



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

Posición Filogenética del Género *Vexillata* en la
Superfamilia Heligmosomoidea.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

P R E S E N T A

JORGE FALCÓN ORDAZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. MARCOS RAFAEL LAMOTHE Y ARGUMEDO

MÉXICO, D.F.

MAYO 2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

RECONOCIMIENTO

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por haberme otorgado la beca con el número de registro 167236, con la cual se pudo desarrollar el presente trabajo.

A los miembros del jurado por sus acertadas observaciones al trabajo desarrollado.

Dr. Ismael Ferrusquía Villafranca

Dr. Juan José Morrone Lupi

Dr. Gerardo Pérez Ponce de León

Dr. Cornelio Sánchez Hernández

Dr. Marcos Rafael Lamothe y Argumedo

Dra. Griselda Pulido Flores

Dra. Virginia León Règagnon

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Héctor Manuel Hernández Macías y Dra. Tila María Pérez Ortiz, ex Director y Directora del Instituto de Biología de la U.N.A.M., por permitirme el uso de las instalaciones.

Al Dr. Fernando Álvarez Noguera y Dra. Patricia Escalante Pliego, ex Jefe y Jefa del Departamento de Zoología.

Al Dr. Marcos Rafael Lamothe y Argumedo, Curador de la Colección Nacional de Helminetos, por haber dirigido la presente tesis y por brindarme la oportunidad de hacer uso de material depositado en la Colección; además, de haber aprendido de usted la pasión por el mundo de la helmintología.

A la Dra. Virginia León Règagnon por ser parte del Comité Tutoral y por sus acertadas observaciones al trabajo; así mismo, le agradezco el haberme permitido hacer uso del Laboratorio 3 de Biología Molecular del Instituto de Biología.

Al Dr. Ismael Ferrusquia Villafranca por ser parte del Comité Tutoral y contribuir con sus acertadas observaciones al presente trabajo.

Al Dr. Scott Lyell Gardner por ser parte del Comité Tutoral y por las observaciones realizadas a la Tesis.

Al Dr. Gerardo Pérez Ponce de León por la revisión del manuscrito y a sus acertadas observaciones. Doctor, le agradezco mi formación en la Sistemática Filogenética y su amistad.

Al M. en C. Luis García Prieto por tomarse parte de su tiempo para revisar el presente trabajo y darme su opinión; así como por el préstamo de material depositado en la Colección Nacional de Helminetos del Instituto de Biología, U.N.A.M., y además quiero darte las gracias por dirigirme y formarme durante muchos años en la Taxonomía y Sistemática de los helmintos y por tu amistad.

A los Doctores Marie Claude Durette-Desset, Jimmy Cassone y Jean Lou-Justine del Museo Nacional de Historia Natural de París por la donación de material para el presente trabajo.

A los Doctores Eric P. Hoberg y Patricia Pilit por el préstamo de material depositado en la Colección Nacional de Parásitos de los Estados Unidos.

A la M. en C. María Antonieta Arizmendi Espinosa por su colaboración en la revisión de los textos en inglés y por su amistad.

A los Doctores Daniel Brooks y Francisco Agustín Jiménez Ruiz por la donación de material de Costa Rica y los Tuxtlas, Veracruz, respectivamente.

Al Dr. David J. Hafner por la recolecta y envío de ejemplares de *Thomomys talpoides* de Nuevo Mexico, EUA.

Al M. en C. Jesús Fernández Fernández por su ayuda en la recolecta e identificación de los huéspedes; sin tí no hubiera llegado al término del presente trabajo.

A la M. en C. Laura Márquez Valdelamar; M. en C. Elizabeth Martínez Salazar; M. en C. Rogelio Rosa Valdez y Dr. Martín García Varela por su enseñanza y ayuda en el campo de la Biología Molecular.

A la M. en C. María de los Ángeles Sanabria Espinoza y al M. en C. David Osorio Sarabia por ser las primeras personas que me introdujeron al trabajo con helmintos y muy particularmente al estudio de los nemátodos **¡GRACIAS!**.

A mis compañeros y amigos del Laboratorio de Helminología: Luis, Tony, Gerardo, Elizabeth, Rogelio, Berenit, Ulises, Mely, Alejandro, Hugo, Rosario y Lorena.

DEDICATORIAS

A mi esposa Georgina Lira Guerrero por creer en mis sueños y apoyarme en ellos para hacerlos realidad, gracias por toda tu paciencia y cariño.

A Layla por haber llegado a cambiar y alegrar nuestras vidas, te quiero hijita.

A mis padres Adela Ordaz y Luis Falcón por su apoyo, paciencia y cariño durante todos los años de mi vida.

A toda mi familia y familia política por su ayuda en los buenos y malos momentos que he pasado.

¡GRACIAS!

ÍNDICE

RESUMEN.....	VIII
ABSTRACT.....	X
CAPÍTULO I	
Introducción.....	1
Características para la determinación de los tricostrongiloideos.....	1
Historia taxonómica de los tricostrongiloideos.....	7
Historia taxonómica de la Superfamilia Heligmosomoidea.....	8
Generalidades del Género <i>Vexillata</i>	13
Uso de caracteres moleculares en la clasificación de taxones.....	15
Trabajos filogenéticos sobre tricostrongiloideos.....	18
Objetivos	
Objetivo general.....	20
Objetivos particulares.....	20
Metodología	
Recolecta de huéspedes.....	20
Obtención y procesamiento de nemátodos.....	24
Solicitud de ejemplares.....	24
Análisis morfológico.....	26
Análisis filogenéticos morfológicos.....	26
Caracterización molecular de algunas especies del Género <i>Vexillata</i>	28
Obtención de cladogramas.....	30
Literatura citada.....	30
CAPÍTULO II	
Descripción de dos especies nuevas del género <i>Vexillata</i>	38
Falcón-Ordaz J. y L. García-Prieto. 2005. Una nueva especie de <i>Vexillata</i> (Nematoda: Trichostrongylina: Ornithostrongylidae) parásita de <i>Heteromys desmarestianus</i> (Rodentia: Heteromyidae) de Costa Rica. Journal of Parasitology 91 (2): 329-334.....	39
Falcón-Ordaz J., Hsuan-Wien Chen y R. Lamothe-Argumedo. 2005 Una nueva especie de <i>Vexillata</i> (Nematoda: Ornithostrongylidae) en la tuza attwater de Texas Journal of Parasitology 92 (3): 595-599.....	45
CAPÍTULO III	

Análisis morfológico de algunas especies del Género *Vexillata*, con comentarios de su espectro hospedatorio y distribución geográfica.

Introducción.....	50
Material y método.....	50
Resultados.....	50
Análisis morfológico de seis especies del Género <i>Vexillata</i>	50
Análisis morfológico de <i>Vexillata vexillata</i>	60
Discusión.....	68
Literatura citada.....	69

CAPÍTULO IV

Posición filogenética del Género *Vexillata* en la Superfamilia Heligmosomoidea

Introducción.....	72
Material y método.....	73
Grupo Interno.....	73
Grupo externo.....	73
Análisis cladista.....	73
Argumentación de caracteres.....	74
Resultados.....	79
Filogenia de los géneros de la superfamilia Heligmosomoidea.....	79
Discusión.....	81
Implicaciones taxonómicas de la ubicación del género <i>Vexillata</i>	82
Literatura citada.....	83

CAPÍTULO V

Análisis filogenético de las especies del Género *Vexillata*

Introducción.....	87
Material y método.....	87
Grupo Interno.....	87
Grupo externo.....	87
Análisis cladista.....	88
Argumentación de caracteres.....	88
Resultados.....	96
Filogenia de las especies del Género <i>Vexillata</i>	96
Discusión.....	101

Evolución de caracteres.....	101
¿Es <i>Vexillata vexillata</i> un complejo de especies?.....	102
Propuesta sobre el origen del Género <i>Vexillata</i>	103
Relación con sus huéspedes.....	104
Clave dicotómica para especies del Género <i>Vexillata</i>	108
Literatura citada.....	110
CAPÍTULO VI	
Diferenciación de algunas especies de <i>Vexillata</i> por evidencia molecular	
Introducción.....	114
Material y método.....	115
Resultados.....	118
Análisis filogenético.....	118
Matriz de distancia.....	118
Discusión.....	125
Similitud intra e interespecifica.....	125
¿Los morfotipos 1 y 2 de <i>V. vexillata</i> son especies diferentes?.....	126
Apéndice I	
Extracción del ADN genómico con formol/cloroformo.....	127
Extracción del ADN genómico con kit quiagen™.....	128
Extracción del ADN genómico con dnazol kit.....	128
Purificación directa de PCR.....	129
Apéndice II. Secuencias alineadas del gen COI obtenidas para diferentes especies de <i>Vexillata</i>	130
Literatura citada.....	134
CAPÍTULO VII	
Discusión general.....	137
Conclusiones.....	145
Literatura citada.....	145

RESUMEN

Los tricostrongiloideos son miembros de la clase Secernentea y por la presencia de una bolsa caudal en los machos, se incluyen en el orden Strongylida. Son parásitos del estómago o intestino delgado de anfibios, reptiles, aves y mamíferos. Actualmente se encuentran constituidos por tres Superfamilias: Trichostrongyloidea, Molinoidea y Heligmosomoidea. El arreglo taxonómico de la última superfamilia ha variado durante el transcurso del tiempo; en un principio los heligmosomoideos fueron incluidos en la Subfamilia Heligmosominae, la cual es elevada posteriormente a nivel familia: Heligmosomatidae, y actualmente es considerada una superfamilia (Heligmosomoidea).

Dentro de la superfamilia ya mencionada se encuentra el género *Vexillata*, cuya ubicación taxonómica ha sido objeto de controversias; inicialmente se le incluyó en la Subfamilia Vexillatinae Durette-Desset, 1971, dentro de la Familia Heligmosomidae; más adelante, el género fue transferido a la Subfamilia Viannaiinae y por último a la Subfamilia Ornithostrongylinae de la Familia Ornithostrongylidae.

Es por lo anterior que en el presente trabajo tiene como objetivo definir la ubicación taxonómica del género *Vexillata* dentro de la Superfamilia Heligmosomoidea; para dicho propósito, se muestrearon roedores de las Familias Heteromyidae y Geomyidae de 16 localidades de la República Mexicana, dos de Estados Unidos de América y una más de Costa Rica. A partir del análisis morfológico del material, se describieron dos especies nuevas para la ciencia, se detectaron 6 morfotipos de la especie *Vexillata vexillata* y se agregan nuevos rasgos del sinlofo para cinco especies del género.

Para definir la posición taxonómica de *Vexillata* en la Superfamilia Heligmosomoidea, así como para determinar las relaciones intraespecíficas del género con características morfológicas y moleculares, se realizó un análisis filogenético para cada uno de los 2 puntos a analizar. Para el primero se incluyó un representante de cada familia o subfamilia que componen la Superfamilia Heligmosomoidea, obteniendo una matriz con 15 taxones y 11 caracteres morfológicos. A partir del resultado del punto anterior, se analizaron las relaciones entre las diferentes especies que componen al Género *Vexillata*, formando una matriz con 24 taxones y 20 caracteres.

El análisis filogenético de la Superfamilia Heligmosomoidea arrojó un total de 16 árboles igual de parsimoniosos con una longitud de 25 pasos, índice de consistencia (IC) de 0.920 e índice de retención (IR) de 0.935, observándose que *Vexillata* no se encuentra en la Subfamilia Ornithostrongylinae, sino que se relaciona con las

Subfamilias Brevistriatinae y Pudicinae. Utilizando representantes de estas 2 subfamilias como grupo externo para conocer las relaciones intraespecíficas del género en estudio, se obtuvieron cuatro árboles igual de parsimoniosos (97 pasos, IC= 0.567 e IR= 0.677), en los que se observa que el género es monofilético con respecto al grupo externo, formándose tres clados definidos por rasgos morfológicos como: número de espinas totales del sinlofo en la región media del cuerpo (11, clado I) y ausencia y/o presencia de ramas anexas en el rayo dorsal de la bursa caudal del macho (clado II y III respectivamente). Ahora bien, con este análisis los morfotipos de *V. vexillata* mencionados anteriormente no podemos diferenciar estos como especies independientes, por lo que creemos necesaria la aplicación de un análisis molecular que permita primero diferenciar los morfotipos y posteriormente definir la posición de estos en el género.

Para el análisis molecular del género, se utilizó ADN genómico de *Vexillata convoluta*, *V. legallae*, *V. dessetae* y *V. liomyos* y de dos morfotipos de *V. vexillata* (1 y 2) provenientes de seis localidades (cinco de México y una de EUA). Se obtuvieron 14 secuencias parciales del gen mitocondrial Citocromo Oxidas subunidad I (COI), con una longitud de 376 pares de bases (pb). Del análisis filogenético de esta información, se obtuvieron siete árboles igual de parsimoniosos (133 pasos, IC= 0.782, IR= 0.846). La similitud entre las secuencias de los individuos de la misma especie es estrecha, e. g., individuos de *V. liomyos* en dos localidades del estado de Tlaxcala (Ixtacuixtla y Panotla), presentan una variación que va de 0.0 a 1.330 % (i. e., 0 a 5 pb).

A nivel interespecífico, la variación exhibe un rango mas amplio; por ejemplo, en *V. convoluta* va de 10.106 – 11.170 % (38 a 42 pb), con respecto al resto de las especies de *Vexillata*. Entre los morfotipos de *V. vexillata* la diferencia es de 6.38%, porcentaje similar al utilizado para diferenciar otras especies de helmintos, aspecto que nos permite considerar que dichos morfotipos son dos especies diferentes. Por último, no se obtuvo diferencia alguna entre las secuencias de las especies *V. legallae* y *V. dessetae*, lo que sugiere su sinonimia.

Finalmente, para robustecer las hipótesis filogenéticas planteadas previamente, es necesario realizar más muestreos a lo largo de diferentes localidades en el país, así como en EUA y Centroamérica, mismos que a su vez permitan comprobar rasgos morfológicos diagnósticos de las especies del género y seguir con el estudio molecular del mismo.

ABSTRACT

Trichostrongiloids are members of the class Secernentea, and due to the presence of a caudal bursa in males, they are included in the order Strongylida. They are parasites of the stomach or small intestine of amphibians, reptiles, birds, and mammals. Currently, they are grouped in 3 superfamilies: Trichostrongyloidea, Molinoidea and Heligmosomoidea. The taxonomic arrangement of Heligmosomoidea has varied with time; in the beginning, the heligmosomoids were included in the Subfamily Heligmosominae, which was later considered a Family: Heligmosomatidae, and is now considered as a superfamily (Heligmosomoidea).

Vexillata is included in the Superfamily Heligmosomoidea; the taxonomic status of this genus has been controversial. It was at first included in the Subfamily Vexillatinae Durette-Desset, 1971, of the Family Heligmosomidae; it was later transferred to the Subfamily Viannaiinae, and finally to the Subfamily Ornithostrongylineae, of the Family Ornithostrongylidae.

The objective of the present work is to determine the taxonomic status of the Genus *Vexillata* in the Superfamily Heligmosomoidea. For this purpose, rodents of the Families Heteromyidae y Geomyidae were sampled from 16 locations in Mexico; 2 locations in the United States and one more in Costa Rica. From the morphological analysis of the material, 2 new species were described, 6 morphotypes of *Vexillata vexillata* were found and new characteristics of the sinlofo were added in 5 species of the genus.

A phylogenetic analysis was conducted in order to establish the taxonomic status of *Vexillata* in the Superfamily Heligmosomoidea, and to determine the intra-specific relations of the genus with molecular and morphological features. For the first case, one member of each family and subfamily of the Superfamily Heligmosomoidea was included, resulting in a matrix with 15 taxa and 11 morphological characters. From this data, the relations among the different species belonging to *Vexillata*. were analyzed, a matrix of 24 taxa and 20 characters was obtained.

The phylogenetic analysis of the Superfamily Heligmosomoidea produced 16 equally parsimonious trees, with a length of 25 steps, consistency index (CI) of 0.920 and a retention index (RI) of 0.935; after which we conclude that *Vexillata*. is not included in the Subfamily Ornithostrongylineae, but it is related to the Subfamilies Brevistriatinae and Pudicinae. Using members of these two subfamilies as outgroup in

order to know the intra-specific relations of the Genus *Vexillata*, 4 equally parsimonious trees were obtained (97 steps, CI= 0.567 and RI= 0.677); which means that the genus is monophyletic with respect to the outgroups, with 3 clades defined by morphological features such as the total number of spines in the sinlofo in the middle region of the body (11, clade I) and the absence/presence of attached branches in the dorsal ray of the caudal bursa (clades II and III respectively).

As a result, we can not differentiate the morphotypes of *Vexillata vexillata* as independent species, therefore we believe that a molecular analysis that allows us first to differentiate the morphotypes and then to define their position in the genus, is needed.

To carry out such analysis, genomic DNA of *Vexillata convoluta*, *V. legallae*, *V. dessetae*, *V. liomyos*, and of 2 morphotypes of *vexillata vexillata* (1 and 2) from 6 locations (5 in Mexico, and one in USA) was used. Fourteen partial sequences of mitochondrial gen cytochrome oxidase subunit I (COI) were obtained, with a length of 376 base pairs. From the phylogenetic analysis of this information, 7 equally parsimonious trees were obtained (133 steps, CI= 0.782, RI= 0.846).

The similarity among sequences of individuals of the same species is narrow; for example, individuals of *V. lyomios*. In 2 localities from the state of Tlaxcala (Ixtacuixtla and Panotla) have a variation from 0.0 to 1.33% (0 to 5 bp).

At an inter-specific level, the variation exhibits a wider range; for example, in *V. convoluta*. is from 10.106 – 11.170% (38 to 42 bp), with respect to the rest of the species of *Vexillata*. Among morphotypes of *Vexillata vexillata*, the difference is 6.38%, percentage similar to the one used to differentiate other species of helminthes. This allows us to consider such morphotypes as two different species. No difference was obtained between the sequences of *V. legallae* and *V. dessetae*, which suggests their synonymy.

Finally, in order to strengthen the phylogenetic hypothesis previously proposed, it is necessary to have a greater number of samples from different locations in Mexico, USA and Central America. This in turn, would allow to test the diagnostic morphological features of the species of the genus and to continue with its molecular study.

CAPÍTULO 1

Introducción.

Los tricostrongiloideos son nemátodos miembros de la clase Secernentea por la presencia de fasmidios y por contar con una bolsa caudal en los machos, se incluyen en el orden Strongylida. Son parásitos del estómago o intestino delgado de anfibios, reptiles, aves y mamíferos, teniendo su máxima diversificación en estos últimos.

Tan solo del 2 al 5 % de los ciclos de vida son conocidos; sin embargo, éstos son en su mayoría directos (monoxenos), con las dos primeras mudas fuera del huésped. La infección es generalmente a través de la ingestión de los alimentos y en algunas especies, mediante la penetración de la piel del huésped. Morfológicamente se caracterizan por una reducción de la cápsula bucal y su distintiva bolsa caudal; recientemente, se incluyeron como rasgos diagnósticos el arreglo de las espinas del sínlofo y las características de los genitales. Entre los tricostrongiloideos se encuentran los parásitos gastrointestinales más importantes de ganado ovino, bovino y caprino, siendo ejemplo de éstos: *Cooperia* Ransom, 1907; *Nematodirella* Yorke y Maplestone, 1926 y *Nematodirus* Ransom, 1907 (Durette-Desset, 1985; Lichtenfels, 1983; Hoberg y Lichtenfels, 1994).

Características para la determinación de los tricostrongiloideos

Los tricostrongiloideos son identificados por características de los machos, como son las dimensiones de las espículas y la morfología de la bolsa copulatriz (Lichtenfels, 1983); sin embargo, a continuación se enlistan una serie de características que son utilizadas en la determinación de las especies del grupo de acuerdo con Durette-Desset (1985):

1.- Caracteres cefálicos: la extremidad cefálica de los tricostrongiloideos en las formas consideradas primitivas presentan una cápsula bucal, seis labios (raramente una corona radiata) y un diente esofágico dorsal. Los órganos sensoriales presentes son cuatro papilas cefálicas y dos anfidios.

Una de las principales características del grupo es que la cápsula bucal se reduce progresivamente, estando ausente en las formas consideradas más evolucionadas, en la que es acompañada por la pérdida de labios o de la corona radiata, además del diente esofágico (Fig. 1 a-d).

