

00377



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

POSGRADO EN CIENCIAS
BIOLOGICAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA

Estudio Taxonómico de Euhirudíneos mexicanos y su ubicación
en el contexto de las hipótesis filogenéticas recientes''

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(SISTEMÁTICA)
P R E S E N T A
OCEGUERA FIGUEROA ALEJANDRO FRANCISCO

DIRECTORA DE TESIS: DRA. VIRGINIA LEON REGAGNON

MEXICO, D. F.,



JUNIO 2005

M345659



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
MEXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS COORDINACIÓN

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

NOMBRE: Alejandro Francisco Ocegüera Figüeroa

FECHA: 17 Junio - 2005

FIRMA: Alejandro Ocegüera

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 30 de mayo del 2005, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de grado de Maestría en Ciencias Biológicas (Sistemática) del(a) alumno(a) **Ocegüera Figüeroa Alejandro Francisco** con número de cuenta **93199951** con la tesis titulada: **"Estudio taxonómico de Euhirudíneos mexicanos y su ubicación en el contexto de las hipótesis filogenéticas recientes"**, bajo la dirección del(a) Dra. Virginia León Regagnon.

Presidente:	Dr. Marcos Rafael Lamothe Argümedo
Vocal:	Dr. Juan José Morrone Lupi
Secretario:	Dra. Virginia León Regagnon
Suplente:	Dr. Gerardo Pérez Ponce de León
Suplente:	Dr. Francisco Rafael Fernández de Miguel

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F. a, 13 de junio del 2005

Dr. Juan José Morrone Lupi
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del interesado

Agradecimientos

A la Dra. Virginia León Règagnon, tutora y directora del presente trabajo.

A los Doctores Rafael Lamothe Argumedo y Francisco Fernández de Miguel, miembros de mi comité tutorial.

A los Doctores Gerardo Pérez Ponce de León y Juan José Morrone Lupi, miembros del jurado

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y a la Dirección General de estudios de Posgrado, por el apoyo económico recibido durante la realización del presente trabajo.

A los proyectos J27985-N de CONACyT (Virginia León) y NSF 0102383 (Jonathan Campbell y Virginia León).

A la M. en C. Laura Márquez por la ayuda en la obtención de las secuencias nucleotídicas.

A la M. en C. Berenit Mendoza por la obtención de fotografías de microscopía electrónica de barrido.

Al M. en C. Luis García Prieto por el préstamo de los ejemplares depositados en la Colección Nacional de Helmintos.

A todos mis compañeros del Instituto de Biología, UNAM.

Al Dr. Rafael Lamothe Argumedo, Jefe del Laboratorio de Helminología.

A las autoridades del Instituto de Biología.

**ESTUDIO TAXONÓMICO DE EUHIRUDÍNEOS MEXICANOS Y SU
UBICACIÓN EN EL CONTEXTO DE LAS HIPÓTESIS FILOGENÉTICAS
RECIENTES**

Estudio taxonómico de Euhirudíneos mexicanos y su ubicación en el contexto de las hipótesis filogenéticas recientes

Resumen

Los euhirudíneos o verdaderas sanguijuelas son organismos que pertenecen al Phylum Annelida. Son animales vermiformes que se caracterizan por presentar 34 somitos anillados superficialmente y un par de ventosas en cada uno de los extremos del cuerpo. Como se ha establecido recientemente, los Euhirudinea están cercanamente relacionados con los oligoquetos y comparten con ellos la presencia de una estructura llamada “clitelo” que está íntimamente relacionada con la reproducción. Sin embargo, contrario al hábito detritívoro de los oligoquetos, las sanguijuelas han explotado una gran cantidad de formas alimenticias, pudiendo ser parásitos permanentes de peces, parásitos ocasionales de vertebrados, alimentarse de fluidos corporales de moluscos, artrópodos y oligoquetos o ser depredadores macrófagos de invertebrados. Aunado a ésto, las sanguijuelas han colonizado diversos ambientes que van desde los dulceacuícolas, marinos y anfibios hasta los terrestres.

Recientemente se han estudiado las relaciones filogenéticas de las sanguijuelas empleando marcadores moleculares (secuencias de ADN), con lo cual se han re-evaluado los caracteres morfológicos que habían sido empleados en la determinación y clasificación del grupo y de manera muy importante, se han estudiado las afinidades evolutivas de cada una de las especies. Como resultado de este tipo de estudios, se han generado cambios considerables en el entendimiento del grupo, su clasificación y los patrones evolutivos que han formado.

El estudio de las sanguijuelas en México comenzó a inicios del siglo pasado gracias al trabajo realizado por el Dr. Eduardo Caballero quien publicó 22 artículos relacionados a sanguijuelas donde describe 8 taxones nuevos. Desafortunadamente esta tradición se perdió y por alrededor de 50 años el estudio del grupo prácticamente se abandonó. Con el advenimiento de técnicas que permiten obtener grandes cantidades de ADN, así como de nuevos paradigmas en la sistemática, se evidencia la necesidad del estudio del grupo.

Entre los años de 2003 y 2005 se recolectaron sanguijuelas en 18 estados de la República Mexicana obteniéndose alrededor de 78 registros. Los organismos pertenecen a 11 géneros y 7 familias. Con el fin de evaluar sus afinidades evolutivas, se obtuvieron secuencias nucleotídicas de un gen nuclear (18S rDNA de 1800 pares de bases aproximadamente) y de un gen mitocondrial (CO-I de 649 pares de bases) de 29 ejemplares que representan ampliamente a los taxones recolectados.

Con base en la información generada y con información de Genbank, se elaboró una matriz de caracteres que incluye 101 taxones por 2743 caracteres (649 del CO-I y 2085 del 18S rDNA). Las secuencias fueron alineadas empleando el programa de cómputo Clustal W. Se realizó un análisis filogenético en el programa de cómputo PAUP, empleando el principio de máxima parsimonia con el método de búsqueda heurística, Tree Bisection Reconnection (TBR), con 50 repeticiones.

Del análisis combinado del CO-I y 18s rDNA se obtuvieron 36 árboles igualmente parsimoniosos con Índice de Consistencia de 0.27 e Índice de Retención de 0.64, a partir del cual se generan las siguientes conclusiones:

La clase Euhirudinea es un monofilético. El orden Arhynchobdellida es monofilético, sin embargo el orden Rhynchobdellida es parafilético, siendo la familia Piscicolidae grupo hermano de los Arhynchobdellida.

Dentro de la familia Glossiphoniidae no se reconoce la monofilia de dos de las tres subfamilias, Glossiphoniinae y Haementeriinae. Se muestra con base en el cladograma que *Haementeria officinalis sensu lato* de México se trata en realidad de dos especies, quedando pendiente la descripción de una nueva especie de *Haementeria*. Se describe a *Helobdella atli* Ocegüera-Figueroa y León-Règagnon, 2005, una nueva especie con placa quitinoide dorsal. Se transfieren a esta especie los registros de *Helobdella adiastrata* realizados por diversos autores en México. Se distingue molecularmente una especie más del género *Helobdella* con placa quitinoide dorsal, de la cual queda pendiente una descripción formal. Se reestablece el nombre de *Helobdella socimulcensis* Caballero, 1931 para hacer referencia a las formas mexicanas pertenecientes al complejo *triserialis*. Se establecen las afinidades evolutivas de *Helobdella elongata*.

En el suborden Erpobdelliformes, las familias Erpobdellidae y Salifidae son grupos hermanos. Con base en el cladograma de este grupo, se reestablece el nombre de *Erpobdella mexicana* separándolo de *Erpobdella punctata*. Se ubica a *Erpobdella ochoterenai* dentro de la hipótesis filogenética y se proponen argumentos para diferenciarla morfológicamente de *Erpobdella microstoma*. Se ubica a *Erpobdella triannulata* dentro de la hipótesis filogenética, al igual que a *Barbronia arcana*, miembro de Salifidae, siendo este último, el primer registro de la especie fuera de Australia, tercer registro de la familia en América y primero en México. Dicha especie es considerada como introducida accidentalmente por el hombre.

Dentro del suborden Hirudiniiformes se muestra claramente que se requiere de una redefinición de todas las familias ya que ninguna resultó ser un grupo natural. Se establecen las afinidades evolutivas de *Haemopsis caballeroi* y se discute sobre el nombre que debe tener este taxón. Por primera vez se ubica a un miembro del género *Diestecostoma* dentro de una hipótesis filogenética sugiriéndose que no debe existir una familia independiente para este grupo de sanguijuelas endémicas de México, sino que deben incluirse en *Haemadipsidae*. Se ubica a *Liomnibdella* dentro de una hipótesis evolutiva y se discute sobre la validez de las especies del género. Se registra una especie del género *Semiscollex* en México, siendo éste el primer registro del género y de la subfamilia en México. Dicha especie requiere una descripción formal.

Con base en el cladograma presentado, se discute sobre la evolución de los hábitos alimenticios, del hábitat y de las estrategias de cuidado de las crías en las sanguijuelas.

ESTUDIO TAXONÓMICO DE EUHIRUDINEOS MEXICANOS Y SU UBICACIÓN EN EL CONTEXTO DE LAS HIPÓTESIS FILOGENÉTICAS RECIENTES

I- Introducción	
Sistemática filogenética	1
Características generales del grupo	5
Antecedentes	9
Objetivos	12
II- Método	
Recolecta de material	13
Métodos de estudio.	13
Narcotización	
Anatomía externa	
Anatomía interna	
Preparaciones permanentes	14
Análisis molecular	15
Extracción de ADN	
Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)	
Análisis filogenético	16
Secuencias de Genbank	17
III- Resultados	
Recolecta de taxones	19
Taxones empleados para el análisis de biología molecular	21
Familia Glossiphoniidae	
Introducción y antecedentes	24
Glossiphoniidae en México	25
Revisión de ejemplares depositados en Colecciones Científicas	28
Relaciones Filogenéticas de la familia Glossiphoniidae	29
Distribución Geográfica	34
IV- Suborden Erpobdelliformes	
Introducción y antecedentes	38
Erpobdelliformes en México	40
Revisión de ejemplares depositados en Colecciones Científicas	41
Relaciones Filogenéticas	41
Mapeo de caracteres	44
Distribución Geográfica	46

VI-Suborden Hirudiniiformes	
Introducción y antecedentes	48
Hirudiniiformes en México	50
Relaciones Filogenéticas del suborden Hirudiniiformes	51
Distribución Geográfica	55
VII Resultados generales y discusión	57
Optimización de caracteres	60
Conclusiones generales	66
Literatura citada	69
Anexo 1	
Descripción de <i>Helobdella atli</i>	77

INTRODUCCIÓN

SISTEMÁTICA FILOGENÉTICA

La biología es una ciencia extraordinariamente amplia y diversificada, debido en parte a la gran cantidad de organismos que la disciplina estudia, que incluye virus, bacterias, hongos, plantas y animales, entre otros. También se debe a la existencia de diversos niveles jerárquicos de organización, desde las macromoléculas orgánicas y genes hasta células, tejidos, órganos e individuos; estos individuos se organizan a su vez en familias, poblaciones, especies y taxones supraespecíficos. El estudio de cada nivel de actividad y organización se ha establecido como una disciplina científica independiente. Aunado a esto, diversas ramas de la biología se han desarrollado como disciplinas prácticas (Mayr, 1997), sin embargo, pese a esta heterogeneidad, la evolución orgánica, definida como “descendencia con modificación” es el principio unificador sin el cual, zoólogos, botánicos, paleontólogos, embriólogos, ecólogos y genetistas trabajarían aislados (Morrone, 2001).

Los estudios evolutivos pueden organizarse en dos campos básicos, por un lado, el estudio de los procesos que han conducido a la aparición de nuevas formas de vida, estos procesos son estudiados por los genetistas, fisiólogos y ecólogos de poblaciones entre otros; y por el otro, el estudio de los patrones de la biodiversidad, es decir, el resultado de la evolución, estudiado a su vez por taxónomos, biogeógrafos y paleontólogos (Morrone, 2001).

En los últimos 50 años se han desarrollado entre otras, tres grandes escuelas en taxonomía: la taxonomía evolutiva, la fenética o numérica y la filogenética o cladista (Mayr, 1997). Esta última ha desarrollado métodos para deducir explícitamente los caracteres homólogos, encontrar un patrón filogenético y reconocer los grupos taxonómicos, además de haber ganado la aceptación de la mayoría de los investigadores para inferir las relaciones evolutivas de una gran cantidad de taxones o grupos (Armbruster, 1992; De Luna y Mishler, 1996).

La sistemática filogenética o cladista estudia la diversidad orgánica a través del reconocimiento de las relaciones genealógicas de los organismos, las que se reflejan

en la clasificación formal de los mismos. Entre sus funciones más importantes se encuentran las siguientes (Morrone, 2000):

1.-Proveer, mediante la clasificación, el marco conceptual mediante el cual los biólogos pueden comunicar información acerca de los seres vivos.

2.-Proporcionar, mediante los cladogramas, las bases para proveer diferentes interpretaciones evolutivas.

3.-Predecir, mediante los cladogramas y las clasificaciones derivadas de los mismos, propiedades de los organismos recién descubiertos o poco conocidos.

Para llevar al cabo un estudio sistemático aplicando el método cladista se siguen básicamente cuatro pasos (Morrone, 2000).

1.-Seleccionar los taxones que serán las unidades de estudio.

2.-Seleccionar los caracteres que brindarán la evidencia sobre las relaciones genealógicas de los taxones estudiados. Los caracteres y sus estados son la base empírica de la descripción y comparación biológica, además de ser la parte más fundamental de todo estudio taxonómico (De Luna y Mishler, 1996). Es durante este paso que se generan las propuestas de homología primaria, es decir, conjeturas que se basan en la similitud o en la correspondencia topográfica y reflejan la expectativa de que hay una correspondencia de partes que puede ser detectada por un conjunto de similitudes (de Pinna, 1991).

3.-Descubrir las relaciones genealógicas de los taxones analizados y expresarlas en un cladograma. Existen diferentes procedimientos para la construcción de éstos. Los más simples como la argumentación hennigiana pueden aplicarse manualmente, mientras que los más sofisticados, como el método de Wagner, la búsqueda exhaustiva, la búsqueda Branch and Bound y la búsqueda por permutación de ramas, requieren el uso de computadoras. En todos los casos la construcción de los mismos está guiada por el principio metodológico de la parsimonia. Durante este paso se validan o refutan las homologías primarias con base en la congruencia con otros caracteres. Las homologías primarias validadas se constituyen como homologías secundarias (sinapomorfías), las que no son sustentadas se consideran homoplasias.

4.-Traducir las relaciones genealógicas del cladograma en una clasificación formal. En el contexto de la sistemática filogenética, los únicos grupos reconocidos y

nombrados son los monofiléticos ya que reflejan las relaciones genealógicas. Los grupos polifiléticos y parafiléticos deben ser eliminados, ya que son artificiales. Además, una clasificación filogenética debe resumir del modo más eficiente la información sobre las características de los organismos, es decir, debe tener un alto contenido informativo.

De manera paralela a los avances en los métodos para inferir relaciones filogenéticas de diversos taxones, los biólogos moleculares han desarrollado las herramientas para el estudio de, entre otras cosas, la estructura de proteínas y los ácidos nucleicos. De manera particular, la invención de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) ha permitido obtener grandes cantidades de información que ha sido utilizada para estudios de genética de poblaciones y de sistemática filogenética, repercutiendo de manera considerable en el desarrollo de estas disciplinas (Moritz y Hillis, 1996).

El uso de caracteres moleculares en la reconstrucción filogenética ha aumentado exponencialmente en los últimos años. Aunado a esto, se han generado intensas discusiones acerca del valor de esta información y sobre la forma en que ésta debe ser empleada. Por lo que respecta a la homología, en secuencias de ADN se reconocen tres tipos:

Secuencias ortólogas: Secuencias cuyo ancestro común puede trazarse hasta un evento de especiación.

Secuencias parálogas: Secuencias cuyo ancestro común se puede trazar hasta un evento de duplicación génica.

Secuencias xenólogas: Secuencias cuyo origen se debe a la transferencia horizontal de genes.

Las reconstrucciones filogenéticas se realizan únicamente con secuencias ortólogas, pero en casos de evolución concertada se pueden usar secuencias parálogas. Según Hall (2001), los pasos para construir un árbol filogenético con secuencias de ADN son los siguientes y son equivalentes a los que se describen anteriormente para los caracteres morfológicos:

Identificar una secuencia de ADN, identificar otra secuencia relacionada y alinearlas, que corresponde al paso de selección de caracteres explicado con anterioridad.

Construir árboles filogenéticos con base en la alineación realizada anteriormente.

El alineamiento de las secuencias es uno de los pasos más importantes. Un par de secuencias pueden ser alineadas colocando una bajo la otra, tratando que la mayoría de los nucleótidos coincidan, para esto, se introducen espacios o “gaps”, los cuales son interpretados como inserciones o deleciones que han ocurrido desde que las secuencias divergieron desde su ancestro común. Debido a que dos secuencias cualesquiera pueden ser alineadas empleando un número ilimitado de espacios o “gaps”, su número debe ser minimizado. Dado que el alineamiento de un número elevado de secuencias es muy complicado, se han implementado programas de cómputo para realizar este paso.

Se han propuesto cuatro métodos para hacer reconstrucciones filogenéticas con base en caracteres moleculares, los cuales difieren entre si en las bases filosóficas que sustentan a cada uno de ellos.

- Métodos de distancia (Neighbor Joining y UPGMA): Convierten las secuencias alineadas en una matriz de distancias.

Métodos basados en caracteres:

- Parsimonia máxima: Busca el árbol con el menor número de cambios.
- Verosimilitud máxima: Construye un árbol con base en un modelo evolutivo.
- Bayesiano: Se basa en la noción de “probabilidad a posteriori”, esta probabilidad también se estima basándose en un modelo evolutivo.

El método de reconstrucción filogenética empleado en este trabajo es el de Máxima parsimonia

CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL GRUPO

El phylum Annelida (del latín “anellus” y del griego “eidos” forma) comprende aproximadamente 16 500 especies, entre ellas gusanos de tierra, tubícolas y sanguijuelas o euhirudíneos. Los organismos pertenecientes a este grupo presentan una característica denominada homología serial, la cual hace referencia a las estructuras de un mismo individuo con el mismo origen genético y embrionario que se desarrollan durante la ontogenia y resultan en la metamería o repetición de órganos internos y externos en cada uno de los somitos corporales.

Los anélidos son organismos con simetría bilateral, segmentados y esquizocélicos, protostomados, con aparato digestivo completo especializado regionalmente, aparato circulatorio cerrado, pigmentos circulatorios como hemoglobina, clorocruorina y hemeritrina, sistema nervioso bien desarrollado con un ganglio nervioso dorsal y cordones nerviosos longitudinales. Presentan un aparato excretor metanefridial, son hermafroditas y varias especies presentan larva trocófora, la cual se pierde secundariamente en varios grupos. Son marinos, terrestres y de agua dulce.

El phylum Annelida incluye dos clases: Polychaeta y Clitellata, ésta última compuesta por la subclase Oligochaeta (parafilética) que contiene más de 6 000 especies de organismos terrestres, de agua dulce y algunas formas marinas, arregladas en aproximadamente 25 familias; y por la subclase Hirudinoidea, que incluye organismos que se caracterizan por presentar el cuerpo con un número fijo de somitos anillados superficialmente, sin quetas o parápodos o bien, en número reducido y por ser heterónomos. Presentan clitelo y una o dos ventosas. La ventosa posterior funciona como órgano de fijación y esta presente en todos los miembros del grupo. Ventosa anterior no siempre presente. Casi todas las especies viven en ambientes dulceacuícolas o marinos, algunas son semiterrestres, ectoparásitas, depredadoras o carroñeras (Brusca y Brusca, 2003). La subclase Hirudinoidea está compuesta por tres órdenes que se describen brevemente a continuación:

Orden Acanthobdellida: Organismos con 3 cm de longitud como máximo, de hábitat dulceacuícola, la mayoría del tiempo viven como ectoparásitos de peces, el cuerpo

presenta 30 somitos, únicamente con ventosa posterior, quetas en los somitos anteriores, celoma parcialmente reducido, con una sola especie: *Acanthobdella pelledina*, parásita de salmónidos y tímálicos.

Orden Branchiobdellida: Normalmente menores de 1 cm de largo, ectocomensales o ectoparásitos de crustáceos de agua dulce, el cuerpo está compuesto por 15 somitos, presentan una ventosa posterior, sin quetas, celoma reducido pero espacioso en la mayor parte del cuerpo.

Orden Hirudinida: Son consideradas como “verdaderas sanguijuelas”. Sawyer (1986) las considera como subclase Euhirudinea. La mayoría son dulceacuícolas y marinas, algunas semiterrestres o anfibias, ectoparásitas hematófagas o de vida libre, depredadoras o carroñeras. Algunas formas parásitas funcionan como vectores de protozoarios patógenos, nemátodos y céstodos. Quetas ausentes, celoma reducido a un sistema complejo de canales (lagunas). Cuerpo con 34 somitos de los cuales solo 27 se observan externamente. El somito completo más sencillo está constituido por tres anillos primarios que se denominan a_1 , a_2 y a_3 ; el anillo medio es el a_2 , el cual lleva las sensilas u órganos sensoriales y refleja la localización del ganglio nervioso. En algunas especies, los anillos primarios se dividen formando los anillos secundarios, es decir, el anillo primario a_1 se divide en los anillos secundarios b_1 y b_2 . Por convención, divisiones subsecuentes se nombran de manera similar (Figuras 1 y 2). La mayoría de las sanguijuelas son aplanadas dorsoventralmente. El cuerpo se ha dividido en cinco regiones. La región anterior lleva los ojos, una ventosa y la boca, está formada por los somitos I a IV. Los somitos V a VIII forman la región preclitelar, de la cual sigue la región clitelar, formada por los somitos IX a XI. Inmediatamente después se encuentra la región media del cuerpo, que va desde el somito XII al XXVII. La región posterior forma la ventosa que resulta de la fusión de los siete últimos somitos (Davies, 1991). Además de los gonoporos y nefridioporos observables externamente, las sanguijuelas pueden presentar tubérculos o branquias digitiformes (Figura 3).

Anillos	Primarios	Secundario	Terciario	Cuaternario
a ₁		b ₁	c ₁	d ₁ , d ₂
			c ₂	d ₃ , d ₄
a ₂		b ₂	c ₃	d ₅ , d ₆
			c ₄	d ₇ , d ₈
a ₂		b ₃	c ₅	d ₉ , d ₁₀
			c ₆	d ₁₁ , d ₁₂
a ₂		b ₄	c ₇	d ₁₃ , d ₁₄
			c ₈	d ₁₅ , d ₁₆
a ₃		b ₅	c ₉	d ₁₇ , d ₁₈
			c ₁₀	d ₁₉ , d ₂₀
a ₃		b ₆	c ₁₁	d ₂₁ , d ₂₂
			c ₁₂	d ₂₃ , d ₂₄

Figura 1. Nomenclatura de los anillos.

