x=28$ ,  $n=2$ ) de ancho, de pared delgada, y dorsal de 3.2-12 ( $x=6$ ,  $n=2$ ) de ancho con una pared gruesa. Se observaron algunos canales secundarios sobre el ventral. Genitalia terminal y testículos situados entre el canal ventral y dorsal.

Testículos redondos o elongados, de 35-58 ( $x=45$ ,  $n=124$ ) de largo y 28-50 ( $x=39$ ,  $n=124$ ) de ancho, por lo general en una capa, aunque también pueden estar en dos; dispuestos en dos campos laterales; en algunas ocasiones llegan a invadir parte del tronco uterino en proglótidos pregrávidos y en los primeros grávidos. Su número va de 109 a 133 ( $x=124$ ,  $n=6$ ). Se distribuyen desde el margen anterior del proglótido, haciendo contacto o no con éste, hasta antes del ovario; sin embargo, en proglótidos muy grávidos, los testículos tocan los extremos anteriores del ovario e incluso, se intercalan con sus folículos. Vaso deferente enrollado, que alcanza la línea media en maduros y la rebasa ligeramente en los pregrávidos y grávidos. Bolsa del cirro piriforme, alargada, de pared gruesa, de 195-228 ( $x=215$ ,  $n=6$ ) de largo por 82-119 ( $x=94$ ,  $n=6$ ) de ancho, ocupando un 24-30% ( $x=27\%$ ,  $n=6$ ) del ancho de los proglótidos. Cirro de 128-163 ( $x=149$ ,  $n=6$ ) de largo, comprendiendo el 58-78% ( $x=69\%$ ,  $n=6$ ) del largo de la bolsa del cirro. Atrio genital poco conspicuo, que en ocasiones no se observa, generando una impresión de poros separados.

Porro genital irregularmente alterno, dispuesto al final del primer quinto de los proglótidos, en el 14-24% ( $x=18\%$ ,  $n=6$ ) del largo de éstos.

Ovario bilobulado, de 136-296 ( $x=211$ ,  $n=7$ ) de largo, abarcando 14-21% ( $x=18\%$ ,  $n=6$ ) de la longitud del proglótido y 455-564 ( $x=518$ ,  $n=7$ ) de ancho, ocupando el 61-67% ( $x=64\%$ ,  $n=7$ ) de su anchura. Ovario con alas (extremos anteriores que terminan en punta) ligeramente prominentes en proglótidos inmaduros y muy prominentes en algunos pregrávidos y grávidos, llegando a juntarse con los testículos e intercalándose con ellos ocasionalmente como en el organismo 1992. Se observan espacios vacíos entre las células del ovario, así como fragmentos esféricos de ovario separados de esta estructura, que se intercalan con los testículos. El organismo 1973 presenta un istmo ancho que se va engrosando a medida que madura el estróbilo. Vagina ensanchada, 64 a 66% ( $x=65$ ) anterior, 9 a 19% ( $x=14$ ) posterior y 16 a 27% ( $x=22$ ) dorsal a la bolsa del cirro ( $n=88$ ), rodeada de células que son más numerosas en la zona distal; canal vaginal grueso con células en su periferia. Glándula de Mehlis con un diámetro de 113-152 ( $x=131$ ,  $n=7$ ), representando un 13-22% ( $x=17\%$ ,  $n=7$ ) del ancho de los proglótidos. Folículos vitelinos oblongos, de 15 a 22 ( $x=19$ ,  $n=26$ ) de largo por 11 a 19 ( $x=15$ ,  $n=26$ ) de ancho, dispuestos en dos campos laterales que casi tocan los límites anterior y posterior del proglótido, dejando un espacio poco mayor en la región anterior. Ocupan el 93-97% ( $x=95\%$ ,  $n=6$ ) del largo de los proglótidos en el lado poral y 93-97% ( $x=95\%$ ,  $n=6$ ) en el lado aporal. Estos folículos son adyacentes a los testículos y son más numerosos en la región posterior.

Primordio de tallo uterino presente en proglótidos inmaduros. Formación uterina semejante a la descrita de tipo 2 de acuerdo con de Chambrier et al. (2004), no obstante, lo que se describe para el tipo 2 en pregrávidos se observó en nuestros organismos en los grávidos, con células en el extremo de las ramas en los últimos grávidos; en el organismo 1973 los primeros grávidos se parecen a los últimos proglótidos inmaduros descritos para el tipo uterino 1, sin embargo, en nuestros organismos, los primeros grávidos presentan el tronco uterino bien definido por una membrana y presentan células dispuestas horizontalmente alrededor de un tronco uterino engrosado. Asimismo, en los últimos proglótidos inmaduros del organismo 1992, el útero se vé como un tubo con pequeñas ramificaciones laterales con células dispuestas horizontalmente a su alrededor, características que no se observan en el tipo uterino 2 descrito por de Chambrier et al. (2004), representado en la figura 2 de ese estudio. Útero con 16-35 ( $x=25$ ,  $n=12$ ) divertículos laterales del lado poral y 18-36 ( $x=27$ ,  $n=12$ ) del lado aporal; presentan pared delgada, pueden estar en dos campos y constituyen el 40-66% ( $x=55\%$ ,  $n=11$ ) del ancho de los proglótidos grávidos. Apertura o aperturas uterinas longitudinales que se distribuyen a lo largo del proglótido, sin llegar a los extremos.

Hospederos: 1973 y 1992: *Lithobates* sp. revisados el 4 de julio del 2004.

Localidad: 1973 y 1992: Sierra de Arteaga, Michoacán.

Sitio de infección: Intestino

Material: claves usadas en morfología y molecular, individuos 1992 y 1973

No. CNHE: 9795, 9796

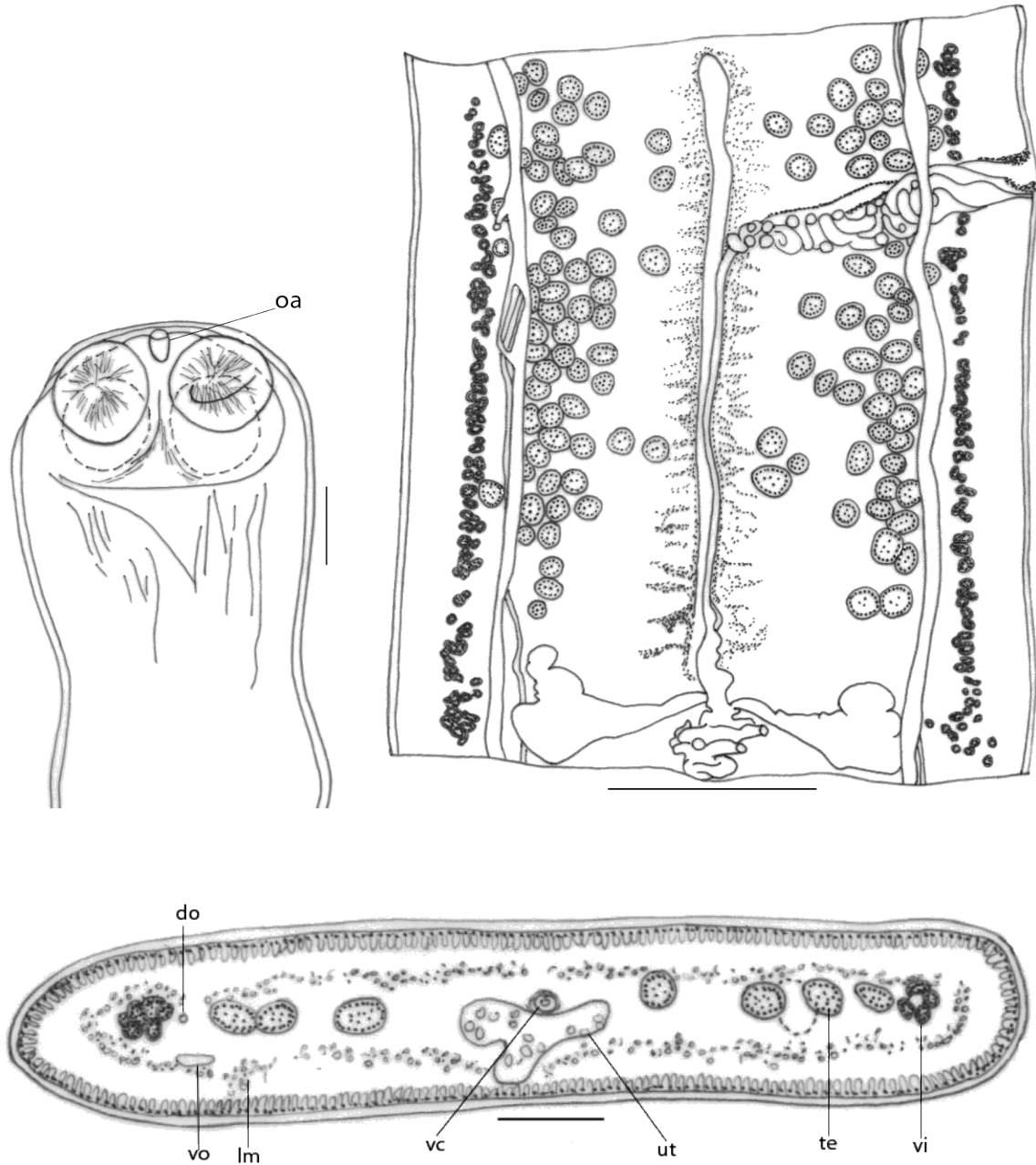


Figura 11. *Ophiotaenia* sp. 8: arriba izquierda escólex; derecha, vista ventral de proglótido maduro. Abajo, corte transversal. Abreviaturas: **do**, canal osmorregulatorio dorsal; **lm**, musculatura longitudinal; **oa**, órgano apical; **te**, testículos; **ut**, útero; **vc**, canal vaginal; **vi**, vitelógenas; **vo**, canal osmorregulatorio ventral. Escalas: escólex y corte transversal 100  $\mu$ ; proglótido maduro 300  $\mu$ .

## Diagnos diferencial

Esta especie de *Ophiotaenia* se distingue de las especies del género parásitas de anfibios de este estudio. De *Ophiotaenia* sp. 7 se diferencia principalmente en la forma del escólex [*Ophiotaenia* sp. 7=redondo y en *Ophiotaenia* sp. 8=alargado (ancho anteriormente y angosto hacia la región posterior)] y de la estructura apical (*Ophiotaenia* sp. 7=ancho y corto, y con células debajo de éste, ocupando el 34% del ancho del escólex y cilíndrico en *Ophiotaenia* sp. 8=, ocupando del 6-10% (8) del ancho del escólex) (figuras 10 y 11); en *Ophiotaenia* sp. 9 la vagina es 100% anterior a la bolsa del cirro y carece de alguna estructura apical en el escólex (figura 12) (Cuadro 15). Aunado a lo anterior, la divergencia genética con el resto de los taxa caracterizados va de 14 a 20%, valor significativo al comparado al que hay entre ambos individuos clasificados como *Ophiotaenia* sp. 8 que fue de 0.4%.

En las hipótesis derivadas de los análisis del gen mitocondrial, los individuos pertenecientes a *Ophiotaenia* sp. 8 hospedados por *Lithobates* sp. en Michoacán, forman un clado que se relaciona con otro constituido por *Ophiotaenia* sp. 9 que parasita a *Lithobates megapoda*. Entre clado y clado hay una distancia genética que va del 14 al 15%. A su vez, el clado que incluye a los individuos pertenecientes a *Ophiotaenia* spp. 8 y 9 comprende además una especie de *Ophiotaenia* parásita de *Lithobates vaillanti* en Veracruz, que presenta una divergencia genética de 18% respecto con *Ophiotaenia* sp. 8, valor que indica que pertenecen a especies diferentes. Lo anterior se ve respaldado porque parasitan especies de hospederos distintas, pues las especies del género *Ophiotaenia* son muy específicas en relación a su hospedero (de Chambrier et al., 2006). En el resto de los análisis, estas relaciones se conservan; sin embargo, debido a que la secuencia 28S de uno de los organismos nombrado como *Ophiotaenia* sp. 8 (clave 1973) no se pudo obtener, no está presente en dichos análisis.

Algo semejante sucede con *Ophiotaenia* sp. (clave 36015) recuperada de *Lithobates zweifeli*, de la cual no se contó con material morfológico para su identificación y tampoco se obtuvo la secuencia mitocondrial pero si la nuclear, relacionándose con *Ophiotaenia* sp. 8 parásita de *Lithobates* sp., ambas de Michoacán, y que probablemente podrían pertenecer a la misma especie en caso de que la identidad del hospedero de *Ophiotaenia* sp. 8 fuera el mismo que el de *Ophiotaenia* sp. (clave 36015) “*zweifeli*” (lo cual es posible debido a la cercanía de las localidades de recolecta), pues se ha observado especificidad hospedatoria del tipo oioxénico de las especies del género *Ophiotaenia* en anfibios y reptiles (de Chambrier et al., 2006; Amman y de Chambrier, 2008); no obstante, esto no pudo corroborarse morfológicamente.

En contraste con las especies del género *Ophiotaenia* reportadas en anfibios en México, *Ophiotaenia magna* carece de órgano apical (figura 14, Anexo V), estructura presente en *Ophiotaenia* sp. 8. En relación a *Ophiotaenia filaroides*, *Ophiotaenia* sp. 8 carece de esfínter vaginal, el diámetro de las ventosas es menor y el número de los testículos mayor; además, ambas tienen escólices con forma distinta (figuras 11 y 13); la posición anterior de la vagina respecto a la bolsa del cirro en *O. filaroides* discierne de la posición anterior, posterior y dorsal en *Ophiotaenia* sp. 8.

En el continente, se reconocen 20 especies del género *Ophiotaenia* que parasitan anfibios (de Chambrier & Gil de Pertierra, 2012, Anexo III, Cuadro 17); de ellas, poseen órgano apical: *Ophiotaenia bonariensis* Szidat & Soria, 1954, *O. ecuadorensis* Dyer, 1986, *O. filaroides* (La Rue, 1909), *O. oumanskyi* de Chambrier & Gil de Pertierra, 2012 y *O. saphena* Osler, 1931 (La Rue, 1914; Freze, 1965; Dyer, 1986; de Chambrier & Gil de Pertierra, 2012) al igual que *Ophiotaenia* sp. 8. Descartando a *Ophiotaenia filaroides* (ya anteriormente analizada), *O. bonariensis* presenta un escólex con un ancho de 800 y con un ápice puntiagudo (Freze, 1965) en contraste al escólex elongado y piriforme de *Ophiotaenia* sp. 8 con dos anchos: uno mínimo de 311 y uno máximo de 387.

*Ophiotaenia ecuadorensis* tiene un escólex globoso de 370 de largo y 450 de ancho, ventosas de 200 de largo por 190 de ancho y el poro genital se sitúa ligeramente preecuatorial (Dyer, 1986) a diferencia de *Ophiotaenia* sp. 8 que muestra un escólex largo de 500-519 (510), anchos mínimo y máximo del escólex 273-350 (311) y 337-437 (387), respectivamente, ventosas de 102-145 (129) y poro genital en el 14-24% (18) del largo del proglótido; *O. oumanskyi* muestra varias células con inclusiones granulares debajo del órgano apical, estructura que ocupa el 14-17% del ancho del escólex (de Chambrier & Gil de Pertierra, 2012), mientras que en *Ophiotaenia* sp. 8 únicamente se observa el órgano apical que se establece en el 6-10% (8) del ancho del escólex; *Ophiotaenia saphena* tiene un escólex con un largo de 200 a 250 y un ancho de 270 a 320, órgano apical sacular, elongado, rodeado de membranas basofílicas y relleno con una masa de núcleos y fibras dispersos azarosamente (Freze, 1965) en contraste con el órgano apical cilíndrico y sin células a su alrededor, un escólex elongado de 510 de largo, ancho máximo en la región anterior y mínimo hacia la posterior, de 387 y 311, respectivamente, en *Ophiotaenia* sp. 8.

Con base en lo anterior, se considera que el material descrito representa una especie nueva que será nombrada posteriormente.

**Cuadro 13.** Medidas y porcentajes comparativos de *Ophiotaenia* spp. descritas en México en anfibios (tomadas de las descripciones originales) y de *Ophiotaenia* sp. 8 descrita en este trabajo.

|   | <i>Ophiotaenia</i> sp. 8<br>1973 y 1992                       | <i>O. filaroides</i><br>(La Rue, 1909) La Rue,<br>1911 | <i>O. magna</i><br>Hannum, 1925  |
|---|---|--|----------------------------------|
| <b>Hospedero</b>                        | <i>Lithobates</i> sp.   | <i>Ambystoma tigrinum</i>                              | <i>Lithobates catesbianus</i>    |
| <b>Entidades originales y en México</b> | Sie. De Arteaga: Tumbiscatio-<br>Playitas: Apo El Viejo, Mich | E.U.: Kan,<br>Neb; Méx: EM, N.L, Mich,<br>D.F.         | E.U.: Ok, Tex; Méx: D.F.,<br>Son |
| <b>Estróbilo L (cm)</b>                 | 8.7-12.7 (10.7)   | 8-11   | 60                               |
| <b>A (μ-mm)</b>                         | 910-1 (955)   | 800-900  | 1.5 mm                           |
| <b>Cuello (A)</b>                       | 255-273 (264)   | 300-360  | 500                              |
| <b>Escólex (L)</b>                      | 500-519 (510)   | -  | -                                |
| <b>Amax/Amin</b>                        | 337-437 (387)<br>/273-350 (311)                               | 366-460  | 455                              |
| <b>OA (P/A)</b>                         | P   | P  | A                                |
| <b>Ventosas (D)</b>                     | 102-145 (129)   | 165-184  | 187                              |
| <b>Testículos No.</b>                   | 109-133 (124)   | 70-114   | 100-125                          |
| <b>L ó D</b>                            | 35-58 (45)  | 50-60  | 45-60                            |
| <b>A</b>                                | 28-50 (39)  | -  | -                                |
| <b>% bc/Ap</b>                          | 24-30 (27)  | -  | -                                |
| <b>% Ant a PG</b>                       | 14-24 (18)  | 20   | 33-66                            |
| <b>Vagina/BC<br/>ant/post/dor</b>       | ant/post<br>dor   | ant  | ant/post                         |
| <b>Esf. vag (P/A)</b>                   | A   | P  | A                                |
| <b>RU (Po/Ap)</b>                       | 16-35(25)/18-36(27)   | 25-35  | 40-50                            |

Abreviaturas: Estados Unidos (E.U.): **Kan**, Kansas; **Neb**, Nebraska; **Ok**, Oklahoma; **Tex**, Texas. México (**Méx**): **D.F.**, Distrito Federal; **EM**, Estado de México; **Mich**, Michoacán; **N.L**, Nuevo León; **Son**, Sonora. **A**, ancho; **Amax/Amin**, ancho máximo/ancho mínimo; **ant/post/dor**, anterior/posterior/dorsal; **bc** ó **BC**, bolsa del cirro; **Carr**, Carretera; **D**, diámetro; **Esf. vag**, esfínter vaginal; **L**, largo; **No.** número; **OA**, órgano apical; **P/A**, presente/ausente; **RU**, ramas uterinas (Po, lado poral; Ap, lado aporal); **% Ant a PG**, porcentaje del largo del límite anterior del proglótido al poro genital respecto al largo del proglótido; **% bc/Ap**, porcentaje del ancho de la bolsa del cirro respecto al ancho del proglótido.



## ***Ophiotaenia* sp. 9**

Proteocephalidae, Proteocephalinae. Estróbilo aplanado dorsoventralmente, acraspedota, anapolítico, de 12.1 cm de largo y 836 de ancho, compuesto de cerca de 189 proglótidos: 45 inmaduros, 14 maduros; 3 pregrávidos y 127 grávidos.

Escólex periforme, redondo hacia la parte anterior y aplanado en la región apical, alargado hacia abajo, más angosto en la parte inferior, terminando con un istmo. Tiene un largo de 428 y un ancho máximo de 255 y mínimo de 164; presenta dos pares de ventosas musculares uniloculares en la parte anterior, cada uno orientado lateralmente, cuyo diámetro va de 91 a 100 ( $x=96$ ,  $n=4$ ). Zona de proliferación con 2.5 mm de largo y cuello de 119 de ancho.

Canal osmorregulatorio ventral de pared delgada y dorsal de pared gruesa, con anchos de 30-58 ( $x=45$ ) y 4.3-8.6 ( $x=6.6$ ), respectivamente. Los dos canales atraviesan el último tercio del ovario, el ventral es sinuoso y puede estar lateral a las vitelógenas (probablemente por la contracción); el dorsal se puede solapar con el ventral, ser lateral o estar más orientado hacia la parte media, ocasionalmente se ramifica. Ambos canales se solapan con los testículos.

Testículos redondos o elongados, de 35-63 ( $x=46$ ,  $n=86$ ) de largo y 26-41 ( $x=35$ ,  $n=86$ ) de ancho, dispuestos en dos capas, en dos campos laterales, que ocasionalmente se separan por el conducto osmorregulatorio dorsal. Se distribuyen desde el límite anterior del proglótido tocando éste (probablemente por contracción), hasta el borde anterior del ovario, en algunos casos traslapados a éste o adyacentes (probablemente por contracción); también se solapan a la vagina, bolsa del cirro y conducto deferente. Los testículos se observan entre los canales osmorregulatorios. Por proglótido hay de 97 a 118 ( $x=110$ ,  $n=7$ ). Vaso deferente enrollado, que no alcanza la línea media de los proglótidos. Bolsa del cirro de pared gruesa, elongada, con forma de saco, de 189-236 ( $x=201$ ,  $n=13$ ) de largo, por 43-58 ( $x=53$ ,  $n=12$ ) de ancho, ocupando el 20-24% ( $x=22\%$ ,  $n=13$ ) del ancho de los proglótidos. El cirro mide 124-180 ( $x=151$ ,  $n=11$ ) de largo y comprende el 60-92% ( $x=76\%$ ,  $n=11$ ) del largo de la bolsa del cirro. Atrio genital muy pequeño, que en proglótidos maduros no se observó; hay células alrededor de éste, más numerosas en la parte distal. Poros genitales irregularmente alternos, se encuentran en el 15-22% ( $x=18\%$ ,  $n=15$ ) del largo de los proglótidos.

Ovario bilobulado, de 109-155 ( $x=123$ ,  $n=14$ ) de largo, abarcando el 22-30% ( $x=25\%$ ,  $n=14$ ) del largo del proglótido y 646-792 ( $x=701$ ,  $n=15$ ) de ancho, que incluye el

72-78% ( $x=74\%$ ,  $n=15$ ) de su anchura. Vagina 100% anterior ( $n=132$ ), muy ensanchada al igual que el canal vaginal en proglótidos maduros, pregrávidos y primeros grávidos, ambos con células en su contorno. Glándula de Mehlis con un diámetro de 87-115 ( $x=106$ ,  $n=12$ ), representando el 9-13% ( $x=11\%$ ,  $n=12$ ) del ancho de los proglótidos. Los folículos vitelinos (no se midieron debido a contracción de los proglótidos) se aglomeran y forman dos campos laterales a lo largo de todo el proglótido, en general, dejando un espacio pequeño al nivel del borde anterior de éste; disminuyen en número en la bolsa del cirro y la vagina, traslapándose a ellos. Cada campo ocupa el 79-98% ( $x=94\%$ ,  $n=13$ ) del largo de los proglótidos en el lado poral y 81-97% ( $x=93\%$ ,  $n=12$ ) en el lado aporal.

