

00377



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA

**“Estudio taxonómico de algunas poblaciones
del género *Langeronia* Caballero y Bravo –
Hollis, 1949 (Trematoda: Lecithodendriidae)
en México”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(SISTEMÁTICA)

P R E S E N T A :
MARTÍNEZ SALAZAR ELIZABETH AURELIA

DIRECTORA DE TESIS: DRA. VIRGINIA LEÓN REGAGNÓN

MÉXICO, D.F.



COORDINACIÓN

ENERO DE 2004



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS COORDINACIÓN

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

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 13 de octubre de 2003, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de grado de Maestría en Ciencias Biológicas (Sistemática) del alumno(a) **Martínez Salazar Elizabeth Aurelia**, con número de cuenta 93212436, con la tesis titulada: "**Estudio taxonómico de algunas poblaciones del género Langeronia Caballero y Bravo-Hollis, 1949 (Trematoda: Lecithodendriidae) en México**", bajo la dirección del(a) **Dra. Virginia León Regagnón**.

Presidente:	Dr. Marcos Rafael Lamothe Argumedo
Vocal:	Dr. Gerardo Pérez Ponce de León
Secretario:	Dra. Virginia León Regagnon
Suplente:	Dr. Oscar Alberto Flores Villela
Suplente:	Dr. Sergio Guillén Hernández

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 20 de enero de 2004.

Dr. Juan José Morrone Lupi
Coordinador del Programa

AGRADECIMIENTOS

En primer término deseo agradecer a la Dra. Virginia León Rêgagnon, directora del presente trabajo. Porque siempre has fomentado mi formación profesional y académica; por la disposición y apoyo incondicional. Siempre me das una luz dentro de cada plática y aterrizas las inmensas nubes de ideas, no solo en cada tutorial, sino en cualquier cosa que emprendo, dejando huella en mi en cada momento. Gracias, por todas las oportunidades que me has brindado y por continuar guiándome en este complejo y atrayente mundo de los helmintos. Agradezco todas las facilidades otorgadas en el Laboratorio de Biología Molecular 3, del Instituto de Biología, UNAM.

A los miembros del jurado, Dra. Virginia León Rêgagnon (IBUNAM), Dr. Gerardo Pérez Ponce de León (IBUNAM), Dr. Marcos Rafael Lamothe Argumedo (IBUNAM), Dr. Oscar Alberto Flores Villela (Fac. Ciencias, UNAM) y al Dr. Sergio Guillén Hernández (UAY), agradezco sus valiosas correcciones, críticas, comentarios y sugerencias, las cuales dieron forma a la tesis.

Al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACyT) y a la Dirección General de Estudios de Posgrado (DGEP), por el apoyo otorgado para realizar mis estudios de maestría, en el Posgrado de Ciencias Biológicas.

Agradezco a los siguientes proyectos por el apoyo brindado en el desarrollo de este trabajo: J27985-N CONACyT (Dra. Virginia León Rêgagnon, IBUNAM), NSF DEB-0102303 (Dr. Jonathan A. Campbell, UTA y Dra. Virginia León Rêgagnon, IBUNAM) y al Proyecto de colaboración entre la UANL y IBUNAM (Dra. Virginia León Rêgagnon, IBUNAM).

Al Dr. Marcos Rafael Lamothe Argumedo, jefe del Laboratorio de Helminología, por haberme permitido el uso de las instalaciones del mismo; por ser parte de mi jurado y por los acertados comentarios que enriquecieron este trabajo. Gracias por estar al tanto de mis avances semestrales y por todas las sugerencias a lo largo de la maestría.

Al Dr. Gerardo Pérez Ponce de León, Laboratorio de Helminología, Instituto de Biología. Por ser parte de mi sínodo y miembro de mi comité. Gracias por todos los enormes y enriquecedores comentarios, como por las excelentes ideas que permitieron

centrar y dieron forma al presente trabajo; por la disposición para dar respuesta a todas mis dudas, pero sobre todo por las charlas que fomentan mi interés en biogeografía de Helmintos. Gracias por el apoyo incondicional.

Al Dr. Oscar Alberto Flores Villela, Museo de Zoología de La Facultad de Ciencias. Te agradezco por ser parte del jurado y miembro de mi comité. Por todos tus enriquecedores comentarios, por la disposición para dar respuesta a todas mis inquietudes y brindarme sugerencias a lo largo de mis estudios. Gracias por fomentar mi formación académica y por el apoyo incondicional. Así como motivar mi interés en biogeografía y el querer aprender algo en herpetología. Gracias totales.

Al Dr. Sergio Guillén Hernández, de la Universidad Autónoma de Yucatán, por ser parte de mi jurado, por sus valiosos y acertados comentarios que enriquecieron el presente trabajo. Agradezco la disposición incondicional para la colecta del material biológico en el estado de Yucatán. Gracias por ayudarme a distancia en los trámites de grado.

Al Dr. Héctor Hernández y a la Dra. Tila María Pérez, Director(es) en turno del Instituto de Biología, de la UNAM, por el uso de las instalaciones.

Al Dr. Fernando Álvarez y a la Dra. Patricia Escalante, Jefe(es) del Departamento de Zoología en turno, del Instituto de Biología, UNAM.

Al personal de posgrado, en particular al Dr. Juan J. Morrone, Lilia Jiménez, Lilia Espinosa, Mary Paz, Jorge Haro, Rocío y Fausto Méndez, por todo su apoyo. Así como al Posgrado en Ciencias Biológicas por su apoyo para realizar una estancia en UAY.

A la M. en C. Laura Márquez, del Instituto de Biología, por sus consejos en Biología Molecular, y por la ayuda brindada en la secuenciación del material biológico.

Agradezco al Dr. Rafael Lamothe y M en C. Luis García Prieto, por el préstamo de ejemplares de *Langeronia* depositados en la Colección Nacional de Helmintos, IBUNAM.

Al Dr. Eric Hoberg y Dra. Patricia Plitt, por el préstamo de ejemplares del género *Langeronia*, U. S. National Parasite Collection, Betsville, USA.

A la Dra. Beatriz Rodríguez, por el préstamo de ejemplares de *Langeronia*, Colección de Helmintos, de Costa Rica.

Al M en C. Luis García Prieto, del Instituto de Biología, por las aportaciones realizadas a lo largo de este trabajo y la disposición del préstamo de bibliografía de la CNHE, IBUNAM. Gracias por tu apoyo y por que siempre me sacas de dudas. Y porque con tus ocurrencias, el trabajo de Laboratorio se hace muy ameno.

Al Dr. David Lazcano Villareal, de la Universidad Autónoma de Nuevo León, por la disposición incondicional en la colecta del material biológico y apoyo en el estado de Nuevo León. Así como a su familia por su gran hospitalidad.

Al Dr. Daniel Brooks, por proporcionar material de *L. macrocirra* y *Brenesia chabaudi* procedentes de Costa Rica, para su estudio molecular.

A la M. en C. Berenit Mendoza, Laboratorio de Microscopía Electrónica del IBUNAM, por el procesamiento del material y la obtención de microfotografías.

A Rogelio Rosas Valdez, por todo el apoyo, por tus valiosos comentarios a este trabajo y por la disposición que siempre tienes para dar respuestas a mis inquietudes de manera incondicional.

A Ulises Razo, Rosario Mata, Laura Paredes, Rogelio Rosas, Luis García, Berenit Mendoza, Agustín Jiménez, Alejandro Zaldivar, Florencia Bertoni, David Osorio, Alejandro Ocegüera, Elisa Cabrera, Ma. Antonieta Arizmendi, Georgina Lira, Sol Galicia, Jorge Falcón, Luis Canseco, Edmundo Pérez, Walter Schmit, Peter Hermes, Javier Banda Leal (UANL), Ma. de los Angeles Martínez (Nuevo León), Toshio (UAY) y Sarita (UAY), por la ayuda en la recolecta, revisión de hospederos y/o procesamiento del material biológico.

A mis compañeros y maestros del Laboratorio de Helminología: Tony, Chayo, Rogelio R., Ulises R., Luis García., Virginia L., Gerardo P. Ponce de León, Alejandro O., Hugo M., Jorge F., Florencia B., David O., Lorena G. y Luis Gopar.

A los profesores que han sido parte de mi formación académica a lo largo de la Maestría, principalmente al Dr. Juan José Morrone, Dr. Jorge Llorente, Dr. Oscar Flores, Dra. Ella Vázquez, Dr. Daniel Piñero, Dr. Fernando Chiang y al Dr. Fernando Cervantes.

Gracias por la disposición y apoyo incondicional, cuando intento resolver mis inquietudes sobre la biología y sistemática de helmintobichos (y de todo un poco), de manera incondicional, pese a la enorme cantidad de trabajo, de manera amena: Virginia L., Gerardo PPL., Luis García, Rogelio Rosas, Ulises Razo, Rosario Mata (Chayo), Ma. Antonieta (Tony) y Hugo Mejía.

Gracias por regalarme parte de su tiempo y porque me han permitido conocer algo del mundo de los Herpetobichos en sus amenas pláticas, de manera incondicional: Luis Canseco, Alejandro Zaldívar, Oscar Flores, Georgina Santos, Eric Smith, Norma Albarrán, Edna González, Itzél Durán y Estrella Mociño.

A Gabriela Ibáñez, Museo de Zoología, Facultad de Ciencias, UNAM, por enseñarme algunas herramientas en estadística.

A Dra. Ana Luisa Carreño (Paleodoc.), por su apoyo y motivación incondicional en cada momento, las amenas charlas y los excelentes consejos que me ha brindado en todos estos años. Gracias, por estar ahí en esos momentos y por su amistad.

A Dra. Cecilia Vanegas, por el apoyo y motivación incondicional a lo largo de todos estos años. Por sus buenos consejos y motivación. Por su amistad.

A Diana Zavaleta, Elizabeth Robles, Esther Oropeza, Karina Cardona, Laura Paredes, Ulises Razo, Ma. Antonieta Arizmendi (Tony), Cecilia Robles, Dulce Parilla, Karina Tuz, Isis Salazar, Vero Salazar, Esperanza Salazar, Gabriel Salazar, Martha Hernández, Judith Hernández, Teresa Hernández, a la familia Martínez Méndez y a la Familia Salazar por su apoyo y afecto.

Dedicatorias

*A mis padres, Norberto Martínez (tío Beto) y Glafira Salazar (tía Fira),
por el amor, confianza, paciencia y apoyo que me han brindado a lo largo de todos estos años.
Ustedes son mi más grande motivación en este camino y me dan fuerzas para continuar, pese
a cualquier adversidad. Mil gracias por todo!*

*A mis hermanos, Fernando, Jaime y Norberto, por todo su cariño, motivación y
apoyo incondicional que siempre me han brindado.
Cada uno a su manera ha sido una guía y un ejemplo. Su cariño es la mejor medicina.
Están en mi pensamiento dondequiera que voy. Con profundo cariño
Gracias por todo su apoyo!*

*A mis sobrinos Iván y Anahí, por su cariño y por compartir esos pequeños momentos
familiares, los cuales disfruto mucho.*

*A Rogelio Rosas por su cariño, comprensión y motivación incondicional. Porque
siempre me contagias tus deseos y haces que los míos los continúe.*

*A mi enorme familia y los que de alguna manera se adelantaron. Gracias, porque
siempre me han apoyado y alentado con su cariño.*

A la memoria de Catalina Salazar Ruiz

**Estudio taxonómico de algunas poblaciones del género *Langeronia* Caballero y
Bravo-Hollis, 1949 (Trematoda: Lecithodendriidae) en México.**

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	4
1. INTRODUCCIÓN	5
1.1. LA FAMILIA LECITHODENDRIIDAE (LÜHE, 1901) ODHNER, 1910.....	5
1.1.1. GENERALIDADES.....	5
1.1.2. ANTECEDENTES.....	6
1.1.2.1. LA FAMILIA LECITHODENDRIIDAE ODHNER, 1910 EN MÉXICO.....	6
1.2. EL GÉNERO <i>Langeronia</i> CABALLERO Y BRAVO-HOLLIS, 1949.....	8
1.2.1. GENERALIDADES.....	8
1.2.2. CICLO DE VIDA DE <i>Langeronia</i> spp.....	12
1.2.3. EL GÉNERO <i>Langeronia</i> EN MÉXICO.....	13
1.3. ESTUDIOS MOLECULARES.....	14
1.4. FILOGEOGRAFÍA.....	14
1.5. VARIABILIDAD INTRAESPECÍFICA Y LÍMITES ENTRE LAS ESPECIES.....	16
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
3. OBJETIVOS	19
3.1. GENERAL.....	19
3.2. PARTICULARES.....	19
4. MATERIALES Y MÉTODOS	19
4.1. RECOLECTA DE HOSPEDEROS.....	19
4.2. ESTUDIO MORFOLÓGICO.....	21
4.3. ESTUDIO MOLECULAR.....	23
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
5.1. REGISTROS.....	24
5.2. ANÁLISIS MORFOLÓGICO.....	24
5.3. ANÁLISIS MOLECULAR.....	29
5.3.1 SECUENCIAS.....	29
5.4. RELACIONES FILOGENÉTICAS.....	35
5.5. REDESCRIPCIÓN DE <i>Langeronia macrocirra</i> Caballero y Bravo-Hollis, 1949.....	44
6. CONCLUSIONES	71
7. LITERATURA CITADA	72
8. APÉNDICES	84

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Registro de especies de la familia Lecithodendriidae Odher, 1910 en México.....	6
Tabla II. Registro de las especies del género <i>Langeronia</i>	11
Tabla III. Registro de las especies del género <i>Langeronia</i> Caballero y Bravo-Hollis, 1949 en México.....	13
Tabla IV. Localidades de recolecta y hospederos de <i>Langeronia</i> sp.....	20
Tabla V. Especies del género <i>Langeronia</i> depositados en algunas Colecciones Parasitológicas.....	22
Tabla VI. Morfotipos, hospederos y localidades de recolecta de <i>Langeronia</i> sp.....	25
Tabla VII. Valores propios para 30 caracteres morfométricos y 134 del género <i>Langeronia</i> sp. a partir de al menos seis especies de hospederos.....	27
Tabla VIII. Material procesado para secuenciación.....	30
Tabla IX. Matriz de divergencia entre secuencias de la región ITS-2 del rDNA de ejemplares de <i>Langeronia</i> spp.....	33
Tabla X. Matriz de divergencia entre secuencias de CO1 de mtDNA de ejemplares de <i>Langeronia</i> spp.	34
Tabla XI. Tabla comparativa de las características diagnósticas de las especies del género <i>Langeronia</i>	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida de <i>L. brenesi</i>	12
Figura 2. Mapa del rDNA, localización de la región ITS-2 y del mtDNA, localización de CO1 del mtDNA.....	16
Figura 3. Localización de los sitios de recolecta.....	21
Figura 4. Caracteres expresados en medidas para el análisis morfológico.....	26
Figura 5. Análisis de componentes principales de tres tipos morfológicos del género <i>Langeronia</i> , procedentes de 10 localidades.....	28
Figura 6. Fragmento amplificado por PCR de la región ITS-2 del rDNA para <i>Langeronia</i> sp.....	31
Figura 7. Fragmento amplificado por PCR de CO1 del mtDNA <i>Langeronia</i> sp.....	31
Figura 8. Árbol de consenso estricto, basado en secuencias de la región ITS-2 del rDNA.....	36

Figura 9. Consenso estricto de 16 árboles igualmente parsimoniosos de <i>Langeronia</i> spp., de 9 localidades en México y 1 de Costa Rica, basado en secuencias de nucleótidos de CO1 del <i>mtDNA</i>	37
Figura 10. Consenso estricto de 16 árboles igualmente parsimoniosos de <i>Langeronia</i> spp., de 9 localidades en México y 1 de Costa Rica, basado en secuencias de nucleótidos de CO1 del <i>mtDNA</i>	38
Figura 11. Distribución de los clados generados en el análisis molecular.....	43
Figura 12. <i>Langeronia macrocirra</i>	50
Figura 13. <i>Langeronia brenesi</i>	59
Figura 14. <i>Langeronia burseyi</i>	60
Figura 15. Microfotografías de <i>Langeronia macrocirra</i>	61
Figura 16. Variabilidad de la prefaringe de <i>Langeronia macrocirra</i>	63
Figura 17. Variabilidad de las glándulas vitelógenas de <i>Langeronia macrocirra</i>	64
Figura 18. Variabilidad de la localización del poro genital de <i>Langeronia macrocirra</i>	65

ÍNDICE DE APÉNDICES

Apéndice 1. Alineamiento de las secuencias de nucleótidos de la región ITS-2 del <i>rDNA</i> de <i>Langeronia</i> sp.....	84
Apéndice 2. Alineamiento de las secuencias de nucleótidos del gen COI del <i>mtDNA</i> de <i>Langeronia</i> sp.....	85
Apéndice 3. Tabla de la morfometría de los tres tipos identificados del género <i>Langeronia</i>	87
Apéndice 4. Tabla de la morfometría de <i>Langeronia macrocirra</i> , a partir de material depositado en la CNHE, IB-UNAM.....	90

RESUMEN

El género *Langeronia*, parásito intestinal de anuros se distribuye en la región neártica y neotropical. La diferenciación morfológica entre las seis especies del género ha presentado controversia, sin embargo no se ha estudiado la variabilidad intraespecífica. El objetivo este trabajo fue aportar evidencia molecular, que ayude en la definición de los límites entre las especies del género *Langeronia* en México, a partir de un análisis filogenético de algunas poblaciones del género en México, basado en secuencias parciales del gen COI del *mtADN* y de la región ITS-2 del *rADN*. Se evaluó la utilidad de diversos caracteres morfológicos utilizados tradicionalmente en la taxonomía de las especies del género *Langeronia* y como último punto se aportó información acerca de la distribución geográfica de las especies de dicho género en México. Se lograron detectar tres morfotipos que corresponden con las descripciones de *L. macrocirra*, *L. parva* y *L. jimenezi*. El análisis de componentes principales sugiere la existencia de variación intraespecífica de una especie del género, *Langeronia macrocirra*. La región ITS-2 del *rADN* no resultó informativa a este nivel taxonómico, mientras que las secuencias parciales del gen COI presentaron niveles de divergencia hasta del 21.85% con respecto del grupo externo (*Brenesia chabaudi*) y del 9.01% como máximo entre poblaciones del género. Del análisis filogenético de parsimonia se obtuvieron 16 árboles (CI de 0.92) igualmente parsimoniosos. Se encontró que existen tres grupos geográficos, los cuales son parcialmente congruentes con la distribución geográfica (clado A), no así con los grupos identificados por la taxonomía actual. En México se detectaron dos grupos (vertiente del Golfo de México y Sierra Madre Oriental-Pacífico-Yucatán) de la especie *L. macrocirra*. A partir del análisis molecular, *L. jimenezi* se considera sinónimo de *L. macrocirra*, la cual se redescrive con base en los estudios morfológicos y moleculares. Se establece el registro de *Langeronia macrocirra* en ocho nuevas localidades y tres nuevos hospederos. Finalmente, se considera necesario conjuntar más evidencia morfológica y molecular que corrobore ésta hipótesis filogeográfica y la validez de otras especies del género, así como de sus afinidades geográficas.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. LA FAMILIA LECITHODENDRIIDAE (LÜHE, 1901) ODHNER, 1910

1.1.1. GENERALIDADES

La familia Lecithodendriidae (Lühe, 1901) Odhner, 1910 está compuesta por al menos 62 géneros, de distribución mundial y está integrada por especies que en su estado adulto parasitan a todos los grupos de vertebrados, principalmente insectívoros. Dentro los géneros que parasitan a anfibios se encuentran *Mehraorchis*, *Ganeo*, *Langeronia*, *Iquitos*, *Pleurolobatus*, *Candidotrema*, *Loxogenoides*, *Pleurogenes*, *Prosthopycoides*, *Brandesia*, *Limatum*, *Pleuroorchis*, *Cryptotropa*, *Prosotocus*, *Loxogenes*, *Pseudososinotrema*, *Brenesia* y *Pleurogenoides* (Prudhoe y Bray, 1982).

Prudhoe y Bray (1982) propusieron una clave taxonómica para las familias y géneros de tremátodos adultos registrados como parásitos de anfibios. La familia Lecithodendriidae se caracteriza por presentar un cuerpo generalmente pequeño, cubierto de espinas, aplanado dorso-ventralmente, de contorno variable (de alargado a discoidal). El acetábulo es relativamente pequeño, situado cerca o a la mitad del cuerpo. La ventosa oral es subterminal; la faringe es más pequeña que la ventosa oral; esófago localizado a la mitad de la bifurcación cecal entre las ventosas; ciegos intestinales de longitud variable, pero no alcanzan la parte terminal del cuerpo. La localización del poro genital puede ser marginal o submarginal, anterior o lateral con respecto al acetábulo (Caballero y Bravo-Hollis, 1949). Bolsa del cirro siempre presente y bien desarrollada (ausente en los géneros *Ganeo* y *Prosthodendrium*), contiene una vesícula seminal generalmente enrollada, *pars* prostática evidente y un cirro. Dos testículos de localización variable, usualmente arreglados simétricamente y en ocasiones en diagonal uno detrás del otro; ovario ventral anterior o entre los testículos. Receptáculo seminal y canal de Laurer presente. Glándulas vitelógenas arregladas en dos grupos localizados a diferentes niveles del cuerpo, principalmente en la región anterior. Las asas uterinas dispuestas irregularmente, alcanzando y sobrepasando lateralmente a los ciegos intestinales. La vesícula excretora presenta una forma de U, V ó Y (Prudhoe y Bray, 1982).

Odhner (1910) sugirió la división de la familia Lecithodendriidae en dos subfamilias: Lecithodendrinae y Pleurogentinae, basado en el patrón de las células en flama de la cercaria.

Sin embargo, pocos autores han seguido esta propuesta por considerar que es un carácter diagnóstico poco práctico e ignora los fundamentos básicos en la taxonomía dentro de los lecitodéndridos (*sensu lato*) (Odenning, 1959). Prudhoe y Bray (1982) aceptan a los lecitodéndridos *sensu* Odhner, pero sin considerar a las subfamilias Lecithodendrinae y Pleurogetinae en su clave taxonómica.

Hay pocos trabajos de la sistemática filogenética en donde se incluya a la familia Lecithodendriidae utilizando caracteres morfológicos (Brooks *et al.*, 1985, 1989) o moleculares (Tkach *et al.*, 2000). Tkach *et al.* (2003), presentan un trabajo de sistemática molecular en el cual utilizan secuencias parciales del gen 28S nuclear de la superfamilia Microphalloidea. En este trabajo se ponen en duda las afinidades filogenéticas de *Langeronia* con la familia Lecithodendriidae, pues en los árboles resultantes el género *Langeronia* aparece como grupo hermano de los miembros de Pleurogenidae. Sin embargo, considerando que estos resultados se basan en un solo gen y que incluyen pocos representantes de la familia, preferimos respetar el esquema tradicional y considerar a *Langeronia* como miembro de la familia Lecithodendriidae.

1.1.2. ANTECEDENTES

1.1.2.1. LA FAMILIA LECITHODENDRIIDAE ODHNER, 1910 EN MÉXICO

Existen pocos trabajos en los cuales se aborden aspectos de la taxonomía de alguna especie de lecitodéndridos en México; solo se han realizado trabajos aislados en distintas localidades principalmente del centro del país. Se tienen registradas trece especies que habitan el intestino de algunas especies de vertebrados (hospederos definitivos), dos parásitos de anfibios y el resto parásitos de mamíferos (Tabla I). El conocimiento de esta familia en cuanto a su taxonomía y distribución en México es escaso.

Tabla I. Registro de especies de la familia Lecithodendriidae Odher, 1910 en México. *

Especie	Hospedero	Localidad	Referencia
<i>Langeronia macrocirra</i> N	<i>Rana sp.</i> ~	México	Caballero y Bravo-Hollis, 1949
<i>Langeronia jimenezi</i> N	<i>Rana berlandieri</i>	Río Pesquerías, Nuevo León	Iruegas y Salinas, 1989
<i>Limantulum aberrans</i>	<i>Macrotus mexicanus</i>	Cuicatlán, Oaxaca	Caballero y Bravo-Hollis, 1950
<i>Limantulum gastroides</i>	<i>Pteronotus pumelli</i>	Chamela, Jalisco	Pérez Ponce de León <i>et al.</i> , 1996
<i>Limantulum oklahomense</i>	<i>Macrotus mexicanus</i>	Cuicatlán, Oaxaca	Caballero y Bravo-Hollis, 1950
	<i>Natalus mexicanus</i>	Acolman, Hidalgo	Caballero, 1943
	<i>Tadarida basiliensis</i>	Chapultepec, México	Caballero, 1943
<i>Maxbraunium tubiporum</i>	<i>Chilonycteris rubiginosa</i>	Tezontepec, Hidalgo	Caballero y Zerecero, 1942

* Datos obtenidos a partir de la base de datos del proyecto U007 de Conabio (CNHE). N = parásito de anfibios

~ El registro original de *Rana pipiens*. Acorde con Frost (1985) y Flores-Villela (1993), la distribución geográfica de *R. pipiens* no se extiende hasta México. Éste un complejo de especies (Hillis 1988).

Tabla I. Registro de especies de la familia Lecithodendriidae Odher, 1910 en México* (continuación).

Especie	Hospedero	Localidad	Referencia
<i>Ochoterenatrema labda</i> ¹	<i>Natalus mexicanus</i>	Cueva de Xictli, Tlalpan, Distrito Federal	Caballero, 1943
	<i>Natalus mexicanus</i>	Tezontepec, Hidalgo	Caballero, 1943
	<i>Tadarida brasiliensis</i>	Acolman, Hidalgo	Caballero, 1943
	<i>Tadarida brasiliensis</i>	Chapultepec, Distrito Federal	Caballero, 1943
<i>Prosthodendrium (Prosthodendrium) emollidum</i> ²	<i>Natalus mexicanus</i>	Cueva de Xictli, Tlalpan, Distrito Federal	Caballero, 1943
<i>Prosthodendrium (Prosthodendrium) tetralobulatum</i> ³	<i>Balantiopteryx ochoteranai</i>	Izúcar de Matamoros, Puebla	Caballero, 1943
<i>Prosthodendrium (Prosthodendrium) scabrum</i> ⁴	<i>Tadarida brasiliensis</i>	Atzacapozalco, Distrito Federal	Caballero, 1943
	<i>Lasiurus cinereus</i>	General Anaya, Distrito Federal	Caballero y Zerecero, 1951
<i>Prosthodendrium (Palecithodendrium) macnabi</i> ⁵	<i>Lasiurus cinereus</i>	Distrito Federal	Caballero y Zerecero, 1951
<i>Prosthodendrium (Palecithodendrium) paeminosum</i> ⁶	<i>Balantiopteryx ochoteranai</i>	Izúcar de Matamoros, Puebla	Caballero, 1943
<i>Leucochloridium insigne</i>	<i>Querquedula discors</i>	Lago de Texcoco, Edo. México	Larios, 1943
<i>Caluromytrema martindelcampoi</i>	<i>Caluromys derbianus</i>	Villahermosa, Tabasco	Lamothe y Pineda, 1989
<i>Philandrophilus magnacirrus</i>	<i>Philander opossum</i>	Lázaro Cárdenas, Los Tuxtlas, Veracruz	Cañeda-Guzmán, 1997 ¹

* Datos obtenidos a partir de la base de datos del proyecto U007 de Conabio (CNHE).

1. Yamaguti (1958) sinonimizó el género *Ochoterenatrema* con *Prosthodendrium* Dollfus, 1931; Dubois (1960) revisó el tipo y validó al género. Cain (1966) dividió al género en dos subgéneros, esta especie fue nombrada *Ochoterenatrema (Ochoterenatrema) labda*.
2. La validez de esta especie fue reconocida por Dubois (1955), y sinonimizada en 1960 con *Prosthodendrium (Prosthodendrium) swansoni* Macy, 1936, esta asignación no coincide Lont y Font (1983), quienes la transfieren al género *Paralecithodendrium*.
3. Según Dubois (1962) esta especie es sinónimo de *P. (Paralecithodendrium) paeminosum* Caballero, 1943, que a su vez fue considerada por él en 1955 sinónimo de *P. naviculum* Macy, 1936, esto fue aceptado por Lontz y Font (1983), sinonimizándola con *P. ascida*.
4. La especie fue descrita por Caballero (1940) como *Limatulum scabrum* Caballero, 1940 y Caballero (1943) la trasladó al género *Prosthodendrium* Dollfus, 1932. Posteriormente fue sinonimizada por Chen (1954) con *Prosthodendrium ascida* (van Beneden, 1873) Bhalerao, 1936 y por Dubois (1960) con *P. naviculum* Macy 1936 (se considera una variedad de *P. ascida*), lo que fue ratificado en 1938 por Lontz y Font.
5. El registro de esta especie fue validado por Dubois en 1955 y 1960.
3. De acuerdo con Dubois (1955) esta especie es sinónimo de *P. naviculum* Macy, 1936 (aceptado por Lont y Font (1983)), y de *Prosthodendrium (P.) ascida* (Van Benden, 1873) Dollfus, 1931). Lunaschi (2002) revisó este material sinonimizándolo con *Ochoterenatrema labda*

¹Cañeda-Guzmán, I. C. 1997. Parásitos de tres especies de marsupiales de la estación "Los Tuxtlas" y algunas zonas cercanas, Veracruz, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. 193pp.

1.2. EL GÉNERO *Langeronia* CABALLERO Y BRAVO-HOLLIS, 1949

1.2.1. GENERALIDADES

El género *Langeronia* fue establecido por Caballero y Bravo-Hollis (1949) para incluir a *Langeronia macrocirra*, parásito del intestino de *Rana pipiens* en México. Hasta la fecha, se han descrito seis especies distribuidas en los Estados Unidos, México y Centroamérica (Tabla II).

Desde su creación, el género *Langeronia* ha tenido una historia taxonómica complicada. El género *Langeronia* se caracteriza por presentar un cuerpo cónico redondeado posteriormente y cubierto de espinas. Ventosa oral subterminal, más pequeña que el acetábulo, la cual está localizada en la parte central; faringe pequeña y esférica; esófago largo y recto; ciegos intestinales se extienden posteriormente al acetábulo, poro genital lateral localizado al lado izquierdo al acetábulo. Testículos arreglados simétricamente entre la terminación de los ciegos y al acetábulo. Bolsa del cirro grande y dispuesta transversalmente, se extiende desde el ciego izquierdo al ovario. Vesícula seminal enrollada, con una *pars* prostática bien desarrollada y un cirro muscular grande. Ovario localizado entre el acetábulo y el ciego derecho, anterior a los testículos. Las asas uterinas dorsales y dispuestas transversalmente, dan vueltas en la segunda parte del cuerpo, sobrepasando y alcanzando lateralmente a los ciegos. Las glándulas vitelógenas están arregladas en dos grupos laterales cerca de la bifurcación cecal. Vesícula excretora en forma de V. Especie tipo *L. macrocirra* (Caballero y Bravo-Hollis, 1949).

Sacks (1952), describió a la segunda especie del género, *L. provitellaria*, a partir de ocho ejemplares recolectados en *Rana pipiens sphenoccephala* en Florida, Estados Unidos. Esta especie se distingue de *L. macrocirra* por el tamaño del cuerpo, la naturaleza lobulada de los testículos y el ovario, la extensión de las glándulas vitelógenas, así como el tamaño de los huevos.

Yamaguti (1958) en sus trabajos monográficos sobre la Clase Trematoda (Yamaguti, 1958, 1971), consideró al género *Langeronia* como sinónimo de *Loxogenes* Stafford, 1905 (Lecithodendriidae: Pleurogeninae) asignándole un *status* subgenérico.

Posteriormente, Brenes *et al.* (1959) establecieron el segundo registro de *L. macrocirra* como parásito de *Bufo marinus* y por primera vez se registró en *Rana warchewitschii* en Costa Rica. Al examinar estos ejemplares, restituyeron la validez del género *Langeronia* argumentando la posición del poro genital como un carácter diagnóstico que la diferenciaba del género *Loxogenes* y presentaron un arreglo para las especies de estos géneros. Consideraron que el esquema propuesto por Yamaguti (1958) es insuficiente para su aceptación.

En 1965, Ubelaker registro a *L. macrocirra* en *Bufo marinus* de la Isla Ometepe en Mayogalpa, Nicaragua. Este autor considera que *Langeronia* es sinónimo de *Loxogenes*

siguiendo el esquema de Yamaguti (1958), basado en el grado de variación en la distribución de las glándulas vitelógenas y la posición del poro genital en los ejemplares observados.

Este mismo autor consideró que las diferencias observadas en el tamaño de *L. provitellaria* y *L. macrocirra* parecían ser el resultado de la densidad poblacional y sugirió la sinonimización de estas especies.

Martínez (1969)² registró a *L. macrocirra* en el estado de Nuevo León, México. Este autor no siguió el esquema propuesto por Yamaguti (1958).

Christian (1970), describió una tercera especie del género, *L. parva* como parásita de *Rana pipiens* en Alburg, Vermont, Estados Unidos. Esta especie se diferencia de *L. provitellaria* porque presentaba una vesícula excretora en forma de Y, por la presencia de una prefaringe distintiva, un acetábulo definitivamente posterior al nivel medio del cuerpo, y huevos de menor tamaño. La distribución de las glándulas vitelógenas en *L. parva*, no son tan anteriores como en *L. macrocirra* y *Langeronia provitellaria*. *Langeronia parva* difiere de *L. provitellaria* porque tiene un ovario liso, los testículos de contorno irregular y porque el testículo derecho que es ligeramente lobulado, a diferencia de *L. provitellaria* en donde el ovario y los testículos son lobulados. Christian (1970) consideró que la posición del poro genital es un carácter de importancia taxonómica para diferenciar a *Loxogenes* de *Langeronia* (siguiendo a Brenes *et al.*, 1959), por lo cual este autor apoyó la validez del género *Langeronia*. Adicionalmente, presentó los siguientes argumentos en pro de este esquema taxonómico: 1) en *Loxogenes*, los testículos están al mismo nivel que el acetábulo y el ovario, es definitivamente preacetabular, el cual ocupa casi el mismo espacio entre la bifurcación y el acetábulo, mientras que en *Langeronia* los testículos son postacetabulares y el ovario está localizado a la derecha, cerca del acetábulo; 2) en *Loxogenes*, la bolsa del cirro es extracecal, el poro genital es extracecal y dorsal; en *Langeronia*, la bolsa del cirro es alargada, intracecal y preacetabular, el poro genital ventral y desemboca cerca del ciego izquierdo más o menos a la mitad de la longitud de éste; 3) en *Loxogenes*, los ciegos nunca se extienden hacia el acetábulo, mientras que en *Langeronia* estos se extienden hacia el acetábulo y más allá de éste; 4) en *Loxogenes* las asas uterinas son, en gran parte longitudinales y abarcan las regiones anterior y posterior del cuerpo y en *Langeronia* están dispuestas transversalmente, solo en la parte posterior del cuerpo y 5) la vesícula excretora en *Loxogenes* es en forma de V y en *Langeronia* en forma de Y.