2.- Aparato reproductor femenino: consiste de dos ramas que están formadas por un ovario, oviducto y útero (condición didélfica), dichas ramas se unen en un oviyector, compuesto por

un par de infundibulos y esfínteres, siendo solo un vestíbulo y una vagina que abre en una vulva. En los tricostrongiloideos se tiende a la reducción de la rama posterior pasando de una forma didélfica a monodélfica, la cual consiste en un ovario, oviducto, útero y la mitad de un oviyector (Fig. 1 i-j).

3.- Estructuras reproductoras del macho: Los caracteres usados frecuentemente para la determinación en estos organismos son piezas auxiliares accesorias como gubernáculo, telamón y/o cono genital los cuales auxilian en la dirección de las espículas durante la copulación. Un segundo carácter son las espículas las cuales pueden ser de diferentes formas o presentar distintos tipos de ornamentaciones así como de dimensiones.

Por último, la bolsa caudal se encuentra sostenida por una serie de rayos caudales (papilas), encontrándose en un número de diez pareados y uno impar, su arreglo se presenta de la siguiente manera:

Papila 0: generalmente impar, situada en el labio anterior del cono genital.

Papila 1: rayo prebursal.

Papila 2: rayo ventro-ventral

Papila 3: rayo latero-ventral.

Papila 4: rayo externo-lateral.

Papila 5: rayo medio-lateral

Papila 6: rayo postero-lateral.

Papila 7: se ubica en el labio posterior del cono genital.

Papila 8: rayo externo-dorsal

Papilas 9 y 10: forman el rayo dorsal.

La disposición y agrupamiento de los rayos 2 al 6 es característico a nivel de familia, existiendo cinco tipos de agrupamientos, los cuales son (Fig. 2):

TIPO	ARREGLO
2-1-2	Rayos 2 y 3 así como 5 y 6 agrupados; 4 aislados.
1-3-1	Rayos 2 aislados; 3 al 5 agrupados y 6 aislados.
2-2-1	Rayos 2 al 5 agrupados; 6 aislados.
3-2	Rayos 2 al 4 agrupados al igual que los rayos 5 y 6.
2-3	Rayos 2 y 3 así como del 4 al 6 agrupados.

Por otra parte, la simetría de la bolsa es un carácter utilizado para diagnosis genéricas, aunque tiene poco valor a nivel de especie, ya que es característica de un gran número de familias (Durette-Desset, 1985).

4.- Sinlofo: se define como el arreglo de la cutícula en pliegues longitudinales, exclusivo de los tricostrongílidos, que funciona en la locomoción o en la fijación del nemátodo. El número, orientación y forma de distribución de las espinas en ambos sexos, provee de características taxonómicas de mayor peso para la determinación de especies, géneros o algún otro nivel taxonómico.

La mejor manera de estudiar el sinlofo es en cortes transversales, generalmente en la región media del gusano (Durette-Desset, 1985; Lichtenfels, 1983), siendo esencial reconocer el lado dorsal, ventral, derecho e izquierdo del organismo, dicho arreglo se puede diferenciar por el eje oblicuo del cuerpo (Fig. 1 e-h).

Definición de algunos términos utilizados en el estudio del sinlofo:

- 1.- Espinas: prominencia de la cutícula que puede o no ser sostenida por un esqueleto cuticular interno. Generalmente éstas son continuas en toda la longitud; sin embargo, llegan a ser discontinuas en algunos géneros.
- 2.- Espina fusionada: espina desarrollada como resultado de la fusión de dos o más espinas; generalmente se localiza ventralmente del lado izquierdo.
- 3.-Quilla: formación cuticular longitudinal situada en el lado izquierdo del cuerpo, apareciendo en corte transversal como una vesícula larga, usualmente apoyada por dos o más espinas hipertrofiadas. Raramente, estas espinas son sustituidas por una serie de espinas pequeñas.
- 4.- Alas: formación cuticular longitudinal, situada a la derecha e izquierda del cuerpo, observándose como una gran vesícula que no es sostenida por espinas.
- 5.- Gradiente de tamaño: en un corte transversal, se puede apreciar un gradiente de espinas que debe ser discreto.
- 6.-Eje de orientación: en corte transversal, el ápice de las espinas puede estar dirigido perpendicularmente u oblicuo a la superficie del cuerpo; en muchos casos, un eje de orientación existe cuando las puntas de las espinas se encuentran separadas en posición opuesta. Este eje se encuentra en los cuadrantes ventral derecho y dorsal izquierdo.

En la descripción del sinlofo se considera principalmente el número de espinas, su tamaño y el eje de orientación. Actualmente se conocen dos tipos de sinlofo:

Tipo 1: bilateralmente simétrico; con el eje de orientación sagital, presentándose en las subfamilias Molineinae, Anoplostrongylineae y Nematodirinae.

Tipo 2: asimétrico: este tipo no se ha estudiado en todas las subfamilias, habiéndose descrito para Nippostrongylineae. La asimetría es inmediatamente establecida por la presencia de espinas ventrales izquierdas dirigidas hacia el lado izquierdo (Durette-Desset op cit.).

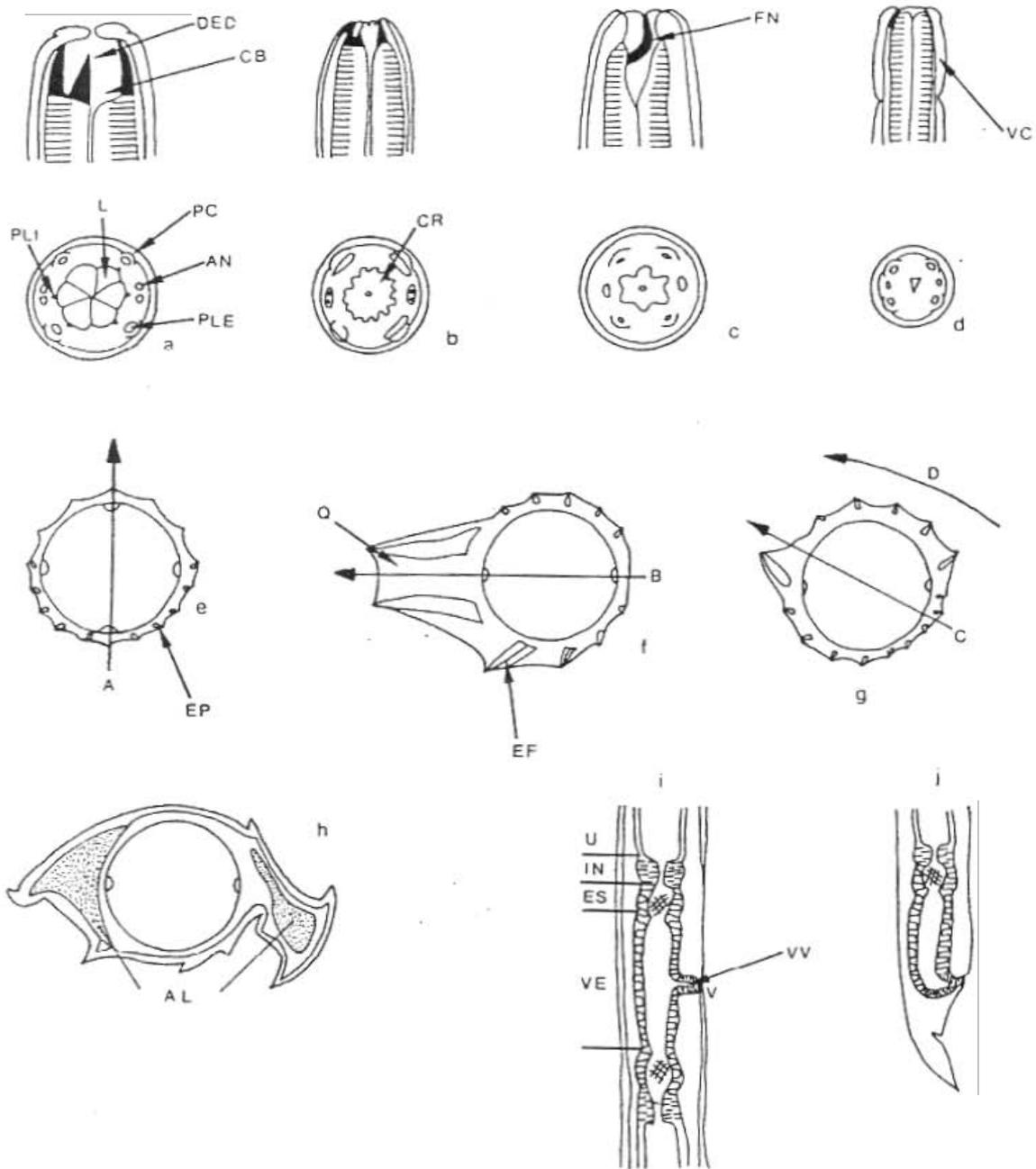


Fig. 1 a-d) Caracteres cefálicos: PLI= papila labial interna, PLE= papila labial externa, L= labios, PC= papila cefalica, AN= anfidios, DED= diente esofágico dorsal, CB= cápsula bucal, CR= corona radiata, FN= formación neodental, VC= vesícula cefalica. E-h) Sinlofo: A= eje sagital, B= eje frontal, C= eje oblicuo, D= gradiente de tamaño, EP= espinas, Q= quilla, EF= espina fusionada, AL= alas. i-j) Aparato reproductor femenino: U= útero, IN= infundíbulo, ES= esfínter, VE= vestíbulo, VV= vagina, V= vulva (Tomados de Durette-Desset,1985).

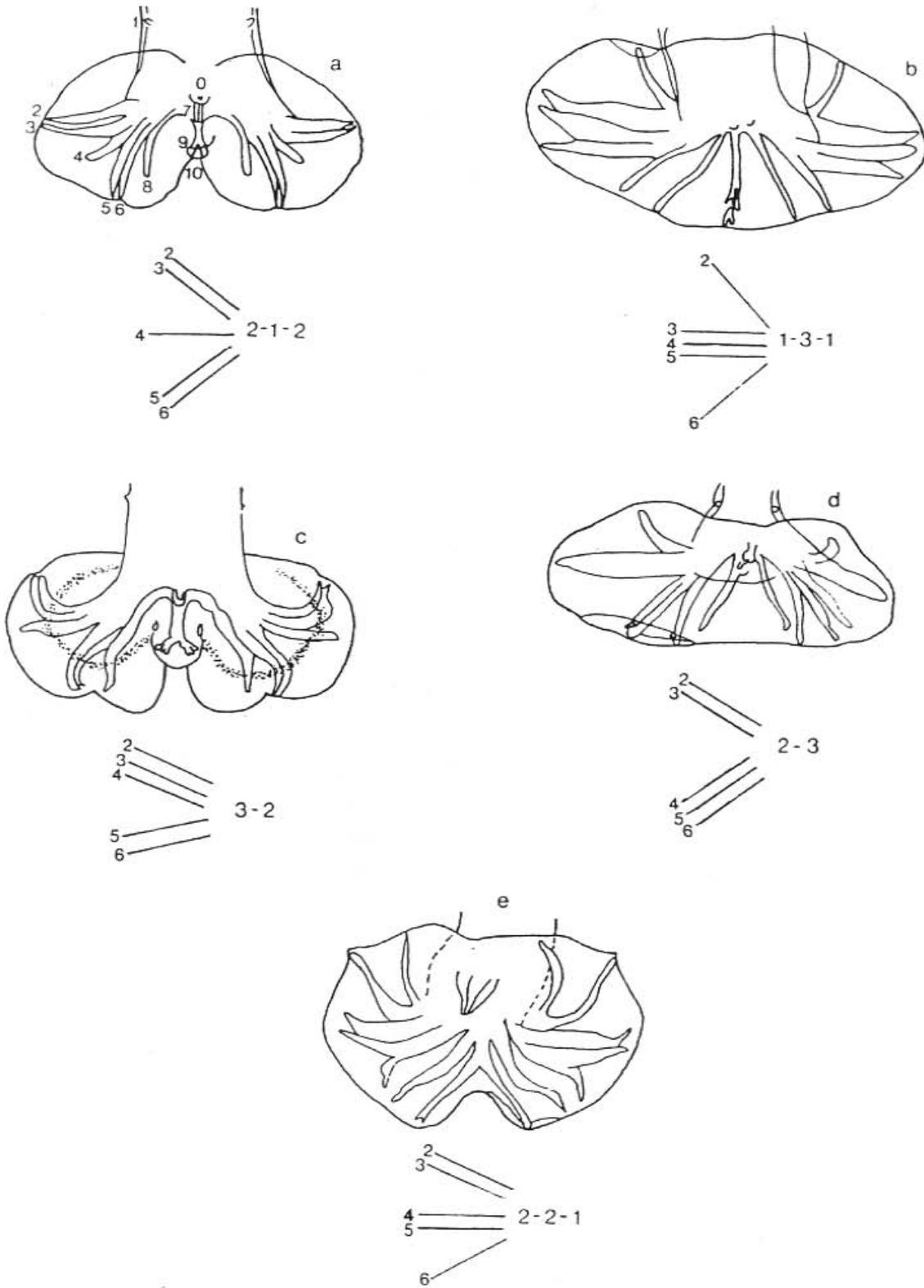


Fig. 2. Diferentes tipos de distribución y arreglo de los rayos bursales presentes en los tricostronglidos.

Historia taxonómica de los tricostrongiloideos

El arreglo taxonómico de los tricostrongiloideos ha sufrido varios cambios desde el inicio del siglo pasado, incluidos en la superfamilia Strongyloidea Weiland, 1850. Hall (1916) los incluyó en la familia Trichostrongylidae por la presencia de una boca simple, así como por la ausencia de cápsula bucal; Yorke y Maplestone (1926) y Travassos (1937), coinciden con Hall (1916) y adicionan varios caracteres a la diagnosis de esta familia, como son poseer una cápsula bucal reducida, aparato reproductor femenino dividido en una o dos ramas y la bursa copulatriz con rayos divergentes, así como la forma de las espículas.

Skrjabin *et al.* (1952) consideran a los tricostrongiloideos como miembros de la superfamilia Trichostrongyloidea Cram, 1927 caracterizando a ésta por carecer de cavidad bucal o poseer una rudimentaria (en este caso, provista de dientes en la pared o piso de dicha estructura), por la presencia de una bursa caudal y dos espículas en los machos, con o sin gubernáculo y porque la abertura vulvar se localiza por debajo del ecuador del cuerpo con excepción de algunos géneros (ejemplo: *Nematodirella*); dichos autores incluyen cuatro familias, 20 subfamilias y 117 géneros. Posteriormente a la revisión antes mencionada, se han realizado diferentes estudios por parte de Chabaud (1959) quien se basó en las siguientes estructuras: cápsula bucal, número de ramas uterinas, extremo caudal de la hembra, bolsa caudal del macho y espículas; a partir de lo anterior, este autor señaló que la superfamilia estaba compuesta por seis familias, siete subfamilias y 114 géneros. Durette-Desset y Chabaud (1977) llevaron al cabo una nueva revisión, basándose principalmente en las características del sínlofo; como resultado de este análisis, se estableció que la superfamilia estaba constituida por ocho familias, 20 subfamilias y 200 géneros. Los mismos Durette-Desset y Chabaud en 1981, proponen la existencia de 14 familias, 22 subfamilias y 183 géneros mediante un análisis más amplio en el que consideraron otras características como el arreglo y forma de los rayos bursales, la monodelfia de la hembra y rasgos del sínlofo. Cabe señalar que en este estudio se propusieron siete nuevas familias e incluyeron a la Familia Ollulanidae dentro de la Familia Molineidae (Durette-Desset y Chabaud, 1981). Más adelante, Durette-Desset (1985) propuso un nuevo arreglo, incluyendo 12 familias, 14 subfamilias y 163 géneros, excluyendo a las familias Strongylacanthidae y Amidostomatidae (Tabla 1).

Durette-Desset y Chabaud (1993), basándose en las líneas evolutivas de los tricostrongílidos propuestas por la propia Durette-Desset (1985), crearon dos nuevas

superfamilias: Molinoidea y Heligmosomoidea, manteniendo a Trichostrongyloidea en este mismo nivel taxonómico; dichos autores incluyeron a las tres superfamilias en el suborden Trichostrongylina, quedando el arreglo de las familias como se muestra en la Tabla 2.

Historia taxonómica de la Superfamilia Heligmosomoidea

En 1914 Travassos agrupó a los heligmosomoideos en una subfamilia que nombró Heligmosominae Travassos, 1914, en la cual se incluyeron tres géneros: *Heligmosomum* Railliet y Henry, 1909, *Nematospiroides* Baylis, 1926 y *Nematospira* Walton, 1923 (Travassos, 1937). Fue Chabaud (1959) quien elevó a la subfamilia antes mencionada a nivel de familia: Heligmosomatidae, con dos subfamilias: Viannaiinae Neveu-Lemaire, 1934 y Heligmosomatinae Travassos, 1914. Posteriormente, Durette-Desset (1971) realizó la revisión taxonómica de la familia Heligmosomatidae, incrementando a 10 el número de subfamilias, con 32 géneros (Tabla 3).

Más adelante, en un nuevo arreglo de los trichostrongiloideos realizado por Durette-Desset y Chabaud (1977), se dividió a la superfamilia en dos familias:

- 1.- Heligmosomidae, incluyendo a las subfamilias Ornithostrongylinae Travassos, 1937; Viannaiinae Neveu-Lemaire, 1934 y Heligmosominae Travassos, 1914.
- 2.- Heligmonellidae, con cuatro subfamilias: Heligmonellinae (Skrjabin y Schikhobalova, 1952, tribu) Durette-Desset, 1971, Pudicinae (Skrjabin y Schikhobalova, 1952, tribu) Durette-Desset, 1971, Brevistriatinae Durette-Desset, 1971 y Nippostrongylinae Durette-Desset, 1971.

En 1981, Durette-Desset y Chabaud proponen un nuevo arreglo taxonómico, elevando a nivel de familia a las subfamilias Ornithostrongylinae, Viannaiinae y Heligmosominae.

Para 1985, Durette-Desset propone tres líneas evolutivas en este grupo: trichostrongílicos, molineidos y heligmosómidos. Con base en esto, Durette-Desset y Chabaud (1993) erigieron tres superfamilias: Trichostrongyloidea, Molineoidea y Heligmosomoidea.

La superfamilia Heligmosomoidea, que incluye a los nemátodos estudiados en el presente trabajo, se caracteriza por tener el cuerpo enrollado longitudinalmente a la izquierda sobre la línea ventral; algunas formas cuentan con seis labios y una cápsula bucal bien desarrollada; están provistos de vesícula cefálica; las hembras son monodelfas generalmente. En los machos la bursa caudal es de diferentes tipos, pero raramente tiene el arreglo 2-1-2; sínlofo comúnmente presente, pero jamás con una simetría bilateral. Parásitos principalmente

de reptiles, monotremas, marsupiales, insectívoros, lagomorfos y roedores (Durette-Desset y Chabaud, 1993).

Esta superfamilia se encuentra formada por seis familias, que a su vez se dividen en ocho subfamilias. Las características que diferencian a las familias y subfamilias se listan a continuación:

1.- Nicollinidae: cápsula bucal, seis labios, diente esofágico dorsal, hembras didélficas (excepto *Copemania*), bursa tipo 1-3-1, eje de orientación del sínlofo con 45°, con una dirección sagital y/o frontal.

2.- Herpetostrongylidae: Herpetostrongylinae Skrjabin y Schulz, 1937: cápsula bucal, seis labios, diente esofágico dorsal, didélfica o monodélfica, bursa 1-3-1 tendiendo al tipo 2-3 como resultado del desarrollo de los rayos 2 y 3. En ciertas formas, el rayo 3 se separa del resto de los rayos dando una bursa del tipo 1-4, el sínlofo primitivo con tres espinas ventrales izquierdas, eje de orientación subfrontal en las formas más evolucionadas. Globocephaloidinae Inglis, 1968: abertura oral ovalada, rodeada por dos estructuras mandibulares.

3.- Viannaiidae: hembras monodélficas, bursa del macho 2-1-2 con lóbulos laterales alargados o con rayos 2 y 3 más desarrollados que los rayos 5 y 6. Sínlofo primitivo con 3 espinas ventrales izquierdas. El sínlofo con el eje de orientación frontal en formas evolucionadas.