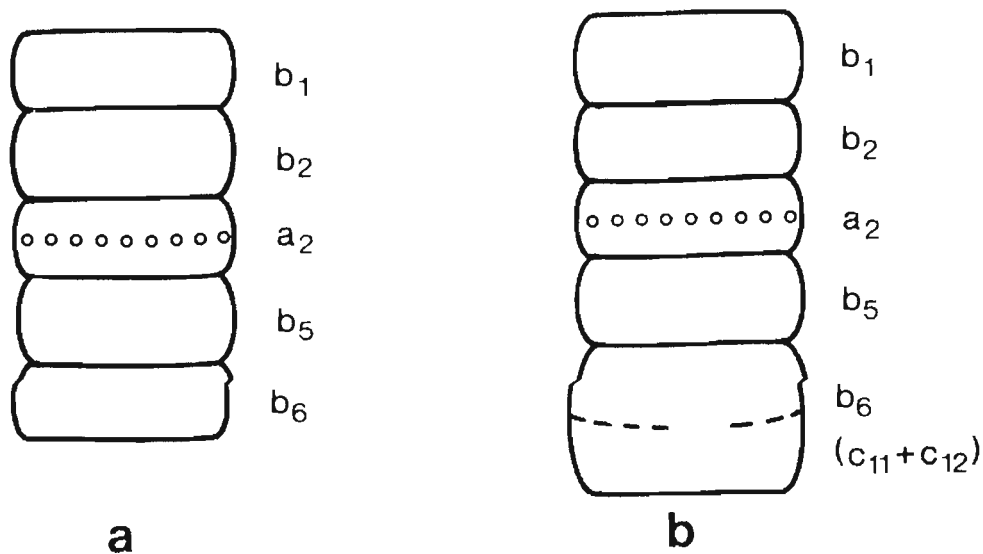


Figura 2. Anillos de somitos completos. a) Somito 5 anillado, a₁ subdividido en b₁ y b₂. anillo a₂ sin subdividir, lleva las papilas. a₃ subdividido en b₅ y b₆. b) Somito de 6 anillos, se muestra el anillo b₆ subdividido en c₁₁ y c₁₂. (Tomado de Davies, 1991)

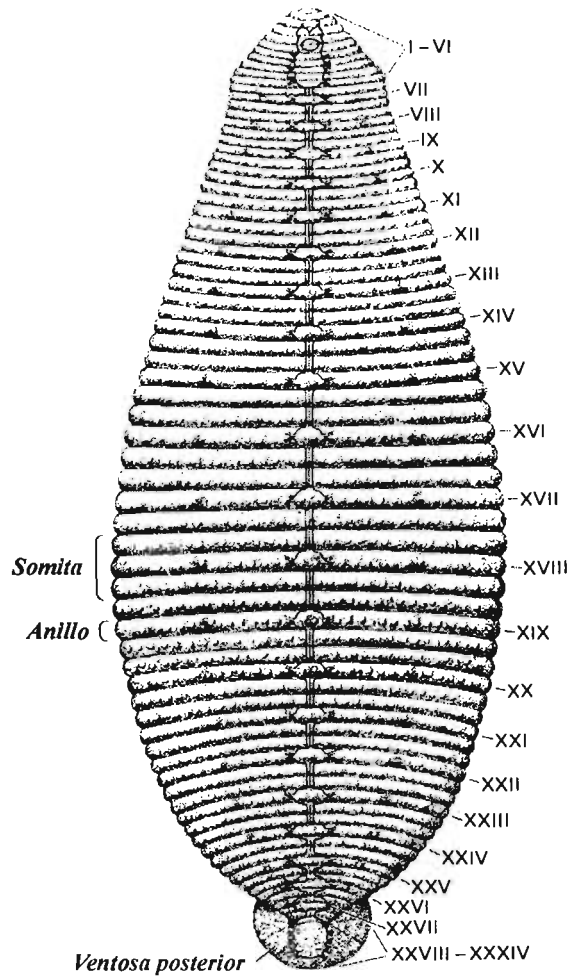


Figura 3. Superficie dorsal de *Haementeria ghilianii*. Se muestran los somitos con números romanos, y se muestra el ganglio nervioso de cada somito. (Tomado de Sawyer, 1986)

El aparato digestivo es completo, con boca y ano en los extremos. En los miembros de las familias Ozobranchidae, Glossiphoniidae y Piscicolidae, la faringe está modificada y forma una proboscis muscular; en otras especies se pueden presentar mandíbulas con dientes. De la faringe se sigue al buche que es de forma tubular, normalmente presenta de 6 a 11 pares de ciegos laterales. De ahí se continúa al intestino, que solo en la familia Glossiphoniidae presenta cuatro pares de ciegos; posteriormente se encuentra el ano, que abre dorsalmente en el somito XXVII. Son hermafroditas con aparatos reproductores complejos, reproducción sexual y desarrollo de vida directo. Los gonoporos masculino y femenino son observables externamente sobre la línea media ventral de los somitos XI y XII, el gonoporo masculino siempre es anterior y más evidente. Las sanguijuelas no presentan testículos ni ovarios verdaderos sino testisacos y

ovisacos, los primeros son posteriores al somito XI y son esféricos o pueden presentarse como columnas multifoliculares, de ellos salen pequeños vasos eferentes que se comunican con los vasos deferentes, dispuestos uno a cada lado del cordón nervioso ventral. Los vasos deferentes se dirigen anteriormente y se unen al epidídimo, el cual se une a los canales eyaculadores, posteriormente a los cuernos atriales los cuales desembocan a un atrio común. El aparato reproductor femenino está constituido por un único par de ovisacos, que pueden ser pequeños y esféricos, confinados al somito XII, o bien, tubos largos. De los ovisacos salen oviductos que convergen y forman el oviducto común que llega al gonoporo femenino. Son organismos hermafroditas protándricos. Durante la puesta de huevos, el clitelo secreta una ooteca que funciona para proteger a los embriones. El aparato circulatorio consiste de un vaso dorsal y uno ventral que se conectan entre si por vasos laterales; algunas sanguijuelas presentan vesículas pulsátiles que facilitan la circulación. El intercambio gaseoso se logra a través de la pared corporal.

El aparato excretor es metanefridial y consiste como máximo de 17 pares de metanefridios que abren al exterior independientemente entre los somitos VII y XXII.

El sistema nervioso está representado por un ganglio cerebroide anterior al nivel de la faringe, el cual, con el ganglio subesofágico y conexiones circumentéricas, forma el anillo nervioso periesofágico. Dos cordones nerviosos se originan a partir de la región ventral del anillo y corren a lo largo del cuerpo. Los cordones nerviosos están separados en algunas áreas pero se fusionan en los ganglios. Del ganglio cerebroide y de los ganglios de cada uno de los somitos surgen nervios sensitivos y motores. Presentan ojos y papilas sensitivas, cuya forma, número y distribución tienen importancia taxonómica.

ANTECEDENTES

El conocimiento de las sanguijuelas se remonta hasta la antigüedad, testimonios de ello se encuentran en diversos escritos griegos y romanos. Registros más precisos se encuentran entre los años 1500 a 1750 (Moquin-Tandon, 1846), sin embargo no es sino hasta el trabajo de Linneo (1758) que se inicia el estudio sistemático de este grupo de organismos. Linneo dividió a los animales en seis grupos, de los cuales solo dos son de invertebrados: Insecta y Vermes, siendo este último el que incluía a las sanguijuelas. En 1809, Lamarck propuso que los moluscos, equinodermos y pólipos constituyen grupos

independientes al de los Vermes. Subsecuentes estudios del mismo autor lo llevaron a dividir el grupo Vermes una vez más y a proponer el grupo de los anélidos reconociendo las afinidades entre poliquetos y oligoquetos, las sanguijuelas permanecieron agrupadas con los tremátodos hasta 1851 con el trabajo de Vogt quien por primera vez las agrupó con los anélidos (Gould, 1999; Brusca y Brusca, 2003).

Durante las primeras décadas del siglo XIX se desarrolló en Francia el estudio de la morfología comparada de los hirudíneos con base en el análisis de la anillación de los somitos, haciendo poco énfasis en otros caracteres. Esta escuela fue continuada principalmente por Whitman, Oka, Harding, Weber, Pinto y Caballero. Posteriormente, J. Percy Moore realizó estudios tanto de anatomía interna como externa desarrollando varios términos para referirse a tipos de estructuras. De particular importancia es el estudio detallado de los aparatos reproductores ya que con base en estos datos se desarrolló la taxonomía del grupo (Richardson, 1969).

El arreglo taxonómico de los grupos ha sido objeto de trabajos recientes. Siddall *et al.* (2001) llegaron a la conclusión de que el grupo hermano de los hirudíneos son los branquiobdelidos, y el grupo hermano de éstos son los acantobdelidos, constituyéndose como un grupo monofilético cuyo grupo hermano son los oligoquetos (Figura 4).

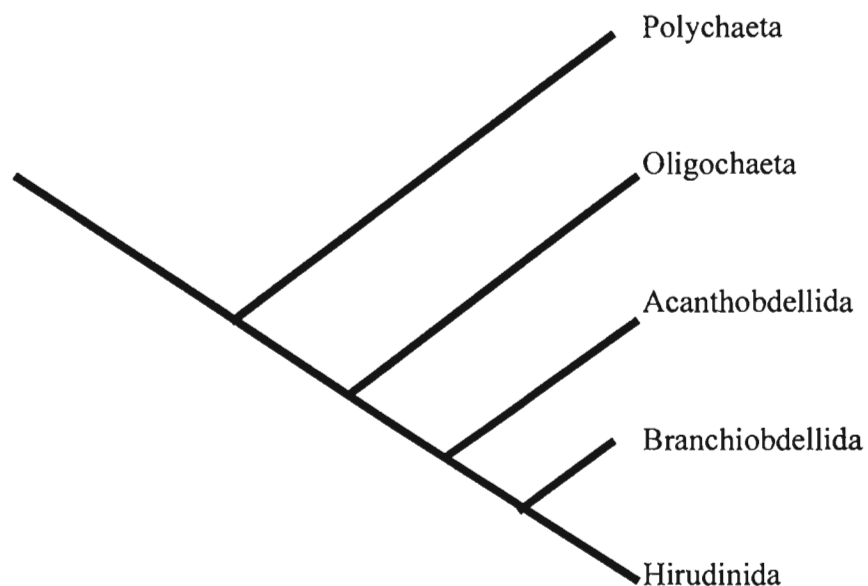


Figura 4. Cladograma que muestra las relaciones filogenéticas de los grandes grupos de anélidos (Modificado de Siddall *et al.*, 2001; Brusca y Brusca, 2003).

Con el desarrollo de la sistemática filogenética y la implementación de técnicas de biología molecular, se han reexaminado una gran cantidad de grupos e hipótesis evolutivas (Siddall y Burreson, 1995, 1998; Light y Siddall, 1999; Apakupakul *et al.*, 1999; Trontelj y Sket, 2000; Siddall, 2002; Borda y Siddall, 2003) sugiriéndose que diversos grupos, normalmente aceptados, son artificiales. Hasta la fecha, ningún trabajo concerniente a la sistemática filogenética de los hirudíneos ha incluido ejemplares mexicanos, región que es considerada compleja desde el punto de vista biogeográfico (Marshall y Liebherr, 2000) y que incluye especies endémicas de sanguijuelas (Ringuelet, 1978) las cuales podrían aportar datos importantes para un mejor entendimiento de las relaciones genealógicas y biogeográficas del grupo.

En México, el estudio de las sanguijuelas tiene sus orígenes con el Dr. Miguel Jiménez, quien en 1844 señaló los fenómenos patógenos causados por la sanguijuela medicinal usada en México (In: Ringuelet, 1981). Durante los años siguientes se publicaron trabajos aislados hasta que el Dr. Eduardo Caballero y Caballero estudió este grupo de 1930 a 1959, publicando 22 artículos en los que describió 8 especies nuevas y realizó una redescripción (García-Altamirano, 2001¹). De particular relevancia son los trabajos de Caballero (1956, 1959) en los que se proponen cambios nomenclaturales del grupo y se discute sobre la clasificación de los hirudíneos. Diversos autores (Moore, 1936, 1938; Oka, 1932; Richardson, 1971; Ringuelet, 1981; Sawyer, 1986, entre otros) han realizado investigaciones de ejemplares recolectados en México, siendo la clave de determinación de hirudíneos mexicanos de Ringuelet (1981) el último artículo publicado sobre el tema. En dichos trabajos, se reconoce que la fauna de sanguijuelas de México incluye a algunas especies endémicas (p. ej. *Limnbdella* spp. y *Diestecostoma* spp.) y a especies con afinidades del norte y del sur de América. López-Jiménez² realizó su tesis de licenciatura en 1985 estudiando algunas especies mexicanas y describiendo una nueva especie de *Placobdella*, la cual no ha sido publicada formalmente hasta la fecha.

En el Catálogo de la Colección Nacional de Helminthos (Lamothe-Argumedo *et al.* 1997) se recopilan los datos y comentarios taxonómicos de 22 hirudíneos recolectados en

¹ GARCÍA-ALTAMIRANO I. 2001. Dr. Eduardo Caballero y Caballero (1904-1974) y la institucionalización de la helmintología en México. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias. 139pp.

² LÓPEZ-JIMÉNEZ S. 1985. Estudio Taxonómico de algunos hirudíneos de México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. 182pp.

México, así como de material donado a la colección por Soos. Moore y Meyer, entre otros.

OBJETIVOS

Basandonos en el reconocimiento de que México es, biogeográficamente complejo y con una gran cantidad de especies endémicas, se espera que la fauna de sanguijuelas de México sea más numerosa de lo que se ha estimado previamente. Aunado a esto, el escaso conocimiento acerca de los hirudíneos de México, de sus relaciones filogenéticas, así como tomando en cuenta los recientes cambios en la clasificación de este grupo propuestos por diversos autores, los objetivos del presente trabajo son:

- Contribuir a la caracterización de la fauna de sanguijuelas de Mexico .
- Ubicar las especies recolectadas en el contexto de las hipótesis filogenéticas recientes.
- Actualizar la nomenclatura de las especies mexicanas.
- Evaluar con base en los datos morfológicos y moleculares obtenidos, las hipótesis filogenéticas propuestas por otros autores.

MÉTODO

RECOLECTA DE MATERIAL

La mayoría de las especies de sanguijuelas son de hábitat dulceacuícola, por lo tanto es en éste medio donde se enfocaron las recolectas. La búsqueda se realizó entre las rocas, troncos, raíces y lirio de ríos, lagos, lagunas y presas. En el caso de las sanguijuelas parásitas, se revisaron peces producto de la pesca comercial así como anfibios y reptiles. Los ejemplares fueron recolectados vivos y depositados en recipientes de plástico con agua del medio, se etiquetaron anotando la localidad, georeferencia, fecha y recolector; posteriormente se transportaron al laboratorio donde se prosiguió con la narcotización, fijación y determinación de los ejemplares. El trabajo de recolecta de ejemplares en el campo fue realizado entre los meses de agosto de 2002 y enero de 2005 en diversas localidades de 16 estados de la República Mexicana. Complementariamente, se revisaron ejemplares donados al Laboratorio de Helminología por investigadores y estudiantes.

MÉTODOS DE ESTUDIO

El material helmintológico recolectado se procesó siguiendo distintos métodos dependiendo del tipo de estudio a realizar.

Narcotización

- Los ejemplares se colocaron en una caja de Petri adecuada a su tamaño, con agua del medio suficiente par cubrir por completo el cuerpo.
- Con una pipeta se goteó alcohol al 70% hasta que los movimientos de las sanguijuelas cesaron.
- Se retiró el exceso de mucus de las sanguijuelas.

Anatomía externa

- Los ejemplares se fijaron en formol al 4% y se conservaron en alcohol al 70% y su estudio se realizó bajo el microscopio de disección.

Anatomía interna

La anatomía interna puede ser estudiada mediante disecciones; de esta manera, se puede observar la disposición de las estructuras internas sin la deformación que ocurre al aplanar los ejemplares. El material empleado para este tipo de estudio se fijó en formol al 4% y se conservó en alcohol al 70%. Los ejemplares se sujetaron con agujas a una caja de Petri con una capa de cera y bajo un microscopio de disección se procedió a realizar un corte longitudinal a lo largo de la superficie dorsal, con el uso de pinzas finas se fue retirando el tejido conectivo que rodea a todos los órganos poniendo especial cuidado en las estructuras que desean observarse. En el caso de las sanguijuelas con mandíbulas, éstas pueden ser observadas haciendo una pequeña incisión ventral inmediatamente anterior a la ventosa oral.

PREPARACIONES PERMANENTES

Existen diversos métodos de tinción, sin embargo, la técnica combinada paracarmín de Mayer-hematoxilina de Ehrlich dió buenos resultados (tomado de López-Jiménez, 1985).

Los ejemplares recién narcotizados se colocaron entre dos vidrios cuyo tamaño depende de las dimensiones de las sanguijuelas, se procedió a fijarlas en formol al 4% o bien con Bouin y se conservaron en alcohol al 70%.

- Los ejemplares se lavaron en alcohol al 96% durante 10 minutos.
- Se tiñeron con paracarmín de Mayer durante 3 a 5 minutos.
- Se lavaron en alcohol al 96% durante 10 minutos.
- Se hidrataron en alcoholes graduales de 70%, 50%, 25% y agua destilada, 10 minutos en cada uno.
- Se tiñeron con hematoxilina de Ehrlich durante 5 a 10 minutos.
- Se lavaron en agua destilada.
- Se diferenciaron en agua acidulada al 2% con ácido clorhídrico hasta que adquirieron un color rosa pálido.
- Se lavaron en agua destilada.
- Se viraron en agua de la llave agregando unas gotas de carbonato de litio, hasta que tomaron un color azul morado.

- Se lavaron en agua destilada por 10 minutos.
- Se deshidrataron en alcoholes graduales hasta alcohol absoluto, 10 minutos en cada alcohol y 20 en el absoluto
- Se aclararon en salicilato de metilo.
- Se montaron ventralmente en bálsamo de Canadá, se etiquetaron y se secaron en una estufa.

ANÁLISIS MOLECULAR

Extracción de ADN

Para la obtención del ADN total se siguió el método de extracción Fenol-Cloroformo siguiendo lo propuesto por Hillis *et al.*(1996) y Palumbi (1996).

La reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

La subunidad I del Citocromo *c* oxidasa (CO-I) de 650 pares de bases se amplificó empleando los iniciadores universales LCO1490, 5'-GGTCAACAAA TCATAAAGATATTGG-3' y HCO2198, 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAA AATCA-3'. El fragmento de la subunidad pequeña del ribosoma 18S nuclear de 1800 pares de bases, se amplificó con los iniciadores A 5'-AACCTGGTTGATCCTGCCAGT-3'; L 5'-CCAACTACGAGCTTTT-3'; C 5'-CGGTAATTCCAGCTC-3'; Y 5'-CAGACAAATCGCTCC-3'; B 5'-TGATCCTTCCGCAGGTTACCT-3'; O 5'-AAGGGCACCACCAG-3'.

Cada reacción de amplificación contenía 0.625 unidades de Amplificasa (Biogénica), 2.5 µl de Buffer 10X, 1.5 mM de Cloruro de Magnesio 20X, 2 mM de cada uno de los dNTP (8 en total), 1 µl de cada uno de los iniciadores y 1 µl de ADN y posteriormente se llevaron a 25µl. Las reacciones de amplificación fueron realizadas en un termociclador Mastercycler ® gradient 5331 (Eppendorf Scientific).

El programa de amplificación para el CO-I es el siguiente: 94°C por 4 minutos, seguidos por 35 ciclos a 94°C por 15 segundos, 44°C por 20s y 70°C por 90s, la extensión final a 72°C por 7 minutos. Cada uno de los fragmentos del 18S rDNA siguió el siguiente programa: 94°C por 5 minutos, 35 ciclos, a 94°C por 15 segundos, 44°C por 20s y 70°C por 90 segundos. La extensión final a 72°C por 7 minutos.

Reacción de secuencia

Los productos de la amplificación fueron secuenciados en ambas direcciones. Cada 10 μ l de la mezcla de secuenciación contuvieron 2 μ l de Big Dye (Applied Biosystems), 2 μ l de solución amortiguadora de extensión, 0.5 μ l de cada uno de los iniciadores a 10 pm/ μ l y 3 μ l del producto de la amplificación. La secuenciación se realizó en un termociclador Mastercycler $\text{\textcircled{R}}$ gradient 5331 (Eppendorf Scientific). Las muestras se purificaron en columnas Centrisep (Princeton separations). Las secuencias se obtuvieron en un secuenciador ABI Prism 310 y se corrieron en un análisis de Blast en Genbank, con el fin de asegurarnos de que se trataran de secuencias del grupo en estudio.

Alineamiento

Las secuencias obtenidas se editaron empleando el programa Bioedit (Hall, 1999) y se alinearon en Clustal W (Higgins *et al.*, 1992) empleando los valores de inserciones y extensiones preestablecidos. El alineamiento de las secuencias del CO-I es trivial ya que no existen inserciones ni deleciones en ninguno de los taxones. El alineamiento del gen 18s rDNA se revisó manualmente con el fin de eliminar alineamientos erróneos.

Análisis filogenético

El análisis filogenético se realizó en el programa de cómputo PAUP* 4.0b10 (Swofford, 2002). Los gaps fueron codificados como información faltante y los caracteres se especificaron como no ordenados. Todos los cambios se determinaron con el mismo peso.

La obtención de árboles filogenéticos se realizó empleando el principio de máxima parsimonia y el método de búsqueda empleado fue Tree Bisection Reconnection (TBR) con 50 repeticiones. Los valores de Jackknife se calcularon en PAUP.

Las secuencias obtenidas en el presente trabajo se alinearon con secuencias disponibles en GenBank. Las claves de acceso, así como las localidades de recolecta se muestran en el cuadro 1. El grupo externo fue elegido de acuerdo con estudios previos (Apakupakul *et al.*, 1999; Siddall *et al.*, 2001).

Cuadro 1. Secuencias obtenidas de Genbank, localidades de recolecta y claves de acceso.

Taxones	Localidad	18S rDNA	CO-I
Americobdellidae			
<i>Americobdella valdiviana</i>	Chile	AY425461	AY425443
Cylicobdellidae			
<i>Cylicobdella coccinea</i>	Bolivia	AY425462	AY425444
Erpobdellidae			
<i>Erpobdella bucera</i>	Michigan, EUA	AF115998	AF116024
<i>Erpobdella dubia</i>	Michigan, EUA	AF115997	AF116023
<i>Erpobdella japónica</i>	Korea	AF116000	AF116026
<i>Erpobdella lineata</i>	Dinamarca	AF099950	
<i>Erpobdella melanostoma</i>	Michigan, EUA	AF115999	AF116025
<i>Erpobdella mestrovi</i>	Croacia	AF272842	
<i>Erpobdella obscura</i>	Ontario, Canadá	AF116004	AF003273
<i>Erpobdella octoculata</i>	Francia	AF116001	AF003274
<i>Erpobdella punctata</i>	Ontario, Canadá	AF116002	AF003275
<i>Erpobdella testacea</i>	Francia	AF116003	AF116027
Glossiphoniidae			
<i>Desserobdella picta</i>	Ontario, Canadá	AF115988	AF116020
<i>Desmobbella paranensis</i>	Arroyo Aspinas, Uruguay	AF115987	AF116019
<i>Haementeria ghilianii</i>	Guyana Francesa	AF115985	AF329035
<i>Haementeria gracilis</i>	Uruguay	AF115984	AF003276
<i>Haementeria tuberculifera</i>	Arroyo Aspinas Uruguay		AF329036
<i>Haementeria molesta</i>	Arroyo Aspinas Uruguay		AF329469
<i>Helobdella bolivianita</i>	Laguna Volcán Bolivia		AF329076
<i>Helobdella elongata</i>	Michigan, EUA		AF329078
<i>Helobdella fusca</i>	Michigan, EUA		AF329061
<i>Helobdella lineata</i>	Michigan, EUA		AF329062
<i>Helobdella michaelseni</i>	L. Calafquen, Chile		AF536824
<i>Helobdella nununununojensis</i>	Ulla Ulla, Bolivia		AF329047
<i>Helobdella papillata</i>	Gloucester, Virginia		AF329069
<i>Helobdella papillornata</i>	Brisban, Australia		AF329052
<i>Helobdella ringueleti</i>	Madidi, Bolivia		AF329051
<i>Helobdella robusta</i>	California, EUA		AF178680
<i>Helobdella sorojchi</i>	Madidi, Bolivia		AF329050
<i>Helobdella stagnalis</i>	Cotswolds, Inglaterra		AF329041
<i>Helobdella stagnalis</i>	Columbus, Ohio, EUA		AF329040
<i>Helobdella stagnalis</i>	Francia	AF115986	AF116018
<i>Helobdella triserialis</i>	EUA		AF329043
<i>Helobdella triserialis</i>	Laguna Volcán, Bolivia		AF329054
<i>Helobdella transversa</i>	Michigan, EUA		AF329044
<i>Oligobdella biannulata</i>	Carolina del Norte EUA	AF115989	AF116021
<i>Placobdella parasitica</i>	Ontario, Canadá	AF115990	AF003261
<i>Theromyzoon tessulatum</i>	No especificado	AF099942	AY047318
Haemadipsidae			
<i>Chthonobdella bilineata</i>	Australia	AF116006	AF003267
<i>Haemadipsa sumatrana</i>	Borneo	AY425464	AY425446
<i>Haemadipsa sylvestris</i>	Vietnam	AF116005	AF003266
<i>Mesobdella gemmata</i>	Chile	AY425472	AY425454
<i>Xerobdella lecomtei</i>	Eslovenia	AF099947	
Haemopidae			
<i>Haemopsis caeca</i>	Rumania	AY040687	AY040702
<i>Haemopsis grandis</i>	Manitoba, Canadá	AY425465	AY425447
<i>Haemopsis kingi</i>	Manitoba, Canadá	AY425466	AY425448
<i>Haemopsis lateromaculata</i>	Michigan, EUA:	AF116009	AF116028
<i>Haemopsis marmorata</i>	Michigan, EUA.	AF116008	AF003270

<i>Haemopsis sanguisuga</i>	Suecia	AF099941	AF462021
<i>Patagoniobdella fraterna</i>	Chile	AY425477	AY425459
<i>Patagoniobdella variabilis</i>	Chile	AY425476	AY425458
<i>Semiscollex similis</i>	Bolivia	AY425475	AY425457
Hirudinidae			
<i>Aliolimnatis africana</i>	Rep. Central Africana	AY425469	AY425451
<i>Aliolimnatis michaelsoni</i>	Congo	AF116010	AF116029
<i>Hirudinaria manillensis</i>	Puerto Rico	AY425467	AY425449
<i>Hirudo medicinalis</i>	BioPharm, Reino Unido	AF116011	AF003272
<i>Hirudo nipona</i>	Korea	AY425468	AY425450
<i>Limnatis nilotica</i>	Israel	AY425470	AY425452
<i>Macrobdella decora</i>	Michigan, EUA	AF116007	AF003271
<i>Macrobdella ditetra</i>	Georgia, EUA	AY425471	AY425453
<i>Oxytychus braziliensis</i>	Brasil	AY425473	AY425455
<i>Oxytychus striatus</i>	Argentina	AY425474	AY425456
Piscicolidae			
<i>Branchelion torpedinis</i>	Carolina del Sur, EUA	AF115993	AF00323265
<i>Calliobdella vivida</i>	Virginia, EUA	AF115992	AF003260
<i>Myzobdella lugubris</i>	Virginia, EUA	AF115994	AF003269
<i>Piscicola geometra</i>	Francia	AF115995	AF003280
<i>Stibarobdella macrothela</i>	Virginia, EUA	AF115996	AF116022
Salifidae			
<i>Barbronia weberi</i>	Austria	AF099951	
Grupo externo			
<i>Fridercia tuberosa</i>	No especificado	AF309453	AF064047
<i>Lumbricus terrestris</i>	Inglaterra	AJ272183	U24570
<i>Sabella tuberosa</i>	No especificado	AY436350	AY436349
<i>Tubifex tubifex</i>	EUA	AF360996	AF534866

RESULTADOS

Durante los trabajos de exploración se recolectaron los taxones que se muestran en el cuadro 2. Pertenecen a 11 géneros y 7 familias (*sensu* Sawyer, 1986).

Cuadro 2. Material recolectado en el presente trabajo.