² MARTÍNEZ, V. J. M. 1969. Parásitos de algunos anfibios colectados en diferentes áreas de los municipios de Escobedo, Nuevo León, México. Tesis de Licenciatura. Universidad de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas. 48pp.

Babero y Golling (1974), registraron a *L. provitellaria* como parásita de *Rana catesbeiana* en Nevada, Estados Unidos, apoyando a la validez del género *Langeronia*.

Prudhoe y Bray (1982), concuerdan en considerar a *Langeronia* un género válido basándose en la posición del poro genital.

Iruegas y Salinas (1989), describieron una cuarta especie del género, *L. jimenezi* parásita de *Rana berlandieri* en Nuevo León, México. Esta nueva especie se caracteriza por la posición postacetabular de los testículos, prefaringe evidente, bolsa del cirro en posición intracecal, poro genital ventral e intracecal y útero confinado a la mitad posterior del cuerpo.

Estos autores efectuaron la primera clave taxonómica para las especies del género *Langeronia*, dan algunos rasgos como son: la forma de los testículos, localización del poro genital, tamaño de los huevos, entre otras características. Sin embargo, por la variación intraespecífica de estos caracteres, esta clave no permite diferenciar con claridad a las especies que hasta ese momento estaban descritas.

Goodman (1989) describió a *Langeronia brenesi* parásita de *Rana muscosa* y *R. boylei* localizada en las montañas de San Bernardino, California, en Estados Unidos. Esta difiere significativamente de las otras especies porque posee un cirro espinoso y ciegos intestinales cortos que no alcanzan el nivel del acetábulo. Este autor describió el ciclo de vida de la especie.

Al describir la especie, Goodman (1989) enlistó algunas características adicionales que distinguen a las especies de género *Langeronia* de las del género *Loxogenes*, caracterizando a este último por que: 1) las glándulas vitelógenas tienden a confluir; 2) los adultos habitan el píloro; 3) sus estados larvales parasitan diferentes hospederos (metacercarias en náядas de libélulas) y 4) presentan una xiphidiocercaria virgulada con dos pares de glándulas de penetración que se desarrolla en caracoles del género *Bulimus* (Stafford, 1931; Crawford, 1938; Ochi, 1930; Okabe, 1937; Yamaguti, 1937); por su parte *Langeronia* spp. presentan una xiphidiocercaria virgulada con tres pares de glándulas de penetración y se desarrollan en *Fontelicella*.

Dailey y Goldberg (2000), realizaron una revisión del estado taxonómico de los géneros *Langeronia* y *Loxogenes*, y describieron a *Langeronia burseyi*, la cual difiere de las otras especies por su pequeño tamaño, la localización del cirro que se encuentra a nivel del acetábulo, ciegos largos y la vesícula excretora en forma de V. En *L. burseyi* las glándulas vitelógenas terminan justamente en la región posterior a la bifurcación cecal mientras que en *L. provitellaria* se extienden hasta la región anterior del cirro. Esta especie se parece a *L. macrocirra* y *L. parva* ya que el ovario y los testículos no son tan lobulados. Estos autores presentan una segunda clave taxonómica para el género basada en morfometría y algunos

caracteres cualitativos, sin embargo las características diagnósticas que presenta son variables en las especies, por lo que la utilidad de esta clave es dudosa. Cabe mencionar que no incluyeron a *L. jimenezi* en su clave.

Tabla II. Registro de las especies del género *Langeronia*.

Especie	Hospedero	Distribución	Referencia	Comentario Taxonómico
<i>L. macrocirra</i> Caballero y Bravo-Hollis, 1959	<i>Rana</i> sp.~	México	Caballero y Bravo-Hollis, 1949	Transferido a <i>Loxogenes macrocirra</i> ; Yamaguti, 1958. En: Tkach <i>et al.</i> , 2003
	<i>Bufo marinus</i>	Costa Rica	Caballero y Bravo-Hollis, 1949	
	<i>Bufo marinus</i>	Nicaragua	Ubelaker, 1965	
	<i>Rana warchewitschii</i>	Costa Rica	Brenes <i>et al.</i> , 1959	
<i>L. provitellaria</i> Sacks, 1952	<i>Rana pipiens sphenocephala</i>	Florida, USA	Sacks, 1952	Transferido a <i>Loxogenes provitellaria</i> ; Yamaguti, 1958 Originalmente identificados como <i>Langeronia macrocirra</i> y reasignados a <i>L. provitellaria</i> por Cristian, 1970.
	<i>Bufo marinus</i>	Costa Rica	Brenes <i>et al.</i> , 1959	
	<i>Rana catesbeiana</i>	Nevada, USA	Babero y Golling, 1974	
<i>L. parva</i> Cristian, 1970	<i>Rana pipiens</i>	Wisconsin, USA	Cristian, 1970	
	<i>Rana pipiens</i>	Vermont, USA	Cristian, 1970	
<i>L. jimenezi</i> Iruegas y Salinas, 1989	<i>Rana berlandieri</i>	Nuevo León, México	Iruegas y Salinas, 1989	
<i>L. brenesi</i> Goodman, 1989	<i>Rana muscosa</i>	San Bernardino, CA., USA	Goodman, 1989	
<i>L. burseyi</i> Dailey y Goldberg, 2000	<i>Hyla cadaverina</i>	California, USA	Dailey y Goldberg, 2000	

~ El registro original de *Rana pipiens*. Acorde con Frost (1985) y Flores-Villela (1993), la distribución geográfica de *R. pipiens* no se extiende hasta México. Este registro corresponde a alguna de las ranas leopardo del complejo "pipiens" presentes en México (Hillis, 1988).

1.2.2. CICLO DE VIDA DE *Langeronia* spp.

Goodman (1989) describió el ciclo de vida de solo una especie del género: *L. brenesi*. Presenta una cercaria del tipo xiphidiocercaria virgulada. Este puede emerger del primer hospedero intermediario (caracol: *Bulimus*, *Fontelicella californiensis*) o enquistarse dentro de él. Las cercarias emergen del caracol, penetran a larvas de libélula (*Ischura*, *Enallagma*) y se enquistan transformándose en metacercarias. El adulto se desarrolla en el intestino de la rana después de que ésta ingiere caracoles o libélulas (Figura 1).

Los ciclos biológicos *L. macrocirra*, *L. jimenezii*, *L. parva*, *L. burseyi* y *L. provitellaria* se desconocen aún. Por lo que se ha observado en el ciclo de vida de algunas especies de otros géneros de la familia Lecithodendriidae (Yamaguti, 1975), y en *L. brenesi* (Goodman, 1989), se supone que el ciclo de vida puede ser similar.

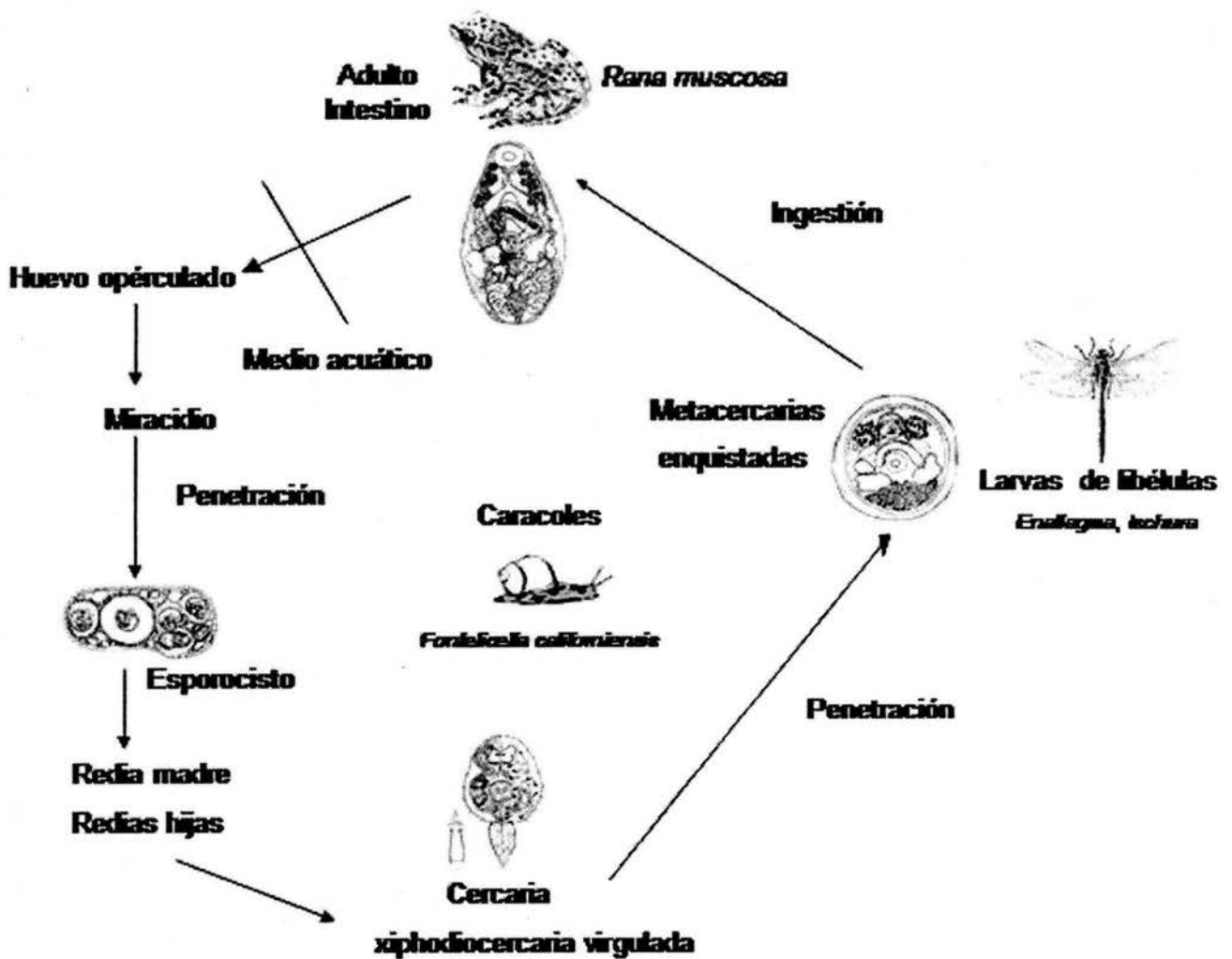


Figura 1. Ciclo de vida de *L. brenesi* basado en Goodman (1989).

1.2.3. EL GÉNERO *Langeronia* EN MÉXICO.

Se han registrado dos especies del género *Langeronia* en México parasitando con más frecuencia el intestino de anfibios del género *Rana* (Tabla III).

Paredes (2000)³, mencionó la gran variación en los caracteres morfológicos de *L. macrocirra* parásita *R. vaillanti*, en Laguna Escondida, Veracruz, al compararlo con el material de *L. macrocirra* recolectado en La Estación de los Tuxtlas (Guillén *et al.*, 1999). La variación de los caracteres radica en el tamaño del cuerpo, la forma y el tamaño de los órganos reproductores y la distribución de las glándulas vitelógenas, los cuales varían dependiendo de los procesos de fijación de los helmintos (Paredes, 2000)⁴. Así mismo, esta autora observó la presencia de una ligera depresión seguida por un muy notorio abultamiento lateral en el cuerpo a la altura y sobre el mismo costado en que se encuentra la desembocadura del poro genital. Esta característica no se había mencionado anteriormente y esta autora sugiere que podría ser de valor taxonómico.

Tabla III. Registro de las especies del género *Langeronia* Caballero y Bravo-Hollis, 1949 en México.

Especie	Hospedero	Localidad	Autor
<i>L. macrocirra</i>	<i>Rana</i> sp.~	México*	Caballero y Bravo-Hollis, 1949
	<i>R. vaillanti</i>	L. Zacatal, L. Escondida y L. Azul, Veracruz	Guillén <i>et al.</i> , 1999
		L. Veracruz	Paredes, 2000 ⁵
	<i>R. pipiens</i>	Río Pesquería y Presa la Boca, Nuevo León	Martínez, 1969 ⁶
	<i>R. tarahumarae</i>	Yecora, Sonora	Burseyi y Goldberg, 2001
	<i>R. berlandieri</i>	Estación de los Tuxtlas, Veracruz	Guillén <i>et al.</i> , 1999
	<i>Smilisca baudini</i>	Estación de Los Tuxtlas, Veracruz	Guillén <i>et al.</i> , 1999
	<i>Bufo marinus</i>	Lago de Catemaco, Veracruz	Guillén, 1992 ⁷
<i>L. jimenezi</i>	<i>Rana berlandieri</i>	Río Pesquería y Presa Rodrigo Gómez, Nuevo León	Iruegas y Salinas, 1989

- El registro original de *Rana pipiens*. * Localidad no determinada; L = Laguna.

^{3 4 5} PAREDES, C. L. E. 2000. Helmintos Parásitos de *Rana vaillanti* Brocchi, 1877 (Anura: Ranidae) de la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, Veracruz. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 69pp.

⁶ MARTÍNEZ, V. J. M. 1969. Parásitos de algunos anfibios colectados en diferentes áreas de los municipios de Escobedo, Nuevo León, México. Tesis de Licenciatura. Universidad de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas. 48pp.

⁷ GUILLÉN, H. S. 1992. Comunidades de helmintos de algunos anuros de Los Tuxtlas. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. México. 90 pp.

1.3. ESTUDIOS MOLECULARES

La incorporación de caracteres moleculares ha sido útil en estudios donde los caracteres morfológicos por sí solos, no pueden resolver los problemas taxonómicos (Stevenson *et al.*, 1996; Hung *et al.*, 1999; León-Régagnon, 1999; Zhu *et al.*, 2000). Recientemente, se han desarrollado un gran número de estudios moleculares basados primariamente en el uso directo o indirecto de las secuencias del DNA (Unnasch y Zimmerman, 1995; Leignel *et al.*, 1997).

Los genes nucleares que se codifican para el DNA ribosomal se han empleado ampliamente en los estudios sistemáticos de helmintos (Rollinson *et al.*, 1986; Baverstock *et al.*, 1991; Stevenson *et al.*, 1996; Leignel *et al.*, 1997). Se ha observado que en el DNA ribosomal, hay regiones que evolucionan lenta o rápidamente, proveyendo ventajas para el estudio de la sistemática de los organismos (Unnasch y Zimmerman, 1995). Los genes ribosomales codifican para moléculas del rRNA y están presentes en el genoma nuclear de todos los eucariontes; están subdivididos en tres regiones codificantes (gen 18s, 5.8s y 28s) y en cuatro regiones no codificantes o espaciadores: el espaciador transcrito externo (ETS), los espaciadores transcritos internos (ITS: ITS-1 e ITS-2), y el espaciador no transcrito (NTS) (Hillis *et al.*, 1996) (Figura 2).

Los datos de las secuencias de nucleótidos representan un gran potencial para las investigaciones taxonómicas y filogenéticas de helmintos (Nadler, 1990; Fitch *et al.*, 1995). Los estudios filogenéticos basados en el estudio del gen 18S rRNA en su mayoría han resultado congruentes con los datos morfológicos, con los de los ciclos de vida y con los biogeográficos (e.g., Liu *et al.*, 1997), haciendo más robustas las clasificaciones existentes. Entre las regiones no codificantes se han utilizado las regiones ITS-1 e ITS-2 para distinguir especies congénicas y a menudo indistinguibles morfológicamente (León-Régagnon *et al.*, 1999; Liu *et al.*, 1999; Nadler, 1990, 1992; Nadler *et al.*, 1995).

1.4. FILOGEOGRAFÍA

Durante la última década, se ha incrementado la atención hacia la generación de filogenias a nivel inter e infraespecífico empleando diferentes marcadores moleculares (DNA nuclear, DNA mitocondrial, etc.). Los árboles de genes proveen una poderosa herramienta para el estudio de la historia evolutiva de las poblaciones (grupos de poblaciones o subespecies), cuya distribución es congruente con los límites de provincias o distritos biogeográficos reconocidos tradicionalmente; han llegado a ser una poderosa aproximación para dilucidar los patrones geográficos contemporáneos de las especies (Arbogast y Kenagy, 2001). A esta aproximación se le ha llamado filogeografía (Avice *et al.*, 1987; Avice, 2000), la cual analiza

especialmente los linajes génicos, enfatizando los aspectos históricos de la distribución actual de éstos, a nivel local o regional (Avisé *et al.*, 1987).

La filogeografía es una subdisciplina de la biogeografía histórica (Lanterni y Confalonieri, 2003), en la cual las unidades primarias de análisis son los clados monofiléticos que son deducidos a partir del análisis filogenético. Examina la estructura geográfica de linajes de genes dentro de una especie o complejo de especies; en esta disciplina integran conceptos y técnicas de genética molecular, genética de poblaciones, demografía, sistemática filogenética, etología y paleontología (Avisé, 2000). Esta subdisciplina aplica el análisis de genealogías génicas al estudio de la evolución de las poblaciones y permite sacar conclusiones con respecto a las secuencias de colonización, diversificación y extinción de linajes génicos en determinadas áreas (Lanterni y Confalonieri, 2003).

En México, esta disciplina se ha desarrollado principalmente en vertebrados (Manríquez, 2002⁸; Mulcahy y Mendelson III, 2000; Zaldívar-Riverón, 2000⁹; Zaldívar-Riverón *et al.*, 2004;).

Existen pocos trabajos filogeográficos en helmintos, principalmente se ha utilizado los genes mitocondriales que codifican para proteínas, citocromo c oxidasa subunidad 1 (CO1) (Figura 2) y nicotidamida adenín deshidrogenasa subunidad 1 (ND1), así como la región ITS-2- y 12s dentro del género *Paragonimus* (Iwagami, 2000), *Schistosoma* (Attwood *et al.*, 2002; Bowles *et al.*, 1995) y en polistomátidos (Sinnappah, 1998¹⁰).

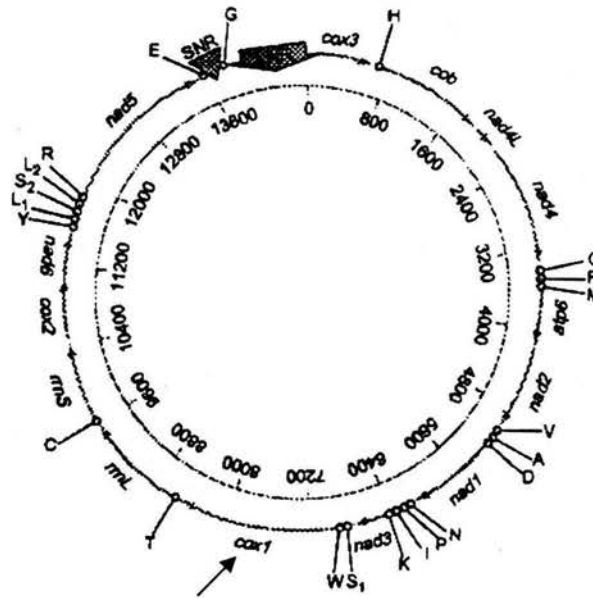
⁸ MANRÍQUEZ, M. N. L. 2002. Origen y diversidad clonal en las especies de lagartijas partenogenéticas del complejo *Cnemidophorus cozumela* (Reptilia: Teiidae). Tesis de Doctorado. Instituto de Biología. UNAM. 108pp.

⁹ ZALDÍVAR, R. A. 2000. Filogenia y límites entre especies en las lagartijas del género *Barisia* (Aguidae) basados en morfología externa y secuenciación de ADNmt. Tesis de Maestría (Biología Animal). Facultad de Ciencias UNAM. México 75pp.

¹⁰ SINNAPPAH, N. D. 1998. Phylogeography of Monogenean Polystomatidae: A molecular approach to infer the evolutionary history of this group of Parasites. Thèse pour obtenir le grade de docteur de L'Université de Perpignan. Academie de Montpellier. Université de Perpignan. France. 109pp.

NTS	ETS	18s	ITS-1	5.8s	ITS-2	28s
-----	-----	-----	-------	------	-------	-----

A)



B)

Figura 2. A) Mapa del rDNA, localización de la región ITS-2 (tomado de Hillis *et al.*, 1996); B) Mapa del mtDNA, localización de CO1 del mtDNA (Le *et al.*, 2001). La flecha señala la localización del gen.

1.5. VARIABILIDAD INTRAESPECÍFICA Y LÍMITES ENTRE LAS ESPECIES

La variación es uno de los elementos fundamentales del proceso evolutivo de los seres vivos y se ha estudiado desde diferentes enfoques: morfológico, morfométrico, cariológico y molecular. Los estudios sobre la variación buscan la resolución de problemas taxonómicos, conservación, biogeografía y coevolución (Alard *et al.*, 1993; Jousson *et al.*, 1998; Ponce y Cuesta, 1997). Los estudios de variación intrapoblacional son de gran importancia para el desarrollo de un sistema de clasificación biológica, ya que para elaborar éste se necesita un amplio conocimiento del grado de variación que puede presentar un taxón.

Las técnicas para el estudio de la variación se han abordado desde diversos enfoques a lo largo del tiempo, como resultado de los avances tecnológicos y científicos; uso de computadoras, desarrollo de técnicas de análisis estadístico de datos de todo tipo (Jousson y Bartoli, 2001; Kostadinova *et al.*, 2000), técnicas moleculares (Morgan y Blair, 1998), etc.

Se han realizado diversos estudios que abordan la variabilidad en helmintos. En los digéneos se ha observado que las diferencias observadas entre ejemplares recolectados a partir de diferentes especies de hospederos a menudo se atribuyen a la plasticidad fenotípica (Bartoli *et al.*, 1989) y está correlacionado con el grado de especificidad del hospedero (Jousson y Bartoli, 2001), en ocasiones provocan modificaciones en la morfología y el desarrollo del parásito (Machado *et al.*, 1994).

Recientemente, se ha trabajado en el problema del uso de datos morfológicos y moleculares para definir linajes de parásitos (especies). Este problema en parasitología se ha abordado utilizando datos morfológicos (Pérez-Ponce de León, 1995; Stock y Kaya, 1996), ultraestructurales (Ferrer, 1996), así como diferentes marcadores, principalmente con secuencias de nucleótidos (Jousson y Bartoli, 2001; Luton *et al.*, 1992). La región ITS del rDNA, han sido ampliamente utilizada para distinguir entre especies de digéneos (Deprès *et al.*, 1995; Jousson *et al.*, 1998). La combinación de las técnicas moleculares permite detectar especies s o crípticas (Anderson y Baker, 1993) y permiten reflejar a demás de la variabilidad, la complejidad del proceso de especiación (Ponce y Cuesta, 1997; Thompson, 1978).

Las especies de digéneos se determinan tradicionalmente con base en caracteres morfológicos, pero la variabilidad en un grupo particular es a menudo poco conocida. Muchas especies han sido descritas con base en ejemplares que se han recolectado una sola vez o en muestras pequeñas, lo que impide tener una adecuada idea de su variabilidad (Grise y Loff, 1970). Las herramientas moleculares pueden aportar mucha información en este aspecto.

La variación de una especie enmarca casi todos los aspectos de la biología, especialmente en el reconocimiento y los procesos de especiación que les dieron origen. Taxónomos, genetistas y ecólogos han incrementado el interés por el estudio de la variación en mayor profundidad, ya que se piensa que la variación por debajo del nivel específico es la clave para entender el origen de las especies (Avisé, 2000).

La variación juega un papel central en muchas discusiones sobre los mecanismos de especiación, particularmente en la controversia de los modelos alopátricos y simpátricos de especiación. La principal diferencia está en si las poblaciones necesitan o no estar geográficamente aisladas antes de que la diferenciación ocurra. Recientemente, el empleo de la cladística y las filogenias moleculares han ayudado a reconstruir los procesos evolutivos que involucran a los patrones de variación geográfica y el significado de la adaptación espacial en condiciones ambientales cambiantes (Thorpe y Malhotra, 1996).

No es sencillo definir los límites de una especie. Los organismos con diferenciación morfológica clara, no presentan ningún tipo de dificultad para su identificación. El problema

surge cuando al estudiar determinados grupos encontramos organismos con ligeras diferencias entre ellos. Particularidades que se mantienen constantes en una zona geográfica, pero no en otra, pueden ser pequeñas diferencias en el tamaño corporal o en la longitud de órganos reproductivos, por ejemplo. Esto complica la delimitación de las especies, ya que los problemas surgen al tratar de decidir si las diferencias observadas obedecen a la variación intraespecífica de una misma especie o que se trata de dos especies distintas (Wiens y Penkrot, 2002).

Wiens y Penkrot (2002), proponen tres aproximaciones para delimitar a las especies: 1) a partir de un árbol basado en datos moleculares; 2) a partir de un árbol basado en datos morfológicos; y 3) a partir de caracteres morfológicos diagnósticos. Sin embargo, en ocasiones no se pueden aplicar las tres aproximaciones y en ocasiones la delimitación solo es apoyada por alguna de ellas, por lo que la delimitación, a pesar de todo, puede ser ambigua.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

México tiene uno de los más altos niveles de riqueza de especies de anfibios (353 especies) y reptiles (785 especies) (Flores-Villela y Goyenechea, 2003). Se ha demostrado que los anfibios y reptiles representan excelentes sistemas para el estudio de las relaciones parásito-hospedero, porque ocupan una amplia variedad de habitats, exhibiendo patrones de ciclos de vida y diversas estrategias reproductivas (Pérez-Ponce de León *et al.*, 2002).

A pesar de la importancia que estos vertebrados tienen en el contexto de la biodiversidad en México, menos de la cuarta parte de las especies de anfibios y reptiles en México se han estudiado en busca de helmintos (León-Régagnon, 2003; Pérez-Ponce de León *et al.*, 2002).

Al describir la biodiversidad de helmintos de anfibios y reptiles, es necesario reconocer la riqueza real de especies, sin embargo la variación morfológica en algunos grupos no permite delimitar a las especies. El presente trabajo aborda esta problemática, al utilizar caracteres morfológicos y moleculares para diferenciar a las especies del género *Langeronia* en México.

3. OBJETIVOS

3.1. GENERAL:

- Aportar evidencia molecular, que ayude en la definición de los límites entre las especies del género *Langeronia* en México.

3. 2. PARTICULARES:

- Realizar un análisis filogenético de algunas poblaciones de *Langeronia* spp. en México, basado en secuencias de DNA.
- Evaluar la utilidad de diversos caracteres morfológicos utilizados tradicionalmente en la taxonomía de las especies del género *Langeronia*
- Aportar información acerca de la distribución geográfica de las especies del género *Langeronia* en México.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. RECOLECTA DE HOSPEDEROS

Los ejemplares de anfibios se recolectaron en 10 localidades de la República Mexicana mismas que se enlistan en la Tabla IV y cuya ubicación geográfica se muestra en la figura 3.

Los anfibios se capturaron manualmente o con la ayuda de redes y se depositaron en sacos herpetológicos, para su traslado y posterior examen helmintológico. Cada anfibio recolectado se sacrificó con una sobredosis de anestésico, se obtuvieron los datos merísticos, y posteriormente se le practicó un examen helmintológico, que consistió en una revisión de la superficie del cuerpo y las cavidades bajo el microscopio estereoscópico. Los helmintos encontrados se extrajeron con ayuda de pinceles finos y se colocaron en cajas de Petri con solución salina al 0.65% (Lamothe, 1997). La fijación de los ejemplares se realizó de dos maneras de acuerdo al tipo de estudio al que fueron sometidos, morfológico o molecular.

Los anfibios fueron fijados con formol al 10% bufferado inyectado en la musculatura, al día siguiente se lavaron con agua durante veinticuatro horas y se colocaron en frascos de vidrio con alcohol al 70%, los ejemplares se depositaron en el Museo de Zoología Alonso L. Herrera de la Facultad de Ciencias, de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), y registrados con los números MZFC12875, 14202, 12196 (el resto actualmente se encuentran en lista de espera para asignación de números de catálogo) y en la Colección Herpetológica, Laboratorio de Herpetología, Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL) registrados con los números UANL6141 al 6163 y 6165.

Tabla IV. Localidades de recolecta y hospederos de *Langeronia* sp.

Hospedero	Localidad	Localización	N
<i>Rana vaillanti</i>	Laguna Escondida, Veracruz	18°35' N; 95°06' O	136
	San José Independencia, Oaxaca*	18°15' N; 96°13' O	38
	Chapultepec, Oaxaca*	18°07'08" N; 96°50'2" O	17
	Laguna Yalahau, Yucatán*	20°38'64" N; 89°41'18" O	13
<i>Rana brownorum</i>	Jardín Botánico, Instituto de Historia Natural, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas*	16°45'10"N; 93°07'10" O	17
	Laguna Yalahau, Yucatán*	20°38'64" N; 89°41'18" O	40
<i>Rana</i> sp.σ °	Tehuantepec, Oaxaca*	16°19'12" N; 95°14'24" O	7
<i>Rana</i> sp. ("forma colima") σ °	La Parotita, Colima*	18°53'30" N; 103°47'21" O	2
	Coquimatlán, Colima*	19°09'92" N; 103°49'56" O	191
<i>Bufo marinus</i>	San José Independencia, Oaxaca*	18°15' N; 96°13' O	7
	Río Tehuantepec, Oaxaca*	16°12' N; 95°14' O	48
	Coquimatlán, Colima*	19°09'92" N; 103°49'56" O	86
	Lago de Catemaco, Veracruz	18°39' N; 96°26' O	91
	La Laguna, Higueras, Nuevo León*	25°56'05" N; 99°50'46" O	30
<i>Rana berlandieri</i>	La Laguna, Higueras, Nuevo León*	25°56'05" N; 99°50'46" O	40

σ Nuevo registro de hospedero; N = Latitud Norte; O = Longitud Oeste.

* Nuevo registro de localidad.

° Consultar el trabajo de Zaldívar-Riverón *et al.* (2004), para la identidad de estas especies de ranas.

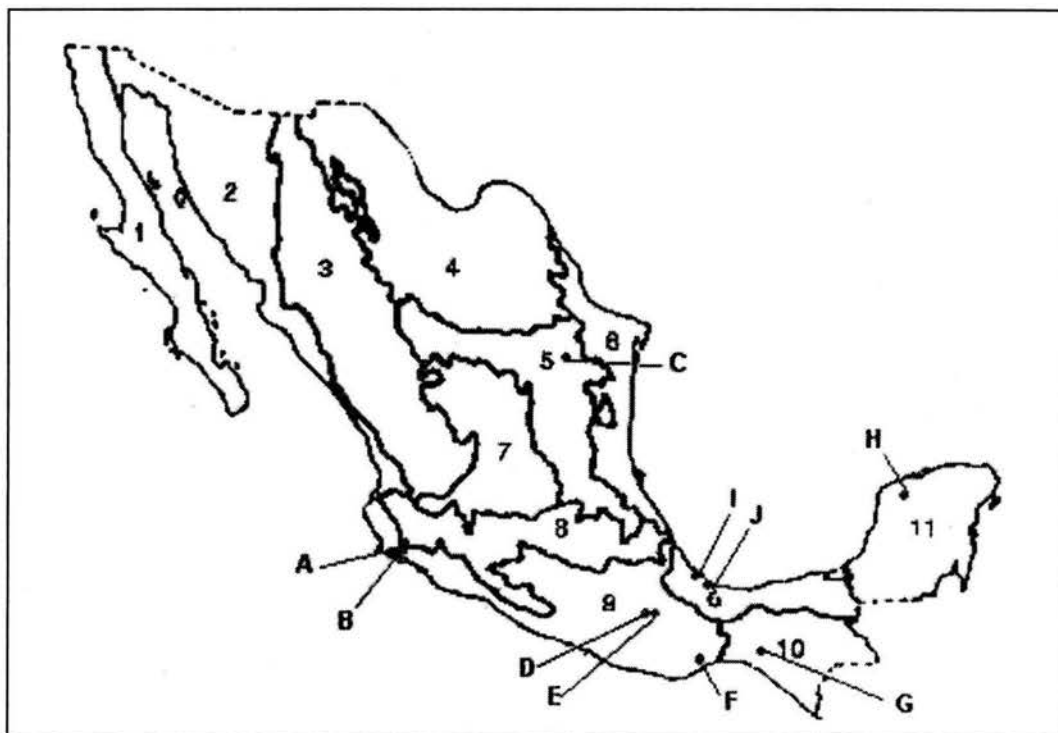


Figura 3. Localización de los sitios de recolecta en el marco de las provincias morfotectónicas de México. 1. Península de Baja California. 2. Planicies y Sierras del Noroeste. 3. Sierra Madre Occidental. 4. Mesetas y Cordilleras de Chihuahua y Coahuila. 5. Sierra Madre Oriental. 6. Planicie Costera del Golfo. 7. Meseta Central. 8. Faja Volcánica Transmexicana. 9. Sierra Madre del Sur. 10. Sierra Madre de Chiapas. 11. Plataforma de Yucatán (Ferrusquía, 1998). A = Coquimatlán, Col.; B = La Parotita, Col.; C = La Laguna, Higuera, N. León; D = San José Independencia, Oax.; E = Chapultepec, Oax.; F = Tehuantepec, Oax.; G = Jardín Botánico de Tuxtla G., Chis.; H = La Laguna Yalahau, Yuc.; I = La Laguna Escondida, Ver.; J = Lago de Catemaco, Ver.