Formación uterina similar al tipo 2 (descrita por de Chambrier et al., 2004), excepto que en el material de estudio se observaron proyecciones celulares longitudinales que terminan en punta en el extremo de cada rama (visto en proglótidos inmaduros, maduros, pregrávidos y primeros grávidos). Primordio de tallo uterino presente en proglótidos inmaduros. Útero con 22-31 ( $x=27$ ,  $n=5$ ) divertículos laterales en el lado poral y 17-31 ( $x=26$ ,  $n=5$ ) en el aporal, que pueden estar en dos capas, son de pared delgada y tienen una proporción de 39-53% ( $x=45$ ,  $n=10$ ) respecto al ancho de los proglótidos grávidos. No se observa apertura uterina.

Hospedero: *Lithobates megapoda* (Taylor, 1942), revisado el 13 de julio del 2013.

Localidad: Lago de Cuitzeo, Michoacán; Lago de Cajititlán, Jalisco

Sitio de infección: Intestino

Material: Clave morfología 35632, y 35633 molecular; 34805

No. CNHE: 9797

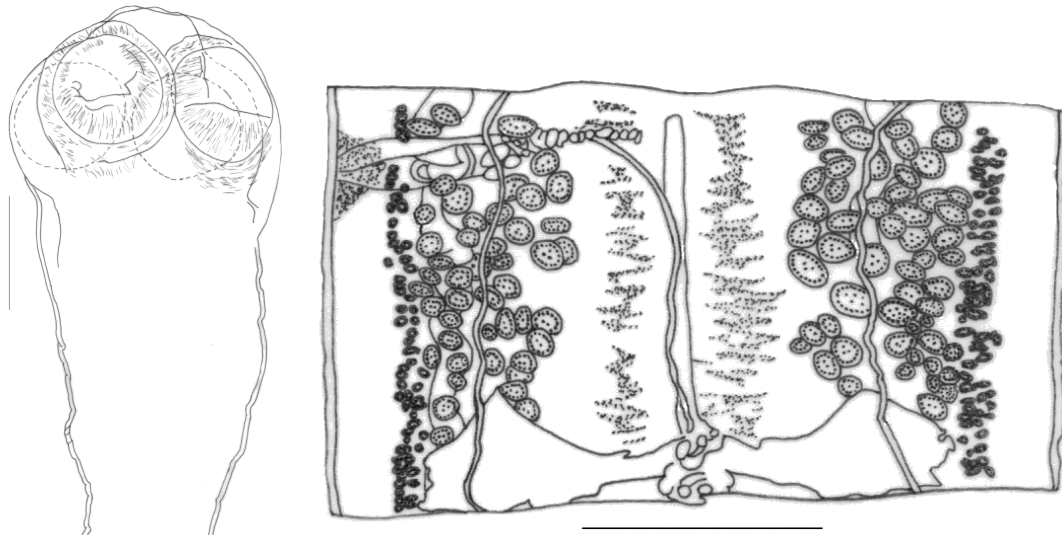


Figura 12. *Ophiotaenia* sp. 9: izquierda escólex; derecha vista dorsal de proglótido maduro. Escalas: escólex, 100  $\mu$ ; proglótido maduro 300  $\mu$ .

## Diagnos diferencial

Esta especie de *Ophiotaenia* se recuperó del intestino de *Lithobates megapoda*. Uno de los dos individuos clasificados como *Ophiotaenia* sp. 9 (clave 34805, Anexo I, Cuadro 16) fue descrito por Velarde-Aguilar (2014), con el que guarda una distancia genética de cero; desafortunadamente, el escólex que se presenta en el trabajo arriba citado corresponde al de una larva, razón por la cual su determinación taxonómica no puede ser precisada. El individuo de *Ophiotaenia* descrito por Velarde-Aguilar (2014) presenta de 84-112 testículos, el poro genital se encuentra al final del primer quinto del largo del proglótido y la vagina es anterior a la bolsa del cirro, características similares a *Ophiotaenia* sp. 9: número testicular: 97-118 (110), poro genital en el 15-22% (18) del largo del proglótido y vagina 100% anterior; sin embargo, difieren en algunas características como el número de ramas uterinas y porcentaje que ocupa la bolsa del cirro respecto al ancho del proglótido: 32-42, 30-33%, respectivamente en la descripción de Velarde-Aguilar, y 17-31 (26), 20-24% (22) en *Ophiotaenia* sp. 9.

La cercanía filogenética entre ambos individuos, la ausencia de distancia genética, aunado a la similitud de varias de sus características morfológicas, indica que pertenecen a la misma especie, no obstante es necesaria la recolecta de más individuos con escólices para la elaboración de una descripción más detallada. Por otro lado, la divergencia genética con relación a *Ophiotaenia* sp. parásita de *Lithobates vaillanti* en Veracruz es de 13%, una distancia menor en comparación a la que presenta con el clado hermano constituido por los individuos de *Ophiotaenia* sp. 8, que es de 14.5%.

La especie *Ophiotaenia* sp. 9 difiere de *Ophiotaenia* spp. 7 y 8 recolectadas de anfibios, en la presencia de órgano apical en éstas, además es el único organismo de todos los caracterizados en este trabajo con la vagina 100% anterior respecto a la bolsa del cirro (Cuadro 15). Suplementario a lo anterior, la divergencia con el resto de los taxa caracterizados va de 14 a 18% (Cuadro 5).

Comparando a *Ophiotaenia* sp. 9 con las especies de este género registradas en anfibios en México, se distingue por la presencia de órgano apical y esfínter vaginal en *Ophiotaenia filaroides*, propiedades ausentes en el organismo en estudio. Escólex con un ancho mayor, ventosas con un diámetro más amplio y un poro genital con una mayor tendencia hacia la región ecuatorial del proglótido, así como la posición anterior y posterior de la vagina son algunas de las características de *O. magna* (figura 14, Anexo V) contrastantes con las de *Ophiotaenia* sp. 9 (figura 12).

En el continente americano, se han registrado 20 especies de *Ophiotaenia* parasitando anfibios (de Chambrier & Gil de Pertierra, 2012); *Ophiotaenia* sp. 9 se distingue de cinco de ellas porque presentan órgano apical (La Rue, 1914; Freze, 1965; Dyer, 1986; de Chambrier & Gil de Pertierra, 2012) (Anexo III, Cuadro 17). *Ophiotaenia alessandrae* Marsella & de Chambrier, 2008 tiene un escólex redondo con un diámetro de 475, presenta células numerosas con inclusiones granulares y ventosas de 185 a 215 de diámetro (Marsella & de Chambrier, 2008), en tanto que en *Ophiotaenia* sp. 9 el escólex es alargado, periforme y tiene dos anchos distintos: 255 ancho máximo y 164 de ancho mínimo, no se observaron células en su escólex y tiene ventosas de menor diámetro 91-100 (96); *O. alternans* Riser, 1942 y *O. amphiumae* (Zeliff, 1932) presentan un escólex con un ancho que no excede el milímetro y un promedio de 100 ramas uterinas, además la primera presenta esfínter vaginal (Brooks, 1978) en contraste con los anchos de menos de 300 en el escólex, 26 a 27 ramas uterinas y ausencia de esfínter vaginal en *Ophiotaenia* sp. 9.

*Ophiotaenia bonneti* de Chambrier, Coquille & Brooks, 2006 presenta un escólex más ancho: 280-385 (315), con células con un contenido granular debajo del ápice y al nivel de las ventosas que a su vez presentan un diámetro de 130-180 (154) (de Chambrier et al., 2006), en contraste con el escólex elongado de *Ophiotaenia* sp. 9, con un ancho máximo de 255 y uno mínimo de 164, que carece de células y con ventosas que miden 91 a 100 (96), siendo más pequeñas que las de *O. bonneti*; *O. bufonis* (Vigueras, 1942) tiene un mayor número testicular: 141-191 y el escólex mide de 525 a 625 de ancho (de Chambrier & Gil de Pertierra, 2012), en contraste, *Ophiotaenia* sp. 9 posee 97-118 (110) testículos y el ancho del escólex es menor de 300 micrometros.

*Ophiotaenia calamensis* Pugas & Formas, 2005 exhibe un escólex globoso, 34-60 (42) testículos y de 9-19 (13) ramas uterinas en cada lado (Pugas & Formas, 2005), a diferencia del escólex periforme y elongado, 97-118 (110) testículos y un promedio de 26 a 27 ramas uterinas en cada lado en *Ophiotaenia* sp. 9; *O. ceratophryos* (Parodi et Widakowich, 1916) presenta un escólex cuadrangular de 700 de diámetro, ventosas de 200 de diámetro, y útero con 16 a 20 divertículos laterales en cada lado (Freze, 1965), lo que la separa de *Ophiotaenia* sp. 9 cuyo escólex periforme mide menos de 300 de ancho (en cada ancho), sus ventosas tienen un promedio de 96 de diámetro y el útero contiene 17-31 (26) ramas uterinas en cada lado.

*Ophiotaenia cryptobranchi* La Rue, 1914 presenta de 35-50 ramas uterinas y su vagina puede ser anterior o posterior al saco del cirro (Brooks, 1978), a diferencia de la vagina anterior a la bolsa del cirro y el menor número de ramas uterinas en *Ophiotaenia*

sp. 9; *O. gracilis* Jones, Cheng et Gillespie, 1958 tiene un escólex de 350 de diámetro y 135-155 testículos (Freze, 1965), valores que en *Ophiotaenia* sp. 9 son: 255 ancho máximo /164 ancho mínimo del escólex y 97-118 (110) testículos; *O. hernandezii* (Flores-Barroeta, 1955) tiene un escólex triangular con un ancho de 880 y 59 a 78 testículos (Flores-Barroeta, 1955), lo que lo distingue de *Ophiotaenia* sp. 9 que ostenta un escólex piriforme con menos de 300 de ancho (máximo y mínimo) y 97-118 (110) testículos.

*Ophiotaenia loennbergii* (Fuhrmann, 1895) presenta escólex con un ancho de 576-864 y ventosas con un largo de 240-250 por 140-220 de ancho (Brooks, 1978) en contraste con valores más reducidos en *Ophiotaenia* sp. 9 de tales características; *O. noei* Wolffhügel, 1948 cuenta con 200-250 testículos, el ancho del escólex va de 410 a 580 y hay 70 ramas uterinas en cada lado (de Chambrier & Gil de Pertierra, 2012) en contraste con los 97-118 (110) testículos, un escólex con un ancho menor a 300 (incluyendo el máximo y el mínimo) y un promedio de 26-27 ramas uterinas en cada lado en *Ophiotaenia* sp. 9.

*Ophiotaenia olor* (Ingles, 1936) tiene un escólex más ancho que *Ophiotaenia* sp. 9, con 312-475, ventosas de 131-156 de diámetro y la bolsa del cirro puede ocupar hasta el 14% del ancho del proglótido (Freze, 1965), mientras que en *Ophiotaenia* sp. 9 estos valores son de: 164-255, 91-100 (96) y 20-24% (22), respectivamente; finalmente en *O. olseni* Dyer et Altig, 1977 hay 126-160 testículos, el poro genital se dispone en el 50-60% desde el margen anterior del proglótido respecto al largo de éste y la vagina es posterior (de Chambrier & Gil de Pertierra, 2012) en contraste con los 97-118 (110) testículos, la posición en el 15-22% (18) del poro genital respecto al largo del proglótido y la vagina anterior en *Ophiotaenia* sp. 9.

Con base en lo anterior, se considera que el material descrito representa una especie nueva que será nombrada posteriormente.

**Cuadro 14.** Medidas y porcentajes comparativos de *Ophiotaenia* spp. descritas en México en anfibios (tomadas de las descripciones originales) y de *Ophiotaenia* sp. 9 descrita en este trabajo.

|   | <i>Ophiotaenia</i> sp. 9<br>35633/2 | <i>O. filaroides</i><br>(La Rue, 1909) La Rue,<br>1911 | <i>O. magna</i><br>Hannum, 1925 |
|---|-------------------------------------|--|---------------------------------|
| <b>Hospedero</b>                        | <i>Lithobates megapoda</i>          | <i>Ambystoma tigrinum</i>                              | <i>Lithobates catesbianus</i>   |
| <b>Entidades originales y en México</b> | Cuitzeo, Mich                       | E.U.: Kan, Neb; Méx: EM, N.L, Mich, D.F.               | E.U.: Ok, Tex; Méx: D.F., Son   |
| <b>Estróbilo L (cm)</b>                 | 12.1                                | 8-11   | 60                              |
| A (μ-mm)                                | 836                                 | 800-900  | 1.5 mm                          |
| <b>Cuello (A)</b>                       | 119                                 | 300-360  | 500                             |
| <b>Escólex (L)</b>                      | 428                                 | -  | -                               |
| Amax/Amin                               | 255/164                             | 366-460  | 455                             |
| <b>OA (P/A)</b>                         | A                                   | P  | A                               |
| <b>Ventosas (D)</b>                     | 91-100 (96)                         | 165-184  | 187                             |
| <b>Testículos No.</b>                   | 97-118 (110)                        | 70-114   | 100-125                         |
| L ó D                                   | 35-63 (46)                          | 50-60  | 45-60                           |
| A                                       | 26-41 (35)                          | -  | -                               |
| <b>% bc/Ap</b>                          | 20-24 (22)                          | -  | -                               |
| <b>% Ant a PG</b>                       | 15-22 (18)                          | 20   | 33-66                           |
| <b>Vagina/BC</b><br>ant/post            | ant                                 | ant  | ant/post                        |
| <b>Esf. vag (P/A)</b>                   | A                                   | P  | A                               |
| <b>RU (Po/Ap)</b>                       | 22-31(27)/17-31(26)                 | 25-35  | 40-50                           |

Abreviaturas: Estados Unidos (E.U.): **Kan**, Kansas; **Neb**, Nebraska; **Ok**, Oklahoma; **Tex**, Texas. México (**Méx**): **D.F.**, Distrito Federal; **EM**, Estado de México; **Mich**, Michoacán; **N.L**, Nuevo León; **Son**, Sonora. **A**, ancho; **Amax/Amin**, ancho máximo/ancho mínimo; **ant/post**, anterior/posterior; **bc** ó **BC**, bolsa del cirro; **Carr**, Carretera; **D**, diámetro; **Esf. vag**, esfínter vaginal; **L**, largo; **No.** número; **OA**, órgano apical; **P/A**, presente/ausente; **RU**, ramas uterinas (Po, lado poral; Ap, lado aporal); **% Ant a PG**, porcentaje del largo del límite anterior del proglótido al poro genital respecto al largo del proglótido; **% bc/Ap**, porcentaje del ancho de la bolsa del cirro respecto al ancho del proglótido.

#### 5.4.3.4 Comparación entre las especies *Ophiotaenia* sp.1 a 9

**Cuadro 15.** Medidas y porcentajes comparativos entre las especies de este trabajo

|                                 |               | <i>Ophiotaenia</i><br>sp. 1              | <i>Ophiotaenia</i><br>sp. 2   | <i>Ophiotaenia</i><br>sp. 3     | <i>Ophiotaenia</i><br>sp. 4      | <i>Ophiotaenia</i><br>sp. 5                  | <i>Ophiotaenia</i><br>sp. 6 | <i>Ophiotaenia</i><br>sp. 7                    | <i>Ophiotaenia</i><br>sp. 8   | <i>Ophiotaenia</i><br>sp. 9              |
|---------------------------------|---------------|--|---|---------------------------------|----------------------------------|--|-----------------------------|--|---|--|
| <b>Clave mol</b>                |               | S11-S13                                  | S2, SPT11,<br>35235   | 35829                           | 359511                           | X2   | X4                          |  | 1973 y 1992   | 35633                                    |
| <b>Clave mor/<br/>Hospedero</b> |               | S11-S13:<br><i>T. eques</i>              | S2:<br><i>T. melanogaster</i> ;<br>SPT11: <i>T. eques</i> ;<br>35234: <i>T. eques</i> | 35828<br><i>T. melanogaster</i> | 359510<br><i>T. melanogaster</i> | <i>T. melanogaster</i>                       | <i>T. melanogaster</i>      | 1972.4<br><i>L. zweifeli</i>                   | 1973 y 1992:<br><i>Lithobates</i> sp.                               | 35632<br><i>L. megapoda</i>              |
| <b>Localidad</b>                |               | Zum, EM                                  | S2:Zum, EM;<br>SPT11 y 3523.4:<br>CL, EM  | Cuitzeo, Mich                   | Cuitzeo, Mich                    | Xochimilco,<br>D.F.                          | Xochimilco,<br>D.F.         | Carr. Tumbiscatio<br>de Ruíz-Playitas,<br>Mich | Sie. De Arteaga:<br>Tumbiscatio-<br>Playitas: Apo El<br>Viejo, Mich | Cuitzeo, Mich                            |
| <b>Estróbilo</b>                | L (cm)        | 24.4-44.6 (36)                           | 17-18.4 (17.8)  | 10                              | 8.4                              | 30.7   | 17.4                        | 22   | 8.7-12.7 (10.7)   | 12.1                                     |
|                                 | A (μ-mm)      | 819-1 (940)                              | 364-1.4 (988)   | 1.3                             | 737                              | 1.4  | 1.6                         | 1.5  | 910-1 (955)   | 836                                      |
| <b>ZP</b>                       | L (mm)        | 6.6-19 (12)                              | 2.6-5.8 (3.9)   | –                               | –                                | 6.4  | 4.7                         | 1.9  | 1.2-2 (1.6)   | 2.5                                      |
| <b>Cuello</b>                   | A             | 291-300 (296)                            | 81-111 (92)   | –                               | 171                              | 150  | 169                         | 341  | 255-273 (264)   | 119                                      |
| <b>No. Pi</b>                   |               | 147-176 (162)                            | 176-277 (226)   | 296                             | 369                              | 281  | 300                         | 108  | 118-138 (128)   | 45                                       |
| <b>No. Pm</b>                   |               | 32-41 (37)                               | 6-15 (12)   | 10 Prob +                       | 5 Prob +                         | 10   | 7                           | 2  | 0-1   | 14?                                      |
| <b>No. Ppg</b>                  |               | 10-25 (18)                               | 0-9 (5)   | No hay                          | No hay                           | 5  | 11                          | No hay   | 0-2 (1)   | 3  |
| <b>No. Pg</b>                   |               | 69-196 (133)                             | 27-41 (34)  | No hay                          | No hay                           | 108  | 38                          | 94   | 31-54 (43)  | 127                                      |
|                                 | No.Tot        | 287-409 (348)                            | 214-341 (276)   | 306                             | 374                              | 404  | 356                         | 204  | 151-193 (172)   | 189                                      |
| <b>Escólex</b>                  | Forma         | Alargado:<br>ant.angosto,<br>post. ancho | Redondo a<br>ligeramente<br>cuadrangular  | Redondo                         | Redondo                          | Alargado, con<br>protuberancia<br>a en ápice | Redondo                     | Redondo,<br>aplanado en ápice                  | Alargado:<br>ant.ancho,<br>post.angosto                             | Periforme,<br>ant.ancho,<br>post.angosto |
|                                 | L             | 619-1.24mm<br>(930)                      | 65-98 (85)  | 119                             | 76                               | 206  | 150                         | 182  | 500-519 (510)   | 428                                      |
|                                 | Amax/<br>Amin | 428-471<br>(450)/273-382<br>(328)        | 119-152 (134)   | 174                             | 202                              | 152  | 195                         | 341  | 337-437 (387)/<br>273-350 (311)                                     | 255/164                                  |
| <b>OA</b>                       | L             | 147-189 (168)                            | –   | –                               | –                                | –  | –                           | 39   | 26-28 (27)  | –  |
|                                 | A             | 156-160 (158)                            | –   | –                               | –                                | –  | –                           | 115  | 26-34 (30)  | –  |
|                                 | %OA/AE        | 41-59 (50)                               | –   | –                               | –                                | –  | –                           | 34   | 6-10 (8)  | –  |
| <b>Ventosas</b>                 | Diámetro      | 59-69 (65)                               | 52-58 (56)  | 76-82 (79)                      | 61-87 (69)                       | 61-69 (65)                                   | 76-85 (80)                  | 128-143 (137)                                  | 102-145 (129)   | 91-100 (96)                              |

|                          |            |                              |  |                            |                         |                                     |                         |  |   |  |
|--------------------------|------------|------------------------------|--|----------------------------|-------------------------|-------------------------------------|-------------------------|--|---|--|
| <b>COV</b>               | Caract     | Bifurcado y anastomosado     | SPT11: Bifurcado y anastomosado  | -                          | -                       | Poco ramificado                     | -                       | Bifurcado y anastomosado                             | -   | -  |
|                          | A          | 6-35 (18)                    | 13-43 (29)   | 9-19 (15)                  | 6-22 (14)               | 19-22 (21)                          | 9-13 (11)               | 22-37 (29)   | 15-39 (28)  | 30-58 (45)                                 |
| <b>COD</b>               | A          | 1-2 (1.5)                    | 2-6.5 (3.3)  | 1-11(5)                    | 2.1-2.6 (2.3)           | 3-11 (7)                            | 3-6 (5)                 | 4-9 (6)  | 3.2-12 (6.35)   | 4.3-8.6 (6.6)                              |
| <b>Testículos</b>        | No. Campos | 1-3 capas. Solap. a bc y vag | 1-2 capas. Solap. ocas. út   | 1-2 capas. Solap. ocas. út | 1 ó 2 capas             | 1-2 capas. Solap. a út. en Pm y Ppg | Solap. ocas. út         | 1-2 capas. Solap. ocas. út. Ocas. alcanzan ov. en Pg | 1 ó 2 capas   | 1-2 capas Ocas. intraov. Solap. a bc y vag |
|                          | No.        | 68-194 (127)                 | 150-241 (204)  | 196-271 (223)              | 129-175 (152)           | 226-284 (261)                       | 143-213 (189)           | 127-151 (138)  | 109-133 (124)   | 97-118 (110)                               |
|                          | L          | 24-87 (57)                   | 35-89 (52)   | 37-76 (55)                 | 39-65 (50)              | 37-67 (54)                          | 48-87 (68)              | 43-63 (54)   | 35-58 (45)  | 35-63 (46)                                 |
|                          | A          | 17-69 (46)                   | 22-54 (40)   | 28-52 (37)                 | 32-52 (43)              | 30-61 (46)                          | 37-76 (53)              | 41-58 (51)   | 28-50 (39)  | 26-41 (35)                                 |
| <b>BC</b>                | L          | 156-282 (232)                | 180-239 (217)  | 154-215 (189)              | 175-206 (190)           | 246-287 (262)                       | 217-260 (241)           | 273-300 (282)  | 195-228 (215)   | 189-236 (201)                              |
|                          | A          | 61-109 (84)                  | 52-89 (74)   | 87-143 (119)               | 52-76 (64)              | 69-102 (88)                         | 100-130 (115)           | 91-106 (99)  | 82-119 (94)   | 43-58 (53)                                 |
|                          | % bc/Ap    | 21-31 (25)                   | 18-22 (19)   | 26-39 (33)                 | 23-27 (25)              | 18-21 (19)                          | 24-30 (26)              | 24-26 (25)   | 24-30 (27)  | 20-24 (22)                                 |
| <b>Cirro</b>             | L          | 119-249 (175)                | 119-217 (177)  | 137-187 (157)              | 155-187 (168)           | 206-271 (234)                       | 217-258 (238)           | 210-249 (226)  | 128-163 (149)   | 124-180 (151)                              |
|                          | % c/bc     | 49-98 (76)                   | 57-99 (83)   | 72-100 (84)                | 79-95 (88)              | 81-96 (90)                          | 96-100 (99)             | 77-83 (80)   | 58-78 (69)  | 60-92 (76)                                 |
| <b>% Ant a PG</b>        |            | 20-38 (29)                   | 17-29 (23)   | 25-31 (28)                 | 19-27 (23)              | 25-35 (32)                          | 32-36 (34)              | 21-24 (23)   | 14-24 (18)  | 15-22 (18)                                 |
| <b>Vagina</b>            | Forma      | Más ancha que canal vag      | Ovoide. Canal vag. ancho (No visto en 3523.4)                                | Más ancha que canal vag    | Más ancha que canal vag | Más ancha que canal vag             | Más ancha que canal vag | Ovoide   | Ovoide. Canal vag. grueso en 1992   | Vag. y canal vag. ensanchados              |
| % ant                    | bc post    | 54-65 (59)                   | 53-83 (66)   | 52                         | 79                      | 28                                  | 43                      | 42   | 64-66 (65)  | 100  |
| % post                   | bc ant     | 35-46 (40)                   | 17-43 (32)   | 48                         | 16                      | 65                                  | 57                      | 2  | 9-19 (14)   | -  |
| % ven                    | bc dor     | -                            | -  | -                          | 5                       | -                                   | -                       | -  | -   | -  |
| % dor                    | bc ven     | 0-3 (1)                      | 0-3.3 (1.7)  | -                          | -                       | 7                                   | -                       | 55.5   | 16-27 (22)  | -  |
| <b>Ovario bilobulado</b> | Caract     | Lóbulos estrechos            | S2: Lóbulos altos c/espacios intraov. En SPT11 y 3523.4: Lóbulos prominentes | lóbulos altos              | Lóbulos prominentes     | Lóbulos estrechos                   | Lóbulos prominentes     | Lóbulos con forma de puño. Istmo ancho y grueso      | 1992: Lóbulos muy altos c/espacios intraov. Frag. ov. separados, intercalados con testículos. En 1973 lóbulos prominentes, istmo ancho y grueso |  |
|                          | L          | 64-150 (112)                 | 91-227 (157)   | 182-255 (204)              | 118-200 (151)           | 93-139 (116)                        | 200-273 (226)           | 173-182 (176)  | 136-296 (211)   | 109-155(123)                               |