4.- Ornithostrongylidae: Inglamidinae Durette-Desset, Diaw y Murua, 1976: cápsula bucal con diente dorsal esofágico y cuatro labios. Ornithostrongylinae Travassos, 1914: no presenta caracteres primitivos, hembras didelfas o monodelfas, bursa del tipo 2-2-1. Sínlofo con eje de orientación frontal y vulva situada a la mitad del cuerpo

5.- Heligmosomidae: hembras didelfas o monodelfas. La bursa presenta el rayo 3 robusto y un arreglo primitivo 1-3-1 pero regularmente es 2-3, con el rayo dorsal reducido en formas evolucionadas. Sínlofo primitivo con tres espinas ventrales izquierdas, eje de orientación subfrontal en formas evolucionadas.

6.- Heligmonellidae: extremidad cefálica sin caracteres primitivos, las hembras son monodelfas. Es una familia muy heterogénea, la cual se subdivide en cuatro subfamilias:

- 1) Heligmonellinae (Skrjabin y Schikobalova, 1952, tribu) Durette-Desset y Chabaud, 1977: Bursa del tipo 2-2-1, sínlofo con eje de orientación 45°,

gradiente de talla de espinas de izquierda a derecha por la cara ventral y de derecha a izquierda por la cara dorsal.

- 2) Pudicinae (Skrjabin y Schikobalova, 1952, tribu) Durette-Desset y Chabaud, 1971: sínlofo con eje de orientación de espinas casi frontal, quilla presente, gradiente de talla de espinas nulo. Bursa con el rayo dorsal profundamente dividido, fórmula bursal 2-2-1, el rayo 6 es relativamente largo.
- 3) Brevistrianae Durette-Desset, 1971: sínlofo con eje de orientación de espinas frontal o subfrontal, quilla presente o ausente, gradiente de talla de espinas nulo o de derecha a izquierda por la cara dorsal o medio lateral, espinas continuas o interrumpidas. Bursa del tipo 2-2-1, lóbulo dorsal relativamente hipertrofiado.
- 4) Nippostrongylinae Durette-Desset, 1971: bursa generalmente 2-2-1, pero 1-3-1 en algunos géneros además de presentar una alta asimetría, sínlofo con un eje de orientación entre 45 y 67°.

Tabla 1. Historia taxonómica de los tricostrongiloideos.

AUTOR (AÑO)	FAMILIAS	SUBFAMILIAS	GÉNEROS
HALL (1916)	TRICHOSTRONGYLIDAE Railliet, 1915	2	9
YORKE Y MAPLESTONE (1926)	TRICHOSTRONGYLIDAE Leiper, 1912	3	31
TRAVASSOS (1937)	TRICHOSTRONGYLIDAE Leiper, 1912	13	93
SKRJABIN <i>ET AL.</i> (1952)	TRICHOSTRONGYLIDAE Leiper, 1912	15	70
	HELIGMOSOMATIDAE Cram, 1927	4	37
	OLLULANIDAE Skrjabin y Schikhobalova, 1952		2
	DICTYOCAULIDAE Skrjabin, 1941	1	3
CHABAUD (1959)	AMIDOSTOMATIDAE (Travassos, 1919, s. fam.)		9
	STRONGYLACANTHIDAE (Yorke y Maplestone, 1926, s. fam.)	2	19
	TRICHOSTRONGYLIDAE (Leiper, 1909, s. fam.)	3	61
	HELIGMOSOMATIDAE (Travassos, 1914, s. fam.)	2	22
	OLLULANIDAE (Hall, 1916, s. fam.)		2
	DICTYOCAULIDAE (Skrjabin, 1933, s. fam.)		1
DURETTE-DESSET Y CHABAUD (1977)	OLLULANIDAE *		
	DYCTIOCAULIDAE*		
	STRONGYLACANTHIDAE (Yorke y Maplestone, 1926, s. fam.) Chabaud, 1960		1
	AMIDOSTOMATIDAE (Travassos, 1919, s. fam.) Baylis y Daubney, 1926		20
	MOLINEIDAE (Skrjabin y Schulz, 1937, s. fam.)	4	18
	HELIGMOSOMIDAE (Travassos, 1914, s. fam.) Cram, 1927	3	29
	HELIGMONELIDAE (Skrjabin y Schikhobalova, 1952, tribu)	3	44
	TRICHOSTRONGYLIDAE (Leiper, 1908, s. fam.) Leiper, 1912	4	44
DURETTE-DESSET Y CHABAUD (1981)	STRONGYLACANTHIDAE		1
	AMIDOSTOMATIDAE	2	3
	DROMAEOSTRONGYLIDAE (Skrjabin y Schulz, 1937, tribu)		5
	TRICHOSTRONGYLIDAE	4	47
	AMPHIBIOPHILIDAE Durette-Desset y Chabaud, 1981		2
	DYCTIOCAULIDAE (Skrjabin, 1933, s. fam.) Skrjabin, 1941	2	5
	MOLINEIDAE (Skrjabin y Schikhobalova, 1952, tribu) Durette-Desset y Chabaud, 1977	4	48
	MACKERRASTRONGYLIDAE (Inglis, 1968, s. fam.)	4	7
	NICOLLINIDAE (Skrjabin y Schulz, 1937, tribu)	2	3
	HERPETOSTRONGYLIDAE (Skrjabin y Schulz, 1937, s. fam.)	2	11
	VIANNAIIDAE (Neveu-Lemaire, 1934, s. fam.)	2	5
	ORNITHOSTRONGYLIDAE (Travassos, 1937, s. fam.)	2	8
	HELIGMOSOMIDAE		7
	HELIGMONELIDAE (Skrjabin y Schikhobalova, 1952, tribu) Durette-Desset y Chabaud, 1977	2	31
DURETTE-DESSET (1983)	STRONGYLACANTHIDAE		1
	AMIDOSTOMATIDAE	2	3
	DROMAEOSTRONGYLIDAE (Skrjabin y Schulz, 1937, tribu) Durette-Desset y Chabaud, 1981		5
	TRICHOSTRONGYLIDAE	6	32
	AMPHIBIOPHILIDAE		3
	DYCTIOCAULIDAE	4	4
	MOLINEIDAE	2	44
	MACKERRASTRONGYLIDAE (Inglis, 1968, s. fam.) Durette-Desset, 1981	4	7
	NICOLLINIDAE (Skrjabin y Schulz, 1937, tribu) Durette-Desset y Chabaud, 1981	2	3
	HERPETOSTRONGYLIDAE (Skrjabin y Schulz, 1937, s. fam.) Durette-Desset y Chabaud, 1981		11
	VIANNAIIDAE (Neveu-Lemaire, 1934, s. fam.) Durette-Desset y Chabaud, 1981	2	5
	ORNITHOSTRONGYLIDAE (Travassos, 1937, s. fam.) Durette-Desset y Chabaud, 1981	2	9
	HELIGMOSOMIDAE		8
	HELIGMONELIDAE	4	33
DURETTE-DESSET (1985)	DROMAEOSTRONGYLIDAE		5
	TRICHOSTRONGYLIDAE	6	31
	AMPHIBIOPHILIDAE		3
	DYCTIOCAULIDAE		4
	MOLINEIDAE	4	4
	MACKERRASTRONGYLIDAE		45
	NICOLLINIDAE		7
	HERPETOSTRONGYLIDAE		3
	VIANNAIIDAE		11
	ORNITHOSTRONGYLIDAE		5
	HELIGMOSOMIDAE		8
	HELIGMONELIDAE	4	9
			32

* No las abordan los autores por tener problemas taxonómicos particulares.

Tabla 2. Taxonomía del Orden Trichostrongylina (Durette-Desset y Chabaud, 1993).

SUPERFAMILIA	FAMILIAS
TRICHOSTRONGYLOIDEA (Leiper, 1908)	DROMAEOSTRONGYLIDAE TRICHOSTRONGYLIDAE
MOLINOIDEA (Skrjabin y Schulz, 1937)	AMPHIBIOPHILIDAE DICTYOCAULIDAE MOLINEIDAE MACKERRASTRONGYLIDAE
HELIGMOSOMOIDEA (Travassos, 1914)	NICOLLINIDAE HERPETOSTRONGYLIDAE VIANNAIIDAE ORNITHOSTRONGYLIDAE HELIGMOSOMIDAE HELIGMONELIDAE

Tabla 3: Taxonomía de los heligmosomoideos (Durette-Desset, 1971).

SUBFAMILIA	GÉNEROS
Impalaiinae (Schulz, 1952 tribu)	<i>Ortleppstrongylus</i> Durette-Desset, 1970 <i>Impalaia</i> Monnig, 1923
Moennigiinae	<i>Moennigia</i> Travassos, 1935
Viannaiinae Neveu-Lemaire, 1934	<i>Viannaia</i> Travassos, 1914 <i>Viannella</i> Travassos, 1918
Vexillatinae	<i>Vexillata</i> (Travassos, 1937)
Longistriatinae Skrjabin y Schulz, 1926	<i>Longistriata</i> Schulz, 1926
Heligmonellinae (Skrjabin y Schikhobalova, 1952 tribu)	<i>Tricholinstowia</i> Travassos, 1937 <i>Heligmonella</i> Monnig, 1927 <i>Parahelgmonella</i> Durette-Desset, 1971
Pudicinae (Skrjabin y Schikhobalova, 1952 tribu)	<i>Heligmostrongylus</i> Travassos, 1917 <i>Pudica</i> Travassos y Darriba, 1929 <i>Pseudohelgmosomum</i> Travassos, 1937 <i>Sciurodendrium</i> Durette-Desset, 1971
Brevistristinae Durette-Desset, 1971	<i>Cordicauda</i> Durette-Desset, 1971 <i>Parahelgmonina</i> (Ortlepp, 1939 s. gen.) <i>Brevistriata</i> Travassos, 1937
Nippostrongylinae Durette-Desset, 1971	<i>Quentinstrongylus</i> Durette-Desset, 1969 <i>Orientalstrongylus</i> Durette-Desset, 1971 <i>Tenorastrongylus</i> Durette-Desset, 1971 <i>Nippostrongylus</i> Lane, 1923 <i>Austrostrongylus</i> Durette-Desset, 1971 <i>Neohelgmonella</i> Durette-Desset, 1971 <i>Heligmonina</i> Baylis, 1928 <i>Methelgmonella</i> Durette-Desset, 1971 <i>Boreostrongylus</i> Durette-Desset, 1971 <i>Hassalstrongylus</i> Durette-Desset, 1971 <i>Stilestrongylus</i> Freitas, Lent y Almeida, 1937 <i>Hypocristata</i> Durette-Desset, 1971 <i>Mammanidula</i> Sadovskaja, 1952
Heligmosominae Durette-Desset, 1971	<i>Heligmosomoides</i> Hall, 1916 <i>Heligmosomum</i> Railliet y Henry, 1909

Generalidades del Género *Vexillata*

Vexillata fue propuesto por Travassos (1937) como un subgénero de *Longistriata* Schultz, 1926; posteriormente Durette-Desset (1970a) lo redefinió elevándolo a la categoría de género. La propia Durette-Desset (1971), en su trabajo sobre la clasificación de los heligmosómidos lo incluyó en la Subfamilia Vexillatinae Durette-Desset, 1971, dentro de la Familia Heligmosomidae. Más adelante, el género fue transferido por Durette-Desset y Chabaud (1977) a la Subfamilia Viannaiinae y por último, a la Subfamilia Ornithostrongylineae de la familia Ornithostrongylidae (Durette-Desset y Chabaud, 1981).

Las características del género son la presencia de 9 a 13 espinas en el sínlofo, con una orientación frontal de las mismas; el gradiente de crecimiento de las espinas es de mayor a menor de derecha a izquierda en el cuerpo; asimismo, cuentan con una quilla cuticular, la cual es sostenida por dos espinas de mayor tamaño que las demás. La bursa es asimétrica o subsimétrica, con los lóbulos laterales bien desarrollados y el lóbulo dorsal relativamente reducido; el rayo postero-lateral separado completamente del medio-lateral, los rayos externo-dorsales delgados, las espículas simples y finas (Durette-Desset, 1971).

Durette-Desset (1971) dividió al género en dos grupos (A y B), con base en el número de espinas del sínlofo. Posteriormente los grupos fueron redefinidos por Denke (1977) Durette-Desset (1978), y Guerrero (1984), caracterizando al grupo A por la presencia de 12 espinas en el sínlofo a la mitad del cuerpo y el rayo dorsal dividido a la mitad de su longitud (*V. vexillata* (Hall, 1916) Durette-Desset, 1970; *V. brooksi* Falcón-Ordaz y García-Prieto, 2005; *V. dessetae* Denke, 1977; *V. geomyos* Falcón-Ordaz, Chen Hsuan-When y Lamothe-Argumedo, 2006; *V. legallae* Denke, 1977; *V. convoluta* (Caballero y Zerecero, 1943); y *V. armandae* Gardner, Fong, Banna y Raymond, 1994). En las especies del grupo B, el rayo dorsal se divide en su ápice y el sínlofo se compone de 11 espinas (*V. chabaudi* Yoyote, 1972; *V. petteri* Durette-Desset, 1970; *V. tejerae* Guerrero, 1984; *V. scorzai* Guerrero, 1984; y *V. chitwoodi* Durette-Desset y Digiani, 2005).

A partir de la descripción de algunas especies del género, i. e., *Vexillata liomyos* Falcón-Ordaz, Gardner y Pérez-Ponce de León, 2001, que cuenta con 9 espinas en el sínlofo y *V. noviberiae* (Dikmans, 1935) Durette-Desset y Digiani, 2005 que exhibe 13 espinas, nos permite cuestionar la separación del género en dos grupos ya que la inclusión de estas dos especies en cualquiera de los grupos por el carácter del número de espinas es incierta.

Tabla 4. Especies de *Vexillata* registradas a la actualidad en América.

ESPECIE	HUÉSPED	LOCALIDAD	REFERENCIA
<i>V. vexillata</i>	<i>Thomomys talpoides</i> (= <i>T. fossor</i>)	Livermore, Colorado, Estados Unidos de América (E.U.A.). Hill, Nuevo Mexico, E.U.A. Canadá	Hall, 1916. U.S.N.P.C.* M.N.H.N.+
	<i>Chaetodipus hispidus</i> (= <i>Perognathus hispidus</i>)	Waco, Texas, E.U.A.	Durette-Desset, 1978.
	<i>Liomys pictus isthmicus</i>	Chiapas, México	Caballero, 1958.
	<i>L. irroratus</i> <i>Peromyscus difficilis</i>	Huehuetla, Hidalgo, México. Huehuetla, Hidalgo, México.	Falcón-Ordaz y Sanabria-Espinoza, 1997.
	<i>Rattus norvegicus</i>	E.U.A.	Travassos, 1937.
<i>V. dessetae</i>	<i>Heteromys desmarentianus</i> (= <i>H. lepturus</i>)	Los Tuxtlas, Veracruz, México.	Denke, 1977.
<i>V. legallae</i>	<i>Heteromys desmarentianus</i> (= <i>H. lepturus</i>)	Los Tuxtlas, Veracruz, México.	Denke, 1977.
<i>V. convoluta</i>	<i>Cratogeomys gymnurus</i> ¹	Michoacán, México.	Caballero y Cerecero, 1943.
<i>V. armandae</i>	<i>Chaetodipus hispidus</i>	Este de Nuevo México, E.U.A.	Gardner et al., 1994.
<i>V. chabaudi</i>	<i>H. australis</i>	Pichinde, Depto. Valle de la Cauca, Colombia	Yoyote, 1972.
<i>V. petteri</i>	<i>Heteromys</i> sp.	América del Norte	Durette-Desset, 1970a.
<i>V. tejerae</i>	<i>H. anomalus</i>	Los canales Naiguatá, D.F. Venezuela	Guerrero, 1984.
<i>V. scorzai</i>	<i>H. anomalus</i>	La Azulita, Edo. Mérida, Venezuela.	Guerrero, 1984.
<i>V. liomyos</i>	<i>L. pictus</i>	Chamela, Jalisco.	Falcón –Ordaz <i>et al.</i> , 2001.
<i>V. chitwoodi</i>	<i>Geomys pinetus</i> (= <i>G. floridanus</i>)	Tallahassee, Florida, EUA.	Durette-Desset y Digianai, 2005
<i>V. noviberiae</i>	<i>Silvilagus floridanus</i>	Jeanerette, Louisiana, EUA.	Durette-Desset y Digiani, 2005
<i>V. brooksi</i>	<i>Heteromys desmarentianus</i>	Guanacaste, Costa Rica	Falcón-Ordaz y García-Prieto, 2005.
<i>V. geomyos</i>	<i>Geomys attwateri</i>	Texas	Falcón-Ordaz, <i>et al.</i> , 2006.

+ Muséum National d' Histoire Naturelle, Paris , France. (MNHN).

*United States National Parasite Collection, Beltsville, Maryland, USA. (USNPC).

¹ Caballero y Cerecero (1943), mencionan el huésped de *V. convoluta* es “del intestino de una “tuza” en cautiverio en el Parque Zoológico de Chapultepec y procedente del Estado de Michoacán”. La determinación de la “tuza” fue *Cratogeomys merriami*, sin embargo, con base en la sistemática del género y distribución geográfica propuesta por Villa y Cervantes (2003), en Michoacán solo se distribuye *C. gymnurus*, por lo que se cree que esta especie es el huésped tipo de *V. convoluta*.

Uso de caracteres moleculares en la clasificación de taxones

Tradicionalmente los caracteres morfológicos han jugado un papel importante en la clasificación de los diferentes taxones; sin embargo, con el paso del tiempo se han utilizado distintos datos provenientes de cromosomas, citoquímica, micromorfología, ultraestructura, etc., que también han servido para la clasificación de los organismos.

Con el uso actual de los caracteres moleculares se ha incorporado una herramienta más en la clasificación de aquellos taxones para los cuales los caracteres morfológicos y de otro tipo, por sí solos, no permiten resolver los problemas taxonómicos. Los caracteres moleculares provienen de biomoléculas, como las proteínas y los ácidos nucleicos, e incluyen reacciones inmunológicas, isoenzimas, secuencias de proteínas, hibridación de ADN-ADN, patrones de bandeo con enzimas de restricción tales como los RFLP'S (polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción), los RAPD's (polimorfismo del DNA amplificado al azar), el "fingerprinting" o huella digital del DNA y las secuencias de genes particulares provenientes del DNA ribosomal o del DNA mitocondrial (González, 1997).

El perfeccionamiento de las técnicas de extracción del ADN genómico total, la aplicación de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la secuenciación de los ácidos nucleicos de los distintos genes, han contribuido en la obtención de una gran cantidad de caracteres moleculares, extraordinariamente útiles en estudios sistemáticos. A finales de la década de los años 80's, estas técnicas comenzaron a aplicarse en la caracterización e identificación de helmintos parásitos de animales domésticos y del hombre, a partir de lo cual, éstos, se han convertido paulatinamente en una herramienta complementaria en la sistemática de los distintos grupos de helmintos (Rollinson *et al.*, 1986).

En la historia tan corta de la filogenia molecular de los nemátodos, un número diferente de genes han sido utilizados para su análisis como citocromo C, globinas, ARN polimerasa II, shock térmico de proteínas 70, ARN ribosomal y sus espaciadores así como genes mitocondriales (Blaxter, 2001).

El ADN mitocondrial (mtADN) se caracteriza por ser conservado y con una estructura circular, tanto en taxa de vertebrados como de invertebrados. El mtADN varía ligeramente en el tamaño molecular, que va de 14 a 19 pares de kilobases (Kb); se

encuentra formado por dos genes de ARN ribosomal e información para 22 moléculas de ARN de transferencia, las cuales son parte de un sistema de organelos específicos de síntesis de proteínas (translación); cada genoma mitocondrial contiene 13 genes estructurales (codificación de proteínas) cuyos productos contribuyen en la cadena de transporte de electrones y el complejo de fosforilación oxidativa (Fig. 3). El contenido genético del mtADN provee información necesaria para el ensamble funcional de un organelo (Hyman, 1988; Hyman y Beck Azevedo, 1996; Le *et al.*, 2000).

La utilización del mtADN en problemas nematológicos se ha utilizado en:

- 1.- Diagnóstico molecular: varias características únicas del mtADN hacen de éste una herramienta obvia para la diagnóstico molecular de nemátodos, porque se presenta en miles de copias en cada célula. El rápido índice evolutivo del mtADN provee una huella taxonómica que discrimina entre aislados cercanamente relacionados. Debido a que el mtADN es material heredado y no recombina a niveles detectables, los cambios genéticos aparecen solo en los descendientes de hembras, lo que permite la relación entre individuos.
- 2.- Evolución molecular y sistemática: el genoma mitocondrial es fácilmente caracterizable, está sujeto a rápidas tasas de mutación, ésta compuesto en su mayor parte de secuencias codificantes y se transmite uniparentalmente como material heredable; el mtADN es una herramienta que se utiliza para resolver problemas en genética poblacional, relaciones filogenéticas y biología evolutiva; así mismo, se usa como marcador de eventos evolutivos, historia de especies, dinámica de zonas híbridas y flujo génico de hembras (Hyman, 1988).