4. 2. ESTUDIO MORFOLÓGICO

Para el estudio morfológico, se sacrificó a los helmintos agregándoles formol al 4% caliente y se conservaron en alcohol etílico al 70% hasta su tinción con colorantes de uso común en helmintología, como el paracarmín de Mayer y el tricrómico de Gomori, y se montaron en preparaciones permanentes con Bálsamo de Canadá (Lamothe, 1997).

Los helmintos se observaron con un microscopio óptico, se midieron con ayuda de un ocular micrométrico, analizando los caracteres morfológicos diagnósticos y otros que pudieran aportar información taxonómica. Para la determinación taxonómica a nivel genérico se utilizaron claves y literatura especializada (Yamaguti, 1971; 1975; Pruhoe y Bray, 1982); a nivel específico, se consultaron las descripciones originales de las especies del género y se solicitó el préstamo de ejemplares del género *Langeronia* a de las siguientes colecciones parasitológicas: Colección

Nacional de Helmintos Instituto de Biología, UNAM, México (CNHE); United States National Parasite Collection, Beltsville, Maryland, USA (USNPC), y la Colección de Helmintos, de Costa Rica (CHCR) (Tabla V).

Tabla V. Especies del género *Langeronia* depositados en algunas Colecciones Parasitológicas.

Espece	CNHE	USNPC	CHCR
<i>L. macrocirra</i>	✕	✕	✕
<i>L. provitellaria</i>		✕	
<i>L. parva</i>		✕	
<i>L. jimenezi*</i>			
<i>L. brenesi</i>		✕	
<i>L. burseyi</i>		✕	

* No fue posible consultar el material de esta especie, pero se obtuvo material procedente de una localidad aledaña a la localidad tipo en el estado de Nuevo León.

El material se fijó en formol al 4% para ser examinado mediante microscopía electrónica de barrido (MEB), posteriormente se trató con tetraóxido de Osmio al 2% durante tres horas, a 4°C, lavando tres veces en buffer de fosfatos (pH 7,3), la primera durante una hora y las restantes, media hora cada una. Los tremátodos se deshidrataron a través de series graduales de alcohol etílico, donde permanecieron hasta su desecación con CO₂ a punto crítico. Las muestras fueron montadas en placas de plata, cubiertas de oro y se examinaron en un microscopio electrónico Hitachi Stereoscan SEM Model S-2469N (15 kV).

Se estudió la variación en algunas poblaciones del género *Langeronia*, utilizando los datos de la morfometría. Se aplicó un análisis de componentes principales en el programa Statistica versión 4.5., se obtuvieron los coeficientes de correlación entre los distintos caracteres para los tipos morfológicos previamente identificados. Se obtuvieron los valores propios (eigenvalores) para los tres primeros componentes principales (CP) y se graficaron aquellos que explicaron el mayor porcentaje de variación de los componentes.

El material helmintológico se depositó en la Colección Nacional de Helmintos del Instituto de Biología (CNHE), con los números de catálogo: 4631,4632, 4874-4885, 4891-4896.

4.3. ESTUDIO MOLECULAR

Previo a la extracción de DNA, se realizó un estudio morfológico de cada ejemplar para asignarlo a alguna de las especies descritas.

Para su estudio molecular, los ejemplares se colocaron en alcohol etílico absoluto, para la subsecuente extracción, amplificación y purificación del DNA genómico. Se extrajo el DNA genómico de los tremátodos, por medio de la técnica de extracción fenol/cloroformo que se describe a continuación: el tejido de los helmintos se incubó individualmente en tubos eppendorf de 2.0 ml, con proteinasa K, SDS y buffer STE, a 50°C por 3 horas. Posteriormente, el DNA se extrajo con dos cambios de fenol y uno de cloroformo: alcohol isoamílico (Hillis *et al.*, 1996).

La amplificación de la región ITS-2, se realizó utilizando los oligonucleótidos ITS-2 NEWS2 (forward) 5'-TGTGTCGATGAAGAACGCAG-3' e ITS-2 RIXO (Reverse) 5'-TTCTATGCTTAAATTCAGGGG-3' (Gasser y Hoste, 1995); y para amplificar la secuencia parcial del citocromo oxidasa subunidad 1, del DNA mitocondrial, se utilizó CO1F 5'-TTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT-3' y CO1R 5'-TAAAGAAAGAACATAATGAAAATG-3' (Bowles *et al.*, 1993), mediante la reacción en cadena de la polimerasa (Palumbi, 1996). Las condiciones de PCR fueron las siguientes para la región ITS-2: 94°C por 1 minuto, 92°C por 30 segundos, 55 °C por 30 segundos, 72° C por 1 minuto y 30 segundos, por 35 ciclos. Para CO1: 94°C por 1 minuto, 50 °C por 2 minutos, 72° C por 3 minutos, por 30 ciclos.

Al final de la PCR, los productos se visualizaron en un gel de agarosa 1% en buffer TAE.

Se purificó el DNA producto de la PCR usando el kit Quiagen QIAquick Spin purification (Quiagen Inc.) y se llevó a cabo la reacción de secuencia cíclica (Murray, 1989; Craxton, 1991) para obtener las secuencias de nucleótidos. Este utiliza el método de secuenciación de dideoxinucleótido (Sanger *et al.*, 1977); en esta reacción, cada uno de los nucleótidos está marcado con fluorescencia de diferente color, de modo que la terminación de cada fragmento se detectó con un secuenciador automático marca Perkin- Elmer modelo 310 Genetic Analyzer.

Las secuencias obtenidas de los helmintos se editaron en el programa Bioedit versión 5.0.0 (Hall, 2001) y alinearon usando el programa computacional Clustal W (Thompson *et al.*, 1994) integrado en el mismo. Se calculó el porcentaje de divergencia de las secuencias entre cada muestra y se elaboró una matriz de similitud utilizando el programa PAUP versión 4.0b8 (Swofford, 1998), la cual fue de utilidad para delimitar a las especies del género en México. Para ambas regiones se realizaron análisis bajo el criterio de máxima parsimonia (MP), con una búsqueda Branch and Bound (todos los caracteres desordenados, con igual peso) y para evaluar el soporte de ramas se aplicó una prueba de Bootstrap con 1000 réplicas, utilizando el programa PAUP* 4.0b8 (Swofford, 1998) y se calculó el índice Bremer (Bremer, 1988).

La señal filogenética de los datos fue evaluada utilizando el valor estadístico g_1 calculado para el conjunto de datos, que se comparó con el valor crítico para datos al azar ($g = 0.09$, $p = 0.01$) considerando 25 taxones y 500 caracteres con cuatro estados de carácter (Hillis y Huelsenbeck, 1992).

A partir del análisis filogenético del género, se asoció a cada taxón terminal con la provincia morfotéctica de su procedencia de acuerdo con la división de la República Mexicana sugerida por Ferrusquía (1998).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. REGISTROS

De noviembre de 1998 a marzo del 2003, se realizaron recolectas en 10 localidades en los estados de Yucatán, Chiapas, Veracruz, Oaxaca, Colima y Nuevo León. Se obtuvieron 763 helmintos a partir de 7 especies de anuros (Tabla VI). Se presentan 8 registros nuevos de localidad y 3 de hospedero. En la figura 3 se señala la ubicación de las localidades de recolecta con la división morfotéctica propuesta por Ferrusquía (1998) como referencia.

5.2. ANÁLISIS MORFOLÓGICO

Morfológicamente se distinguieron tres tipos, que de manera general, corresponden a *L. macrocirra*, *L. jimenezi* y *L. parva*, sin embargo muestran una gran variación en los caracteres diagnósticos (tabla VI; ver apéndice 3).

Los tipos identificados (*sensu stricto*) se caracterizan por presentar: 1) (*L. cf. macrocirra*) prefaringe ausente, esófago corto, poro genital cecal, el acetábulo ecuatorial, las glándulas vitelógenas se distribuyen desde la bifurcación hasta la mitad de la longitud cecal; 2) (*L. cf. jimenezi*) prefaringe presente, esófago corto, poro genital intracecal, el acetábulo es ligeramente postecuatorial, glándulas vitelógenas se distribuyen desde la mitad de la longitud de la faringe hasta la mitad de la longitud cecal, y 3) (*L. cf. parva*) prefaringe presente, esófago largo, poro genital cecal, el acetábulo es ligeramente postecuatorial, las glándulas vitelógenas se distribuyen desde la mitad o tres cuartas partes de la longitud del esófago hasta la mitad de la longitud cecal.

Tabla VI. Morfotipos, hospederos y localidades de recolecta de *Langeronia* sp.

Morfotipos	Hospedero	Localidad	Estado
<i>L. macrocirra</i>	<i>Rana vaillanti</i>	Laguna Escondida	Veracruz
		Laguna Yalahau	Yucatán
	<i>Rana brownorum</i>	Laguna Yalahau	Yucatán
		Jardín Botánico, Tuxtla Gutiérrez	Chiapas
	<i>Rana berlandieri</i>	Laguna Higueras	Nuevo León
	<i>Rana</i> sp. °	Tehuantepec	Oaxaca
		La Parotita	Colima
	<i>Rana</i> sp. "forma colima" °	Coquimatlán	Colima
<i>Bufo marinus</i>	Lago de Catemaco	Veracruz	
	Coquimatlán	Colima	
<i>L. parva</i>	<i>Rana vaillanti</i>	Laguna Escondida	Veracruz
		San José Independencia	Oaxaca
		Chapultepec	Oaxaca
	<i>Rana brownorum</i>	Laguna Yalahau	Yucatán
		Laguna Yalahau	Yucatán
		Coquimatlán	Colima
<i>L. jimenezi</i>	<i>Rana vaillanti</i>	Laguna Yalahau	Yucatán
	<i>Rana brownorum</i>	Laguna Yalahau	Yucatán
	<i>Rana brownorum</i>	Jardín Botánico, Tuxtla Gutiérrez	Chiapas
	<i>Rana</i> sp. °	Tehuantepec	Oaxaca
	<i>Rana</i> sp. "forma colima" °	Coquimatlán	Colima
	<i>Bufo marinus</i>	Lago de Catemaco	Veracruz
		Río Tehuantepec	Oaxaca
Coquimatlán		Colima	
Laguna Higueras		Nuevo León	

° Consultar el trabajo de Zaldivar-Riverón *et al.* (2004), para la identidad de estas especies de ranas.

Considerando la variación observada en los caracteres estudiados, se realizó un análisis de componentes principales (ACP), con la finalidad de determinar si las diferencias morfológicas observadas en estos lecitodéndridos representan en efecto grupos taxonómicos separados o son producto de la variación intraespecífica. Algunos de los caracteres cualitativos fueron traducidos a medidas para incluirlos en el análisis. Tal fue el caso de la distribución de las glándulas vitelógenas y la localización del poro genital, que son de importancia taxonómica para distinguir a las especies del género (figura 4). Se construyó una matriz, considerando los 30 caracteres (apéndice 3) y 134 ejemplares procedentes de siete especies de anfibios. Se aplicó el análisis multivariado por medio del análisis de componentes principales, en el programa

STATISTICA. Se obtuvieron así los valores propios (eigenvalores) para cada componente principal y se graficaron los primeros componentes, que explicaron el mayor porcentaje de variación de los caracteres morfométricos (tabla VII).

Este análisis indica que el 48.757% del total de varianza acumulada en la morfometría de estos tremátodos, comprende a los componentes principales (CP) I-II.

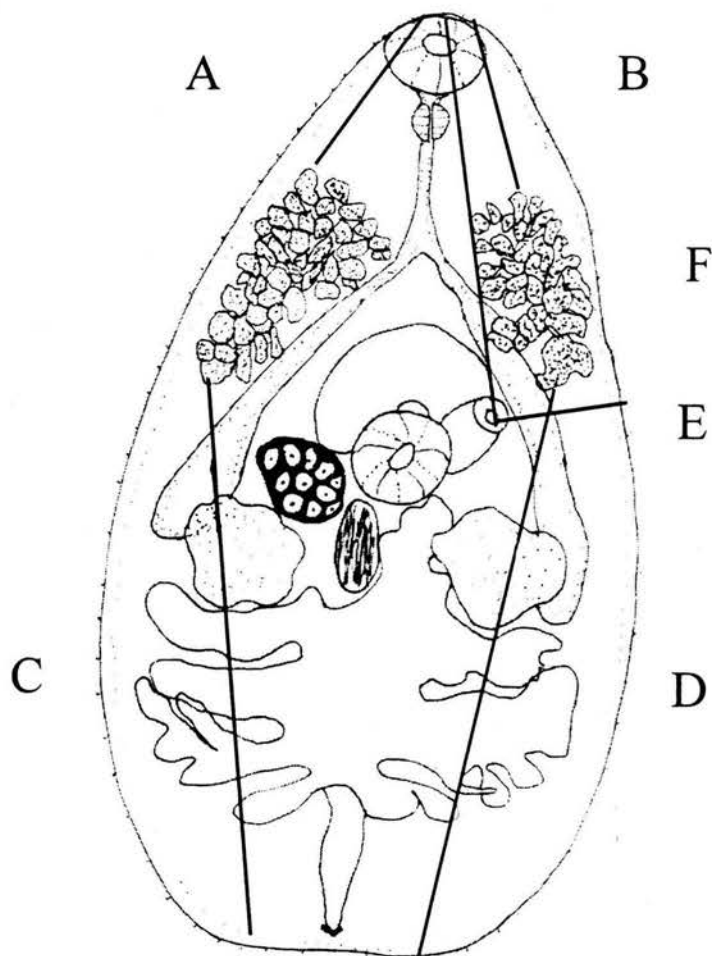


Figura 4. Caracteres expresados en medidas para el análisis morfológico. A = distancia del extremo anterior del cuerpo al límite anterior de las glándulas vitelógenas del lado derecho; B = distancia del extremo anterior del cuerpo al límite anterior de las glándulas vitelógenas del lado izquierdo; C = distancia del límite posterior de las glándulas vitelógenas al extremo posterior del cuerpo del lado derecho; D = distancia del límite posterior de las glándulas vitelógenas al extremo posterior del cuerpo del lado izquierdo; E = distancia del poro genital al borde izquierdo del cuerpo del lado izquierdo; F = distancia del poro genital hasta el extremo anterior.

Tabla VII. Valores propios para 30 caracteres morfométricos y 134 del género *Langeronia* sp., a partir de al menos seis especies de hospederos (valores para los primeros 4 componentes).

Componente	Valor propio	% total de la varianza	% acumulado
CPI	14.62722	48.75739	48.75733
CPII	3.05026	10.16754	58.92493
CPIII	1.60328	5.34426	64.26919
CPIV	1.23128	4.10428	68.37373

Se graficaron los componentes I y II, los cuales explicaron la mayor cantidad de variación de los caracteres morfométricos para los tres tipos morfológicos (figura 5).

La distribución continua de los puntos en la gráfica indican que los tipos morfológicos forman un solo grupo taxonómico (*sensu lato*), se observa un solapamiento parcial de los polígonos que corresponden a cada tipo morfológico. Las diferencias arrojadas de este análisis indican la existencia de variación intraespecífica de una especie del género, *Langeronia macrocirra* (especie tipo).

Así mismo, se observa que tampoco existe un agrupamiento que esté correlacionado con el hospedero de procedencia, por lo que podemos decir que las variaciones observadas tampoco son producidas por la influencia del hospedero (Figura 5).

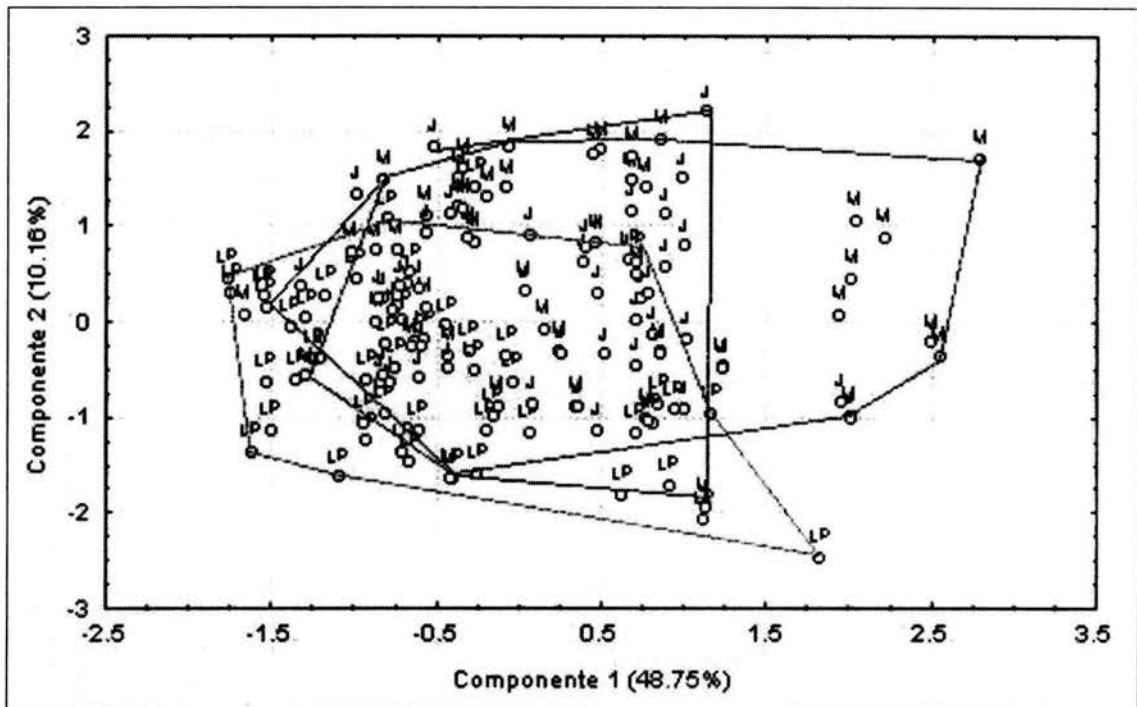


Figura 5. Análisis de componentes principales de tres tipos morfológicos del género *Langeronia*, procedentes de 9 localidades y parásitas de al menos seis especies de anfibios en México; P = *Langeronia* cf. *parva*; M = *Langeronia* cf. *macrocirra*; J = *Langeronia* cf. *jimenezi*. Los ejemplares de cada morfotipo son encerrados en polígonos o se unen mediante una línea recta.

Se ha observado que la combinación de las técnicas moleculares y morfológicas permite detectar especies s o crípticas (Blouin, 2002), además de reflejar la complejidad del proceso de especiación (Blair, 2000).

De aquí la importancia de la utilización de una fuente independiente de caracteres, que son las secuencias de DNA, para corroborar o refutar la evidencia morfológica.

5.3. ANÁLISIS MOLECULAR

5.3.1 SECUENCIAS

Se tomaron representantes de cada tipo morfológico de cada localidad (más una localidad de Costa Rica) y de cada hospedero para la extracción de DNA (tabla VIII).

Se obtuvieron secuencias de individuos recolectados en 9 localidades de los estados de Veracruz, Colima, Oaxaca, Chiapas, Yucatán y Nuevo León y 1 localidad de Costa Rica.

Se amplificó y secuenció la región ITS2 del rDNA de 19 individuos (tabla VIII). La alineación resultante fue de 235pb (apéndice 1, figura 6).

Los tres morfotipos de la región ITS-2, presentan secuencias idénticas de ITS-2 y hasta con el 0.042% de divergencia nucleotídica entre las diferentes poblaciones del género analizadas. Se obtuvo hasta el 18.03% de divergencia nucleotídica máxima con respecto del grupo externo (*Brenesia chabaudi*). Las secuencias de la región ITS-2 del rDNA, están muy conservadas en este género y no aportan información suficiente a este nivel taxonómico (tabla IX).

En comparación con estudios previos en tremátodos en donde se ha utilizado esta región del rDNA (Alard *et al.*, 1993; Deprès *et al.*, 1995; Jousson *et al.*, 1998; León-Régagnon *et al.*, 1999; Luton *et al.*, 1992), se podría considerar que las diferencias genéticas observadas, corresponden a la variación intraespecífica de una sola especie del género, que en este caso correspondería a *L. macrocirra*, que es la especie tipo del género. Sin embargo, la tasa de variación de una región de DNA puede variar de un grupo a otro y es probable que el ITS-2 en este grupo no aporte información a nivel específico. Es por esta razón que consideramos necesario obtener información a partir de un gen mitocondrial cuya tasa de variación es más alta.

Se amplificó y secuenció el gen COI del mtDNA de 26 individuos (tabla VIII). La alineación resultante fue de 366pb (apéndice 2, figura 7).

Las secuencias del gen CO1, presentan un 21.85% de divergencia nucleotídica máxima con respecto del grupo externo. Se obtuvieron secuencias idénticas y hasta con el 9.01% de divergencia nucleotídica entre las diferentes poblaciones del género analizadas. Entre una misma población, se obtuvieron secuencias que fueron idénticas y hasta con el 0.05% de divergencia (Tabla X).

La variación observada con respecto del grupo externo (miembro de otra subfamilia) equivale a las diferencias registradas entre especies del mismo género en otros grupos de tremátodos (Agatsuma *et al.*, 2000; Bell *et al.*, 2001; Blair, 2000; Iwagami *et al.*, 2000; Van Herwerden *et al.*, 1999).

Tabla VIII. Material procesado para secuenciación. Se indica el hospedero y la localidad de cada muestra.

Tipo morfológico	Acrónimos	Hospedero	Localidad	número de secuencias		
				ITS-2	CO1	
<i>L. macrocirra</i>	LN9	<i>Rana vaillanti</i>	Laguna Escondida, Veracruz	1	1	
	LN13, LN5	<i>Bufo marinus</i>	Lago de Catemaco, Veracruz	0	1	
	LN15	<i>Bufo marinus</i>	Coquimatlán, Colima	1	1	
	LN17	<i>Rana brownorum</i>	Jardín Botánico, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas	1	1	
	LN30	<i>Rana berlandieri</i>	La Laguna, Higuera, Nuevo León	0	1	
	LN27	<i>Rana vaillanti</i>	Guanacaste, Costa Rica	1	1	
<i>L. parva</i>	LN8, LN10	<i>Rana vaillanti</i>	Laguna Escondida, Veracruz	2	1	
	LN19, LN20, LN23	<i>Rana vaillanti</i>	San José Independencia, Oaxaca	3	3	
	LN38, LN22	<i>Rana vaillanti</i>	Chapultepec, Oaxaca	1	2	
	LN18	<i>Rana sp. "forma Colima"</i> ^o	Coquimatlán, Colima	1	1	
	LN37	<i>Rana vaillanti</i>	Laguna Yalahau, Yucatán	0	1	
	<i>L. jimenezi</i>	LN6, LN16, LN24, LN25, LN26	<i>Bufo marinus</i>	Lago de Catemaco, Veracruz	6	4
LN21		<i>Bufo marinus</i>	Coquimatlán, Colima	1	1	
LN39		<i>Rana brownorum</i>	Jardín Botánico Tuxtla Gutiérrez, Chiapas	0	1	
LN32		<i>Rana brownorum</i>	Laguna Yalahau, Yucatán	0	1	
LN34		<i>Rana vaillanti</i>	Laguna Yalahau, Yucatán	0	1	
LN35, LN36		<i>Bufo marinus</i>	Río Tehuantepec, Oaxaca	0	2	
LN31		<i>Bufo marinus</i>	La Laguna, Higuera, Nuevo León	0	1	
<i>Brenesia chabaudi</i>		LN28X	<i>Rana vaillanti</i>	Guanacaste, Costa Rica*	1	1
Total de secuencias				19	26	

* Para la reconstrucción filogenética de las poblaciones en estudio, se definió a *Brenesia chabaudi*, como grupo externo (Caballero y Caballero, 1969).

^o Consultar el trabajo de Zaldivar-Riverón *et al.* (2004), para la identidad de esta especie de rana.

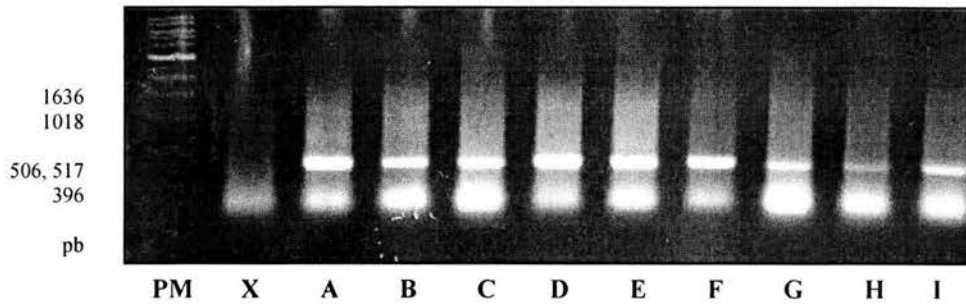


Figura 6. Fragmento amplificado por PCR de la región ITS-2 del rDNA para *Langeronia* sp., en un gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio; procedentes de A) *Bufo marinus*, B) *Rana vaillanti*, C) *Rana vaillanti*, D) *Bufo marinus*, E) *Bufo marinus*, F) *Bufo marinus*, G) *Rana vaillanti*, H) *Rana brownorum*; para *Brenesia chabaudi* procedente de I) *Rana vaillanti*. PM = Peso molecular; X = Control.

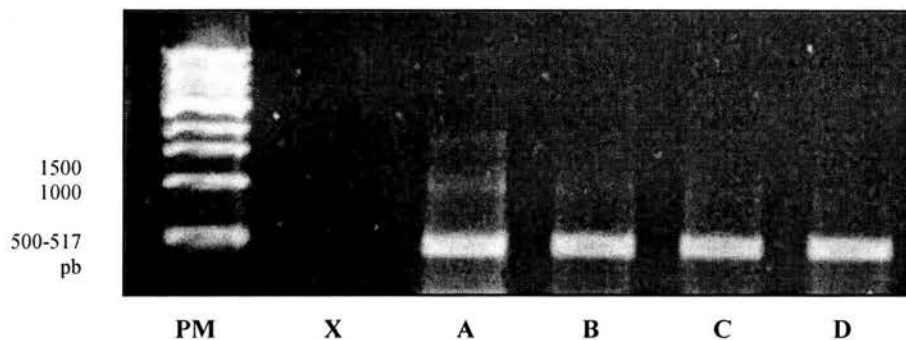


Figura 7. Fragmento amplificado por PCR de CO1 del mtDNA *Langeronia* sp., en un gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio; procedentes de A) *Rana vaillanti*, B) *Rana brownorum*, C) *Rana* sp. "forma Colima", D) *Bufo marinus*. PM = Peso molecular; X = Control.

Comparando las secuencias de los diferentes morfotipos, se obtuvieron secuencias idénticas de los tipos *L. cf. macrocirra* y *L. cf. parva*, *L. cf. macrocirra* y *L. cf. jimenezi* y de *L. cf. jimenezi* en comparación con *L. cf. parva*.

Se observó un porcentaje de divergencia máxima de 8.74 entre secuencias del mismo morfotipo y de 9.01 entre secuencias de diferentes morfotipos (e.g. *L. cf. parva* en comparación con *L. cf. jimenezi*).

La evolución rápida de las secuencias de DNA mitocondrial (*mtDNA*) ha sido usada a menudo para investigar las relaciones de las poblaciones dentro de una especie (Avise, 2000), la relación entre especies cercanamente relacionadas (Agatsuma *et al.*, 2000). También se ha utilizado para identificar (Morgan y Blair, 1998) y delimitar especies (Iwagami *et al.*, 2000; Wiens y Penkrot, 2002).

El gen mitocondrial que codifica para la proteína citocromo c oxidasa subunidad 1 (CO1), ha mostrado ser un buen marcador para discriminar especies estrechamente relacionadas de digéneos (Blair, 2000; Blair *et al.*, 1997; Bowles *et al.*, 1995). Se ha observado una variabilidad del 2.5% al 21% entre especies del mismo género (Bell *et al.*, 2001; Gasser *et al.*, 1999; Morgan y Blair, 1998).

Los porcentajes de divergencia revelan variación entre las secuencias en este gen en comparación con los resultados obtenidos de la región ITS-2. Sin embargo, estos porcentajes máximos de divergencia no son lo suficientemente excluyentes para distinguir entre los tres morfotipos previamente identificados (ver tabla X). Por lo cual, es necesario obtener un árbol de genes que ayude a la delimitación de especies (Wiens y Penkrot, 2001).

Tabla IX. Matriz de divergencia entre secuencias de la región ITS-2 del rDNA de ejemplares de *Langeronia* spp. de 7 localidades (ver acrónimos en la Tabla VIII).

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
		Ln 5	Ln 6	Ln 8	Ln 9	Ln 10	Ln 15	Ln 16	Ln 17	Ln 18	Ln 19	Ln 20	Ln 21	Ln 22	Ln 23	Ln 24	Ln 25	Ln 26	Ln 27	Ln 28X
1	Ln 5	-																		
2	Ln 6	0.00000 ¹	-																	
3	Ln 8	0.00000	0.00000	-																
4	Ln 9	0.00429 ²	0.00000	0.00000	-															
5	Ln 10	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	-														
6	Ln 15	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	-													
7	Ln 16	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	-												
8	Ln 17	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	-											
9	Ln 18	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	-										
10	Ln 19	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	-									
11	Ln 20	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	-								
12	Ln 21	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	-							
13	Ln 22	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	-						
14	Ln 23	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	-					
15	Ln 24	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	-				
16	Ln 25	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	-			
17	Ln 26	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	-		
18	Ln 27	0.00870 ³	0.00868	0.00868	0.00864	0.00868	0.00868	0.00868	0.00868	0.00866	0.00866	0.00868	0.00437	0.00866	0.00868	0.00866	0.00868	0.00868	-	
19	Ln 28X	0.17589	0.17593	0.17593	0.17634	0.17593	0.17593	0.17593	0.17593	0.17644	0.17597	0.17593	0.17268	0.17597	0.17593	0.17597	0.17593	0.17593	0.18033 ⁴	-

En negritas se muestran secuencias idénticas de un misma población¹. Valores máximos de divergencia entre secuencias de diferentes poblaciones en México². Con respecto a la población de Costa Rica³. Con respecto a *Brenesia chabaudi* (grupo externo)⁴.

Tabla X. Matriz de divergencia entre secuencias de CO1 de *mtDNA* de ejemplares de *Langeronia* spp. de 9 localidades y el grupo externo (ver acrónimos en la Tabla VIII).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	
	LN9	LN10	Ln19	LN22	Ln38	LN23	Ln20	LN13	Ln16	LN24	LN25	LN26	LN27	LN15	LN18	LN21	LN17	LN39	
1	LN9	-																	
2	LN10	0.00273	-																
3	Ln19	0.00819	0.00546	-															
4	LN22	0.00819	0.00546	0.00000	-														
5	Ln38	0.00819	0.00546	0.00000	0.00000	-													
6	LN23	0.01092	0.00819	0.00273	0.00273	0.00273	-												
7	Ln20	0.00546	0.00273	0.00273	0.00273	0.00273	0.00546¹	-											
8	LN13	0.00819	0.00546	0.00000	0.00000	0.00000	0.00273	0.00273	-										
9	Ln16	0.00819	0.00546	0.00546	0.00546	0.00546	0.00819	0.00819	0.00546	-									
10	LN24	0.00273	0.00000	0.00546	0.00546	0.00546	0.00819	0.00273	0.00546¹	0.00546	-								
11	LN25	0.00273	0.00000	0.00546	0.00546	0.00546	0.00819	0.00273	0.00546¹	0.00546	0.00000	-							
12	LN26	0.00273	0.00000	0.00546	0.00546	0.00546	0.00819	0.00273	0.00546	0.00546¹	0.00000	0.00000	-						
13	LN27	0.07377	0.07103	0.07103	0.07103	0.07103	0.07377	0.06830	0.07103	0.07650	0.07103	0.07103	0.07103	-					
14	LN15	0.08196	0.08196	0.08469	0.08469	0.08469	0.08743	0.08469	0.08469	0.08469	0.08196	0.08196	0.08196	0.07923	-				
15	LN18	0.0819	0.08196	0.08469	0.08469	0.08469	0.08743	0.08469	0.08469	0.08469	0.08196	0.08196	0.08196	0.07923	0.00000	-			
16	LN21	0.08469	0.08469	0.08743	0.08743	0.08743	0.09016¹	0.08743	0.08743	0.08743	0.08469	0.08469	0.08469	0.08196²	0.00273	0.00273	-		
17	LN17	0.08469	0.08469	0.08743	0.08743	0.08743	0.09016²	0.08743	0.08743	0.08743	0.08469	0.08469	0.08469	0.08196³	0.00273	0.00273	0.00546	-	
18	LN39	0.08196	0.08196	0.08469	0.08469	0.08469	0.08743	0.08469	0.08469	0.08469	0.08196	0.08196	0.08196	0.07923	0.00000	0.00000	0.00273	0.00273	-
19	LN32	0.07923	0.07923	0.08196	0.08196	0.08196	0.08469	0.08196	0.08196	0.08196	0.07923	0.07923	0.07923	0.08196	0.00273	0.00273	0.00546	0.00546	0.00273
20	LN31	0.07923	0.07923	0.08196	0.08196	0.08196	0.08469	0.08196	0.08196	0.08196	0.07923	0.07923	0.07923	0.08196	0.00273	0.00273	0.00546	0.00546	0.00273
21	LN30	0.08196	0.08196	0.08469	0.08469	0.08469	0.08743	0.08469	0.08469	0.08469	0.08196	0.08196	0.08196	0.07923	0.00000	0.00000	0.00273	0.00273	0.00000
22	LN34	0.08196	0.08196	0.08469	0.08469	0.08469	0.08743	0.08469	0.08469	0.08469	0.08196	0.08196	0.08196	0.07923	0.00000	0.00000	0.00273	0.00273	0.00000
23	LN37	0.08196	0.08196	0.08469	0.08469	0.08469	0.08743	0.08469	0.08469	0.08469	0.08196	0.08196	0.08196	0.07923	0.00000	0.00000	0.00273	0.00273	0.00000
24	Ln35	0.08196	0.08196	0.08469	0.08469	0.08469	0.08743	0.08469	0.08469	0.08469	0.08196	0.08196	0.08196	0.07923	0.00000	0.00000	0.00273	0.00273	0.00000
25	LN36	0.08196	0.08196	0.08469	0.08469	0.08469	0.08743	0.08469	0.08469	0.08469	0.08196	0.08196	0.08196	0.07923	0.00000	0.00000	0.00273	0.00273	0.00000
26	LN28x	0.21311	0.21038	0.21311	0.21311	0.21311	0.21584⁴	0.21311	0.21311	0.21311	0.21038	0.21038	0.21038	0.21857⁵	0.21038	0.21038	0.21311	0.21311	0.21038

	19	20	21	22	23	24	25	26
	LN32	LN31	LN30	LN34	LN37	Ln35	LN36	LN28x
18	LN39							
19	LN32	-						
20	LN31	0.00000	-					
21	LN30	0.00273	0.00273	-				
22	LN34	0.00273	0.00273	0.00000	-			
23	LN37	0.00273	0.00273	0.00000	0.00000	-		
24	Ln35	0.00273	0.00273	0.00000	0.00000	0.00000	-	
25	LN36	0.00273	0.00273	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	-
26	LN28x	0.20765	0.20765	0.21038	0.21038	0.21038	0.21038	0.21038

En negritas se muestran los valores máximos de divergencia entre una misma población¹; entre secuencias de diferentes poblaciones en México²; con respecto a la población de Costa Rica³; la población de Guanacaste con respecto a *Brenesia chabaudi* (grupo externo)⁴; *B. chabaudi* con respecto a las poblaciones Mexicanas⁵.