Taxon	Estado	Huésped	
Erpobdellidae			
<i>Erpobdella</i> sp.	Querétaro, San Juan del Río		
<i>Erpobdella ochoterenai</i>	Michoacán, La Piedad		
	Michoacán, Cupatitzeo		
	Durango, Los Berros		
	Edo. Mex., Zempoala		
	Hidalgo, Tecocomulco		
	Jalisco, Laguna La Vega		
	Jalisco, Rio Ameca		
	Michoacán, Manantial de la Maiza,		
	Morelos, Temixco		
	Tlaxcala, Totolcingo		
<i>Erpobdella punctata mexicana</i>	D.F., Fuentes Brotantes, Tlalpan		
	Durango, Abraham Gonzalez		
	Guanajuato, Presa La Olla		
	Hidalgo, Tecocomulco		
	S. L. P., Agua de los Gamotes		
	S. L. P., Charco Blanco		
	S. L. P., Nuñez		
	S. L. P., Torre Quemada		
	Tlaxcala, Atlangatepec		
	<i>Erpobdella triannulata</i>	Tabasco, El Espino	
Tabasco, Pantanos de Centla			
Tabasco, Pomposu			
Veracruz, Catemaco			
Glossiphoniidae			
<i>Haementeria officinalis</i>	Colima, Carretera a Tepames		
	Colima, Facultad de Veterinaria		
	Durango, Guadalupe Aguilera		
	Jalisco, Las Palmas	<i>Bufo marinus</i>	
	Jalisco, Las Palmas	<i>Smilisca baudinii</i>	
	Jalisco, San Marcos		
	Michoacán, Uruapan		
	Nayarit, La Mora		
	Oaxaca, Chacahua		
	Querétaro Amealco		
	Veracruz, Río Camarón.	<i>Crocodylus</i> sp.	
	<i>Helobdella atli</i>	D.F., Canales de Xochimilco	
		Puebla, Aljojuca	
		Tlaxcala, Totolcingo	
		Tlaxcala, Totolcingo	
<i>Helobdella c.f. elongata</i>	Colima, Carretera a Tepames	Molusco	
	<i>Helobdella elongata</i>	Colima, Facultad de Veterinaria	

	Jalisco, Laguna La Vega	
	Jalisco, Rio Ameca	
	Morelos, Rio Amacuzac	
	Morelos, Rio Amacuzac	
	Puebla, Aljojuca	
	Tabasco, El Espino	
	Veracruz, Catemaco	
<i>Helobdella stagnalis</i>	Guanajuato, Presa La olla	
	Jalisco, Rio Ameca	
	Morelos, Temixco	
	Querétaro, San Juan del Río	
	S. L. P., Rresa del Mante	
	S. L. P., Mexquitic	
	Tabasco, El Espino	
<i>Helobdella triserialis lineata</i>	D.F., Fuentes Brotantes, Tlalpan	
	Jalisco, Laguna La Vega	
	Querétaro, San Juan del Río	
	S. L. P., Huichihuayan	
	Veracruz, Catemaco	
	D.F., Cuemanco, Xochimilco	
	Guanajuato, Presa La olla	
	Hidalgo, Tecocomulco	
<i>Placobdella mexicana</i>	Morelos, Rio Amacuzac	
	Michoacán, La Minzita	
<i>Placobdella</i> sp.	S. L. P., Bovedas de Jesus Maria	
	Edo. Mex., Santiago Tonicato	
	Oaxaca, Miztequilla	
<i>Theromyzon tessulatum</i>	Puebla, Alchichica	
Haemadipsidae		
<i>Diestecostoma mexicanum</i>	Guerrero, Zihuatanejo	
Haemopidae		
<i>Haemopsis caballeroi</i>	Morelos, Temixco	
	Tlaxcala, Totolcingo	
<i>Semiscolex</i> sp.	Veracruz, Catemaco	
Hirudinidae		
<i>Limnobdella</i> sp.	Nayarit, Rio Compostela	
	Michoacán, Norte de Lazaro Cardenas	
	S. L. P., Gamotes	
	Tlaxcala, Díaz Ordáz Municipio Tetla	
Ozobranchidae		
<i>Ozobranchus branchiatus</i>	Michoacán, Calabazas	<i>Lepidochelys olivacea</i>
Salifidae		
<i>Barbronia arcana</i>	Morelos, Rio Amacuzac	

Entre paréntesis se muestra el número de especies recolectadas pertenecientes a cada familia. Glossiphoniidae (8), Ozobranchidae (1), Salifidae (1), Erpobdellidae (3), Haemopidae (2), Haemadipsidae (1) e Hirudinidae (1).

Se recolectaron sanguijuelas en 18 estados de la República, entre paréntesis se muestra el numero de recolectas: Colima (4), D. F. (4), Durango (3), Estado de México (2), Guanajuato (3), Guerrero (1), Hidalgo (3), Jalisco (9), Michoacán (7), Morelos (7), Nayarit

(2), Oaxaca (2), Puebla (3), Querétaro (4), San Luis Potosí (9), Tabasco (5), Tlaxcala (6) y Veracruz (4).

Se obtuvieron secuencias nucleotídicas de 29 ejemplares que se muestran en el Cuadro 3. Los ejemplares fueron escogidos buscando una amplia representación taxonómica y geográfica de hirudíneos mexicanos.

Cuadro 3. Taxones de los cuales se obtuvieron secuencias nucleotídicas.

Taxón	Localidad	18S rDNA	CO-I
Erpobdellidae			
<i>Erpobdella ochoterenai</i>	Tlaxcala	X	X
	Jalisco	X	X
	Jalisco	X	X
<i>Erpobdella punctata mexicana</i>	Tlaxcala	X	X
	Guanajuato	X	X
	D.F.	X	X
<i>Erpobdella triannulata</i>	Veracruz	X	X
	Tabasco	X	X
Glossiphoniidae			
<i>Haementeria officinalis</i>	Veracruz	X	X
	Oaxaca		X
	Jalisco	X	X
<i>Helobdella atli</i>	Puebla	X	X
	D.F.		X
	Tlaxcala	X	X
<i>Helobdella elongata</i>	Jalisco	X	X
<i>Helobdella stagnalis</i>	Guanajuato	X	X
	Tabasco	X	X
	Jalisco	X	X
	Querétaro	X	X
<i>Helobdella triserialis lineata</i>	Hidalgo	X	X
	Querétaro	X	X
	Guanajuato	X	X
Haemopidae			
<i>Haemopsis caballeri</i>	Morelos	X	X
	Tlaxcala	X	X
<i>Semiscolex</i> sp.	Veracruz	X	X
Hirudinidae			
<i>Limnobdella</i> sp.	Nayarit	X	X
	San Luis Potosí	X	X
Haemadipsidae			
<i>Diestecostoma</i> sp.	Guerrero	X	X
Salifidae			
<i>Barbronia arcana</i>	Morelos	X	X

Las secuencias del CO-I obtenidas presentan una longitud que oscila entre los 607 y 649 pares de bases (pb) dependiendo de la calidad de la amplificación y secuenciación. La matriz resultante es de 657 pb. No se presentan inserciones ni deleciones.

Las secuencias del 18S rDNA obtenidas presentan una longitud de 1752 a 1863 pb. En las muestras de *Diestecostoma* y *Limnibdella* de Nayarit el último fragmento no pudo ser amplificado. El alineamiento de las secuencias presenta una longitud de 2085 posiciones. Se detectaron dos regiones hipervariables y una inserción de 113 nucleótidos en *Patagonibdella fraterna* y *P. variabilis*.

La matriz analizada presenta las siguientes características:

Número de taxones: 101

Número de caracteres totales: 2743.

Número de caracteres constantes: 1490

Número de caracteres variables no informativos: 376

Número de caracteres informativos: 868

Número de caracteres del CO-I: 649

Número de caracteres constantes del CO-I: 210

Número de caracteres variables no informativos del CO-I: 85

Número de caracteres variables informativos del CO-I: 354

Número de caracteres del ssu 18S rDNA: 2085

Número de caracteres constantes del ssu 18S rDNA: 1280

Número de caracteres variables no informativos del ssu 18S rDNA: 291

Número de caracteres variables informativos del ssu 18S rDNA: 514

El análisis del CO-I resultó en 31 árboles igualmente parsimoniosos de 5269 pasos, con índice de consistencia (IC)= 0.16 e índice de retención (IR)=0.55. En el análisis independiente del 18S rDNA se obtuvieron más de 23000 árboles de 2518 pasos, IC=0.5 e IR=0.82. El análisis combinado (649 nucleótidos del CO-I y 2082 de la ssu 18S rDNA) resultó en 36 árboles igualmente parsimoniosos de 7905 pasos con IC=0.28 e IR=0.66. En la figura 5 se muestra un diagrama simplificado del árbol de consenso estricto de los 36 árboles más parsimoniosos. Los detalles de los grupos Glossiphoniidae, Erpobdelliformes e

Hirudiniformes se abordarán en la sección correspondiente y el análisis del árbol general se abordara en la sección de resultados y discusión general.

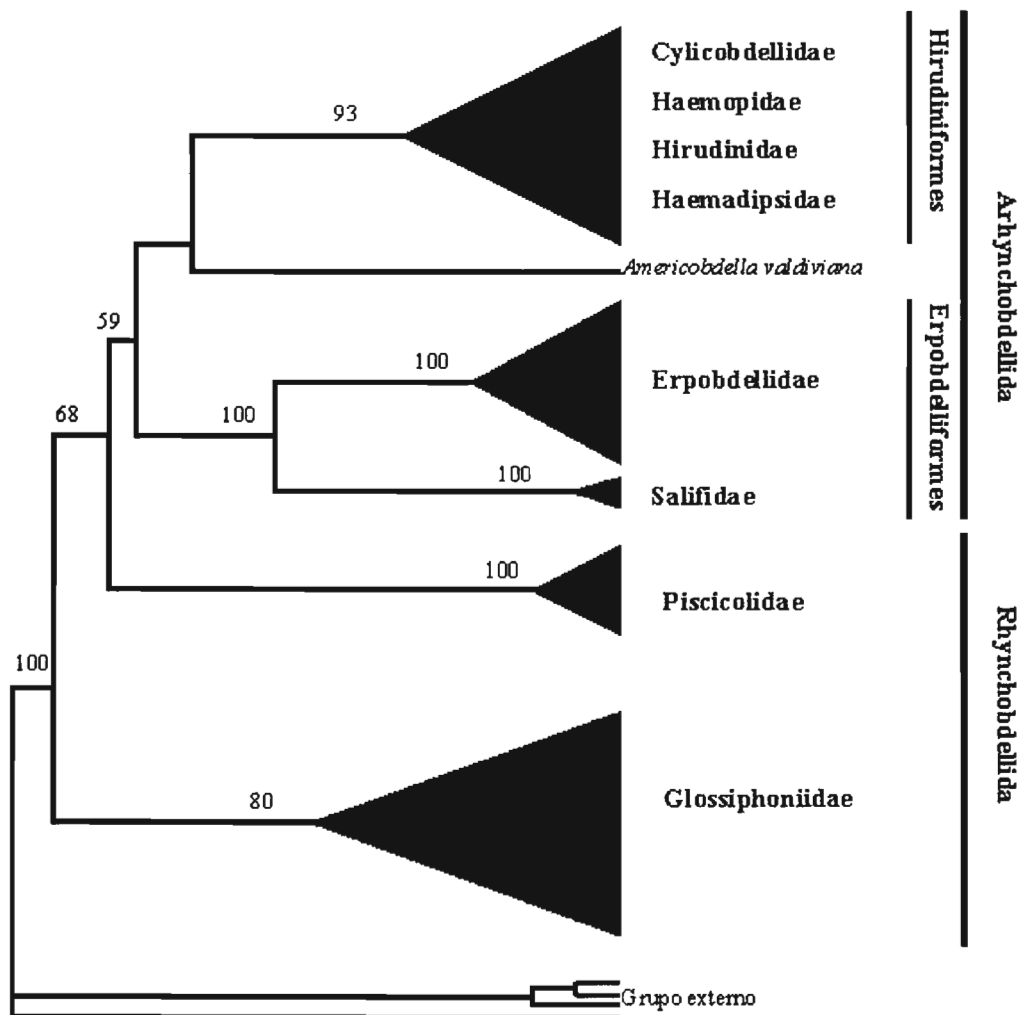


Figura 5 Árbol de consenso estricto de 36 árboles igualmente parsimoniosos, obtenidos a partir del análisis combinado de CO-I y 18S rDNA. El número sobre las ramas indica el valor de Jackknife.

FAMILIA GLOSSIPHONIIDAE

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

Familia Glossiphoniidae (Vaillant, 1890) Sawyer, 1986.

Características generales: Cuerpo aplanado, ventosa anterior poco desarrollada, ventosa posterior discoidal. Somito completo de 2 o 3 anillos, algunas veces 6. Proboscis eversible, sin mandíbulas. Glándulas salivales compactas o difusas en el parénquima, que desembocan en la base de la proboscis o en el esófago. Buche provisto con 6-10 ciegos. Intestino con 4 ciegos. Aparato circulatorio bien desarrollado. Huevos con mucho vitelo, los cuales requieren un periodo de incubación llevada a cabo por los padres. Sin especies terrestres. La revisión propuesta por Sawyer en 1986 se basa en la clasificación de estos organismos en el número de ojos y en la forma de depositar los huevos. Con excepción de *Theromyzon* y *Oosithuizobdella*, los géneros se separan entre los que depositan los huevos directamente sobre el substrato (Glossiphoniinae) y los que depositan los huevos directamente en el vientre de los padres (Haementeriinae).

La familia Glossiphoniidae se divide en tres subfamilias:

I.-Subfamilia Theromyzinae Sawyer, 1986. Con un solo género: *Theromyzoon*, compuesto por 11 especies. Presentan cuatro pares de ojos en posición estereoscópica, arreglados en paralelo en II, III, IV a₂ y V a₂. Fecundación por cópula a través del gonoporo femenino.

II.-Subfamilia Glossiphoniinae Autrum, 1939. Presentan fecundación por implantación hipodérmica del espermátforo. Los huevos se depositan directamente sobre el substrato. Solo hasta que éstos eclosionan, las crías se fijan en el vientre de los padres.

Incluye siete géneros: *Glossiphonia* Johnson, 1816 con cinco especies; *Hemiclepsis* Vejdovsky, 1884 con cuatro especies; *Placobdella* (Blanchard, 1893) Sawyer, 1986, con 12 especies, y tres géneros más, cuya posición y definición no están establecidas con certeza: *Baicaloclepsis* Lukin y Epshtein, 1959, *Parabdella* Autrum, 1936 y *Torix* (Blanchard, 1893). Barta y Sawyer (1990) establecieron el género *Desserobdella* para incluir especies que anteriormente se clasificaban dentro del género *Placobdella*.

III.- Subfamilia Haementeriinae (Autrum, 1939) Sawyer, 1986. Presentan fecundación por implantación hipodérmica del espermátforo. Los huevos se depositan directamente sobre el vientre de los padres. La subfamilia se ha dividido en dos series:

1) Dos ojos simples:

a) Gonoporos separados por dos anillos primarios:

Incluye siete géneros: *Haementeria* de Fillipi, 1849, con ocho especies. *Batrachobdella* Viguier, 1879, con seis especies. *Maiabdella* Ringuélet, 1980, con una sola especie. *Marsupiobdella* Goddard and Malan, 1912 con una sola especie. *Placobdelloides* Sawyer, 1986 con 13 especies. *Actinobdella* Moore, 1901, con cinco especies y *Oligobdella* Moore, 1918, con cuatro especies.

b) Gonoporos separados de 0-1 anillo primario: Incluye cinco géneros: *Helobdella* (Linnaeus, 1758). El cual a su vez se ha dividido en dos series.

I. Serie *Stagnalis*. Con placa quitinoide dorsal. Especies relacionadas con *Helobdella stagnalis*. Incluye siete especies.

II. Serie *Triserialis*. Sin placa quitinoide dorsal. Especies relacionadas con *Helobdella triserialis*. Con aproximadamente 12 especies.

Adaetobdella Ringuélet, 1978, con seis especies. *Gloiobdella* Ringuélet, 1978, con cuatro especies. *Marvinmeyeria* Soos, 1969 y *Tribothrynobdella* Ringuélet, 1976, ambas con una sola especie.

2) Seis ojos que en algunos casos coalescen, ojos bucales en Va_2 presentes en algunas ocasiones. Incluye tres géneros: *Alboglossiphonia* (Linnaeus, 1861) con 15 especies. *Oosthuizobdella* Sawyer, 1986 con cinco especies y *Paraclepsis* Harding, 1924, con tres especies.

Glossiphoniidae en México

A continuación se presentan los registros de especies de la familia Glossiphoniidae realizados en México.

El registro de especies de la subfamilia Theromyzinae en México, únicamente incluye a *Theromyzon tessulatum* (Muller, 1774) la cual es citada por Ringuélet (1981)

haciendo referencia a material recolectado por el Biól. Serapio López Jiménez, siendo éste el único registro. La localidad de recolecta de dicha especie es la laguna de Zumpango, Estado de México (López-Jiménez, Com. pers.).

La subfamilia Glossiphoniinae incluye dos representantes del género *Placobdella* en México:

El registro de *Placobdella ornata* en Xochimilco se refiere a material recolectado por Caballero en 1940 según la etiqueta principal del frasco; sin embargo, en el fondo del mismo se encontró otra etiqueta que señala que los ejemplares fueron recolectados por el Dr. Rioja el 23 de agosto de 1939. Dicho material fue determinado por Caballero (1940c) como *Placobdella rugosa* (sinónimo de *Placobdella ornata*). López-Jiménez (1985) revisó los cinco ejemplares depositados en la Colección Nacional de Helmintos (No. de Catálogo 001625) y los determinó como *Helobdella triserialis lineata*.

Las sanguijuelas recolectadas por el Dr. Martín del Campo en Cacahuamilpa, Guerrero de la piel de *Kinosternon integrum* fueron determinadas por Caballero (1941) como *Placobdella rugosa* (sinónimo de *Placobdella ornata*). Moore (1960) señaló que los ejemplares recolectados por Caballero podrían pertenecer a *Placobdella multilineata* Moore, 1953, criterio seguido por Sawyer (1986). Sin embargo, López-Jiménez (1985) al revisar dichos ejemplares, señaló que se trata de una especie distinta a la cual denominó *Placobdella ringueleti* López-Jiménez, 1985, especie de la cual no existe una descripción formal.

Placobdella mexicana (Moore, 1898) ha sido registrada parasitando a *Kinosternon hirtipes* en el Lago de Pátzcuaro, Michoacán (López-Jiménez, 1985). Sawyer (1986) señala que el nombre *P. mexicana* se encuentra pre-ocupado, por lo que se refiere a esta especie como *Placobdella moorei* Autrum, 1939. En conclusión, en México se distribuyen dos especies del género *Placobdella*: *Placobdella mexicana* y *Placobdella ringueleti* de la cual no existe una descripción formal.

La subfamilia Haementeriinae (Autrum, 1939) en México incluye los siguientes registros:

Actinobdella magnidisca (Moore, 1938) Sawyer, 1986 fue señalada por Moore (1938) para el estado de Yucatán, siendo este el único registro de ésta especie en México.

De Filippi (1849) describió un par de especies de México como *Haementeria officinalis* y *Haementeria mexicana*. Posteriormente, Jiménez, 1865 (In: Ringuelet, 1981) describió a la especie *Glossiphonia granulosa*. Blanchard en 1893 (In: López-Jiménez, 1985) revisó los trabajos antes citados únicamente validó a *Haementeria officinalis*, considerando a las demás como sinónimos. La distribución geográfica de esta especie es muy amplia, incluye los estados de Veracruz, Michoacán, Jalisco, Estado de México y Nayarit. Su presencia en Nuevo Orleans E.U.A. ha sido puesta en duda, y se le ha registrado en Venezuela y Paraguay (Klemm, 1982).

Helobdella stagnalis es de distribución mundial, se caracteriza por presentar una placa quitinoide dorsal en VIII a1/a2 (Sawyer, 1986). En México se ha registrado en los estados de Michoacán y Guanajuato por Caballero (1940b, 1941), quien la determinó como *Glossosiphonia stagnalis* (sic). Recientemente, Siddall *et al.* (en prensa) han sugerido que las diferencias moleculares entre *H. stagnalis* de Europa (localidad tipo) y *H. stagnalis* de EUA. son suficientes para considerar la forma norteamericana como una especie independiente para la cual re-establecen el epíteto específico empleado por Verrill, 1872 de *Helobdella modesta*.

Helobdella adiastrata Ringuelet, 1972 es otra especie que presenta placa quitinoide dorsal en VIII a1/a2, y ha sido señalada para México por Ringuelet (1981) y Sawyer (1986).

Glossiphonia socimulcensis Caballero, 1931 fue descrita con base en ejemplares recolectados en Xochimilco, D.F. Se caracteriza por presentar una banda media dorsal de color verde. Ringuelet (1981) la considera como sinónimo de *Helobdella triserialis*.

Ringuelet (1981) señala a *Helobdella moorei* Caballero 1931 como *species inquirenda*, ya que los ejemplares presentan gonoporos separados por dos anillos, carácter que no concuerda con la diagnosis del género, que sólo incluye especies con 0-1 anillos entre los gonoporos.

Helobdella conchata (Caballero, 1941) Soos, 1966 originalmente fue descrita como *Glossosiphonia conchata* (sic). Ha sido recolectada en Cuautla, Morelos y se caracteriza por presentar el anillo medio de cada somito subdividido. Es considerada como especie válida por Ringuelet (1981) y Sawyer (1986).

Helobdella triserialis ha sido señalada en México por López-Jiménez (1985) en la Laguna de Zumpango, Estado de México. Caballero (1940b) la registró en la Lago de Pátzcuaro, Michoacán como *Glossiphonia fusca* Castle 1900, que es considerada como *H. triserialis* por Soos (1969).

Helobdella elongata Castle, 1900, se ha registrado en Michoacán y Morelos (López-Jiménez, 1985). No presenta tubérculos, su cuerpo es angosto y sólo presenta un par de postciegos en el buche. Por esta característica, Sawyer (1986) la transfiere al género *Gloiobdella* Ringuelet, 1978.

Resumiendo, en México se han registrado hasta la fecha 10 especies de Glossiphoniidae: *Theromyzon tessulatum*, *Placobdella mexicana*, *P. ringueleti*, *Actinobdella magnidisca*, *Haementeria officinalis*, *Helobdella stagnalis*, *H. adiastrata*, *H. triserialis*, *H. conchata* y *H. elongata*.

Revisión de ejemplares depositados en colecciones científicas

Una nueva revisión de los ejemplares depositados en la CNHE con el número de catálogo CNHE 1961 nombrados como *Placobdella rugosa* confirmó la determinación realizada por López-Jiménez (1985) como *Helobdella triserialis lineata* en cuatro ejemplares; el quinto ejemplar presenta una placa quitinoide dorsal característica de *Helobdella stagnalis*, sin embargo debido a que el ejemplar fue mal fijado, la determinación no puede ser precisa, por lo cual debe considerarse como *Helobdella* sp. La revisión de los ejemplares recolectados en Cacahuamilpa, Guerrero (CNHE 1695) nos permite validar la determinación hecha por López-Jiménez (1985) como *Placobdella ringueleti*. Por lo tanto, el registro de *Placobdella ornata* en México no está sustentado y debe considerarse como erróneo.

Ringuelet (1972) revisó los ejemplares recolectados durante expediciones a Sur América depositados en el Museo de Historia Natural de París. Después de estudiar dicho material realizó la redescrición de *Helobdella scutifera* Blanchard, 1900, señalando que dicha especie carece de placa quitinoide dorsal y en su lugar presenta únicamente una glándula. De esta aseveración sigue que los ejemplares que si presentan placa quitinoide y que habían sido registrados como *H. scutifera* pertenecen a otra especie, la cual denominó como *Helobdella adiastrata* Ringuelet, 1972. Entre los registros que Ringuelet (1972)

transfiere de *H. scutifera* a *H. adiastrata* se encuentra uno realizado por Oka (1932), que hace referencia a material recolectado en Brasil y a un ejemplar de Tlalpam (sic) México, por T. Jaczewski y Wolski el 25 de agosto de 1929. Posteriormente, Ringuelet (1981) confirma la presencia de *H. adiastrata* en México al observar ejemplares recolectados por Serapio López Jiménez en Xochimilco, México, D. F. Al revisar el mismo material que llevó a Ringuelet a confirmar la presencia de *H. adiastrata* en México, el cual pertenece a la colección particular de Serapio López, observamos que difieren en los siguientes aspectos: *Helobdella adiastrata* presenta divertículos o postciegos en el buche y los ejemplares revisados no.

Helobdella adiastrata presenta un pequeño recorrido descendente de los vasos deferentes, mientras que los ejemplares revisados presentan vasos deferentes con un amplio recorrido descendente que llega hasta el último par de testículos.

La placa nuchal de *H. adiastrata* tiene forma ovalada con el extremo posterior trunco, mientras que en el ejemplar revisado la placa dorsal es triangular con la base hacia el extremo posterior.

Relaciones filogenéticas de la familia Glossiphoniidae

El análisis filogenético de las especies de la familia Glossiphoniidae con base en la información obtenida del CO-I y 18S rDNA se muestra en la figura 6.