|                |            |               |               |               |               |                  |               |               |               |               |
|----------------|------------|---------------|---------------|---------------|---------------|------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|                | %Lov/Lp    | 5-12 (8)      | 8-18 (12)     | 10-15 (12)    | 7-10 (9)      | 10-13 (11)       | 8-12 (10)     | 15-17 (16)    | 14-21 (18)    | 22-30 (25)    |
|                | A          | 409-879 (653) | 729-1mm (901) | 409-573 (457) | 482-687 (600) | 1020-1090 (1040) | 764-919 (819) | 707-750 (732) | 455-564 (518) | 646-792 (701) |
|                | %Aov/Ap    | 74-95 (81)    | 73-88 (79)    | 87-91 (89)    | 82-90 (84)    | 75-81 (79)       | 89-95 (91)    | 63-65 (64)    | 61-67 (64)    | 72-78 (74)    |
| <b>GM</b>      | Diámetro   | 54-124 (84)   | 87-141 (112)  | 56-74 (64)    | 65-98 (85)    | 80-108 (98)      | 87-111 (99)   | 104-119 (111) | 113-152 (131) | 87-115 (106)  |
|                | %GM/Ap     | 8-14 (10)     | 8-15 (10)     | 10-15 (12)    | 10-14 (12)    | 6-8 (7)          | 9-13 (11)     | 9-10.3 (9.6)  | 13-22 (17)    | 9-13 (11)     |
| <b>Vitelóg</b> | % Lv/Lp_Po | 83-95 (88)    | 88-96 (92)    | 86-94 (90)    | 90-94 (92)    | 90-94 (92)       | 88-91 (90)    | 94-96 (95)    | 93-97 (95)    | 79-98 (94)    |
|                | % Lv/Lp_Ap | 84-95 (91)    | 86-95 (92)    | 88-92 (89)    | 91-96 (93)    | 90-95 (93)       | 90-92 (91)    | 94-95 (94.5)  | 93-97 (95)    | 81-97 (93)    |
|                | L          | 11-26 (19)    | 13-22 (16.5)  | 15-22 (17)    | 15-22 (19)    | 17-26 (23)       | 17-26 (20)    | 14-22 (18)    | 15-22 (19)    | –             |
|                | A          | 9-22 (14)     | 9-18 (12)     | 11-15 (14)    | 11-19 (15)    | 11-22 (14)       | 15-22 (17)    | 11-19 (14)    | 11-19 (15)    | –             |
| <b>RU</b>      | RamasPo    | 20-36 (26)    | 24-60 (39)    | No Ppg y Pg   | No Ppg y Pg   | 35-48 (40)       | 26-39 (34)    | 16-29 (21)    | 16-35 (25)    | 22-31 (27)    |
|                | RamasAp    | 19-39 (28)    | 24-57 (41)    | No Ppg y Pg   | No Ppg y Pg   | 36-50 (43)       | 28-38 (34)    | 17-27 (22)    | 18-36 (27)    | 17-31 (26)    |
| <b>% dl/Pg</b> |            | 30-65 (46)    | 39-70 (53)    | No Ppg y Pg   | No Ppg y Pg   | 24-52 (40)       | 41-49 (44)    | 38-59 (49)    | 40-66 (55)    | 39-53 (45)    |

Medidas en micras, a menos que otras sean especificadas.

Abreviaturas: Especies: *L. megapoda*, *Lithobates megapoda*; *L. zweifeli*, *Lithobates zweifeli*; *T. eques*, *Thamnophis eques*; *T. melanogaster*, *Thamnophis melanogaster*.  
Localidades: **Carr**, Carretera; **CL**, Ciénaga de Lerma; **D.F.**, Distrito Federal; **EM**, Estado de México; **Mich**, Michoacán; **Sie**, Sierra; **Zum**, Zumpango. **A**, ancho; **Amax/Amin**, ancho máximo/ancho mínimo; **ant**, anterior; **BC** ó **bc**, bolsa del cirro; **caract**, características; **COD**, canal osmorregulatorio dorsal; **COV**, canal osmorregulatorio ventral; **c/**, con; **dor**, dorsal; **intraov**, intraováricos; **GM**, glándula de Mehlis; **L**, largo; **mol**, molecular; **mor**, morfología; **No.** número; **No. Tot**, número total; **ocas**, ocasionalmente; **OA**, órgano apical; **ov**, ovario; **post**, posterior; **Pi**, proglótidos inmaduros; **Pm**, proglótidos maduros; **Ppg**, proglótidos pregrávidos; **Pg**, proglótidos grávidos; **RamasAp**, número de ramas en el lado aporal; **RamasPo**, número de ramas en el lado poral; **RU**, ramas uterinas; **Solap**, solapados; **út**, útero; **vag**, vagina o vaginal; **ven**, ventral; **Vitelóg**, vitelógenas; **ZP**, zona de proliferación; **% Ant a PG**, porcentaje del largo del límite anterior del proglótido al poro genital respecto al largo del proglótido; **% Aov/Ap**, porcentaje del ancho del ovario respecto al ancho del proglótido; **% bc/Ap**, porcentaje del ancho de la bolsa del cirro respecto al ancho del proglótido; **% c/bc**, porcentaje del largo del cirro respecto al largo de la bolsa del cirro; **% dl/Pg**, porcentaje del ancho de los divertículos laterales respecto al ancho de los proglótidos grávidos; **% GM/Ap**, porcentaje del diámetro de la glándula de Mehlis respecto al ancho del proglótido; **% Lov/Lp**, porcentaje del largo del ovario respecto al largo del proglótido; **% Lv/Lp\_Ap**, porcentaje del largo que ocupan las vitelógenas respecto al largo del proglótido en el lado aporal; **% Lv/Lp\_Po**, porcentaje del largo que ocupan las vitelógenas respecto al largo del proglótido en el lado poral; **% OA/AE**, porcentaje del ancho del órgano apical respecto al ancho del escólex.

## 6 DISCUSIÓN GENERAL

La historia taxonómica del orden Proteocephalidea es compleja y por lo mismo, la validez de varios de sus géneros ha sido cuestionada a lo largo del tiempo. Brooks (1978) consideró a *Ophiotaenia* La Rue, 1911, *Batrachotaenia* Rudin, 1917 y *Testudotaenia* Freze, 1965 sinónimos de *Proteocephalus* Weinland, 1858, no obstante, Schmidt (1986) y Rego (1994) si reconocieron al género *Ophiotaenia* como válido, con *Batrachotaenia*, *Solenotaenia* y *Testudotaenia* como sinónimos. Con base en la posición de los órganos genitales respecto a la musculatura longitudinal interna, de Chambrier et al. (2009a) validaron el género *Testudotaenia* y erigieron la subfamilia Testudotaeniinae. Por otro lado, *Batrachotaenia* fue creado por Rudin en 1917 para colocar especies de proteocefalideos de anuros (de Chambrier et al., 2006), clasificación que fue apoyada por Freze (1965) quien reconoció además a *Ophiotaenia*, *Proteocephalus* y *Testudotaenia* como géneros válidos. No obstante, *Batrachotaenia* y *Solenotaenia* permanecen como sinónimos, mientras que *Ophiotaenia* y *Proteocephalus* son géneros válidos hasta el momento.

En las hipótesis filogenéticas generadas en este trabajo, las especies de los géneros *Ophiotaenia* y *Proteocephalus* son grupos polifiléticos, al igual que en otras ya publicadas (Zehnder & Mariaux, 1999; de Chambrier et al., 2004; Hypsa et al., 2005; Scholz et al., 2013). Por su parte, el género *Ophiotaenia*, se ha empleado para incorporar parásitos de anfibios y reptiles con vitelógenas medulares, escólex no armado con ventosas uniloculares y testículos separados en dos campos (de Chambrier et al., 2006; Ammann & de Chambrier, 2008; Marsella & de Chambrier, 2008; Coquille & de Chambrier, 2008; de Chambrier et al., 2010; de Chambrier & de Chambrier, 2010; de Chambrier et al., 2012; de Chambrier & Gil de Pertierra, 2012; Rambeloson et al., 2012), no obstante, también hay parásitos de peces con tales características morfológicas (Ammann & de Chambrier, 2008).

En cuanto a las subfamilias del orden analizadas en este estudio, las únicas monofiléticas fueron Peltidocotylineae y Testudotaeniinae, mientras que Endorchiinae, Ephedrocephalinae y Sandonellinae estuvieron representadas por un individuo cada una.

En el análisis filogenético de de Chambrier et al. (2004) basado en el gen 28S rDNA, se observa un grupo monofilético formado por especies de *Proteocephalus* parásitas de peces paleárticos, mientras que el resto de las especies de este género (neárticas y neotropicales) no lo son; por su parte, Scholz et al. (2007) establecieron una clave para la identificación de las especies de este “agregado” de especies de *Proteocephalus*. Dicho “agregado” también se observa en este estudio (figura 3) y se relaciona con un grupo

monofilético de gangesinos de la región paleártica y oriental; sin embargo algunos otros gangesinos aparecen entre los individuos más ancestrales de otro gran clado del árbol.

Entre los organismos más derivados de los árboles, están los proteocefalinos y especies del género *Ophiotaenia* parásitos de culebras y de ranas. Entre los de culebras, se encuentra *Ophiotaenia europaea* parásito de una culebra en Francia (figura 3); sin embargo, *O. sanbernardinensis* y *O. paraguayensis*, parásitas de colúbridos de Paraguay, no aparecen en este clado como podría esperarse debido a su hospedero y distribución geográfica. No obstante, aunque los hospederos de todas estas especies de *Ophiotaenia* pertenecen a la superfamilia Colubroidea, los géneros estudiados en el presente trabajo, *Thamnophis* y *Nerodia*, son de la familia Natricidae, al igual que *Natrix maura* hospedero de *O. europaea*, mientras que *Hydrodynastes gigas* y *Helicops leopardinus* hospederos de *O. paraguayensis* y *O. sanbernardinensis*, respectivamente, son de la familia Dipsadidae. En las hipótesis generadas en este trabajo, éstas dos últimas especies de *Ophiotaenia* forman un clado separado de las especies de culebras mexicanas y aparecen emparentadas con *Endorchis piraeeba* (figura 3) que parasita un pez siluriforme en Brasil, mientras que en la filogenia de de Chambrier et al. (2004) hay un clado que incluye a uno formado por *O. paraguayensis*, *O. sanbernardinensis* y *E. piraeeba* entre otros, sin que su posición se resuelva. En Zhender & Mariaux (1999) se observa la misma relación que la de este trabajo. *Ophiotaenia paraguayensis* y *O. sanbernardinensis* no se incluyen en la hipótesis de Hypsa et al. (2005).

Por otra parte, *O. europaea* en la hipótesis de de Chambrier et al. (2004) aparece en una politomía que comprende otros parásitos de las subfamilias Zygobothriinae, Monticelliinae y Corallobothriinae que parasitan principalmente peces siluriformes; en la hipótesis de Zhender & Mariaux (1999) también forma una politomía con parásitos de peces siluriformes y no siluriformes. Esta especie no fue incluida en la hipótesis de Hypsa et al. (2005).

El resto de las secuencias de las especies de *Ophiotaenia* obtenidas de Genbank forman un clado constituido a su vez por un par de grupos: *Ophiotaenia grandis* de Estados Unidos y *O. jarara* de Brasil (ambas de América), y por otro lado *O. ophioides* de Costa de Marfil en África y *O. gallardi* de Australia; éstas parasitan serpientes venenosas, las primeras tres de la familia Viperidae y la última de Elapidae. Su grupo hermano lo componen los proteocefalinos de tlacuaches, tanto los secuenciados en este trabajo, como *Thaumasiolelex didelphidis* recolectado en México y tomado de Genbank. En la filogenia de de Chambrier et al. (2004), *T. didelphidis* aparece entre las cuatro especies parásitas de serpientes, sin que sus relaciones se resuelvan; en el trabajo de Hypsa et al. (2005) se forma un clado con las mismas especies aquí mencionadas (exceptuando a *O.*

*jarara*), que agrupa con *T. didelphidis* y en Zehnder & Mariaux (1999) las cuatro especies parásitas de serpientes venenosas aparecen en politomía en un clado. La explicación a esta relación, de acuerdo a de Chambrier et al. (2004) es la siguiente: “dada la fuerte asociación entre los parásitos de ofidios con *T. didelphidis*, se puede asumir que la colonización del hospedero mamífero es el resultado de la captura de un antiguo hospedero ofidio”, lo que puede entenderse teniendo en cuenta que los individuos de una misma especie de hospedero pueden albergar el estadio plerocercoide y el adulto, como se observó en la especie de *Ophiotaenia* parásita de *Lithobates megapoda* (Velarde-Aguilar, 2014) en hígado e intestino, respectivamente; de esta forma, a lo largo del tiempo evolutivo, el tlacuache pudo haber ingerido la larva plerocercoide e infectarse y desarrollar el adulto.

En las hipótesis filogenéticas generadas, los parásitos de tlacuaches (recuadros rojos en figuras 1 y 3) exhibieron una tendencia a disgregarse geográficamente, por un lado los de Chiapas y por otro los de Veracruz; la divergencia genética entre los de Chiapas (parásitos de *Didelphis marsupialis* y *Didelphis* sp.) fue de 0.2%, mientras que entre los de Veracruz (parásitos de *D. virginiana* y *D. marsupialis*) fue mayor: 1.9%; en tanto que entre dos parásitos de *D. marsupialis*, uno de Chiapas y otro de Veracruz, la distancia fue de 2%. Asimismo, entre un parásito de *D. marsupialis* de Chiapas (clave FBCH411) y otro de *D. virginiana* de Veracruz (clave Txt01) la distancia fue más alta 4.6%. Por otro lado, entre los organismos de ambas localidades la distancia va de 2-5%.

Filogenéticamente hay diferencia entre los proteocefálicos de didélfidos de Veracruz y los de Chiapas; se observaron diferencias en la divergencia genética que hay entre los organismos, de acuerdo a su localidad de recolecta y al hospedero al que parasitan. Tales desigualdades pueden representar la existencia de especies diferentes de parásitos o variaciones intraespecíficas, aspectos que deben corroborarse con el estudio morfológico y molecular de un mayor número de individuos, pues en este estudio los parásitos de didélfidos únicamente se estudiaron molecularmente. Asimismo, es necesaria la corroboración genética de la identidad específica de los hospederos, debido a la amplia variación intraespecífica que dificulta la diferenciación morfológica entre ambas especies, únicas del género distribuidas en el país (Cervantes et al., 2010). Hasta el momento, la única especie de cestodo proteocefálico encontrado en vertebrados homeotermos es *Thaumasioscolex didelphidis* (Cañeda-Guzmán et al., 2001).

En el análisis de Scholz et al. (2013), sobre *Macrobothriotaenia ficta* (parásito de *Xenopeltis unicolor*, serpiente no venenosa de la familia Xenopeltidae en Vietnam), se incluyeron varias especies de *Ophiotaenia*; en él, *Thaumasioscolex didelphidis* se relaciona siempre con especies de *Ophiotaenia* de serpientes, aún cuando geográficamente son

muy distantes. Cabe mencionar que en tal estudio, las únicas cuatro especies de *Ophiotaenia* de Australia se agruparon en un clado.

En la filogenia del gen 28S (figuras 2 y 3) este clado de parásitos de tlacuaches se encuentra alejado de los proteocefalinos de ranas y culebras mexicanas estudiados en este trabajo, además, los que parasitan peces en el país tampoco muestran una relación cercana con los otros parásitos mexicanos. Por otro lado, en esta misma hipótesis, se observan dos grandes clados (encerrados con círculos amarillos en la figura 2), cada uno constituido por parásitos que se distribuyen predominantemente en determinadas regiones; por un lado se encuentra el clado que comprende el agregado de parásitos de peces paleárticos y su grupo hermano constituido principalmente por gangesinos de los continentes europeo y asiático, este clado incluye predominantemente individuos de Europa y Asia, pocos de Australia y África y ningún representante americano; por otro lado, el otro clado (el que incluye a todos los parásitos mexicanos) contiene primordialmente parásitos de América, varios de África, algunos del occidente de Asia y solo un representante de Australia y de Europa. Así, al no observarse ningún representante de América en uno de los clados y la concentración de los individuos de determinadas regiones en el otro, se advierte una tendencia en la separación biogeográfica de los proteocefalidos, situación ya vislumbrada para las especies de algunos de los géneros de este grupo de parásitos, entre ellos los del género *Ophiotaenia* que exhiben una distribución limitada por región zoogeográfica o continental (de Chambrier et al., 2010).

Como se observó en la filogenia del gen nuclear, los proteocefalinos parásitos de reptiles no se relacionan filogenéticamente. Por un lado, los parásitos de varanos del género *Kapsulotaenia* de Australia formaron un grupo monofilético y los parásitos de varanos del género *Acanthotaenia* en Ghana y Malasia se encontraron en un clado distinto; los de tortugas de Estados Unidos igualmente formaron un clado independiente. Aún cuando los parásitos de los colúbridos de este estudio se clasificaron en el género *Ophiotaenia* por su morfología, los de Paraguay se relacionan con *Endorchis piraeeba* (figura 3) que parasita un pez siluriforme de agua dulce en Brasil (exhibiendo una estrecha relación geográfica), en vez de relacionarse con el resto de los parásitos de culebras de México. Por otro lado, están los de serpientes venenosas que se relacionan con *Thaumasioscolex didelphidis* y *O. europaea* de las cuales ya se discutió anteriormente. Finalmente los colúbridos de este estudio constituyen un grupo monofilético, cuyo clado hermano se estructura por parásitos de ranas, tortugas y peces de América (figura 3).

En este estudio las especies del género *Ophiotaenia* así como los individuos de este trabajo clasificados en este taxón constituyen un grupo polifilético, tal y como ya se había

dilucidado para el género en previas hipótesis; no obstante, los organismos aquí caracterizados se categorizaron como tal por presentar folículos vitelinos medulares (en el caso de organismos de los que se obtuvo material para realizar cortes histológicos), escólex inerme con ventosas uniloculares y testículos dispuestos principalmente en dos campos laterales, características que corresponden con la morfología del género *Ophiotaenia* La Rue, 1911 (de Chambrier et al., 2012). Por ello es necesaria la búsqueda de caracteres alternativos para definir grupos naturales, así como la reestructuración del género, incorporando la especie tipo en una hipótesis filogenética para delimitar los integrantes que conformen el género; por ahora se escogió el género *Ophiotaenia* como el género de los individuos de este estudio, pues aunque filogenéticamente el género no es un taxón natural presenta las características de los organismos del género, y hasta no conocer la posición filogenética de la especie tipo (*O. perspicua*), no se conocerá qué individuos si pertenecen a este género.

En la hipótesis filogenética planteada en este trabajo, los organismos en estudio se agruparon de acuerdo al tipo de hospedero al que parasitan, resultando tres clados, constituidos por parásitos de culebras, ranas y tlacuaches, respectivamente. A su vez, en los primeros se observa una afinidad en la formación de clados de acuerdo a la especie de colúbrido que parasitan, en este caso *Thamnophis melanogaster* o *T. eques* (figuras 1 y 3, letras marcadas con color rojo y rosa).

Por primera vez se incorporan ejemplares parásitos de anfibios en un análisis filogenético de proteocefálicos. Estas especies de *Ophiotaenia* forman un clado cuya especie hermana en la mayoría de los análisis es *Nomimoscolex matogrossensis* (especie de la familia Zygobothriinae, parásito de un pez caraciforme en Paraguay), y que en prácticamente todos los análisis aparecen relacionados con parásitos de peces de un clado constituido por *N. chubbi* (de la subfamilia de proteocefálicos Zygobothriinae y parásito del pez gymnotiforme en Paraguay), *Proteocephalus perplexus* (subfamilia Proteocephalinae, parásito del pez Amiiforme en Canadá) y *Harriscolex kaparari* (subfamilia Zygobothriinae y parásito del pez siluriforme en Brasil) todos ellos del continente americano, principalmente sudamérica. Aunque la relación entre las especies de *Ophiotaenia* de anfibios es con especies de proteocefálicos de diferentes subfamilias que parasitan peces, se observa que el evento de colonización es de un hospedero acuático a uno semiacuático y que el estado más ancestral es el acuático.

Se detectaron nueve especies no descritas de *Ophiotaenia* con base en las diferencias morfológicas, seis de las cuales aparecen consistentemente como grupos monofiléticos en los análisis de secuencias de DNA (*Ophiotaenia* spp. 1, 2, 3, 4, 8 y 9), exceptuando a *Ophiotaenia* sp. 7 de la cual no se pudo amplificar el DNA. La mayoría de

las distancias genéticas interespecíficas oscilaron entre 10 y 20% (Cuadro 5), aunque se obtuvieron valores de 2, 4 y 6% de distancia entre algunas de las especies caracterizadas que no tuvieron un apoyo claro en los análisis (*Ophiotaenia* spp. 3, 5 y 6). A nivel intraespecífico los valores de divergencia fueron de 0 a 1%, valores significativamente menores con respecto a los primeros. Como se esperaba, las distancias entre las especies de *Ophiotaenia* de esta tesis en relación con los individuos del género *Proteocephalus* de Canadá fueron mucho mayores: 21 a 32%, de *Corallobothrium* 23-30% y respecto al grupo externo la divergencia fue de 26 a 32%. Llama la atención que la divergencia con respecto al grupo externo sea semejante a la que se observa entre géneros del grupo interno, teniendo en cuenta que el grupo externo se clasifica en otro orden: Tetrphyllidea. Sin embargo los organismos de este orden están estrechamente relacionados con los del orden Proteocephalidea (Waeschenbach et al., 2012; Caira et al., 2014) e incluso, una propuesta reciente integra ambos ordenes en uno solo (ver más adelante). A la fecha existe poca información sobre los valores de divergencia intra e interespecíficas en el orden Proteocephalidea (Zehnder & Mariaux, 1999).