5.4. RELACIONES FILOGENÉTICAS

Del análisis de parsimonia de las secuencias de la región ITS-2 del rDNA, se obtuvieron 100 árboles igualmente parsimoniosos (193 sitios fueron constantes, 42 caracteres variables y 0 caracteres informativos). El bajo grado de divergencia observado en las secuencias de la región ITS-2 no aporta resolución alguna a los árboles, obteniéndose una politomía completa en el árbol de consenso estricto (tabla IX y figura 8).

Las secuencias del gen mitocondrial CO1 mostraron señal filogenética significativa ($g1 = -0.214$, $p = 0.01$). Del análisis de parsimonia se obtuvieron 16 árboles igualmente parsimoniosos (270 sitios fueron constantes, 63 caracteres variables y 33 caracteres informativos), con una longitud de 123 pasos y un CI de 0.927 (RI= 0.974, RC= 0.903). El árbol de consenso estricto con valores de bootstrap e índice de Bremer se muestra en la figura 9.

En el árbol de consenso obtenido a partir de las secuencias del gen CO1 del *mtDNA*, se observan tres grupos, dos formados por poblaciones mexicanas y un tercero formado por la población de Costa Rica. Todos ellos están apoyados por los altos porcentajes de divergencia (tabla X, figura 10).

Se aprecian dos clados mexicanos, que están soportados por altos valores en el análisis de MP (ver figura 9). Dentro de uno de ellos, existe un subgrupo que no está bien soportado y que está constituido por muestras de Laguna Yalahau, Yucatán y Laguna Higuera, Nuevo León. Dentro de cada uno de los clados de poblaciones mexicanas se presentan secuencias idénticas y hasta con el 1.09% y 0.27% máximo de divergencia, respectivamente. Entre ambos grupos el porcentaje de divergencia va del 7.92% al 9.01%.

Estos grupos, no coinciden con los tipos morfológicos identificados con la taxonomía tradicional (dos de los clados principales incluyen muestras de los tres tipos morfológicos diferenciados originalmente), ni por el hospedero de procedencia.

El primer grupo, al que llamaremos grupo A (figura 9) incluye poblaciones distribuidas en la Planicie Costera del Golfo y la Sierra Madre del Sur en la subprovincia de las cuevas nororientales (Ferrusquía, 1998). El segundo grupo al que llamaremos B (figura 9), incluye poblaciones de la Sierra Madre Oriental, Sierra Madre del Sur en sus límites con la Faja Volcánica Transmexicana, la Sierra Madre del Sur en la subprovincia de la Planicie Costera del Pacífico, la Sierra Madre de Chiapas y la Plataforma de Yucatán. El último clado al que llamaremos C, incluye únicamente a la muestra proveniente de Costa Rica (figura 9).

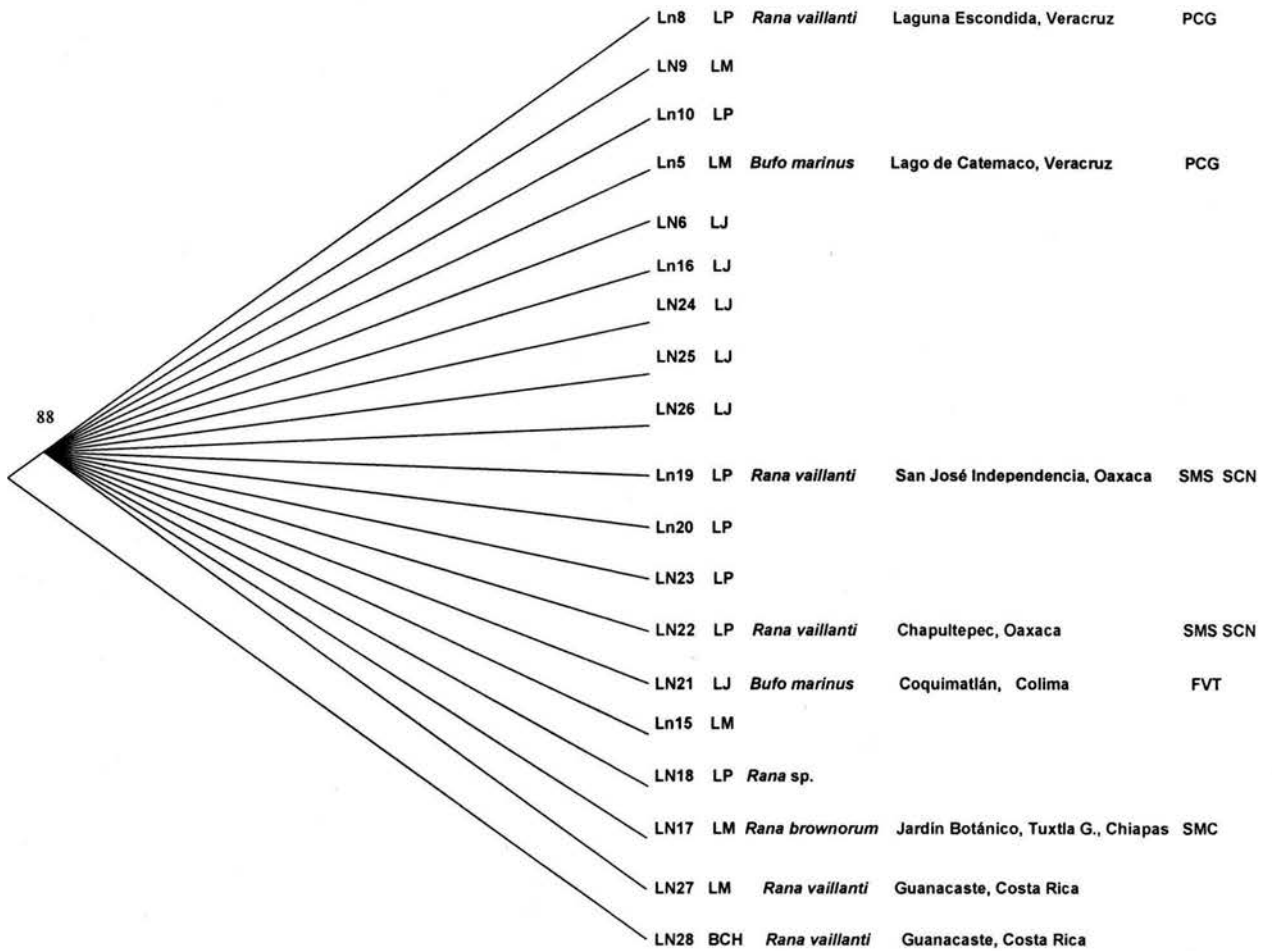


Figura 8. Árbol de consenso estricto, basado en secuencias de la región ITS-2 del *rDNA*. LM = *Langeronia* tipo *macrocirra*; LP = *Langeronia* tipo *parva*; LJ = *Langeronia* tipo *jimenezi*; BCH = *Brenesia chabaudi* (grupo externo). Provincias morfotectónicas de México: PCG = Planicie Costera del Golfo; FVT = Límites entre Faja Volcánica Transmexicana y la Sierra Madre del Sur; SMS = Sierra Madre del Sur; SMC = Límites entre la Sierra Madre del Sur y Sierra Madre de Chiapas. Subprovincias: SCN = Subprovincia de las Cuestas Nororientales (Ferrusquía, 1998). El número por encima de las ramas indica el valor en porcentaje para una prueba de bootstrap (1000 replicas).

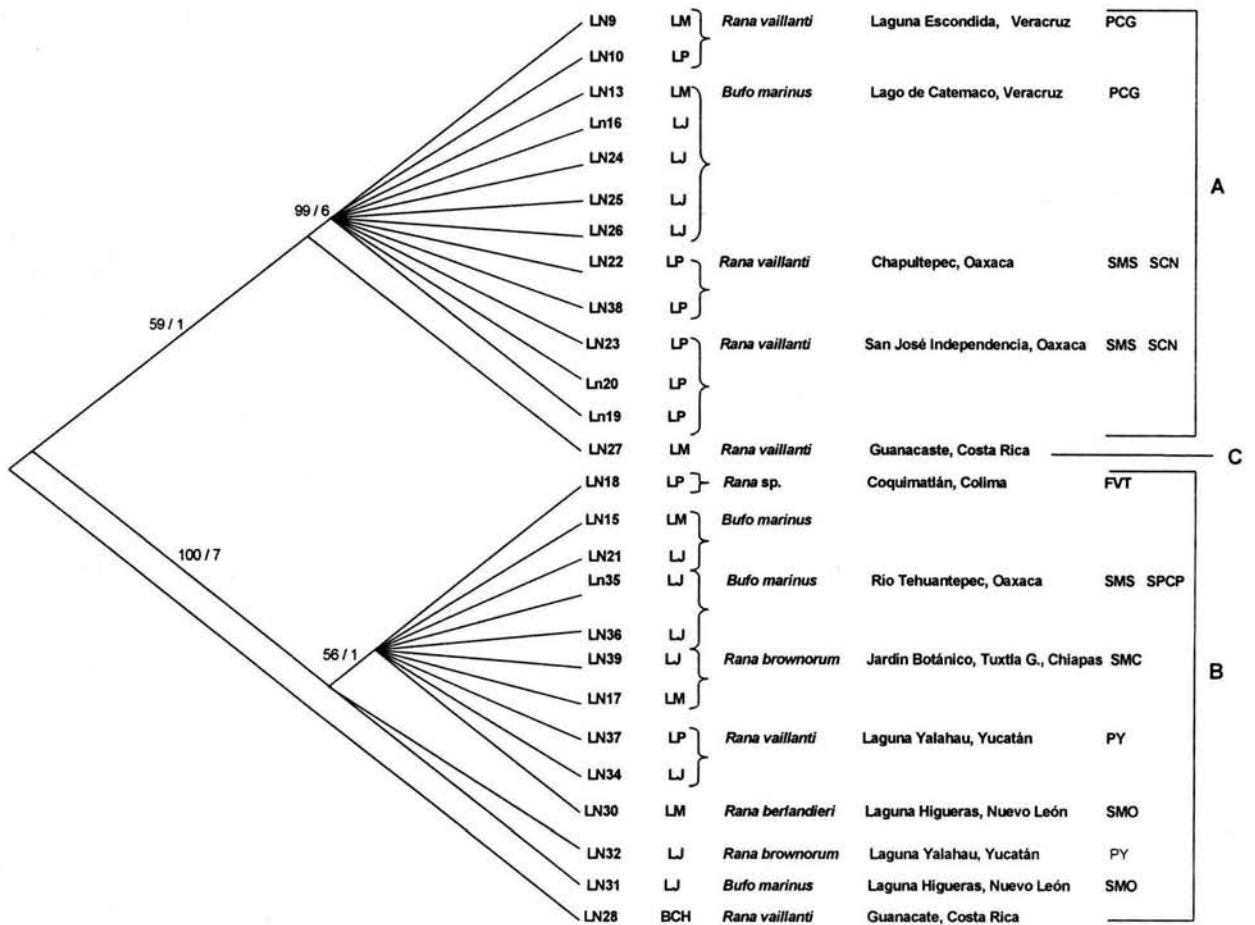


Figura 9. Consenso estricto de 16 árboles igualmente parsimoniosos de *Langeronia* spp., de 9 localidades en México y 1 de Costa Rica, basado en secuencias de nucleótidos de CO1 del *mtDNA* (CI = 0.926, 123 pasos, IR = 0.974, RC = 0.903). LM = *Langeronia* tipo *macrocirra*; LP = *Langeronia* tipo *parva*; LJ = *Langeronia* tipo *jimenezii*; BCH = *Brenesia chabaudi* (grupo externo). Provincias morfotectónicas de México: SMO = Sierra Madre Oriental; PCG = Planicie Costera del Golfo; FVT = Límites entre la Faja Volcánica Transmexicana y la Sierra Madre del Sur; SMS = Sierra Madre del Sur; SMC = Límites entre la Sierra Madre del Sur y Sierra Madre de Chiapas; PY = Plataforma de Yucatán. Subprovincias: SCN = Subprovincia de las Cuestas Nororientales; SPCP = Subprovincia de la Planicie Costera del Pacífico (Ferrusquía, 1998). A, B y C = Clados. Los números por encima de las ramas indican el valor en porcentaje para una prueba de Bootstrap (1000 replicas) y el índice de Bremer a la derecha.

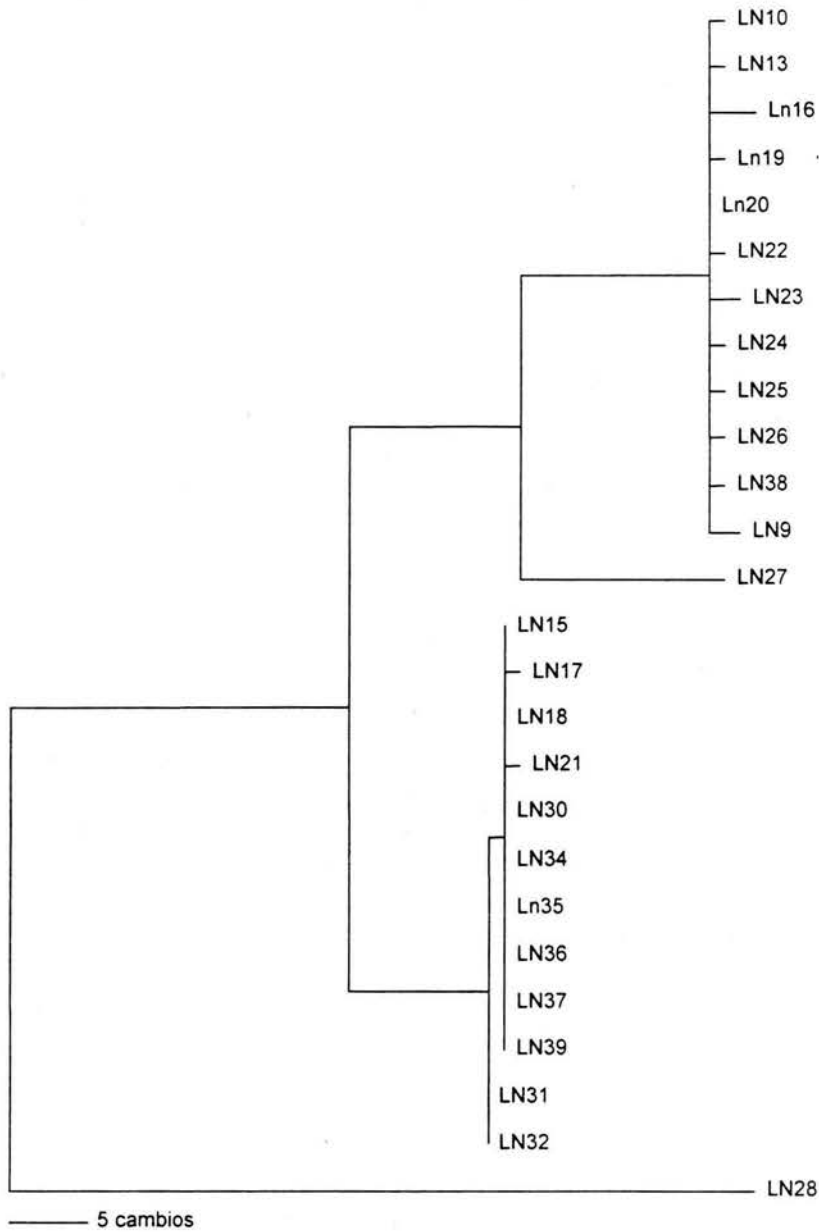


Figura 10. Consenso estricto de 16 árboles igualmente parsimoniosos mostrando la longitud de las ramas de *Langeronia* spp., de 9 localidades en México y 1 de Costa Rica, basado en secuencias de nucleótidos de CO1 del *mtDNA* (CI = 0.926, 123 pasos, IR = 0.974, RC = 0.903) (ver acrónimos en Tabla VIII).

La muestra de Costa Rica se separa en un clado independiente. En el análisis presenta afinidad filogenética con el grupo A, sin embargo lo hace con un valor muy bajo de soporte (ver figura 9). Esta muestra presenta un porcentaje de divergencia máxima del 7.37% con respecto del clado A y del 8.19% con respecto del Clado B. La longitud de las ramas del análisis de MP sustenta que éste sea independiente de los otros dos grupos, sin embargo, para definir con mayor respaldo sus afinidades, se requieren más secuencias de éste y otros tipos morfológicos en Costa Rica y en otras localidades del sur de México.

La delimitación de especies ha sido un tema fundamental en sistemática y se ha abordado desde diferentes enfoques. El reconocimiento de especies no es una tarea sencilla; para ello se requiere tener cierto grado de conocimiento sobre el grupo, además es necesario centrar la atención sobre los diferentes conceptos de "especie" (por ejemplo, el concepto biológico [ausencia de entrecruzamiento], el cladista o evolutivo [reconocimiento de linajes] y el filogenético [basados en la existencia de pequeños grupos diagnosticables de organismos dentro de los cuales hay un patrón parental de ancestría y descendencia]), mismos que se han aplicado dependiendo del tipo de estudio y los objetivos que éste persigue; sin embargo ningún concepto es universal.

Para establecer los límites entre las especies en el presente trabajo, se adoptó el concepto evolutivo de especie (Wiley, 1981), que lo define como "Es un linaje único de poblaciones ancestro-descendientes que mantienen su identidad respecto a otros linajes y tiene sus propias tendencias evolutivas y destino histórico".

Por otro lado, la existencia de especies crípticas o complejos de especies no es extraordinaria en helmintos (Anderson *et al.*, 1998). Según la base de datos del CAB (Commonwealth Agricultura Bureau, 1973-1999), hay 94 casos de especiación críptica y 74 casos de complejos de especies en helmintos (Leignel *et al.*, 2002).

Wiens y Penkrot (2002) proponen que es necesaria la congruencia de tres condiciones para diferenciar irrefutablemente a las especies. Las tres condiciones que deberían coincidir son, en primer lugar, un árbol basado en datos moleculares; en segundo lugar, un árbol basado en datos morfológicos; y por último, la existencia de caracteres morfológicos que diagnostiquen a las especies. En ocasiones, en el árbol de genes, pueden identificarse linajes bien soportados que además son concordantes con la geografía. Sin embargo, en ocasiones esta congruencia entre las tres aproximaciones no llega a presentarse por completo.

En el análisis de las secuencias parciales de CO1, se encontró, la existencia de 3 grupos del género *Langeronia* (figuras 9 y 10), que no presentan una concordancia con su distribución

geográfica (solamente el clado A, presenta una concordancia geográfica parcial), ni tampoco con los grupos morfológicos identificados con la taxonomía actual.

Analizando nuestros resultados, se observa que existe un alto porcentaje de divergencia entre los tres grupos, que llega hasta el 9.01%, entre el grupo A y el grupo B.

El gen mitocondrial que codifica para la proteína citocromo c oxidasa subunidad 1 (CO1), ha mostrado ser un buen marcador para discriminar especies estrechamente relacionadas de digéneos. Se ha observado que varía entre el 2.5 % y 21% entre especies de los géneros *Ichthyocotylurus*, *Echinostoma* y *Schistosoma* (Bell *et al.*, 2001; Bowles *et al.*, 1993; Morgan y Blair, 1998); y hasta el 0.8% entre individuos de una misma especie del género *Echinostoma* (Morgan y Blair, 1998). A partir de lo anterior, se podría considerar que las diferencias genéticas observadas son suficientes para identificar tres especies del género *Langeronia*, en el material examinado.

Por otro lado, si consideramos que los clados obtenidos en el análisis con las secuencias de CO1 del *mtDNA* no se ven apoyados por las características morfológicas y solamente hay una concordancia geográfica parcial en el clado A, no es posible en este punto asegurar que cada uno constituye una especie evolutiva. Para poder afirmarlo con cierto grado de confianza, sería necesario corroborar con otros caracteres moleculares que dieran respaldo y probablemente mayor resolución a estos datos.

La delimitación de tres grupos con base en las secuencias parciales del gen CO1 y no por tipos morfológicos, sugiere la existencia de una reciente introgresión de *mtDNA* (hibridación) o una retención de polimorfismos ancestrales entre los grupos (la presencia de al menos un haplotipo común en cada clado y dentro de cada uno, bajos porcentajes de divergencia nucleotídica). Esto se ha observado claramente en otros grupos, como en vertebrados (Avice, 2000; Fausser *et al.*, 2002; Young, 1998), sin embargo, se ha explorado poco en invertebrados (Agatsuma *et al.*, 2000, Tchuem *et al.*, 1997).

Hasta el momento es difícil con el poco conocimiento que se tiene del género en cuanto a su distribución, ciclo de vida (hospederos que parasitan) y principalmente su variabilidad morfológica intraespecífica, determinar con certeza cuáles procesos han intervenido en la historia evolutiva del género para producir el patrón observado.

La introgresión de *mtDNA* es común en especies simpátricas de un género (Howard y Berlocher, 1998; Wahlberg *et al.*, 2003). Los tipos morfológicos que corresponden con las descripciones originales de tres especies del género *Langeronia*, se encuentran en simpatria (al menos dos tipos por localidad), inclusive parasitando la misma especie de hospedero (tabla VI), lo cual podría favorecer la introgresión de *mtDNA* entre ellos. *Langeronia* cf. *macrocirra* y

Langeronia cf. *jimenezi*, presentan una mayor coincidencia en una misma especie de hospedero en las localidades examinadas (ver tabla VI). Por su parte, la distribución de *Langeronia* cf. *parva* está sobrelapada en menor proporción con la de las otras formas.

También es evidencia de introgresión de *mtDNA* entre especies, la presencia de polimorfismos. Este fenómeno se ha documentado en otros tremátodos como en *Fasciola* (Kruger y Hamilton, 1988; Tchuem *et al.*, 1997) y en *Schistosoma* (Frandsen, 1978; Kruger, 1990; Rollinson *et al.*, 1986); se considera que éste fenómeno pueden ocurrir en especies que recientemente se han separado una de la otra (Agatsuma *et al.*, 2000).

Esta evidencia podría explicar la variación de la forma y tamaño de las espinas tegumentarias dentro de un mismo tipo morfológico analizado mediante el estudio de MEB de *Langeronia* (ver más adelante figura 15) y de otras características.

En cuanto a *Langeronia* cf. *parva*, en la mayor parte de las localidades, presentó un menor tamaño corporal en comparación con los otros dos tipos morfológicos. Esto aunado a la escasez de huevos dentro de las asas uterinas, suponemos que estamos tratando con un tremátodo de reciente ingreso al hospedero definitivo, sin embargo, esto es solo una suposición, y únicamente podemos corroborarlo al completar el ciclo de vida de este tipo morfológico y al efectuar estudios moleculares que corroboren la identidad específica del tremátodo, así como de las otras especies del género. Este comentario se sustenta además de los datos morfológicos, por los bajos porcentajes de divergencia entre este tipo morfológico con respecto de *Langeronia macrocirra* o con *L. jimenezi* (ver tabla Tabla X).

Una alternativa para explicar el patrón observado sería una combinación de esos procesos. Las poblaciones pudieron divergir reteniendo polimorfismos ancestrales, lo cual se puede observar claramente al encontrar al menos un haplotipo común en varias de las localidades de cada uno de los clados y bajos porcentajes de divergencia nucleotídica dentro de ellos. Por otro lado los clados no están sustentados por caracteres morfológicos exclusivos posiblemente debidos a la introgresión de *mtDNA* entre estos, lo cual se ve reflejado por el polimorfismo morfológico en todos los clados. Estos fenómenos se han observado en otros organismos (Avisé, 2000; Masta *et al.*, 2002; Schroth *et al.*, 2002; Whalberg *et al.*, 2003; Young, 1998).

La distribución geográfica y la diferenciación genética entre las poblaciones del género *Langeronia* estudiadas en el presente trabajo, presentan características descritas para la categoría filogeográfica I ("árbol genético profundo") (Avisé, 2000). Esta categoría filogeográfica se caracteriza por una discontinuidad filogenética y espacial, en la que los haplogrupos están separados por distancias mutacionales relativamente altas y distancias

genéticas que distinguen haplotipos alopátridos en el árbol de genes. Nuestros datos presentan en México dos haplogrupos espacialmente delimitados (Clado A y Clado B) y separados por distancias genéticas considerables (entre un 7.92% al 9.01% de divergencia). Este patrón es común en taxones ampliamente distribuidos, que presentan una dispersión y flujo génicos bajos (Avice, 2000). Sin embargo, no hay una clara estructura geográfica en los clados.

El clado A incluye la Planicie Costera del Golfo (sur) y la vertiente oriental de la Sierra Madre del Sur (Figura 11). Por su parte, el clado B, incluye tres regiones alopátridas, la primera se encuentra en la Sierra Madre Oriental (Figura 11, B1), la segunda comprende la provincia de la Sierra Madre del Sur en sus límites con la Faja Volcánica Transmexicana, la Sierra Madre del Sur en la subprovincia de la Planicie Costera del Pacífico y parte de la Sierra Madre de Chiapas (Figura 11, B2) y la tercera comprende la plataforma de Yucatán (Figura 11, B3).

El límite de la distribución del clado A, coincide hacia el norte con el de varios grupos de anfibios (Mulcahy y Mendelson, 2000; Zaldívar-Riverón *et al.*, 2004), hospederos definitivos de estos parásitos, además de algunos otros grupos de vertebrados (Pérez-Higareda y Navarro, 1980). La formación de la Faja Volcánica Transmexicana en el Mioceno tardío (Ferrari *et al.*, 2000) y la elevación del nivel del mar en este tiempo (Ewing y López, 1991) causó una división de la Planicie Costera del Golfo en una región norte y una sur en la parte central del estado de Veracruz. Estos fenómenos han sido propuestos como los causantes del evento de vicarianza que resultó en la diferenciación subsecuente de numerosos grupos (e.g. Pérez-Higareda y Navarro, 1980). Sin embargo, no podemos asumir que la distribución del Clado A de *Langeronia*, sea el resultado de un proceso de coevolución con sus hospederos, pues la distribución de muchas especies de anfibios es continua hasta la Plataforma de Yucatán y en algunos casos hasta Centro América.

En cambio, observamos que en la Península de Yucatán se distribuyen algunas poblaciones del clado B. La presencia de representantes del clado B en esta región podría explicarse por la introducción de parásitos provenientes de otras regiones, ya que no se ha observado afinidad alguna entre las otras provincias en donde está presente el clado B y la Plataforma de Yucatán.

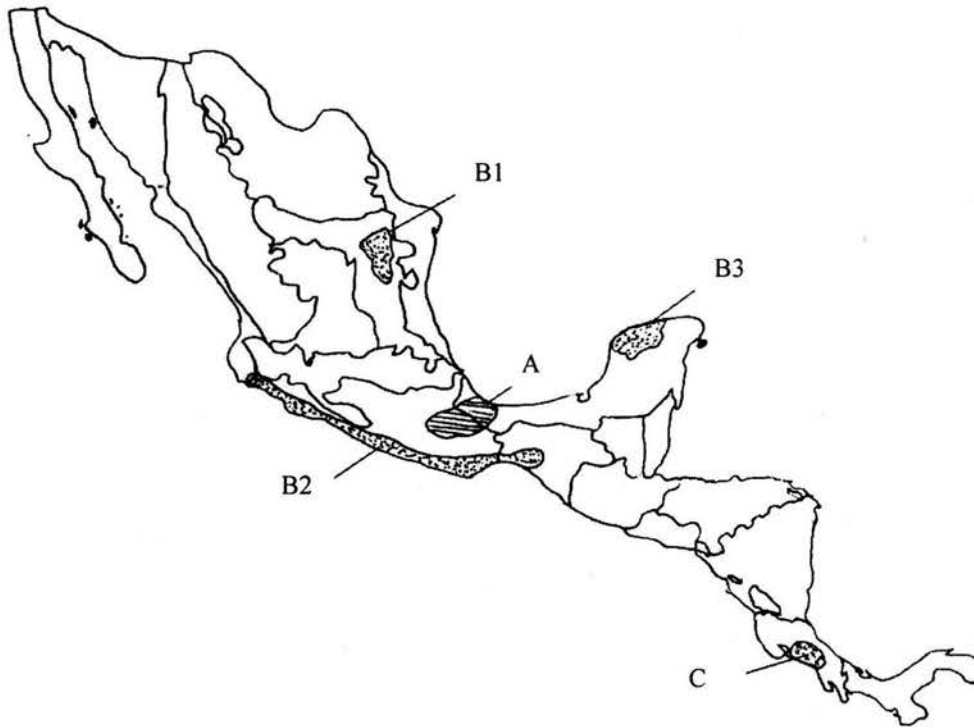


Figura 11. Distribución de los clados generados en el análisis molecular. A. Clado de la vertiente del Golfo de México; B = Clado de la Sierra Madre Oriental-Pacífico-Yucatán (B1 = Poblaciones de la Sierra Madre Oriental; B2 = Poblaciones desde los límites entre la Sierra Madre del Sur con la Faja volcánica Trasmexicana hasta la Sierra Madre de Chiapas; B3 = Poblaciones de la Plataforma de Yucatán); C = Centro América, Guanacaste, Costa Rica.

Las poblaciones del Clado B que ocupan parte de la Sierra Madre del Sur y la de la Sierra Madre de Chiapas (B2) presentan una distribución concordante con la que se ha registrado para algunos grupos de hospederos (Zaldívar-Riverón *et al.*, 2004) en la vertiente del Pacífico. Sin embargo, las afinidades de estas poblaciones con aquellas de la Sierra Madre Oriental (B1), no coinciden con lo encontrado por esos autores para los grupos de hospederos. Marshall y Liebherr (2000) al efectuar un Análisis de Parsimonia de Brooks (BPA) con numerosos grupos de insectos y vertebrados, encontraron afinidades cercanas entre la zona de endemismo que contiene la distribución de las poblaciones B1 y B2 (Sierra Transvolcánica y Sierra Madre Oriental en el estudio de Marshall y Liebherr, 2000), lo cual le brinda cierta coherencia a nuestros resultados.

Por lo anterior consideramos que los tres grupos geográficos identificados corresponden a una sola especie, *L. macrocirra* (especie tipo). Sin embargo, es necesario analizar más localidades y más genes para dar mejor resolución y soporte al análisis.

5.5. REDESCRIPCIÓN DE *Langeronia macrocirra* Caballero y Bravo-Hollis, 1949.

Con base en el análisis morfológico (microscopía óptica y electrónica de barrido) y el análisis de las secuencias de la región ITS-2 del rDNA y CO1 del *mtDNA* de algunas poblaciones del género *Langeronia*, a continuación se presentará la redescipción de *Langeronia macrocirra*, aportando información acerca de su situación taxonómica, distribución y hospederos. Así como algunos comentarios de la validez de las especies del género.

Familia Lecithodendriidae Odhner, 1910

Subfamilia Pleurogeninae (Looss, 1899) Travassos, 1921

***Langeronia macrocirra* Caballero-Bravo-Hillis, 1949.**

Sin. *L. parva*

Sin. *L. jimenezi*

Sin. *L. provitellaria*

Figuras 12, 15-18.

La siguiente redescipción se basa en la observación de 134 tremátodos en microscopía de luz y veintinueve en MEB. Cuerpo piriforme o lanceolado, con el extremo anterior más angosto que el posterior, mide 0.526-1.610 (1.013) de largo por 0.073-0.988 (0.532) de ancho (figura 12, A, B, C y D). Tegumento delgado, revestido con espinas aserradas, muy pequeñas, que van disminuyendo en número hacia la región posterior (figura 15, M-T). En la región anterior, al nivel de la ventosa oral, las espinas presentan de 5 a 12 (8) dientes; en la región media al nivel del acetábulo presentan de 8 a 16 (12) y hacia la región posterior y al nivel del poro excretor de 4 a 10 (6) (figura 15). En algunos ejemplares se presenta un pliegue en el margen izquierdo del cuerpo seguido por una depresión (figura 15, F). Papilas ciliadas y no ciliadas en la ventosa oral y en el acetábulo (figura 15, C, D, G y H), papilas ciliadas entre las espinas tegumentarias a lo largo del cuerpo (Figura 15, T). Ventosa oral esférica, terminal; mide 0.053-0.166 (0.097) de largo y 0.065-0.178 (0.111) de ancho. Prefaringe en ocasiones no es evidente o mide hasta 0.054 (0.013) de largo por 0.0581 (0.0218) de ancho (figura 16). Faringe mide 0.027-0.073 (0.044) de largo por 0.019-0.081 (0.046) de ancho; esófago corto o largo y delgado, de 0.019-0.290 (0.093) de largo por 0.011-0.038 (0.019) de ancho; ciegos que se extienden hasta la parte posterior del segundo tercio del cuerpo, 0.217-0.909 (0.438) de largo por 0.019-0.079 (0.046) de ancho del lado izquierdo y 0.244-0.765 (0.430) de largo por 0.019-0.095 (0.046) de ancho del lado derecho. Acetábulo ecuatorial o ligeramente postecuatorial, ligeramente mayor que la ventosa oral; mide 0.065-0.178 (0.111) de largo por 0.065-0.166 (0.108) de ancho.