La mayoría de los taxones incluidos en este estudio pertenecen a la subfamilia Haementeriinae, la subfamilia Theromyzinae está representada por *Theromyzon tessulatum*, mientras que la subfamilia Glossiphoniinae por *Placobdella parasitica* y *Desserobdella picta*. La posición de *T. tessulatum* como grupo hermano del resto de la familia Glossiphoniidae sustenta la propuesta de una subfamilia para agrupar a las Theromyziinae, sin embargo, debido a que se incluye un solo taxon en el presente análisis no se puede discutir sobre la monofilia del grupo. La posición de *Placobdella parasitica* y *Desserobdella picta*, miembros de la subfamilia Glossiphoniinae, en el mismo clado que *Oligobdella biannulata* y *Haementeria molesta*, representantes de la subfamilia Haementeriinae, no respalda la existencia de la subfamilia Glossiphoniinae o bien se requiere de una redefinición del grupo.



Figura 6. Consenso estricto de 36 árboles igualmente parsimoniosos obtenidos del análisis combinado de las secuencias de CO-I y 18S de la familia Glossiphoniidae. La longitud de las ramas es proporcional a la cantidad de cambios nucleotídicos. En negritas se muestran los taxones recolectados en el presente trabajo así como su localidad de recolecta. Los valores de Jackknife se muestran sobre los internodos. Las líneas negras gruesas señalan los grupos con placa quitinoide dorsal y las líneas punteadas señalan a *Haementeria* spp. Entre paréntesis se muestran los nombres previamente empleados.

En este sentido, la posición de *Oligobdella biannulata* y de *Desserobdella picta* ha sido controvertida ya que *Oligobdella biannulata* fue clasificada por Sawyer en 1986 dentro de la subfamilia Haementeriinae, sin embargo él mismo plantea sus dudas al anteponer un signo de interrogación al nombre del género (?*Oligobdella*). Los resultados del presente trabajo señalan que *Oligobdella* está más relacionada con *Placobdella* que con los Haementeriinae, lo cual concuerda con estudios de sistemática molecular previos (Light y Siddall, 1999; Siddall *et al.*, en prensa). Barta y Sawyer (1990) establecieron el género *Desserobdella* para especies con glándulas salivales difusas que habían sido incluidas anteriormente en el género *Placobdella*. Siddall *et al.* (en prensa) concluyeron que *Desserobdella* no es un grupo monofilético y por lo tanto se sinonimiza con *Placobdella*, lo cual tiene sentido en la filogenia que se muestra en el presente trabajo. La presencia de *Haementeria molesta* en el clado de *Placobdella* no es fácil de explicar, sin embargo se considera prematuro proponer cambios en el género *Haementeria* que se ha mantenido como monofilético en todos los estudios previos (Light y Siddall, 1999; Siddall y Borda 2003; Siddall *et al.*, en prensa).

Además del caso expuesto anteriormente, el género *Haementeria*, aparece polifilético no solo por *Haementeria molesta* sino que *Haementeria tuberculifera* aparece bien anidada dentro del grupo de *Helobdella*. La información de *Haementeria molesta* y *H. tuberculifera* incluida en este estudio es incompleta ya que solo se incluye la información nucleotídica del CO-I. Es posible que al incluir las secuencias del 18S rDNA de estas especies, se obtenga la monofilia del género *Haementeria*. Por lo que respecta al resto de *Haementeria*, se analizan secuencias de tres ejemplares de *Haementeria officinalis sensu lato* de México; sorprendentemente no aparecen en un grupo monofilético siendo la forma de Jalisco especie hermana de *Haementeria ghiliani* de Sur América. Las especies recolectadas en Veracruz y Oaxaca deben considerarse como la misma que describió de Filippi (1849), ya que presentan el dorso cubierto por una gran cantidad de papilas, mientras que los ejemplares de Jalisco son mas lisos. Los ejemplares recolectados en Jalisco se encontraron alimentándose sobre los anfibios *Smilisca baudini* y *Bufo marinus*. Según señala López-Jiménez (1985), *Haementeria officinalis* se alimenta solo bajo el agua, en cuanto su hospedero sale del medio líquido, las sanguijuelas se desprenden, terminando así su alimentación. Por el contrario, lo especie recolectada en Jalisco puede seguir

alimentándose de su huésped aun afuera del agua, al parecer presentando un sistema distinto de osmoregulación. Dados estos argumentos y por su posición en el cladograma, los ejemplares recolectados en Jalisco constituyen una especie independiente que requiere ser descrita. Por su posición en el cladograma, es claro que no es el resultado de un patrón de especiación vicariante, sino el resultado de una invasión secundaria proveniente de América del sur, lugar donde el género presenta la mayoría de las especies.

Por lo que respecta al género *Helobdella*, *Helobdella michsaaelseni* (= *Gloiobdella*) aparece como grupo hermano del resto de los miembros de *Helobdella*, seguida por el clado *H. bolivianita*+*H. ringueleti*, éstas últimas presentan una placa quitinoide dorsal. El siguiente grupo comprende en términos generales a las dos grandes series propuestas por Sawyer, 1986 para el género *Helobdella*, por una parte a la serie *triserialis* y por otro a la serie *stagnalis*, sin embargo la posición de algunas especies rompe este esquema.

La serie “*triserialis*” presenta un complejo patrón de líneas longitudinales dorsales con hileras de papilas, carece de placa quitinoide dorsal y presentan su mayor diversidad en América del Sur. *Haementeria tuberculifera* aparece dentro de este clado pese a presentar diversas características morfológicas que no sustentan dicha agrupación (p.ej. complejo de glándulas salivales en la base de la proboscis).

Helobdella papillornata ha sido descrita recientemente para Australia (Govedich *et al.*, 1998). La posición filogenética de dicha especie, como basal a las formas mexicanas de *Helobdella triserialis lineata*, formando a su vez el grupo hermano de *H. triserialis* de Bolivia sugiere que la forma Australiana ha sido introducida recientemente a ese continente a partir de una población americana. Kutschera (1985) describió una especie para Europa a la cual denominó *Helobdella striata*. Kutschera (1987) señaló que el epíteto específico “*striata*” se encontraba pre-ocupado, por lo cual erigió el nombre *Helobdella europea* para dicha especie. Pfeiffer *et al.* (2004) analizaron molecularmente a *H. europea*, y encontraron que es muy parecida a *H. papillornata* de Australia y sugirieron que la especie europea había sido introducida a ese continente desde Australia. Siddall y Budinoff (2005, en prensa) analizaron a éstas especies además de formas de Nueva Zelanda y Sudáfrica llegando a la conclusión de que una especie de Sudamérica aun no descrita del complejo “*triserialis*” había sido dispersada por Australia, Europa, Nueva Zelanda y Sudáfrica. Al no

haber sido descrita en Sudamérica, esta especie debe llevar el nombre de *Helobdella europea*.

El clado formado por *Helobdella triserialis*, *H. papillata*, *H. transversa*, *H. robusta* y *H. lineata* se distribuye en EUA. Las dos primeras son consideradas por Siddall y Borda (2003) como *H. papillata*, por lo tanto consideran que *H. triserialis* no se distribuye en Norteamérica, mientras que *H. lineata* es considerada sinónimo de *H. robusta*. La politomía basal de los clados formados por los ejemplares mexicanos de *Helobdella triserialis lineata*+ *H. europea* + *H. triserialis* de Bolivia, el clado de especies de EUA, *H. fusca* y *Haementeria tuberculifera* no nos permite concluir sobre las relaciones que hay entre estos grupos, sin embargo resulta claro que el grupo de ejemplares mexicanos forman un clado monofilético e independiente de *H. papillata* (= *H. triserialis*) de EUA y de *H. triserialis* de Bolivia, por lo tanto *Helobdella triserialis lineata* de México debe ser considerada como una especie independiente de las dos anteriores. La localidad tipo de *H. triserialis* (Blanchard, 1849) es Chile, siendo posible que tanto los ejemplares de Bolivia como los de México sean especies diferentes a los de la localidad tipo. En el caso de los ejemplares mexicanos, se sugiere reestablecer el nombre empleado por Caballero (1931): *Helobdella socimulcensis*.

La serie *stagnalis* incluye además de varias especies con placa quitinoide dorsal como *Helobdella stagnalis* (especie tipo), a algunas especies que carecen de ese carácter como el grupo de *Helobdella elongata* (= *Gloiobdella*) y al clado formado por *Helobdella paranensis*, *H. sojorochi* y *H. nununujensis*.

Helobdella stagnalis fue descrita por Linneo en 1758, y se considera una especie con distribución cosmopolita. El resultado obtenido en este trabajo señala que en realidad se trata de varias especies crípticas. Siddall *et al.* (2005, en prensa) señalan que las diferencias genéticas entre *Helobdella stagnalis* de EUA y *H. stagnalis* de Europa son suficientes para considerar a las formas norteamericanas como una especie independiente, con lo cual resucita a *Helobdella modesta* (Verill, 1872). Recientemente, Ocegüera-Figueroa y León-Règagnon (2005) describieron a *Helobdella atli*, una especie con placa quitinoide dorsal que se distribuye en los estados de Tlaxcala, Puebla y D.F. Dicha especie había sido registrada en México como *H. adiaastola* por Ringuelet (1972, 1981), sin

embargo, presenta características morfológicas que permiten diferenciarla claramente de la especie suramericana así, como de *H. stagnalis* (ver anexo 1).

Helobdella atli aparece basal al clado de las especies norteamericanas y europeas. De acuerdo con Siddall *et al.* (2005, en prensa) el género *Helobdella* se ha dispersado desde Sudamérica hasta Norteamérica en al menos tres ocasiones en el caso de *Helobdella fusca* (serie *triserialis*) y una mas en la serie *stagnalis*. La posición de *H. atli* en el cladograma como basal al grupo formado por las formas europeas y de EUA apoya la existencia de este patrón biogeográfico.

En un clado aparte, se agrupan todas las muestras de *Helobdella stagnalis* de cuatro localidades de México, apareciendo como grupo hermano de *H. elongata*, especie que carece de placa quitinoide dorsal. La relación de éstas con las demás especies con placa quitinoide dorsal no se resuelve con buen soporte de ramas en el presente trabajo, sin embargo resulta claro que dada su posición en el cladograma se trata de una especie distinta de *H. atli*, de *H. modesta* y de *H. stagnalis* de Europa por lo cual se trata de una especie nueva.

Los valores de Jackknife son menores de 50% en los nodos que abordan la monofilia o polifilia de las especies con placa quitinoide dorsal, por lo cual la discusión sobre la importancia de dicha estructura como característica de un grupo (sinapomorfía) no puede establecerse con seguridad.

Distribución geográfica

La mayoría de los registros realizados durante el presente trabajo pertenecen al género *Helobdella*. En la figura 7 se muestran los sitios de recolecta de *Helobdella* spp. En la figura 8 se muestran los sitios de recolecta de *Haementeria* spp. Y finalmente, en la figura 9 se muestran los sitios de recolecta de otras especies de Glossiphoniidae.

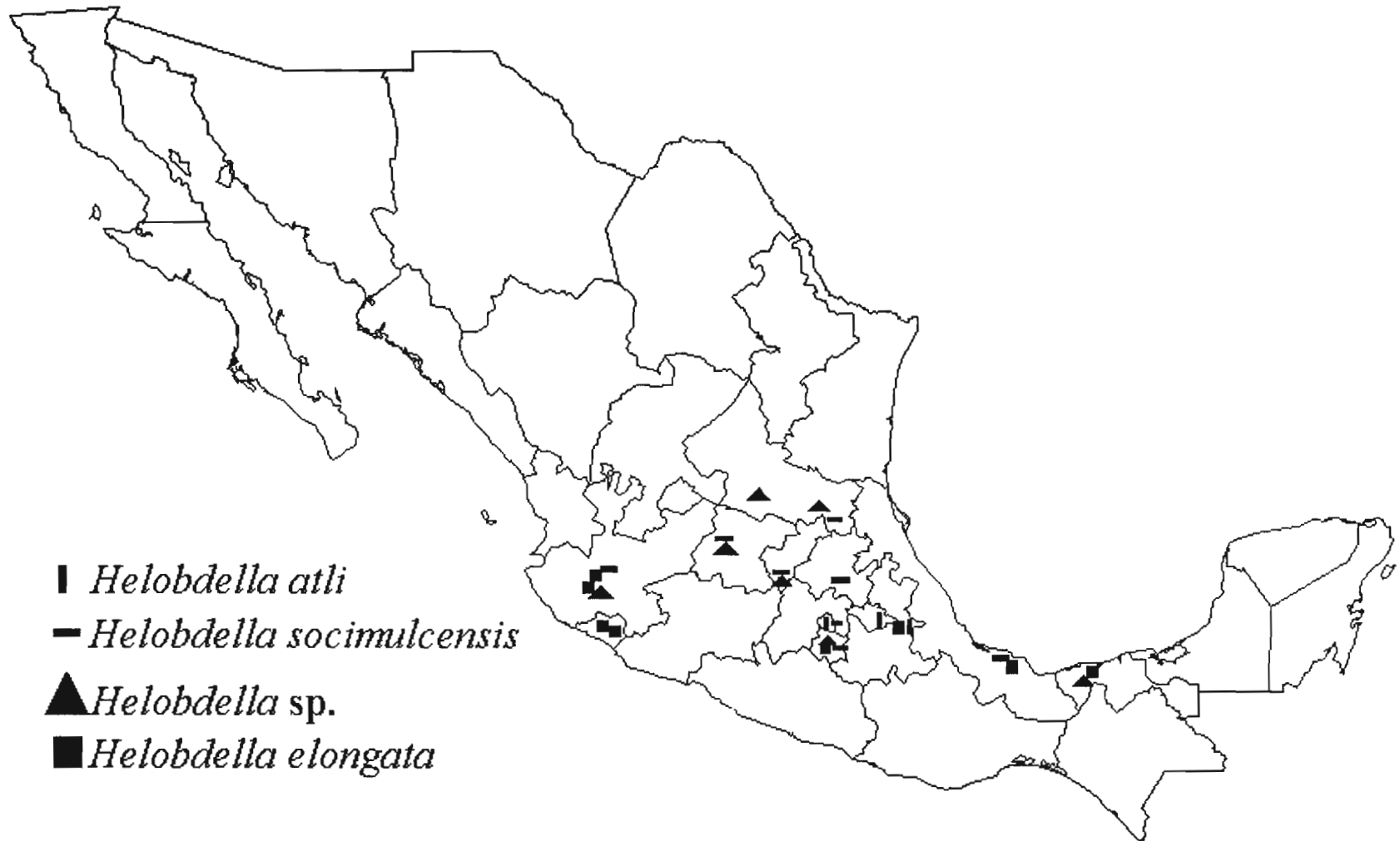


Figura 7. Mapa de distribución de las especies de *Helobdella* recolectadas en el presente trabajo.



Figura 8. Mapa de distribución de las especies de *Haementeria* recolectadas en el presente trabajo.



Figura 9. Mapa de distribución de algunas especies de Glossiphoniidae recolectadas en el presente trabajo.

SUBORDEN ERPOBDELLIFORMES

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

Suborden Erpobdelliformes Sawyer, 1986 (=Pharyngobdelliformes Caballero, 1952)

Somita completa generalmente formada por 5 anillos, en algunos casos llegando hasta 11 anillos. 6 u 8 ojos, generalmente dispuestos en dos grupos (labial y bucal). Sin mandíbulas, en algunos casos con estiletes faríngeos. Faringe formada por tres lados, en la región cefálica las paredes son dos ventrolaterales y una dorsomedial, sin embargo ésta disposición se modifica hacia la región posterior. La faringe es larga llegando hasta el ganglio X. Tubo digestivo sin ciegos, en algunas ocasiones un par rudimentario. Testisacos pequeños y numerosos dispuestos sin orden. Ovisacos simétricos o no.

Se reconocen dos familias: Salifidae de Asia, África y Oceanía y Erpobdellidae de Norte América, Europa y Asia.

Características generales de Salifidae

Pocos testisacos, generalmente con estiletes. Algunas veces con gastroporo dorsal y ojos postcefálicos.

Se reconocen 5 géneros: *Salifa*, *Barbronia*, *Dineta*, *Odontobdella* y *Scaptobdella* con alrededor de 17 especies (Sawyer, 1986; Westergren y Siddall, 2004). Esta familia no ha sido revisada desde el punto de vista filogenético y la información molecular de estas especies es muy reducida. Recientemente se ha registrado a *Barbronia weberi* en el continente americano (Pamplin y Rocha, 2000; Rutter y Klemm, 2001). *Barbronia weberi* es una especie invasiva originaria de Asia que se ha dispersado a todo el mundo aparentemente mediante el comercio de peces (Govedich *et al.*, 2002; Govedich *et al.*, 2003; Westergren y Siddall, 2004).

Características generales de Erpobdellidae

Numerosos testículos por segmento, no presentan estiletes faríngeos, gastroporo presente, ojos postcefálicos. Característicos del hemisferio norte (Sawyer, 1986).

La familia Erpobdellidae Blanchard, 1894 incluye 9 géneros: *Archaeobdella*, *Dina*, *Erpobdella*, *Nephelopsis*, *Trocheta*, *Fadejewobdella*, *Moorobdella*, *Motobdella* y

Croatobranchus, con aproximadamente 30 especies distribuidas en Norte América y Europa (Sawyer, 1986; Siddall, 2002). Con base en la estructura del aparato reproductor masculino, la familia se ha dividido en dos grupos: el que presenta conductos eyaculadores con una porción ascendente hasta el ganglio XI antes de descender nuevamente y los que no presentan dicha proyección. Con base en este criterio, los géneros se agrupan de la siguiente forma (Sawyer, 1986):

A) Conductos eyaculadores con porción ascendente hasta el ganglio XI:

Géneros *Archaeobdella*
 Dina
 Erpobdella
 Nephelopsis
 Trocheta

B) Sin conductos eyaculadores con porción ascendente hasta el ganglio XI.

Géneros *Fadejewobdella*
 Mooreobdella

Recientemente se han descrito dos géneros más: *Motobdella* Govedich, Blinn, Keim y Davies 1998, y *Croatobranchus* Kerovec, Kueiniaie y Jalziae 1990. En ambos casos, el aparato reproductor masculino presenta conductos eyaculadores con una porción ascendente hasta el ganglio XI, semejante a *Erpobdella*, sin embargo, presentan caracteres morfológicos claramente distinguibles, como un par de ciegos en el buche en *Motobdella* y apéndices somáticos en *Croatobranchus* (Siddall, 2002).

El criterio morfológico empleado para la diferenciación de los géneros *Erpobdella*, *Dina* y *Trocheta* es el grado de subdivisión del último anillo de cada somito completo. En el género *Erpobdella* el anillo b_6 es completo, en *Dina* el anillo b_6 está subdividido en c_{11} y c_{12} y en *Trocheta* el anillo c_{12} está subdividido en d_{23} y d_{24} (Trontelj y Sket, 2000).

Las relaciones filogenéticas de las especies de la familia Erpobdellidae han sido más estudiadas que en cualquier otro grupo de Euhirudineos (p.ej. Govedich *et al.*, 1998; Trontelj y Sket, 2000; Siddall, 2002.) En el trabajo de Siddall (2002), se propone una hipótesis filogenética que incluye 13 taxones como grupo interno y a *Haemopsis sanguisuga* y *Barbronia weberi* como grupos externos. Esta hipótesis fue realizada con base en el

análisis del gen del CO-I, el gen mitocondrial 12S rDNA y el gen nuclear 18S rDNA y cinco caracteres morfológicos; de ella se desprende que los caracteres morfológicos empleados con anterioridad para clasificar al grupo (p.ej. morfología del aparato reproductor masculino y división de las somitas) no son informativos filogenéticamente. Con base en esto, el autor plantea la necesidad de una redefinición radical de la taxonomía del grupo y sugiere que siguiendo el principio de prioridad, todas las especies de la familia Erpobdellidae se deben agrupar en el género *Erpobdella* Blainville, 1818, el cual incluiría 37 especies nominales.

Erpobdelliformes en México

El primer registro de erpobdélidos en México data de 1876, con la descripción de *Nepheleis mexicana*, sanguijuela recolectada en los alrededores de la Ciudad de Guanajuato (Dugès, 1891). Ejemplares de esa especie fueron enviados al Museo Nacional de los Estados Unidos y al Museo de Historia Natural de París; los ejemplares depositados en la primera fueron determinados como *Dina quadristriata* por Moore (1898). Posteriormente, Soos (1966) considera tanto a *N. mexicana* como a *D. quadristriata* como sinónimos de *Dina lineata*. Finalmente Ringuélet (1976), después de examinar los ejemplares depositados en los museos antes citados, señala que esta especie corresponde en realidad a *Erpobdella punctata* (Leidy, 1870) sugiriendo que debido a algunas diferencias de los aparatos reproductores, podría tratarse de una sub-especie denominada *Erpobdella punctata mexicana*.

Caballero (1937) señaló que los registros previos hechos por Oka (1932) con relación a la existencia en nuestro país de *Herpobdella lineata* (sic) y *H. octoculata* (sic) corresponden a *Herpobdella punctata* (sic), especie con una amplia distribución. Estos registros se consideran actualmente como *Erpobdella punctata mexicana* (López-Jiménez, 1985).

Caballero (1932), describió a *Herpobdella ochoterrenai* (sic) procedente de los canales de Xochimilco, Distrito Federal. Dicha especie fue transferida al género *Mooreobdella* por Sawyer y Shelley (1976), y posteriormente López-Jiménez (1985) concluyó que esta especie es sinónima de *Mooreobdella microstoma* (Moore, 1901).

Erpobdella triannulata Moore, 1908, fue descrita con base en un material recolectado en Guatemala. Moore (1936) señala que también se distribuye en México y California, EUA. La presencia de esta especie en el sur de los Estados Unidos fue negada por Klemm (1982) quien señaló que el registro pudiera tratarse de *Mooreobdella microstoma*, especie presente en EUA. En México, los registros que se tienen de esta especie son de los estados de Yucatán, Chiapas y Tabasco (Moore, 1936; López-Jiménez, 1985).

Es necesario revisar la situación taxonómica de las especies de erpobdeliformes en México en el marco de las hipótesis filogenéticas recientes.

Los objetivos particulares incluyen revisar la validez y la situación taxonómica de las especies de la CNHE así como establecer las afinidades filogenéticas de las especies recolectadas empleando secuencias de ADN.

Revisión de ejemplares depositados en colecciones científicas

Herpobdella ochoterenai (sic) Caballero, 1932 es una especie que carece de recorrido ascendente de los conductos eyaculadores hasta el ganglio XI y presenta tres anillos entre los gonoporos. Por estas características, López-Jiménez (1985) la sinonimizó con *Erpobdella microstoma*. La revisión de los ejemplares depositados en el Instituto de Biología, UNAM. (CNHE 1663) nos permitió corroborar dichas características en tres ejemplares, un cuarto ejemplar pertenece a *Helobdella* sp. Sin embargo, no ratificamos la sinonimia sugerida por López-Jiménez (1985) debido a que en la descripción original de *Erpobdella microstoma*, Moore (1901) señala que ésta especie carece de pigmentación a lo largo de su vida y algunos de los ejemplares adquieren la tonalidad de los alimentos que han ingerido. El caso de *Erpobdella ochoterenai* los ejemplares revisados son de color pardo rojizo y muchos de ellos presentan una banda longitudinal dorsal oscura fácilmente distinguible.

Relaciones Filogenéticas

El resultado del análisis filogenético de las especies de la familia Erpobdellidae con base en la información obtenida del CO-I y 18S rDNA se muestra en la figura 10. En

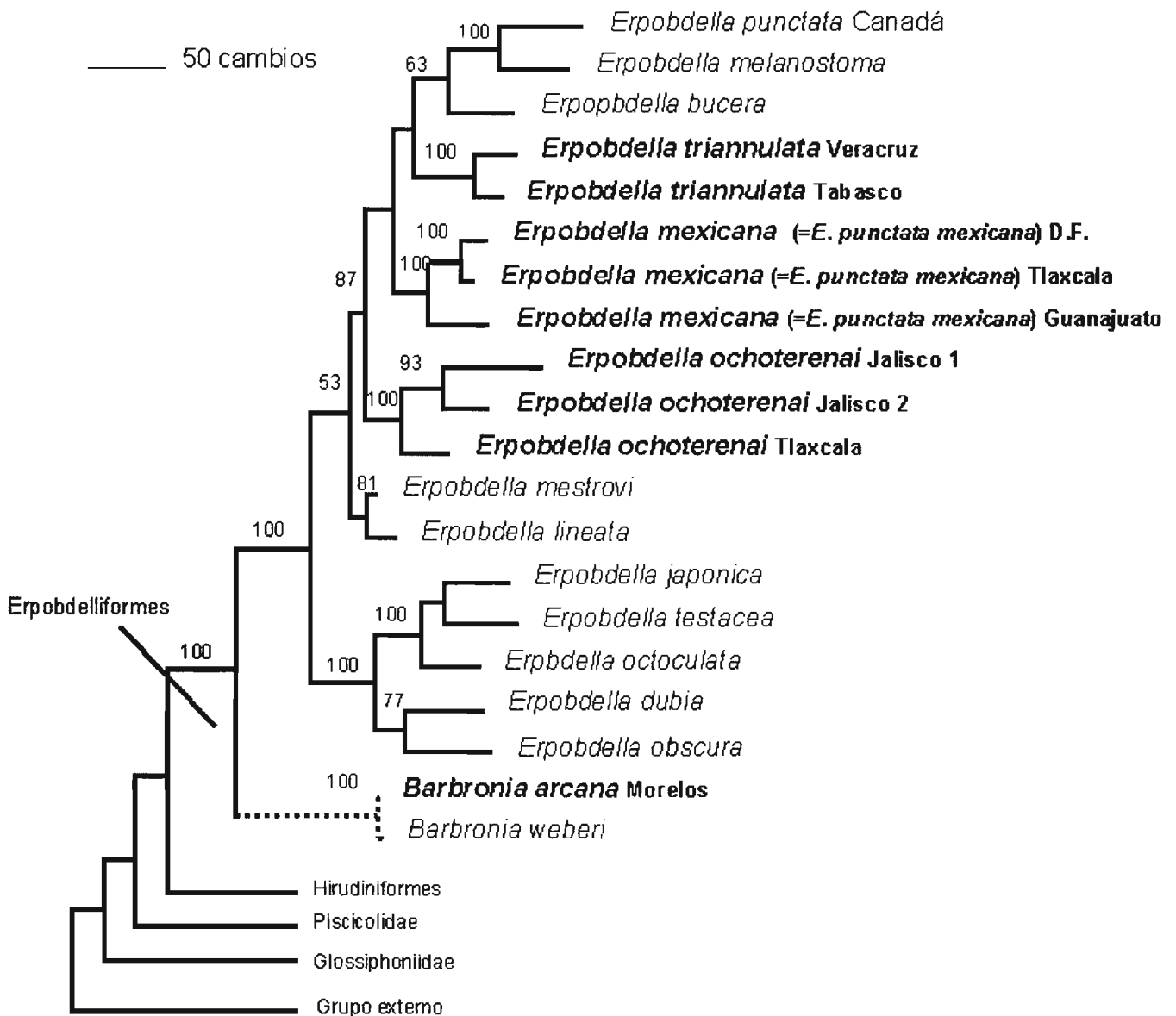


Figura 10. Consenso estricto de 36 árboles igualmente parsimoniosos obtenidos del análisis combinado de secuencias de CO-I y 18S del suborden Erpobdelliformes. La longitud de las ramas es proporcional a la cantidad de cambios nucleotídicos. En negritas se muestran los taxones recolectados en el presente trabajo así como su localidad de recolecta. Los valores de Jackknife se muestran sobre los internodos. Con líneas punteadas se muestran las especies de Salifidae, con líneas negras las pertenecientes a Erpobdellidae. Jalisco 1= Presa Ameca, Jal. Jalisco 2= Río Ameca, Jal.

términos generales, los resultados aquí obtenidos concuerdan con los publicados por otros autores previamente (Siddall, 2002; Borda y Siddall, 2003). El resultado de este trabajo sugiere la monofilia de la familia Erpobdellidae que resulta grupo hermano de la familia Salifidae (figura 10).