VERTEBRADO



Ascaris suum



Fig. 3. Organización genética del ADN mitocondrial de un vertebrado “X” y *Ascaris suum*. Los cuadros con color representan 22 genes de ARN de transferencia, los cuales no están identificados específicamente. Se tienen las tres subunidades del complejo citocromo oxidasa c; ND1-ND6, son genes de las subunidades 1 a 6 del NADH complejo deshidrogenasa; Cyt b, gen codificable de la apoenzima del citocromo b; s-rARN y I-rARN, son los genes pequeños y grandes del ARN ribosomal; NC, región del ADN no codificable (Tomado de Hyman, 1988).

Trabajos filogenéticos sobre tricostrongiloideos

A la fecha existen diversos trabajos sobre la filogenia de los tricostrongilinos, basados principalmente en caracteres morfológicos. Durette-Desset y Justine (1991), estudiaron las especies que forman la Subfamilia Pudicinae; estos autores redefinen los géneros y forman dos grupos supragenéricos que no nombran, creando una clave para la determinación de los mismos; cabe señalar que los dos grupos supragenéricos no están definidos por sinapomorfias, ya que en la base de ambos se tiene una politomía.

Hoberg y Lichtenfels (1994) analizaron a las subfamilias de la Familia Trichostrongylidae, proponiendo una clasificación diferente a las existentes hasta esa fecha, que de acuerdo con Lichtenfels *et al.* (1997), se apoya en un análisis de secuencias de ADN que no se ha publicado. Posteriormente, Durette-Desset *et al.* (1999) revisaron las familias de la Superfamilia Trichostrongyloidea (Leiper, 1908), proponiendo una nueva clasificación para ésta, la cual incluye tres familias: Trichostrongylidae, Haemonchidae y Cooperiidae. A su vez, éstas contienen ocho subfamilias, de las cuales la subfamilia Obeliscoidinae es creada a partir de este análisis.

Hasegawa (1999) realizó el análisis filogenético de dos géneros de tricostrongiloideos: *Nippostrongylus* Lane, 1923 y *Heligmonoides* Baylis, 1928; del primero analizó ocho especies que parasitan a múridos, distribuidos en áreas del este y oeste de la línea Wallace, obteniendo dos grupos monofiléticos que corresponden a la distribución de los roedores. En lo que respecta a *Heligmonoides*, Hasegawa estudió 11 especies que infectan a tres géneros de roedores (*Mus*, *Apodemus* y *Maxomys*), distribuidos en Corea y Japón. De su análisis se obtuvieron tres clados que corresponden con sus huéspedes, obteniendo que el clado que parasita a *Mus* está formado por cinco especies; éste clado es hermano del formado por las cuatro especies parásitas de *Apodemus*, mientras que las dos especies restantes del género *Heligmonoides*, que infectan a *Maxomys* se encuentran en un clado basal, lo cual permite al autor proponer un género nuevo que nombra *Maxomystrongylus*, con base en el arreglo de las espinas del sínlofo.

Mas adelante, Pérez-Ponce de León *et al.* (2000) realizaron un estudio del Género *Stilestrongylus* Freitas, Lent y Almeida, 1937 obteniendo un resultado relativamente similar al postulado por Durette-Desset (1971) en su clasificación de los Nippostrongylineae, en el cual menciona una línea evolutiva que incluye a *Carolinensis* (Travassos, 1937)-

Hassalstrongylus Durette-Desset, 1971 a *Stilestrongylus*; así mismo, concluyen que el género en estudio se dispersó en dos rutas geográficas por Sudamérica, una por el Pacífico, del lado oeste de los Andes y otra por el Atlántico, del lado este de esta cordillera.

Por otro lado, Hoberg *et al.* (2004) analizaron 25 caracteres morfológicos de 12 especies de *Haemonchus* Cobb, 1898 obteniendo un árbol en el cual proponen la monofilia del género. A partir de dicho estudio los autores suponen el origen del género en África, por una diversificación basal en antílopes, teniendo eventos de colonización en caprinos y bovinos (Hoberg *et al.*, 2004).

Finalmente, Hoberg *et al.* (2005) estudiaron las relaciones filogenéticas de los géneros que forman la Subfamilia Nematodirinae (*Lamanema*, *Murielus*, *Nematodirus*, *Nematodirella*, *Nematodiroides* y *Rauschia*). Este análisis reveló la monofilia de cinco géneros, excluyendo a *Lamanema*, por lo cual se requerirán nuevas investigaciones en biogeografía histórica y asociación de huéspedes para los Nematodirinae (Hoberg *et al.*, 2005).

En lo que se refiere al análisis filogenético de tricostrongiloideos utilizando caracteres moleculares, se cuenta con tres estudios: Sukhdeo *et al.* (1997), con base en el gen Citocromo Oxidasa C subunidad I, en donde estudiaron la evolución de los procesos de infección de tricostrongiloideos y dos superfamilias: Ancylostomatoidea Chabaud, 1965 y Strongyloidea Weiland, 1858 hacia sus huéspedes. Posteriormente, Chilton *et al.* (2001) analizaron las relaciones evolutivas de 21 especies de la superfamilia Trichostrongyloidea, empleando el segundo espaciador interno de transcripción del ADN ribosomal. Los autores señalaron que dicho análisis no resuelve el conflicto de las relaciones entre los tricostrongiloideos que se ha propuesto en trabajos filogenéticos anteriores realizados con caracteres morfológicos; sin embargo, se obtiene que los Géneros *Filarinema* y *Amidostomum*, de la clasificación actual de Durette-Desset y Chabaud (1993), quedan incluidos en los Trichostrongylidae, formando las Familias Dromaeostrongylidae (*Filarinema*) y Amidostomatidae (*Amidostomum*), como propusieron previamente Durette-Desset y Chabaud (1981).

Por último, Gouÿ de Bellocq *et al.* (2001) estudiaron las relaciones filogenéticas entre representantes de dos subórdenes: Trichostrongylina (15 especies) y Strongylina (4 especies). Llevaron al cabo el análisis con los dominios D1 y D2 del gen ribosomal 28S, dando como resultado que Trichostrongylina es un grupo monofilético en el cual quedan

representadas las tres superfamilias reconocidas en el estudio de Durette-Desset y Chabaud (1999): Trichostrongyloidea, Heligmosomoidea y Molineoidea. Con respecto a los Strongylyna, en este estudio se les consideró como un grupo parafilético.

Con base en lo expuesto anteriormente, el presente trabajo tiene como objetivo establecer la posición taxonómica del Género *Vexillata* en la Superfamilia Heligmosomoidea con la ayuda de caracteres morfológicos; asimismo, utilizando además caracteres moleculares, pretendemos diferenciar ejemplares del Género *Vexillata* recolectados en los Estados Unidos de América y México

Objetivos

General

- Definir la posición taxonómica del Género *Vexillata* dentro de la superfamilia Heligmosomoidea .

Particulares

-Analizar la monofilia del Género *Vexillata* mediante un estudio filogenético de las especies que lo constituyen y especies de géneros cercanamente relacionados.

-Describir la historia evolutiva y biogeográfica de las especies del Género *Vexillata*.

-Caracterizar molecularmente a algunas de las especies norteamericanas del género.

-Ratificar la presencia de *V. vexillata* en huéspedes mexicanos, mediante la comparación morfológica y molecular con ejemplares recolectados en huéspedes de los Estados Unidos de América.

Metodología

El desarrollo del presente estudio constó de diversos rubros, los cuales se listan a continuación:

Recolecta de huéspedes

Para la realización del presente estudio se efectuaron 15 recolectas de roedores entre marzo de 2002 y mayo de 2005, en 14 localidades distribuidas en ocho estados de la República Mexicana (Tabla 5). Se capturaron 64 individuos (6 pertenecientes a la familia Geomyidae y 58 a Heteromyidae). Los heterómidos se capturaron con trampas Sherman a las cuales se les colocó avena como cebo; a los geómidos con trampas de cepo y gancho.

Cabe mencionar que se obtuvo material por donación de cuatro investigadores: Dr. Daniel Brooks de la Universidad de Toronto Canadá (material proveniente del área de conservación Guanacaste, Costa Rica), Dr. David Haffner del Museo de Historia Natural y Ciencia de Nuevo México, EUA. (material de Nuevo México, EUA), Dr. Agustín Jiménez Ruiz del Laboratorio de Parasitología, Harold W. Manter de La Universidad de Nebraska-Lincoln, EUA (material de Catemaco, Veracruz, México) y del Dr. Chen Hsuan-When del Centro de Investigación para la Biodiversidad, Taiwán (material de Texas, EUA) (Tabla 5).

Las recolectas realizadas permitieron analizar un total de 16 especies de roedores; la información relacionada con éstos (tamaño de muestra, especie, localidad, fecha y número de catálogo asignado), se presenta en la Tabla 5. Los huéspedes fueron depositados en la Colección Mastozoológica del Instituto de Biología de la UNAM y en la Colección Mastozoológica de la Universidad Autónoma de Tlaxcala.

Tabla 5. Relación de los huéspedes recolectados durante el presente estudio.

TAMAÑO DE MUESTRA	FAMILIA/ESPECIE	LOCALIDAD	FECHA DE COLECTA
01	Geomyidae/ <i>Cratogeomys thylorhinus</i> (Merriam, 1895)	Ecatepec, Estado de México (19°36'03'' N, 99°03'09'' O).	Marzo-2002
01	Geomyidae/ <i>C. merriami</i> (Thomas, 1893)	Volcán Tulmiac, Milpa Alta, Distrito Federal (19°08'17'' N, 99°07'07'' O).	Abril-2002
01	Geomyidae/ <i>C. merriami</i>	Los Robles, Tlalnepantla, Morelos. (19°01'47'' N, 98°57'27'' O).	Julio 2002
02	Geomyidae/ <i>C. thylorhinus</i>	Paraje la Joya, Camino rural a Benito Juárez, Sanctorum, Tlaxcala (19°31'53''N, 98°26'03''O)	Febrero-2004
01	Geomyidae/ <i>C. fulvescens</i> Merriam, 1895	Carretera Huamantla-El Carmen Tequexquitla, Huamantla, Tlaxcala. (19°19'09'' N, 97°54'53''O)	Mayo-2005
16	Heteromyidae/ <i>Perognathus flavus</i> Baird, 1855	Ignacio Zaragoza, Ajacuba, Hidalgo. (20°13'18'' N, 99°00'14'')	Abril-2002
12	Heteromyidae/ <i>Liomys irroratus</i> (Gray, 1868)	El Piñonal, El Carmen Tequexquitla, Tlaxcala (19°21'34'' N, 97°39'99''O)	Julio-2002 y Mayo-2003
01	Heteromyidae/ <i>L. irroratus</i>	Huhuetla, Hidalgo (20°27'69''N, 98°04'42''O)	Septiembre-2002
07	Heteromyidae/ <i>L. irroratus</i>	Barranca huehuetitla, San Ambrosio Texantla, Panotla Tlaxcala. (19°21'37'' N, 98°15'28'' O)	Octubre-2002 y Septiembre-2003
01	Heteromyidae/ <i>P. amplus</i> Osgood, 1900	Camino a Nacori Grande a 4.2 km. desviación Mazatan a Nacori Grande, Mazatan, Sonora. (29°02'09'' N, 110°06'32''O)	Septiembre-2003
03	Heteromyidae/ <i>P. flavus</i>	La Zarca, Durango (25°51'43''N,104°43'34''O).	Noviembre-2003
01	Heteromyidae/ <i>Chaetodipus penicillatus</i> (Woodhuse, 1852)	La Zarca, Durango.	Noviembre-2003
05	Heteromyidae/ <i>L. pictus</i> (Thomas 1893)	La Zarca, Durango.	Noviembre-2003
02	Heteromyidae/ <i>P. flavus</i>	Atla, Axapusco, México (14°44'57''N,98°41'02''O).	Noviembre-2003
03	Heteromyidae/ <i>L. irroratus</i>	Carretera Querétaro-Tequisquiapan, entronque carretera el Tejocote, Tequisquiapan, Querétaro. (20°34'23'' N, 100°02'04'' O)	Junio-2004
04	Heteromyidae/ <i>C. hispidus</i> (Baird, 1858)	15 km. NE., Villa de Reyes, San Luis Potosí. (21°55'50'' N, 100°50'53'' O)	Junio-2004
02	Heteromyidae/ <i>P. flavus</i>	15 km. NE., Villa de Reyes, San Luis Potosí.	Junio-2004
01	Heteromyidae/ <i>L. irroratus</i>	2 km. E., San Andrés Cuajimalpal, Hueyotlilpan, Tlaxcala. (19°23'17'' N, 98°20'12'' O)	Enero-2005

Tabla 5. Continuación.

TAMAÑO DE MUESTRA	FAMILIA/ESPECIE	LOCALIDAD	FECHA DE COLECTA
22	Geomyidae/ <i>Geomys attwateri</i> (Tucker and Schmidly, 1981)*	Welder Wildlife Refuge, San Patricio County, Texas, EUA. (28°07'15'' N, 97°22'18'' O)	Junio-2001 y Febrero-2002
07	Geomyidae/ <i>Thomomys bottae</i> (Eydoux Gervais, 1836)*	Albuquerque, Bernardo Co., Nuevo México, EUA. (35°01'11'' N, 106°43'13'' O)	Febrero-2005
33	Heteromyidae/ <i>Liomys salvini</i> (Thomas, 1893)*	Área de conservación Guanacaste, Costa Rica.(10°57'40'' N, 85°29'30''O)	Febrero-1996
02	Heteromyidae/ <i>Heteromys</i> sp. Desmarest, 1817*	Área de conservación Guanacaste, Costa Rica.	Julio-1999
02	Heteromyidae/ <i>Heteromys desmarestianus</i> Gray, 1868*	Área de conservación Guanacaste, Costa Rica.	Junio-1998 y Julio-1999
03	Heteromyidae/ <i>H. desmarestianus</i> *	0.7 km. NE., Adolfo López Mateos, Catemaco, Veracruz (18°25'49'' N, 94°58'09'' O y 18°26'19'' N, 94°57'56''O)	Diciembre-2004

* material donado

Obtención y procesamiento de nemátodos

El intestino de los huéspedes se separó del estómago y del ciego intestinal y fue colocado en una caja Petri con solución salina al 85%; posteriormente, se cortó con tijeras de punta redonda con la finalidad de no maltratar a los parásitos. Una vez abierto el intestino, se revisó en un microscopio estereoscópico, procediéndose a la recolecta de los nemátodos con la ayuda de pinceles finos para ser colocados en cajas Petri pequeñas con solución salina al 85% para quitar el exceso de alimento y tejido. Para la fijación de los organismos se utilizaron tres procedimientos: 1) para el estudio morfológico, los organismos se fijaron con ácido acético glacial en el cual sólo se dejaron por unos segundos y se transfirieron a frascos pequeños con alcohol al 70%; 2) el material que sería utilizado para la técnica molecular se colocó en frascos pequeños con alcohol absoluto, transportándose al laboratorio de Biología Molecular 3 del Instituto de Biología para la extracción de ADN genómico y 3) en el caso de que el intestino contara con un alto número de ejemplares, éste se mantuvo en una bolsa de polietileno con formol al 4% para su transportación al laboratorio de Helmintología del Instituto de Biología, UNAM donde se procesó.

Solicitud de ejemplares

Para el desarrollo del presente estudio se solicitó material a diferentes colecciones para su análisis morfológico:

- 1) Colección Nacional de Helminthos del Instituto de Biología, UNAM, México (CNHE).
- 2) Muséum National d' Histoire Naturelle, Paris, Francia (MNHN).
- 3) United States National Parasite Collection, Beltsville, Maryland, USA (USNPC).

Los ejemplares solicitados a las colecciones mencionadas anteriormente se listan en la tabla 6.

Tabla 6. Material solicitado a diferentes colecciones para su análisis morfológico.

Especie	Número de Catálogo	Huésped	Localidad
<i>Longistriata vexillata</i>	CNHE 2355 (vouchers)	<i>Liomys pictus isthmicus</i>	Mapastepec, Chiapas, México.
<i>Longistriata convoluta</i>	CNHE 2101, 2102 (holotipos y paratipos)	<i>Cratogeomys merriami</i>	Michoacán.
<i>Vexillata vexillata</i>	CNHE 2290, 2282, 5295 (vouchers)	<i>L. irroratus</i> , <i>Peromyscus difficilis</i>	Huehuetla, Hidalgo.
<i>Vexillata liomyos</i>	CNHE 3911, 3912, 3913, 3914 (holotipos y paratipos)	<i>L. pictus</i>	Chamela, Jalisco, México.
<i>Vexillata armandae</i>	CNHE 3915 (vouchers)	<i>Chaetodipus hispidus</i>	Roosevelt Co., New Mexico, USA.
<i>Vexillata chabaudi</i>	MNHN 149BA (vouchers)	<i>Heteromys australis</i>	Valle del Cauca, Colombia.
<i>Vexillata petteri</i>	MNHN 777M (vouchers)	<i>Heteromys sp.</i>	Norteamérica.
<i>Vexillata dessetae</i>	MNHN 1047HA (vouchers)	<i>Heteromys lepturus</i>	Tuxtlas, Veracruz, México.
<i>Vexillata legallae</i>	MNHN 1054 HA (vouchers)	<i>Heteromys lepturus</i>	Tuxtlas, Veracruz, México.
<i>Heligmosomum vexillatum</i>	USNPC 016142 (holotipos y paratipos)	<i>Thomomys fossor</i>	Livermore, Colorado, USA.
<i>Longistriata vexillata</i>	USNPC 031377 (vouchers)	<i>Thomomys fossor</i>	Hill, NM., USA.
<i>Longistriata vexillata</i>	USNPC 066271 (vouchers)	<i>Perognathus hispidus</i>	Waco, Texas, USA.
<i>Trichostrongylus calcaratus</i>	CNHE 1917, 2209, 2210 (vouchers)	<i>Romerolagus diazi</i> <i>Oryctolagus cuniculi</i> <i>Sylvilagus floridanus</i>	Cerro Pelado, Tlalpan, D.F. Del. Venustiano Carranza, D.F. Xochimilco, D.F.
<i>Boehmiella wilsoni</i>	CNHE 2339, 2340 (vouchers)	<i>Sciurus deppei</i>	Jaltenango, Chiapas.
<i>Viannaia viannaia</i>	CNHE 4543, 4544 (vouchers)	<i>Didelphis virginiana</i>	Taxco el Viejo, Guerrero.

Análisis morfológico

Los nemátodos recolectados y en préstamo se aclararon con lactofenol en preparaciones semipermanentes para su observación en el microscopio óptico. Las estructuras con valor taxonómico se midieron con un ocular micrométrico y las medidas se presentan en milímetros. Para el estudio del sínlofo, se realizaron cortes a lo largo del cuerpo con una navaja de un filo; los cortes se montaron en preparaciones permanentes de acuerdo con Duret-Desset (1985).

Análisis filogenéticos morfológicos

Para la ubicación del Género *Vexillata* en la superfamilia Heligmosomoidea se utilizó la descripción original de la especie tipo de cada uno de los géneros con los cuales se erigió la familia o subfamilia estudiada. En caso de no contar con la descripción original, se consideró a la especie que tuviera los rasgos más parecidos de acuerdo a la descripción de la especie tipo.

Grupo interno

Para este estudio se incluyeron representantes de las seis familias y ocho subfamilias que componen la superfamilia Heligmosomoidea, analizándose un total de 13 especies (Tabla 7).

Grupo externo

Con base en Gouÿ de Bellocq *et al.* (2001), los cuales citan las tres superfamilias reconocidas por Durette-Desset y Chabaud (1993), se consideraron como grupo externo a las especies tipo de dos géneros, pertenecientes a dos subfamilias de la superfamilia Trichostrongyloidea (*Trichostrongylus calcaratus* Ransom, 1911 [Trichostrongylinae] y *Böehmiella wilsoni* Lucker, 1943 [Haemonchinae]).

Tabla 7. Relación de géneros y especies que se utilizaron como grupo interno para el análisis filogenético de la superfamilia Heligmosomoidea.