Testículos esféricos en ocasiones ligeramente lobulados, simétricos, postacetabulares; ambos situados a la misma altura, o bien, uno ligeramente abajo del otro; el testículo izquierdo mide 0.054-0.224 (0.120) de largo por 0.042-0.232 (0.111) de ancho; el testículo derecho mide 0.058-0.251(0.121) de largo por 0.038-0.259 (0.115) de ancho. Bolsa del cirro bien desarrollada, localizada anterior al acetábulo, en ocasiones rodeando esta estructura. Ovario regular, lateral a la región acetabular o en ocasiones sobrepasándose ligeramente, mide 0.046-0.174 (0.094) de largo y 0.038-0.232 (0.098) de ancho. El útero se distribuye desde el ovario hasta la parte posterior de cuerpo (ocupa la mitad del cuerpo). Las asas uterinas son transversales en dos campos, descendente y ascendente. Desemboca independientemente en el poro genital, que es intracecal o está situado principalmente sobre el ciego izquierdo (figura 18). Distancia del poro genital al borde izquierdo del cuerpo del lado izquierdo 0.042–0.239 (0.137) y del poro genital hasta el extremo anterior va de 0.255–0.988 (0.459). Huevos operculados de color amarillo, miden 0.011-0.023 (0.018) de largo por 0.007-0.012 (0.009) de ancho (figura 15, J). Glándulas vitelógenas forman dos grupos a ambos lados del cuerpo en la región preacetabular. Distancia del extremo anterior del cuerpo del límite anterior de del lado izquierdo 0.079-0.957 (0.180) y del lado derecho 0.079-0.526 (0.172). Distancia del límite posterior de las glándulas vitelógenas al extremo posterior del cuerpo del lado izquierdo 0.398-0.972 (0.606) y 0.302–1.00 (0.604) del lado derecho; la forma de éstas es variable (figura 17). Vesícula seminal en forma de Y, poro excretor terminal y en algunas ocasiones subterminal.

Hospedero tipo: *Rana pipiens* ("rana leopardo") (CNHE 0013885).

Comentario: Acorde con Frost (1985) y Flores-Villela (1993), la distribución geográfica de *R. pipiens* no se extiende hasta México. Éste un complejo de especies (Hillis 1988).

Localidad tipo: México (Caballero y Bravo-Hollis, 1949).

Registros previos: Laguna El Zacatal, Veracruz: *Rana vaillanti* (Guillén *et al.*, 1999); Laguna Azul, Veracruz: *Rana vaillanti* (Guillén *et al.*, 1999); Estación de los Tuxtlas, Veracruz: *Rana berlandieri* (CNHE 001526; 001527), *Smilisca baudinii* (Guillén *et al.*, 1999); Laguna Escondida, Veracruz: *Rana vaillanti* (CNHE4093; 4092; 3307) (Guillén *et al.*, 1999; Paredes, 2000¹¹); Lago de Catemaco, Veracruz: *Bufo marinus* (CNHE 001525); Yecora, Sonora: *R. tarahumarae* (Burse y Goldberg, 2001); Presa la Boca, Río Pesquerías, Nuevo León: *Rana pipiens* (CNHE 001127); Nicaragua: *Bufo marinus* (Ubelaker, 1949); Costa Rica: *Rana warchewitschii* (200-19) (Brenes *et al.*, 1959); Guanacaste, Costa Rica: *Rana vaillanti* (Brooks *et al.*, en preparación).

¹¹ PAREDES, C. L. E. 2000. Helmintos Parásitos de *Rana vaillanti* Brocchi, 1877 (Anura: Ranidae) de la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, Veracruz. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. 69pp

Registros presente trabajo: Laguna Escondida, Veracruz: *Rana vaillanti* (4874; 4891); Lago de Catemaco, Veracruz: *Bufo marinus* (4875; 4892); San José Independencia, Oaxaca: *Rana vaillanti* (4876); Chapultepec, Oaxaca: *Rana vaillanti* (4877); Tehuantepec, Oaxaca: *Rana* sp. (4878); Río Tehuantepec, Oaxaca: *Bufo marinus* (4879); Jardín Botánico, Instituto de Historia Natural, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas: *Rana brownorum* (4880); Laguna Yalahau, Yucatán: *Rana brownorum* (4881; 4893); Laguna Yalahau, Yucatán: *Rana vaillanti* (4882; 4894); Coquimatlán, Colima: *Bufo marinus* (4883; 4895); Coquimatlán, Colima: *Rana* sp “forma Colima” (4884; 4896); La Parotita, Colima: *Rana* sp. “forma Colima” (4885); Laguna Higueras, Nuevo León: *Rana berlandieri* (4631); Laguna Higueras, Nuevo León: *Bufo marinus* (4632).

Nota: con el presente estudio, el área de distribución de esta especie se amplió con ocho localidades principalmente en la región neotropical.

Hábitat: intestino (anterior, medio y posterior).

COMENTARIOS:

Ubelaker (1965) fue el primero en hacer referencia acerca de la variabilidad morfológica de *Langeronia macrocirra*. Paredes (2000)¹² mencionó la variación de algunos caracteres tales como la posición y forma de los órganos reproductores, la distribución de las glándulas vitelógenas y la posición del poro genital en una población de esta especie en Laguna Escondida y en La Estación de los Tuxtlas, Veracruz.

Al realizar el estudio morfológico de los ejemplares que se recolectaron en diferentes localidades en México, se corroboró la variación intraespecífica que habían observado Ubelaker (1965) y Paredes (2000)¹³, y adicionalmente en algunos otros caracteres como la presencia de una prefaringe evidente o no (figura 16), la forma y distribución de las glándulas vitelógenas (figura 17), así como la forma de las espinas tegumentarias (figura 15).

La localización del poro genital se ha considerado como un caracter de importancia taxonómica para diferenciar especies dentro del género; sin embargo se ha propuesto que dependiendo del proceso de fijación y/o aplanamiento del material, la ubicación de éste y otras estructuras puede cambiar (Paredes, 2000¹⁴; Obs. Pers.). Al homogeneizar la técnica de fijación, pudimos constatar que la localización del poro genital dentro de una población no

¹² ¹³ ¹⁴ PAREDES, C. L. E. 2000. Helmintos Parásitos de *Rana vaillanti* Brocchi, 1877 (Anura: Ranidae) de la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, Veracruz. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. 69pp

permanece constante (figura 18). El poro genital en esta especie puede localizarse sobre el ciego izquierdo (cecal) o bien intracecal no alcanzado el borde interno del ciego (figura 18).

El segundo caracter que presenta variación importante entre los ejemplares esta especie es la longitud y anchura de la prefaringe, la cual, según se observó, se modifica dependiendo del proceso de fijación. Cuando la ventosa oral queda ventral, la prefaringe no se observa con claridad (figura 16). La variación en la longitud de la prefaringe también se observó dentro de una población sometida al mismo proceso de fijación.

Al parecer, la forma y distribución de las glándulas vitelógenas están relacionadas con el grado de desarrollo del tremátodo, más que con el proceso de fijación, ya que dentro de una misma población, fijada con la misma técnica presentan diferente forma y distribución. La forma de las glándulas vitelógenas es muy variable y se esquematiza en la figura 17.

Con la ayuda de la MEB, se observaron las espinas tegumentarias que no se habían descrito con detalle anteriormente. Se notaron algunas variantes en la forma de las espinas que también podría estar en relación con el desarrollo del tremátodo (figura 15, M-T). Sin embargo para corroborar ésto y la variación en la distribución, así como la forma de las glándulas vitelógenas se sugiere realizar estudios sobre el ciclo de vida de este parásito, en los cuales se caractericen los diferentes estadios de desarrollo del tremátodo.

Algunos ejemplares presentaron un pliegue en el margen izquierdo del cuerpo seguido por una depresión (observado tanto con microscopía óptica y como con MEB) (figura 15, E y F). Este había sido observado con anterioridad en ejemplares del género por Paredes (2000)¹⁵, quien sugiere que podría ser un carácter de importancia taxonómica, sin embargo este caracter no se presenta de manera constante y muy probablemente sea producto de la adhesión entre estos digéneos posterior a su reproducción cruzada (*Obs. Pers. In vivo*). Esta es solo una hipótesis que requiere comprobación con estudios del ciclo de vida.

Se observaron por primera vez los tipos de papilas tegumentarias distribuidas alrededor de la ventosa oral, el acetábulo y entre las espinas tegumentarias. Se han realizado dos estudios sobre la superficie tegumentaria en lecitodéndridos (Podyznaya, 1986; Ferrer *et al.*, 1996) y un solo trabajo que aborda la distribución y tipos papilares en cercarias (Bogéa y Caira, 2001). Diversos autores han sugerido que las papilas en tremátodos funcionan como receptores quimiotáctiles o tangoreceptoras, protectores inmunológicos e inclusive en la excreción de desechos (Hong *et al.*, 1991; Koonchornboon *et al.*, 1986, Threadgold, 1984).

¹⁵ PAREDES, C. L. E. 2000. Helmintos Parásitos de *Rana vaillanti* Brocchi, 1877 (Anura: Ranidae) de la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, Veracruz. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. 69pp

Al realizar el análisis de componentes principales, se encontró que existe un solapamiento total entre la morfometría de los tres tipos, lo que aporta evidencia de que *L. jimenezi* y *L. parva* deben ser sinonimizadas con *L. macrocirra*.

Al realizar la revisión del material de *L. macrocirra* depositado en CNHE, de cinco especies de anfibios en seis poblaciones de México, también se observó una gran variabilidad en los caracteres evaluados (apéndice 4) y al comparar los datos morfométricos de estos registros previos con la presente descripción se observa que existe un solapamiento de medidas (Tabla XI).

Langeronia provitellaria originalmente se diferenció de *L. macrocirra* por la localización del poro genital extracecal, los testículos profundamente lobulados, y la distribución de las glándulas vitelógenas que inician desde la mitad de la longitud del esófago hasta la mitad de la longitud de los ciegos. A pesar de no contar con material fresco de *L. provitellaria*, y acorde con el material examinado en el presente trabajo (USNPC47569; USNPC47570) (Tabla XI, figura 12, E), consideramos que esta especie, como lo sugirió Ubelaker (1952) previamente, es sinónima de *L. macrocirra* debido a que en los caracteres cualitativos son similares a *L. macrocirra* y las medidas del material examinado en el presente trabajo se solapan por completo con lo descrito para esa especie.

En cuanto al material registrado de *L. macrocirra* por Brenes *et al.* (1959) en Costa Rica (CHCR200-19), confirmamos que presentan medidas superiores a las que se describieron originalmente para *L. macrocirra*, pero caen dentro de los intervalos que se registran en la presente redesccripción (Figura 12, F y G).

Consideramos que *L. parva* también es sinónima de *L. macrocirra* debido a que hay medidas que se solapan con lo descrito para *L. macrocirra*, en el presente trabajo. Al realizar el estudio morfológico de los ejemplares recolectados en diversas localidades en México y los ejemplares tipo (USNPC 1033-22; USNPC 1033-23), se observa que algunos caracteres diagnósticos de la especie son variables: la localización de la desembocadura del poro genital (figura 12, H y I) y la lobulación de los testículos (figura 12, tabla XI).

No fue posible consultar el material tipo de *L. jimenezi* (se encuentra extraviado), sin embargo se obtuvo material biológico de una localidad aledaña a la localidad tipo en el estado de Nuevo León. Al comparar estos ejemplares con la descripción original y la presente redesccripción se observa el solapamiento de caracteres morfométricos, lo cual sugiere su sinonimia con *L. macrocirra*.

L. brenesi difiere de *L. macrocirra* (*sensu lato*) porque *L. brenesi* presenta siempre un cuerpo piriforme y principalmente por la localización del poro genital, que se encuentra anterior

al acetábulo, posterior a la terminación del ciego y anterior al testículo izquierdo; los testículos son extracecales, las glándulas vitelógenas se distribuyen casi desde el término de la faringe y hasta tres cuartas partes de la longitud de los ciegos; éstos se extienden hasta el primer tercio del cuerpo y no llegan al nivel de los testículos; la forma y disposición de la bolsa del cirro; las asas uterinas ocupan un tercio del cuerpo (observación del material tipo USNPC 76941, figura 13).

Langeronia burseyi es la especie del género que se ha descrito más recientemente como parásito de *Hyla cadaverina* en Norteamérica (Dailey y Goldberg, 2000). Es la especie más pequeña descrita para el género, lo cual es una característica distintiva además de la localización de la bolsa del cirro y la longitud de los ciegos que alcanzan el nivel del ecuador, pero no el de los testículos.

Langeronia burseyi difiere de *L. macrocirra* (*sensu lato*) por presentar un esófago largo con relación al tamaño del cuerpo, los testículos son extracecales, el acetábulo es ligeramente preecuatorial y dispuesto del lado derecho del cuerpo; la distribución de las asas uterinas abarcan un tercio del cuerpo; presenta testículos grandes en relación al tamaño del cuerpo, y por la forma y disposición de la bolsa del cirro.

Langeronia brenesi se diferencia de *L. burseyi*, principalmente por lo reducido del esófago en relación al tamaño corporal; la localización del poro genital; en la forma de los testículos; la localización del acetábulo; en la distribución de las glándulas vitelógenas; así como en la forma y disposición de la bolsa del cirro (figura 14, tabla XI).

Se desconoce el tipo de papilas presentes en la superficie tegumentaria, así como la forma de las espinas y no hay estudios moleculares de estas especies.

Se sugiere que, para complementar la información arrojada en el presente trabajo, se obtuviera material de *Langeronia brenesi* y *L. burseyi* en sus localidades tipo, así como de otras localidades cercanas y se efectuaran estudios de MEB y de sistemática molecular para corroborar la validez de estas especies y observar sus afinidades filogenéticas.

Con base en nuestros resultados, consideramos que *L. macrocirra* Caballero y Bravo-Hollis, 1949, *L. brenesi* Goodman, 1989 y *L. burseyi* Dailey y Goldberg, 2000 son por ahora las únicas especies válidas del género. *L. parva* Christian, 1970, *L. jimenezii* Iruegas y Salinas, 1989 y *L. provitellaria* Sacks, 1952 son sinónimas de *L. macrocirra*.

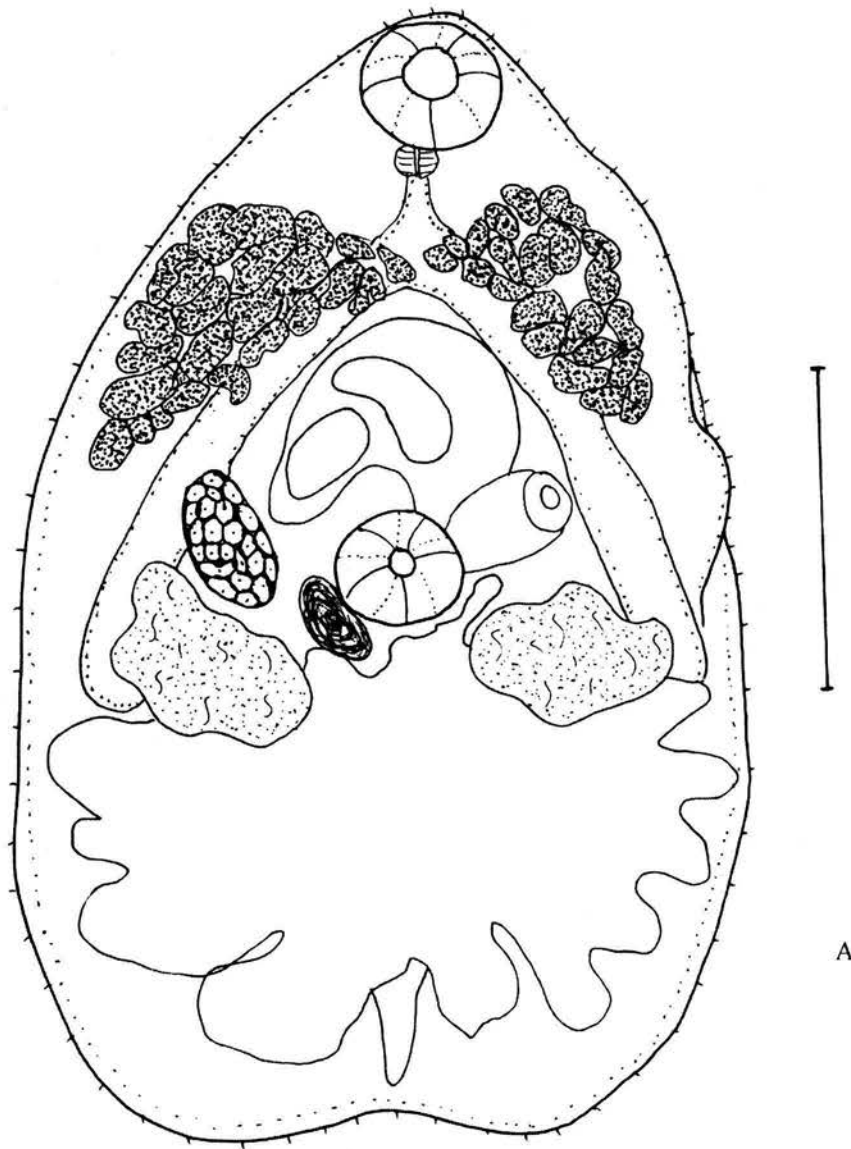


Figura 12. *Langeronia macrocirra*. Vista ventral, cuerpo completo. Ejemplar procedente de: A = *Rana vaillanti*, Laguna Yalahau, Yucatán. Escala = 0.3mm.

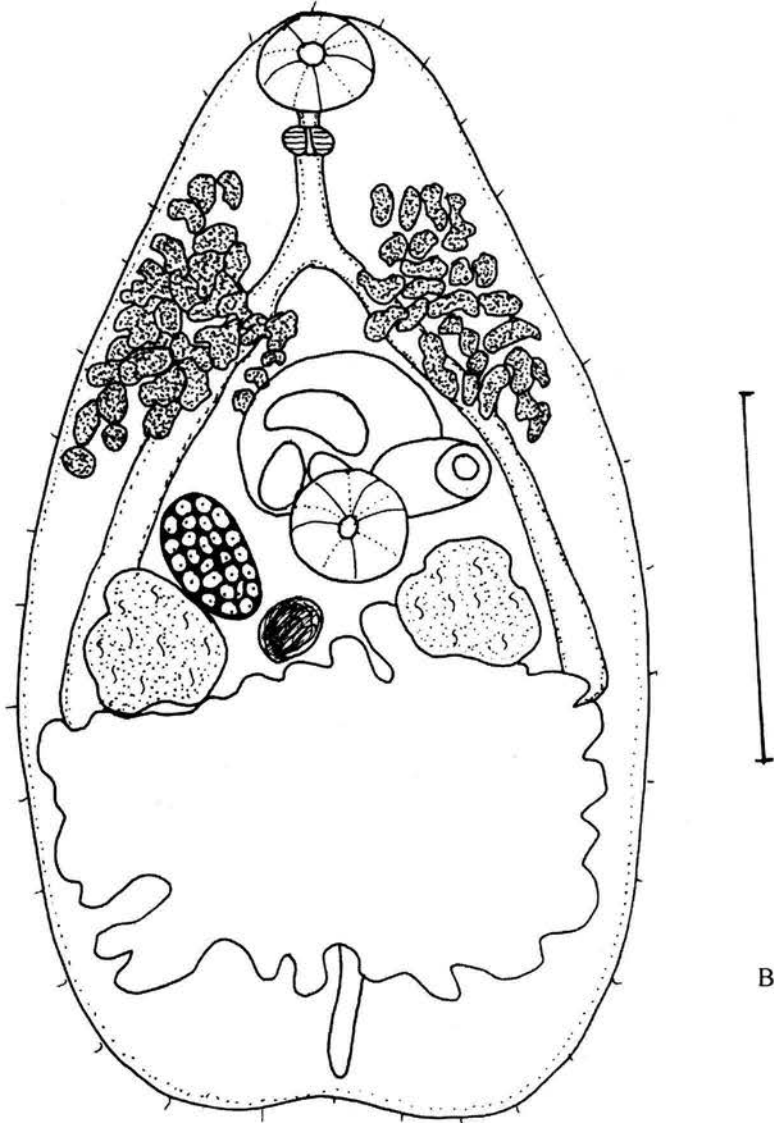


Figura 12. *Langeronia macrocirra*. Vista ventral, cuerpo completo. Ejemplar procedente de: B = *Rana brownorum*, Jardín Botánico, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. Escala = 0.5mm. (Continuación).

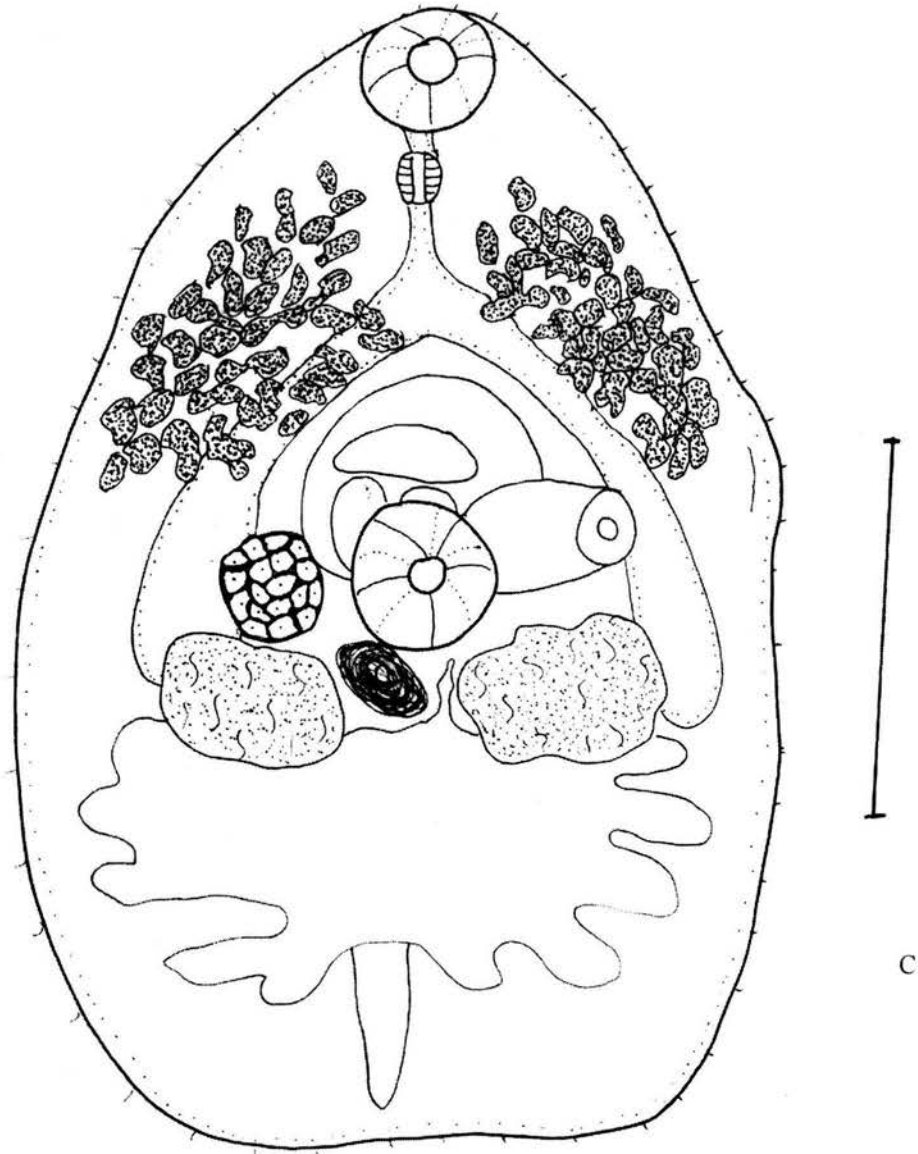


Figura 12. *Langeronia macrocirra*. Vista ventral, cuerpo completo. Ejemplar procedente de: C = *Bufo marinus*, Lago de Catemaco, Veracruz. Escala = 0.3mm (continuación).

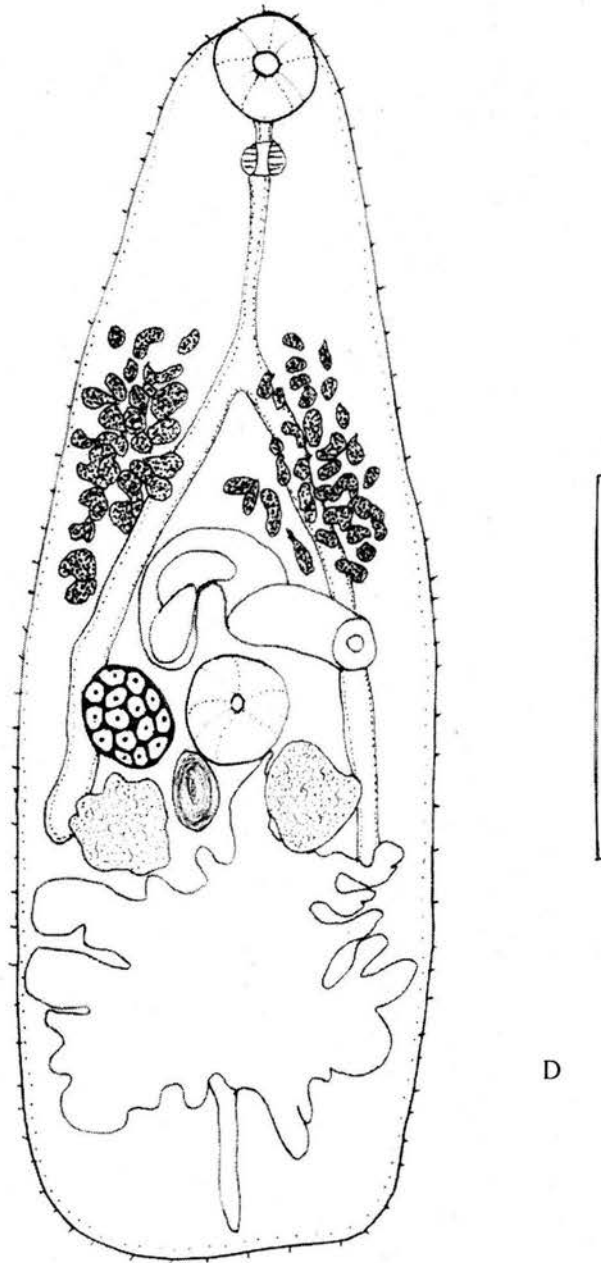


Figura 12. *Langeronia macrocirra*. Vista ventral, cuerpo completo. Ejemplar procedente de: D = *Rana vaillanti*, Laguna Escondida, Veracruz (continuación). Escala = 0.3mm.

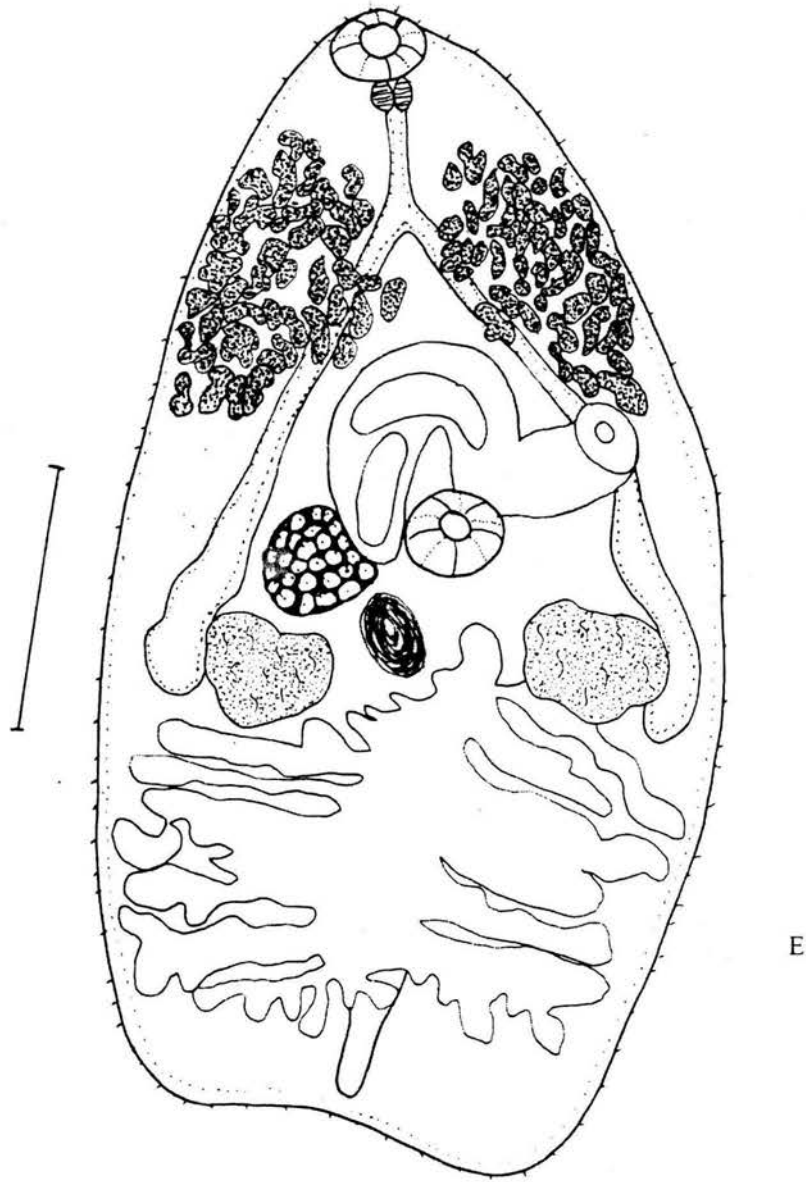


Figura 12. E = *Langeronia provitellaria* (Holotipo); *Rana pipiens*; Florida, USA (USNPC 47569). Vista ventral, cuerpo completo. Escala = 0.5 mm. (Continuación).

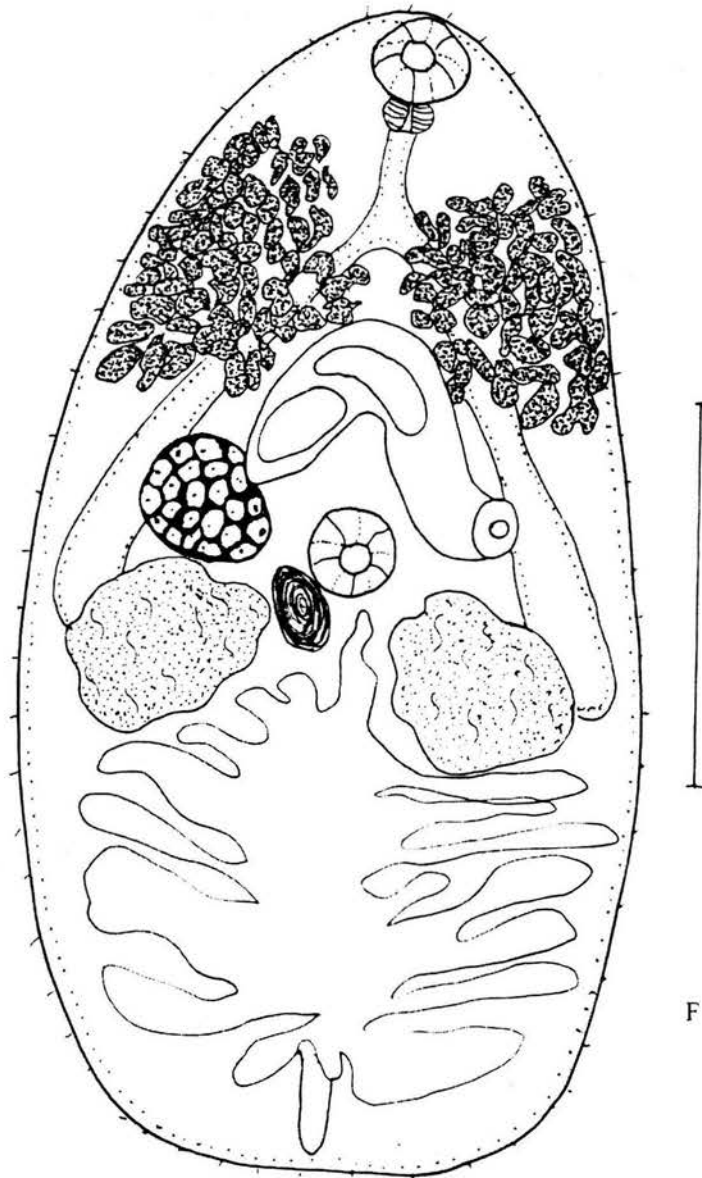


Figura 12. F = *Langeronia macrocirra*, Costa Rica (identificado por Christian (1970) como *L. provitellaria*) (CHCR 200-19bis). Vista ventral, cuerpo completo. Escala = 0.5mm. (Continuación).