No obstante los valores de divergencia genética y la información morfológica recuperada, es necesaria la obtención de más individuos adultos con escólex para poder conocer la variación morfológica y genética intra e interespecífica, pues la variabilidad morfológica intraespecífica puede ser considerable, como se ha observado por Mead & Olsen (1971) en la especie *Ophiotaenia filaroides* y en especies del género *Proteocephalus* (Scholz et al., 1998); tal podría ser el caso para *Ophiotaenia* spp. 3, 5 y 6, que morfológicamente presentan algunas diferencias entre ellas pero su distancia genética fue baja, pudiendo ser individuos conespecíficos, que parasitan a la misma especie de hospedero: *Thamnophis melanogaster*, o bien se trate de diferentes especies con diferencias genéticas bajas.

Sin embargo, aún cuando lo idóneo es obtener varios individuos adultos completos, los porcentajes globales de prevalencia de especies de anfibios y reptiles neotropicales infectadas con proteocefálicos son bajos [2-7.8% y 18-27%, respectivamente, de acuerdo con Ammann & de Chambrier (2008)] como se observó en este trabajo; aunado a lo anterior, la abundancia de organismos inmaduros en contraste con la escasez de maduros en las recolectas, resultó en material insuficiente.

La mayoría de las especies de *Ophiotaenia* descritas parasitan a determinada especie de anfibio o reptil, especificidad que ha sido registrada por otros autores (de Chambrier et al., 2006; Amman & de Chambrier, 2008), exceptuando a *Ophiotaenia* sp. 2 que se registró en *Thamnophis eques* y *T. melanogaster*; sin embargo, la corroboración genética de la identidad específica de los hospederos es también necesaria.

La bifurcación y anastomosis del canal ventral observada en el individuo del género *Thaumasioscolex* y en varias especies aquí descritas del género *Ophiotaenia*, indican que dicho carácter en estos organismos no puede ser empleado como diagnóstico en su determinación específica. Se reconocen otras formas alternativas del arreglo de los canales osmorregulatorios, por ejemplo, en algunas especies del orden Caryophyllidea los principales canales longitudinales son numerosos, variando en ancho y número de acuerdo a la región en la que se encuentren (Schaeffner et al., 2011); con base en Coquille & de Chambrier (2008), en algunos organismos del orden Cyclophylleida se observa que el número de canales también aumenta; en otros casos, los canales longitudinales se interconectan a través de canales transversales como en organismos del orden Diphyllbothriidea; otra variación es la ocupación de la red de canales tanto en la médula como en el cortex (por lo general los canales de los cestodos se sitúan medularmente) vista en *Diphyllbothrium*; en otros casos los canales son principalmente corticales como en los proteocefalideos *Cairaella henrii* y *Nomimoscolex touzeti*; en otro proteocefalino, *Pseudocrepidobothrium ludovici* el canal osmorregulatorio dorsal ocasionalmente es doble o se encuentra anastomosado (Ruedi & de Chambrier, 2012).

La diversidad de los canales osmorregulatorios se observa en cestodos de diferentes órdenes dentro de los cuales hay parásitos de peces, anfibios, reptiles y mamíferos; es posible que estas modificaciones sean el resultado de las necesidades de cada parásito y del nicho que ocupa en cada hospedero, que a su vez exhibe distintas características fisiológicas, anatómicas y se desarrolla en un ambiente diferente al de cualquier otra especie de otro hospedero.

Algunas de las especies de este trabajo presentaron un escólex elongado con forma de basto con un ancho mayor y uno menor, estas son *Ophiotaenia* spp. 1, 8 y 9 (figuras 4, 11 y 12) parásitas de un reptil y anfibios respectivamente. La morfología de estos escólices es muy semejante a la observada en *Proteocephalus thymalli* parásito de peces salmónidos en Mongolia y Rusia (ver Figs. 6 E-G, 7 D-H en Scholz et al., 1998) y *P. torulosus* hospedado por peces ciprínidos en República Checa, Austria y Eslovaquia (ver Figs. 6 H-K, 8 G-K en Scholz et al., 1998) y al oeste de Estados Unidos (Scholz & Hanzelová, 1999), sin embargo ambas especies presentan características que las diferencian de las especies aquí descritas (Scholz et al., 1998; Scholz & Hanzelová, 1999). Estas especies junto con las de este estudio exhiben una distribución norte, aunque muy amplia, y como ya se mencionó, tal modificación en el escólex se observa en parásitos hospedados por peces y anfibios; asimismo *P. thymalli* y *P. torulosus* forman parte del agregado *Proteocephalus* constituido por especies paleárticas (de Chambrier et al., 2004), aunque las secuencias de estos organismos no estuvieron disponibles para analizar en este trabajo.



Recientemente, Caira et al. (2014) erigieron el orden Onchoproteocephalidea para incluir a los miembros de la familia Onchobothriidae perteneciente al orden Tetraphyllidea, junto con los miembros del orden Proteocephalidea, relaciones que a groso modo ya habían sido advertidas (Olson et al., 2001; Waeschenbach et al., 2007; Waeschenbach et al., 2012) e incluso se reflejan en nuestro análisis, en el que *Acanthobothrium* sp. (una de los cuatro especies del grupo externo) clasificado en el orden Tetraphyllidea y Familia Oncobothriidae forma parte del grupo interno (figura 3), en tanto que *Ritacestus ritaii*, gangesino de peces siluriformes en India aparece como parte del grupo externo. No obstante, en el estudio del 2014 solo se incluyeron cuatro organismos de Proteocephalidea y 10 de Onchobothriidae, los primeros conformando un grupo monofilético (Caira & Jensen, 2014); por lo mismo, es posible que al incorporar un mayor número de organismos a la filogenia las relaciones se modifiquen en diferente grado, razones por las cuales se optó por adoptar el esquema de clasificación más conservador.

## 7 CONCLUSIONES

- Filogenéticamente los proteocefálicos de anfibios, reptiles y mamíferos mexicanos se agruparon de acuerdo al tipo de hospedero al que parasitan, generando clados integrados por proteocefálicos de ranas, culebras y tlacuaches.
- Los proteocefálicos de culebras y ranas se relacionan con los de peces y los de algunas tortugas.
- El clado de proteocefálicos de culebras mexicanas incluye un parásito de culebras de Francia; todos los hospederos de estos parásitos pertenecen a la familia Natricidae.
- No todos los proteocefálicos de culebras forman un grupo monofilético.
- Los parásitos de tlacuaches del género *Thaumasioscolex* formaron un clado que se relaciona con parásitos de serpientes venenosas del género *Ophiotaenia*.
- Los resultados obtenidos de las distancias corregidas de las secuencias generadas para el gen COI, apoyan la independencia de varias de las especies caracterizadas en este trabajo.

- Con base en la morfología se detectaron especies diferentes y probablemente no descritas, parásitas de colúbridos y ranas, y se asignaron al género *Ophiotaenia*.
- Todas, excepto una de las especies caracterizadas en este trabajo son específicas a la especie de hospedero a la que parasitan.
- Las especies del género *Ophiotaenia* forman un grupo polifilético, por lo que es necesaria su reestructuración, una vez definida la posición de la especie tipo (*O. perspicua*).
- Las prevalencias de especies de anfibios y reptiles mexicanos infectados con proteocefálicos fueron bajas.

## 8 BIBLIOGRAFÍA

- Alfaro, M. E. & S. J. Arnold. 2001. Molecular systematics and evolution of *Regina* and the *Thamnophiine* snakes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 21: 408-423.
- Ammann, M. & de Chambrier A. 2008. *Ophiotaenia gilberti* sp. n. (Eucestoda: Proteocephalidea), a parasite of *Thamnodynastes pallidus* (Serpentes: Colubridae) from Paraguay. *Revue Suisse de Zoologie*. 115: 541-551.
- Arredondo, N. J. & A. A. Gil de Pertierra. 2012. *Margaritaella gracilis* gen. n. et sp.n. (Eucestoda: Proteocephalidea), a parasite of *Callichthys callichthys* (Pisces: Siluriformes) from the Paraná River basin, Argentina. *Folia Parasitologica*. 59: 99-106.
- Barker, S. C., D. Blair, A. R. Garrett & T. H. Cribb. 1993. Utility of the D1 domain of nuclear 28S rRNA for phylogenetic inference in the Digenea. *Systematic Parasitology*. 26: 181-188.
- Brooks, D. R. 1978. Systematic status of the proteocephalid cestodes from reptiles and amphibians in North America with descriptions of three new species. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 45: 1-28.

- Burse, C. R. & S. R. Goldberg. 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.
- Burse, C. R., S. R. Goldberg & J. R. Parmelee. 2005. Gastrointestinal helminths from 13 species of lizards from Reserva Cuzco Amazónico, Peru. *Comparative Parasitology*. 72: 50-68.
- Caira, J. N. & K. Jensen. 2014. A digest of elasmobranch tapeworms. *Journal of Parasitology*. 100: 373-391.
- Caira, J. N., K. Jensen, A. Waeschenbach, P. D. Olson & D. T. J. Littlewood. 2014. Orders out of chaos - molecular phylogenetics reveals the complexity of shark and stingray tapeworm relationships. *International Journal for Parasitology*. 44: 55-73.
- Cañeda-Guzmán, I. C. 1997. Parásitos de tres especies de marsupiales de la estación "Los Tuxtles" y algunas zonas cercanas, Veracruz, México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.: 193 p.
- Cañeda-Guzmán, I. C., A. de Chambrier & T. Scholz. 2001. *Thaumasioscolex didelphidis* n. gen. and n. sp. (Eucestoda: Proteocephalidae) from the black-eared opossum *Didelphis marsupialis* from Mexico, the first proteocephalidean tapeworm from a mammal. *Journal of Parasitology*. 87: 639-647.
- Cervantes, F. A., J. Arcangeli, Y. Hortelano-Moncada & A. V. Borisenko. 2010. DNA barcodes effectively identify the morphologically similar Common Opossum (*Didelphis marsupialis*) and Virginia Opossum (*Didelphis virginiana*) from areas of sympatry in Mexico. *Mitochondrial DNA*. 21: 44-50.
- Coombs, I. & D. W. T. Crompton. 1991. A guide to human helminths, Londres, Taylor and Francis. 196 p.
- Coquille S. & A. de Chambrier. 2008. *Cairaella henrii* gen. n., sp. n., a parasite of *Norops trachyderma* (Polychrotidae), and *Ophiotaenia nicoleae* sp. n. (Eucestoda: Proteocephalidea), a parasite of *Thecadactylus rapicauda* (gekkonidae), in Ecuador. *Folia Parasitologica*. 55: 197-206.

- Cruz-Reyes, A. 1974. Primer registro y redescrición de *Ophiotaenia racemosa* (Rudolphi, 1819) La Rue, 1911, recolectada en dos especies de colúbridos de México. Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. 45: 51-64.
- de Chambrier, A. 1987. *Vaucheriella bicheti* n. gen., n. sp. (Cestoda: Monticellidae, Zygobothriinae) parasite de *Tropidophis* cf. *taczanowskyi* (Steindachner, 1880) (Serpentes: Tropidophidae) des Andes équatoriennes. Revue Suisse de Zoologie. 94: 829-840.
- de Chambrier, A. 1989. Révision du genre *Crepidobothrium* Monticelli, 1900 (Cestoda: Proteocephalidae) parasite d'Ophidiens néotropicaux. I. *C. gerrardii* (Baird, 1860) et *C. viperis* (Beddard, 1913). Revue Suisse de Zoologie. 96: 191-217.
- de Chambrier, A. 1990. Redescription de *Proteocephalus paraguayensis* (Rudin, 1917) (Cestoda: Proteocephalidae) parasite de *Hydrodynastes gigas* (Dum., Bibr. & Dum., 1854) du Paraguay. Systematic Parasitology. 16: 85-97.
- de Chambrier, A. 2001. A new tapeworm from the Amazon, *Amazotaenia yvetteae* n. gen., n. sp. (Eucestoda: Proteocephalidea) from the siluriform fishes *Brachyplatystoma filamentosum* and *B. vaillanti* (Pimelodidae). Revue Suisse de Zoologie. 108: 303-316.
- de Chambrier, A. & A. Gil de Pertierra. 2012. *Ophiotaenia oumanskyi* sp. n. (Eucestoda: Proteocephalidea), a parasite of *Lepidobatrachus laevis* Budgett, 1899 (Anura: Leptodactylidae) from Paraguay. Revue Suisse de Zoologie. 119: 561-570.
- de Chambrier, A. & C. Vaucher. 1999. Etude morpho-anatomique et génétique de deux nouveaux *Proteocephalus* Weinland, 1858 (Cestoda: Proteocephalidae) parasites de *Platydoras costatus* (L.), poisson siluriforme du Paraguay. Systematic Parasitology. 27: 173-185.
- de Chambrier, A. & R. C. Paulino. 1997. *Proteocephalus joanae* sp. n. (Eucestoda: Proteocephalidea), a parasite of *Xenodon newwiedi* (Serpentes: Colubridae) from South America. Folia Parasitologica. 44: 289-296.
- de Chambrier, A., A. A. Rego & A. Gil de Pertierra. 2005. Redescription of two cestodes (Eucestoda: Proteocephalidea) parasitic in *Phractocephalus hemiliopterus*

(Siluriformes) from the Amazon and erection of *Scholzia* gen. n. *Revue Suisse de Zoologie*. 112: 735-752.

de Chambrier, A., A. A. Rego & C. Vaucher. 1999. *Euzetiella tetraphylliformis* n. gen., n. sp., (Eucestoda: Proteocephalidae), parasite du poisson d'eau douce Néotropical *Paulicea luetkeni* (Siluriforme, Pimelodidae). *Parasite*. 6: 43-47.

de Chambrier, A., C. Vaucher & F. Renaud. 1992. Etude des caractères morpho-anatomiques et des flux géniques chez quatre *Proteocephalus* (Cestoda: Proteocephalidae) parasites de *Bothrops jararaca* au Brésil et description de trois espèces nouvelles. *Systematic Parasitology*. 23: 141-156.

de Chambrier, A., M. Ammann & T. Scholz. 2010. First species of *Ophiotaenia* (Cestoda: Proteocephalidea) from Madagascar: *O. georgievi* sp. n., a parasite of the endemic snake *Leioheterodon geayi* (Colubridae). *Folia Parasitologica*. 57: 197-205.

de Chambrier, A., M. L. d' Alessio & F. M. de Azevedo-Correa. 1991. Redescription de *Proteocephalus jarara* (Fuhrmann, 1927) (Cestoda: Proteocephalidae) parasite de *Bothrops alternatus* (Viperidae) au Brésil. *Revue Suisse Zoologie*. 98: 15-32.

de Chambrier, A., S. C. Coquille & D. R. Brooks. 2006. *Ophiotaenia bonneti* n. sp. (Eucestoda: Proteocephalidea), a parasite of *Rana vaillanti* (Anura: Ranidae) in Costa Rica. *Folia Parasitologica*. 53: 125-133.

de Chambrier A., T. Scholz & C. Vaucher. 1996. Tapeworms (Cestoda: Proteocephalidea) of *Hoplias malabaricus* (Pisces: Characiformes, Erythrinidae) in Paraguay: description of *Proteocephalus regoi* sp. n., and redescription of *Nomimoscolex matogrossensis*. *Folia Parasitologica*. 43: 133-140.

de Chambrier A., T. Scholz & R. Kuchta. 2014. Taxonomic status of Woodland's enigmatic tapeworms (Cestoda: Proteocephalidea) from Amazonian catfishes: back to museum collections. *Systematic Parasitology*. 87: 1-19.

de Chambrier, A., T. T. Binh & T. Scholz. 2012. *Ophiotaenia bungari* n. sp. (Cestoda), a parasite of *Bungarus fasciatus* (Ophidia: Elapidae) from Vietnam, with comments on the ovary surface as a new diagnostic character in proteocephalidean tapeworms. *Systematic Parasitology*. 81: 39-50.

- de Chambrier, A., M. Zehnder, C. Vaucher & J. Mariaux. 2004. The evolution of the Proteocephalidea (Platyhelminthes, Eucestoda) based on an enlarged molecular phylogeny, with comments on their uterine development. *Systematic Parasitology*. 57: 159-171.
- de Chambrier, A., S. C. Coquille, J. Mariaux & V. Tkach. 2009a. Redescription of *Testudotaenia testudo* (Magath, 1924) (Eucestoda: Proteocephalidea), a parasite of *Apalone spinifera* (Le Sueur) (Reptilia: Trionychidae) and *Amia calva* L. (Pisces: Amiidae) in North America and erection of the Testudotaeniinae n. subfam. *Systematic Parasitology*. 73: 49-64.
- de Chambrier A., T. Scholz, M. Beletew & J. Mariaux. 2009b. A new genus and species of proteocephalidean (Cestoda) from *Clarias catfishes* (Siluriformes: Clariidae) in Africa. *Journal of Parasitology*. 95: 160-168.
- de Chambrier, S. & A. de Chambrier. 2010. Two new genera and two new species of proteocephalidean tapeworms (Eucestoda) from reptiles and amphibians in Australia. *Folia Parasitologica*. 57: 263-279.
- Diez-Tellez, I. C. 2011. Riqueza de cestodos (Platyhelminthes) parásitos de vertebrados silvestres de México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.: 148 p.
- Domínguez-Domínguez, O. & G. Pérez-Ponce de León. 2009. ¿La mesa central de México es una provincia biogeográfica? Análisis descriptivo basado en componentes bióticos dulceacuícolas. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 80: 835-852.
- dos Santos J. C. & F. J. Tayt-son-Rolas. 1973. Sobre alguns cestóides de *Bothrops* e de *Liophis miliaris*. *Atas Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro*. 17: 35-40.
- Drummond, H. & C. Macías-García. 1988. Limitations of a generalist: A field comparison of foraging snakes. *Behaviour*. 108: 23-43.
- Dyer, W. G. 1986. *Ophiotaenia ecuadorensis* n. sp. (Cestoda: Proteocephalidae) from *Hyla geographica* Spix, 1824 in Ecuador. *Journal of Parasitology*. 72: 599-601.

- Edgar, R. C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*. 32: 1792-1797.
- Esch, G. W. & J. C. Fernández. 1993. *A functional biology of parasitism*. Chapman and Hall, Londres. 337 p.
- Flores-Barroeta, L. 1955. Céstodos de Vertebrados. III. *Ciencia*. 15: 33-38.
- Flores-Barroeta, L., E. Hidalgo-Escalante & F. Montero-Gei. 1961. Céstodos de Vertebrados. VIII. *Revista de Biología Tropical*. 9: 187-207.
- Flores-Villela, O. 1993. *Herpetofauna mexicana: lista anotada de las especies de anfibios y reptiles de Mexico, cambios taxonomicos recientes, y nuevas especies = Annotated list of the species of amphibians and reptiles of Mexico, recent taxonomic changes, and new species*. Special Publication. Carnegie Museum of Natural History. 17: 1-73.
- Freze, V. I. 1965. *Essentials of Cestodology*. Vol. V. Proteocephalata in fish, amphibians and reptiles. Izdatel'stvo <Nauka>, Moskva (Israel Program for Scientific Translations, Jérusalem, 1969). V+597 pp.
- Frost, D. R. 2014. *Amphibian Species of the World: an Online Reference*. Version 6.0 (Date of access). Electronic Database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of Natural History, New York, USA.
- Frost, D.R., T. Grant, J. Faivovich, R. Bain, A. Haas, C. F. B. Haddad, R. O. de Sá, A. Channing, M. Wilkinson, S. C. Donnellan, C. J. Raxworthy, J. A. Campbell, B. L. Blotto, P. Moler, R. C. Drewes, R. A. Nussbaum, J. D. Lynch, D. M. Green & W. C. Wheeler. 2006. The amphibian tree of life. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. 297: 1-370.
- Galimberti, A., D. F. Romano, M. Genchi, D. Paoloni, F. Vercillo, L. Bizzarri, D. Sassera, C. Bandi, C. Genchi, B. Ragni & M. Casiraghi. 2012. Integrative taxonomy at work: DNA barcoding of taeniids harboured by wild and domestic cats. *Molecular Ecology Resources*. 12: 403-413.

- García-Altamirano, I., G. Pérez-Ponce de León & L. García-Prieto. 1993. Contribución al conocimiento de la comunidad de helmintos de dos especies de anfibios endémicos del Lago de Pátzcuaro, Michoacán: *Rana dunni* y *Ambystoma dumerilii*. Cuadernos Mexicanos de Zoología. 1: 73-80.
- García-Prieto, L. 1986. Estudio taxonómico de algunos céstodos de vertebrados de México. Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México. 75 p.
- García-Prieto, L. 1993. Análisis del estado taxonómico de las especies americanas del género *Proteocephalus* Weinland, 1858, (Cestoda: Proteocephalidea). Tesis de maestría, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México. 128 p.
- Goldberg, S. R., C. R. Bursey & R. D. Aldridge. 2012. Natural History Notes. Herpetological Review. 43: 149.
- Goloboff, P., S. Farris & K. Nixon. 2005. TNT (Tree analysis using New Technology). Systematic Biology. 54: 176-178.
- Guo, P., Q. Liu, Y. Xu, K. Jiang, M. Hou, L. Ding, R. A. Pyron & F. T. Burbrink. 2012. Out of Asia: Natricine snakes support the Cenozoic Beringian Dispersal Hypothesis Peng. Molecular Phylogenetics and Evolution. 63: 825-833.
- 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.
- Hannum, C. A. 1925. A new species of cestode, *Ophiotaenia magna* n. sp. from the frog. Transactions of the American Microscopical Society. 44: 148-155.
- Hemphill, A. & B. Gottstein. 2011. Principios de la biología de los parásitos. In: T. Hiepe, R. Lucius & B. Gottstein. (Eds.), Parasitología general. Con principios de inmunología, diagnóstico y lucha antiparasitaria. Acribia, S. A. Zaragoza, España: 97-230 p.
- Hill, G.T., N.A. Mitkowski, L. Aldrich-Wolfe, L.R. Emele, D.D. Jurkonie, A. Ficke, S. Maldonado-Ramirez, S.T. Lynch & E.B. Nelson. 2000. Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. Applied Soil Ecology. 15 25-36.



- Hillis D. M. & R. de Sá. 1988. Phylogeny and taxonomy of the *Rana palmipes* group (Salientia: Ranidae). Herpetological Monographs. 2: 1-26.
- Hillis D. M. & T. P. Wilcox, 2005. Phylogeny of the New World true frogs (*Rana*). Molecular Phylogenetics and Evolution. 34: 299-314.
- Hillis, D. M., B. K. Mable & C. Moritz. 1996. Nucleic acids IV: Sequencing and cloning. In: Molecular Systematics, D. M. Hillis, C. Moritz & B. K. Mable (eds.). Sinauer, Sunderland, Massachusetts. 321-383.
- Hypsa, V., A. Sherikova & T. Scholz. 2005. Phylogeny, evolution and host-parasite relationships of the order Proteocephalidea (Eucestoda) as revealed by combined analysis and secondary structure characters. Parasitology. 130: 359-371.
- Hoberg, E. P., A. Jones & R. A. Bray. 1999. Phylogenetic analysis among the families of the Cyclophyllidea (Eucestoda) based on comparative morphology, with new hypotheses for co-evolution in vertebrates. Systematic Parasitology. 42: 51-73.
- INEGI, 2009. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Catemaco, Veracruz de Ignacio de la Llave, Clave geoestadística 30032.
- Jiménez-Ruiz, F. A. 1999. Fauna helmintológica de culebras de hábitos acuáticos del género *Thamnophis* (Colubridae: Natricinae) en la mesa central de México. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.: 86 p.
- Jiménez-Ruiz, A., L. García-Prieto & G. Pérez-Ponce de León. 2002. Helminth infracommunity structure of the sympatric garter snakes *Thamnophis eques* and *Thamnophis melanogaster* from the Mesa Central of Mexico. Journal of Parasitology. 88: 454-460.
- Jones, A., R. A. Bray & L. F. Khalil. 1994. 1. Key to the Orders of the Cestoda. In: Khalil, L. F., A. Jones & R. A. Bray. (Eds.), Keys to the cestode parasites of vertebrates. Center for Agriculture and Biosciences International. Cambridge UK: 205-247 p.
- Khalil, L. F., A. Jones & R. A. Bray. 1994. Keys to the cestode parasites of vertebrates. CABI publishing, Wallingford, UK., 751 p.