Género y especie utilizado	Cita de donde se tomaron los caracteres analizados.	Familia	Subfamilia
<i>Globocephaloides macropodis</i> Yorke y Maplestone, 1926	Beveridge, 1979	Herpetostrongylidae	Globocephaloidinae
<i>Herpetostrongylus pythonis</i> Baylis, 1931	Humphery-Smith, 1981; Travassos, 1937.	Herpetostrongylidae	Herpetostrongylinae
<i>Nicollina tachyglossi</i> (Baylis, 1930)	Durette-Desset y Cassone, 1983.	Nicollinidae.	
<i>Ornithostrongylus volcani</i> ² Durette-Desset, Guerrero y Boyer, 2000	Durett-Desset <i>et al.</i> 2000.	Ornithostrongylidae	Ornithostrongilinae
<i>Vexillata vexillata</i> (Hall, 1916)	Hall, 1916; Falcón-Ordaz, 2000.*	Ornithostrongylidae	Ornithostrongilinae
<i>Inglamidium akodon</i> Durette-Desset, Denke y Murua, 1976	Durette-Desset, <i>et al.</i> 1976a.	Ornithostrongylidae	Inglamidinae
<i>Viannaia viannaia</i> Travassos, 1914	Monet, 2002†; Travassos, 1937.	Viannidae	
<i>Hydrochoerisnema anomalobursata</i> Arantes y Artigas, 1983	Arantes y Artigas, 1983	Viannidae	Hydrochoerisnematinae
<i>Heligmosomum polygyrum</i> (Dujardin, 1845)	Travassos, 1937.	Heligmosomidae.	
<i>Heligmonella spira</i> (Mönnig., 1927)	Durette-Desset, 1969; Travassos, 1937.	Heligmonellidae	Heligmonellinae
<i>Nippostrongylus brasiliensis</i> Travassos, 1914	Falcón-Ordaz, 2000*	Heligmonellidae	Nippostrongylinae
<i>Puduca pudica</i> (Travassos, 1921)	Cassone y Durette-Desset, 1991; Durette-Desset, 1970b	Heligmonellidae	Pudicinae
<i>Brevistriata skrjabini</i> (Schulz y Lubimov, 1932)	Durette-Desset, 1970c; Durette-Desset, 1976b; Asakawa y Ohbayashi, 1986.	Heligmonellidae	Brevistriatinae

² No es especie tipo.

*Falcón-Ordaz, J. (2000)

Análisis Taxonómico de las especies de Trichostrongyloidea Parásitas de roedores y lagomorfos incluidas en la Colección Nacional de Helmintos depositadas en el Instituto de Biología de la UNAM. Tesis Profesional de Maestría. Facultad de Ciencias UNAM: 133.

†Monet, M. A. (2002)

Nemátodos parásitos del “tlacuache” *Didelphis virginiana* Kerr 1792, de dos localidades de Guerrero, México. Tesis Profesional de Licenciatura. Facultad de Ciencias UNAM: 81.

En lo que se refiere al análisis Filogenético de las especies de *Vexillata*, se siguió la siguiente metodología:

Grupo interno

En este análisis se incluyeron a 12 especies descritas hasta la fecha, así como dos especies nuevas descritas en el presente trabajo (*Vexillata brooksi* y *V. geomyos*).

Grupo externo

Como hasta la fecha se desconocían las afinidades filogenéticas del Género *Vexillata*, la elección de las especies que se utilizaron como grupos externos se basa en los resultados que se obtuvieron en el análisis de la superfamilia Heligmosomoidea.

Caracterización molecular de algunas especies del Género *Vexillata*

Con el fin de caracterizar molecularmente a algunas de las especies del Género *Vexillata* de distintas localidades de México y Estados Unidos, se extrajo ADN genómico (ADNg) de cinco especies: *V. vexillata*, *V. liomyos*, *V. convoluta*, *V. dessetae* y *V. legallae*. Se realizaron diferentes tipos de extracción: Fenol-Cloroformo (Hillis *et al.*, 1996); DNA easy Kit de Quiagen™ y DNAzol kit (Molecular Research Center, Cincinnati, Ohio) [Apéndice I del Capítulo VII]. Con el fin de comprobar los resultados de las metodologías antes mencionadas, se corrieron entre 1 y 5 µl de cada muestra de ADNg en un gel de agarosa al 1%, teñido con bromuro de etidio en un buffer de Tris-Acetato-EDTA (TAE).

Una vez obtenido el ADNg, se amplificó el gen mitocondrial Citocromo Oxidasa subunidad I (*cox1*). La amplificación y secuenciación de éste, se realizó con la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés). Cada una de las mezclas de reacción se prepararon a en volumen final de 25 µl: 2.5 µl de Buffer PCR, 2.5 µl de la mezcla de dNTP's (200 µM cada uno), 1.25 µl de 50mM MgCl₂, 2.5µl de cada oligonucleótido (10 pmol/µl), 5 µl de ADNg, 1.25 µl de la Taq DNA polimerasa y 7.5 µl de agua destilada, desionizada y esterilizada. Los oligonucleótidos empleados para la amplificación parcial del gen mitocondrial fueron: *cox1* COIR (5'-TAA AGA AAG AAC ATA ATG AAA ATG-3') COIF (5'-TTT TTT GGG GAT CCT GAG GTT TAT-3') (Morgan y Blair, 1998)

El programa de PCR consistió en una desnaturalización inicial a 95° C por 5 minutos seguida por 35 ciclos de 30 segundos a 95° C para desnaturalizar la doble cadena de DNA, 45 segundos a 47° C para el alineamiento de los oligonucleótidos y 1.30 minutos a 72° para la extensión de los productos por medio de la Taq DNA

polimerasa. Finalizados los ciclos, el programa fue completado con un último ciclo de 10 minutos a 72° C para asegurar una completa extensión de los productos amplificados. Finalmente, las mezclas de reacción se mantuvieron a 4° C. Los productos amplificados por PCR fueron visualizados en un gel de agarosa al 1%, teñido con bromuro de etidio en un buffer de Tris-Acetato-EDTA (TAE) al 1%. Los productos amplificados fueron purificados con el QIAquick PCR purification Kit (250) de Qiagen, siguiendo las instrucciones del fabricante. Para conocer la concentración del fragmento purificado en el volumen final, se corrieron en un gel de agarosa al 1% 2 µl de cada muestra más 1 µl de Blue juice y por separado, 2 µl de Mass Ruler DNA Ladder. Una vez conocida la concentración de los productos de PCR purificados, se llevo al cabo la reacción de secuenciación, para la cual se empleó el kit Big Dye Terminator™, empleando por cada muestra y cada iniciador utilizado 2 µl de Edge BioSystems 2.5X sequencing Diluent, 2µl de Dye Terminator Mix, 1 µl del oligonucleótido a la misma concentración empleada en la amplificación y 3 o 4 µl del templado dependiendo de la concentración calculada para cada muestra (fragmento purificado), agregándose la cantidad restante de agua bidestilada estéril para un volumen final de 10 µl. El ciclo de reacción que se usó fue de acuerdo al protocolo recomendado para el Edge Bio Systems 5X sequencing Diluent: un paso inicial de desnaturalización a 96⁰ C por 3 minutos, seguido por 25 ciclos de 96⁰ C por 10 segundos, en el paso siguiente se empleó la misma temperatura de alineación que se utilizó en la amplificación del segmento por un lapso de 5 segundos, seguido por un periodo de alargamiento de 4 minutos a 60⁰ C para completar la reacción, las muestras se mantuvieron a 60⁰ por 4 minutos, almacenándose a 4⁰ C. Para la obtención de las secuencias de los productos purificados se utilizó un secuenciador automático ABI PRISM 310 de Applied Biosystems. Las secuencias fueron leídas y editadas en el programa Chromas versión 1.43 (McCarthy, 1996-1997).

Para el alineamiento manual de las secuencias se utilizó el programa de cómputo Bioedit (Hall, 1999). Por otro lado, con la finalidad de comparar las secuencias de las especies del género ya mencionadas, se obtuvo del GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/index.html>) una secuencias parcial del gen *cox1* de *Nippostrongylus brasiliensis*; dicha secuencia se alineó con las secuencias de las especies de *Vexillata*. El alineamiento de las secuencias se realizó por medio del programa Clustal W con los parámetros de alineamiento por default (Gap opening y Gap extention) (Thompson *et al.*, 1994). Posteriormente, el alineamiento generado fue editado y corregido manualmente en el programa Bioedit (Hall, 1999).

Obtención de cladogramas

Los árboles filogenéticos fueron generados bajo el principio de máxima parsimonia, empleando el programa PAUP (Phylogenetic Analysis Using Parsimony) versión 4.10b Swofford (2002). Todos los caracteres fueron tratados como desordenados (no aditivos) y sin asignación de peso; así mismo, los datos faltantes se identificaron con el símbolo ?; los árboles se obtuvieron a partir de búsquedas heurísticas con 1000 réplicas al azar, utilizando las opciones stepwise addition y branch swapping (intercambio de ramas) con la opción (TBR) Tree Bisection and Reconnection (corte y reconexión binaria). Adicionalmente, se calculó el índice de Bremer para cada nodo, mediante el programa de cómputo AutoDecay versión 4.0 (Eriksson, 1998) y Bootstrap con 1000 réplicas, búsqueda heurística con una secuencia de adición al azar (10 réplicas).

Literatura citada

ARANTES, I. G. and P. de T. ARTIGAS. (1983)

Hydrochoerisnema anomalobursata Arantes & Artigas, 1980 (Nematoda; Trichostrongyloidea) Parasito de Capibara (*Hydrochoerus hydrochaeris hydrochaeris*) Linnaeus, 1766. Establecimiento de Nova Subfamilia: Hydrochoerisnematinae. Arq. Inst. Biol., São Paulo. 50 (1/4): 39-49.

ASAKAWA, M and M. OHBAYASHI (1986)

The first record of *Brevistriata bergerardi* Durette-Desset, 1970 from an asiatic chipmunk, *Tamias sibiricus* Lineatus Siebold, in Hokkaido, Japan. Japan Journal of Veterinary Research. 34: 291-294.

BERVERIDGE, I. (1979)

A Review of the Globocephaloidinae Inglis (Nematoda: Amidostomatidae) from Macropodid Marsupials. Australian Journal of Zoology. 27: 151-175.

BLAXTER, M. L. (2001)

Molecular analysis of nematode evolution : In Parasitic Nematodes. Molecular Biology, Biochemistry and Immunology (edited by M. W. Kennedy and W. Harnett) London, U. K. CABI Publishing: 1-24.

CABALLERO, C. E. (1958)

Estudios Helmintologicos de la región oncocercosa de México y de la República de Guatemala Nematoda: 10ª parte. Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. México. (9-4): 64-66.

CABALLERO, C. E.y C. MA. CERECERO. (1943)

Longistriata convoluta n. sp. (Nematodo: Trichostrongylidae) parasito del intestino de una “tuza” *Cratogeomys merriami* (Thomas). Anales del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México. 14: 201-205.

CASSONE, J et M. C. DURETTE-DESSET. (1991)

Cinq espèces (dont trois nouvelles) de Nématodes Trichostrongyloides coparasites de *Dasyprocta azarae* au Paraguay. Revue suisse de Zoologie 98: 229-242.

CHABAUD, A. G. (1959)

Remarques sur la systématique des Nématodes Trichostrongyloidea. Bull. Soc. Zool. France. 84: 472-478.

CHILTON, N. B., L. A. NEWTON, I. BEVERIDGE and R. B. GASSER (2001)

Evolutionary relationships of Trichostrongyloid nematodes (Strongylida) inferred from ribosomal DNA sequence data. Molecular Phylogenetics and Evolution. 19: 367-386.

DENKE, M. A. (1977)

Quatre nouveaux Nématodes Héligmosomes parasites de Rongeurs du Mexique. Bulletin du Museum National d' Histoire Naturelle. 3^e Série, n^o 470, Zoologie 32: 777-787.

DURETTE-DESSET, M. C. (1969)

Nouvelles données morphologiques sur quelques nématode Héligmosomes, parasites de Rongeurs. Annales de Parasitologie 44: 37-46.

DURETTE-DESSET, M. C. (1970 a)

Vexillata petteri n. sp. Nématode Héligmosome parasite d'un Rongeur néarctique. Annales de Parasitologie 45: 289-293.

DURETTE-DESSET, M. C. (1970 b)

Nématodes Héligmosomes d'Amérique du Sud VI. Étude de cinq espèces, parasites de Rongeurs Dasyproctidés. Bulletin du Museum National d' Histoire Naturelle 2^e Série 42: 590-600.

DURETTE-DESSET, M. C. (1970 c)

Brevistriata bergerandi nouveau Nématode Heligmosome, Parasite d'un écureuil de Corée. Bulletin du Museum National d' Histoire Naturelle 2^e Série Tome 42: 419-423.

DURETTE-DESSET, M. C. (1971)

Essai de classification des nématodes héligmosomes. Corrélations avec la paléobiogéographie des hôtes. Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle. Série A, Zoologie Tome 69: 126 pp.

DURETTE-DESSET, M. C. (1976a)

Présence chez un Rongeur du Chili d'un Nématode Inglamidinae (sub. Fam. Nov.) appartenant aux Amidostomatidae, famille connue des Mammifères d'Australie. Annales de Parasitologie 51: 453-460.

DURETTE-DESSET, M. C. (1976b)

Brevistrianae (Nematoda: Heligmosomidae) I. Compléments morphologiques à l'étude d'espèces connues. Bulletin du Museum National d' Histoire Naturelle 3^e Série no 388, Zoologie 270: 685-692.

DURETTE-DESSET, M. C. (1978)

Nouvelles données morphologiques sur des Nématodes Trichostrongyloides des collections du United States National Museum. Bulletin du Museum National d' Histoire Naturelle 3^e Série no 513, Zoologie 352: 135-147.

DURETTE-DESSET, M. C. (1983)

Keys to genera of the superfamily Trichostrongyloidea : In CIH key to the nematode parasites of vertebrates. (edited R. C. Anderson and A. G. Chabaud) Commonwealth Agricultural Bureaux vol. 10 : 69

DURETTE-DESSET, M. C. (1985)

Trichostrongyloides nematodes and their vertebrate hosts: In Reconstruction of the phylogeny of parasitic group: In Advances in Parasitology vol 24 (edited by Baker, J.R. and Muller, R.) London, U. K. Academic Press Inc.: 239-306.

DURETTE-DESSET, M. C. and J. CASSONE (1983)

A Taxonomic Revision of Trichostrongyloid Nematodes Parasites of Echidna, *Tachyglossus acuelatus* (Monotremata). Australian Journal of Zoology. 31: 257-284.

DURETTE-DESSET, M. C. et A. G. CHABAUD (1977)

Essai de classification des Nématodes Trichostrongyloidea. Annales de Parasitologie. 52: 539-558.

DURETTE-DESSET, M. C. et A. G. CHABAUD (1981)

Nouvel essai de classification des Nématodes Trichostrongyloidea. Annales de Parasitologie. 56: 297-312.

DURETTE-DESSET, M. C. et A. G. CHABAUD (1993)

- Nomenclature des strongylida au-dessus du groupe-famille. Annales de Parasitologie. 68: 111-112.
- DURETTE-DESSET, M. C., M. A. DENKE et R. MURUA. (1976)
 Présence chez un Rongeur du Chili d'un Nématode Inglamidinae (sub. fam. nov.) appartenant aux Amidostomatidae, Famille connue des Mammifères d'Australie. Annales de Parasitologie. 51: 453-460.
- DURETTE-DESSET, M. C. and M. C. DIGIANI. (2005)
 Systematic position of some nearctic heligmosomoidea (Nematoda: Trichostrongylina) from the U.S. National Parasite Collection and their description Journal of Parasitology. 91: 893–899
- DURETTE-DESSET, M. C., R. A. GUERRERO and J. BOYER (2000)
 Two Trichostrongylina (Nematoda) from Venezuela: a new species of *Ornithostrongylus* (Heligmosomoidea), parasitic in birds (Columbiformes) and a new species of *Molineus* (Molinoidea), parasitic in snakes (Squamata). Zoosystema 22: 5-14.
- DURETTE-DESSET, M. C., J. P. HUGOT, P. DARLU and A. G. CHABAUD. (1999)
 A cladistic analysis of the Tricjostrongyloidea (Nematoda) International Journal for Parasitology. 29: 1065-1086.
- DURETTE-DESSET, M. C. and J. L. JUSTINE (1991)
 A cladistic analysis of the genera in the subfamily Pudicinae (Nematoda: Trichostrongyloidea: Heligmonellidae). International Journal for Parasitology. 21: 579-587.
- ERIKSSON, T. (1998)
 AutoDecay ver. 4.0 (program distributed by the autor). Department of Botany, Stockholm University. Stockholm.
- FALCÓN-ORDAZ, J and L. GARCÍA-PRIETO. (2005)
 A new species of *Vexillata* (Nematoda: Trichostrongylina: Ornithostrongylidae) parasite of *Heteromys desmarestianus* (Rodentia: Heteromyidae) from Costa Rica. Journal of Parasitology. 94: 329-334.
- FALCÓN-ORDAZ, J, S. L. GARDNER and G. PÉREZ –PONCE DE LÉON. (2001)
Vexillata liomyos n. sp. (Remata: Ornithostrongylidae) from *Liomys pictus* (Rodentia: Heteromyidae) from Mexico, with comments on the synlophe of *Vexillata armandae*. Journal of Parasitology. 87: 656-659.
- FALCÓN-ORDAZ, J, CH. HSUAN-WIEN and R. LAMOTHE-ARGUMEDO (2006)

- A new species of *Vexillata* (Nematoda: Ornithostrongylidae) in attwater's pocket gopher from Texas. Journal of Parasitology. 92: 595-599.
- FALCÓN-ORDAZ, J y Ma. A. SANABRIA-ESPINOZA (1997)
Vexillata vexillata (Nematoda: Ornithostrongylidae) parásito de roedores de México. Revista de Biología. Tropical. 45: 1691-1694.
- GARDNER, S. L., E. B. FONG, L. A. BANNA and S. R. RAYMOND. (1994)
 A new species of *Vexillata* (Nemata: Ornithostrongylidae) from the coarse-haired pocket mouse *Chaetodipus hispidus* in New Mexico. Journal of Parasitology. 80: 591-594.
- GONZÁLEZ, D. (1997).
 El uso de secuencias génicas para estudios taxonómicos. Boletín de la Sociedad Botánica de México. 60: 137-157.
- GOUÿ DE BELLOCQ, J., H. FERTE, J. DEPAQUIT, J. L. JUSTINE, A. TILLIER and M. C. DURETTE-DESSET (2001)
 Phylogeny of the Trichostrongylina (Nematoda) inferred from 28S rDNA sequences. Molecular Phylogenetics and Evolution. 19: 430-442.
- GUERRERO, R. (1984)
 Nematoda: Trichostrongyloidea parasites of Venezuelan wild mammals. III. The genus *Vexillata* Travassos, 1937. Annales de Parasitologie 59: 253-261.
- HALL, M. C. (1916)
 Nematodes parasites of the orders Rodentia, Lagomorpha and Hyracoidea. Proceedings of the National Museum. Washington. 50: 123-160.
- HALL, T. A. (1999)
 Bioedit: A user friendly biological sequence alignment editor an analysis program for Windiws 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series, 41: 95-98.
- HASEGAWA, H. (1999)
 Phylogeny, host-parasite relationship and zoogeography. The Korean Journal of Parasitology. 37 : 197-213.
- HILLIS, D., B.K. MABLE, and C. MORITZ, (1996)
 Nucleic acids IV: Sequencing and cloning: In Molecular systematics (Eds. Hillis, D., C. Moritz, and B.K.Mable). Sunderland, Massachusetts: Sinauer: 321-338.
- HOBERG, E. P. and J. R. LICHTENFELS. (1994)

- Phylogenetic systematic analysis of the Trichostrongylidae (Nematoda), with an initial assessment of coevolution and biogeography. Journal of Parasitology. 80: 976-996.
- HOBERG, E. P., J. R. LICHTENFELS and L. GIBBONS. (2004)
Phylogeny for species of *Haemonchus* (Nematoda: Trichostrongyloidea): Considerations of their evolutionary and global biogeography among camelidae and pecora (Artiodactyla). Journal of Parasitology. 90: 1085-1102.
- HOBERG, E. P., J. R. LICHTENFELS and L. G. RICKARD. (2005)
Phylogeny for genera of Nematodirinae (Nematoda: Trichostrongylina). Journal of Parasitology. 91: 382-389.
- HUMPHERY-SMITH, I. (1981)
Compléments morphologiques au genre *Herpetostrongylus* Baylis, 1931 (Nematoda, Trichostrongyloidea) Bulletin du Museum National d' Histoire Naturelle 4^e Série, 3 section A, no 1: 133-137.
- HYMAN, B. C. (1988)
Nematode mitochondrial DNA: anomalies and applications. Journal of Nematology. 20: 523-531.
- HYMAN, B. C. and J. L. BECK AZEVEDO. (1996)
Similar evolutionary patterning among repeated and single copy nematode mitochondrial genes. Molecular Biology and Evolution. 13: 221-232.
- LE, T. H, D. BLAIR. AND D. P. MCMANUS (2000)
Mitochondrial genomes of human helminths and their use as markers in population genetics and phylogeny. Acta Tropica, 77, 243-256.
- LICHTENFELS, J. R (1983)
The sinlofo and species determination of Trichostrongyloidea: In Concepts in Nematode Systematics vol. 22 (edited by Stone, A. R., H. M.Platt and L. F. Khalil) London, U. K. Academic Press Inc.: 273-291.
- LICHTENFELS, J. R, E. P. HOBERG AND D. S. ZARLENGA (1997)
Systematics of gastrointestinal nematodes of domestic ruminants: advances between 1992 and 1995 and proposals for future research. Veterinary Parasitology. 72: 225-245.
- McCARTHY, C. (1996-1997).
School of biomolecular and biomedical science, faculty of science and technology. Griffith University, Brisbane, Queensland, Australia.