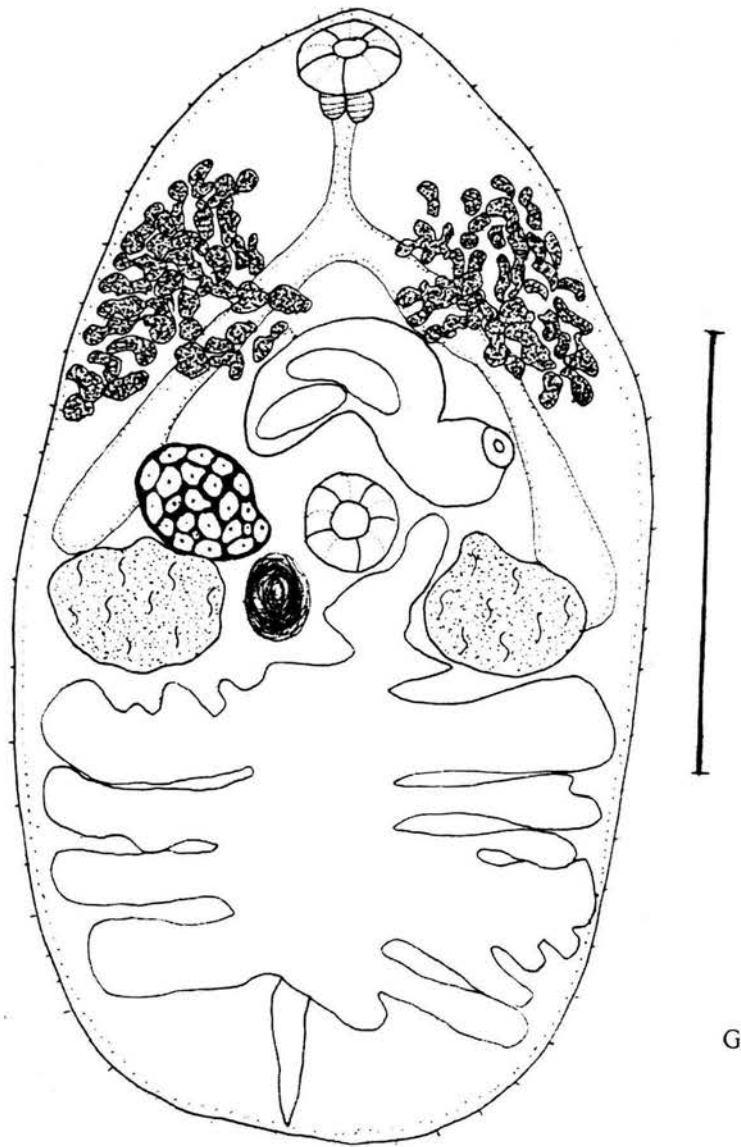


Figura 12. G = *Langeronia macrocirra*, Costa Rica (CHCR 200-19). Vista ventral, cuerpo completo. Escala = 0.5mm. (Continuación).

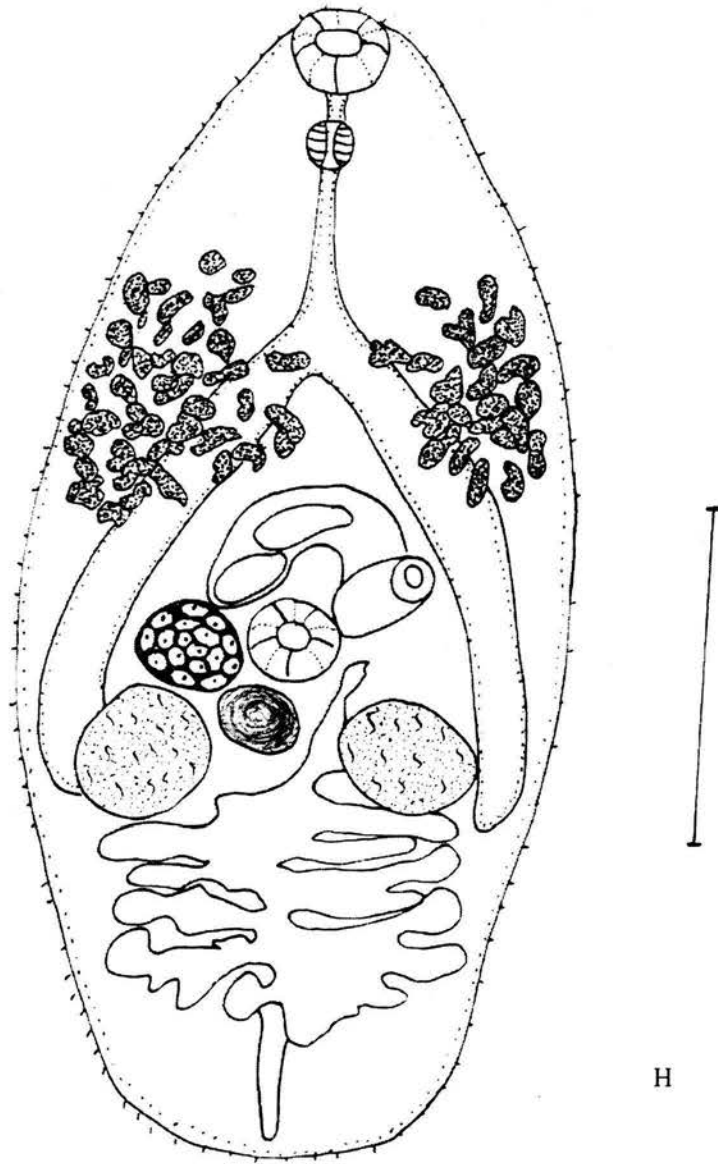


Figura 12. H = Holotipo de *Langeronia parva* (Christian, 1970) (USPNC 1033-23). Vista ventral, cuerpo completo. Escala = 0.3 mm. (Continuación).

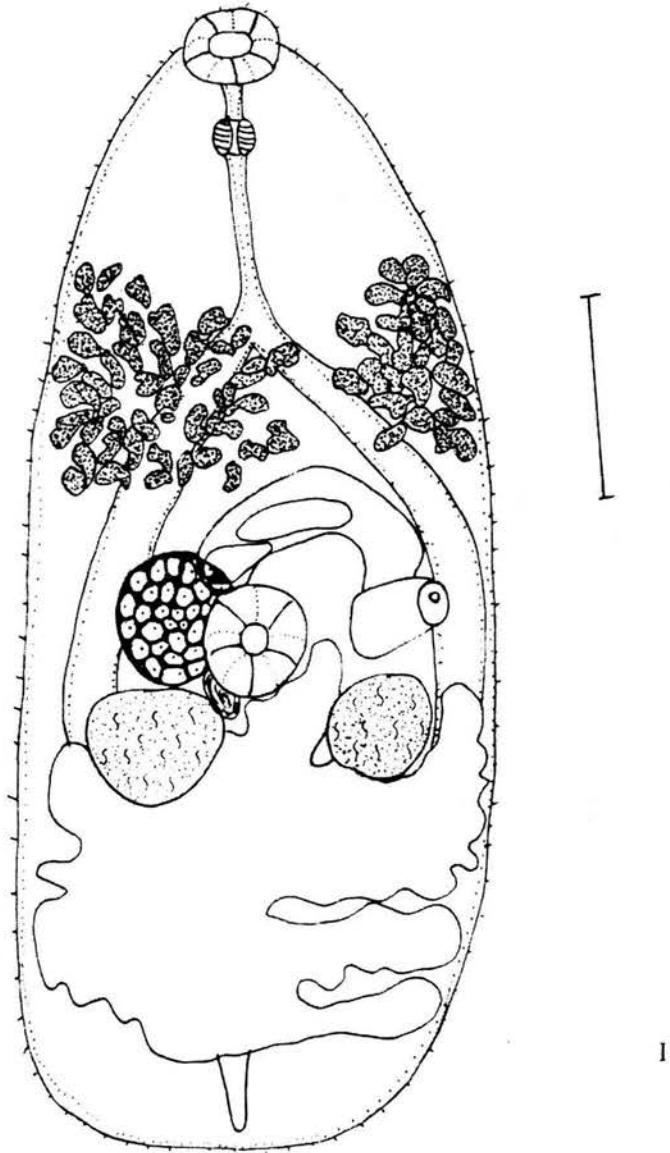


Figura 12. I = Paratipo de *L. parva* (Christian, 1970) (USNPC 1033-22). Vista ventral, cuerpo completo. Escala = 0.3 mm. (Continuación).

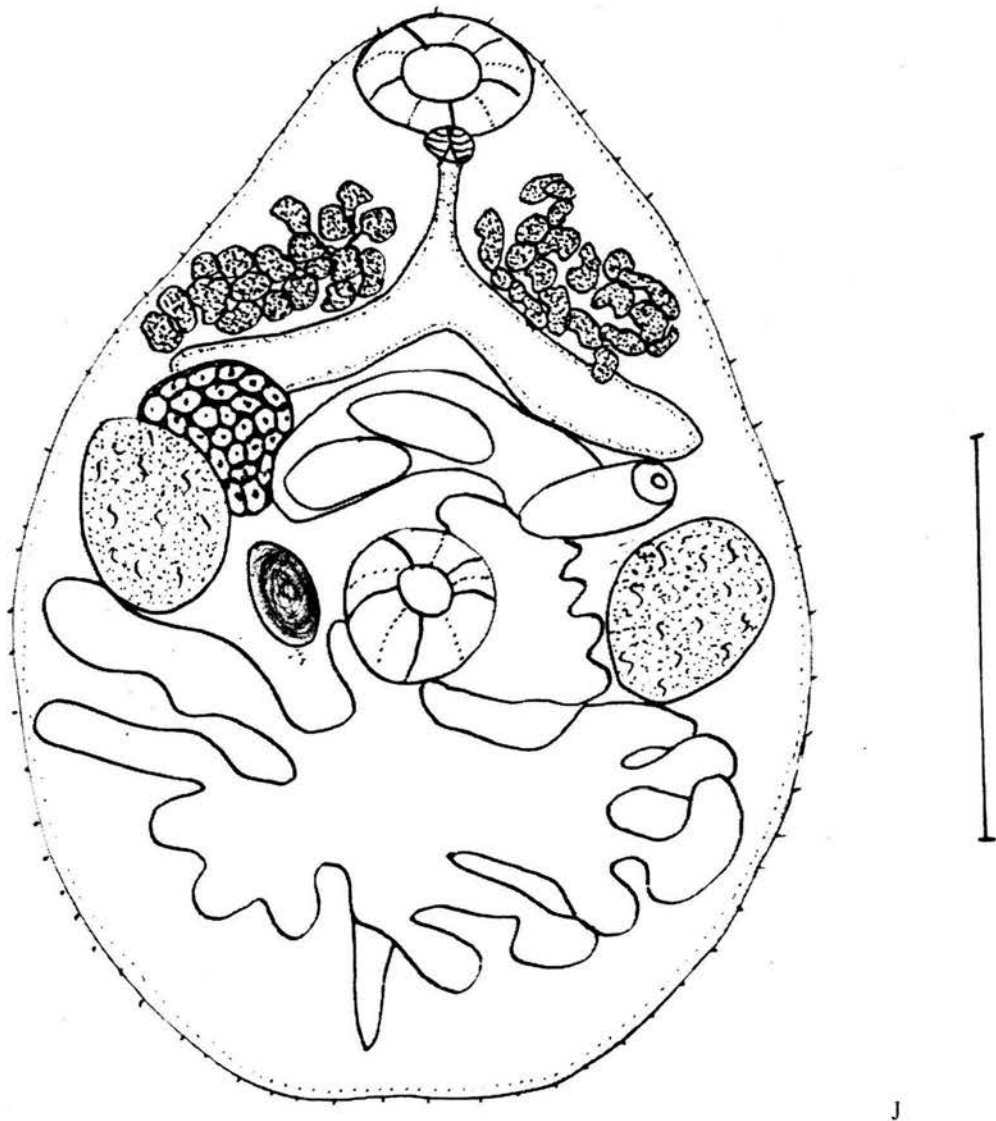


Figura 13. *Langeronia brenesi* (Holotipo); *Rana muscosa*; Montañas de San Bernardino, Ca. USA (USNPC 76941). Vista ventral, cuerpo completo. Escala = 0.2mm.

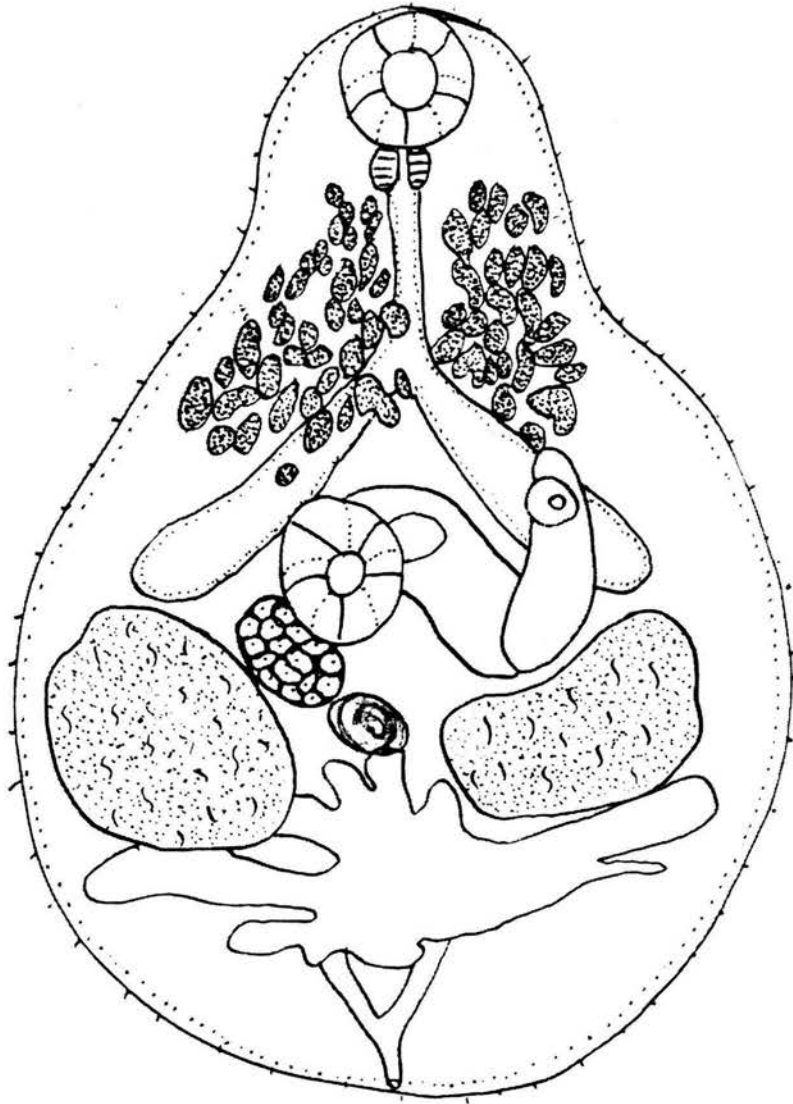


Figura 14. *Langeronia burseyi* (Holotipo); *Hyla cadaverina*; California, USA (USPN 89628). Vista ventral, cuerpo completo. Escala = 0.3 mm.

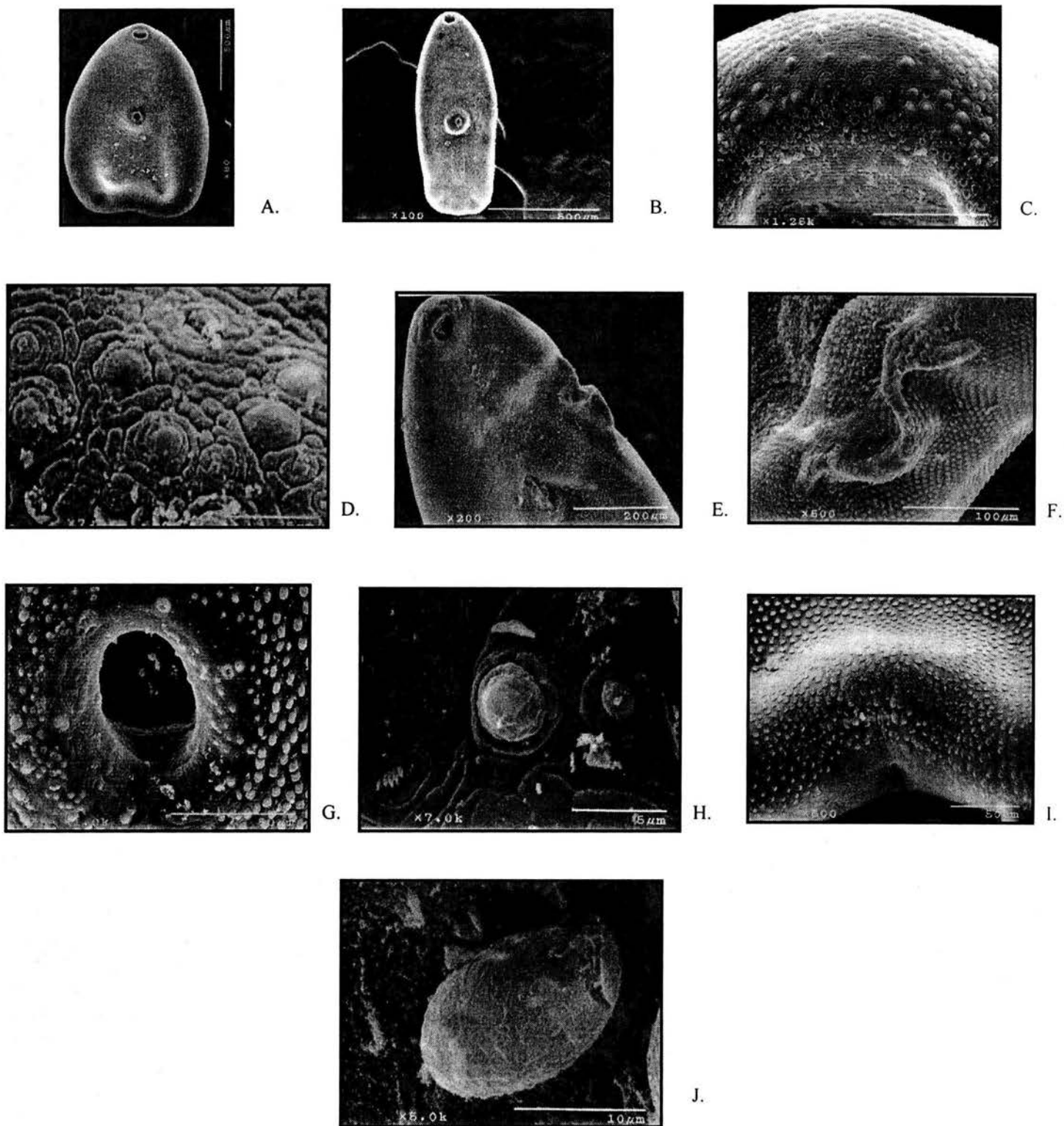
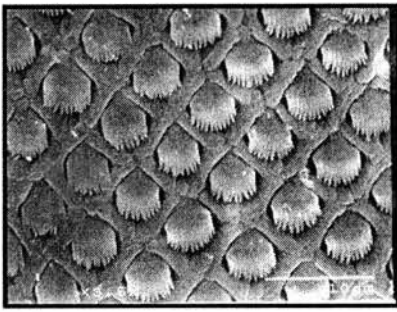
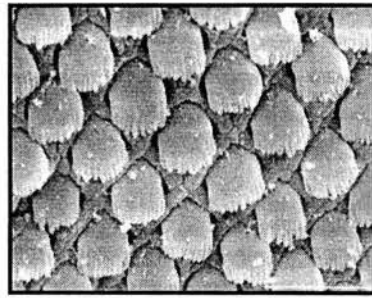


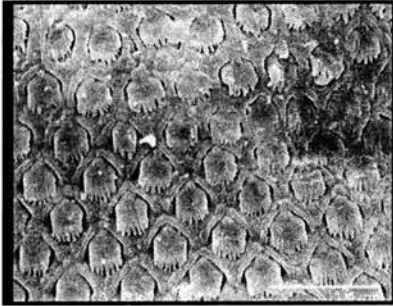
Figura 15. Microfotografías de *Langeronia macrocirra*. A) Vista ventral de un espécimen completo; B) Vista ventral de un espécimen completo; C) Vista ventral. Región anterior de la ventosa oral mostrando las papilas; D) Vista lateral. Mostrando las papilas de la región de ventosa oral; E) Vista lateral mostrando el pliegue que se localiza al mismo nivel de la desembocadura del poro genital; F) Vista lateral mostrando el pliegue que se localiza al mismo nivel de la desembocadura del poro genital; G) Vista ventral del acetábulo mostrando las papilas; H) Vista ventral mostrando las papilas del acetábulo; I) Vista lateral de la localización del poro excretor; J) Vista frontal. Huevos operculados.



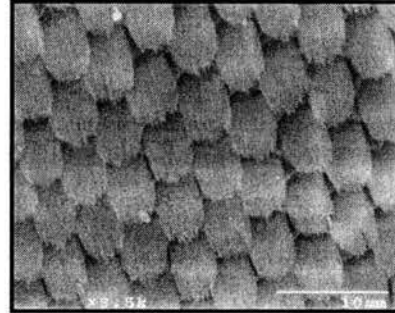
M.



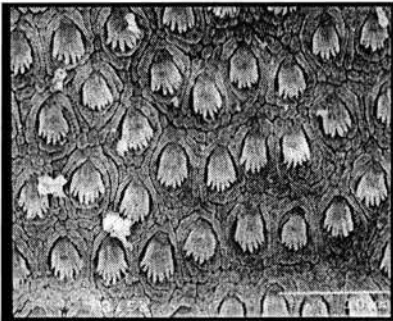
N.



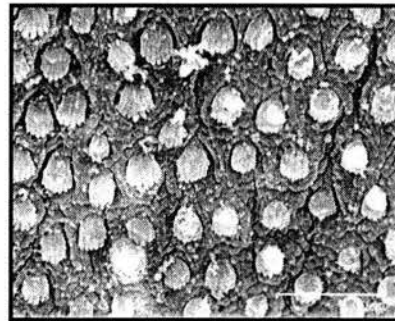
O.



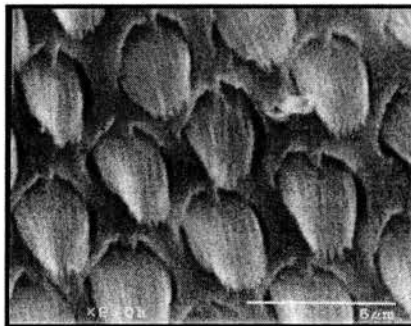
P.



Q.



S.



T.

Figura 15. Microfotografías de *Langeronia macrocirra*. M) y N) Vista ventral mostrando las espinas tegumentarias (región anterior del cuerpo); O) y P) Vista ventral mostrando las espinas tegumentarias (a nivel del acetábulo); Q) y S) Vista ventral mostrando las espinas tegumentarias (región posterior del cuerpo); T) vista ventral mostrando una papila ciliada entre las espinas tegumentarias (continuación).

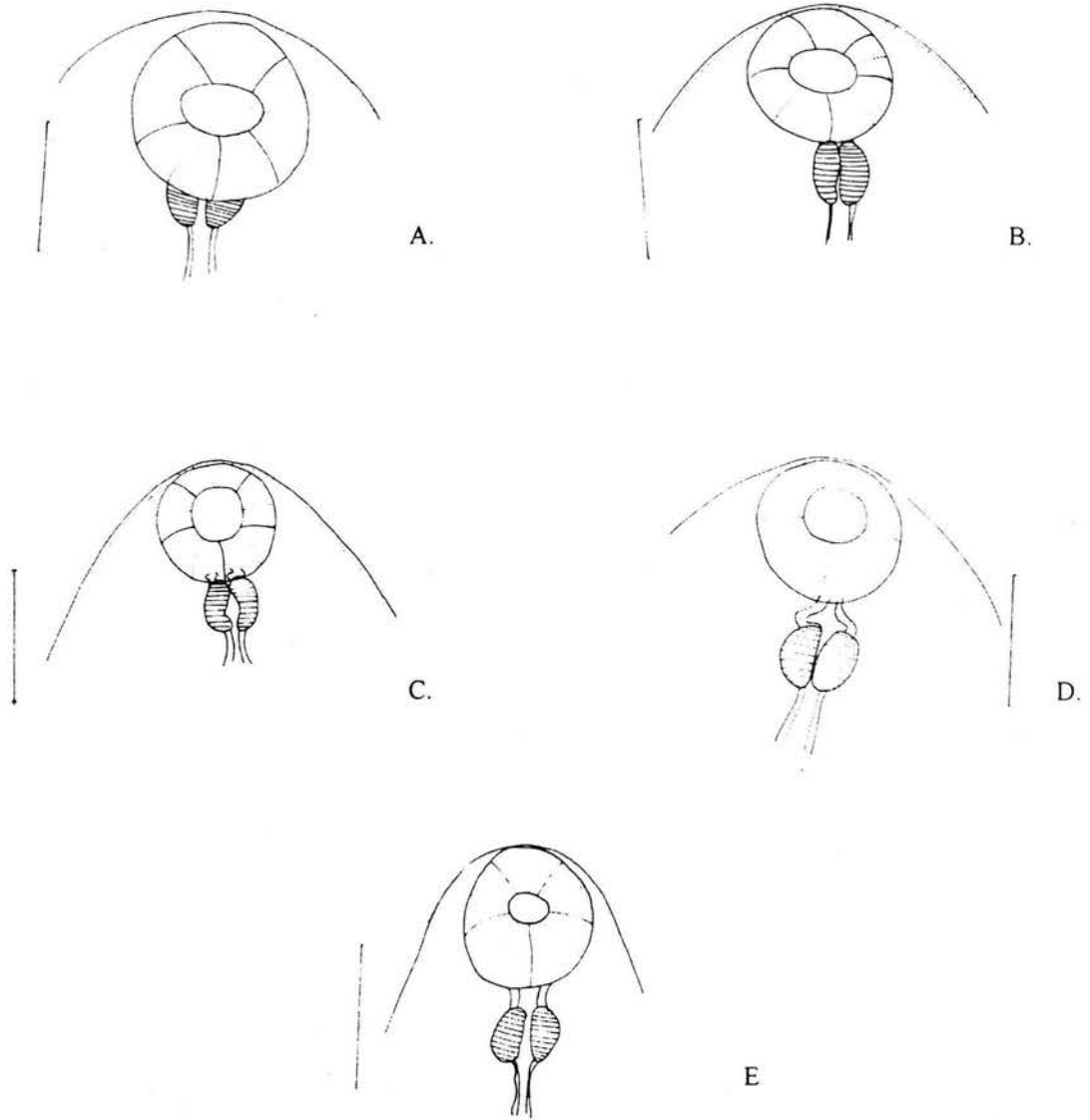


Figura 16. Variabilidad de la longitud de la prefaringe de *Langeronia macrocirra*. A = *Bufo marinus*, Lago de Catemaco, Veracruz; B = *Rana vaillanti*, Laguna Escondida, Veracruz; C = *R. vaillanti*, Laguna Yalahau, Yucatán; D = *Bufo marinus*, Coquimatlán, Colima; E = *R. vaillanti*, Laguna Escondida, Veracruz. Escala = 0.1mm

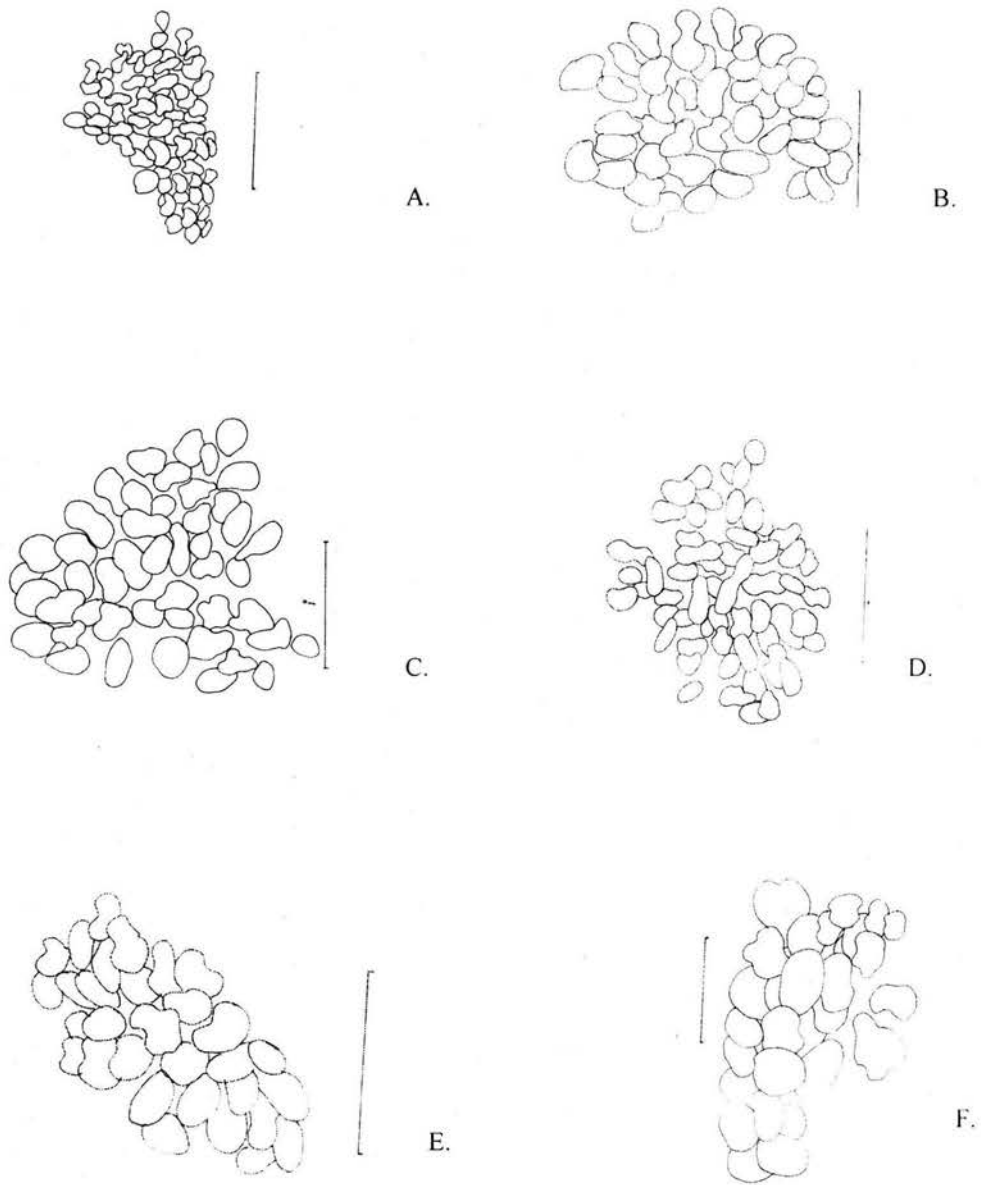
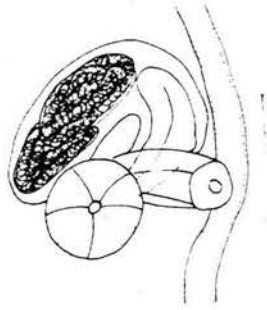
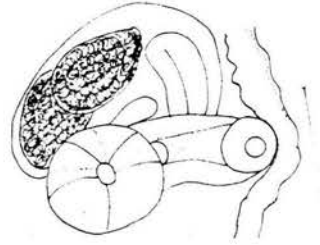


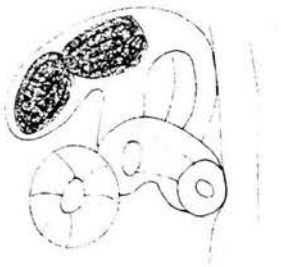
Figura 17. Variabilidad de las glándulas vitelógenas de *Langeronia macrocirra*. A = *Bufo marinus*, Lago de Catemaco, Veracruz; B = *Rana vaillanti*, Laguna Yalahau, Yucatán; C = *Rana* sp. "forma Colima", Coquimatlán, Colima; D = *Bufo marinus*, Lago de Catemaco, Veracruz; E = *Rana vaillanti*, Laguna Escondida, Veracruz; F = *Rana vaillanti*, Laguna Yalahau, Yucatán. Escala = 0.1mm.



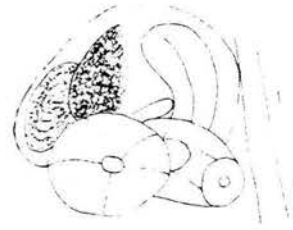
A.



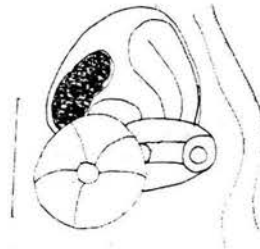
B.



C.



D.



E.

Figura 18. Variabilidad de la localización del poro genital de *Langeronia macrocirra*. A = *Rana vaillanti*, Laguna Yalahau, Yucatán; B = *Rana vaillanti*, Laguna Escondida, Veracruz; C = *Rana vaillanti*, Laguna Yalahau, Yucatán; D = *Bufo marinus*, Lago de Catemaco, Veracruz; E = *Rana* sp. "forma Colima", Coquimatlán, Colima. Escala = 0.1mm.

Tabla XI. Tabla comparativa de las características diagnósticas de las especies del género *Langeronia* (características y medidas tomadas de las descripciones originales y del examen del material tipo).