- Kodedová, I., D. Dolezel, M. Broucková, M. Jirku, V. Hypsa, J. Lukes & T. Scholz. 2000. On the phylogenetic positions of the Caryophyllidea, Pseudophyllidea and Proteocephalidea (Eucestoda) inferred from 18S rRNA. *International Journal for Parasitology*. 30: 1109-1113.
- Kuchta, R., T. Scholz, J. Brabec & R.A. Bray. 2008. Suppression of the tapeworm order Pseudophyllidea (Platyhelminthes: Eucestoda) and the proposal of two new orders, Bothriocephalidea and Diphylobothriidea. *International Journal for Parasitology*. 38: 49-55.
- La Rue, G. R. 1909. On the morphology and development of a new cestode of the genus *Proteocephalus* Weinland. *Transactions of the American Microscopical Society*. 28: 17-49.
- La Rue, G. R. 1914. A revision of the Cestode Family Proteocephalidae. III. *Biological Monographs*. 1: 3-351.
- Lamothe-Argumedo, R. 1997. Manual de técnicas para preparar y estudiar los parásitos de animales silvestres. AGT Editor, México: 43 p.
- Lamothe-Argumedo, R., L. García-Prieto, D. Osorio-Sarabia & G. Pérez-Ponce de León. 1997. Catálogo de la Colección Nacional de Helminths. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Ciudad de Mexico. 211 p.
- Lawson, R. 1987. Molecular studies of Thamnophiine snakes: 1. The phylogeny of the genus *Nerodia*. *Journal of Herpetology*. 21: 140-157.
- León-Règagnon, V., E.A. Martínez-Salazar, D. Lazcano-Villarreal & R. Rosas-Valdéz. 2005. Helminth parasites of four species of anurans from Nuevo León, Mexico. *Southwestern Naturalist*. 50: 251-258.
- Li Q.Q., D. Y. Li, H. Ye, X. F. Liu, W. Shi, N. Cao & Y. Q. Duan. 2011. Using COI gene sequence to barcode two morphologically alike species: the cotton bollworm and the oriental tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Molecular Biology Reports*. 38: 5107-5113.

- MacCallum, G. A. 1921. Studies in Helminthology. Part II: Cestodes. Zoopathologica. 1: 205-254.
- Macías-Palacios, N. 1963. Cestodos de vertebrados. Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México. 81 p.
- Madigan, M. T., J. M. Martinko & J. Parker. 2004. Capítulo 5. Nutrición, cultivo y metabolismo microbiano *en*: Brock. Biología de los microorganismos. 10 ed. Pearson Prentice Hall. España. 493-511 p.
- Madigan, M. T., J. M. Martinko & J. Parker. 2004. Capítulo 15. Genómica microbiana *en*: Brock. Biología de los microorganismos. 10 ed. Pearson Prentice Hall. España. 493-511 p.
- Mariaux J. 1998. A molecular phylogeny of the Eucestoda. Journal of Parasitology. 84: 114-124.
- Marsella C. M. V. & A. de Chambrier. 2008. *Ophiotaenia alessandrae* sp. n. (Eucestoda: Proteocephalidea), a parasite of *Hyla boans* (Anura: Hylidae) from Amazonia in Ecuador. Revue Suisse de Zoologie. 115: 553-563.
- Mead R. W. & O. W. Olsen. 1971. The life cycle and development of *Ophiotaenia filaroides* (La Rue, 1909) (Proteocephala: Proteocephalidae). Journal of Parasitology. 57: 869-874.
- Morgan J. A. T. & D. Blair. 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.
- Moszczyńska, A., S. A. Locke, J. D. McLaughlin, D. J. Marcogliese & T. J. Crease. 2009. Barcoding micro- and meso-fauna. Development of primers for the mitochondrial cytochrome c oxidase I gene in digenetic trematodes (Platyhelminthes) illustrates the challenge of barcoding parasitic helminths. Molecular Ecology Resources. 9: 75-82.
- Olson, P. D., D. T. J. Littlewood, R. A. Bray & J. Mariaux. 2001. Interrelationships and evolution of the tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda). Molecular Phylogenetics and Evolution. 19: 443-467.

- Paredes-León, R., L. García-Prieto, C. Guzmán-Cornejo, V. León-Règagnon & T. M. Pérez. 2008. Metazoan parasites of Mexican amphibians and reptiles. *Zootaxa*. 166 p.
- Parona, C. 1901. Di alcuni Cestodi brasiliani, raccolti dal Dott. Adolfo Lutz. *Bollettino del Musei di Zoologia e Anatomia Comparata della R. Università di Genova*. 102: 1-12.
- Pavanelli, G. C. & M. H. Machado dos Santos. 1991. *Cangatiella arandasi*, gen. n. sp. n. (Cestoda-Proteocephalidae), parasito de *Parauchenipterus galeatus* (Siluriformes-Auchenipteridae) do rio Paraná, Pr. *Revista Brasileira de Zoologia*. 7: 535-539.
- Pérez-Ponce de León, G. & L. García-Prieto. 2001. Los parásitos en el contexto de la biodiversidad y la conservación. *Biodiversitas*. 6: 11-15.
- Pérez-Ponce de León, G., L. García-Prieto & B. Mendoza-Garfias. 2011. Describing Parasite Biodiversity: The Case of the Helminth Fauna of Wildlife Vertebrates in Mexico, Changing Diversity in Changing Environment, Oscar Grillo and Gianfranco Venora (Ed.), InTech, Rijeka, Croacia: 33-54.
- Pérez-Ponce de León, G., A. Jiménez-Ruiz, B. Mendoza-Garfias & L. García-Prieto. 2001. Helminth parasites of garter snakes and mud turtles from several localities of the Mesa Central of Mexico. *Comparative Parasitology*. 68: 9-20.
- Pérez-Vigueras, I. 1934. *Ophiotaenia barbouri* n. sp. (Cestoda) Parásito de *Tretanorhynchus variabilis* (Reptilia). *Memorias de la Sociedad Cubana de Historia Natural*. 8: 231-234.
- Price, P. 1980. *Evolutionary biology of parasites*. Princeton University Press, Princeton.
- Puga, S. & R. Formas. 2005. *Ophiotaenia calamensis*, a new species of proteocephalid tapeworm from the Andean aquatic frog *Telmatobius dankoi* (Leptodactylidae). *Proceedings of the Biological Society of Washington*. 118: 245-250.
- Pulido-Flores, G. 1994. Helminths of *Rana dunni* especie endémica del Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México*. 65: 205-207.

- Pyron, R. A., F. T. Burbrink & J. J. Wiens. 2013. A phylogeny and revised classification of Squamata, including 4161 species of lizards and snakes. *BMC Evolutionary Biology*. 13: 1-54.
- Rambeloson, V. R., H. C. Ranaivoson & A. de Chambrier. 2012. *Ophiotaenia lapata* sp. n. (Eucestoda: Proteocephalidea) from Madagascar: a parasite of the endemic snake *Madagascarophis colubrinus* (Colubridae) *Revue Suisse de Zoologie*. 119: 547-559.
- Rego, A. A. 1994. 13 Order Protocephalidea Mola, 1928 In: L. F. Khalil, A. Jones & R. A. Bray. (Eds.), *Keys to the cestode parasites of vertebrates*. Center for Agriculture and Biosciences International. Cambridge UK: 257-293 p.
- Rego, A. A. 1995. A new classification of the cestode order Proteocephalidea Mola. *Revista Brasileira de Zoologia*. 12: 791-814.
- Rego, A. A. & A. de Chambrier. 2000. Redescription of *Tejidotaenia appendiculata* (Baylis, 1947) (Cestoda: Proteocephalidea), a Parasite of *Tupinambis teguixin* (Sauria: Teiidae) from South America. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. 95: 161-165.
- Rego, A. A. & V. Ivanov. 2001. *Pseudocrepidobothrium eirasi* (Rego and de Chambrier, 1995) gen. n. and comb. nov. (Cestoda, Proteocephalidea), parasite of a South American freshwater fish, and comparative cladistic analysis with *Crepidobothrium* spp. *Acta Scientiarum*. 21: 363-367.
- Rego, A. A., J. C. Chubb & G. C. Pavanelli. 1999. Cestodes in South American freshwater teleost fishes: keys to genera and brief description of species. *Revista Brasileira de Zoologia*. 16: 299-367.
- Rodríguez-Escobar, L. M. 2010. Análisis taxonómico de las especies mexicanas de los géneros *Proteocephalus* y *Ophiotaenia* (Cestoda: Proteocephalidea) depositadas en la Colección Nacional de Helminfos del Instituto de Biología, UNAM. Tesis de Licenciatura, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.: 100 p.

- Rodríguez, Lopez-Neyra, C. & C. Diaz-Ungría. 1958. Cestodes de Venezuela. V. Cestodes de vertebrados venezolanos (2a nota). *Meorias de la Sociedad de Ciencias Naturales "La Salle"*. 23: 1-41.
- Ronquist, F. & J.P. Huelsenbeck. 2003. MrBayes 3.2.3 x64: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*. 19: 1572-1574.
- Rosas-Valdez, R. 2002. Proteocefálidos parásitos de peces y culebras de la Laguna de Tres Palos Guerrero, México y análisis sobre la validez de los géneros *Proteocephalus* y *Ophiotaenia* utilizando caracteres moleculares. Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.: 68 p.
- Rossman, D. A., N. B. Ford & R. A. Seigel. 1996. The garter snakes. Evolution and ecology. University of Oklahoma Press. Norman and London. 332 p.
- Rozen, S. & H. J. Skaletsky. 2000. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In J. Krawetz, S. Misener (eds) *Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology*. Humana Press, Totowa, Nj, 365-386p. Source code available at <http://fokker.wi.mit.edu/primer3/>.
- Ruedi, V. & A. de Chambrier. 2012. *Pseudocrepidobothrium ludovici* sp. n. (Eucestoda: Proteocephalidea), a parasite of *Phractocephalus hemiliopterus* (Pisces: Pimelodidae) from Brazilian Amazon. *Revue Suisse de Zoologie*. 119: 137-147.
- Santos-Barrera, G. & O. Flores-Villela. 2004. *Lithobates montezumae*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3. <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>. Downloaded on 20 May 2015.
- Schaeffner B. C., M. Jirku, Z. N. Mahmoud & T. Scholz. 2011. Revision of *Wenyonia* Woodland, 1923 (Cestoda: Caryophyllidea) from catfishes (Siluriformes) in Africa. *Systematic Parasitology*. 79: 83-107.
- Schmidt, G. D. 1986. Handbook of tapeworm identification. CRC Press, Boca Ratón, Florida. 675 p.
- Scholz, T. & A. de Chambrier, A. 2003. Taxonomy and biology of proteocephalidean cestodes: current state and perspectives. *Helminthologia*. 40: 65-77.

- Scholz, T. & A. de Chambrier, A. 2013. Lecture. Introduction to the techniques used in the study of mesoparasites systematics: 19 p. Not published.
- Scholz, T. & V. Hanzelová. 1999. Species of *Proteocephalus* Weinland, 1858 (Cestoda: Proteocephalidae) from Cyprinid Fishes in North America. *Journal of Parasitology*. 85: 150-154.
- Scholz, T., R. Drábek & V. Hanzelová. 1998. Scolex morphology of *Proteocephalus* tapeworms (Cestoda: Proteocephalidae), parasites of freshwater fish in the Palaearctic Region. *Folia Parasitologica*. 45: 27-43.
- Scholz, T., V. Hanzelová, A. Sheriková, T. Shimazu & L. Rolbiecki. 2007. An annotated list of species of the *Proteocephalus* Weinland, 1858 aggregate *sensu de Chambrier et al. (2004)* (Cestoda: Proteocephalidea), parasites of fishes in the Palaearctic Region, their phylogenetic relationships and a key to their identification. *Systematic Parasitology*. 67: 139-156.
- Scholz, T., A. de Chambrier, R. Kuchta, D. Timothy, J. Littlewood & A. Waeschenbach. 2013. *Macrobothriotaenia ficta* (Cestoda: Proteocephalidea), a parasite of sunbeam snake (*Xenopeltis unicolor*): example of convergent evolution. *Zootaxa*. 3640: 485-499.
- Shoop, W. L. & C. K. Corkum. 1982. *Proteocephalus micruricola* sp. n., (Cestoda: Proteocephalidae) from *Micrurus diastema affinis* in Oaxaca, Mexico. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*. 49: 62-64.
- Stamatakis, A. 2014. RAxML Version 7.2.8: A tool for Phylogenetic Analysis and Post-Analysis of Large Phylogenies. In *Bioinformatics*.
- Stoeckle, M., P. E. Waggoner & J. H. Ausubel. 2005. *Barcoding life, illustrated. Goals, Rationale, Results*.
- Swofford, D. L. 2014. PAUP\* 4.0a136 (X86). *Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and Other Methods)*. Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Uetz, P. (editor), *The Reptile Database*, <http://www.reptile-database.org>, accessed May 23. 2006.

- Velarde-Aguilar, M. G. 2014. Estudio filogenético y helmintológico de *Lithobates megapoda* en el estado de Jalisco. Tesis de Maestría, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.: 130 p.
- Waeschenbach, A., B. L. Webster & D. T. J. Littlewood. 2012. Adding resolution to ordinal level relationships of tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda) with large fragments of mtDNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 63: 834-847.
- Waeschenbach, A., B. L. Webster, R. A. Bray & D. T. J. Littlewood. 2007. Added resolution among ordinal level relationships of tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda) with complete small and large subunit nuclear ribosomal RNA genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 45: 311-325.
- Webb, R. G. 1996. A systematic review of the Mexican frog *Rana megapoda* Taylor (Anura: Ranidae). *Southwest National*. 41: 35-42.
- Webb, R. G. 2000. Frogs of the *Rana tarahumarae* group in western Mexico. In, J. D. Johnson., R. G. Webb & O. A. Flores-Villela. *Mesoamerican herpetology :systematics, zoogeography, and conservation*. The University of Texas at el Paso. 20-43.
- Zehnder, M.P. & J. Mariaux. 1999. Molecular systematic analysis of the order Proteocephalidea (Eucestoda) based on mitochondrial and nuclear rDNA sequences. *International Journal for Parasitology*. 29: 1841-1852.
- Zhang, G., J. Chen, Y. Yan, N. Liu, W. Jiang, S. Gu, X. Wang & Z. Wang. 2014. Utility of DNA Barcoding in Distinguishing Species of the Family Taeniidae. *Journal of Parasitology*. 100: 542-546.



## 9 ANEXOS

**9.1 Anexo I. Cuadro 16.** Claves de acceso de las secuencias de los genes 28S y COI de especies de proteocefalideos obtenidos del genbank (incluyendo grupos externos no proteocefálicos), más 40 secuencias del gen 28S y 35 del COI generadas en el presente estudio.

|    | Especie de parásito   | Subfamilia   | Hospedero  | HosVer/<br>Or-Fa | Origen<br>geográfico        | Clave<br>Genbank ó<br>individuo |
|----|---|--|--|------------------|-----------------------------|---------------------------------|
| 1  | Tetraphyllidea gen. sp. (GE)                                  | orden<br>Tetraphyllidea                                  | <i>Squalus acanthias</i><br>Linnaeus, 1758                                     | Ti_Sq            | Mar del<br>Norte            | AJ388591                        |
| 2  | <i>Acanthobothrium</i> sp. (GE)                               | orden<br>Tetraphyllidea,<br>Familia<br>Oncobothriidae    | <i>Dasyatis longa</i> (Garman,<br>1880)  | Ra_My            | México (BCS)                | AF286953                        |
| 3  | <i>Phyllobothrium lactuca</i><br>Beneden, 1850<br>(GE)        | orden<br>Tetraphyllidea,<br>Familia<br>Phyllobothriidae  | <i>Mustelus asterias</i><br>Cloquet, 1819                                      | Ti_Ca            | Reino Unido                 | AF286960                        |
| 4  | <i>Rhinebothrium maccalumi</i> (Linton,<br>1924)<br>(GE)      | orden<br>Rhinebothriidea,<br>Familia<br>Phyllobothriidae | <i>Dasyatis americana</i><br>Hildebrand & Schroeder,<br>1928                   | Ra_My            | México (Golfo<br>de México) | AF286962                        |
| 5  | Proteocephalidea1 sp.   | No clasificado   | <i>Amia calva</i> Linnaeus,<br>1766  | P_Am             | Estados<br>Unidos (EU)      | FM956088                        |
| 6  | Proteocephalidea2 sp.   | No clasificado   | <i>Paratrygon aiereba</i><br>(Müller & Henle, 1841)                            | Ra_My            | Perú (Pe)                   | AY193879                        |
| 7  | Proteocephalidea3 sp.   | No clasificado   | <i>Paratrygon aiereba</i><br>(Müller & Henle, 1841)                            | Ra_My            | Perú (Pe)                   | AY193878                        |
| 8  | Proteocephalidea4 sp.   | No clasificado   | <i>Paratrygon aiereba</i><br>(Müller & Henle, 1841)                            | Ra_My            | Perú (Pe)                   | AY193877                        |
| 9  | <i>Acanthotaenia</i> cf.<br><i>shipleyi</i> Linstow, 1903     | Acanthotaeniinae   | <i>Varanus salvator</i><br>(Laurenti, 1768)                                    | R_Va             | Malasia (Mal)               | AJ583453                        |
| 10 | <i>Acanthotaenia</i> sp.                                      | Acanthotaeniinae   | <i>Varanus exanthematicus</i><br>(Bosc, 1792)                                  | R_Va             | Ghana (Gh)                  | AJ388593                        |
| 11 | <i>Kapsulotaenia1</i> sp.                                     | Acanthotaeniinae   | <i>Varanus gouldii</i> (Gray,<br>1838)   | R_Va             | Australia (Au)              | AJ583451                        |
| 12 | <i>Kapsulotaenia2</i> sp.                                     | Acanthotaeniinae   | <i>Varanus gouldii</i> (Gray,<br>1838)   | R_Va             | Australia (Au)              | AJ583455                        |
| 13 | <i>Kapsulotaenia3</i> sp.                                     | Acanthotaeniinae   | <i>Varanus rosenbergi</i><br>Mertens, 1957                                     | R_Va             | Australia (Au)              | AJ583452                        |
| 14 | <i>Kapsulotaenia4</i> sp.                                     | Acanthotaeniinae   | <i>Varanus varius</i> (White,<br>1790)   | R_Va             | Australia (Au)              | AJ583454                        |
| 15 | <i>Corallobothrium</i> cf.<br><i>solidum</i> Fritsch, 1886    | Corallobothriinae  | <i>Malapterurus gossei</i><br>Roberts, 2000                                    | P_Si             | Congo (Con)                 | JN005780                        |
| 16 | <i>C. fimbriatum1</i> Essex,<br>1928                          | Corallobothriinae  | <i>Ictalurus balsanus</i><br>(Jordan & Snyder, 1899)                           | P_Si             | México (Gro)                | AY548162                        |
| 17 | <i>C. fimbriatum2</i> Essex,<br>1928                          | Corallobothriinae  | <i>Ictalurus dugesi</i> (Bean,<br>1880)  | P_Si             | México<br>(Mich)            | AY548160                        |
| 18 | <i>C. fimbriatum3</i> Essex,<br>1928                          | Corallobothriinae  | <i>Ictalurus punctatus</i><br>(Rafinesque, 1818)                               | P_Si             | México<br>(Mich)            | AY548161                        |
| 19 | <i>C. parafimbriatum</i><br>Befus & Freeman, 1973             | Corallobothriinae  | <i>Ameirus melas</i><br>(Rafinesque, 1820)                                     | P_Si             | Canadá (Ca)                 | AY548163                        |
| 20 | <i>C. solidum</i> Fritsch, 1886                               | Corallobothriinae  | <i>Malapterurus electricus</i><br>(Gmelin, 1789)                               | P_Si             | Egipto (Eg)                 | AJ583450                        |
| 21 | <i>Corallotaenia intermedia</i> (Fritts, 1959)<br>Freze, 1965 | Corallobothriinae  | <i>Ictalurus melas</i> es syn de<br><i>Ameirus melas</i><br>(Rafinesque, 1820) | P_Si             | Canadá (Ca)                 | AJ275232                        |
| 22 | <i>C. minutia</i> (Fritts, 1959)                              | Corallobothriinae  | <i>Ameirus melas</i>   | P_Si             | Canadá (Ca)                 | AY548164                        |

|    |   |                   |   |      |                     |          |
|----|---|-------------------|---|------|---------------------|----------|
|    | Befus & Freeman, 1973   |                   | (Rafinesque, 1820)  |      |                     |          |
| 23 | <i>Megathylacoides giganteum</i> 1 (Essex, 1928)  | Corallobothriinae | <i>Ictalurus dugesi</i> (Bean, 1880)                                | P_Si | México (Jal)        | AY307117 |
| 24 | <i>M. giganteum</i> 2 (Essex, 1928)   | Corallobothriinae | <i>Ictalurus punctatus</i> (Rafinesque, 1818)                       | P_Si | Canadá (Ca)         | AY307118 |
| 25 | <i>M. lamothei</i> 1 (García-Prieto, 1990) Scholz, Rosas, Pérez-Ponce de León, Choudhury & de Chambrier, 2003 | Corallobothriinae | <i>Ictalurus furcatus</i> (Valenciennes, 1840)                      | P_Si | México (Ver)        | AY307119 |
| 26 | <i>M. lamothei</i> 2 (García-Prieto, 1990) Scholz, Rosas, Pérez-Ponce de León, Choudhury & de Chambrier, 2003 | Corallobothriinae | <i>Ictalurus furcatus</i> (Valenciennes, 1840)                      | P_Si | México (Ver)        | AY307120 |
| 27 | <i>M. lamothei</i> 3 (García-Prieto, 1990) Scholz, Rosas, Pérez-Ponce de León, Choudhury & de Chambrier, 2003 | Corallobothriinae | <i>Ictalurus furcatus</i> (Valenciennes, 1840)                      | P_Si | México (Tab)        | AY548165 |
| 28 | <i>M. lamothei</i> 4 (García-Prieto, 1990) Scholz, Rosas, Pérez-Ponce de León, Choudhury & de Chambrier, 2003 | Corallobothriinae | <i>Ictalurus furcatus</i> (Valenciennes, 1840)                      | P_Si | México (Tab)        | AY548166 |
| 29 | <i>Megathylacoides</i> 1 sp.  | Corallobothriinae | <i>Amia calva</i> Linnaeus, 1766                                    | P_Am | Estados Unidos (EU) | FM956086 |
| 30 | <i>Megathylacoides</i> 2 sp.  | Corallobothriinae | <i>Amia calva</i> Linnaeus, 1766                                    | P_Am | Estados Unidos (EU) | FM956087 |
| 31 | <i>Megathylacus brooksi</i> Pavanelli and Rego 1985   | Corallobothriinae | <i>Paulicea luetkeni</i> es syn de Zungaro zungaro (Humboldt, 1821) | P_Si | Brasil (Br)         | AJ388596 |
| 32 | <b><i>Paraproteocephalus parasiluri</i></b> (Zmееv, 1936) (en negritas la abreviatura usada en el árbol)      | Corallobothriinae | <i>Silurus asotus</i> Linnaeus, 1758                                | P_Si | Japón (Ja)          | AJ388604 |
| 33 | <i>Endorchis piraeeba</i> Woodland, 1934  | Endorchiinae      | <i>Brachyplatystoma filamentosum</i> (Lichtenstein, 1819)           | P_Si | Brasil (Br)         | AJ388603 |
| 34 | <i>Ephedrocephalus microcephalus</i> Diesing, 1850  | Ephedrocephalinae | <i>Phractocephalus hemiliopterus</i> (Bloch & Schneider, 1801)      | P_Si | Brasil (Br)         | AJ388605 |
| 35 | <i>Electrotaenia malopteruri</i> (Fritsch, 1886) de Chambrier, Scholz & Ibraheem, 2004                        | Gangesiinae       | <i>Malapterurus electricus</i> (Gmelin, 1789)                       | P_Si | Egipto (Eg)         | JX477434 |
| 36 | <i>Gangesia agraisensis</i> 1 Verma, 1928   | Gangesiinae       | <i>Wallago attu</i> (Bloch & Schneider, 1801)                       | P_Si | India (In)          | JX477430 |
| 37 | <i>G. agraisensis</i> 2 Verma, 1928   | Gangesiinae       | <i>Wallago attu</i> (Bloch & Schneider, 1801)                       | P_Si | India (In)          | JX477431 |
| 38 | <i>G. agraisensis</i> 3 Verma, 1928   | Gangesiinae       | <i>Wallago attu</i> (Bloch & Schneider, 1801)                       | P_Si | India (In)          | JX477435 |
| 39 | <i>G. agraisensis</i> 4 Verma, 1928   | Gangesiinae       | <i>Wallago attu</i> (Bloch & Schneider, 1801)                       | P_Si | India (In)          | JX477436 |
| 40 | <i>G. agraisensis</i> 5 Verma, 1928   | Gangesiinae       | <i>Wallago attu</i> (Bloch & Schneider, 1801)                       | P_Si | India (In)          | JX477439 |
| 41 | <i>G. agraisensis</i> 6 Verma, 1928   | Gangesiinae       | <i>Wallago attu</i> (Bloch & Schneider, 1801)                       | P_Si | India (In)          | JX477440 |
| 42 | <i>G. agraisensis</i> 7 Verma, 1928   | Gangesiinae       | <i>Wallago attu</i> (Bloch & Schneider, 1801)                       | P_Si | India (In)          | JX477443 |