MORGAN J. A. T. and D. BLAIR (1998)

Relative merits of nuclear ribosomal internal transcribed spacers and mitochondrial COI and ND1 genes for distinguishing among *Echinostoma* species (Trematoda). Parasitology 116: 289-297.

PÉREZ-PONCE DE LEON, G. S. L. GARDNER AND J. FALCÓN-ORDAZ. (2000)

Phylogenetic relationships among species of *Stilestrongylus* Freitas, Lent and Almeida, 1937 (Trichostrongyloidea: Heligmonellidae: Nippostrongylineae), parasites of myomorph rodents (Rodentia: Muridae) in the neotropics. Journal of Parasitology. 86: 1326-1335.

ROLLINSON, D., T. K. WALKER, and A. J. G. SIMPSON. (1986).

The application of recombinant DNA technology to problems of helminth identification. Parasitology. 92, 53-71.

SKRJABIN, K. J. N. P. SHIKHOBALOVA and R. S. SHULTS (1952)

Essentials of Nematology vol III. Trichostrongylids of animals and man. The Academy of Sciences of the U.S.S.R. Moscow: 690 pp.

SUKHDEO, S. C., M. V. K. SUKHDEO, M. B. BLACK and R. C. VRIJENHOEK.

(1997)

The evolution of tissue migration in parasitic nematodes (Nematoda: Strongylida) inferred from a protein-coding mitochondrial gene. Biological Journal of the Linnean Society 61: 281-298.

SWOFFORD, D. L. (2002)

PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Versión 4.0b4a. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

THOMPSON, J. D., D. G. HIGGINS AND T. J. GIBSON. (1994)

CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Research, 22: 4673-4680.

TRAVASSOS, L. (1937)

Revisão da família Trichostrongylidae Leiper, 1912. Monographias do Instituto Oswaldo Cruz 1: 512.

VILLA, R. B. Y CERVANTES, F. A. (2003)

Los Mamíferos de México. Grupo Editorial Iberoamericana, S. A. de C. V. México D. F. 140 pp.

YORKE, W. and R. MAPLESTONE. (1926)

The nematodes parasites of vertebrates. Churchill Publications London: 1-541
pp.

YOYOTE, E. V. (1972)

Étude de huit Nématodes parasites de Vertébrés du Venezuela et de la Colombie.
Bulletin du Museum national d' Histoire Naturelle 3^e Série, n^o 41, Zoologie 35:
477-498.

CAPÍTULO II

Descripción de dos nuevas especies del género *Vexillata*.

En el presente capítulo se da la descripción de dos nuevas especies de *Vexillata*, haciendo un total de 14 especies. Las descripciones de estas especies han sido publicadas en revistas especializadas por lo que se presentan sobretiros, a continuación se mencionan título y resumen en español de dichos artículos:

Falcón-Ordaz J. y L. García-Prieto. 2005. Una nueva especie de *Vexillata* (Nematoda: Trichostrongylina: Ornithostrongylidae) parásita de *Heteromys desmarestianus* (Rodentia: Heteromyidae) de Costa Rica. *Journal of Parasitology* 91 (2): 329-334.

RESUMEN: En julio de 1999, dos *Heteromys desmarestianus* Gray, 1868, fueron colectados del Área de Conservación Guanacaste, Costa Rica, al ser examinados parasitológicamente, se encontraron individuos de una nueva especie de *Vexillata* (Travassos, 1937) Durette-Desset, 1970 en el intestino del huésped. *Vexillata brooksi* n. sp. difiere de todos sus congéneres por la presencia de espículas divididas en su punta. La nueva especie esta cercanamente relacionada con *Vexillata legallae* Denke, 1977 y *Vexillata convoluta* (Caballero y Cerecero, 1943); sin embargo, se puede distinguir de ambas especies porque el macho posee un número reducido de espinas en la región posterior del cuerpo (9 vs. 11 y 12 respectivamente y por la ausencia de quilla a este nivel).

Falcón-Ordaz J., Hsuan-Wien Chen y R. Lamothe-Argumedo. 2005 Una nueva especie de *Vexillata* (Nematoda: Ornithostrongylidae) en la tuza attwater de Texas *Journal of Parasitology* 92 (3): 595-599.

RESUMEN: *Vexillata geomyos* n. sp. es descrita como parásita de la tuza attwater, *Geomys attwateri* (Geomyidae) del Welter Wildlife Refuge, Texas. La nueva especie tiene 12 espinas cuticulares; con base en este carácter la nueva especie se distingue de 7 de las 13 especies del género. De las 6 especies restantes, *V. geomyos* puede diferenciarse porque el rayo dorsal en 3 de estos (*V. armandae*, *V. dessetae* y *V. vexillata*) tiene dos rayos anexos en el rayo dorsal, mientras que la nueva especie carece de esos rayos anexos. *V. geomyos* puede distinguirse de *V. brooksi* porque sus espículas son divididas en su punta (mientras que en la nueva especie las espículas son enteras). La nueva especie difiere de *V. legallae* y *V. convoluta* en el número y arreglo de espinas cuticulares en la región posterior del cuerpo.

A NEW SPECIES OF *VEXILLATA* (NEMATODA: TRICHOSTRONGYLINA: ORNITHOSTRONGYLIDAE) PARASITE OF *HETEROMYS DESMARESTIANUS* (RODENTIA: HETEROMYIDAE) FROM COSTA RICA

Jorge Falcón-Ordaz and Luis García-Prieto*

Laboratorio de Helminología, Instituto de Biología, UNAM, Ap. Postal 70-153, C.P. 04510, México, D.F., México. e-mail: gprieto@ibiologia.unam.mx

ABSTRACT: In July 1999, 2 heteromyid rodents *Heteromys desmarestianus* Gray, 1868, were collected from the Área de Conservación Guanacaste, Costa Rica, and examined for parasites. Individuals of a new species of *Vexillata* (Travassos, 1937) Durette-Desset, 1970, were found from the intestine of hosts. *Vexillata brooksi* n. sp. differs from all other congeners by the presence of spicules divided at the tip instead of simple spicules. The new species closely resembles *Vexillata legallae* Denke, 1977, and *Vexillata convoluta* (Caballero and Cerecero, 1943); however, it can be distinguished from both species by possessing a smaller number of cuticular ridges at the posterior part of the body in males (9 vs. 11 and 12, respectively) and by the absence of a carene at this level.

The parasite fauna of heteromyid rodents includes trichostromyloid nematodes, including species of the genus *Vexillata* (Travassos, 1937) Durette-Desset, 1970. Members of *Vexillata* inhabit the small intestine of Heteromyidae and Geomyidae in the southern Nearctic and northern Neotropical regions (Durette-Desset, 1971; Guerrero, 1984; Falcón-Ordaz et al., 2001). To date, 10 species have been described (Table I). No species of *Vexillata* have been previously described from Costa Rican rodents (Rodríguez-Ortíz, García-Prieto, and Pérez-Ponce de León, 2004; Rodríguez-Ortíz, García-Prieto, Herrera-Vázquez, and Pérez-Ponce de León, 2004). In this paper, a new species of this genus collected in *Heteromys desmarestianus* Gray, 1868, from this country is described.

MATERIALS AND METHODS

Two individuals of *H. desmarestianus* were collected in July 1999 from Área de Conservación Guanacaste, Costa Rica, and examined for

parasites. Nematodes collected were placed in 0.85% saline, fixed in glacial acetic acid, and stored in 70% ethanol. Specimens were cleared for study with lactophenol. To provide a detailed description of syn-
noph, cross sections were made following Durette-Desset (1985) at the anterior, middle, and posterior regions of the body and mounted in face view. Type and voucher specimens were deposited in the Colección Nacional de Helminos (CNHE), Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City; U.S. National Parasite Collection (USNPC), Beltsville, Maryland; Harold W. Manter Laboratory of Parasitology (HWML), Lincoln, Nebraska; and Colección de Helminos de Costa Rica, Universidad de Costa Rica, San José. MNHN refers to Musée National d'Histoire Naturelle, Paris, France. The following specimens were examined for comparison: *Heligmosomum vexillatum* Hall, 1916 (USNPC 16142), *Longistriata vexillata* (Hall, 1916) (CNHE 2282, USNPC 31377, 66271); *Vexillata vexillata* (Hall, 1916) (CNHE 2290, 2355); *Longistriata convoluta* Caballero and Cerecero, 1943 (CNHE 2102, 2103); *Vexillata chabaudi* Yoyotte, 1972 (MNHN 149BA); *Vexillata dessetae* Denke, 1977 (MNHN 1047HA); *Vexillata legallae* Denke, 1977 (MNHN 1054HA); *Vexillata liomyos* Falcón-Ordaz, Gardner and Pérez-Ponce de León (CNHE 3913, 3914); *Vexillata petteri* Durette-Desset, 1970 (MNHN 777M).

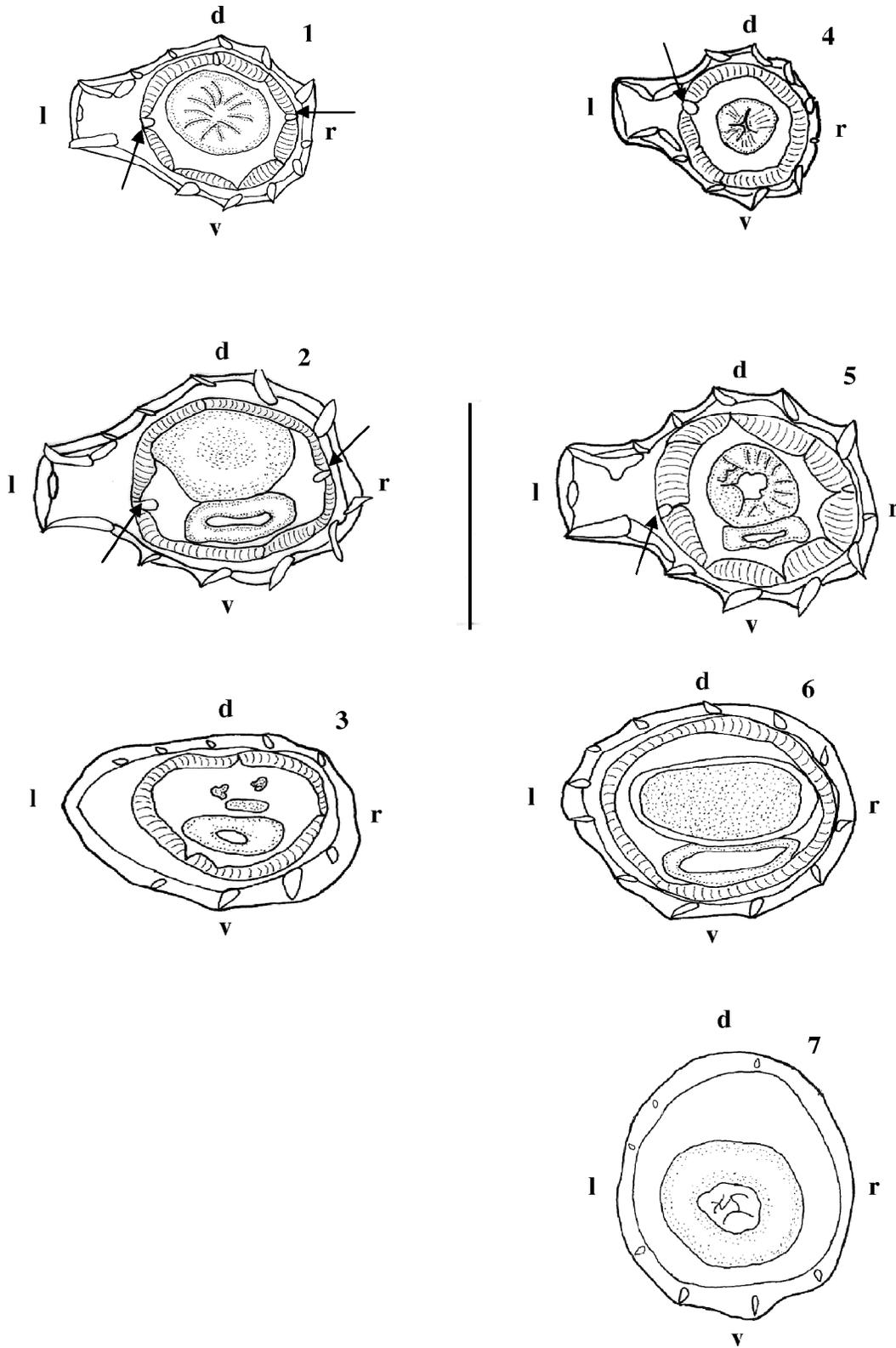
Drawings and measurements were made with a Zeiss microscope equipped with a drawing tube. Measurements are given in micrometers (μm) unless otherwise indicated. Range is followed by the mean and

Received 14 June 2004; revised 3 August 2004; accepted 20 August 2004.

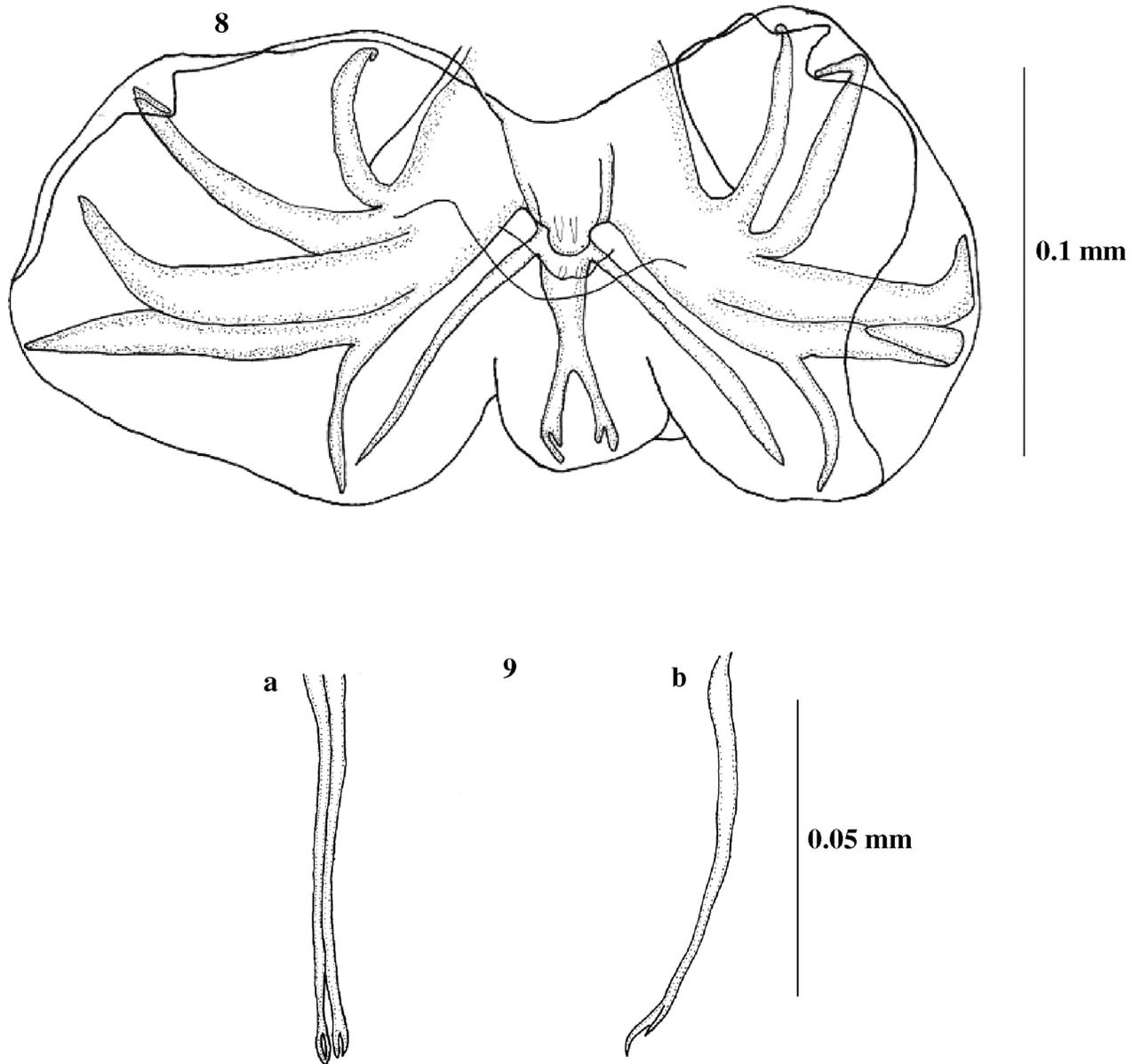
*To whom correspondence should be addressed.

TABLE I. Current specific composition of the genus *Vexillata*.

Species	Host	Distribution	Reference
Group A			
<i>Vexillata armandae</i>	<i>Chaetodipus hispidus</i>	New Mexico	Gardner et al. (1994)
<i>V. convoluta</i>	<i>Cratogeomys merriami</i>	Michoacán, Mexico	Caballero and Cerecero (1943)
	<i>C. thylorhinus</i>	Morelos, Mexico	Present study
<i>V. dessetae</i>	<i>H. lepturus</i>	Ecatepec, Mexico	Present study
<i>V. legallae</i>	<i>H. lepturus</i>	Veracruz, Mexico	Denke (1977)
<i>V. liomyos</i>	<i>Liomys pictus</i>	Veracruz, Mexico	Denke (1977)
	<i>L. irroratus</i>	Jalisco, Mexico	Falcón-Ordaz et al. (2001)
	<i>L. irroratus</i>	Tlaxcala, Mexico	Present study
<i>V. vexillata</i>	<i>Thomomys fossor</i>	Colorado	Hall (1916)
	<i>Perognathus hispidus</i>	Texas	Durette-Desset (1978)
	<i>L. irroratus</i>	Hidalgo, Mexico	Falcón-Ordaz and Sanabria-Espinosa (1997)
	<i>L. pictus</i>	Chiapas, Mexico	Caballero (1958)
	<i>Peromyscus difficilis</i>	Hidalgo, Mexico	Falcón-Ordaz and Sanabria-Espinosa (1997)
Group B			
<i>V. chabaudi</i>	<i>Heteromys australis</i>	Valle del Cauca, Colombia	Yoyotte (1972)
<i>V. petteri</i>	<i>Heteromys</i> sp.	North America	Durette-Desset (1970)
<i>V. scorzai</i>	<i>H. anomalus</i>	Mérida, Venezuela	Guerrero (1984)
<i>V. tejeraei</i>	<i>H. anomalus</i>	Naiguatá, Venezuela	Guerrero (1984)



FIGURES 1–7. *Vexillata brooksi* n. sp., parasite of *Heteromys desmarestianus* from Área de Conservación Guanacaste, Costa Rica. Synopthe structure of both male and female. Cross sections of male: (1) esophagus level, (2) midbody, (3) spicular level. Cross section of female: (4) esophagus level, (5) midbody, (6) uterus level at about $\frac{3}{4}$ of body length, (7) ovjector level. Orientation of figures: d, dorsal; v, ventral; r, right; l, left. The arrow indicates the lateral cords. Bar = 0.05 mm.