En el caso de *Erpobdella ochoterenai*, todas las secuencias analizadas se agruparon en un solo clado (figura 10.). La pregunta sobre si se trata de una sola especie con gran diversidad genética o bien si se trata de tres especies morfológicamente indistinguibles requiere un mayor número de recolectas para responderse. El caso de *Erpobdella punctata mexicana* es similar al anterior, sin embargo es claro que es necesario reestablecer el epíteto específico empleado originalmente por Dugès, 1879 (*mexicana*) para la forma de México, ya que el análisis filogenético ubica en diferentes posiciones del cladograma a *Erpobdella punctata* recolectada en Canadá y a la supuesta subespecie de México, por lo cual las poblaciones mexicanas corresponden a *Erpobdella mexicana*.

Erpobdella triannulata fue recolectada en los pantanos de Centla, Tabasco y en Catemaco, Veracruz. Se trata de sanguijuelas más pequeñas que sus congéneres mexicanos y presentan tres anillos separando a los gonoporos, además de presentar los vasos deferentes con un recorrido anterior hasta el ganglio IX para después conectarse a los cuernos atriales del aparato reproductor masculino.

La familia Erpobdellidae es característica del Hemisferio Norte (Sawyer, 1986), región en la que presenta el mayor número de especies. Estudios sobre la distribución geográfica de este grupo de organismos realizados por Ringuelet (1968, 1978), sugieren que la fauna de erpobdélidos es de origen neártico, es decir “Abolengo neártico o si acaso Holártico, para las especies que, aunque puedan ser endémicas, proceden de un horocentro septentrional” (Ringuelet, 1968). *Erpobdella triannulata* del sureste mexicano es la especie con distribución más meridional de toda la Familia Erpobdellidae; aparece como especie hermana del clado formado por *Erpobdella punctata*+*E. melanostoma*+*E. bucera* de Canadá y EUA, lo cual es difícil explicar biogeográficamente. Aunado a esto, la historia geológica de México ha sido muy compleja, produciendo patrones biogeográficos muy complicados (Marshall y Liebherr, 2000). El soporte de este grupo, así como su relación con *Erpobdella punctata* y *Erpobdella microstoma* no presentan un alto valor de soporte (Jackknife<50%), por lo cual se requiere el muestreo de más taxones de regiones geográficas intermedias para aclarar este problema.

Sorpresivamente, se registra a una especie de la familia Salifidae en el Río Amacuzac, Morelos. La familia Salifidae es característica del hemisferio sur de todos los continentes exceptuando al americano. Recientemente, se realizaron dos registros de

Barbronia weberi en el continente Americano (Pamplin y Rocha 2002; Rutter y Klemm 2001) y esta especie ha sido ampliamente reconocida como una especie invasora que se ha dispersado por el mundo (Govedich *et al.*, 2002; Govedich *et al.*, 2003; Westergren y Siddall, 2004). Sin embargo, la especie que encontramos en Morelos, México, presenta un par de ciegos en la región posterior del buche y carece de estiletes faríngeos, condición que no corresponde con *B. weberi*, sino con *Barbronia arcana*. Esta especie es fácilmente distinguible de los miembros de la familia Erpobdellidae debido a la presencia de un par de glándulas copuladoras en la línea media ventral, una anterior al gonoporo masculino y una posterior al gonoporo femenino. Este registro representa el primero de la familia Salifidae en México, el tercero en América y el primer registro de *Barbronia arcana* fuera de Australia.

Mapeo de Caracteres

En la figura 11 se muestra el mapeo de los caracteres morfológicos empleados en la taxonomía del grupo (adaptados de Siddall, 2002).

El mapeo de los caracteres morfológicos en la mejor hipótesis filogenética muestra que la presencia de conductos eyaculadores con recorrido ascendente hasta el ganglio XI y la subdivisión del quinto anillo presentan índices de consistencia (ic) de 0.2 y 0.33 respectivamente, lo cual significa que no son útiles desde el punto de vista filogenético y que su uso en la definición de grupos no tiene significado evolutivo. El número de pares de ojos presenta un ic de 1, definiendo un grupo por la presencia de cuatro pares de ojos. El siguiente carácter con mejor ic (ic = 0.5) es el tipo de ovarios. La característica de ovarios doblados se presenta en un clado muy amplio de erpobdélidos que incluye a las sanguijuelas de México, sin embargo aparece independientemente en *E. dubia*. El número de anillos entre los gonoporos (ic = 0.4) presenta cinco cambios a lo largo del cladograma, por lo tanto tiene poca utilidad filogenética. Existen al menos dos clados que han evolucionado independientemente en Norteamérica, uno de ellos comprende a erpobdélidos con tres pares de ojos en el que están incluidas las especies nativas mexicanas, y otro clado que incluye a *E. dubia* y a *E. obscura* con cuatro pares de ojos.

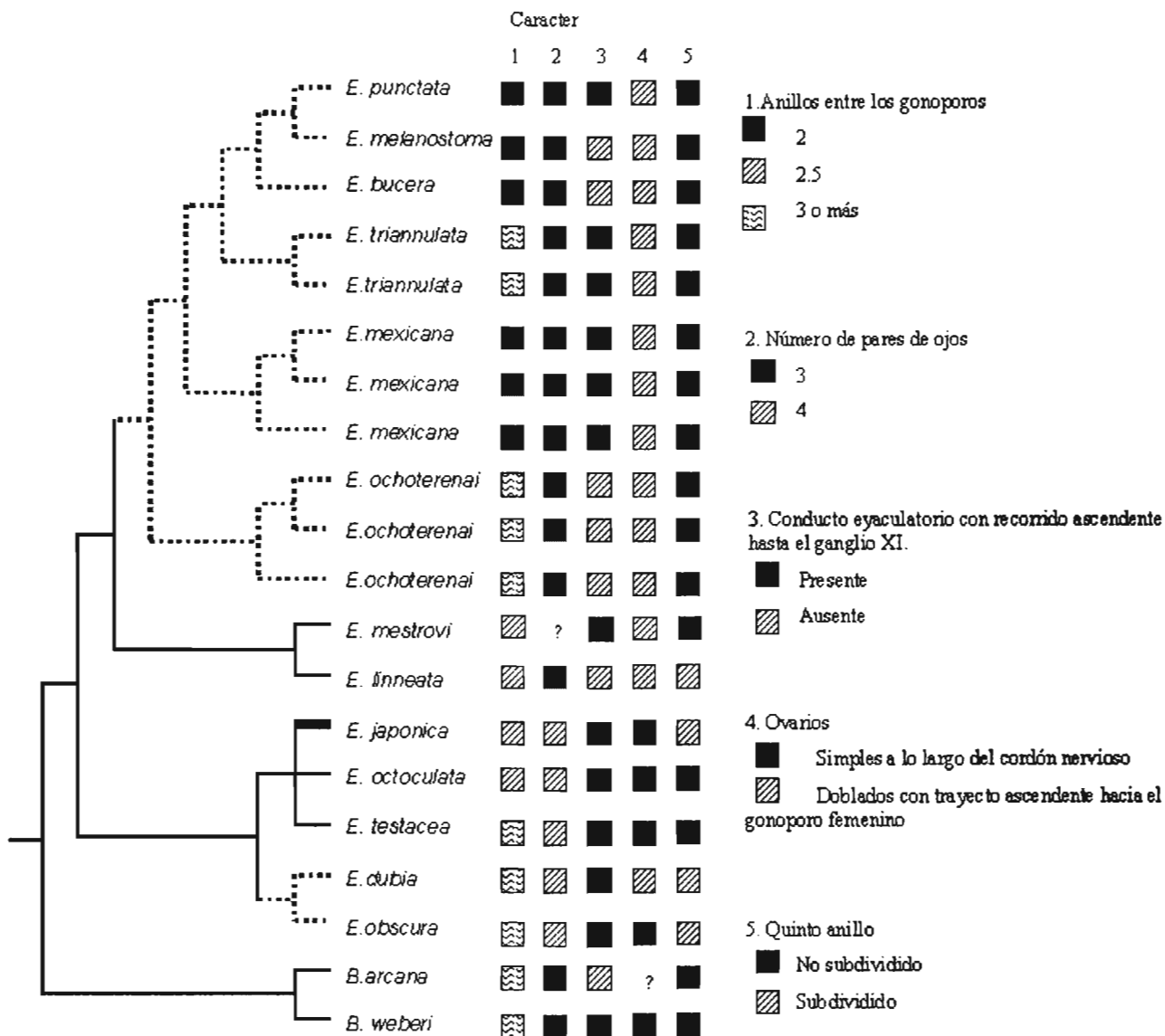


Figura 11. Árbol de consenso estricto de 36 árboles igualmente parsimoniosos obtenidos del análisis combinado de secuencias de CO-I y 18S del suborden Erpobdelliformes. Se muestra el mapeo de cinco caracteres morfológicos empleados en la taxonomía tradicional del grupo. Las líneas punteadas señalan a los clados americanos, las líneas negras delgadas señalan a los taxones europeos y la línea negra gruesa al único taxón asiático.

Distribución geográfica

La distribución geográfica de los erpobdeliformes de México recolectados en el presente trabajo se muestra en la figura 12. Pese a ser un número reducido de muestras, se puede observar claramente que *E. triannulata* se distribuye en las partes bajas del sureste del país, *E. ochoterenai* se distribuye hacia el centro-occidente del país, mientras que *E. mexicana* tiene una distribución en partes altas más hacia el centro del territorio nacional, sin embargo hay regiones en las que las dos especies coexisten. Consideramos a *Barbronia arcana*, recolectada en el Río Amacuzac, Morelos, como una especie de origen australiano recientemente introducida a nuestro país.



Figura 12. Mapa de distribución de las especies de erpobdeliformes recolectadas en el presente trabajo.

SUBORDEN HIRUDINIFORMES

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

Suborden Hirudiniformes Caballero, 1952. (=Gnathobdelliformes Caballero, 1952)

Faringe provista de mandíbulas dentadas, salvo algunas excepciones. Sin proboscis eversible, faringe euthelimatosa. 5 pares de ojos. Sensilas arregladas metamericamente fácilmente distinguibles. Próstata situada en la base del pene. Sin espermátóforos. Ootecas grandes y esponjosas que son depositadas sobre tierra húmeda. Acuáticos y terrestres.

El suborden Hirudiniformes ha sido dividido por Sawyer, 1986 en dos series dependiendo del sus hábitos alimenticios.

Serie I. Macrófagos, buche sin ciegos, excepto postciegos en algunas especies.

Familia Cylicobdellidae (terrestres)

Familia Americobdellidae (terrestres)

Familia Haemopidae (acuáticos)

Serie II. Hematófagos, Bucho con ciegos que presentan distintos arreglos.

Familia Hirudinidae (acuáticos)

Familia Haemadipsidae (terrestres)

Se presentan a continuación las características generales y clasificación de cada una de las familias del suborden.

Familia Cylicobdellidae Sawyer, 1986. Organismos sin mandíbulas, predadores, bucho sin ciegos exceptuando postciegos en algunas especies. Región media del aparato reproductor masculino micromórfico, sin pene. Terrestres. Incluye dos subfamilias: Cylicobdellinae y Gastromobdellinae con seis géneros : *Blanchardiella*, *Cylicobdella*, *Lumbricobdella*, *Gastromobdella*, *Mimobdella* y *Orobdella*. Sin representantes en México.

Familia Americobdellidae Caballero, 1956. Organismos sin mandíbulas, predadores, bucho sin ciegos exceptuando postciegos. Terrestres. Ovisacos conectados a una bursa

impar localizada anteriormente del atrio masculino. Pene rudimentario. Una sola especie de Chile: *Americobdella valdiviana*.

Familia Haemopidae Sawyer, 1986. Depredadores, buche sin ciegos exceptuando postciegos presentes en la mayoría de las especies. Acuáticos o anfibios, con pocas especies secundariamente terrestres. Región media del aparato reproductor masculino mesomórfico o grande. Presentan pene bien desarrollado. Dividida en dos subfamilias: Semiscolecinae, sin mandíbulas, típicamente suramericanas, con cuatro géneros: *Cyclobdella*, *Orchibdella*, *Patagoniobdella* y *Semiscolex*; y Subfamilia Haemopinae, con mandíbulas, pocos representantes secundariamente sin mandíbulas, disticodontos, del hemisferio norte. Con tres géneros: *Haemopsis*, *Whitmania* y *Semiscoliodes*.

Familia Hirudinidae Whitman, 1886. Con mandíbulas, hematófagas, acuáticas y anfibias. Con seis subfamilias y 22 géneros.

Subfamilia Ornithobdellinae. Incluye a los géneros *Aethobdella*, *Hirudobdella* y *Ornithobdella*.

Subfamilia Praobdellinae. Incluye a los géneros *Dinobdella*, *Myxobdella* y *Praobdella*

Subfamilia Macrobdellinae: Incluye a los géneros *Limnobdella*, *Macrobdella*, *Oxyptychus*, *Philobdella* y *Pintobdella*.

Subfamilia Hirudinariinae. Incluye a los géneros *Hirudinaria*, *Illebdella* y *Poecilobdella*.

Subfamilia Richardsonianinae. Incluye a los géneros *Bassianobdella*, *Goddardobdella*, *Richardsonianus* y *Euranophila*.

Subfamilia Hirudininae. Incluye a los géneros *Aliolimnatis*, *Asiaticobdella*, *Hirudo* y *Limnatis*.

Familia Haemadipsidae Blanchard, 1893. Mandíbulas armadas con una sola hilera de dientes (Monosticodontos). Hematófagas y terrestres. Se han dividido en dos series:

Serie de tres mandíbulas, con faringe sésil. Incluye a los géneros *Mesobdella*, *Tritetrabdella* y *Haemadipsa*.

Serie de tres mandíbulas, con faringe parcialmente eversible. Incluye a los géneros *Diestecostoma* y *Haemadipsidae*.

Serie de dos mandíbulas. Incluye a los géneros *Idiobdella*, *Mahabdella*, *Nesophilaemon*, *Leiobdella*, *Chtonobdella*, *Domanibdella*, *Malagabdella*, *Neoterrabdella*, *Philaemon*, *Planobdella*, *Phytobdella* y *Tristabdella*.

Hirudiniformes en México

A continuación se presentan los registros de especies del suborden Hirudiniformes en México.

La familia Haemadipsidae está representada en México por *Diestecostoma octoannulata* Moore, 1964, *Diestecostoma magnum* Moore, 1954 y *Diestecostoma mexicanum* (Baird, 1869). La especie recolectada por Caballero (1940a) y descrita como *Hygrobdelella pelaezi* fue sinonimizada con *Diestecostoma mexicanum* (Baird, 1869) por Moore (1946). En la revisión de los ejemplares de hirudíneos mexicanos, Ringuelet (1981) únicamente señala a *D. mexicanum* y *D. magnum*, sin hacer comentarios sobre la especie restante.

De la familia Haemopidae, se ha registrado en México a *Haemopsis caballeroi* (Richardson, 1971) Sawyer, 1986 (= *Percymoorensis caballeroi*) en la Ciudad de México, Estado de México e Hidalgo. Los ejemplares recolectados por Caballero (1930) fueron determinados por él mismo como *Limnobdella mexicana*, sin embargo, Richardson (1971) al revisar ejemplares enviados por el Dr. Caballero, describió a la especie *Percymoorensis caballeroi* que posteriormente fue transferida al género *Haemopsis* por Sawyer (1986).

Los registros de la familia Hirudinidae para México incluyen a *Limnobdella chiapasensis* (Caballero, 1958), *L. mexicana* Blanchard, 1893, *L. olivacea*, Caballero, 1933 *L. profundisulcata* Caballero, 1933 y *L. tehuacanea* (Jiménez, 1865). La validez de dichas especies no ha sido establecida con precisión, por lo cual Sawyer (1986) reconoce únicamente a *Limnobdella mexicana* y a las restantes como especies no claramente distinguibles.

Macrobdella decora ha sido registrada por Caballero para Nuevo León (Caballero, 1952, 1953). El registro ha sido considerado como válido por Ringuelet (1981) y Sawyer (1986).

Pintobdella cajali, ha sido registrada en Guerrero, Michoacán y Puebla. Fue descrita como *Limnobdella cajali* por Caballero (1934) y transferida al género *Pintobdella* por él mismo (Caballero, 1937).

Relaciones filogenéticas del suborden Hirudiniformes

Los resultados obtenidos en el presente trabajo son similares a los sugeridos en estudios previos (Apakupakul *et al.* 1999; Borda y Siddall, 2003) en los que queda de manifiesto la necesidad de una revisión mayor de las familias de éste grupo. La hipótesis filogenética resultante de este trabajo se muestra en la figura 13 y muestra claramente la necesidad de redefinir a todas las familias y parte de las subfamilias del Suborden Hirudiniformes.

En la figura 13 se muestra que *Americobdella valdiviana*, única especie de la familia Americobdellidae, aparece como miembro de los Hirudiniformes en el primer clado divergente. La posición de esta especie ha sido controvertida y su posición filogenética se discutirá en el capítulo VII. El resultado aquí presentado no concuerda con Borda y Siddall (2003), ya que ellos encuentran a *A. valdiviana* como el primer grupo divergente de los Erpobdelliformes.

El segundo clado divergente es *Cylicobdella coccinea*, único representante en el presente trabajo de la familia Cylicobdellidae. La posición filogenética de este grupo ha sido muy discutida. De igual forma que Americobdellidae, Cylicobdellidae ha sido ubicada dentro de los Erpobdelliformes debido a las características del aparato reproductor. Siddall y Burreson (1995) ubicaron a este grupo dentro de Erpobdelliformes en una filogenia realizada con base en caracteres morfológicos, sin embargo, Borda y Siddall (2003) corrigieron un error del estudio anterior y con base en la combinación de caracteres morfológicos y moleculares ubicaron a *Cylicobdella* dentro de Hirudiniformes, lo cual concuerda con el presente trabajo.

La familia Haemopidae es, en el presente trabajo, polifilética. Por un lado se encuentra el género *Haemopsis*, representante de la subfamilia Haemopinae, como un grupo monofilético de sanguijuelas con mandíbulas disticodontas de Norteamérica y Europa y por

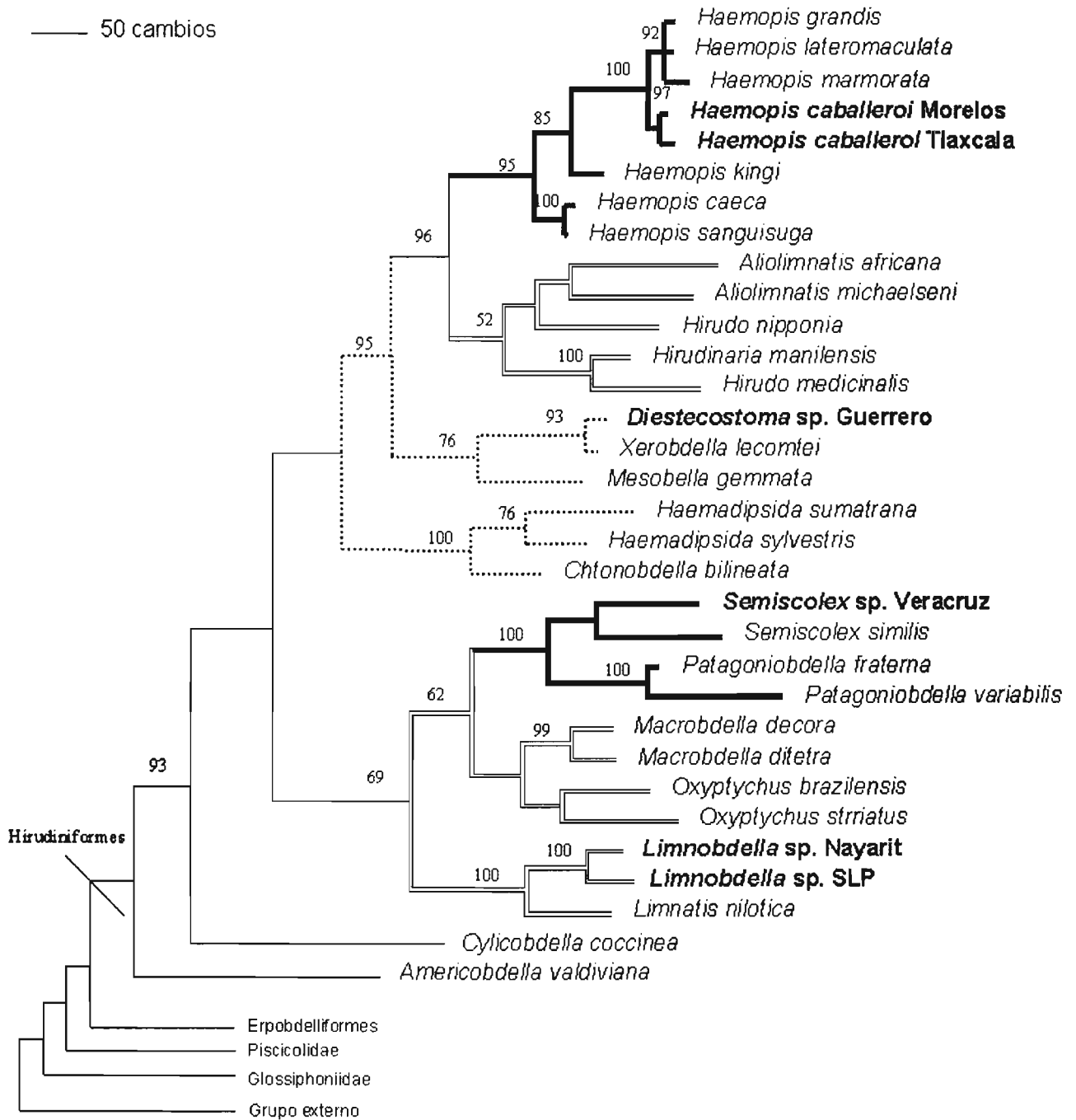


Figura 13. Consenso estricto de 36 árboles igualmente parsimoniosos obtenidos del análisis combinado de las secuencias de CO-I y 18S del suborden Hirudiniformes. La longitud de las ramas es proporcional a la cantidad de cambios nucleotídicos. En negritas se muestran los taxones recolectados en el presente trabajo así como su localidad de recolecta. Los valores de Jackknife se muestran sobre los internodos. En líneas negras gruesas se señala a los miembros de la familia Haemopidae. En líneas dobles a los miembros de la familia Hirudinidae y en líneas punteadas a los miembros de la familia Haemadipsidae. *Cylicobdella coccinea* es el único representante de la familia Cylicobdellidae y *Americobdella valdiviana*, representante de la familia monotípica Americobdellidae.

el otro un grupo formado por *Semiscolex* spp. y *Patagoniobdella* spp. pertenecientes a la subfamilia Semiscolecinae, la cual comprende a especies sin mandíbulas característicos de América del Sur. Caballero (1959) considera a la subfamilia Semiscolecinae como una familia dentro de los Pharyngobdelliformes (=Erpobdelliformes), criterio que se rechaza en el trabajo aquí presentado ya que Semiscolecinae es claramente un Hirudiniforme.

Cabe hacer notar que si bien la familia Haemopidae no es monofilética, las dos subfamilias, Haemopiinae y Semiscolocinae sí lo son. La posible solución es elevar a grado de Familia cada uno de estos grupos.