|    |  |                |  |      |                      |          |
|----|--|----------------|--|------|----------------------|----------|
| 43 | <i>G. agraisensis</i> 8 Verma, 1928  | Gangesiinae    | <i>Wallago attu</i> (Bloch & Schneider, 1801)            | P_Si | Camboya (Cam)        | JX477454 |
| 44 | <i>G. bengalensis</i> 1 (Southwell, 1913)  | Gangesiinae    | <i>Wallago attu</i> (Bloch & Schneider, 1801)            | P_Si | India (In)           | JX477427 |
| 45 | <i>G. bengalensis</i> 2 (Southwell, 1913)  | Gangesiinae    | <i>Wallago attu</i> (Bloch & Schneider, 1801)            | P_Si | India (In)           | JX477428 |
| 46 | <i>G. bengalensis</i> 3 (Southwell, 1913)  | Gangesiinae    | <i>Wallago attu</i> (Bloch & Schneider, 1801)            | P_Si | India (In)           | JX477429 |
| 47 | <i>G. bengalensis</i> 4 (Southwell, 1913)  | Gangesiinae    | <i>Wallago attu</i> (Bloch & Schneider, 1801)            | P_Si | India (In)           | JX477438 |
| 48 | <i>G. macrones</i> 1 Woodland, 1924  | Gangesiinae    | <i>Sperata seenghala</i> (Sykes, 1839)                   | P_Si | Bangladesh (Ban)     | JX477433 |
| 49 | <i>G. macrones</i> 2 Woodland, 1924  | Gangesiinae    | <i>Sperata seenghala</i> (Sykes, 1839)                   | P_Si | India (In)           | JX477444 |
| 50 | <i>G. macrones</i> 3 Woodland, 1924  | Gangesiinae    | <i>Sperata seenghala</i> (Sykes, 1839)                   | P_Si | India (In)           | JX477445 |
| 51 | <i>G. macrones</i> 4 Woodland, 1924  | Gangesiinae    | <i>Sperata seenghala</i> (Sykes, 1839)                   | P_Si | India (In)           | JX477446 |
| 52 | <i>G. oligonchis</i> 1 Roitman & Freze, 1964                                       | Gangesiinae    | <i>Tachysurus fulvidraco</i> (Richardson, 1846)          | P_Si | Rusia (Ru)           | JX477448 |
| 53 | <i>G. oligonchis</i> 2 Roitman & Freze, 1964                                       | Gangesiinae    | <i>Tachysurus fulvidraco</i> (Richardson, 1846)          | P_Si | Rusia (Ru)           | JX477449 |
| 54 | <i>G. oligonchis</i> 3 Roitman & Freze, 1964                                       | Gangesiinae    | <i>Tachysurus fulvidraco</i> (Richardson, 1846)          | P_Si | Rusia (Ru)           | JX477450 |
| 55 | <i>G. oligonchis</i> 4 Roitman & Freze, 1964                                       | Gangesiinae    | <i>Tachysurus fulvidraco</i> (Richardson, 1846)          | P_Si | Rusia (Ru)           | JX477451 |
| 56 | <i>G. oligonchis</i> 5 Roitman & Freze, 1964                                       | Gangesiinae    | <i>Tachysurus fulvidraco</i> (Richardson, 1846)          | P_Si | Rusia (Ru)           | JX477452 |
| 57 | <i>G. parasiluri</i> 1 Yamaguti, 1934  | Gangesiinae    | <i>Silurus asotus</i> Linnaeus, 1758                     | P_Si | Japón (Ja)           | AF286935 |
| 58 | <i>G. parasiluri</i> 2 Yamaguti, 1934  | Gangesiinae    | <i>Silurus asotus</i> Linnaeus, 1758                     | P_Si | Japón (Ja)           | AJ388590 |
| 59 | <i>G. vachai</i> 1 (Gupta & Parmar, 1988)  | Gangesiinae    | <i>Mystus cf. tengara</i> (Hamilton, 1822)               | P_Si | India (In)           | JX477437 |
| 60 | <i>G. vachai</i> 2 (Gupta & Parmar, 1988)  | Gangesiinae    | <i>Wallago attu</i> (Bloch & Schneider, 1801)            | P_Si | Bangladesh (Ban)     | JX477432 |
| 61 | <i>Postgangesia inarmata</i> 1 de Chambrier, Al-Kallak, & Mariaux, 2003            | Gangesiinae    | <i>Silurus glanis</i> Linnaeus, 1758                     | P_Si | Iraq (Iraq)          | AM931032 |
| 62 | <i>P. inarmata</i> 2 de Chambrier, Al-Kallak, & Mariaux, 2003                      | Gangesiinae    | <i>Silurus glanis</i> Linnaeus, 1758                     | P_Si | Iraq (Iraq)          | JX477441 |
| 63 | <i>P. inarmata</i> 3 de Chambrier, Al-Kallak, & Mariaux, 2003                      | Gangesiinae    | <i>Silurus glanis</i> Linnaeus, 1758                     | P_Si | Iraq (Iraq)          | JX477442 |
| 64 | <i>Ritacestus ritaii</i> (Verma, 1926) de Chambrier, Scholz, Ash & Kumar-Kar, 2011 | Gangesiinae    | <i>Rita rita</i> (Hamilton, 1822)                        | P_Si | India (In)           | JX477447 |
| 65 | <i>Silurotaenia siluri</i> (Batsch, 1786)  | Gangesiinae    | <i>Silurus glanis</i> Linnaeus, 1758                     | P_Si | República Checa (RC) | AJ388592 |
| 66 | <i>Vermaia pseudotropii</i> (Verma, 1928)  | Gangesiinae    | <i>Clupisoma garua</i> (Hamilton, 1822)                  | P_Si | India (In)           | JX477453 |
| 67 | <i>Choanoscolex abscisus</i> (Riggenbach, 1896)                                    | Monticelliinae | <i>Pseudoplatystoma coruscans</i> (Spix & Agassiz, 1829) | P_Si | Paraguay (Par)       | AJ388630 |
| 68 | <i>Choanoscolex</i> sp. cf. <i>abscisus</i> (Riggenbach, 1896)                     | Monticelliinae | <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> (Linnaeus, 1766)       | P_Si | Brasil (Br)          | AJ275064 |
| 69 | <i>Goezeella siluri</i>  | Monticelliinae | <i>Pinirampus pirinampu</i>                              | P_Si | Brasil (Br)          | AJ388612 |

|    |   |                  |  |      |                      |          |
|----|---|------------------|--|------|----------------------|----------|
|    | Fuhrmann, 1916  |                  | (Spix & Agassiz, 1829)   |      |                      |          |
| 70 | <i>Monticellia coryphicephala</i> (Monticelli, 1891)                                    | Monticelliinae   | <i>Salminus maxillosus</i> es sin de <i>Salminus brasiliensis</i> (Cuvier, 1816) | P_Ch | Paraguay (Par)       | AJ238832 |
| 71 | <i>M. ophisterni</i> Scholz, de Chambrier, & Salgado-Maldonado, 2001                    | Monticelliinae   | <i>Ophisternon aenigmaticum</i> Rosen & Greenwood, 1976                          | P_Sy | México (Ver)         | AY307121 |
| 72 | <i>Spatulifer maringaensis</i> Pavanelli & Rego, 1989                                   | Monticelliinae   | <i>Sorubim lima</i> (Bloch & Schneider, 1801)                                    | P_Si | Paraguay (Par)       | AJ388634 |
| 73 | <i>Peltdocotyle lenha1</i> (Woodland, 1933)   | Peltdocotylineae | <i>Paulicea luetkeni</i> es sin de <i>Zungaro zungaro</i> (Humboldt, 1821)       | P_Si | Brasil (Br)          | AJ238834 |
| 74 | <i>P. lenha2</i> (Woodland, 1933)   | Peltdocotylineae | <i>Paulicea luetkeni</i> es sin de <i>Zungaro zungaro</i> (Humboldt, 1821)       | P_Si | Brasil (Br)          | AJ238837 |
| 75 | <i>P. lenha3</i> (Woodland, 1933)   | Peltdocotylineae | <i>Sorubimichthys planiceps</i> (Spix & Agassiz, 1829)                           | P_Si | Brasil (Br)          | AJ238836 |
| 76 | <i>P. rugosa1</i> Diesing, 1850   | Peltdocotylineae | <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> (Linnaeus, 1766)                               | P_Si | Paraguay (Par)       | AF286937 |
| 77 | <i>P. rugosa2</i> Diesing, 1850   | Peltdocotylineae | <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> (Linnaeus, 1766)                               | P_Si | Paraguay (Par)       | AJ238835 |
| 78 | <i>Barsonella lafoni1</i> de Chambrier, Scholz, Beletew, & Mariaux, 2009                | Proteocephalinae | <i>Clarias cf. anguillaris</i> (Linnaeus, 1758)                                  | P_Si | Sudán (Su)           | FM955142 |
| 79 | <i>B. lafoni2</i> de Chambrier, Scholz, Beletew, & Mariaux, 2009                        | Proteocephalinae | <i>Clarias gariepinus</i> (Burchell, 1822)                                       | P_Si | Etiopía (Et)         | FM955143 |
| 80 | <i>B. lafoni3</i> de Chambrier, Scholz, Beletew, & Mariaux, 2009                        | Proteocephalinae | <i>Clarias gariepinus</i> (Burchell, 1822)                                       | P_Si | Etiopía (Et)         | FM955144 |
| 81 | <i>B. lafoni4</i> de Chambrier, Scholz, Beletew, & Mariaux, 2009                        | Proteocephalinae | <i>Clarias gariepinus</i> (Burchell, 1822)                                       | P_Si | Tanzania (Tan)       | FM955145 |
| 82 | <i>Brooksiella praeputialis</i> (Rego, Santos & Silva, 1974)                            | Proteocephalinae | <i>Cetopsis coecutiens</i> (Lichtenstein, 1819)                                  | P_Si | Brasil (Br)          | AJ275229 |
| 83 | <i>Crepidobothrium eirasi</i> Rego & de Chambrier, 1995                                 | Proteocephalinae | <i>Phractocephalus hemiliopterus</i> (Bloch & Schneider, 1801)                   | P_Si | Brasil (Br)          | AJ388623 |
| 84 | <i>Crepidobothrium1</i> sp.   | Proteocephalinae | <i>Phractocephalus hemiliopterus</i> (Bloch & Schneider, 1801)                   | P_Si | Brasil (Br)          | AJ238833 |
| 85 | <i>Crepidobothrium2</i> sp.   | Proteocephalinae | <i>Phractocephalus hemiliopterus</i> (Bloch & Schneider, 1801)                   | P_Si | Brasil (Br)          | AJ275063 |
| 86 | <i>Glanitaenia osculata</i> (Goeze, 1782) de Chambrier, Zehnder, Vaucher, Mariaux, 2004 | Proteocephalinae | <i>Silurus glanis</i> Linnaeus, 1758   | P_Si | República Checa (RC) | AJ388619 |
| 87 | <i>Ophiotaenia europaea</i> Odening, 1963   | Proteocephalinae | <i>Natrix maura</i> Linnaeus, 1758   | R_Na | Francia (Fr)         | AJ388598 |
| 88 | <i>O. gallardi</i> (Johnston, 1911) Freze, 1965   | Proteocephalinae | <i>Notechis scutatus</i> (Peters, 1861)  | R_El | Australia (Au)       | AJ388615 |
| 89 | <i>O. grandis</i> La Rue, 1911  | Proteocephalinae | <i>Agkistrodon piscivorus</i> (Lacepede, 1789)                                   | R_Vi | Estados Unidos (EU)  | AJ388632 |
| 90 | <i>O. jarara</i> (Fuhrmann, 1927)   | Proteocephalinae | <i>Bothrops jararaca</i> (Wied, 1824)  | R_Vi | Brasil (Br)          | AJ388607 |
| 91 | <i>O. ophioides</i> Mettrick, 1960  | Proteocephalinae | <i>Causus maculatus</i> (Hallowell, 1842)  | R_Vi | Costa de Marfil (CM) | AJ388620 |
| 92 | <i>O. paraguayensis</i> Rudin,  | Proteocephalinae | <i>Hydrodynastes gigas</i>   | R_Di | Paraguay             | AJ388629 |

|     |  |                  |  |       |                      |          |
|-----|--|------------------|--|-------|----------------------|----------|
|     | 1917   |                  | (Duméril, Bibron & Duméril, 1854)                              |       | (Par)                |          |
| 93  | <i>O. sanbernardinensis</i> Rudin, 1917  | Proteocephalinae | <i>Helicops leopardinus</i> Schlegel, 1837                     | R_Di  | Paraguay (Par)       | AJ388637 |
| 94  | <i>Proteocephalus ambloplitis1</i> (Leidy, 1887)                                     | Proteocephalinae | <i>Amia calva</i> Linnaeus, 1766                               | P_Am  | Estados Unidos (EU)  | FM956084 |
| 95  | <i>P. ambloplitis2</i> (Leidy, 1887)   | Proteocephalinae | <i>Ictalurus punctatus</i> (Rafinesque, 1818)                  | P_Si  | Estados Unidos (EU)  | FM956085 |
| 96  | <i>P. ambloplitis3</i> (Leidy, 1887)   | Proteocephalinae | <i>Lepomis macrochirus</i> (Rafinesque, 1819)                  | P_Pe  | Estados Unidos (EU)  | AJ388633 |
| 97  | <i>P. chamelensis1</i> Pérez-Ponce de León, Brooks & Berman, 1995                    | Proteocephalinae | <i>Gobiomorus maculatus</i> (Günther, 1859)                    | P_Pe  | México (Jal)         | AJ275233 |
| 98  | <i>P. chamelensis2</i> Pérez-Ponce de León, Brooks & Berman, 1995                    | Proteocephalinae | <i>Gobiomorus maculatus</i> (Günther, 1859)                    | P_Pe  | México (Jal)         | AJ275234 |
| 99  | <i>P. exiguus</i> La Rue, 1911 es sin de " <i>P. longicollis</i> 2"                  | Proteocephalinae | <i>Coregonus</i> sp.   | P_Sa  | Suiza (Sui)          | AJ388626 |
| 100 | <i>P. filicollis</i> (Rudolphi, 1802)  | Proteocephalinae | <i>Gasterosteus aculeatus</i> Linnaeus, 1758                   | P_Ga  | Reino Unido (RU)     | AJ388636 |
| 101 | <i>P. hemiliopteri</i> de Chambrier & Vaucher, 1999                                  | Proteocephalinae | <i>Phractocephalus hemiliopterus</i> (Bloch & Schneider, 1801) | P_Si  | Brasil (Br)          | AJ388622 |
| 102 | <i>P. hobergi</i> de Chambrier & Vaucher, 1999                                       | Proteocephalinae | <i>Oxydoras kneri</i> Bleeker, 1862                            | P_Si  | Paraguay (Par)       | AJ275062 |
| 103 | <i>P. longicollis</i> (Zeder, 1800)  | Proteocephalinae | <i>Coregonus lavaretus</i> (Linnaeus, 1758)                    | P_Sa  | Alemania (Al)        | JQ639165 |
| 104 | <i>P. macrocephalus</i> (Creplin, 1825)  | Proteocephalinae | <i>Anguilla anguilla</i> (Linnaeus, 1758)                      | P_An  | República Checa (RC) | AJ388609 |
| 105 | <i>P. midoriensis</i> Shimazu, 1990  | Proteocephalinae | <i>Lefua echigonia</i> Jordan & Richardson, 1907               | P_Cy  | Japón (Ja)           | AJ388610 |
| 106 | <i>P. neglectus</i> La Rue, 1911   | Proteocephalinae | <i>Coregonus</i> sp.   | P_Sa  | Suiza (Sui)          | AF026116 |
| 107 | <i>P. percae1</i> (Müller, 1780)   | Proteocephalinae | <i>Perca fluviatilis</i> (Linnaeus, 1758)                      | P_Pe  | Alemania (Al)        | JQ639166 |
| 108 | <i>P. percae2</i> (Müller, 1780)   | Proteocephalinae | <i>Perca fluviatilis</i> (Linnaeus, 1758)                      | P_Pe  | Suiza (Sui)          | AJ388594 |
| 109 | <i>P. perplexus1</i> La Rue, 1911  | Proteocephalinae | <i>Amia calva</i> (Linnaeus, 1766)                             | P_Am  | Canadá (Ca)          | AF286940 |
| 110 | <i>P. perplexus2</i> La Rue, 1911  | Proteocephalinae | <i>Amia calva</i> (Linnaeus, 1766)                             | P_Am  | Canadá (Ca)          | AJ275228 |
| 111 | <i>P. perplexus3</i> La Rue, 1911  | Proteocephalinae | <i>Amia calva</i> (Linnaeus, 1766)                             | P_Am  | Canadá (Ca)          | KF685873 |
| 112 | <i>P. perplexus4</i> La Rue, 1911  | Proteocephalinae | <i>Amia calva</i> (Linnaeus, 1766)                             | P_Am  | Estados Unidos (EU)  | FM956089 |
| 113 | <i>P. perplexus5</i> La Rue, 1911  | Proteocephalinae | <i>Amia calva</i> (Linnaeus, 1766)                             | P_Am  | Estados Unidos (EU)  | FM956090 |
| 114 | <i>P. pirarara</i> (Woodland, 1935)  | Proteocephalinae | <i>Phractocephalus hemiliopterus</i> (Bloch & Schneider, 1801) | P_Si  | Brasil (Br)          | AJ388616 |
| 115 | <i>P. plecoglossi</i> Yamaguti, 1934   | Proteocephalinae | <i>Plecoglossus altivelis</i> (Temminck & Schlegel, 1846)      | P_Osm | Japón (Ja)           | AJ388606 |
| 116 | <i>P. pollanicola</i> Gresson, 1952 es sin de " <i>Proteocephalus longicollis</i> 1" | Proteocephalinae | <i>Coregonus pollan</i> Thompson, 1835                         | P_Sa  | Reino Unido (RU)     | AJ388599 |
| 117 | <i>P. renaudi</i> de Chambrier & Vaucher, 1994                                       | Proteocephalinae | <i>Platydoras armatulus</i> (Valenciennes, 1840)               | P_Si  | Paraguay (Par)       | AJ388638 |
| 118 | <i>Proteocephalus</i> sp.  | Proteocephalinae | <i>Perca flavescens</i> (Mitchill, 1814)                       | P_Pe  | Canadá (Ca)          | AJ275230 |
| 119 | <i>P. synodontis1</i>  | Proteocephalinae | <i>Synodontis</i> sp.  | P_Si  | África (Af)          | JN005778 |

|     |  |                  |   |       |                     |          |
|-----|--|------------------|---|-------|---------------------|----------|
|     | Woodland, 1925   |                  |   |       |                     |          |
| 120 | <i>P. synodontis</i> 2<br>Woodland, 1925                                       | Proteocephalinae | <i>Synodontis</i> sp.   | P_Si  | África (Af)         | JN005779 |
| 121 | <i>P. tetrastomus</i><br>(Rudolphi, 1810)                                      | Proteocephalinae | <i>Hypomeusus nipponensis</i> McAllister, 1963                                      | P_Osm | Japón (Ja)          | AJ388635 |
| 122 | <i>Testudotaenia</i> cf.<br><i>testudo</i> (Magath, 1924)                      | Proteocephalinae | <i>Apalone spinifera hartwegi</i> Conant & Goin, 1948                               | R_Tr  | Estados Unidos (EU) | AJ583456 |
| 123 | <i>T. testudo</i> 1 (Magath, 1924)   | Proteocephalinae | <i>Apalone spinifera</i> (LeSueur, 1827)  | R_Tr  | Estados Unidos (EU) | FM956082 |
| 124 | <i>T. testudo</i> 2 (Magath, 1924)   | Proteocephalinae | <i>Apalone spinifera</i> (LeSueur, 1827)  | R_Tr  | Estados Unidos (EU) | FM956083 |
| 125 | <i>Thaumasioscolex didelphidis</i> Cañeda-Guzmán, de Chambrier, & Scholz, 2001 | Proteocephalinae | <i>Didelphis marsupialis</i> Linnaeus, 1758   | M_Dm  | México (Ver)        | AJ275065 |
| 126 | <i>Rudolphiella piracatinga</i><br>(Woodland, 1935)                            | Rudolphiellinae  | <i>Calophysus macropterus</i> (Lichtenstein, 1819)                                  | P_Si  | Brasil (Br)         | AJ388627 |
| 127 | <i>Rudolphiella</i> sp.  | Rudolphiellinae  | <i>Luciopimelodus pati</i> (Valenciennes, 1835)                                     | P_Si  | Argentina (Ar)      | AF286938 |
| 128 | <i>R. szidati</i> de Pertierra & de Chambrier, 2000                            | Rudolphiellinae  | <i>Luciopimelodus pati</i> (Valenciennes, 1835)                                     | P_Si  | Argentina (Ar)      | AJ388617 |
| 129 | <i>Sandonella sandoni</i><br>(Lynsdale, 1960)                                  | Sandonellinae    | <i>Heterotis niloticus</i> (Cuvier, 1829)   | P_Ost | Sudán (Su)          | AM931033 |
| 130 | <i>Ageneiella brevifilis</i> de Chambrier % Vaucher, 1999                      | Zygobothriinae   | <i>Ageneiosus brevifilis</i> es syn de <i>A. inermis</i> (Linnaeus, 1766)           | P_Si  | Paraguay (Par)      | AJ388600 |
| 131 | <i>Amphoteromorphus ninoi</i> 1 Carfora, de Chambrier & Vaucher, 2003          | Zygobothriinae   | <i>Brachyplatystoma filamentosum</i> (Lichtenstein, 1819)                           | P_Si  | Brasil (Br)         | AJ388624 |
| 132 | <i>A. ninoi</i> 2 Carfora, de Chambrier & Vaucher, 2003                        | Zygobothriinae   | <i>Brachyplatystoma vaillantii</i> (Valenciennes, 1840)                             | P_Si  | Brasil (Br)         | AJ275066 |
| 133 | <i>A. parkamoo</i><br>Woodland, 1935   | Zygobothriinae   | <i>Paulicea luetkeni</i> es sin de <i>Zungaro zungaro</i> (Humboldt, 1821)          | P_Si  | Brasil (Br)         | AJ388595 |
| 134 | <i>A. piriformis</i> Carfora, de Chambrier & Vaucher, 2003                     | Zygobothriinae   | <i>Brachyplatystoma flavicans</i> es sin de <i>Zungaro zungaro</i> (Humboldt, 1821) | P_Si  | Brasil (Br)         | AJ275231 |
| 135 | <i>Gibsoniella meursaulti</i><br>(Woodland, 1935) de Chambrier & Vaucher, 1999 | Zygobothriinae   | <i>Ageneiosus brevifilis</i> es sin de <i>A. inermis</i> (Linnaeus, 1766)           | P_Si  | Paraguay (Par)      | AJ388631 |
| 136 | <i>Harriscolex kaparari</i><br>(Woodland, 1935) Rego, 1987                     | Zygobothriinae   | <i>Pseudoplatystoma tigrinum</i> (Valenciennes, 1840)                               | P_Si  | Brasil (Br)         | AJ275227 |
| 137 | <i>Nomimoscolex admonticellia</i><br>(Woodland, 1934)                          | Zygobothriinae   | <i>Pinirampus pirinampu</i> (Spix & Agassiz, 1829)                                  | P_Si  | Brasil (Br)         | AJ388628 |
| 138 | <i>N. chubbi</i> (Pavanelli & Takemoto, 1995)                                  | Zygobothriinae   | <i>Gymnotus carapo</i> Linnaeus, 1758   | P_Gy  | Paraguay (Par)      | AJ388625 |
| 139 | <i>N. dorad</i> (Woodland, 1935)   | Zygobothriinae   | <i>Brachyplatystoma flavicans</i> es sin de <i>Zungaro zungaro</i> (Humboldt, 1821) | P_Si  | Brasil (Br)         | AJ388613 |
| 140 | <i>N. jenha</i> (Woodland, 1933)   | Zygobothriinae   | <i>Sorubimichthys planiceps</i> (Spix & Agassiz, 1829)                              | P_Si  | Brasil (Br)         | AJ388611 |
| 141 | <i>N. lopesi</i> Rego, 1989  | Zygobothriinae   | <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> (Linnaeus, 1766)                                  | P_Si  | Paraguay (Par)      | AJ388618 |