FIGURES 8–9. Male of *Vexillata brooksi* n. sp., parasite of *Heteromys desmarestianus* from Área de Conservación Guanacaste, Costa Rica. **8.** Posterior end showing caudal bursa. **9.** Spicules divided at the tip. (a) Median view; (b) lateral view.

standard deviation; sample size (n) are provided in parentheses. Measurements of holotype and allotype are in brackets.

DESCRIPTION

Vexillata brooksi n. sp.

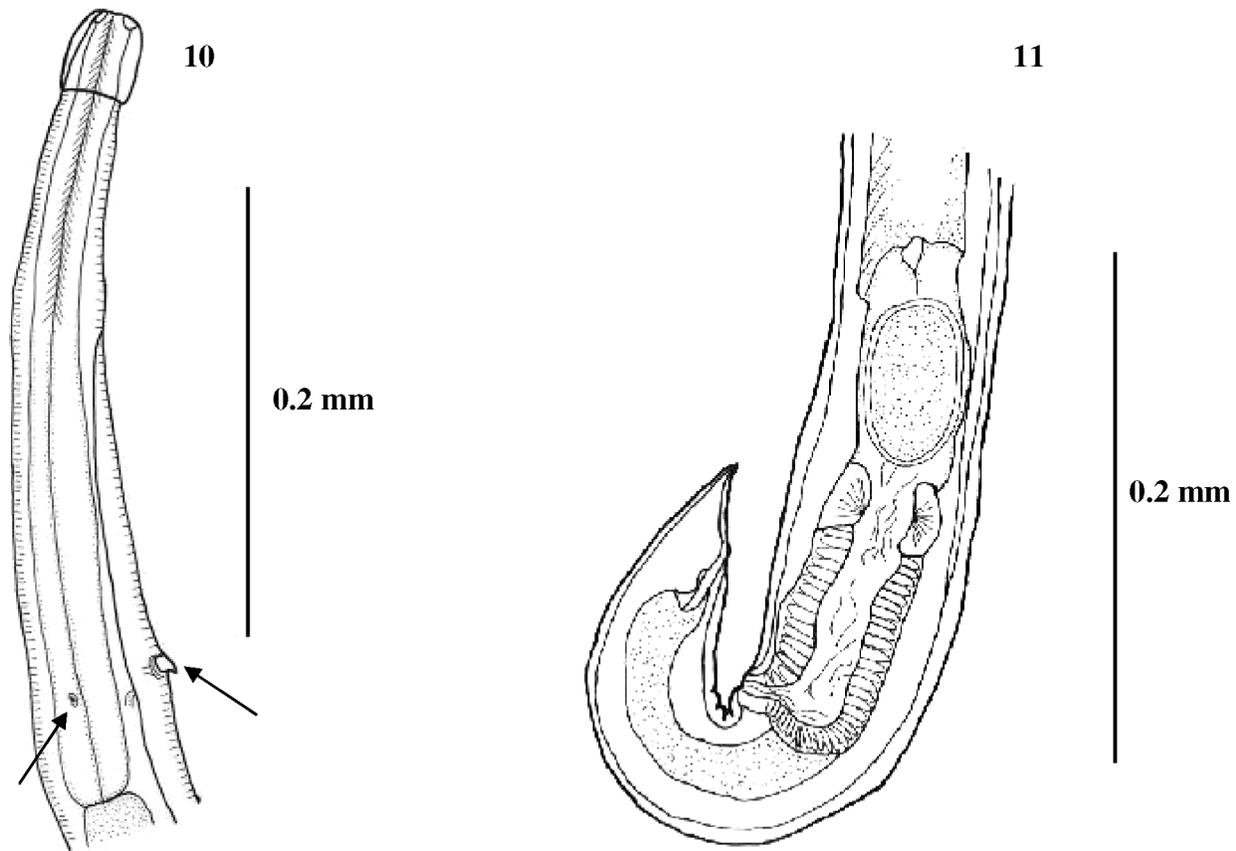
(Figs. 1–11)

General: Small nematodes, coiled loosely, with a well-developed carene (except at spicular and vestibular levels). Females larger than males, with curved tail; body hooked anteriorly just posterior to vulva. Males with well-developed and symmetrical caudal bursa.

Synopse: Uninterrupted ridges (orientated in a frontal axis) appearing just posterior to cephalic inflation; 2 robust, left-lateral ridges, forming well-developed carene (except at spicular

and vestibular levels). Size gradient: right to left, present only in dorsal side of anterior and midbody regions in both sexes. Anterior region (at esophagus level) of males with 12 ridges, 6 dorsal, 6 ventral; females with 11 ridges, 5 dorsal, 6 ventral. Both sexes possess 12 cuticular ridges (6 dorsal, 6 ventral) at the middle of the body. Males with 9 ridges at spicular region; females with 12 and 7 ridges at infundibulum and vestibular regions, respectively, ending just at vulva level.

Male: From 13 mature specimens. Length 3.46–5.19 mm (4.08 ± 0.51 mm, $n = 12$ [3.46 mm]), width 59.5–94.5 (70 ± 9 , $n = 12$ [63]) at midbody. Cephalic inflation 35–38.5 long (37 ± 1 , $n = 12$ [35]) by 28–38.5 wide (33 ± 3 , $n = 12$ [31]). Excretory pore 259–322 (291 ± 19 , $n = 12$ [266]) and deirids 255–315 (279 ± 17 , $n = 11$ [280]) from anterior end, respectively. Esophagus length 315–385 (339 ± 17 , $n = 12$ [329]) by



FIGURES 10–11. Female of *Vexillata brooksi* n. sp., parasite of *Heteromys desmarestianus* from Área de Conservación Guanacaste, Costa Rica. **10.** Anterior end showing cephalic inflation, excretory pore and deirids (→). **11.** Posterior end showing curved tail and ovijector.

width 24.5–35 (29 ± 2 , $n = 11$ [28]) at base. Spicules equal in length 280–332.5 (302 ± 20 , $n = 12$ [290]), curved and divided at tip. Genital cone 28–35 long (34 ± 1 , $n = 11$ [28]). Symmetrical caudal bursa with typical pattern of *Vexillata* identical in both bursal lobes (2-2-1). Externodorsal rays long, slender, arising at base of dorsal ray. Dorsal ray divided postequatorially into 2 symmetrical branches, each branch giving rise to a fork with terminal portions of unequal length (internal ray of each pair always shorter than external ray). Dorsal lobe separated from lateral lobes. A thin velum originating at end of genital cone located beneath the dorsal ray.

Female: From 20 mature specimens. Length 4.36–10.35 mm (6.32 ± 1.86 mm, $n = 15$ [5.10 mm]) by width 66.5–133 (84 ± 18 , $n = 13$ [84]). Cephalic inflation length 35–42 (38 ± 2 , $n = 15$ [38]) by width 21–42 (35 ± 4 , $n = 15$ [35]). Excretory pore 273–371 (314 ± 31 , $n = 14$ [311]) and deirids 280–374.5 (310 ± 30 , $n = 13$ [297]) from anterior end, respectively. Esophagus length 329–392 (362 ± 19 , $n = 15$ [346]) by width 24.5–49 (34 ± 6 , $n = 15$ [35]) near base. Monodelphic. Distance from caudal extremity to vulva 80.5–154 (106 ± 18 , $n = 15$ [112]); to anus 35–42 (38 ± 3 , $n = 14$ [35]). Vagina vera length 17.5–24.5 (21 ± 3 , $n = 13$ [17]); vestibule length 52.5–87.5 (68 ± 9 , $n = 13$ [52]), sphincter length 24.5–35 (32 ± 3 , $n = 13$ [35]), infundibulum length 52.5–80.5 (66 ± 10 , $n = 8$ [63]). Uterus length 684–889 (784 ± 85.1 , $n = 6$ [889]). Egg length 45.5–70 (53.2 ± 4 , $n = 103$) by width 28–42 (35.8 ± 2.2 , $n = 103$).

Taxonomic summary

Type host: *Heteromys desmarestianus* Gray, 1868, Desmarest's spiny pocket mouse; collection date, 5 July 1999.

Type locality: Estación Maritza, Área de Conservación Guanacaste, Guanacaste, Costa Rica ($10^{\circ}57'40''\text{N}$, $85^{\circ}29'30''\text{W}$; 610 m above sea level).

Site of infection: Small intestine.

Prevalence and mean intensity: 100%, 85 individuals by host infected.

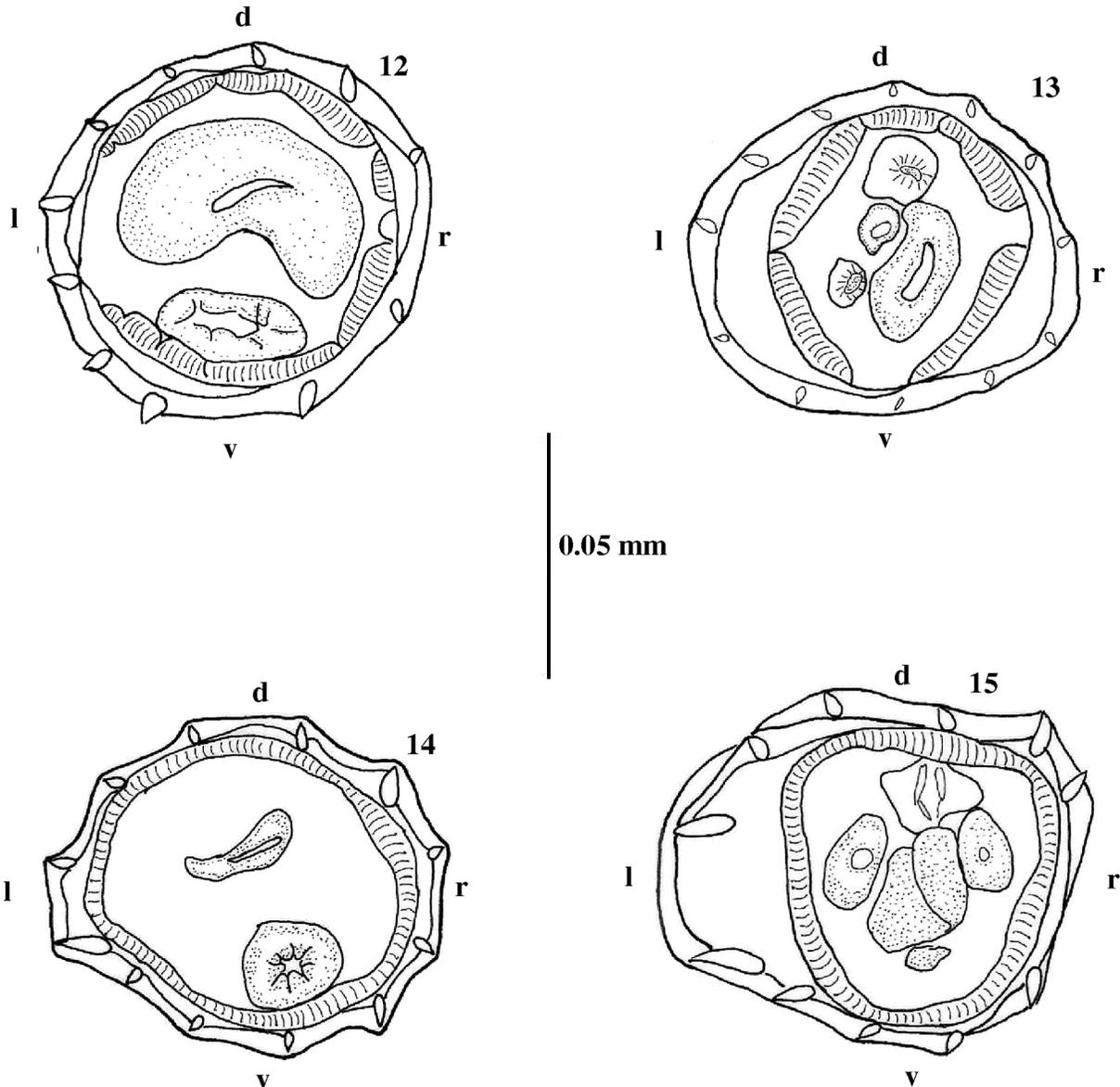
Type specimens: Holotype male, CNHE 5025; allotype female, CNHE 5026; paratypes CHCR 150, CNHE 5027, HWML 48140, and USNPC 95651.

Etymology: The species is named for Daniel R. Brooks in recognition of his commitment to biodiversity studies in the Neotropics, especially in Costa Rica.

Remarks

Vexillata comprises 10 species, currently separated into 2 groups according to Durette-Desset (1971, 1978). Species in group A are characterized by having 12 ridges in the synlophe at midbody and bursa with a dorsal ray divided at the midpoint of its length. Members of group B possess a synlophe with 11 ridges at midbody and a dorsal ray divided at the distal end (Table I).

Vexillata brooksi n. sp. differs from all other congeners (indistinctly from the group in which they belong) by having spic-



FIGURES 12–15. *Vexillata convoluta* Caballero and Cerecero, 1944, parasite of *Cratogeomys merriami* (Thomas, 1893) from Motrelos, Mexico. **12.** Cross section of a female at ovijector level. **13.** Cross section of a male at spicular level. *Vexillata legallae* Denke, 1977, from *Heteromys lepturus* Merriam, from Veracruz, Mexico. **14.** Cross section of a female at ovijector level. **15.** Cross section of a male at spicular level. Orientation of figures: d, dorsal; v, ventral; r, right; l, left. Lateral cords.

ules divided at the tip instead of spicules with simple structure. The new species was assigned to group A by possessing 12 ridges in the synlophes at the middle of the body. Within group A, *V. brooksi* closely resembles *V. legallae* and *V. convoluta* because they also lack 2 lateral conspicuous projections mid-length of the dorsal ray. However, *V. brooksi* can be distinguished from both species in the number and arrangement of cuticular ridges at the posterior part of the body. The description of *V. legallae* (Denke, 1977) and *V. convoluta* (Caballero and Cerecero, 1943; Durette-Desset, 1972) refers only to the structure of synlophes at the midbody. However, the examination of type specimens and new material of both species (CNHE 5096, MNHN 1054HA), allowed us to know the structure of their synlophes at the posterior region (presented in Figs. 12–

15). Males of *V. legallae* and *V. convoluta* possess a well-developed carene (absent in the new species), and a greater number of cuticular ridges at the spicular region (11 and 12 vs. 9, respectively). Likewise, females of *V. legallae* and *V. convoluta* have 12 and 11 ridges at the sphincter region, respectively, versus 10 ridges at the same level in *V. brooksi*. In addition, *V. convoluta* is a parasite of geomyid rodents, whereas *V. brooksi* infects heteromyid rodents.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Daniel R. Brooks for providing specimens for this study. Material for species comparison was borrowed from the collections of the Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris, France (Jimmy Cassone, Jean-Lou Justine, and Marie Claude Durette-Dessete), and the

U.S. National Parasite Collection (Eric P. Hoberg and Patricia Pilitt). We also thank María Antonieta Arizmendi for helpful comments on an earlier version of the manuscript. This study was funded by an operating grant from the Natural Sciences and Engineering Research Council (NSERC) of Canada to Daniel R. Brooks.

LITERATURE CITED

- CABALLERO, E. 1958. Estudios Helmintológicos de la región oncocercosa de México y de la República de Guatemala. *Nematoda*: 10a parte. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas* **9**: 64–66.
- , AND M. C. CERECERO. 1943. *Longistriata convoluta* n. sp. (Nematoda: Trichostrongylidae) parásito del intestino de una “tuza” *Cratogeomys merriami* (Thomas). *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas* **14**: 201–205.
- DENKE, A. M. 1977. Quatre nouveaux Nématodes Héligmosomes parasites de Rongeurs du Mexique. *Bulletin du Muséum National d’Histoire Naturelle* **327**: 777–787.
- DURETTE-DESSET, M. C. 1970. Description de *Vexillata petteri* n. sp. Nématode Héligmosome parasite d’un Rongeur néarctique. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée* **45**: 289–293.
- . 1971. Essai de classification des Nématodes Héligmosomes. Corrélation avec la Paléobiogéographie des hôtes. *Mémoires du Muséum National d’Histoire Naturelle* **69**: 1–126.
- . 1972. Compléments morphologiques à l’étude de quelques Nématodes Héligmosomes, parasites de Rongeurs Américains. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée* **47**: 243–249.
- . 1978. Nouvelles données morphologiques sur des Nématodes Trichostrongyloides des collections du United States National Museum. *Bulletin du Muséum National d’Histoire Naturelle* **352**: 135–147.
- . 1985. Trichostrongyloides nematodes and their vertebrate hosts: Reconstruction of the phylogeny of a parasitic group. *Advances in Parasitology* **24**: 239–246.
- FALCÓN-ORDAZ, J., S. L. GARDNER, AND G. PÉREZ-PONCE DE LEÓN. 2001. *Vexillata liomyos* n. sp. (Nemata: Ornithostrongylidae) from *Liomys pictus* (Rodentia: Heteromyidae) from Mexico, with comments on the synopse of *Vexillata armandae*. *Journal of Parasitology* **87**: 656–659.
- , AND M. A. SANABRIA-ESPINOSA. 1997. *Vexillata vexillata* (Nematoda: Ornithostrongylidae) parásito de roedores de México. *Revista de Biología Tropical* **45**: 1691–1694.
- GARDNER, S. L., E. B. FONG, L. AL-BANNA, AND S. T. RAYMOND. 1994. A new species of *Vexillata* (Nemata: Ornithostrongylidae) from the coarse-haired pocket mouse *Chaetodipus hispidus* in New Mexico. *Journal of Parasitology* **80**: 591–594.
- GUERRERO, R. 1984. Nematoda: Trichostrongyloidea parasites of Venezuelan wild mammals III. The genus *Vexillata* Travassos, 1937. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée* **59**: 253–261.
- HALL, M. C. 1916. Nematodes parasites of the orders Rodentia, Lagomorpha and Hyracoidea. *Proceedings of the United States National Museum* **50**: 155–157.
- RODRÍGUEZ-ORTÍZ, B., L. GARCÍA-PRIETO, AND G. PÉREZ-PONCE DE LEÓN. 2004. Checklist of the helminth parasites of vertebrates in Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* **52**: 1–41.
- , ———, J. HERRERA-VÁZQUEZ, AND G. PÉREZ-PONCE DE LEÓN. 2004. Addendum to the checklist of helminth parasites of vertebrates in Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* **52**: 42–48.
- YOYOTTE, V. E. 1972. Étude de huit Nématodes parasites de vertébrés du Venezuela et de Colombie. *Bulletin du Muséum National d’Histoire Naturelle* **35**: 477–498.

A NEW SPECIES OF *VEXILLATA* (NEMATODA: ORNITHOSTRONGYLIDAE) IN ATTWATER'S POCKET GOPHER FROM TEXAS

Jorge Falcón-Ordaz, Hsuan-Wien Chen*, and Rafael Lamothe-Argumedo

Laboratorio de Helminología, Instituto de Biología, UNAM, Ap. Postal 70-153, C.P. 04510, México, D.F., México. e-mail: jfalcon@ibologia.unam.mx

ABSTRACT: *Vexillata geomyos* n. sp. is described as a parasite of Attwater's pocket gopher, *Geomys attwateri* (Geomiyidae), from Welder Wildlife Refuge, Texas. The new species possesses 12 cuticular ridges; based on this character, it can be distinguished from 7 of the 13 species in the genus. From the 6 remaining species, *V. geomyos* can be differentiated because the dorsal ray in 3 of them (*V. armandae*, *V. dessetae*, and *V. vexillata*) has 2 short branches arising from main trunk, whereas dorsal ray of the new species lacks these branches. In addition, *V. geomyos* can be distinguished from *V. brooksi* because its spicules are divided at the tip (whereas in the new species, spicules are whole). The new species differs from *V. legallae* and *V. convoluta* in the number and arrangement of cuticular ridges at the posterior region of the body.

Geomiyidae is a Nearctic family, with a fossil record extending from the early Oligocene (McKenna and Bell, 1997). All members of the family are fossorial, with some genera highly specialized to this life style (Russell, 1968). There are 11 species currently recognized in *Geomys*; their distribution extends throughout the Great Plains and southeastern United States (Jolley et al., 2000). *Geomys attwateri* (Tucker and Schmidly, 1981) is distributed from eastern to southern Texas, near the San Antonio River and along the coast from Matagorda to San Patricio counties (Hall and Kelson, 1959). Helminth parasites of *G. attwateri* have been scarcely studied; previous records refer only to the presence of 2 cestode species: *Monoecocestus centroovarium* Dronen, Pitts and Smolen, 1994 (Dronen et al., 1994) and *Hymenolepis weldensis* Gardner and Schmidt, 1988 (Chen and Dronen, 2004), both from Texas. The main goal of the present study is to describe a new species of *Vexillata* parasitizing the Attwater's pocket gopher from Texas and to compare it with the other species included in this genus.