Richardson (1969) realizó un estudio morfológico de los hirudiniformes en el cual propone la existencia de varias familias y géneros. En el caso *Haemopsis*, propuso dejar al género con una sola especie (*H. sanguisuga*), crear el género *Mollibdella* únicamente para *H. grandis* y por último, propuso el género *Percymoorensis* donde estarían incluidas *H. lateromaculata*, *H. marmorata* y *H. kingi* y donde más tarde incluiría a la especie mexicana *Percymoorensis caballeroi* (Richardson, 1971). Mas tarde, Sawyer (1986) sinonimizó los géneros propuestos por Richardson (1969) con *Haemopsis*. Manoleli *et al.* (1998) describieron *H. caeca* para Europa. Siguiendo el criterio de Richardson, (1969) *Percymoorensis* es un género parafilético. Se podría sinonimizar *Mollibdella* con *Percymoorensis* y dejar a *Haemopsis* y *Percymoorensis* monofiléticos, sin embargo, no es necesario aumentar la cantidad de nombres y consideramos tanto a *Percymoorensis* como *Mollibdella* como sinónimos de *Haemopsis*, con lo cual coincidimos con Sawyer (1986).

Semiscolex incluye cinco especies que se distribuyen en América del Sur. Hasta la fecha no se habían registrado en México ejemplares de esta especie y por lo tanto el registro en este trabajo corresponde al primero del género y de la subfamilia Semiscolecinae en nuestro país. Los ejemplares recolectados en Veracruz no corresponden con ninguna de las descripciones de las especies del grupo, por lo que se considera a *Semiscolex* sp. como una especie nueva aún por describir.

La familia Hirudinidae aparece en nuestros resultados como polifilética, por un lado *Aliolimnatis*, *Hirudo* e *Hirudinaria* formando un grupo monofilético y por otro lado *Macrobdella*, *Oxyptychus*, *Limnabdella* y *Limnatis* formando un grupo parafilético. Estos últimos géneros eran, con excepción de *Limnatis*, miembros de la subfamilia Macrobdelellinae, mientras que *Limnatis* es considerada como miembro de la subfamilia

Hirudininae junto con *Hirudo* y *Aliolimnatis*, mientras que *Hirudinaria* pertenece a la subfamilia Hirudinariinae.

El género *Limnobdella* es endémico de México y se han descrito cinco especies pertenecientes a este grupo: *Limnobdella chiapasensis* (Caballero, 1957) Soos, 1969, *L. mexicana* Blanchard, 1893. *L. olivacea* (Caballero, 1933) Soos, 1969, *L. profundisulcata* (Caballero, 1933) Soos, 1969 y *L. tehuacanea* (Jiménez, 1865) Caballero, 1932, de las cuales Sawyer, 1986 solo reconoce a *L. mexicana* argumentando que las especies restantes no están claramente diferenciadas. Las descripciones originales de estas especies son poco claras y hacen énfasis en caracteres que no son de importancia a la luz de las nuevas clasificaciones. Muy relacionado a *Limnobdella*, se encuentra *Pintobdella cajali* Caballero, 1936. La característica anatómica para diferenciar estos géneros es que en *Pintobdella*, el buche presenta un par de ciegos por segmento y en *Limnobdella* hay dos pares por segmento. Por falta de material biológico y debido a que la descripción de las especies de *Limnobdella* no son muy claras, los registros en el presente trabajo se consideran como *Limnobdella* sp. dejando claro que la validez de las especies y su relación con *Pintobdella* quedan pendientes para subsecuentes estudios.

La familia Haemadipsidae aparece como parafilética, formando los grupos *Diestecostoma* + *Xerobdella* + *Mesobdella* y *Haemadipsida* + *Chtonobdella*. Las características de la familia son: Mandíbulas con una sola hilera de dientes, hematófagos y de hábitat terrestre. *Diestecostoma* y *Xerobdella* presentan una faringe parcialmente eversible y aparecen formando un solo grupo. La posición de *Diestecostoma* ha sido debatida a lo largo del tiempo. Ringuélet 1953 (en Ringuélet, 1976) propone la familia Diestecostomatidae para incluir únicamente al género *Diestecostoma*. La característica mas sobresaliente de este grupo es el número de anillos por cada somito completo, que puede ser 8, 10 ó 12 dependiendo de la especie. Sin embargo, Sawyer, 1986 no considera válida a la familia y ubica a *Diestecostoma* como miembro de la serie de tres mandíbulas y en el mismo grupo que *Xerobdella*. Los resultados del presente trabajo no respaldan la existencia de una familia independiente y ubican a *Diestecostoma* muy cercano a *Xerobdella* de Europa. Este es el primer análisis filogenético que incluye información de *Diestecostoma*. El ejemplar recolectado, debido a su mal estado no pudo ser determinado a nivel específico, por lo cual es considerado como *Diestecostoma* sp.

En términos generales, los resultados que aquí se presentan concuerdan con los estudios previos realizados con base en caracteres moleculares y morfológicos (Borda y Siddall, 2003). No así con los estudios basados únicamente en datos morfológicos ni en clasificaciones previas (Sawyer, 1986; Siddall y Burreson, 1995).

La monofilia de los Hirudiniformes está bien sustentada, sin embargo, es necesaria una redefinición de todas las familias y la mayor parte de las subfamilias.

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

En la figura 14 se muestran los sitios de recolecta de los miembros del suborden Hirudiniformes realizados durante el presente trabajo.

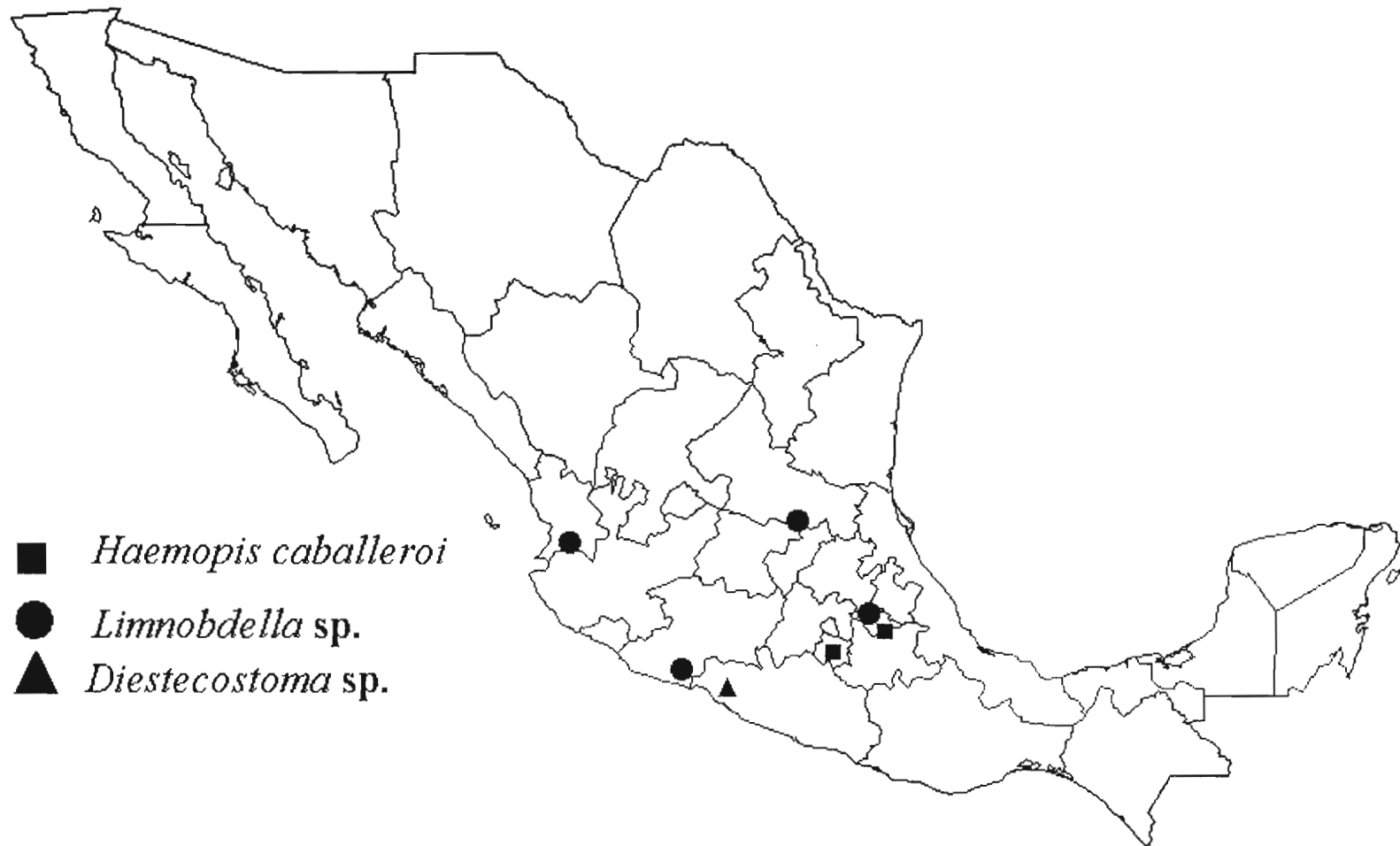


Figura 6.2. Mapa de distribución de las especies de hirudiniiformes recolectadas en el presente trabajo.

RESULTADOS GENERALES Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio se muestran en un diagrama simplificado del consenso estricto de los 36 árboles más parsimoniosos (figura 15). Estos resultados concuerdan con las hipótesis realizadas con base en la combinación de caracteres morfológicos y moleculares (Apakupakul *et al.*, 1999; Siddall y Burreson, 1998; Siddall *et al.*, 2001), y no así con las clasificaciones tradicionales ni con las hipótesis filogenéticas realizadas únicamente con caracteres morfológicos (Sawyer, 1986; Siddall y Burreson, 1995).

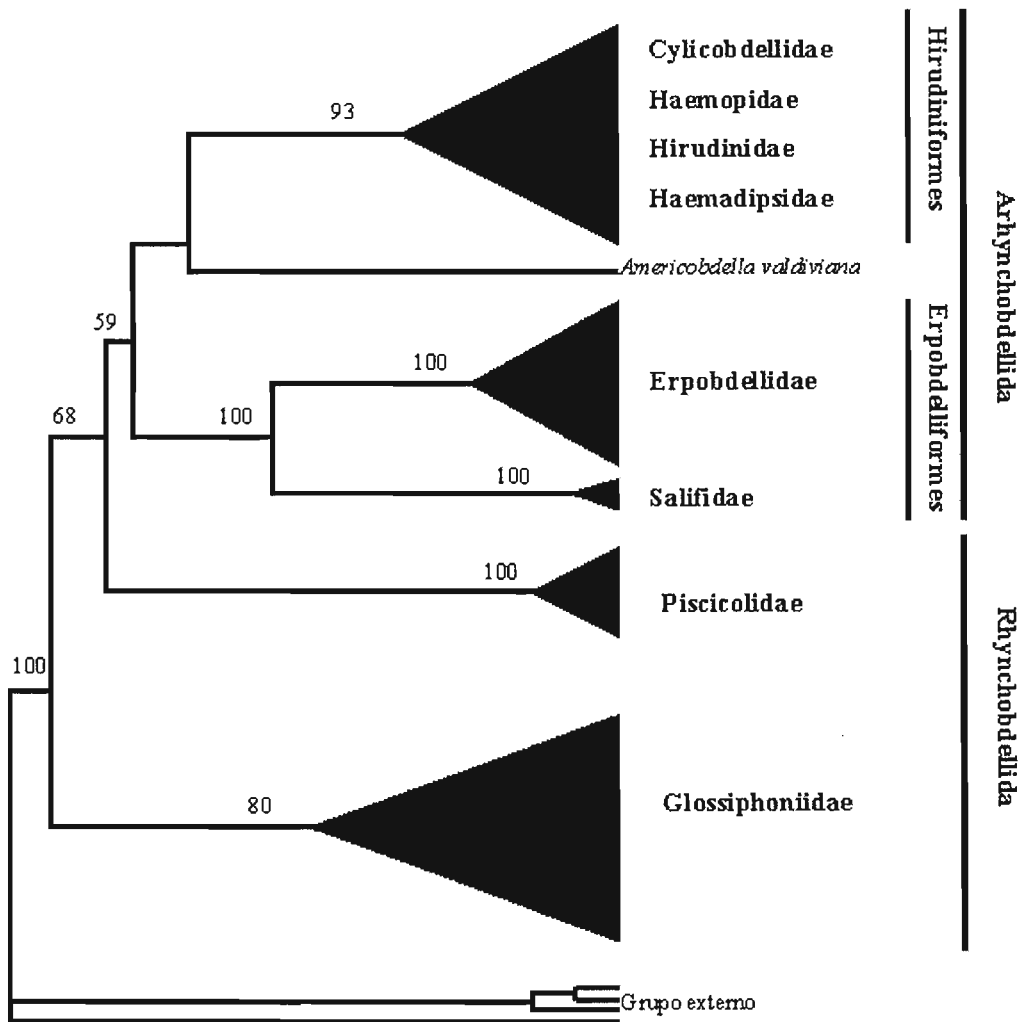


Figura 15. Árbol de consenso estricto de 36 árboles igualmente parsimoniosos, obtenidos a partir del análisis combinado de CO-I y 18S rDNA. El número sobre las ramas indica el valor de Jackknife.

Las hipótesis filogenéticas realizadas con caracteres morfológicos (Siddall y Bureson, 1995) reconocen dos grandes grupos: El Orden Arhynchobdellida, definido por la ausencia de proboscis eversible, incluye a los subórdenes Erpobdelliformes e Hirudiniformes con la familia Americobdellidae como su grupo hermano, y al orden Rhynchobdellida definido por la presencia de proboscis eversible, que incluye tres familias: Ozobranchidae, Piscicolidae y Glossiphoniidae, las dos primeras parafiléticas (figura 16.). La principal diferencia entre el resultado del presente trabajo y las obtenidas de estudios morfológicos es la naturaleza del orden Rhynchobdellida. Mientras que los resultados aquí obtenidos señalan al orden Rhynchobdellida como parafilético, con la familia Piscicolidae como grupo hermano de los Arhynchobdellida, Siddall y Bureson (1995) lo señalan como monofilético. La posición de *Americobdella valdiviana*, única especie de la familia Americobdellidae, es para Siddall y Bureson (1995), basal al clado formado por los Hirudiniformes y Erpobdelliformes. Los resultados del presente trabajo ubican a dicha especie basal a los Hirudiniformes y juntos conforman el grupo hermano de los Erpobdelliformes (figura 15.).

Los miembros de la familia Cylicobdellidae fueron ubicados por Caballero (1959) dentro de la familia Erpobdellidae. De manera similar, Siddall y Bureson (1995) los consideran como miembros de los Erpobdelliformes, mientras que en los resultados de este estudio se le ubica dentro de los Hirudiniformes lo cual concuerda con la clasificación propuesta por Sawyer (1985). Borda y Siddall (2003) ubican a la familia Cylicobdellidae basal a todos los Hirudiniformes lo cual concuerda con los datos aquí presentados.

En las hipótesis filogenéticas propuestas por Apakupakul *et al.* (1999) y Siddall y Bureson (1998) realizadas con base en caracteres morfológicos y moleculares, y Siddall *et al.* (2001) con base solo en caracteres moleculares, se reconoce la misma topología que la presentada en este trabajo, es decir, Rhynchobdellida como parafilético ya que Piscicolidae aparece agrupado con los Arhynchobdellidae y no con Glossiphoniidae. La posición de *Americobdella valdiviana* es estudiada por Borda y Siddall (2004) donde la encuentran como el primer linaje divergente de los Erpobdelliformes y no como basal a los Hirudiniformes como se sugiere en el presente trabajo. Las relaciones evolutivas de esta especie han sido controvertidas desde hace mucho tiempo ya que presenta caracteres anatómicos claramente distintivos, como la presencia de un par de conductos que conectan

el atrio masculino con los conductos de los ovisacos. Ha sido clasificada como miembro de Erpobdellidae o como perteneciente a la subfamilia Hirudinidae (Ver Borda y Siddall, 2003). Caballero (1956, 1959) la considera como una familia independiente: Americobdellidae, incluida en el orden Pharyngobdelliformes. La posición de esta especie en el cladograma no está muy bien sustentada (Jackknife <50%) por lo cual es difícil concluir al respecto.

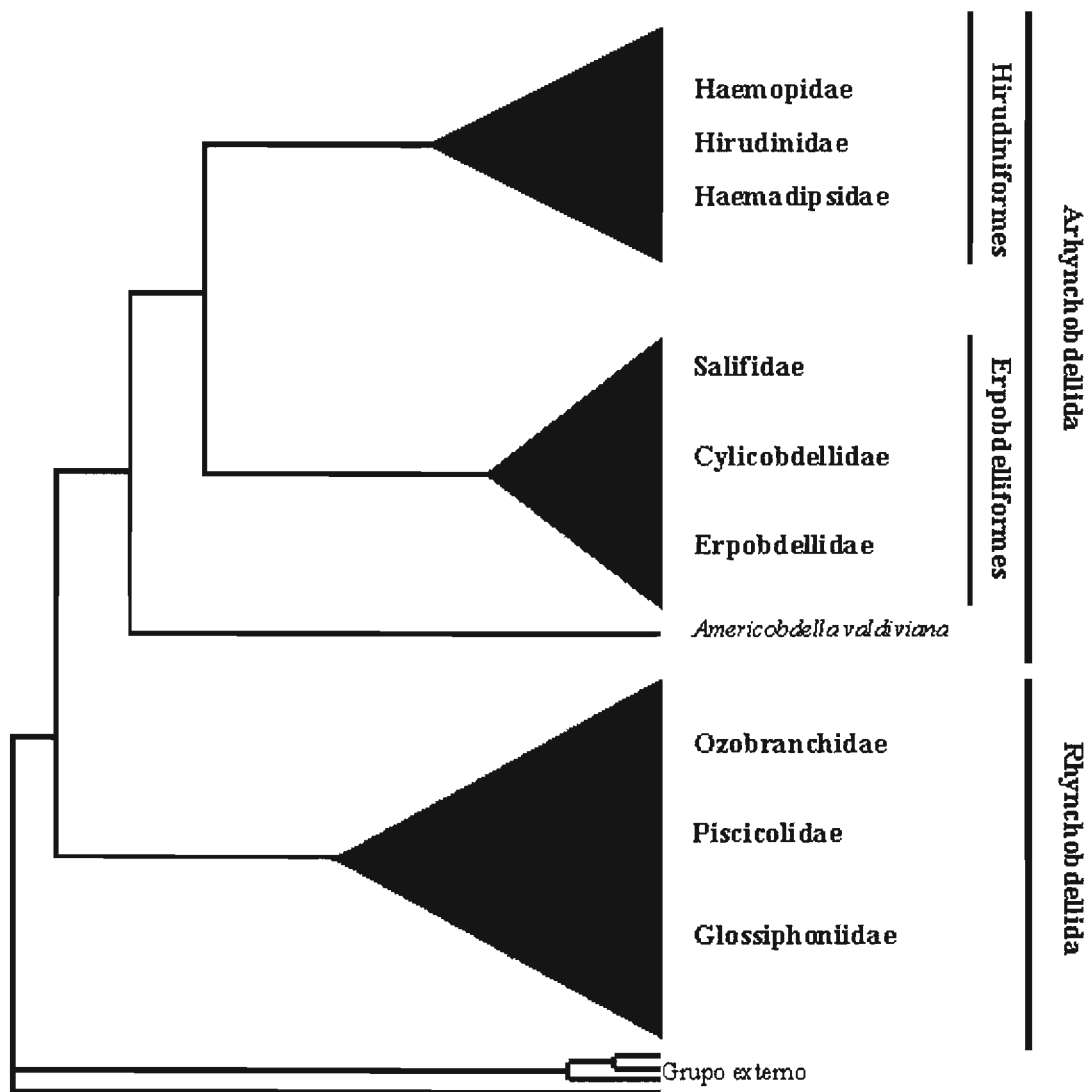


Figura 16. Árbol de las relaciones evolutivas de Euhirudineos con base en caracteres morfológicos. Adaptado de Siddall y Burreson (1995).

Optimización de caracteres

El objetivo de la optimización de caracteres es representar en un cladograma la historia de un carácter particular (Morrone, 2000). Para realizar este tipo de estudios son necesarias dos fuentes de información: una hipótesis filogenética e información pertinente sobre un carácter o función. Con base en una hipótesis filogenética, se puede determinar la secuencia de las transformaciones que se han dado durante la evolución de un grupo (Brooks y McLennan, 2002).

El estudio de la evolución de los hábitos alimenticios, hábitat y cuidado parental han sido abordados por diversos autores (Kutschera y Wirtz, 2001; Siddall y Burreson, 1995; Apakupakul *et al.*, 1999; Borda y Siddall, 2003; Trontelj *et al.*, 1999). Con los resultados obtenidos en el presente trabajo, se optimizaron los caracteres empleados por los autores citados con anterioridad. En la figura 17 se muestra una simplificación del árbol de consenso estricto de los 36 árboles más parsimoniosos obtenidos en el presente trabajo. Se muestra la optimización de los hábitos alimenticios y su transformación.

La capacidad de alimentarse de sangre aparece en la base del grupo de las sanguijuelas y al parecer esta condición cambia en la base de Rhynchobdellidae ya que tanto *Cylicobdella*, *Americobdella* y *Erpobdella*+*Salifa* son depredadores. El ancestro de los Hirudiniiformes aparece nuevamente como hematófago, perdiéndose esta condición en *Haemopsis* y *Patagoniobdella*+*Semiscollex*. Borda y Siddall (2003) estudiaron el mismo tema llegando a conclusiones distintas debido a que su hipótesis filogenética difiere con la presentada en este trabajo en cuanto a la posición de *Americobdella*. Como se ha señalado anteriormente, *Americobdella* aparece en el presente trabajo basal al grupo formado por *Cylicobdella* y el resto de los Hirudiniiformes, mientras que para Borda y Siddall (2003) aparece basal los Erpobdelliformes. Al optimizar los hábitos alimenticios los autores encuentran que es igualmente parsimonioso asumir que *Cylicobdella* y *Americobdella*+*Salifa*+*Erpobdella* se han transformado a depredadores independientemente manteniéndose los ancestros como hematófagos, que asumir un cambio ancestral de hematófagos a depredadores en todos los arynchobdelidos y posteriormente adquirir nuevamente el hábito de alimentarse de sangre en el grupo de los Hirudiniiformes con pérdidas subsecuentes, por lo cual, las características del ancestro de los Arynchobdellida es ambigua. En la hipótesis filogenética del presente trabajo esta ambigüedad no está

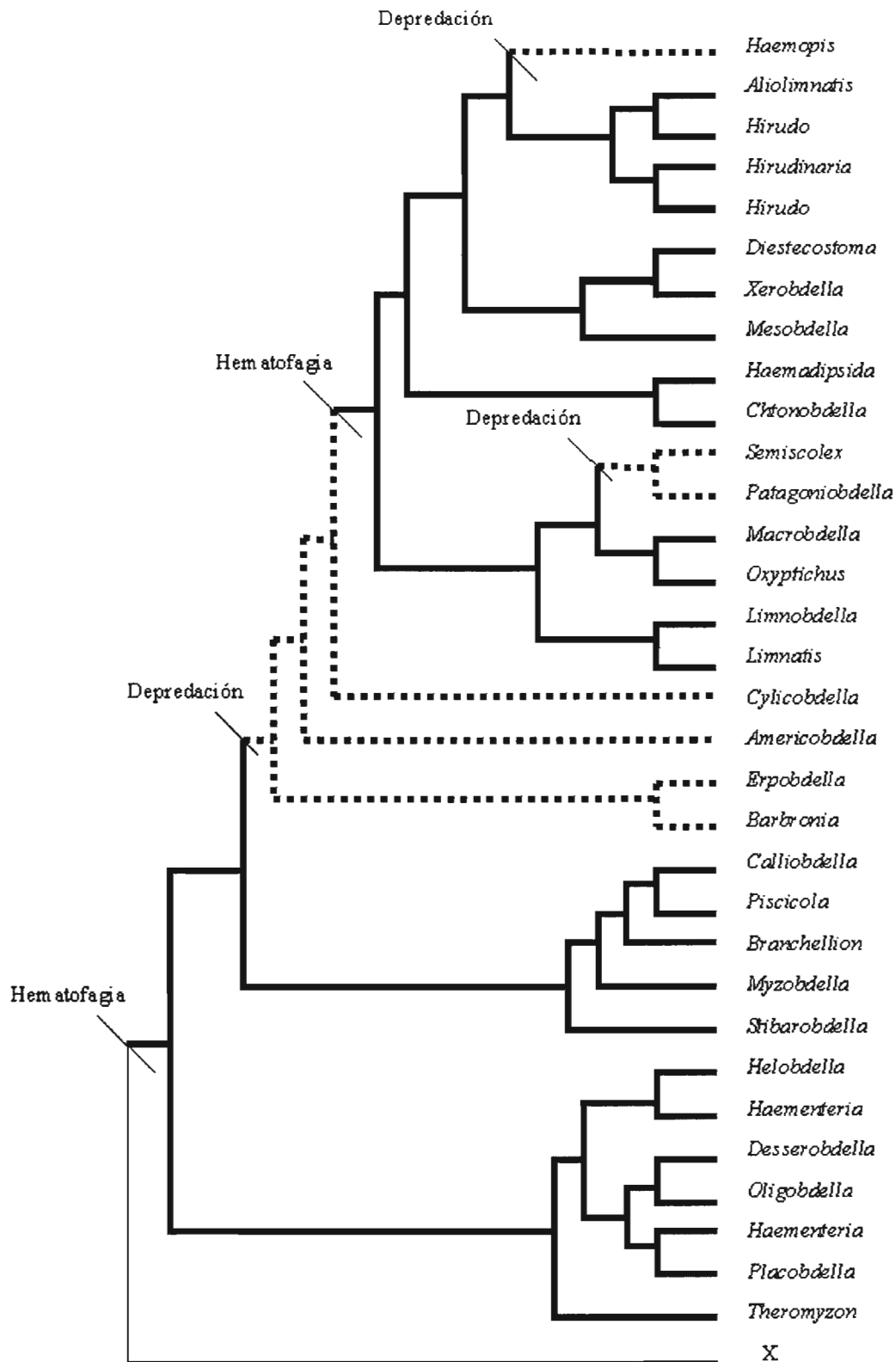


Figura 17. Evolución de los hábitos alimenticios. Reconstrucción más parsimoniosa de la evolución de la hematófagia. X= Grupo externo, organismos detritívoros. Líneas negras hematófagas. Líneas punteadas señalan a los grupos depredadores. Se muestran los cambios en los ancestros.

presente. Asumir que el ancestro de los Arynchobdellida fue depredador y posteriormente el ancestro de los Hirudiniiformes se transformó nuevamente a hematófago requiere un paso menos que asumir que *Cylicobdella*, *Americobdella* y *Erpobdella*+*Salifa* evolucionaron a depredadores independientemente.