Carácter	<i>L. macrocirra</i>	<i>L. macrocirra</i>	<i>L. macrocirra</i>	<i>L. macrocirra+</i>	<i>L. provitellaria</i>	<i>L. parva</i>	<i>L. jimenezi</i>	<i>L. burseyi</i>	<i>L. brenesi</i>
No. catálogo	Presente trabajo	CNHE 0013885	CHCR 200-19	CHCR 200-19 bis	USNPC 47569; 47570	USNPC 1033-22; 70588	Iruegas y Salinas (1989)	USNPC 89628	USNPC 76941; 76941
Forma	Lanceolado o piriforme*	Piriforme	Piriforme	Piriforme	Piriforme	Piriforme	Piriforme	Piriforme	Piriforme
Prefaringe	En ocasiones evidente*	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	Presente	Ausente	Ausente
Ciegos	Llegan al nivel de los testículos	Llegan al nivel de los testículos	Llegan al nivel de los testículos	Llegan al nivel de los testículos	Llegan al nivel de los testículos	Llegan al nivel de los testículos	Llegan al nivel de los testículos	No alcanzan el nivel de los testículos	No alcanzan el nivel de los testículos
Esófago	Corto o largo*	Corto	Corto	Corto	Corto	Largo	Corto	Largo	Corto
Poros genital	Cecal o intracecal*	Cecal	Cecal	Intracecal	Extracecal	Cecal	Intracecal	Cecal	Desemboca anterior al acetábulo, posterior a los ciegos y anterior al testículo izquierdo
Testículos	Testículos lobulados o con bordes lisos Intracecales	Testículo derecho es trilobulado Intracecales	Lobulados Intracecales	Lobulados Intracecales	Fuertemente lobulados Intracecales	Testículo derecho redondeado a un poco con muescas o bien lobulado Intracecal	Son lobulados intracecales	Testículos lisos, transversalmente ovalados Extracecal	Un poco lobulados Extracecal
Ovario	Dextral Bordes irregulares o ovalado	Dextral Bordes regulares	Dextral ovalado	Dextral ovalado	Dextral Un poco lobulado	Dextral es ovalado o piriforme	Dextral ligeramente lobulado	Dextral oval	Dextral Un poco lobulado

(+)Material identificado por Christian (1970) como *L. provitellaria*. (*) Depende de la fijación del material biológico.

Tabla XI. Tabla comparativa de las características diagnósticas de las especies del género *Langeronia* (características y medidas tomadas de las descripciones originales y del examen del material tipo) (continuación).

Carácter	<i>L. macrocirra</i>	<i>L. macrocirra</i> **	<i>L. macrocirra</i>	<i>L. macrocirra</i>	<i>L. provitellaria</i>	<i>L. parva</i>	<i>L. jimenezi</i>	<i>L. burseyi</i>	<i>L. brenesi</i>
Vejiga excretora y poro excretor	Y Subterminal y en ocasiones terminal	V (Caballero y Bravo, 1949) Y (Christian, 1970) Subterminal	Y subterminal	Y subterminal	Y subterminal	Y Terminal o ligeramente subterminal	Y Terminal	Y Terminal	Y Terminal
Ventosa oral	Subterminal	Subterminal	Subterminal	Subterminal	Subterminal	Subterminal	Terminal	Subterminal	Subterminal
Huevos	Opeculados Elípticos, rugosos	Operculados	Pequeños, lisos elípticos	Pequeños, lisos elípticos	Pequeños, lisos elípticos	Pequeños, lisos elípticos	Son pequeños, operculados y amarillentos	Huevos lisos, elípticos	Operculados y pálido café, embrionados
Acetábulo	Ecuatorial o ligermante postecuatorial	Ecuatorial	Ecuatorial	Ligeramente ecuatorial	Ligeramente ecuatorial	Ligeramente postecuatorial	Ligeramente preecuatorial	Ligeramente preecuatorial	Ecuatorial
Glándulas vitelógenas	Desde la faringe hasta ½ de los ciegos; Extracecales	Desde la bifurcación de los ciegos hasta la ½ de los ciegos; extracecales	Desde la segunda parte del esófago hasta la ½ de los ciegos; cecales y extracecales	Desde la primera parte del esófago hasta la ½ de los ciegos; cecales y extracecales	Desde la ½ del esófago hasta la ½ de los ciegos; extracecales	Desde la ½ o ¼ del esófago hasta la ½ de los ciegos; extracecales	Desde la faringe por arriba del poro genital hasta la ½ de los ciegos; cecales y extracecales	Desde la el inicio del esófago hasta 1/3 de los ciegos; cecales y extracecales	Desde la ventosa oral hasta ¼ de los ciegos; extracecales
Largo del cuerpo	0.526-1.610 (1.013)	1.345-1.444	2.496	2.110	1.71-2.356	0.99-1.12	1.066-2.370	0.60-0.75	0.615-0.750
Ancho del cuerpo (a nivel del acetábulo)	0.073-0.988 (0.532)	0.78-0.318	1.232	1.106	0.244-0.390	-	0.787-1.476	0.38-0.55	0.47-0.52

(-) no fue medido. (**) El dibujo original de la especie se presenta la vesícula excretora en forma de Y.

Tabla XI. Tabla comparativa de las características diagnósticas de las especies del género *Langeronia* (características y medidas tomadas de las descripciones originales y del examen del material tipo) (continuación).

Carácter	<i>L. macrocirra</i>	<i>L. macrocirra</i>	<i>L. macrocirra</i>	<i>L. macrocirra</i>	<i>L. provitellaria</i>	<i>L. parva</i>	<i>L. jimenezi</i>	<i>L. burseyi</i>	<i>L. brenesi</i>
Ancho del cuerpo (al nivel de los testículos)	0.091-0.988 (0.654)	0.796-0.896	1.338	1.235	1.025-1.235	0.422-0.462	-	0.9006	0.066-0.069
Cutícula	0.003-0.005 (0.003)	0.003-0.004	0.003	0.003	0.003-0.005	0.003	0.002-0.006	0.002	0.0025
Esófago largo	0.019-0.290 (0.093)	0.97-0.202	0.308	0.020	0.102-0.286	0.132-0.182	0.055-0.195	0.023-0.028	0.065-0.090
Esófago ancho	0.011-0.034 (0.019)	0.025-0.043	0.051	0.051	0.019-0.034	0.026-0.33	0.035-0.064	0.012-0.015	0.1029-0.1286
Largo de la ventosa oral	0.053-0.166 (0.097)	0.131-0.143	0.120	0.093	0.129-0.190	0.80-0.106	0.100-0.185	0.095-0.105	0.075-0.115
Ancho de la ventosa oral	0.065-0.178 (0.111)	0.143-0.148	0.120	0.131	0.163-0.218	0.099-0.112	0.123-0.195	0.070-0.093	0.0775-0.1123
Largo del acetábulo	0.065-0.178 (0.111)	0.148-0.160	0.121	0.120	0.163-0.190	0.092-0.112	0.092-0.201	0.075-0.105	0.065-0.105
Ancho de acetábulo	0.065-0.166 (0.108)	0.156-0.197	0.116	0.124	0.169-0.211	0.099-0.119	0.121-0.187	0.078-0.098	0.0968-0.1007
Largo de la faringe	0.027-0.073 (0.044)	0.062-0.074	0.058	0.058	0.058-0.210	0.040-0.046	0.047-0.086	0.060-0.068	0.024-0.025
Ancho de la faringe	0.019-0.081 (0.046)	0.062-0.074	0.058	0.065	0.102-0.286	0.053-0.066	0.041-0.082	0.038-0.045	0.0348
Largo de la prefaringe	Hasta 0.054 (0.013)	-	-	-	-	0.020-0.046	Presente	-	-
Ancho de la prefaringe	Hasta 0.581 (0.218)	-	-	-	-	0.022-0.046	Presente	-	-
Largo de los ciegos	0.217-0.909 (0.434)	0.619-0.631	1.288	0.862	0.903-1.120	0.591-0.874	0.533-1.230	0.411-0.384	0.130-0.190

(-) no fue medido.

Tabla XI. Tabla comparativa de las características diagnósticas de las especies del género *Langeronia* (características y medidas tomadas de las descripciones originales y del examen del material tipo) (continuación).

Caracter	<i>L. macrocirra</i>	<i>L. macrocirra</i>	<i>L. macrocirra</i>	<i>L. macrocirra</i>	<i>L. provitellaria</i>	<i>L. parva</i>	<i>L. jimenezi</i>	<i>L. burseyi</i>	<i>L. brenesi</i>
Ancho de los ciegos	0.019-0.095 (0.046)	0.071-0.080	0.1414	0.128	0.061-0.150	0.077-0.102	0.41-0.131	0.077	0.0514
Largo del ovario	0.046-0.174 (0.094)	0.102-0.152	0.162	0.151	0.143-0.230	0.106-0.119	0.148-0.246	0.056-0.090	0.086-0.090
Ancho del ovario	0.038-0.232 (0.098)	0.102-0.143	0.209	0.166	0.156-0.252	0.113-0.132	0.172-0.287	0.056-0.100	0.098-0.108
Largo de los huevos	0.011-0.023 (0.018)	0.016-0.017	0.023	0.023	0.019-0.022	0.014-0.016	0.017-0.021	0.023-0.028	0.024
Ancho de los huevos	0.007-0.012 (0.009)	0.011-0.012	0.011	0.012	0.010-0.011	0.009-0.010	0.010-0.012	0.012-0.015	0.013
Largo del testículo (Izquierdo)	0.054-0.224 (0.120)	0.152-0.188	0.271	0.139	0.136	0.112-0.132	0.205-0.353	0.092-0.155	0.095-0.108
Ancho del testículo (Izquierdo)	0.042-0.213 (0.111)	0.114-0.202	0.220	0.193	0.254	0.130-0.132	0.197-0.443	0.098-0.0163	0.130-0.0142
Largo de testículo (derecho)	0.058-0.251 (0.121)	0.123-0.160	0.275	0.155	0.177	0.129-0.132	0.164-0.369	0.110-0.125	0.085-0.096
Ancho de testículo (derecho)	0.038-0.259 (0.115)	0.082-0.205	0.205	0.174	0.132	0.130-0.132	0.164-0.361	0.125-0.188	0.135-0.165

(-) no fue medido.

Tabla XI. Tabla comparativa de las características diagnósticas de las especies del género *Langeronia* (características y medidas tomadas de las descripciones originales y del examen del material tipo) (continuación).

Caracter	<i>L. macrocirra</i>	<i>L. macrocirra</i>	<i>L. macrocirra</i>	<i>L. macrocirra</i>	<i>L. provitellaria</i>	<i>L. parva</i>	<i>L. jimenezi</i>	<i>L. burseyi</i>	<i>L. brenei</i>
Distancia del EA al límite anterior de las GV (lado izquierdo)	0.079-0.526 (0.180)	0.295	0.334	0.308	0.437	0.411	-	0.180	0.141
Distancia del EA al límite anterior de las GV (lado derecho)	0.079-0.319 (0.172)	0.315	0.385	0.283	0.463	0.424	-	0.180	0.128
Distancia del límite posterior de las GV al EP (lado izquierdo)	0.318-0.972 (0.606)	0.827	1.646	1.312	2.084	0.990	-	0.746	0.617
Distancia del límite posterior de las GV al EP (lado derecho)	0.302-1.00 (0.604)	0.784	1.595	1.363	2.290	1.01	-	0.746	0.656

(-) no fue medido. EA = Extremo anterior del cuerpo; GV = Glándulas vitelógenas; EP = Extremo posterior del cuerpo.

6. CONCLUSIONES

- Se establece el registro de *Langeronia macrocirra* en ocho nuevas localidades (San José Independencia, Chapultepec, Tehuantepec, Oaxaca; Laguna Yalahau, Yucatán; Coquimatlán y La Parotita, Colima; Jardín Botánico, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas; La Laguna, Higuera, Nuevo León) y tres especies de hospederos no registrados anteriormente: *Rana brownorum*, *Rana* sp. y *Rana* sp. "forma Colima"*.
- El análisis de componentes principales sugiere la existencia de variación intraespecífica de una especie del género, *Langeronia macrocirra*.
- Las secuencias de la región ITS-2 del rDNA no son informativas a este nivel taxonómico del género *Langeronia*.
- Acorde con las secuencias parciales de CO1 del mtDNA se encontró que existen 3 grupos, que no concuerdan con los grupos morfológicos identificados con la taxonomía actual, y que no presentan una estructura geográfica definida.
- La ausencia de estructura geográfica y la discontinuidad filogenética, sugiere la existencia de una reciente introgresión de mtDNA, una retención de polimorfismos ancestrales, o una combinación de ambos procesos.
- A partir del estudio taxonómico morfológico y molecular de las especies se reconocen como válidas solo tres especies del género *Langeronia*: *L. brenesi*, *L. burseyi* y la especie *L. macrocirra*.
- *Langeronia macrocirra* es una especie polimórfica que presenta variación principalmente en la forma del cuerpo, presencia o ausencia de la prefaringe, en la localización del poro genital y en la distribución y forma de las glándulas vitelógenas.
- Para poder resolver las afinidades geográficas de las poblaciones de *L. macrocirra*, se sugiere ampliar el número de muestras, así como probar otros marcadores moleculares.

*Consultar el trabajo de Zaldívar-Riverón *et al.* (2004), para la identidad de estas especies de ranas.

7. LITERATURA CITADA.

- AGATSUMA, T., Y. ARAKAWA., M. IWAGAMI., Y. HONZAKO., V. CAHYANINGSIH., K. S. YONG., AND H. S. JONG.** 2000. Molecular evidence of natural hybridization between *Fasciola hepatica* and *F. gigantica*. *International for Parasitology*, 49(3): 231 - 238.
- ALARD, R. D., S. C. BARKER., D. BLAIR, AND T. H. CRIBB.** 1993. Comparison of the second internal transcribed spacer (ribosomal DNA) from populations and species of Fasciolidae (Digenea). *International Journal for Parasitology*, 23: 423 - 426.
- ANDERSON, G. R., AND S. C. BARKER.** 1993. Species differentiation in the Didymozoidae (Digenea): restriction fragment length differences in internal transcribed spacer and 5.8s ribosomal DNA. *International Journal of Parasitology*, 23(1): 133 - 136.
- ANDERSON, T., M. S. BLOUIN, AND R. N. BEECH.** 1998. Population biology of parasitic nematodes: Applications of genetic markers. *Advances in Parasitology*, 41: 219-283.
- ARBOGAST, B. S., AND G. J. KENAGY.** 2001. Comparative phylogeography as an integrative approach to historical biogeography. *Journal of Biogeography*, 28: 819-825.
- ATTWOOD, S. W., E. S. UPATHAM., X. H. MENG., D, C, QIU., AND V. R. SOUTHGATE.** 2002. The phylogeography of Asian *Schistosoma* (Trematoda: Schistosomatidae). *Parasitology*, 125: 99-112.
- AVISE, J. C.** 2000. *Phylogeography. The history and formation of new species.* Massachusetts: Harvard University Press, 447pp.
- AVISE, J. C., J. ARNOLD., JR. R. M. BALL., E. BERMINGHAM., T. LAMB., J. E. NEIGEL., C. A. REEB, AND N. C. SAUNDERS.** 1987. Intraespecific phylogeography: the mitochondrial DNA Bridge between populations genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18: 489-522.
- BABERO, B. B., Y K. GOLLING.** 1974. Some helminthes parasites of Nevada bullfrogs, *Rana catesbeiana* Shaw. *Revista de Biología Tropical. Universidad de Costa Rica*, 21: 207-220.
- BARTOLI, P., R.A. BRAY AND D. I. GIBSON.** 1989. The Opecoelidae (Digenea) of sparid fishes of the western Mediterranean. III. *Macvicaria* Gibson and Bray, 1982. *Systematic Parasitology*, 13: 167-92.
- BAVERSTOCK, P. R., A. FIELKE., A. M. JOHNSON., R. A. BRAY, AND I. BEVERIDGE.** 1991. Conflicting phylogenetic hypotheses for the parasitic platyhelminths tested by partial sequencing of 18s ribosomal RNA. *International Journal for Parasitology*, 21(3): 329-339.
- BELL, A. S., C. SOMMERVILLE., E. TELLERVO V.** 2001. A molecular phylogeny of the genus *Ichthyocotylurus* (Digenea, Strigeidae). *International Journal for Parasitology*, 31: 833-842.

- BLAIR, D.** 2000. Genomes of *Paragonimus westermani* and related species: current state of knowledge. *International Journal for Parasitology*, 30: 421-426.
- BLAIR, D., L. VAN HERWERDEN., H. HIRAI., S. HEBE., M. HIRATA., K. LAI., S. UPATHAM AND T. AGATSUMA.** 1997. Relationships between *Schistosoma malayensis* and other Asian Schistosomes deduced from DNA sequences. *Molecular Biochemical Parasitology*, 85: 259-263.
- BLOUIN, M. S.** 2002. Molecular prospecting for cryptic species of nematodes: mitochondrial DNA versus internal transcribed spacer. *International Journal for Parasitology*, 32: 527 - 531.
- BOGÉA, T., AND J. N. CAIRA.** 2001. Chaetotaxy and ultrastructure of sensorial receptors in cercaria species of *Allassogonoporus* Olivier, 1938 (Digenea: Lecithodendriidae). *Systematic Parasitology*, 50: 1-11.
- BOWLES, J. M. HOPE., W. U. TIU., X. S. LIU., AND D. P. MACMANUS.** 1993. Nuclear and mitochondrial genetic marker highly conserved between Chinese and *Philippine Schistosoma japonicum*. *Acta Tropica*, 55: 217-229.
- BOWLES, J., D. BLAIR AND D. P. MACMANUS.** 1995. A molecular phylogeny of the human schistosomes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 4(2): 103-109.
- BREMER, K.** 1988. The limits of amino sequence data in angiosperm phylogenetic reconstruction. *Evolution*, 42: 795-803.
- BRENES, R. R., ARROYO, G. S., Y DELGADO, E. F.** 1959. Helmintos de la República de Costa Rica XI. Sobre la validez del género *Langeronia* Caballero y Bravo, 1949 (Trematoda: Lecithodendriidae) y hallazgo de *Ochetosoma miladelarocai* Caballero y Vogelsang, 1949). *Revista de Biología Tropical, Universidad de Costa Rica*, 7 (1): 81 – 87
- BROOKS, D. R., O. GRADY, R. T., AND AD. R. GLEN.** 1985. Phylogenetic analysis of the Digenea (Platyhelminthes, Cercomera) with comments on their adaptative radiation. *Canadian Journal of Zoology*, 63: 411-443.
- BROOKS, D. R., S. M. BANDONI, C. A. MACDONALD., AND R. T. O'GRADY.** 1989. Aspects of the phylogeny of the Trematoda Ruidolphi, 1808 (Platyhelminthes: Cercomeria. *Canadian Journal of Zoology*, 67: 2609-2624.
- BURSEYI, C. R., AND S. R. GOLDBERG.** 2001. *Falcaustra lowei* n. sp. and other helminths from the Tarahumara frog, *Rana tarahumarae* (Anura: Ranidae), From Sonora, México. *Journal of Parasitology*, 87 (2): 340 – 344.

- CABALLERO Y C. E.** 1958. Estudios helmintológicos en la región oncocercosa de México y de la República de Guatemala. Nematoda. Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. México, 9: 61 – 76.
- CABALLERO Y C. E., Y BRAVO- HOLLIS, M.** 1949. Description d'un Nouveau Genre Pleurogeninae (Trematoda: Lecithodendriidae) de Grenouilles du Mexique (1). *Langeronia macrocirra* n. g. n. sp. Annales de Parasitologie Humaine et Comparée, 24 (3-5): 193 – 199.
- CABALLERO Y C. E., Y BRAVO-HOLLIS, M.** 1950. Tremátodos de los murciélagos de México. VI. Descripción de una nueva especie de *Limatulum* (Trematoda: Lecithodendriidae) Anales del Instituto de Biología. UNAM. 21(2): 345-350.
- CABALLERO, C. E.** 1943. Algunas especies de tremátodos de los murciélagos de la región de Izúcar de Matamoros, Puebla. V. Anales del Instituto de Biología UNAM. 14(2): 423-430.
- CABALLERO, C. E. Y C. ZERECERO.** 1942. Tremátodos de los murciélagos de México. II. Redescrición y posición sistemática de *Distomum tubiporum* Braun, 19000. Anales del Instituto de Biología, UNAM. 13(1): 97-104.
- CABALLERO, E., ET G. R. CABALLERO.** 1969. Un trématode nouveau. Parasite de *Rana pipiens* Schreber, 1872 de la République de Costa Rica (Amérique centrel). Annales de Parasitologie, 44(5): 539-546.
- CRAWFORD, W.W.** 1938. Observations on the life cycle of *Loxogenes* Nickerson (Trematoda). Journal for Parasitology, 24: 35-44.
- CRAXTON, M.** 1991. Linear amplification sequencing: a powerful method for DNA sequencing. Methods, 3: 20-24.
- CRISTIAN, F. A.** 1970. *Langeronia parva* sp. n. (Trematoda: Lecithodendriidae) with Revision of the Genus *Langeronia* Caballero and Bravo-Hollis, 1949. Journal of Parasitology, 56(2): 321 – 324.
- DAILEY, M. D., AND GOLDBERG, S. R.** 2000. *Langeronia burseyi* sp n. (Trematoda: Lecithodendriidae) from the California Treefrog, *Hyla cadaverina* (Anura: Hylidae), with Revision of the Genus *Langeronia* Caballero and Bravo-Hollis, 1949. Comparative Parasitology, 67 (2): 203-240.
- DEPRÈS, L., F. J. KRUGER., E.D. IMBERT., AND M. L. ADAMSON.** 1995. ITS2 ribosomal RNA indicates *Schistosoma hippopotami* a distinct species. International Journal for Parasitology, 25: 1501-1514.
- DUBOIS, G.** 1955. Les Trématodes de Chiroptères de la collection Villy Aellen. Review Suisse Zool, 62(3): 469 – 506.

- EWING, T. E., AND R. F. LÓPEZ.** 1991. Principle structural features. In: Salvador, A. (Ed.), The Gulf of Mexico Basin: The Geology of North America, Vol. J, plate 2. Geol. Soc. Am., Boulder, CO.
- FAUSSER, J. L., P. PROSPER, G. DONATI., J. B. RAMANAMANJATO, AND Y. RUMPLER.** 2002. Phylogenetic relationships between *Hapalemur* species and subspecies based on mitochondrial DNA sequences. *Evolutionary Biology*, 2(4): 1-9
- FERRARI, L., S. CINTICELLI., G. VAGELLI., C. M. PEYRONE, AND P. MANETTI.** 2000. Late Miocene volcanism and inter-arc tectonics during the early development of the Trans-Mexican Volcanic Belt. *Tectonophysics*, 318: 161-185.
- FERRER, J. R., M. GRACENEA., M. TRULLOLS, AND O. GONZÁLEZ.** 1996. Ultrastructural observations of the tegument of *Postorchigenes gymnesicus* (Digenea: Lecithodendriidae). *Journal of Helminthology*, 70:13-19
- FERRUSQUÍA, I.** 1998. Geología de México: una sinopsis. En: *Diversidad Biológica de México*. Ramammorty, T. P., R. Bye, A. Lot. F. (eds). Instituto de Biología, UNAM. Pp. 3-108.
- FITCH, D. H. A., B. BUGAJ- GAWEDA, AND S. W. EMMONS.** 1995. 18S ribosomal RNA gene phylogeny for some rhabditidae related to *Caenorhabditis*. *Molecular Biology and Evolution*, 12: 346- 358.
- FLORES-VILLELA, O.** 1993. Herpetofauna Mexicana. Lista anotada de las especies de anfibios y reptiles de México, cambios taxonómicos recientes, y nuevas especies. *Carnegie Museum Natural History. Special Publications* 17: 1-73.
- FLORES-VILLELA, O. Y GOYENECHEA I.** 2003. Patrones de distribución de anfibios y reptiles en México. En: *Una perspectiva Latinoamericana de la Biogeografía*. Morrone, J.J. y J. Llorente B. (Eds.). CONABIO, Posgrado de la UNAM y Facultad de Ciencias, UNAM. Pp.289–296.
- FRANSEN, F.** 1978. Hybridization between different strains of *Schistosoma intercalatum* Fisher, 1934 from Cameroun and Zaire. *Journal of Helminthology*, 52: 11-22
- FROST, D. R.** 1985. Amphibian species of the world, a taxonomic and geographical reference. *Associations of Systematics and Collections, Lawrence, Kansas*, 732pp.
- GASSER, R. B., Y H. HOSTE.** 1995. Genetic marker for closely related parasitic nematodes. *Molecular and Cellular Probes*, 9: 315-32.
- GASSER, R. B., X. ZHU AND D. P. MACMANUS.** 1999. NADH deshydrogenase subunit 1 and cytochrome c oxidase subunit I sequences compared for members of the genus *Taenia* (Cestoda). *International Journal for Parasitology*, 29: 1965-1970.

- GOODMAN, J. D.** 1989. *Langeronia brenesi*, new species (Trematoda: Lecithodendriidae) in the mountain yellow-legged frog *Rana muscosa* from Southern California (USA). Transactions of the American Microscopical Society, 108: 387-393.
- GRISSE DE A. AND P. A. A. LOOF.** 1970. Intraspecific variation in some criconematidae (Nematoda). Mededeligen Fakulteit Landbrouw- Wetenschappen. Genetica, 35: 4 -63.
- GUILLÉN, H. S., SALGADO, M. G., Y LAMOTHE A. R.** 1999. Digenean (Platyhelminthes: Trematoda) of seven Sympatric Species of Anurans from Los Tuxtlas, Veracruz, México. Studies of Neotropical Fauna and Environment, 34: 1-5.
- HALL, T.** 2001. Bioedit. Version 5.0.0. North Carolina Sate University, Department of Microbiology. 186pp.
- HILLIS, D. M.** 1988. Systematics of the *Rana pipiens* complex: puzzle and paradigm. Annual Review Ecology and Systematic, 19: 39-63.
- HILLIS, D. M., AND J. P. HULSENBECK.** 1992. Signal, noise, and reliability in molecular phylogenetic analysis. Journal of Heredity, 83: 189-195.
- HILLIS, D. M., B. K MABLE, A. LARSON., S. K. DAVIS AND E. A. ZIMMER.** 1996. Sequencing and cloning. In: Molecular Systematics. D. M. Hillis, C. Moritz, and B. K. Mable, (Eds.). Sinauer, Sunderland, MA. P: 321 – 378.
- HONG, S. J., J. Y. CHAI AND S. H. LEE.** 1991. Surface ultrastructure of the developmental stages of *Heterophys continua* (Trematoda: Heterophyidae). Journal for Parasitology, 77(4): 613-620.
- HOWARD, D. J., AND S. H. BERLOCHER.** 1998. Edless forms. Species and speciation. Oxford University Press. 470pp.
- HUNG, G. C. CHILTON, N. B., BEVERIDGE, I., Q. ZHU, J. R. LICHTENFELS, AND R.GASSER.** 1999. Molecular evidence for cryptic species within *Cyclostephanus minutus* (Nematoda: Strongylidae). International Journal for Parasitology, 29: 285 - 291.
- IRUEGAS, B., F. J., Y SALINAS L., N.** 1989. Trematodos de Anfibios de Nuevo León, México. I. *Langeronia jimenezi* Nueva Especie (Trematoda: Lecithodendriidae) en *Rana pipiens*. The Southwestern Naturalist, 34(3): 369 – 373.
- IWAGAMI, M., L. Y. HO., K. SU., P.F. LAI., M. FUKUSHIMA., M. NAKANO., D. BLAIR, K. KAWASHIMA AND T. AGATSUMA.** 2000. Molecular phylogeographic studies on *Paragonimus westermani* in Asia. Journal of Helminthology, 74: 315-322.
- JOUSSON, O., AND P. BARTOLI.** 2001. Molecules, morphology and morphometrics of *Cainocreadium labracis* and *Cainocreadium dentecis* n. sp. (Digenea: Opecoelidae) parasitic in marine fishes. International Journal for Parasitology, 31: 706-714.

- JOUSSON, O., P. BARTOLI AND J. PAWLOWSKI.** 1998. Molecular Phylogeny of *Mesometridae* (Trematoda, Digenea) with its relation to Morphological Changes in Parasites. *Parasite*, 5: 365 - 369.
- KOONCHORNBOON, P. S., H. C. YUAN., E. S. UPATHAM., P. SAITONGDEE., M. KRAUTRACHUE., P. BUBPHANIROJ, AND P. VONGPAYABAL.** 1986. Comparison of the surface morphology of adult *Schistosoma japonicum* (Chinese, Philippine and Indonesian strains) by scanning electron microscopy. *International Journal for Parasitology*, 16(3): 205-216.
- KOSTADINOVA, A., D. I. GIBSON, V. BISERKOV., AND R. IVANOVA.** 2000. A quantitative approach to the evaluation of the morphological variability of two echinostomes, *Echinostoma miyagawai* Ishii, 1932 and *E. revolutum* (Frolich, 1802), from Europe. *Systematic Parasitology*, 45 (1): 1-15
- KRUGER, F. L.** 1990. Frequency and possible consequences of hybridisation between *Schistosoma haematobium* and *S. mattheei* in the Eastern Transvaal Loveld. *Journal of Helminthology*, 64: 333- 336.
- KRUGER, F. L. AND V. L. HAMILTON. A.** 1988. Scanning electron microscope studies of miracidia suggest introgressive hybridization between *Schistoma haematobium* and *S. haematobium* x *S. mattheei* in the Eastern Transvaal. *Journal of Helminthology*, 62: 141-147.
- LAMOTHE, A. R.** 1997. Manual de técnicas para preparar y estudiar los parásitos de animales silvestres. A.G.T. Editor. México, D. F. 43p.
- LAMOTHE, A. R. Y R. PINEDA.** 1989. Tremátodos de Mamíferos. IV. Descripción de un género y especie nuevos (Trematoda: Lecithodendriidae) parásito de marsupiales de Tabasco, México y creación de una nueva subfamilia. *Universidad y Ciencia*, 6(12): 5-10
- LARIOS, I.** 1943. Dos especies de tremátodos encontrados en el aparato digestivo de aves acuáticas migratorias. *Anales del Instituto de Biología. UNAM.* 14(2): 499-506.
- LATINERI, A., Y V. A. CONFALONIERI.** 2003. Filogeografía: objetivos, métodos y ejemplos. *En: Una perspectiva Latinoamericana de la Biogeografía.* Morrone, J.J. y J. Llorente B. (Eds. CONABIO, Posgrado de la UNAM y Facultad de Ciencias, UNAM. Pp: 185 – 193.
- LE, T. H., D. BLAIR., T. AGATSUMA., M. IWAGAMI., P. HUMAIR., N. J. H. CAMPBELL, D. T. J. LITTLEWOOD., B. PEACOCK., D. A. JOHNSTON., J. BARTLEY., D. ROLLINSON., E. A. HERNIOU., D. S. ZARALEGA, AND D. P. MACMANUS.** 2000. Phylogenies inferred from mitochondrial gene orders – a cautionary tale from the parasitic flatworms. *Molecular Biology and Evolution*, 17: 1123-1125.

- LEIGNEL, V., J. F. HUMBERT, AND L. ERLARD.** 1997. Study by ribosomal DNA ITS 2 sequencing and RAPD Analysis on the systematics of four *Metastrongylus* species (Nematoda: Metastrongyloidea). *Journal of Parasitology*, 83(4): 606 - 611.
- LEIGNEL, V., J. CABARET, AND J. F. HUMBERT.** 2002. New molecular evidence that *Teladorsagia circumcincta* (Nematoda: Trichostrongylidae) is a species complex. *Journal for Parasitology*, 88(1): 135-140.
- LEÓN-RÉGAGNON, R. V., D. R. BROOKS AND G. PÉREZ-PONCE DE LEÓN.** 1999. Differentiation of Mexican species of *Haematoloechus* Loss, 1899 (Digenea: Plagiorchiiformes): Molecular and Morphological evidence. *Journal of Parasitology*, 85 (5): 935 -946.
- LEÓN-RÉGAGNON, V.** 2003. Incorporating morphological and molecular data in biodiversity inventories: parasites of leopard frogs. *Journal of Parasitology*, 89(suplement): s141-148.
- LIU, J., R. E BERRY, AND A. F. MOLDANKE.** 1997. Phylogenetic relationships of Entomopathogenic Nematodes (Heterorabditidae and Steinernematidae) inferred from partial 18s rRNA gene sequences. *Journal of Invertebrate Pathology*, 69: 246 – 252.
- LIU, J., R. E. BERRY AND M. S. BLOUIN.** 1999. Molecular Differentiation and Phylogeny of Entomopathogenic Nematodes (Rhabditida: Heterorabditidae) based on ND4 Gene Sequences of Mitochondrial DNA. *Journal of Parasitology*, 85: 709 – 715.
- LOOSS, A.** 1902. Weitere Beiträge zur Kenntnis der Trematoden-fauna Aegyptens, zugleich Vorseuch einer natürlichen Gliederung des Genus *Distomum* Reitzius. *Zoologischer Jahrbücher, Abteilung für Systematik* 12: 521-784.
- LÜHE, M. F. W.** 1901. Zweie neue Distomen aus indischen Anuren. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektions-krankheiten, I. Abteilung*, 30: 166-177
- LUNASCHI, L.** 2002. Redescrición y comentarios taxonómicos sobre *Ochoterenatrema labda* (Digenea: Lecithodendriidae), parásito de quirópteros en México. *Anales del Instituto de Biología, UNAM*. 73(1): 11-18.
- LUTON, K., D. WALKER, AND D. BLAIR.** 1992. Comparison of ribosomal internal transcribed spacers from two congeneric species of flukes (Platyhelminthes: Trematoda: Digenea). *Molecular and Biochemical Parasitology*, 56: 323-328.
- MACHADO, S. J. R., C. GALVAO., O. A. PRESGRAVE, AND L. D.C. GOMES.** 1994. Host-induced morphological changes of *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 male worms. *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz*, 89 (3): 411-116.
- MARSHALL, C. J., AND J. K. LIEBHERR.** 2000. Cladistic Biogeography of the Mexican transition zone. *Journal of Biogeography*, 27: 203-216

- MASTA, S. E., B. K. SULLIVAN, T. LAMB, AND E. J. ROUTMAN.** 2002. Molecular systematics, hybridization, and phylogeography of the *Bufo marinus* complex in Eastern North American. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 24: 302-314.
- MORGAN, J. A., AND D. BLAIR.** 1998. Relative merits of nuclear ribosomal internal transcribed spacer and mitochondrial COI and NDI genes for distinguishing among *Echinostoma* species (Trematoda). *Parasitology*, 116: 289-297
- MULCAHY, D. G. AND J. R. MENDELSON III.** 2000. Phylogeography and speciation of the morphological variable, widespread species *Bufo valliceps*, based on molecular evidence from mtDNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 17: 73-189.
- MURRAY, V.** 1989. Improved double stranded DNA sequencing using the linear polymerase chain reaction. *Nucleic Acids Research*, 17: 88-89.
- NADLER, S. A.** 1990. Molecular approaches to studying helminth population genetics and phylogeny. *International Journal for Parasitology*, 20: 11-29.
- NADLER, S. A.** 1992. Phylogeny of some ascaridoid nematodes, inferred from comparison of 18S and 28S sequences. *Molecular Biology and Evolution*, 9: 932- 944.
- NADLER, S. A., R. L. LINDQUIST AND T. J. NEAR.** 1995. Genetic structure of Midwestern *Ascaris suum* populations: a comparison of isoenzyme and RAPD markers. *Journal of Parasitology*, 81: 385 – 394.
- OCHI, S.** 1930. Ueber die Entwicklung von *Loxogenes liberum* Seno Igakkai Zasshi, 42: 794-805.
- ODENNING, K.** 1959. Das Exkretionssystem von *Omphalometra* und *Brachycoelium* (Trematoda, Digenea) und die Taxonomie der Unterordnung Plagiorchiata. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 19: 442-457.
- ODHNER, T.** 1910. Nordostafrikanische Trematoden, grösstentelns vom Weissen Nil (von der schweidischen zoologischen Expedition gesammelt). Results of the Swedish Zoological Expedition to Egypt and White Nile (1910) (Jägerskiöld) 23 A; 170.
- OKABE, K.** 1937. An addition to the list of the first intermediate hosts of *Loxogenes liberum* Seno. *Zool. Mag. Tokyo*. 49: 486.
- PALUMBI, S.** 1996. The polymerase Chain Reaction. *In*. *Molecular Systematics*, D. M. Hillis, C. Moritz, and B. K. Mable, (Eds.). Sinauer, Sunderland, M.A., P: 205-247.
- PÉREZ- HIGAREDA, G., AND L. D. NAVARRO.** 1980. The faunistic districts of the low plains of Veracruz based on reptilian and mammalian data. *Bull. Maryland Herpetol. Soc.* 16: 54-69.