|     |  |                  |   |      |                |                |
|-----|--|------------------|---|------|----------------|----------------|
| 142 | <i>N. matogrossensis</i> Rego & Pavanelli, 1990                      | Zygobothriinae   | <i>Hoplias malabaricus</i> (Bloch, 1794)  | P_Ch | Paraguay (Par) | AJ388614       |
| 143 | <i>N. piraeeba</i> 1 Woodland, 1934                                  | Zygobothriinae   | <i>Brachyplatystoma filamentosum</i> (Lichtenstein, 1819)                           | P_Si | Brasil (Br)    | AF286936       |
| 144 | <i>N. piraeeba</i> 2 Woodland, 1934                                  | Zygobothriinae   | <i>Brachyplatystoma filamentosum</i> (Lichtenstein, 1819)                           | P_Si | Brasil (Br)    | AJ388608       |
| 145 | <i>N. sudobim</i> (Woodland, 1935)                                   | Zygobothriinae   | <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> (Linnaeus, 1766)                                  | P_Si | Brasil (Br)    | AJ388597       |
| 146 | <i>N. suspectus</i> 1 Zehnder, de Chambrier, Vaucher & Mariaux, 2000 | Zygobothriinae   | <i>Brachyplatystoma filamentosum</i> (Lichtenstein, 1819)                           | P_Si | Brasil (Br)    | AJ275067       |
| 147 | <i>N. suspectus</i> 2 Zehnder, de Chambrier, Vaucher & Mariaux, 2000 | Zygobothriinae   | <i>Brachyplatystoma flavicans</i> es sin de <i>Zungaro zungaro</i> (Humboldt, 1821) | P_Si | Brasil (Br)    | AJ275068       |
| 148 | <i>N. suspectus</i> 3 Zehnder, de Chambrier, Vaucher & Mariaux, 2000 | Zygobothriinae   | <i>Brachyplatystoma vaillantii</i> (Valenciennes, 1840)                             | P_Si | Brasil (Br)    | AJ388602       |
| 149 | <i>Zygobothrium megacephalum</i> 1 Diesing, 1850                     | Zygobothriinae   | <i>Phractocephalus hemioliopterus</i> (Bloch & Schneider, 1801)                     | P_Si | Brasil (Br)    | AF286939       |
| 150 | <i>Z. megacephalum</i> 2 Diesing, 1850                               | Zygobothriinae   | <i>Phractocephalus hemioliopterus</i> (Bloch & Schneider, 1801)                     | P_Si | Brasil (Br)    | AJ388621       |
| 151 | <i>Ophiotaenia</i> sp. 1   | Proteocephalinae | <i>Thamnophis eques</i> (Reuss, 1834)   | R_Na | EM (Zum)       | <b>*S11</b>    |
| 152 | <i>Ophiotaenia</i> sp. 1   | Proteocephalinae | <i>T. eques</i> (Reuss, 1834)   | R_Na | EM (Zum)       | <b>*S12</b>    |
| 153 | <i>Ophiotaenia</i> sp. 1   | Proteocephalinae | <i>T. eques</i> (Reuss, 1834)   | R_Na | EM (Zum)       | <b>*S13</b>    |
| 154 | <i>Ophiotaenia</i> sp. 1   | Proteocephalinae | <i>Thamnophis</i> sp.   | R_Na | Mich (Aris)    | <b>2500</b>    |
| 155 | <i>Ophiotaenia</i> sp. 2   | Proteocephalinae | <i>T. eques</i> (Reuss, 1834)   | R_Na | EM (Lerma)     | <b>*SPT11</b>  |
| 156 | <i>Ophiotaenia</i> sp. 2   | Proteocephalinae | <i>T. eques</i> (Reuss, 1834)   | R_Na | EM (Lerma)     | <b>35233</b>   |
| 157 | <i>Ophiotaenia</i> sp. 2   | Proteocephalinae | <i>T. eques</i> (Reuss, 1834)   | R_Na | EM (Lerma)     | <b>*35235</b>  |
| 158 | <i>Ophiotaenia</i> sp. 2   | Proteocephalinae | <i>T. eques</i> (Reuss, 1834)   | R_Na | EM (Lerma)     | <b>35237</b>   |
| 159 | <i>Ophiotaenia</i> sp. 2   | Proteocephalinae | <i>T. eques</i> (Reuss, 1834)   | R_Na | EM (Lerma)     | <b>35239</b>   |
| 160 | <i>Ophiotaenia</i> sp. 2   | Proteocephalinae | <i>Thamnophis melanogaster</i> (Peters, 1864)                                       | R_Na | EM (Zum)       | <b>*S2</b>     |
| 161 | <i>Ophiotaenia</i> sp. 3   | Proteocephalinae | <i>T. melanogaster</i> (Peters, 1864)   | R_Na | Mich (Cuit)    | <b>*35829</b>  |
| 162 | <i>Ophiotaenia</i> sp.   | Proteocephalinae | <i>T. melanogaster</i> (Peters, 1864)   | R_Na | Mich (Cuit)    | 35957          |
| 163 | <i>Ophiotaenia</i> sp. 4   | Proteocephalinae | <i>T. melanogaster</i> (Peters, 1864)   | R_Na | Mich (Cuit)    | <b>*359511</b> |
| 164 | <i>Ophiotaenia</i> sp. 5   | Proteocephalinae | <i>T. melanogaster</i> (Peters, 1864)   | R_Na | DF (Xoch)      | <b>*X2</b>     |
| 165 | <i>Ophiotaenia</i> sp. 6   | Proteocephalinae | <i>T. melanogaster</i> (Peters, 1864)   | R_Na | DF (Xoch)      | <b>*X4</b>     |
| 166 | <i>Ophiotaenia</i> sp. 8   | Proteocephalinae | <i>Lithobates</i> sp.   | A_L  | Mich (Art)     | <b>*1992</b>   |
| 167 | <i>Ophiotaenia</i> sp.   | Proteocephalinae | <i>Lithobates zweifeli</i> (Hillis, Frost and Webb, 1984)                           | A_Lz | Mich (Pur)     | 36015          |
| 168 | <i>Ophiotaenia</i> sp. 9   | Proteocephalinae | <i>Lithobates megapoda</i> (Taylor, 1942)   | A_Lm | Jal (Caj)      | <b>34805</b>   |
| 169 | <i>Ophiotaenia</i> sp. 9   | Proteocephalinae | <i>L. megapoda</i> (Taylor, 1942)   | A_Lm | Mich (Cuit)    | <b>*35633</b>  |
| 170 | <i>Ophiotaenia</i> sp.   | Proteocephalinae | <i>Lithobates vaillanti</i> (Brocchi, 1877)   | A_Lv | Ver (Cate)     | <b>2456</b>    |
| 171 | <i>Ophiotaenia</i> sp.   | Proteocephalinae | <i>Nerodia</i> sp.  | R_Na | Mich (NE)      | <b>2089</b>    |
| 172 | <i>Ophiotaenia</i> sp.   | Proteocephalinae | <i>T. melanogaster</i> (Peters, 1864)   | R_Na | Mich (Cuit)    | 35526          |

|             |  |                                 |  |       |             |                |
|-------------|--|---------------------------------|--|-------|-------------|----------------|
| 173         | <i>Ophiotaenia</i> sp.                               | Proteocephalinae                | <i>T. melanogaster</i> (Peters, 1864)            | R_Na  | Mich (Cuit) | <b>35528</b>   |
| 174         | <i>Ophiotaenia</i> sp.                               | Proteocephalinae                | <i>T. melanogaster</i> (Peters, 1864)            | R_Na  | Mich (Cuit) | <b>355210</b>  |
| 175         | <i>Ophiotaenia</i> sp.                               | Proteocephalinae                | <i>T. melanogaster</i> (Peters, 1864)            | R_Na  | Mich (Cuit) | <b>35797</b>   |
| 176         | <i>Ophiotaenia</i> sp.                               | Proteocephalinae                | <i>T. melanogaster</i> (Peters, 1864)            | R_Na  | Mich (Cuit) | <b>35799</b>   |
| 177         | <i>Ophiotaenia</i> sp.                               | Proteocephalinae                | <i>T. melanogaster</i> (Peters, 1864)            | R_Na  | Mich (Cuit) | <b>35847</b>   |
| 178         | <i>Ophiotaenia</i> sp.                               | Proteocephalinae                | <i>T. melanogaster</i> (Peters, 1864)            | R_Na  | Mich (Cuit) | <b>358413</b>  |
| 179         | <i>Ophiotaenia</i> sp.                               | Proteocephalinae                | <i>T. melanogaster</i> (Peters, 1864)            | R_Na  | Mich (Cuit) | <b>36045</b>   |
| 180         | <i>Ophiotaenia</i> sp.                               | Proteocephalinae                | <i>T. melanogaster</i> (Peters, 1864)            | R_Na  | Mich (Pátz) | <b>35623</b>   |
| 181         | <i>Ophiotaenia</i> sp.                               | Proteocephalinae                | <i>Thamnophis</i> sp.                            | R_Na  | DF (Xoch)   | <b>X6</b>      |
| 182         | <i>Ophiotaenia</i> sp.                               | Proteocephalinae                | <i>Thamnophis</i> sp.                            | R_Na  | Jal (Mag)   | <b>2202</b>    |
| 183         | <i>Ophiotaenia</i> sp.                               | Proteocephalinae                | <i>Thamnophis</i> sp.                            | R_Na  | Mich (NE)   | <b>2199</b>    |
| 184         | <i>Thaumasioscolex</i> sp.                           | Proteocephalinae                | <i>Didelphis marsupialis</i> Linnaeus, 1758      | M_Dm  | Ver (Tux)   | <b>Txt04</b>   |
| 185         | <i>Thaumasioscolex</i> sp.                           | Proteocephalinae                | <i>Didelphis virginiana</i> Kerr, 1792           | M_Dv  | Ver (Tux)   | <b>Txt01</b>   |
| 186         | <i>Thaumasioscolex</i> sp.                           | Proteocephalinae                | <i>D. marsupialis</i> Linnaeus, 1758             | M_Dm  | Chis (FB)   | <b>FBCH411</b> |
| 187         | <i>Thaumasioscolex</i> sp.                           | Proteocephalinae                | <i>Didelphis</i> sp.                             | M_D   | Chis (FB)   | <b>FBCH251</b> |
| 188         | <i>Thaumasioscolex</i> sp.                           | Proteocephalinae                | <i>Didelphis</i> sp.                             | M_D   | Chis (FB)   | FBCH251        |
| 189         | <i>Thaumasioscolex</i> sp.                           | Proteocephalinae                | <i>Didelphis</i> sp.                             | M_D   | Chis (FB)   | FBCH252        |
| 190         | <i>Thaumasioscolex</i> sp.                           | Proteocephalinae                | <i>Didelphis</i> sp.                             | M_D   | Chis (FB)   | FBCH252        |
| 1. COI (GE) | <i>Acanthobothrium cf. terezae</i> Rego & Dias, 1976 | Onchobothriidae, Tetraphyllidea | <i>Paratrygon aiereba</i> (Müller & Henle, 1841) | Ra_My | Brasil (Br) | JF803661       |
| 2. COI      | <i>Ophiotaenia</i> sp. 8                             | Proteocephalinae                | <i>Lithobates</i> sp.                            | A_L   | Mich (Art)  | *1973          |
| 3. COI      | <i>Thaumasioscolex</i> sp.                           | Proteocephalinae                | <i>D. virginiana</i> Kerr, 1792                  | M_Dv  | Chis (FB)   | FBCH01         |
| 4. COI      | <i>Corallobothrium</i> sp.                           | Corallobothriinae               |  | P     | Canadá (Ca) | KM538086       |
| 5. COI      | <i>Proteocephalus1</i> sp.                           | Proteocephalinae                |  | P     | Canadá (Ca) | KM538107       |
| 6. COI      | <i>Proteocephalus2</i> sp.                           | Proteocephalinae                |  | P     | Canadá (Ca) | KM538108       |
| 7. COI      | <i>Proteocephalus3</i> sp.                           | Proteocephalinae                |  | P     | Canadá (Ca) | KM538109       |

Abreviaturas, HOSPEDEROS: **Ra**, Raya; **Ti**, Tiburón; **Ca**, Carcharhiniformes; **My**, Myliobatiformes; **Sq**, Squaliformes. **P**, Pez (**Am**, Amiiformes; **An**, Anguilliformes; **Ch**, Characiformes; **Cy**, Cypriniformes; **Ga**, Gasterosteiformes; **Gy**, Gymnotiformes; **Osm**, Osmeriformes; **Ost**, Osteoglossiformes; **Pe**, Perciformes; **Sa**, Salmoniformes; **Si**, Siluriformes; **Sy**, Synbranchiformes). **A**, Anfibio (**L**, *Lithobates* sp.; **Lm**, *L. megapoda*; **Lv**, *L. vaillanti*). **R**, Reptil (**N**, *Nerodia* sp.; **T**, *Thamnophis* sp.; **Te**, *T. eques*; **Tm**, *T. melanogaster*); (Familias de escamados: **Di**, Dipsadidae; **El**, Elapidae; **La**, Lamprophiidae; **Na**, Natricidae; **Py**, Pythonidae; **Vi**, Viperidae; **Xe**, Xenopeltidae); **Tr**, Trionychidae; **Va**, Varanidae. **M**, Mamífero (**D**, *Didelphis* sp.; **Dm**, *D. marsupialis*; **Dv**, *D. virginiana*). LOCALIDADES DE MÉXICO: **BCS**, Baja California Sur; **Chis**, Chiapas (**FB**, Finca Brasil); **D.F.**, Distrito Federal (**Xoch**, Xochimilco); **E.M**, Estado de México (**Lerma**, Ciénaga de Lerma; **Zum**, Laguna de Zumpango); **Gro**, Guerrero; **Jal**, Jalisco (**Caj**, Laguna de Cajititlán; **Mag**, La Magdalena); **Mich**, Michoacán (**Aris**, Presa Aristeo de Mercado; **Art**, Sierra de Arteaga: Tumbiscatio-Playitas: Apo El Viejo; **Cuit**, Lago de Cuitzeo; **NE**, no establecida; **Pátz**, Lago de Pátzcuaro; **Pur**, Puruarán: Municipio Turicato); **Tab**, Tabasco; **Ver**, Veracruz (**Cate**, Catemaco; **Tux**, Los Tuxtlas). **GE**, grupo externo; **HosVer/Or-Fa**, hospedero vertebrado/ orden o familia del hospedero.

La penúltima columna contiene información del país de origen (junto con su abreviatura) de los proteocefálicos obtenidos del genbank; en el caso del material de México se indica el estado y entre paréntesis la localidad de recolecta. En la última columna se indica con negritas las muestras secuenciadas con ambos genes (28S rRNA y COI); con asterisco se indican los organismos caracterizados morfológicamente; las últimas siete filas corresponden a secuencias



únicamente del COI; la secuencia 34805 del COI, cuyo hospedero es *Lithobates megapoda* de la localidad de Cajititlán, fue tomado del trabajo de tesis de maestría de Velarde-Aguilar, 2014.

## 9.2 Anexo II. Técnicas de tinción

Con carmín hidroclicórico de Mayer se tiñieron los gusanos durante dos horas, luego se lavaron en etanol al 70% durante unos pocos segundos y se retiró el exceso de colorante con alcohol acidulado (el tiempo depende del estado de descomposición del tejido del gusano y de su tamaño; en esta solución los gusanos toman un color ligeramente pálido). Ulteriormente se deshidraron en alcoholes graduales (80%, 96%, 100% dos veces) y antes de cambiar los gusanos a etanol al 96%, se colocaron sobre un cartón que a su vez estaba encima de la base de una caja Petri; los cestodos se ajustaron a una posición recta, para luego cubrirlos con un cubreobjetos (sin cubrir el escólex) y un trozo de metal sobre el cubreobjetos para mantener la posición. Después de la deshidratación, los gusanos se aclararon con eugenol (aceite de clavo) de diferente concentración para evitar un cambio brusco que pudiera colapsar los tejidos del gusano (10%, 50%, 90% (10 minutos) y eugenol puro (30 minutos)). Por último, los gusanos se montaron en bálsamo de Canadá (de Chambrier et al., 1992).

Con el colorante paracarmín de Mayer, primero se lavaron los organismos con alcohol al 70% durante 10 minutos dos veces; luego en alcohol al 96% durante 10 minutos dos veces; se teñieron con Para-Carmín de Mayer (el tiempo depende del tamaño y grosor del gusano, oscilando en un promedio de 1 a 10 minutos; luego se lavaron en alcohol al 96% durante unos minutos para retirar el exceso de colorante. Posteriormente, se colocó el gusano en alcohol al 96% acidulado al 2% (con HCl), hasta que los bordes del ejemplar se observen pálidos y los órganos internos sean visibles al microscopio; después se lavaron en alcoholes al 70% durante 2 y 10 minutos, para luego ponerlos sobre un papel filtro que a su vez estaba sobre un portaobjetos y acomodarlos en una posición recta. Continuó la deshidratación con alcoholes graduales (96 y 100% durante 10 y 25 minutos respectivamente) en el mismo portaobjetos, haciendo el cambio de alcoholes por absorción con una servilleta de un lado del portaobjetos y del otro vertiendo el alcohol subsecuente con una pipeta Pasteur. La aclaración se hizo con salicilatos a diferente concentración, de 10 a 15 minutos en cada uno (EtOH +  $\frac{1}{4}$  de salicilato de metilo; EtOH +  $\frac{1}{2}$  de salicilato de metilo; EtOH +  $\frac{3}{4}$  de salicilato de metilo y salicilato de metilo puro) para evitar la hidratación. Finalmente se montaron en bálsamo de Canadá (Modificado de Lamothe-Argumedo, 1997).

**9.3 Anexo III. Cuadro 17. Especies del género *Ophiotaenia* parásitas de anfibios registrados en América (modificación de de Chambrier & Gil de Pertierra, 2012)**

|    | <b>Especies</b>   | <b>Hospedero</b>                    | <b>Fam.Hosp</b>      | <b>Localidad</b> |
|----|---|-------------------------------------|----------------------|------------------|
| 1  | <i>Ophiotaenia alessandrae</i> Marsella & de Chambrier, 2008              | <i>Hypsiboas boans</i>              | Hylidae              | Ecuador          |
| 2  | <i>Ophiotaenia alternans</i> Riser, 1942                                  | <i>Amphiuma tridactylum</i>         | Amphiumidae          | E. U.            |
| 3  | <i>Ophiotaenia amphiumae</i> (Zeliff, 1932)                               | <i>Amphiuma tridactylum</i>         | Amphiumidae          | E. U.            |
| 4  | <b><i>Ophiotaenia bonariensis</i></b> Szidat & Soria, 1954                | <i>Leptodactylus ocellatus</i>      | Leptodactylidae      | Argentina        |
| 5  | <i>Ophiotaenia bonneti</i> de Chambrier, Coquille & Brooks, 2006          | <i>Lithobates vaillanti</i>         | Ranidae              | Costa Rica       |
| 6  | <i>Ophiotaenia bufonis</i> (Vigueras, 1942)                               | <i>Bufo peltacephalus</i>           | Bufoidea             | Cuba             |
| 7  | <i>Ophiotaenia calamensis</i> Pugas & Formas, 2005                        | <i>Telmatobius dankoi</i>           | Telmatobiidae        | Chile            |
| 8  | <i>Ophiotaenia ceratophryos</i> (Parodi et Widakowich, 1916)              | <i>Ceratophrys ornata</i>           | Ceratophryidae       | Argentina        |
| 9  | <i>Ophiotaenia cryptobranchi</i> La Rue, 1914                             | <i>Cryptobranchus alleganiensis</i> | Cryptobranchidae     | E. U.            |
| 10 | <b><i>Ophiotaenia ecuadorensis</i></b> Dyer, 1986                         | <i>Hyla geographica</i>             | Hylidae              | Ecuador          |
| 11 | <b><i>Ophiotaenia filaroides</i></b> (La Rue, 1909)                       | <i>Ambystoma tigrinum</i>           | Ambystomatidae       | E. U.            |
| 12 | <i>Ophiotaenia gracilis</i> Jones, Cheng et Gillespie, 1958               | <i>Lithobates catesbeiana</i>       | Ranidae              | E. U.            |
| 13 | <i>Ophiotaenia hernandezi</i> (Flores-Barroeta, 1955)                     | <i>Rana</i> sp.                     | Ranidae              | Guatemala        |
| 14 | <i>Ophiotaenia loennbergii</i> (Fuhrmann, 1895)                           | <i>Necturus maculosus</i>           | Proteidae            | E. U.            |
| 15 | <i>Ophiotaenia magna</i> Hannum, 1925                                     | <i>Lithobates catesbeiana</i>       | Ranidae              | E. U.            |
| 16 | <i>Ophiotaenia noei</i> Wolffhügel, 1948                                  | <i>Caudiverbera caudiverbera</i>    | Calyptocephalellidae | Chile            |
| 17 | <i>Ophiotaenia olor</i> (Ingles, 1936)                                    | <i>Rana aurora</i>                  | Ranidae              | E. U.            |
| 18 | <i>Ophiotaenia olseni</i> Dyer et Altig, 1977                             | <i>Hyla geographica</i>             | Hylidae              | Ecuador          |
| 19 | <b><i>Ophiotaenia oumanskyi</i></b> de Chambrier & Gil de Pertierra, 2012 | <i>Lepidobatrachus laevis</i>       | Ceratophryidae       | Paraguay         |
| 20 | <b><i>Ophiotaenia saphena</i></b> Osler, 1931                             | <i>Lithobates clamitans</i>         | Ranidae              | E. U.            |

En **negritas** se indican las especies con órgano apical. Clasificación de las familias a las que pertenecen los hospederos: Ambystomatidae, Amphiumidae, Cryptobranchidae y Proteidae pertenecen al orden Caudata; Bufonidae, Calyptocephalellidae, Ceratophryidae, Hylidae, Leptodactylidae, Ranidae y Telmatobiidae al orden Anura.