En la figura 18 se muestra una simplificación del árbol de consenso estricto de los 36 árboles más parsimoniosos obtenidos en el presente trabajo. Se muestra la optimización de el hábitat que ocupan y su transformación. Los grupos basales (Glossiphoniidae y Piscicolidae) son indudablemente acuáticos, así como sus ancestros. El caso de los Arynchobdellida es mas complejo ya que estas especies han cambiado de hábitat a terrestres y anfibios. El ancestro de los Arynchobdellida (figura 18, ancestro 1) aparece como ambiguo entre acuático y anfibio ya que es igualmente parsimonioso asumir un ancestro anfibio que cambia a acuático en *Erpobdella*, se mantiene anfibio en *A. valdiviana* y cambia a terrestre en *Cylicobdella* y el ancestro de los Hirudiniiformes, manteniendo este hábito en los grupos formados por *Haemadipsida*+*Chtonobdella* y *Diestecostoma*+*Xerobdella*+*Mesobdella* y cambiar nuevamente a acuáticos en *Haemopsis*+*Aliolimnatis*+*Hirudo* e *Hirudinaria* que asumir un ancestro acuático que cambie independientemente a anfibio en *Barbronia* y *Americobdella* y a terrestre en *Cylicobdella* y el resto de los Hirudiniiformes con excepción de *Haemopsis*, *Aliolimnatis*, *Hirudo* e *Hirudinaria*. Bajo cualquiera de las hipótesis, el hábitat cambia de terrestre a acuático en dos clados de manera independiente (figura 18, ancestros 2 y 3). En el caso del estudio realizado por Borda y Siddall (2003), encontraron que el ancestro de los Arynchobdellida es ambiguo, pero en el caso de los Hirudiniiformes con certeza es de hábitat terrestre. En el presente trabajo el ancestro de Hirudiniiformes (sin considerar a *Americobdella*) es terrestre (figura 18, ancestro 4).

Es interesante señalar que en la mayoría de las Glossiphoniidae, Piscicolidae y Erpobdellidae la fecundación se lleva al cabo por la implantación de un espermátforo, mientras que en el resto de las Arynchobdellidae, la fecundación es interna y se lleva al cabo al juntar los gonoporos e insertar el pene en la vagina, método característico de organismos terrestres. Es importante señalar que en los dos clados de Hirudiniiformes que han adoptado nuevamente el hábitat acuático cuando adultos (figura 18, ancestros 2 y 3), el

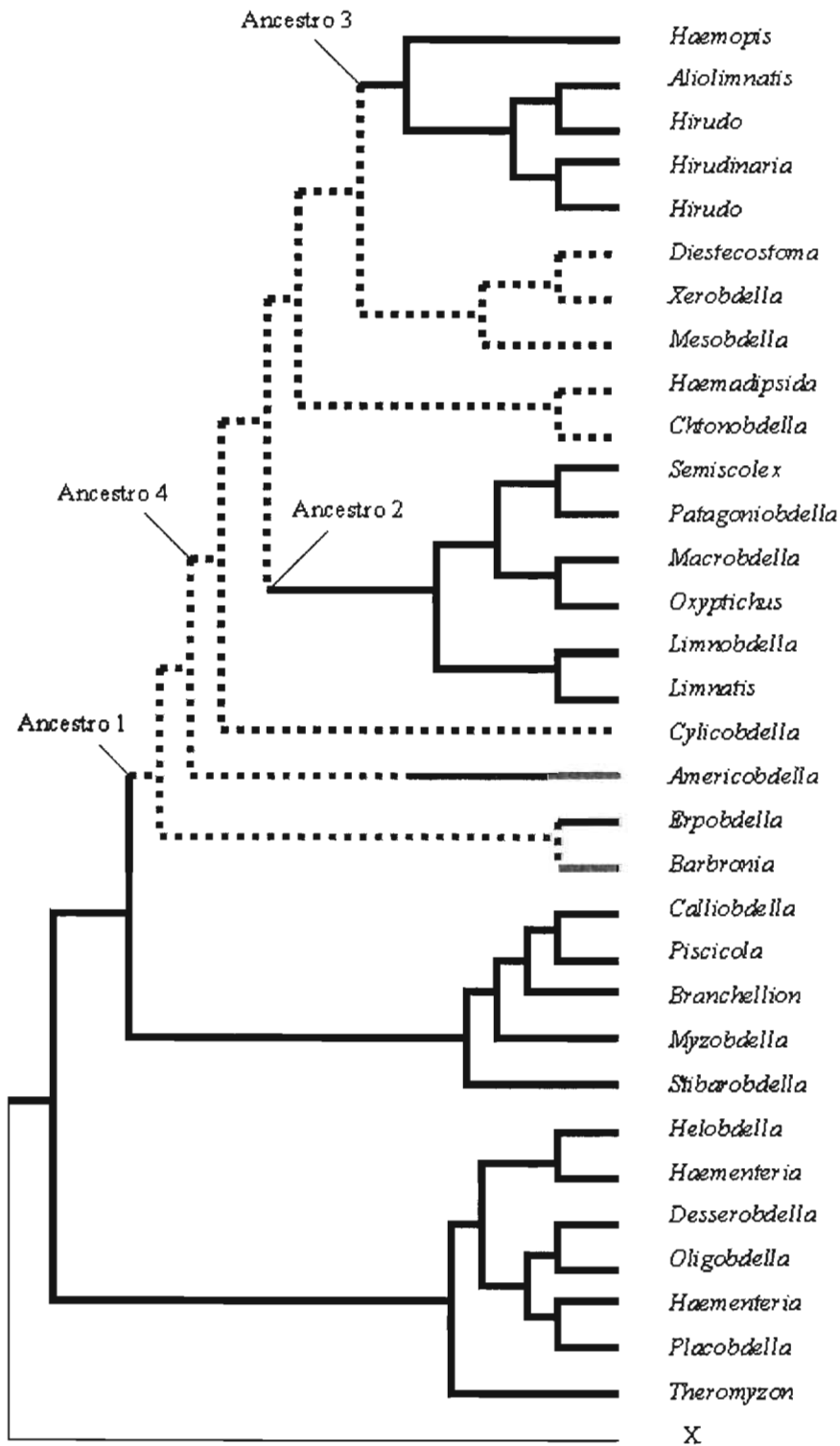


Figura 18. Evolución de la elección de hábitat. Reconstrucción mas parsimoniosa de la evolución de la elección del hábitat en los individuos adultos. X= Grupo externo. Líneas negras acuáticas. Líneas grises señalan a los grupos anfibios y líneas punteadas son terrestres. Ancestro 1 señala al ancestro de los Arhynchobdellida. Ancestros 2 y 3 señalan los ancestros que cambiaron a acuáticos. Ancestro 4 señala al ancestro de los Hirudiniiformes sin incluir a *Americobdella valdiviana*.

deposito de las ootecas, al igual que en el resto de los Hirudinidae es en zonas húmedas sobre el nivel del agua.

En la figura 19 se muestra una simplificación del árbol de consenso estricto de los 36 árboles más parsimoniosos obtenidos en el presente trabajo. Se muestra la optimización del cuidado parental y formas de depositacion de ootecas y su transformación.

Los miembros del grupo externo no presentan cuidado parental y dejan las ootecas sobre o bajo el agua dependiendo de la especie. El grupo de Glossiphoniidae son sanguijuelas acuáticas que llevan a sus crías pegadas al vientre, de donde se desprenden únicamente para alimentarse. El cuidado parental es una sinapomorfía de este grupo ya que no se presenta en ningún otro taxón de Annelida. El resto de las sanguijuelas deposita sus ootecas en superficies sólidas y las abandona posteriormente. En el caso de los Hirudiniformes, la puesta de las ootecas es en lugares húmedos pero sobre el nivel del agua, al contrario del resto de las sanguijuelas, en las que el deposito es bajo el nivel del agua.

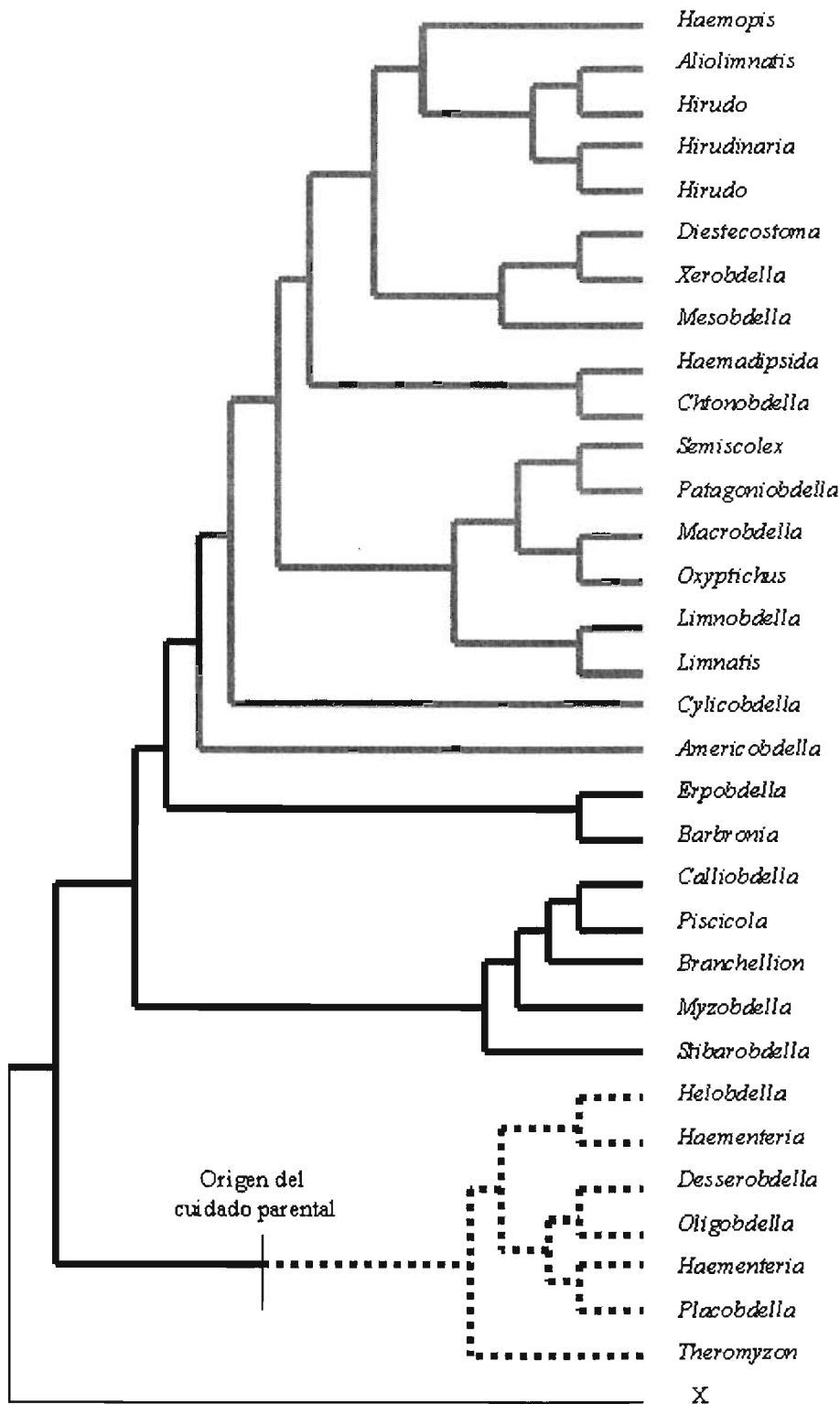


Figura 19. Evolución del tipo de lugar de puesta de las ootecas y cuidado parental. X= Grupo externo. Líneas negras ootecas depositadas sobre sustratos sólidos bajo el agua y abandonadas. Líneas grises señalan a los grupos con ootecas depositadas sobre sustratos sólidos sobre el nivel del agua y abandonadas. Líneas punteadas: Sanguijuelas con cuidado parental y se señala el origen de dicha característica.

CONCLUSIONES GENERALES

RESUMEN TAXONOMICO

Con base en los resultados del presente trabajo se hacen las siguientes anotaciones:

Suborden Erpobdelliformes

Se reestablece el nombre de *Erpobdella mexicana* (Dugès, 1879), especie anteriormente denominada *Erpobdella punctata* o *Erpobdella punctata mexicana*. Ésta se distribuye en el centro norte del país.

Se argumenta a favor de mantener el nombre de *Erpobdella ochoterenai* propuesto por Caballero en 1932. Esta especie se ha considerado como sinónima de *Erpobdella microstoma* de EUA. *Erpobdella ochoterenai* se distribuye en el centro y norte de México.

Se estudiaron ejemplares de *Erpobdella triannulata* y se discute sobre sus afinidades evolutivas. Esta especie se distribuye en el sureste de la República Mexicana.

Se registra por primera vez a una especie de la familia Salifidae en México: *Barbronia arcana*, la cual se considera como una especie introducida accidentalmente por el hombre. Se distribuye en el estado de Morelos, en el Río Amacuzac y sus tributarios.

Familia Glossiphoniidae

Se describe una especie nueva del género *Helobdella*: *Helobdella atli* del centro de la República mexicana.

Se detecta una especie aun no descrita del género *Helobdella* con placa nugal. Dicha especie presenta una amplia distribución geográfica. Anteriormente era considerada como *Helobdella stagnalis*.

Se reestablece el nombre de *Helobdella socimulcensis* propuesto por Caballero en 1931 para los registros considerados como *Helobdella triserialis* de México.

Se descubre una nueva especie del género *Haementeria*, parásita de *Smilisca baudinii* y *Bufo marinus* en el Estado de Jalisco

Se registran dos especies del género *Placobdella*: *Placobdella mexicana* y *Placobdella* sp, las cuales no se incluyeron el análisis filogenético.

Se registra por segunda ocasión a *Theromyzon tessulatum* en México, para la laguna de Alchichica, Puebla.

Se discuten las afinidades evolutivas de *Helobdella elongata* de México, la cual aparece como hermana de una especie del género *Helobdella* con placa quitinoide dorsal.

Suborden Hirudiniiformes

Se registra una especie nueva del género *Semiscolex*, la cual representa el primer registro de la Subfamilia Semiscolecidae, característica de América del Sur en México. Se le encontró en la laguna de Catemaco, Veracruz.

Se ubica por primera vez a una especie del género *Diestecostoma* dentro de una hipótesis filogenética ubicándola en un grupo junto con *Xerobdella* y *Messobdella*. Por su posición en el cladograma, no se sustenta la propuesta de la existencia de la familia Diestecostomatidae.

Se establecen las afinidades evolutivas del género *Limnobdella* endémico de México, el cual forma un grupo monofilético con *Limnatis nilotica*.

Se establecen las afinidades evolutivas de *Haemopsis caballeroi* y se discute sobre cual es el nombre correcto de la especie, dejando sin validez el nombre *Percymoorensis*.

Familia Ozobranchidae

Se registra a *Ozobranchus branchiatus*, parásita de *Lepidochelys olivacea*, en las costas del Estado de Michoacán.

LITERATURA CITADA

- APAKUPAKUL K., M. E. SIDDALL Y E. M. BURRESON. 1999. Higher Level Relationships of Leeches (Annelida:Clitellata:Euhirudinea) Based on Morphology and Gene Sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 12(3):350-359.
- ARMBRUSTER. W. S. 1992. Phylogeny and the evolution of plant-animal interactions. *Bioscience*. 42(1): 12-20.
- BARTA J. R. Y R. T. SAWYER.1990. Definition of a new genus of glossiphoniid leech and a redescription of the type species, *Clepsine picta* Verrill, 1872. *Canadian Journal of Zoology*. 68:1942-1950.
- BORDA E. Y M. E. SIDDALL. 2003. Arhynchobdellida (Annelida: Oligochaeta: Hirudinida): Phylogenetic relationships and evolution. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 30: 213-225.
- BROOKS D. R. Y D. A. MCLENNAN. 2002. The Nature of Diversity: An evolutionary Voyage of Discovery. The University of Chicago Press.668pp.
- BRUSCA R. C. Y J. G. BRUSCA. 2003. Invertebrates. Sinauer Associates. 936pp.
- CABALLERO Y C. E. 1930. Contribución al conocimiento de los hirudíneos de México. *Limnobia mexicana* R. Blanchard. *Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México*. 1(3): 247-251.
- CABALLERO Y C. E. 1931. *Glossiphonia socimulcensis*, nv. sp. *Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México*. 2(1): 85-90.
- CABALLERO Y C. E. 1932. *Herpobdella ochoterenai* nov. sp. Caballero. *Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México*. 3(1): 33-39.
- CABALLERO Y C. E. 1934. *Limnobia cajali* n.sp., (Hirudinea). *Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México*. 5(3): 237-241.
- CABALLERO Y C. E. 1937. Hirudíneos del Valle del Mezquital, Hgo. XII. *Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México*. 8(1-2): 181-188.
- CABALLERO Y C. E.. 1940a. Nuevos género y especie de hirudíneo perteneciente a la subfamilia Haemadipsinae XV. *Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México*. 11(2): 573-583.

- CABALLERO Y C. E. 1940b. Sanguijuelas del lago de Pátzcuaro y descripción de una nueva especie, *Illinobdella patzcuarensis*. XVI. *Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México*. 11(2): 449-464.
- CABALLERO Y C. E. 1940c. Sobre la presencia de *Placobdella rugosa* (Hirudinea: Glossosiphonidae) en las aguas del lago de Xochimilco. XII. *Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México*. 11(1): 255-260.
- CABALLERO Y C. E. 1941. Hirudíneos de México. XVI. Nuevos huéspedes y localidades para algunas sanguijuelas ya conocidas y descripción de una nueva especie. *Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México*. 12(2): 745-755.
- CABALLERO Y C. E. 1952. Sanguijuelas de México. XVIII. Presencia de *Macrobdella decora* (Say, 1824) Verrill, 1872, en el norte del país y una nueva desinencia para los ordenes de Hirudinea. *Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México*. 23(1-2): 203-209.
- CABALLERO Y C. E. Y M. C. ZERECERO Y D. 1953. Sanguijuelas del norte de México. (Hirudinea) XVII. Presencia de *Macrobdella decora* (Say) Verrill y de *Pintobdella olivacea* (Caballero, 1933) Caballero, 1937. *Memorias del Congreso Científico Mexicano*. Vol. 7:151-158.
- CABALLERO Y C. E. 1956. Hirudíneos de México XX. Taxa y nomenclatura de la clase Hirudinea hasta géneros. *Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México*. 30(1-2): 227-242.
- CABALLERO Y C. E. 1959. Hirudíneos de México XXII. Taxa y nomenclatura de la clase Hirudinea hasta géneros (nueva edición). *Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México*. 27(1): 279-302.
- DAVIES R. W. 1991. Annelida: Leeches, Polychaetes, and Acanthobdellids. In: *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates*. Academic Press. 437-479.
- DE FILLIPI F. 1849. Nuovo genere di sanguisughe medicinali. *Gaceta Medica Lombarda*. Ser. 2,2 (48):437-438.

- DE LUNA E. Y B. D. MISHLER. 1996. El concepto de homología filogenética y la selección de caracteres taxonómicos. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 59:131-146.
- DE PINNA M. C. C. 1991. Concepts and tests of homology in the cladistic paradigm. *Cladistics*. 7:367-394
- DUGÈS E. 1891. Una nueva sanguijuela: *Nephelis mexicana*, nob. *La Naturaleza*. Ser. 2, 1, 60-63.
- GOULD S. J. 1999. Branching Through a Wormhole, Lamarck's Ladder collapses. *Natural History*.3(99):24-34.
- GOVEDICH F. R. y R. W. DAVIES. 1998. The first record of the genus *Helobdella* (Hirudinoidea: Glossiphoniidae) from Australia, with a description of a new species, *Helobdella papillornata*. *Hydrobiologia*. 389: 45-49.
- GOVEDICH F. R., D. W. BLINN, P. KEIM Y R. W. DAVIES. 1998. Phylogenetic relationships of three genera of Erpobdellidae (Hirudinoidea), with a description of a new genus, *Motobdella*, and species, *Motobdella sedonensis*. *Canadian Journal of Zoology*. 76: 2164-2171.
- GOVEDICH F. R., B. A. BAIN Y R. W. DAVIES. 2002. First record of the Asian freshwater leech *Barbronia weberi* (Blanchard, 1897) (Euhirudinea: Erpobdellidae) in Australia. *The Victorian Naturalist* 119:225-226.
- GOVEDICH F. R., B. A. BAIN. M. BURD Y R.W. DAVIES. 2003. Reproductive biology of the invasive Asian freshwater leech *Barbronia weberi* (Blanchard, 1897). *Hydrobiologia*. 510:125-129.
- HALL B. A. 2001. *Phylogenetic Trees Made Easy*. Sinauer, Sunderland, Massachusetts. 179pp.
- HALL T. A. 1999. Bioedit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*. 41:95-98
- HIGGINS D. G., A. J. BLEASBY Y R. FUCHS. 1992. CLUSTAL W: Improved software for multiple sequence alignment. *Computational Applied Biosciences*. 8:189-191.

- HILLIS D. M., B. K. MABLE, A. LARSON, S. K. DAVIS Y E. A. ZIMMER. 1996. Nucleic Acids IV: Sequencing and Cloning. In: HILLIS D. M., C. MORITZ y B. K. MABLE. (eds.) *Molecular Systematics*. Sinauer, Sunderland, Massachusetts. 321-381.
- KLEMM D. J. 1982. Leeches (Annelida: Hirudinea) of North America. United States Environmental Protection Agency 600/3-82-025:177pp.
- KUTSCHERA U. 1985. Description of a new leech species, *Helobdella striata* nov.sp. (Hirudinea:Glossiphoniidae). *Zool. Jb. Syst.* 112:469-476.
- KUTSCHERA U. 1987. Notes on the Taxonomy and Biology of Leeches of the genus *Helobdella* Blanchard, 1896 (Hirudinea: Glossiphoniidae). *Zoologischer Anzeiger.* 219:321-323.
- KUTSCHERA U. Y P. WRITZ. 2001. The evolution of parental care in Freshwater leeches. *Theory in Biosciences.* 120:115-137.
- LAMOTHE-ARGUMEDO R., GARCÍA-PRIETO L., OSORIO-SARABIA D. Y PÉREZ-PONCE DE LEÓN. 1997. Catálogo de la Colección Nacional de Helmintos. Instituto de Biología, UNAM, CONABIO. 211pp.
- LIGHT E. Y M. E. SIDDALL. 1999. Phylogeny of the leech family Glossiphoniidae based on mitochondrial gene sequences and morphological data. *Journal of Parasitology.* 85(5):815-823.
- MANOLELI D. G., D. J. KLEMM Y M. SARBU. 1998. *Haemopsis caeca* (Annelida: Hirudinea: Arhynchobdellida: Haemopidae), a new species of troglobitic leech from a chemoautotrophically based groundwater ecosystem in Romania. *Proceedings of the Biological Society of Washington.* 111(1): 222-229.
- MARSHALL C. J. Y J. K. LIEBHERR. 2000. Cladistic biogeography of the Mexican transition zone. *Journal of Biogeography.* 27: 203-216.
- MAYR E. 1997. This is biology: The science of the living world. Harvard University Press. 323pp.
- MOORE J. P. 1898. The Leeches of the United States National Museum. *Proceedings of the U. S. Natural Museum.* 21:543-463.
- MOORE J. P. 1901. The Hirudinea of Illinois. *Illinois State Laboratory of Natural History Bulletin.* 5:479-547.

- MOORE J. P. 1936. Hirudinea from Yucatan. *Carnegie Institution of Washington Publication*. 457:41-43.
- MOORE J. P. 1938. Leeches (Hirudinea) from Yucatan Caves. *Carnegie Institution of Washington Publication*. 491:67-70.
- MOORE J. P. 1946. Leeches (Hirudinea) from the Hawaiian Islands, and two new species from the Pacific Region in the Bishop Museum Collection. *Ocasional Papers Berenice P. Bishop Museum*. 18(11):171-191.
- MOORE J. P. 1960. On the contributions of Doctor Eduardo Caballero y C. to mexican hirudinology. *In: Libro homenaje al Dr. Eduardo Caballero y Caballero*. S.E.P./I.P.N. México: p 529-531.
- MOQUIN-TANDON A. 1846. Monographie de la famille des hirudinées. Libraire de l'Academie Royale de Médecine. Paris. 448pp.
- MORITZ C. Y HILLIS D. M. 1996. Molecular Systematics: Context and Controversies 1. *In: HILLIS D. M., C. MORITZ Y B. K. MABLE. (eds.) Molecular Systematics*. Sinauer, Sunderland, Massachusetts. 321-381.
- MORRONE J. J. 2000. El lenguaje de la cladística. Dirección General de Publicaciones y Fomento Editorial. UNAM. México. 109pp.
- MORRONE J. J. 2001. Sistemática, biogeografía, evolución. Los patrones de la biodiversidad en tiempo-espacio. Las prensas de Ciencias, Facultad de Ciencias. UNAM, México. 124pp.
- OCEGUERA-FIGUEROA A. Y V. LEON-RÉGAGNON. 2005. A new freshwater leech species of *Helobdella* (Annelida: Glossiphoniidae) from central Mexico. *Zootaxa*. 976: 1-8.
- OKA A. 1932. Hirudinées extraeuropéennes du Musée Zoologique Polonais. *Annales Musei Zoologici Polonici*. IX.1932: 313-330.
- PALUMBI S. R. 1996. Nucleic Acids II: The Polymerase Chain Reaction. *In: HILLIS D. M., C. MORITZ Y B. K. MABLE. (eds.) Molecular Systematics*. Sinauer, Sunderland, Massachusetts. 205-247.
- PAMPLIN P. Y O. ROCHA. 2000. First report of *Barbronia weberi* (Hirudinea: Erpobdelliformes: Salifidae) from South America. *Revista de Biología Tropical*. 48: 723.