- PÉREZ-PONCE DE LEÓN, G.** 1995. Host-Induced Morphological Variability in Adult *Posthodiplostomum minimum* (Digenea: Neodiplostomidae). *Journal of Parasitology*, 81(5): 818- 820.
- PEREZ-PONCE DE LEON, G., V. LEON-REGAGNON, AND F. GARCIA.** 1996. Helminth parasites of bats from the Neotropical Region of México. *Bat Research News*, 37(1): 3-6.
- PÉREZ-PONCE DE LEÓN, L. GARCÍA-PRIETO, AND U. RAZO-MENDIVIL.** 2002. Species richness of helminth parasites in Mexican amphibians and reptiles. *Diversity and Distributions*, 8: 211-218.
- PÉREZ-PONCE DE LEÓN, G., V. LEÓN-RÈGAGNON., L. GARCÍA-PRIETO, U. RAZO-MENDIVIL AND A. SÁNCHEZ-ALVAREZ.** 2000. Digenean fauna of amphibians from central Mexico: nearctic and neotropical influences. *Journal of Comparative Parasitology*, 67(1): 92-106.
- PODYZNAYA, I. M.** 1986. Surface ultrastructure of two species of Allasogonopoinae and Lecithodendriidae (Trematoda, Plagiorchiida). *Trudy Zoologicheskogo Instituta (Morfologiya, sistematika i faunistika paraziticheskikh Zhivotnykh*, 155: 94-104.
- PONCE G. F., AND C. CUESTA B.** 1997. Differentiation of Spanish strains of *Echinococcus granulosus* using larval rostellar hook morphometry. *International Journal for Parasitology*, 27 (1): 41-49
- PRUDHOE, S. A. AND BRAY, A. R.** 1982. *Platyhelminth Parasites of the Amphibian*. British Museum (Natural History). Oxford University Press. 217pp.
- QUIAGEN.** 2002. QUIAGEN genomic DNA Hand book. QUIAGEN GmbH and QUIAGEN Inc.
- ROLLINSON, D., T. K. WALKER AND A. J. G. SIMPSON.** 1986. The application of recombinant DNA technology to problems of helminth identification. *Parasitology*, 92: s53-s71.
- SACKS, M.** 1952. *Langeronia provitellaria* (Lecithodendridae) a new species of trematode from *Rana pipiens sphenoccephala*. *Transactions of American Microscopical Society*, 71: 267-269.
- SANGER, F., S. NICKLEN., AND A. R. COULSON.** 1977. DNA Sequencing with Chain Terminating Inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA.*, 74: 5463-5468.
- SCHROTH, W., G. JARMS., B. STREIT, AND B. SCHEIRWATER.** 2002. Speciation and phylogeography in the cosmopolitan marine moon jelly, *Aurelia* sp. *Evolutionary Biology*, 2: 1-10.
- STAFFORD, E. W.** 1905. Trematodes from Canadian vertebrates. *Zool. An. Bol.* 2BS: 289-402.

- STAFFORD, E. W.** 1931. Platyhelminths in aquatic insects and crustaceans. *Journal of Parasitology*, 18: 131.
- STEVENSON, L. A., R. B. GASSER, AND N. B. CHILTON.** 1996. The ITS-2 rDNA of *Teladorsagia circumcincta*, *T. trifurcata* and *T. davtiani* (Nematoda: Trichostrongylidae) indicates that these taxa are one species. *International Journal for Parasitology*, 26 (10): 1123-1126.
- STOCK, S. P., AND H. K. KAYA.** 1996. A multivariate analysis of morphometric characters of *Heterorhabditis* species (Nemata: Heterorhabditidae) and the role of morphometrics in the taxonomy of species of the genus. *Journal of Parasitology*, 82(5): 806 - 813.
- SWOFFORD, D. L.** 1998. PAUP. Phylogenetic analysis using parsimony and other methods. Ver. 4.0b8. Sinauer, Associates Sunderland, Massachusetts.
- THOMPSON R. C. A.** 1978. Aspects of speciation in *Echinococcus granulosus*. *Veterinary Parasitology*, 4: 121-125.
- THOMPSON, J. D., D. G. HIGGINS, AND T. J. GIBSON.** 1994. Clustal W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequences weighting, position-specifying gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22: 4673 - 4680.
- THORPE, R. A. AND A. MALHOTRA.** 1996. Molecular and Morphological evolution within small islands. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B-Biological Sciences* 351(1341): 815-822.
- THREADGOLD, L. T.** 1984. Parasitic plathyhelminths. In: *Biology of the tegument*, Vol. 1. Invertebrates. Chapter 11. Springer, Berlin. 132-191pp.
- TKACH, V., D. T. J. LITTLEWOOD., P. D. OLSON., J. M. KINSELLA AND Z. SWIDERSKI.** 2003. Molecular phylogenetic analysis of the Microphalloidea Ward, 1901 (Trematoda: Digenea). *Systematic Parasitology*, 56: 1-15.
- TKACH, V., J. PAWLOSKI, AND J. MAIAUX.** 2000. Phylogenetic analysis of the suborder Plagiorchiata (Platyhelminthes, Digenea) based on partial 18S rDNA sequences. *International Journal for Parasitology*, 30: 83-93.
- TRAVASSOS, L.** 1921. Contribuicoes para o conhecimento da fauna Helminologica Brasileira. XV. Sobre as especies brasileiras da familia Lecithodendriidae Oehner, 1910. *Archivos da Escola Superior da Agricultura e Medicina Veterinaria*, 1(1-2): 265-268.
- TCHUEM, L. A., V. R. SOUTHGATE., J. JOURDANE., A. KAUKAS AND J. VERCRUYSE.** 1997. Hybridisation between the digeneans *Schistosoma haematobium* and *S. mattheei*: viability of hybrids and their development in sheep. *Systematic Parasitology*, 36: 123-131.

- UBELAKER, J. E.** 1965. The taxonomic status of *Langeronia* Caballero and Bravo-Hollis, 1949 with the synonymy of *Loxogenes provitellaria*, Sacks, 1952 with *Loxogenes macrocirra* Caballero and Bravo-Hollis, 1949. Transactions of the Kansas Academy of Sciences, 68(1): 187-190.
- UNNASCH, T., AND P.A ZIMMERMAN.** 1995. Systematics: questions and approaches for the Molecular Parasitologist. In: Molecular Approaches to parasitology, Boothroyd. J. C and K. M. Komunieck (Eds.). Wiley-Liss Inc. New York. P:5-20.
- VAN HERWERDEN, L., D. BLAIR, AND D. AGATSUMA, T.** 1999. Intra- and inter- individual variation in ITS of *Paragonimus westermani* (Trematoda: Digenea) and related species: implications for phylogenetic studies. Molecular Phylogenetics and Evolution, 12(1): 67-73.
- WHALBERG, N., R. OLIVIERA., AND J. S. SCOTT.** 2003. Phylogenetic relationships of *Phycoides* butterfly species (Lepidoptera: Nymphalidae): complex *mtDNA* variation and species delimitations. Systematic Entomology, 28: 257-273.
- WEINS, J. J., AND T. A. PENKROT.** 2002. Delimiting species using DNA and morphological variation and discordant species limits in spiny Lizards (*Sceloporus*). Systematic Biology, 51(1): 69-91
- WILEY, E. O.** 1981. Phylogenetics. The Theory and practice of phylogenetic systematics. John Wiley & Sons., New York.
- YAMAGUTI, S.** 1937. On the second intermediate host of *Loxogenes liberum* Seno 1909. Journal for Parasitology, 23: 431-432.
- YAMAGUTI, S.** 1958. Systema Helminthum. Vol. I. The Digenetic Trematodes of Vertebrates. Interscience Pub. Co. New York, 699pp.
- YAMAGUTI, S.** 1971. Synopsis of Digenetic Trematodes of Vertebrates I. Keigaku Publishing Co. Tokio. I & II. 1074 pp.
- YAMAGUTI, S.** 1975. A Synoptical Review of Life Histories of Digenetic Trematodes of Vertebrates. With Special Reference to the Morphology of their Larval Forms. Publishing Co. Tokyo, 590pp.
- YOUNG, N. D.** 1998. Pacific Coast *Iris* species delimitation using three definitions: biological, phylogenetic and genealogical. Biological Journal of the Linnean Society, 63: 99-120.
- ZALDÍVAR-RIVERÓN. A., V. LEÓN-RÉGAGNON., AND A. NIETO-MONTES DE O.** 2004. Phylogeny of the Mexican coastal leopard frogs of the *Rana berlandieri* group based on *mtADN* sequences. Molecular Phylogenetics and Evolution, 30 (1): 38-39
- ZHU, X., S. D'AMELIO., L. PAGGI, AND R. B. GASSER.** 2000. Assessing sequence variation in the internal transcribed spacers of ribosomal DNA within and among members of the

Contracaecum oculatum complex (Nematoda: Ascaridoidea: Anisakidae). Parasitology Research, 86: 677- 683.

8. APÉNDICES

Apéndice 1. Alineamiento de las secuencias de nucleótidos de la región ITS-2 del rDNA de *Langeronia* sp. Provenientes de 5 localidades de México y 1 de Costa Rica. (-) deleción o inserción; A = adenina, T = Timina, C = Citosina, G = Guanina. La identidad y procedencia de los acrónimos se detalla en la tabla VI.

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	
Ln5	TTATAAATTA	TCACCGCGCA	AAATA TCG	TGGCTTGGGT	TTTCCCACTGGC	T ATT	TCCTTACGAC	TTGTTGCTA	GTGGCCGGAT	TATGGCTTT
Ln6	TTATAAATTA	TCACCGCGCA	AAATA TCG	TGGCTTGGGT	TTTCCCACTGGC	T ATT	TCCTTACGAC	TTGTTGCTA	GTGGCCGGAT	TATGGCTTT
Ln8	TTATAAATTA	TCACCGCGCA	AAATA TCG	TGGCTTGGGT	TTTCCCACTGGC	T ATT	TCCTTACGAC	TTGTTGCTA	GTGGCCGGAT	TATGGCTTT
Ln9	TTATAAATTA	TCACCGCGCA	AAATA TCG	TGGCTTGGGT	TTTCCCACTGGC	T ATT	TCCTTACGAC	TTGTTGCTA	GTGGCCGGAT	TATGGCTTT
Ln10	TTATAAATTA	TCACCGCGCA	AAATA TCG	TGGCTTGGGT	TTTCCCACTGGC	T ATT	TCCTTACGAC	TTGTTGCTA	GTGGCCGGAT	TATGGCTTT
Ln15	TTATAAATTA	TCACCGCGCA	AAATA TCG	TGGCTTGGGT	TTTCCCACTGGC	T ATT	TCCTTACGAC	TTGTTGCTA	GTGGCCGGAT	TATGGCTTT
Ln16	TTATAAATTA	TCACCGCGCA	AAATA TCG	TGGCTTGGGT	TTTCCCACTGGC	T ATT	TCCTTACGAC	TTGTTGCTA	GTGGCCGGAT	TATGGCTTT
Ln17	TTATAAATTA	TCACCGCGCA	AAATA TCG	TGGCTTGGGT	TTTCCCACTGGC	T ATT	TCCTTACGAC	TTGTTGCTA	GTGGCCGGAT	TATGGCTTT
Ln18	TTATAAATTA	TCACCGCGCA	AAATA TCG	TGGCTTGGGT	TTTCCCACTGGC	T ATT	TCCTTACGAC	TTGTTGCTA	GTGGCCGGAT	TATGGCTTT
Ln19	TTATAAATTA	TCACCGCGCA	AAATA TCG	TGGCTTGGGT	TTTCCCACTGGC	T ATT	TCCTTACGAC	TTGTTGCTA	GTGGCCGGAT	TATGGCTTT
Ln20	TTATAAATTA	TCACCGCGCA	AAATA TCG	TGGCTTGGGT	TTTCCCACTGGC	T ATT	TCCTTACGAC	TTGTTGCTA	GTGGCCGGAT	TATGGCTTT
Ln21	TTATAAATTA	TCACCGCGCA	AAATA TCG	TGGCTTGGGT	TTTCCCACTGGC	T ATT	TCCTTACGAC	TTGTTGCTA	GTGGCCGGAT	TATGGCTTT
Ln22	TTATAAATTA	TCACCGCGCA	AAATA TCG	TGGCTTGGGT	TTTCCCACTGGC	T ATT	TCCTTACGAC	TTGTTGCTA	GTGGCCGGAT	TATGGCTTT
Ln23	TTATAAATTA	TCACCGCGCA	AAATA TCG	TGGCTTGGGT	TTTCCCACTGGC	T ATT	TCCTTACGAC	TTGTTGCTA	GTGGCCGGAT	TATGGCTTT
Ln24	TTATAAATTA	TCACCGCGCA	AAATA TCG	TGGCTTGGGT	TTTCCCACTGGC	T ATT	TCCTTACGAC	TTGTTGCTA	GTGGCCGGAT	TATGGCTTT
Ln25	TTATAAATTA	TCACCGCGCA	AAATA TCG	TGGCTTGGGT	TTTCCCACTGGC	T ATT	TCCTTACGAC	TTGTTGCTA	GTGGCCGGAT	TATGGCTTT
Ln26	TTATAAATTA	TCACCGCGCA	AAATA TCG	TGGCTTGGGT	TTTCCCACTGGC	T ATT	TCCTTACGAC	TTGTTGCTA	GTGGCCGGAT	TATGGCTTT
Ln27	TTATAAATTA	TCACCGCGCA	AAATA TCG	TGGCTTGGGT	TTTCCCACTGGC	T ATT	TCCTTACGAC	TTGTTGCTA	GTGGCCGGAT	TATGGCTTT
Ln28X	TTATAAATTA	TCACCGCGCA	AAATA TCG	TGGCTTGGGT	TTTCCCACTGGC	T ATT	TCCTTACGAC	TTGTTGCTA	GTGGCCGGAT	TATGGCTTT

	100	110	120	130	140	150	160	170	180	
Ln5	TCCTTAAT T	TCCACGCA	CCACGAT A	TGCTGGCG	A TCGTGGCTAAAT	GGCATG	AA AAA	CGCTCCGTT	A ACTTGGT	AA TGTTCG
Ln6	TCCTTAAT T	TCCACGCA	CCACGAT A	TGCTGGCG	A TCGTGGCTAAAT	GGCATG	AA AAA	CGCTCCGTT	A ACTTGGT	AA TGTTCG
Ln8	TCCTTAAT T	TCCACGCA	CCACGAT A	TGCTGGCG	A TCGTGGCTAAAT	GGCATG	AA AAA	CGCTCCGTT	A ACTTGGT	AA TGTTCG
Ln9	TCCTTAAT T	TCCACGCA	CCACGAT A	TGCTGGCG	A TCGTGGCTAAAT	GGCATG	AA AAA	CGCTCCGTT	A ACTTGGT	AA TGTTCG
Ln10	TCCTTAAT T	TCCACGCA	CCACGAT A	TGCTGGCG	A TCGTGGCTAAAT	GGCATG	AA AAA	CGCTCCGTT	A ACTTGGT	AA TGTTCG
Ln15	TCCTTAAT T	TCCACGCA	CCACGAT A	TGCTGGCG	A TCGTGGCTAAAT	GGCATG	AA AAA	CGCTCCGTT	A ACTTGGT	AA TGTTCG
Ln16	TCCTTAAT T	TCCACGCA	CCACGAT A	TGCTGGCG	A TCGTGGCTAAAT	GGCATG	AA AAA	CGCTCCGTT	A ACTTGGT	AA TGTTCG
Ln17	TCCTTAAT T	TCCACGCA	CCACGAT A	TGCTGGCG	A TCGTGGCTAAAT	GGCATG	AA AAA	CGCTCCGTT	A ACTTGGT	AA TGTTCG
Ln18	TCCTTAAT T	TCCACGCA	CCACGAT A	TGCTGGCG	A TCGTGGCTAAAT	GGCATG	AA AAA	CGCTCCGTT	A ACTTGGT	AA TGTTCG
Ln19	TCCTTAAT T	TCCACGCA	CCACGAT A	TGCTGGCG	A TCGTGGCTAAAT	GGCATG	AA AAA	CGCTCCGTT	A ACTTGGT	AA TGTTCG
Ln20	TCCTTAAT T	TCCACGCA	CCACGAT A	TGCTGGCG	A TCGTGGCTAAAT	GGCATG	AA AAA	CGCTCCGTT	A ACTTGGT	AA TGTTCG
Ln21	TCCTTAAT T	TCCACGCA	CCACGAT A	TGCTGGCG	A TCGTGGCTAAAT	GGCATG	AA AAA	CGCTCCGTT	A ACTTGGT	AA TGTTCG
Ln22	TCCTTAAT T	TCCACGCA	CCACGAT A	TGCTGGCG	A TCGTGGCTAAAT	GGCATG	AA AAA	CGCTCCGTT	A ACTTGGT	AA TGTTCG
Ln23	TCCTTAAT T	TCCACGCA	CCACGAT A	TGCTGGCG	A TCGTGGCTAAAT	GGCATG	AA AAA	CGCTCCGTT	A ACTTGGT	AA TGTTCG
Ln24	TCCTTAAT T	TCCACGCA	CCACGAT A	TGCTGGCG	A TCGTGGCTAAAT	GGCATG	AA AAA	CGCTCCGTT	A ACTTGGT	AA TGTTCG
Ln25	TCCTTAAT T	TCCACGCA	CCACGAT A	TGCTGGCG	A TCGTGGCTAAAT	GGCATG	AA AAA	CGCTCCGTT	A ACTTGGT	AA TGTTCG
Ln26	TCCTTAAT T	TCCACGCA	CCACGAT A	TGCTGGCG	A TCGTGGCTAAAT	GGCATG	AA AAA	CGCTCCGTT	A ACTTGGT	AA TGTTCG
Ln27	TCCTTAAT T	TCCACGCA	CCACGAT A	TGCTGGCG	A TCGTGGCTAAAT	GGCATG	AA AAA	CGCTCCGTT	A ACTTGGT	AA TGTTCG
Ln28X	TCCTTAAT T	TCCACGCA	CCACGAT A	TGCTGGCG	A TCGTGGCTAAAT	GGCATG	AA AAA	CGCTCCGTT	A ACTTGGT	AA TGTTCG

	190	200	210	220
Ln5	TTATGATTGG	TTGGCATAT	TGGCTGCTA	TTGCT
Ln6	TTATGATTGG	TTGGCATAT	TGGCTGCTA	TTGCT
Ln8	TTATGATTGG	TTGGCATAT	TGGCTGCTA	TTGCT
Ln9	TTATGATTGG	TTGGCATAT	TGGCTGCTA	TTGCT
Ln10	TTATGATTGG	TTGGCATAT	TGGCTGCTA	TTGCT
Ln15	TTATGATTGG	TTGGCATAT	TGGCTGCTA	TTGCT
Ln16	TTATGATTGG	TTGGCATAT	TGGCTGCTA	TTGCT
Ln17	TTATGATTGG	TTGGCATAT	TGGCTGCTA	TTGCT
Ln18	TTATGATTGG	TTGGCATAT	TGGCTGCTA	TTGCT
Ln19	TTATGATTGG	TTGGCATAT	TGGCTGCTA	TTGCT
Ln20	TTATGATTGG	TTGGCATAT	TGGCTGCTA	TTGCT
Ln21	TTATGATTGG	TTGGCATAT	TGGCTGCTA	TTGCT
Ln22	TTATGATTGG	TTGGCATAT	TGGCTGCTA	TTGCT
Ln23	TTATGATTGG	TTGGCATAT	TGGCTGCTA	TTGCT
Ln24	TTATGATTGG	TTGGCATAT	TGGCTGCTA	TTGCT
Ln25	TTATGATTGG	TTGGCATAT	TGGCTGCTA	TTGCT
Ln26	TTATGATTGG	TTGGCATAT	TGGCTGCTA	TTGCT
Ln27	TTATGATTGG	TTGGCATAT	TGGCTGCTA	TTGCT
Ln28X	TTATGATTGG	TTGGCATAT	TGGCTGCTA	TTGCT

Apéndice 3. Tabla de la morfometría de los tres tipos identificados del género *Langeronia* Caballero y Bravo-Hollis, 1949 (Trematoda: Lecithodendriidae), procedente de nueve localidades de México.

Morfotipo	<i>L. cf. macrocirra</i>	<i>L. cf. jimenezi</i>	<i>L. cf. parva</i>
N	41	42	51
Caracteres morfométricos			
Longitud del cuerpo	0.717 - 1.610 (1.062)	0.653 - 1.49 (1.039)	0.526 - 1.595 (0.972)
Ancho del cuerpo	0.104 - 0.988 (0.653)	0.35 - 0.861 (0.613)	0.073 - 0.717 (0.037)
Longitud de la ventosa oral	0.069 - 0.155 (0.108)	0.069 - 0.143 (0.101)	0.053 - 0.166 (0.087)
Ancho de la ventosa oral	0.077 - 0.178 (0.113)	0.077 - 0.162 (0.110)	0.065 - 0.131 (0.090)
Largo del acetábulo	0.081 - 0.193 (0.121)	0.077 - 0.174 (0.114)	0.065 - 0.166 (0.010)
Ancho del acetábulo	0.077 - 0.182 (0.118)	0.077 - 0.155 (0.113)	0.065 - 0.158 (0.100)
Longitud de la faringe	0.073 - 0.034 (0.049)	0.034 - 0.073 (0.044)	0.058 - 0.027 - 0.058 (0.040)
Ancho de la faringe	0.019 - 0.08 (0.050)	0.031 - 0.081 (0.051)	0.027 - 0.058 (0.042)
Longitud del esófago	0.019 - 0.290 (0.079)	0.038 - 0.290 (0.094)	0.027 - 0.279 (0.098)
Ancho del esófago	0.011 - 0.038 (0.018)	0.011 - 0.034 (0.019)	0.011 - 0.031 (0.018)
Longitud del ciego derecho	0.030 - 0.765 (0.477)	0.303 - 0.709 (0.436)	0.217 - 0.909 (0.420)
Ancho del ciego derecho	0.027 - 0.079 (0.050)	0.031 - 0.079 (0.051)	0.019 - 0.073 (0.039)

N = número de individuos examinados; Las medidas presentadas señalan el promedio en mm.

Apéndice 3. Tabla de la morfometría de los tres tipos identificados del género *Langeronia* Caballero y Bravo-Hollis, 1949 (Trematoda: Lecithodendriidae), procedente de nueve localidades de México. (Continuación).

Morfotipo	<i>L. cf. macrocirra</i>	<i>L. cf. jimenezi</i>	<i>L. cf. parva</i>
Longitud del ciego izquierdo	0.030 – 0.733 (0.474)	0.271 – 0.713 (0.429)	0.244 – 0.766 (0.414)
Ancho del ciego izquierdo	0.031 – 0.095 (0.050)	0.031 – 0.095 (0.053)	0.019 – 0.063 (0.038)
Longitud del testículo derecho	0.077 – 0.240 (0.142)	0.065 – 0.251 (0.134)	0.058 – 0.201 (0.097)
Ancho del testículo derecho	0.058 – 0.259 (0.135)	0.065 – 0.259 (0.130)	0.038 – 0.143 (0.088)
Longitud del testículo izquierdo	0.077 – 0.213 (0.139)	0.073 – 0.224 (0.012)	0.054 – 0.201 (0.099)
Ancho del testículo izquierdo	0.050 – 0.232 (0.122)	0.058 – 0.213 (0.127)	0.042 – 0.155 (0.090)
Longitud del ovario	0.062 – 0.197 (0.113)	0.046 – 0.174 (0.094)	0.046 – 0.155 (0.082)
Ancho del ovario	0.042 – 0.232 (0.112)	0.046 – 0.232 (0.114)	0.038 – 0.120 (0.073)
Distancia del extremo anterior del cuerpo del límite anterior del lado derecho	0.079 – 0.255 (0.166)	0.095 – 0.526 (0.181)	0.095 – 0.319 (0.181)
Distancia del extremo anterior del cuerpo del límite anterior del lado izquierdo	0.079 – 0.255 (0.167)	0.398 – 0.957 (0.621)	0.095 – 0.319 (0.186)
Distancia del límite posterior de las glándulas vitelógenas al extremo posterior del cuerpo del lado derecho	0.430 – 1.00 (0.643)	0.366 – 0.877 (0.637)	0.302 – 0.941 (0.578)

Las medidas presentadas señalan el promedio en mm.

Apéndice 3. Tabla de la morfometría de los tres tipos identificados del género *Langeronia* Caballero y Bravo-Hollis, 1949 (Trematoda: Lecithodendriidae), procedente de nueve localidades de México. (Continuación).

Morfotipo	<i>L. cf. macrocirra</i>	<i>L. cf. jimenezi</i>	<i>L. cf. parva</i>
Distancia del límite posterior de las glándulas vitelógenas al extremo posterior del cuerpo del lado izquierdo	0.398 – 0.941 (0.637)	0.287 – 0.941 (0.469)	0.318 – 0.972 (0.568)
Distancia del poro genital hasta el extremo anterior	0.306 – 0.717 (0.471)	0.095 – 0.239 (0.158)	0.255 – 0.988 (0.441)
Distancia del poro genital al borde izquierdo del cuerpo del lado izquierdo	0.077 – 0.239 (0.154)	0.015 – 0.023 (0.019)	0.042 – 0.174 (0.110)
Longitud de los huevos	0.015 – 0.023 (0.018)	0.015 – 0.023 (0.019)	0.011 – 0.023 (0.018)
Ancho de los huevos	0.007 – 0.012 (0.009)	0.007 – 0.012 (0.009)	0.007 – 0.011 (0.009)
Longitud de la prefaringe*	No evidente y hasta 0.050 (0.009)	No evidente y hasta 0.054 (0.012)	No evidente y hasta 0.042 (0.016)
Ancho de la prefaringe*	No evidente y hasta 0.046 (0.015)	No evidente y hasta 0.058 (0.025)	No evidente y hasta 0.042 (0.021)

Las medidas presentadas señalan el promedio en mm. * Depende de la fijación del material biológico.

Apéndice 4. Tabla de la morfometría de *Langeronia macrocirra* Caballero y Bravo-Hollis, 1949 (Trematoda: Lecithodendriidae), a partir de material depositado en la Colección Nacional de Helmintos, IB-UNAM; procedente de cinco especies de anfibios en seis poblaciones de México*^U

Hospedero	RSP	RP	BM	RB	RV1	RV2
Tipo+	<i>macrocirra</i>	<i>macrocirra</i>	<i>jimenezi</i>	<i>macrocirra</i>	<i>parva</i>	<i>parva</i>
Localidad	CLEM	RPNL	LCV	ETV	LEV	LEV
N	3	5	8	7	6	11
Caracteres morfométricos						
Longitud del cuerpo	1.345	0.817	1.595	0.885	1.108	1.027
Ancho del cuerpo	0.771	0.476	0.970	0.497	0.543	0.482
Longitud de la ventosa oral	0.139	0.092	0.125	0.079	0.088	0.084
Ancho de la ventosa oral	0.646	0.113	0.158	0.106	0.091	0.095
Largo del acetábulo	0.153	0.093	0.163	0.126	0.105	0.108
Ancho del acetábulo	0.177	0.101	0.164	0.128	0.104	0.108
Longitud del testículo izquierdo	0.135	0.064	0.170	0.070	0.095	0.105
Ancho del testículos izquierdo	0.193	0.059	0.237	0.122	0.106	0.115
Longitud del testículo derecho	0.126	0.068	0.215	0.087	0.098	0.099
Ancho del testículo derecho	0.222	0.061	0.255	0.110	0.107	0.129

* Tipo morfológico previamente identificado, para la especie *L. macrocirra*

• RSP, *Rana* sp. ; RP, *R. pipiens*; BM, *Bufo marinus*; RB, *Rana berlandieri*; RV1, *R. vaillanti*, recolectados por Razo (1997); RV2, *R. vaillanti* recolectados por Paredes (1998).

N = número de individuos examinados.

^U CLEM, México (CNHE 0013885); RPNL, Río Pesquerías, Nuevo León (CNHE 001127); LCV, Lago de Catemaco, Veracruz (CNHE 001525); ETV, Estación de Los Tuxtlas, Veracruz (CNHE 001526, 001527); LEV, Laguna Escondida, Veracruz, CNHE 4093, 4092, 3307.

Las medidas presentadas señalan el promedio en mm.

Apéndice 4. Tabla de la morfometría de *Langeronia macrocirra* Caballero y Bravo-Hollis, 1949 (Trematoda: Lecithodendriidae), a partir de material depositado en la Colección Nacional de Helmintos, IB-UNAM; procedente de cinco especies de anfibios en seis poblaciones de México* (continuación).

Hospedero	RSP	RP	BM	RB	RV1	RV2
Tipo+	<i>macrocirra</i>	<i>macrocirra</i>	<i>jimenezi</i>	<i>macrocirra</i>	<i>parva</i>	<i>parva</i>
Longitud del ovario	0.107	0.061	0.196	0.091	0.088	0.109
Ancho del ovario	0.128	0.052	0.204	0.073	0.082	0.097
Distancia del extremo anterior del cuerpo del limite anterior del lado izquierdo	0.315	0.161	0.150	0.173	0.221	0.190
Distancia del extremo anterior del cuerpo del limite anterior del lado derecho anterior.	0.295	0.139	0.178	0.199	0.232	0.203
Distancia del limite posterior de las glándulas vitelógenas al extremo posterior del cuerpo del lado izquierdo	0.827	0.470	1.065	0.513	0.648	0.580

+ Tipo morfológico previamente identificado, para la especie *L. macrocirra*

* RSP, *Rana* sp.; RP, *R. pipiens*; BM, *Bufo marinus*; RB, *Rana berlandieri*; RV1, *R. vaillanti*, recolectados por Razo (1997); RV2, *R. vaillanti* recolectados por Paredes (1998).

N = número de individuos examinados.

⊆ CLEM, México (CNHE 0013885); RPNL, Rio Pesquerías, Nuevo León (CNHE 001127); LCV, Lago de Catemaco, Veracruz (CNHE 001525); ETV, Estación de Los Tuxtles, Veracruz (CNHE 001526, 001527); LEV, Laguna Escondida, Veracruz, CNHE 4093, 4092, 3307.

Las medidas presentadas señalan el promedio en mm.

Apéndice 4. Tabla de la morfometría de *Langeronia macrocirra* Caballero y Bravo-Hollis, 1949 (Trematoda: Lecithodendriidae), a partir de material depositado en la Colección Nacional de Helmintos, IB-UNAM; procedente de cinco especies de anfibios en seis poblaciones de México*U (continuación).

Hospedero	RSP	RP	BM	RB	RV1	RV2
Tipo+	<i>macrocirra</i>	<i>macrocirra</i>	<i>jimenezi</i>	<i>macrocirra</i>	<i>parva</i>	<i>parva</i>
Distancia del límite posterior de las glándulas vitelógenas al extremo posterior del cuerpo del lado derecho	0.784	0.496	1.129	0.526	0.656	0.636
Distancia del poro genital hasta el extremo anterior	0.034	0.031	0.071	0.037	0.032	0.037
Distancia del poro genital al borde izquierdo del cuerpo del lado izquierdo	0.094	0.085	0.152	0.109	0.131	0.115
Longitud de los huevos	0.015	0.017	0.021	0.019	0.018	0.018
Ancho de los huevos	0.060	0.013	0.010	0.009	0.009	0.009

+ Tipo morfológico previamente identificado, para la especie *L. macrocirra*

* RSP, *Rana* sp. ; RP, *R. pipiens*; BM, *Bufo marinus*; RB, *Rana bertlandieri*; RV1, *R. vaillanti*, recolectados por Razo (1997); RV2, *R. vaillanti* recolectados por Paredes (1998).

N = número de individuos examinados.

U CLEM, México (CNHE 0013885); RPNL, Río Pesquerías, Nuevo León (CNHE 001127); LCV, Lago de Catemaco, Veracruz (CNHE 001525); ETV, Estación de Los Tuxtlas, Veracruz (CNHE 001526, 001527); LEV, Laguna Escondida, Veracruz, CNHE 4093, 4092, 3307.

Las medidas presentadas señalan el promedio en mm.