**9.4 Anexo IV. Cuadro 18. Especies del género *Ophiotaenia* parásitas de reptiles registrados en América (adaptado de de Chambrier et al., 2010).**

|           | <b>Especies</b>   | <b>Hospedero</b>                               | <b>Fam.Hosp</b>  | <b>Localidad</b> |
|-----------|---|--|------------------|------------------|
| 1         | <i>Ophiotaenia agkistrodantis</i> (Harwood, 1933)   | <i>Agkistrodon piscivorus</i>                  | Viperidae        | E. U.            |
| 2         | <i>Ophiotaenia arandasi</i> (dos Santos & Tayt-son-Rolas, 1973) Ammann & de Chambrier, 2008             | <i>Liophis miliaris</i>                        | Dipsadidae       | Brasil           |
| 3         | <i>Ophiotaenia azevedoi</i> (de Chambrier, Vaucher & Renaud, 1992) Ammann & de Chambrier, 2008          | <i>Bothrops jararaca</i>                       | Viperidae        | Brasil           |
| 4         | <i>Ophiotaenia barbouri</i> Pérez-Vigueras, 1934  | <i>Tretanorhinus variabilis</i>                | Dipsadidae       | Cuba             |
| 5         | <i>Ophiotaenia calmettei</i> (Barrois, 1898)  | <i>Bothrops lanceolatus</i>                    | Viperidae        | Martinica        |
| <b>6</b>  | <b><i>Ophiotaenia catzeflisi</i></b> (de Chambrier, Vaucher & Renaud, 1992) Ammann & de Chambrier, 2008 | <i>Bothrops jararaca</i>                       | Viperidae        | Brasil           |
| 7         | <i>Ophiotaenia crotali</i> Rodríguez-Lopez-Neyra & Diaz-Ungria, 1958                                    | <i>Crotalus durissus terrificus</i>            | Viperidae        | Venezuela        |
| 8         | <i>Ophiotaenia elongata</i> Fuhrmann, 1927  | "serpiente pequeña"                            | -                | Brasil           |
| 9         | <i>Ophiotaenia euzeti</i> (de Chambrier, Vaucher & Renaud, 1992) Ammann & de Chambrier, 2008            | <i>Bothrops jararaca</i>                       | Viperidae        | Brasil           |
| <b>10</b> | <b><i>Ophiotaenia faranciae</i></b> (Mac Callum, 1921)  | <i>Farancia abacura</i>                        | Dipsadidae       | E. U.            |
| 11        | <i>Ophiotaenia flava</i> Rudin, 1917  | <i>Coluber</i> sp.                             | Colubridae       | Brasil           |
| <b>12</b> | <b><i>Ophiotaenia gilberti</i></b> Ammann & de Chambrier, 2008  | <i>Thamnodynastes pallidus</i>                 | Dipsadidae       | Paraguay         |
| <b>13</b> | <b><i>Ophiotaenia grandis</i></b> (La Rue, 1911) Harwood, 1933  | <i>Agkistrodon piscivorus</i>                  | Viperidae        | E. U.            |
| 14        | <i>Ophiotaenia habanensis</i> Freze & Ryšavy, 1976  | <i>Tropidophis pardalis</i>                    | Tropidophiidae   | Cuba             |
| 15        | <i>Ophiotaenia hyalina</i> Rudin, 1917  | <i>Coluber</i> sp.                             | Colubridae       | Brasil           |
| <b>16</b> | <b><i>Ophiotaenia jarara</i></b> (Fuhrmann, 1927)   | <i>Bothrops jararaca</i>                       | Viperidae        | Brasil           |
| <b>17</b> | <b><i>Ophiotaenia joanae</i></b> (de Chambrier & Paulino, 1997) Ammann & de Chambrier, 2008             | <i>Xenodon newiedii</i>                        | Dipsadidae       | Brasil           |
| 18        | <i>Ophiotaenia lactea</i> sp. inq. (Leidy, 1855)  | <i>Nerodia sipedon</i>                         | Natricidae       | E. U.            |
| 19        | <i>Ophiotaenia macrobothria</i> Rudin, 1917   | <i>Elaps corallinus</i>                        | Elapidae         | Brasil           |
| <b>20</b> | <b><i>Ophiotaenia marenzelleri</i></b> (Barrois, 1898) Railliet, 1899                                   | <i>Agkistrodon piscivorus</i>                  | Viperidae        | E. U.            |
| 21        | <i>Ophiotaenia micruricola</i> (Shoop & Corkum, 1982) Ammann & de Chambrier, 2008                       | <i>Micrurus diastema</i>                       | Elapidae         | México           |
| 22        | <i>Ophiotaenia nattereri</i> (Parona, 1901)   | <i>Coluber</i> sp.                             | Colubridae       | Brasil           |
| <b>23</b> | <b><i>Ophiotaenia nicoleae</i></b> (Coquille & de Chambrier, 2008)*                                     | <i>Thecadactylus rapicauda</i>                 | Phyllodactylidae | Ecuador          |
| 24        | <i>Ophiotaenia paraguayensis</i> Rudin, 1917  | <i>Hydrodynastes gigas</i>                     | Dipsadidae       | Paraguay         |
| 25        | <i>Ophiotaenia perspicua</i> La Rue, 1911   | <i>Nerodia rhombifer</i>                       | Natricidae       | E. U.            |
| 26        | <i>Ophiotaenia racemosa</i> (Rudolphi, 1819)  | <i>Coluber</i> sp.                             | Colubridae       | Brasil           |
| 27        | <i>Ophiotaenia sanbernardinensis</i> Rudin, 1917  | <i>Helicops leopardinus</i>                    | Dipsadidae       | Paraguay         |
| 28        | <i>Ophiotaenia variabilis</i> (Brooks, 1978) Ammann & de Chambrier, 2008                                | <i>Nerodia cyclopion</i> , <i>N. rhombifer</i> | Natricidae       | E. U.            |

En **negritas** se indican las especies con órgano apical. \* Registro agregado tomado de Coquille & de Chambrier, 2008. Clasificación de las familias a las que pertenecen los hospederos: Colubridae, Dipsadidae y Natricidae pertenecen a la superfamilia Colubroidea; Elapidae; Viperidae; Tropidophiidae a la superfamilia Hemophidia (todos los anteriores están en el suborden Serpentes). Phyllodactylidae pertenece a Sauria (geckos).



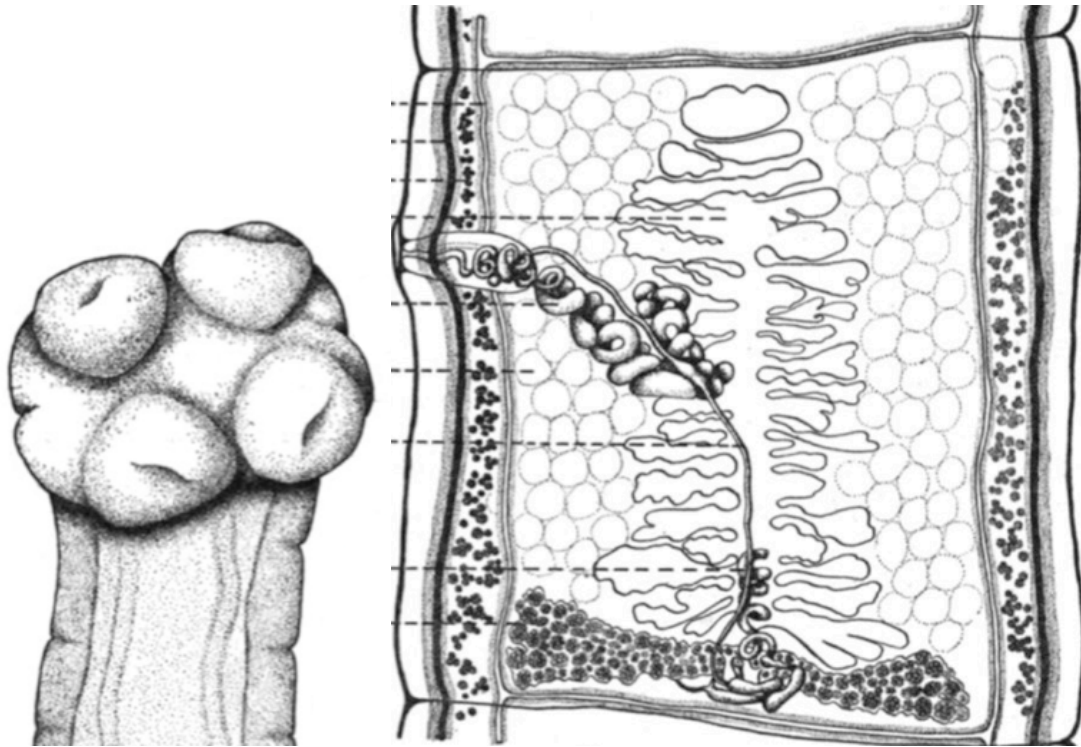


Figura 14. *Ophiotaenia magna* Hannum, 1925 (tomado de Hannum, 1925), escólex y proglótido maduro.

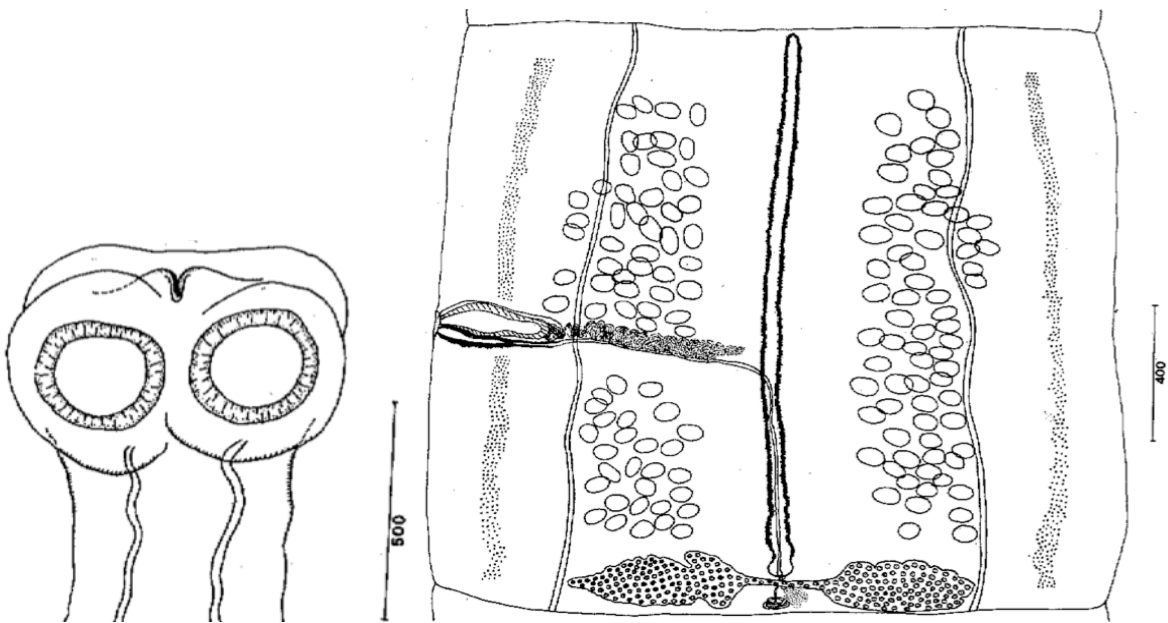


Figura 15. *Ophiotaenia micruricola* (Shoop & Corkum, 1982) Ammann & de Chambrier, 2008 (tomado de Shoop & Corkum, 1982), escólex y proglótido maduro.

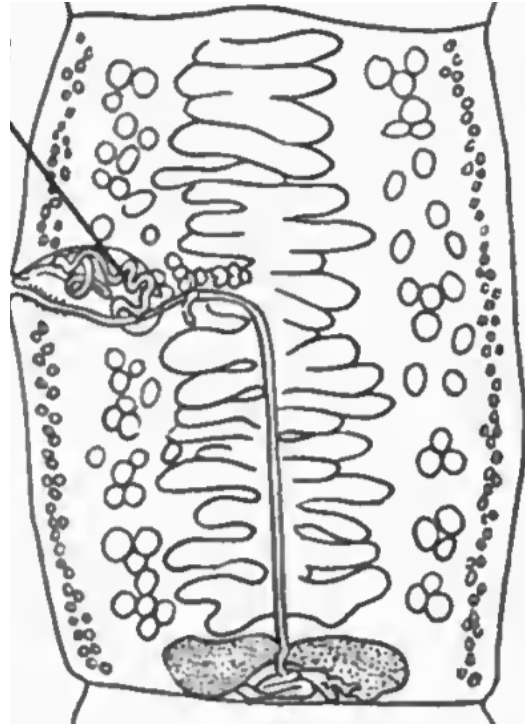


Figura 16. *Ophiotaenia nattereri* (Parona, 1901) La Rue, 1911 (tomado de La Rue, 1914; Parona, 1901 no presentó dibujos), escólex y proglótido maduro.

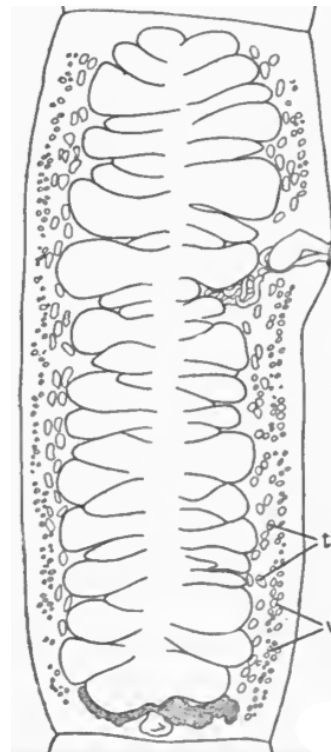
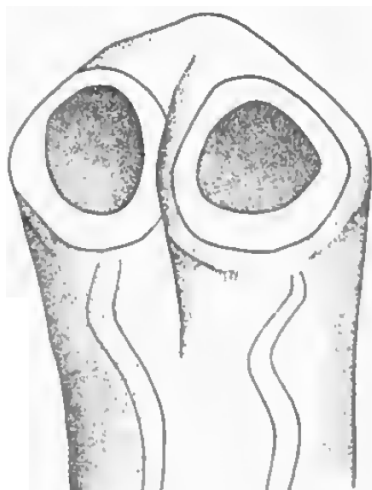


Figura 17. *Ophiotaenia perspicua* La Rue, 1911 (tomado de La Rue, 1914) escólex y proglótido maduro.



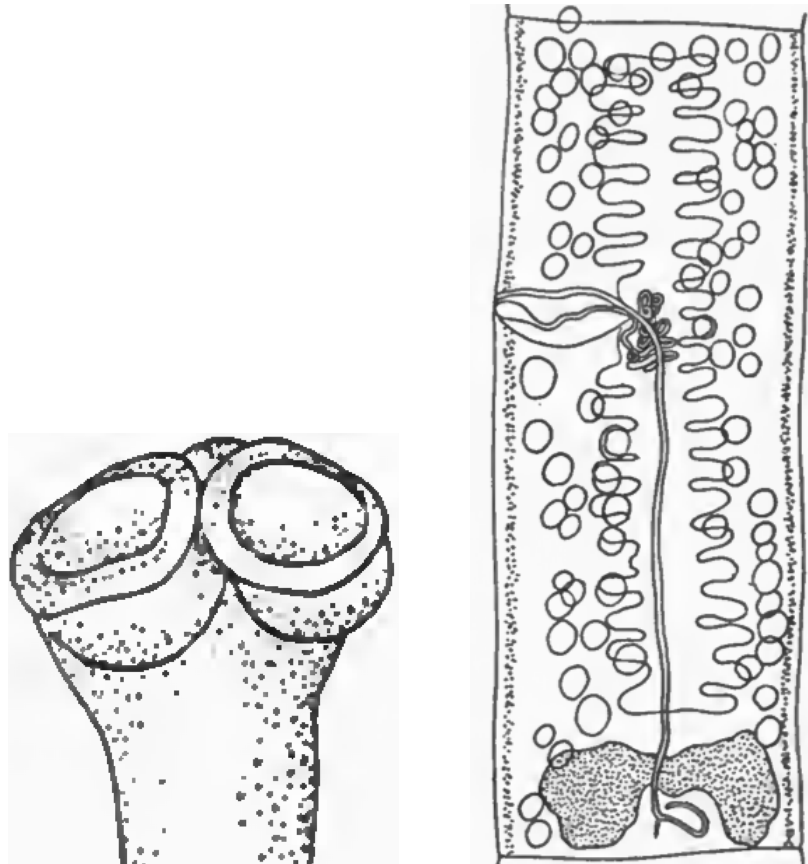


Figura 18. *Ophiotaenia racemosa* (Rudolphi, 1819) La Rue, 1911 (tomado de La Rue, 1914), escólex y proglótido maduro.

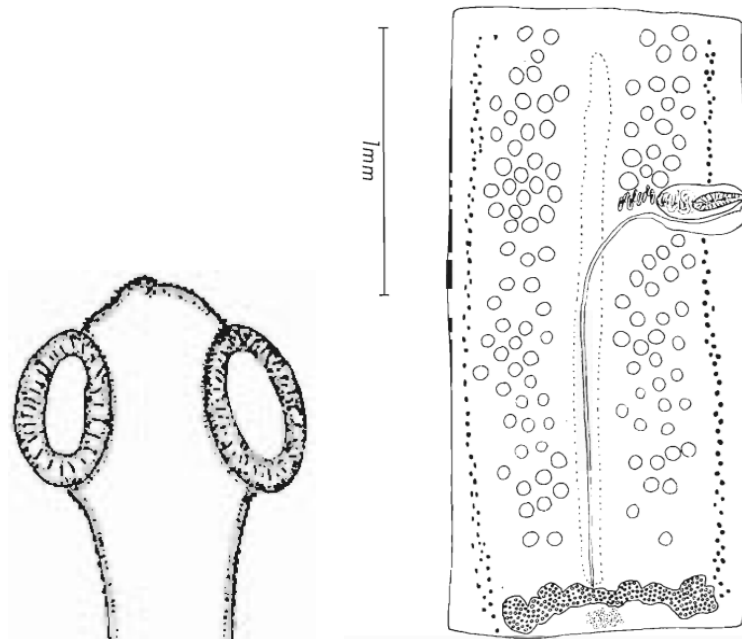


Figura 19. *Ophiotaenia variabilis* (Brooks, 1978) Ammann & de Chambrier, 2008 (tomado de Brooks, 1978), escólex y proglótido maduro.

## 9.6 Anexo VI. Observaciones adicionales

En el procesamiento de los cestodos, es necesario complementar la información morfológica con información molecular en cada especie nueva que sea descrita, incluyendo la identificación del hospedero lo más certera posible. Asimismo, considero que las medidas deben provenir de organismos completos que presenten escólex, proglótidos maduros y grávidos (en caso de ser organismos anapolíticos; en los casos hiperapolíticos, euapolíticos y apolíticos es necesario que dicha característica se observe en varios individuos), considerando que a menudo se originan datos de muchos fragmentos de individuos inmaduros, otros de fragmentos maduros y otros más de grávidos, de individuos con escólex y proglótidos inmaduros u organismos sin tal estructura de fijación; en estos casos, es posible que alguno de ellos no corresponda a la misma especie a la que se está refiriendo.

En algunos casos se obtienen escólices con fragmentos inmaduros y se incluyen en la descripción de algún proteocefálico porque la estructura presentó cuatro ventosas acetabuladas, no obstante este organismo puede pertenecer al orden Cyclophyllidea, lo cual únicamente se puede corroborar observando las características de individuos maduros que a diferencia de los organismos del orden Proteocephalidea, presentan las vitelógenas agrupadas y posteriores al ovario, mientras que en el primero se encuentran laterales (Khalil et al., 1994); además, los miembros del orden Cyclophyllidea parasitan vertebrados terrestres y acuáticos a excepción de peces teleósteos y condrictios (Hoberg et al., 1999) hospederos que también pueden albergar proteocefálicos. Los problemas ya mencionados no fueron ajenos a este trabajo.

Aunado a lo anterior, se ha registrado una misma especie de hospedero con diferentes especies de parásitos como es el caso del pez *Platydoras costatus* parasitado por *Proteocephalus soniae* y *P. renaudi* en Paraguay (de Chambrier & Vaucher, 1994); en Brasil, *Ophiotaenia euzeti* y *O. azevedoi* se encontraron en diferentes porciones del intestino de la misma serpiente de la especie *Bothrops jararaca*, viperido en el cual se han registrado otras dos especies (de Chambrier et al., 1991; de Chambrier et al., 1992); la especie de pez *Hoplias malabaricus* en Paraguay es parasitada por dos especies de proteocefálicos de distintas subfamilias: *Proteocephalus regoi* y *Nomimoscolex matogrossensis* (de Chambrier et al., 1996); otro caso semejante corresponde al de las especies *Ophiotaenia gallardi* y *Vandiermenia beveridgei*, géneros que también se clasifican en diferentes subfamilias, ambas parásitas de la serpiente *Pseudechis porphyriacus* de Australia (de Chambrier & de Chambrier, 2010); aunque las especies *Proteocephalus hemiliopteri* y *Scholzia emarginata* parásitas del pez *Phractocephalus*



*hemioleptus* en el río Amazonas en Brasil fueron localizadas juntas en la misma ubicación del intestino y poseen un escólex morfológicamente muy similar, la morfología externa e interna de su cuerpo es distinta (de Chambrier et al., 2005), asimismo, en esta misma especie de hospedero multiparasitada se han registrado hasta siete especies de proteocefalideos intestinales (Ruedi & de Chambrier, 2012).

Finalmente, un aspecto importante en la caracterización de especies subyace en la homogenización en el manejo del material a estudiar, desde la obtención e inmediata fijación de material fresco, el uso de fijadores que no modifiquen la estructura de los organismos (Scholz et al., 1998), así como la toma de mediciones y conteos de las estructuras en material maduro y grávido para conteo de ramas uterinas y proporciones de éstas respecto al ancho de los proglótidos, aspectos que en la práctica pueden tender a la subjetividad, y arrojar resultados desacertados. Además es necesaria la búsqueda de grupos monofiléticos probando con diferentes marcadores, que de forma independiente o junto con otros genes nos ayuden a dilucidar las relaciones entre los organismos, así como la examinación de caracteres que verdaderamente nos permitan discernir entre diferentes niveles taxonómicos, para poder llevar a cabo otro tipo de estudios como ya lo han mencionado y lo han hecho otros autores (García, 1993; Zhender & Mariaux, 1999; de Chambrier et al., 2004; Hysa et al., 2005; Caira et al., 2014, entre muchos otros).