- PFEIFFER I., B. BRENIG Y U. KUTSCHERA. 2004. The occurrence of an Australian leech species (genus *Helobdella*) in German freshwater habitats as revealed by mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 33:214-219.
- RICHARDSON L. R. 1969. A contribution to the systematics of the hirudinid leeches, with description of new families, genera and species. *Acta Zoologica Academia e Scientiarum Hungaricae*. XV(1-2):97-149.
- RICHARDSON L. R. 1971. A new species from Mexico of the Nearctic genus *Percymoorensis*, and remarks on the family Haemopidae (Hirudinoidea). *Canadian Journal of Zoology*. 49(8): 1095-1103.
- RINGUELET R. A. 1968. Llave o clave para el reconocimiento de las sanguijuelas conocidas de la República Argentina (Hirudinea) y apuntamientos sobre la hirudofauna neotropical y transicional mexicana. *Physis*. 27(75):367-390.
- RINGUELET R. A. 1972. Algunos hirudíneos del Museum D' Histoire Naturelle de Paris. *Physis*. 31(82):99-103.
- RINGUELET R. A. 1976. Los caracteres endosomáticos de *Haementeria officinalis* de Fillipi, diagnosis del género y un estudio de antiguos ejemplares de *Nepheleis mexicana* Dugès, 1876 (Hirudinea). *Limnobiología*. 1(5): 164-166.
- RINGUELET R. A. 1978. Biogeografía de los Hirudíneos de América del Sur y de Mesoamérica. Obra del Centenario del Museo de la Plata. VI. 1-27.
- RINGUELET R. A. 1981. Clave para el reconocimiento de los hirudíneos de México. *Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. Serie Zoológica*. 52(1):89-97.
- RUTTER R. P. Y D. J. KLEMM. 2001. The presence of an Asian leech, *Barbronia weberi*, in a home aquarium in South Florida (Hirudinea: Salifidae). *Florida Scientist*. 64: 212-218.
- SAWYER R. T. Y R. M. SHELLY. 1976 New records and species of leeches (Annelida: Hirudinea) from North and South Carolina. *Journal of Natural History*. 10: 65-97.
- SAWYER R. T. 1986. Leech biology and Behaviour. Vol. I, II y III. Feeding Biology, Ecology, and Systematics. Clarendon Press. Oxford. 793pp.

- SIDDALL M. E. 2002. Phylogeny of the leech family Erpobdellidae (Hirudinida: Oligochaeta). *Invertebrate Systematics*. 16:1-6.
- SIDDALL M. E. Y E. M. BURRESON. 1995. Phylogeny of the Euhirudinea: Independent evolution of blood feeding by leeches? *Canadian Journal of Zoology*. 73:1048-1064.
- SIDDALL M. E. Y E. M. BURRESON. 1998. Phylogeny of Leeches (Hirudinea) Based on Mitochondrial Cytochrome *c* Oxidase Subunit I. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 9(1):156-162.
- SIDDALL M. E., K. APAKUPAKUL., E. BURRESON., K. A. COATES., C. ERSÉUS., S. R. GELDER., M, KALLERSJO Y H. TRAPIDO-ROSENTHAL. 2001. Validating Livanow: Molecular data agree that leeches, branchiobdellidans, and *Acanthobdella peledina* form a monophyletic group of oligochaetes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 21(3):346-351.
- SIDDALL M. E. Y E. BORDA. 2003. Phylogeny and revision of the leech genus *Helobdella* (Glossiphoniidae) based on mitochondrial gene sequences and morphological data and a special consideration of the *triserialis* complex. *Zoologica scripta*. 32(1): 23-33.
- SIDDALL M. E., R. B. BUDINOFF Y E. BORDA. 2005. Phylogenetic evaluation of systematics and biogeography of the leech family Glossiphoniidae. *Invertebrate Systematics*. En prensa
- SIDDALL M. E. Y R. B. BUDINOFF. 2005. DNA-barcoding evidence for widespread introductions of a leech from the South American *Helobdella triserialis* complex. *Conservation Genetics*. En prensa.
- SOOS A. 1966. Identification key to the leech (Hirudinoidea) genera of the world, with a catalogue of the species. III. Family Erpobdellidae. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*. 12 (3-4): 371-407.
- SOOS A. 1969. Identification key to the leech (Hirudinoidea) genera of the world, with a catalogue of the species. VI. Family: Glossiphoniidae. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*. 15(3-3): 397-454.
- SWOFFORD D. L. 2002. PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Version 4.0b10. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

- TRONTELJ P. Y B. SKET. 2000. Molecular re-assessment of some phylogenetic, taxonomic and biogeographic relationships between the leech genera *Dina* and *Trocheta* (Hirudinea: Erpobdellidae). *Hydrobiologia*. 438:227-235.
- TRONTELJ P., B. SKET Y STEINBRUCK. 1999. Molecular phylogeny of leeches: Congruence of nuclear and mitochondrial rDNA data sets and the origin of bloodsucking. *Journal of Zoology, Systematics and Evolutionary research*. 37:141-147.
- WESTERGREN S. Y M. E. SIDDALL. 2004. Two new species of Salifid Leeches (Arhynchobdellida: Erpobdelliformes: Salifidae) from South Africa and Madagascar. *American Museum Novitates*. 3456: 1-6

ANEXO 1

**A new freshwater leech species of *Helobdella* (Annelida: Glossiphoniidae) from
central Mexico**

A new freshwater leech species of *Helobdella* (Annelida: Glossiphoniidae) from central Mexico

ALEJANDRO OCEGUERA-FIGUEROA¹ & VIRGINIA LEON-REGAGNON^{1,2}

Laboratorio de Helmimología "Eduardo Caballero y Caballero". Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Tercer Circuito s/n. Ciudad Universitaria, Copilco, Coyoacán. A.P. 70-153. México, Distrito Federal. C.P.14510.

¹oceguera@ibiologia.unam.mx ²vleon@ibiologia.unam.mx

Abstract

Helobdella atli n. sp. is described based on the examination of 20 specimens collected in Totolcingo Lake, Tlaxcala, Mexico. Leeches were found attached to submerged rocks and plants. Study of specimens included optical and scanning electron microscopy. Diagnostic characters are: sperm ducts with a long posterior extension, a dorsal nuchal scute on somite VIII, postcaeca absent in the last pair of crop caeca and the mouth pore in the anterior margin of the oral sucker. Previous records of *H. adiastrata* in Mexico correspond to *H. atli* n. sp.

Key words: Annelida, Hirudinea, Glossiphoniidae, *Helobdella*, Mexico

Introduction

Glossiphoniidae is a diverse family of freshwater leeches, with representatives found in all continents except Antarctica. The genus *Helobdella* has been divided in two groups based on the presence or absence of a dorsal nuchal scute (or at least the glands producing it) at about somite VIII. The presence of this structure has been considered as a synapomorphy for the *stagnalis* clade but recently, Siddall & Borda (2003) found evidence that contradicts this proposal. The genus *Helobdella* is diagnosed as follows: glossiphoniids with gonopores separated by one annulus, one pair of cephalic eyespots, neither oesophageal organs nor mycetomes are present, none known to be sanguivorous on vertebrates (Siddall & Borda 2003).

The geographic distribution of the New World species of this group has been studied by some authors (Ringuelet 1944, 1978a, 1978b; Siddall 2001a; Siddall & Borda 2003). The greatest diversity of *Helobdella* is found in South America, where 11 species with

scute or the associated nuchal gland have been recorded (Siddall 2001a). In North America, only three scutiferus species have been found: the widely distributed *Helobdella stagnalis* Linnaeus, (although North American representatives appear to be distinct enough to warrant the use of the Verrill's name *Helobdella modesta* (Light & Siddall 1999)), *Helobdella californica* Kutschera, 1988, in California USA and *Helobdella adiastrata* Ringuelet, 1972, from Mexico City (Ringuelet 1981; Sawyer 1986; Davies 1991). During a survey study of Mexican leeches, we found specimens of a previously undescribed species of *Helobdella*. We present the morphological description herein.

Methods

Specimens were hand collected in Totolcingo, Tlaxcala in August 2003 and October 2004 by personell of the "Laboratorio de Helminología, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México". Totolcingo lake is at the boundary of Tlaxcala and Puebla states, between 19°09'36"-19°26'18"N and 97°33'00"-97°47'06"W (Alcocer *et al.* 1997). Leeches found attached to submerged rocks and plants, were relaxed with gradual addition of 70% ethanol and fixed either in 4% formalin or in 100% ethanol. Some specimens were compressed between two pieces of glass and stained with a mixture of Mayer's Paracarmin and Ehrlich's Haematoxilin. Microphotographs of whole specimens were taken in a stereoscope Zeiss model 475052 and a digital camera Olympus C5050. For the Scanning electron microscopy (SEM) study, two specimens were dehydrated and critical point dried with CO₂. The samples were mounted, coated with gold, and observed in a Hitachi model s-2460N scanning electron microscope.

Helobdella atli Ocegüera-Figueroa & León-Régagnon, new species

External Morphology. Adults are mostly of a white-yellowish color, some of them slightly darker. On the dorsal surface, there is a middorsal line of papillae only found in a2 and a3 of each midbody somite. Body margins show small projections in a2 and a3 giving the organism a serrated appearance (Fig. 1). Ventral surface white without papillae (Fig. 2). Body length 7.5 mm, maximal width 2.3 mm. (n=20). Male gonopore situated on XII a1/a2, female gonopore on XII a2/a3. Genital pores separated by a single annulus. Anus located on the dorsal surface at XXVII (Fig.3). One pair of eyes located on somite IV. A well defined nuchal scute occurs at VIII a1/a2 (Fig. 4). Somites I-II fused. Somites III-IV fused or not well divided. Somite V biannulate, somites VI-XXIV triannulate, somites XXV-XXVI biannulate and somite XXVII uniannulate. Oral sucker somewhat triangular with mouth-pore subterminal. Caudal sucker smooth and directed ventrally in relaxed specimens.

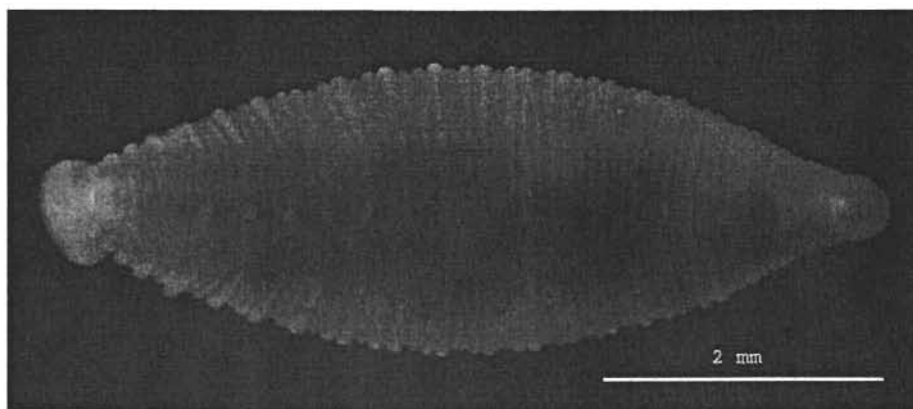


FIGURE 1. *Helobdella atli* n. sp. from Totolcingo, Tlaxcala, Mexico. Dorsal view of the holotype.

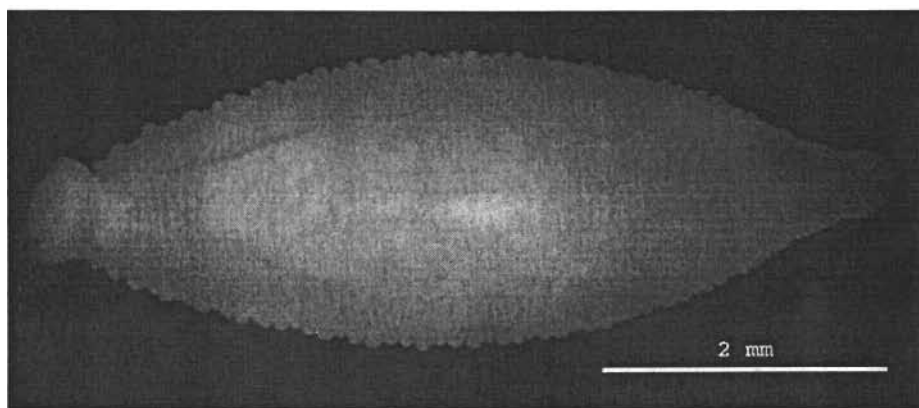


FIGURE 2. *Helobdella atli* n. sp. from Totolcingo, Tlaxcala, Mexico. Ventral view of the holotype

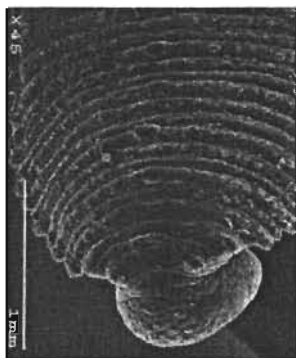


FIGURE 3. *Helobdella atli* n. sp. from Totolcingo, Tlaxcala, México. Scanning electron microphotography of posterior part, showing the position of anus.

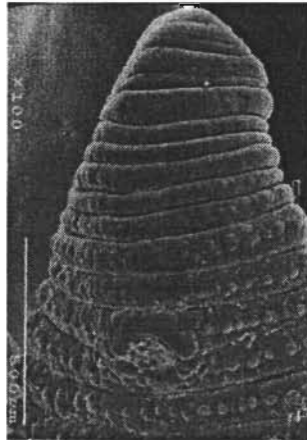


FIGURE 4. *Helobdella atli* n. sp. from Totolcingo, Tlaxcala, Mexico. Scanning electron microphotography of the anterior part, showing nuchal scute.

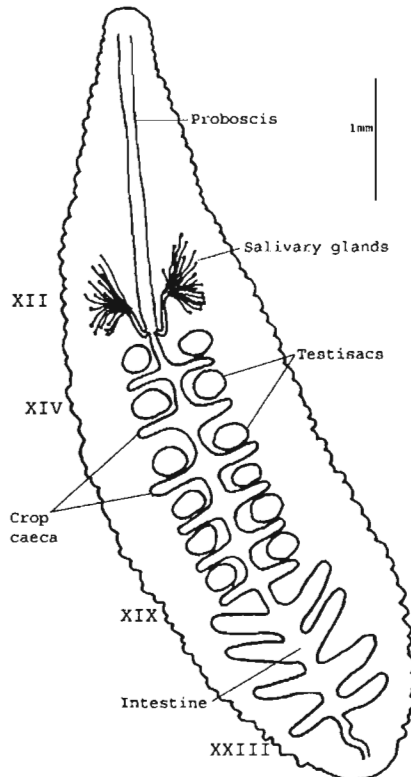


FIGURE 5. *Helobdella atli* n. sp. from Totolcingo, Tlaxcala, Mexico. Digestive system and testisacs.

Internal Morphology. The mouth pore is located on the anterior margin of the oral sucker. Proboscis in membranous sheath. Salivary cells arranged diffusely in parenchyma in somites XI–XIII. Ductules of the salivary cells forming a bundle inserting into the base of the proboscis in somite XIII. Oesophagus simple, not recurved. Mycetomes absent. Crop provided with six digitiform caeca in somites XIV–XIX; postcaeca or diverticula absent. Intestine with four caeca in somites XX–XXIII, the first two anteriorly directed and the last two pairs laterally directed (Fig. 5). Six pairs of testisacs found intersegmentally from XIII/XIV to XVIII/XIX. Vas deferens with a long posterior extension, sometimes to the last pair of crop caeca in somite XIX. Ovisacs simple, not folded, very large, reaching somite XIX (Fig. 6).

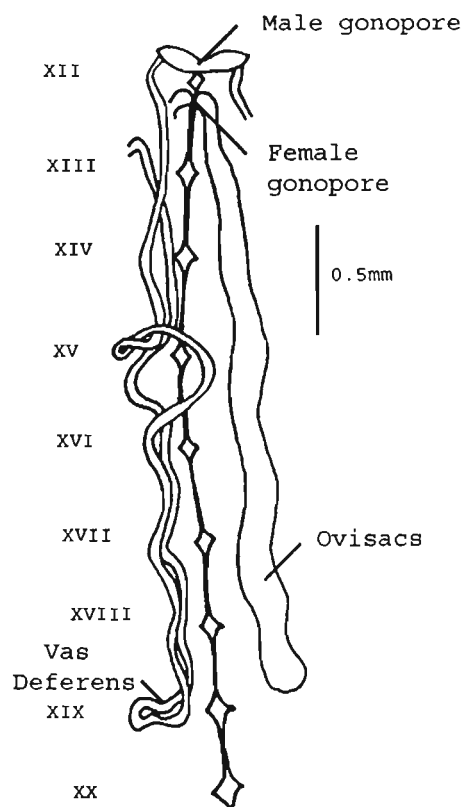


FIGURE 6. *Helobdella atli* n. sp. from Totolcingo, Tlaxcala, Mexico. Reproductive system.

Etymology: *atli* means “water” in Nahuatl, a native dialect of the central region of Mexico, and refers to the environment where the leeches live.

Type Locality: Laguna de Totolcingo, Municipio de "El Carmen Tequexquita" Tlaxcala, México.

Other localities: Aljojuca, Puebla and Xochimilco, Mexico D.F.

Holotype: Colección Nacional de Helmintos (CNHE 5208). Fixed in Formalin 4% and preserved in 70% ethanol. Length 6.2mm, width 2.1mm.

Paratypes: Colección Nacional de Helmintos. Five specimens (CNHE 5209) one slide (CNHE 5210)

American Museum of Natural History (AMNH 5264 annelida)

Discussion

Two species of the genus *Helobdella* with a nuchal scute have been reported in Mexico, *H. stagnalis* with a worldwide distribution, and *H. adiastrata*, distributed in South America, Africa, and Mexico (Ringuélet 1981; Sawyer 1986).

Helobdella stagnalis can be easily differentiated from *H. atli* n. sp. because in *H. stagnalis* the last pair of the crop caeca extend posteriorly, forming postcaeca, and those structures are absent in the new species. *Helobdella adiastrata* was described by Ringuélet based on material collected in South America, deposited in the Natural History Museum of Paris, and originally identified as *Helobdella scutifera* Blanchard, 1900. Ringuélet (1981) suggested the existence of *H. adiastrata* in Mexico based on specimens collected in Xochimilco, Mexico, Distrito Federal by Serapio López-Jiménez. After revisiting this material (deposited in the particular collection of López-Jiménez, in the Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Mexico), it is now clear that it differs from *H. adiastrata* in the absence of postcaeca or diverticula, in the extension of the vasa deferentia, which are short in *H. adiastrata* but extend posteriorly to the level of the last pair of testes in the examined specimens, and in the shape of the nuchal scute, which is oval with truncated posterior end in *H. adiastrata* but triangular in the material from Xochimilco. This analysis indicates that the material collected in Xochimilco, Mexico, belongs to the new species described herein, and that the records of *H. adiastrata* in Mexico actually correspond to *H. atli*. An additional species bearing a nuchal scute was described in California, USA, *H. californica*. This species resembles *H. atli* n. sp. in lacking postcaeca or diverticula, but differs in the following aspects. The new species shows a dorsal medial line of papillae, more evident in annuli a2 and a3, while in the species from California papillae are absent. *H. californica* presents two dorsal dark bands in the central axis of the body, while *H. atli* n. sp. lacks any colored pattern. Nuchal scute in *H. californica* is situated between somites V/VI, while in the new species it is located in VIII a1/a2. Crop caeca are lobed in *H. californica*, and simple in *H. atli* n. sp. Borders of *H. atli* show lateral projections, while *H. californica* lacks this characteristic. Nuchal scute in *H. californica* is oval, while it is triangular in the new species. The number of species with a nuchal scute or nuchal gland in South America has not been clearly established (Ringuélet 1985; Sawyer 1986; Siddall

2002a, 2002b), and in some cases, it is not clear from the descriptions if the structure is a nuchal scute or a dorsal gland. Following Sawyer (1986), there have been recorded 7 species of *Helobdella* with a nuchal scute in South America. *H. stagnalis* and *H. adiaestola*, that were mentioned previously. *Helobdella xenoica* (Ringuélet), presenting compact salivary glands, contrary to the diffuse salivary glands present in *H. atli* n. sp. *Helobdella festai* (Dequal), in which the presence of a nuchal scute is not clear (Ringuélet 1985; Sawyer 1986), but also differs from *H. atli* n. sp. in the presence of postcaeca diverticula and rings on the body surface that overpass the margin of the body, forming marginal lobules covered with papillae. *Helobdella diploides* Ringuélet presents subdivided rings, which is not the condition in *H. atli* n. sp. *Helobdella scutifera* Blanchard and *Helobdella simplex* (Moore) lack a chitinous scute and both have postcaeca. The new species resemble *H. simplex* (Moore) from Chile, due the presence of papillae on the dorsal surface, but *H. simplex* presents papillae in a1, a2 and a3 and lateral projections on every annulus, while *H. atli* n. sp. only in a2 and a3.

In conclusion, at least two scutiferous species occur in Mexico, *Helobdella stagnalis*, and *Helobdella atli*. The presence in Mexico of *H. adiaestola* proposed by Ringuélet (1972, 1981, 1985) and followed by Sawyer (1986) must be considered erroneous. Actually, the specimens reported by those authors correspond to *H. atli* n. sp.

Acknowledgments

We thank S. López-Jiménez, F. Bertoni-Ruiz, E. Martínez-Salazar, R. Rosas-Valdez for their assistance in the collection of samples. B. Mendoza-Garfias, F. Álvarez and A. Celis for their assistance in microphotography, and R. Lamothe-Argumedo, F. Fernández de Miguel and L. García-Prieto for their comments on early versions of this manuscript. This study was partially founded by CONACyT in the form of a graduate scholarship to AOF and NSF 0102383 to Jonathan Campbell (UTA) and VLR.

Literature Cited

- Alcocer, J., Lugo, A., Escobar, E. & Sánchez, M. (1997) The Macrobenthic fauna of a former perennial and now episodically filled Mexican saline lake. *International Journal of Salt Lake Research*, 5, 261–274.
- Davies, R.W. (1991) Annelida: Leeches, polychaetes, and acanthobdellids. In: Thorp, J. H. & Covich, A. P. (Eds) *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates*. Academic Press, San Diego, 437–479.
- Kutschera, U. (1988) A new leech species from North America, *Helobdella californica* (Hirudinea: Glossiphoniidae). *Zoologischer Anzeiger*, 220, 173–178.
- Lighth, J.E. & Siddall, M.E. (1999) Phylogeny of the leech family Glossiphoniidae based on mitochondrial gene sequences and morphological data. *Journal of Parasitology*, 85, 815–823.
- Ringuélet, R.A. (1944) Sinopsis sistemática y zoogeográfica de los hirudíneos de la Argentina, Bra-

- sil, Chile, Paraguay y Uruguay. *Revista del Museo de la Plata*, 3, 163–232.
- Ringuelet, R.A. (1972) Algunos Hirudíneos del Museum d'Histoire Naturelle de Paris. *Physis*, 31, 99–103.
- Ringuelet, R.A. (1978a) Nuevos géneros y especies de Glossiphoniidae sudamericanos basados en caracteres ecto y endosomáticos (Hirudinea Glossiphoniiformes). *Limnobiós*, 1, 269–276.
- Ringuelet, R.A. (1978b) Biogeografía de los hirudíneos de América y de Mesoamérica. *Obra del Centenario del Museo de la Plata*, VI, 1–27.
- Ringuelet, R.A. (1981) Clave para el reconocimiento de los hirudíneos de México. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología*, 521, 89–97.
- Ringuelet, R.A. (1985) *Fauna de agua dulce de la República de Argentina, Hirudinea*, FECIC, Buenos Aires, 321 pp.
- Sawyer, R.T. (1986) *Leech Biology and Behaviour, Feeding Biology, Ecology and Systematics*, Oxford University Press, Oxford, 1065pp.
- Siddall, M.E. (2001a) Leeches of Laguna Volcan, Bolivia, including a new species of *Helobdella* (Clitellata: Hirudinea). *American Museum Novitates*, 3313, 1–11.
- Siddall, M.E. (2001b) Hirudinea from the Apolobampa in the Bolivian Andes, including three new species of *Helobdella* (Clitellata: Hirudinea). *American Museum Novitates*, 3341, 1–14.
- Siddall, M.E., & Borda, E. (2003) Phylogeny and revision of the leech genus *Helobdella* (Glossiphoniidae) based on mitochondrial gene sequences and morphological data and a special consideration of the *triserialis* complex. *Zoologica Scripta*, 32, 23–33.