MATERIALS AND METHODS

Pocket gophers were trapped in Welder Wildlife Refuge of San Patricio County, Texas, by using Victor or DK-1 gopher traps in June 2001 and February 2002. Animals collected were necropsied immediately after capture; their gastrointestinal tracts and internal organs were opened and examined under dissection microscope. Recovered nematodes were fixed and preserved in 70% ethanol.

Specimens of an undescribed *Vexillata* species were cleared with Amman's lactophenol for morphological study. For examination of the synlophe, cross sections were made following Durette-Desset (1985) at anterior, middle, and posterior parts of the body. Drawings were made with a Zeiss microscope equipped with a drawing tube. Measurements are given in micrometers (μm) unless otherwise indicated. Range of paratypes measurements is followed by the mean and standard deviation; sample sizes (n) are provided in parentheses. Measurements of holotype and allotype are in parentheses. Type and voucher specimens are deposited in Colección Nacional de Helminos (CNHE), Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City; and United States National Parasite Collection (USNPC), Beltsville, Maryland.

DESCRIPTION

Vexillata geomyos n. sp. (Figs. 1–10)

General: Small worms, reddish when fresh. Cuticle of anterior end dilated. Deirids located at same level; excretory pore open before junction

of esophagus–intestine. Nerve ring in males and females not observed. Females ending in a point; males with well-developed and symmetrical caudal bursa. Arrangement of bursal rays typical of *Vexillata* spp.; identical in both bursal lobes (2–2–1).

Synlophe: Uninterrupted ridges (oriented in frontal axis). Ridges in both sexes arising just posterior to cephalic inflation; 2 left-lateral ridges, forming well-developed carene (except at spicular and vestibular levels). Carene in both sexes at anterior and mid-body regions with 2 ridges of similar size in males and with ventral ridge larger than dorsal ridge in females. Size gradient right to left, present only in dorsal side of mid-body region in both sexes. Anterior region (at esophagus level) of males with 7 ridges, 4 dorsal and 3 ventral; females with 10 ridges, 5 dorsal and 5 ventral. Both sexes with 12 cuticular ridges (6 dorsal and 6 ventral) at mid-body. Males with 10 small ridges at middle spicular region, diminishing to 4 ventral ridges at bursal level. Female with 9 ridges at vulvar level.

Male: Based on 6 mature specimens. Length 2.21–2.78 mm (2.52 ± 0.23 mm, n = 5) (2.72 mm), width 70–88 (79.8 ± 9 , n = 5) (91) at mid-body. Cephalic inflation 28–38 (32.9 ± 3.9 , n = 5) (24.5) long, by 24–31 (28.7 ± 2.9 , n = 5) (28) wide. Excretory pore 171–213 (185.5 ± 24.2 , n = 3) (224) and deirids 224, n = 1 (224) from anterior end, respectively. Esophagus length 213–277 (250.6 ± 26.6 , n = 5) (283.5) by 24–35 (27.3 ± 4.5 , n = 5) (28) wide at base. Spicules equal in length, 378–430 (404.6 ± 18.9 , n = 5) (416.5), with point curved and thin velum. Gubernaculum and genital cone, 56–74 (65.3 ± 8.8 , n = 3) (45.5); 17–21 (14.7 ± 1.7 , n = 4) (21) long, respectively. Symmetrical caudal bursa with typical pattern of *Vexillata* identical in both bursal lobes (2–2–1). Ray 2 shorter than ray 3; both rays separated at their base and curved to anterior region. Rays 4 and 5, thick and straight, separated at tip; ray 6 short, arising at beginning of length of ray 5. Dorsal ray long, divided postequatorially into 2 symmetrical branches; each branch giving rise to forks with terminal portions of unequal length (internal ray of each pair always shorter than external ray). Rays 8 similar in length, symmetrical, arising at base of dorsal ray. Dorsal lobe unit to lateral lobes.

Female: Based on 6 mature specimens. Length 2.80–3.470 mm (3.14 ± 0.32 mm, n = 5) (2.66 mm) by 63–105 (86.1 ± 18.4 , n = 5) (87.5) wide. Cephalic inflation 28–42 (34.3 ± 25.1 , n = 5) (31.5) long, by 24–31, (28.7 ± 2.9 , n = 5) (28) wide. Excretory pore 171–231 (196.7 ± 21.7 , n = 5) (192.5), and deirids 189–248 (218.7 ± 42 , n = 2) (178.5) from anterior end, respectively. Esophagus length 220–294 (261.1 ± 27.6 , n = 5) (262.5); 24–28 (26.6 ± 1.9 , n = 5) (28) wide near base. Monodelphic. Distance from caudal extremity to vulva 94–129 (116.2 ± 17.2 , n = 5) (108.5); to anus 38–49 (45.5 ± 4.9 , n = 4) (52.5). Vagina vera 24–35 (28 ± 4.2 , n = 5) (24.5) long; vestibule 87–143 (122.5 ± 24.9 , n = 4) (80.5) long, sphincter 24–35 (30.6 ± 5.2 , n = 4) (24.5) long, infundibulum 77–108 (91 ± 16 , n = 3) (63) long. Eggs 52.5–87.5 (67 ± 9.7 , n = 24) long by 38.5–45.5, (40.8 ± 2.2 , n = 24) wide.

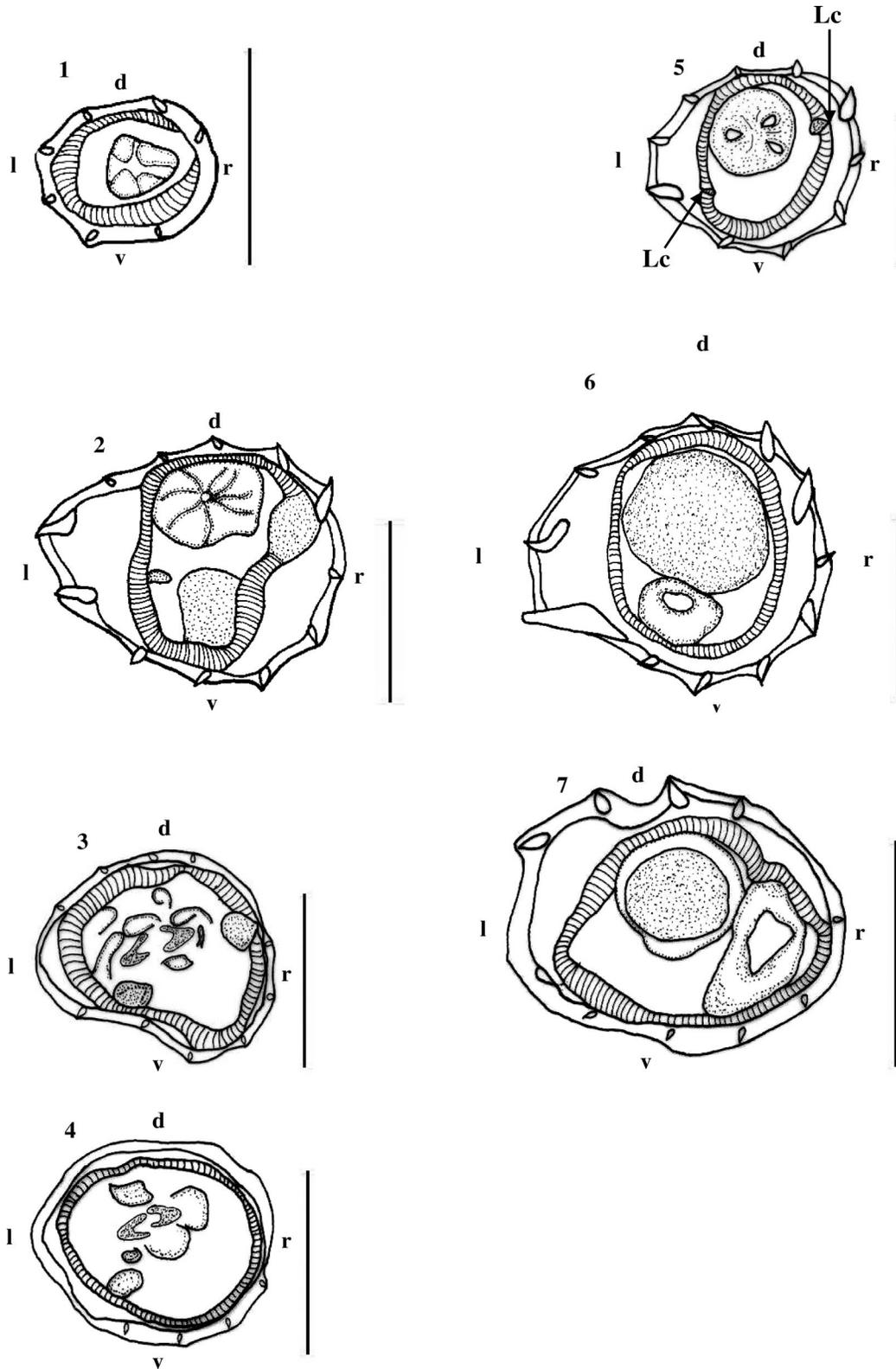
Taxonomic summary

Type host: *Geomys attwateri* (Tucker and Schmidly, 1981), Attwater's pocket gopher; collection date June 2001 and February 2002.

Type locality: Welder Wildlife Refuge, San Patricio County, Texas. (28°07'15"N, 97°22'19"W).

Received 2 March 2005; revised 28 September 2005, 18 October 2005; accepted 24 October 2005.

* Research Center for Biodiversity, Academia Sinica, Nanking, Taipei 11529, Taiwan.



FIGURES 1–7. *V. geomyos* n. sp., parasite of *G. attwateri* from Welder Wildlife Refuge, Texas. Synlophe structure of both male and female. Cross sections of male: (1) Esophagus level. (2) Midbody. (3) Spicular level. (4) Bursal base. Cross section of female: (5) Esophagus level. (6) Midbody. (7) Ovijector level. Orientation of figures: d, dorsal; v, ventral; r, right; and l, left. Lc, lateral cords. Bar = 0.05 mm.

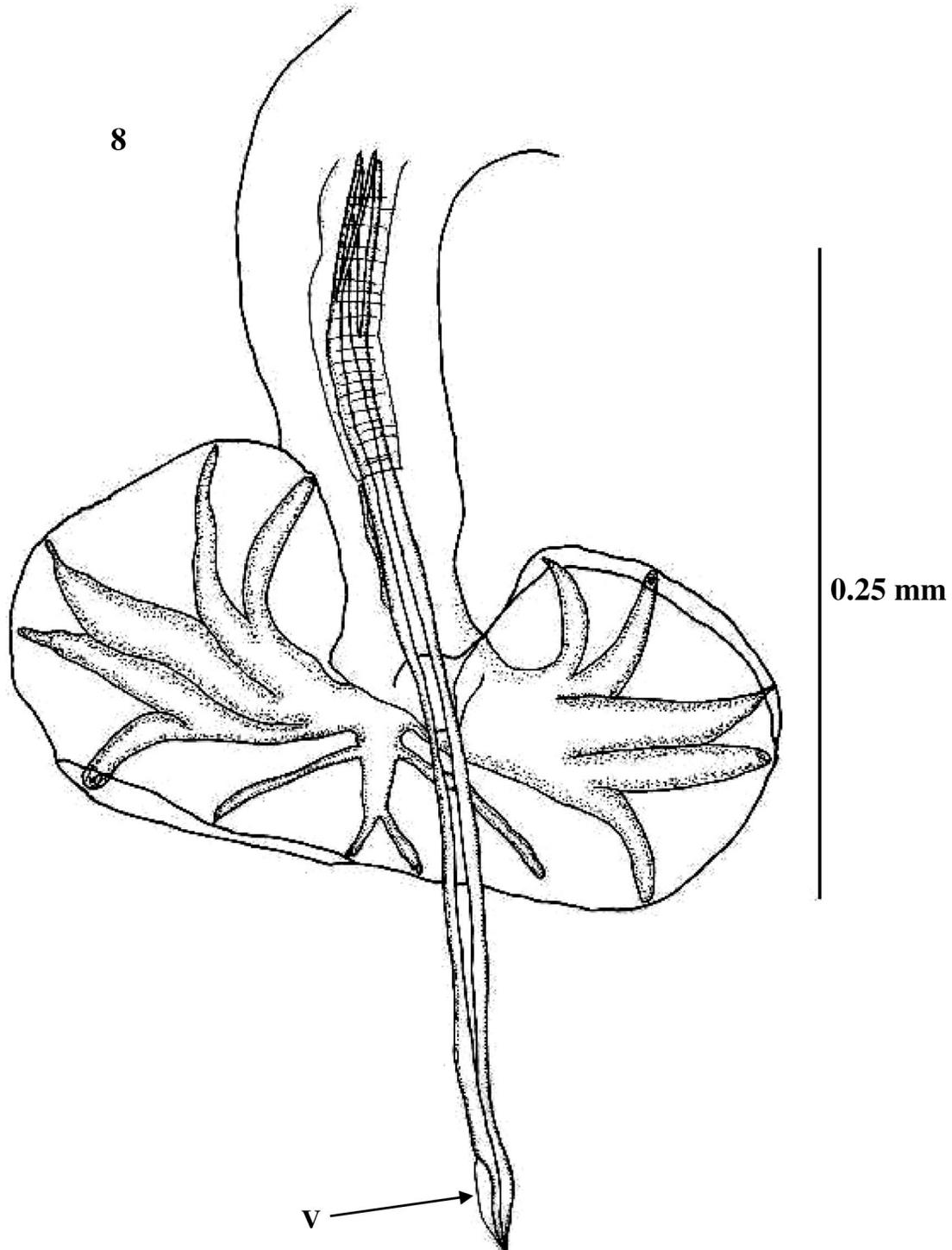


FIGURE 8. Male of *V. geomyos* n. sp., a parasite of *G. attwateri* from Welder Wildlife Refuge, Texas. Caudal bursa with typical pattern of *Vexillata*, identical in both bursal lobes (2–2–1). V, velum.

Site of infection: Small intestine.

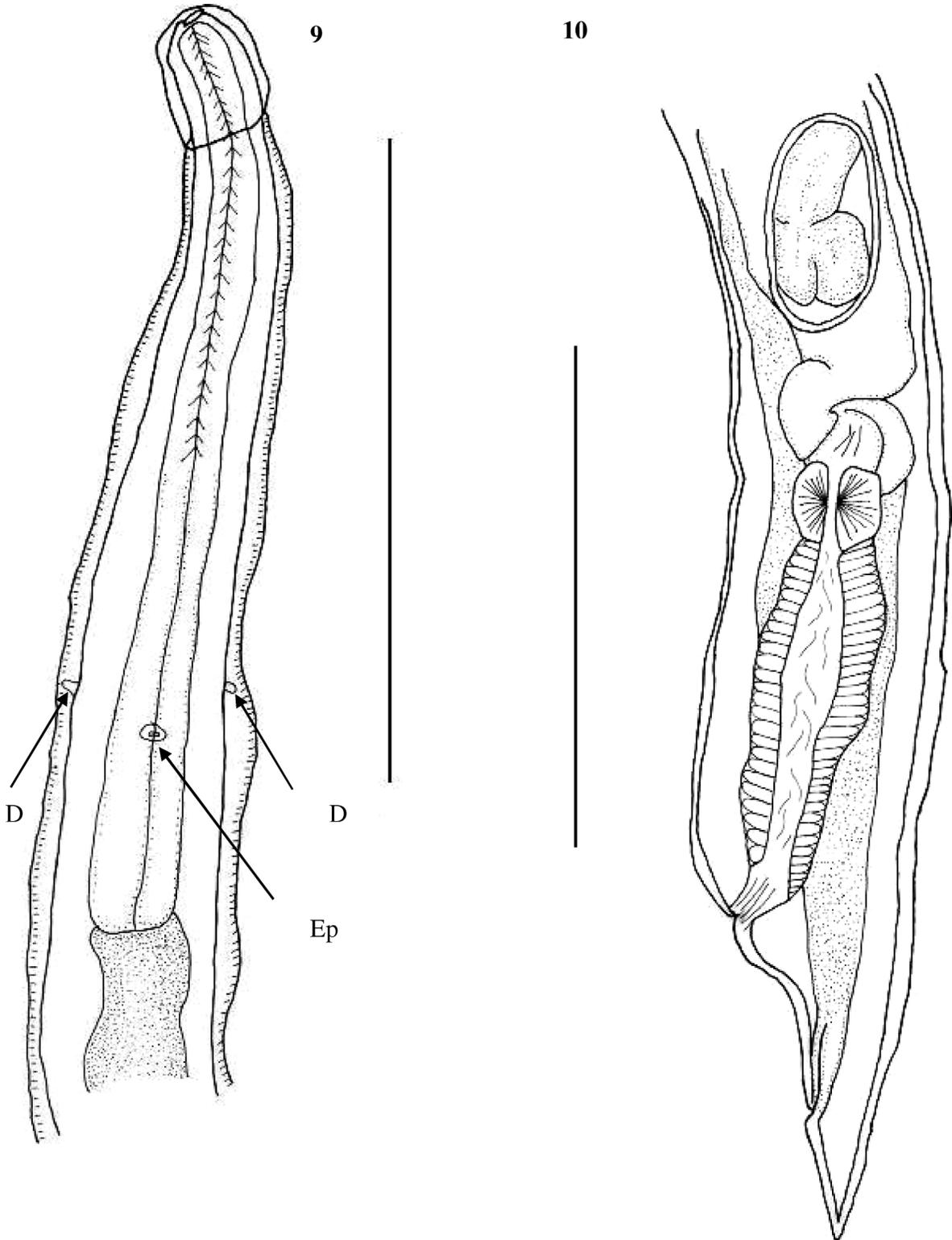
Prevalence and mean intensity: Thirteen of 22 (59%) *G. attwateri* were infected with *V. geomyos*. The intensity of infections ranged from 1 to 35 with average 11.9 individuals per host.

Type specimens: Holotype male, CNHE 5281; allotype female, CNHE 5282; paratypes CNHE 5283; and USNPC 095895.

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

Remarks

Vexillata currently includes 13 species, distributed in the Americas (Durette-Desset and Digiani, 2005; Falcón-Ordaz and García-Prieto, 2005). These species have been differentiated basically by the number of cuticular ridges in the synlophe at midbody; the new species described herein possesses 12 cuticular ridges, and based on this character,



FIGURES 9–10. *V. geomyos* n. sp., parasite of *G. atwateri* from Welder Wildlife Refuge, Texas. (9) Anterior end of male showing cephalic inflation, excretory pore (Ep), and deirids (D). (10) Posterior end showing the ovijector. Bar = 0.2 mm.

it can be distinguished from *V. liomyos* Falcón-Ordaz, Gardner and Pérez-Ponce de León, 2001 (that possesses 9 cuticular ridges); *Vexillata chabaudi* Yoyotte, 1972; *Vexillata chitwoodi* Durette-Desset and Digiani, 2005; *V. petteri* Durette-Desset, 1970; *V. scorzai* Guerrero, 1984; and *V. tejerai* Guerrero, 1984 (which have 11 ridges); and from *Vexillata noviberiae* (Dickmans, 1935) Durette-Desset and Digiani, 2005 that possesses 13 ridges at midbody. In addition, *V. geomyos* differs from these species by the structure of dorsal ray: in *V. chabaudi*, *V. chitwoodi*, *V. petteri*, *V. scorzai*, and *V. tejerai*, the dorsal ray is divided in 2 branches at distal quarter, whereas in the new species, dorsal ray is divided postequatorially; in *V. liomyos* the dorsal ray has a thin velum (which is absent in *V. geomyos*), and in *V. noviberiae* rays 9 (external branches) are smaller than rays 10 (internal branches), whereas in the new species this pattern is inverted.

The remaining 6 species [*V. armandae* (Gardner et al., 1994), *V. brooksi* (Falcón-Ordaz and García-Prieto, 2005), *V. convoluta* (Caballero and Cerecero, 1943), *V. dessetae* (Denke, 1977), *V. legallae* (Denke, 1977), and *V. vexillata* (Hall, 1916)] possess 12 cuticular ridges at midbody, like *V. geomyos* n. sp.; *V. armandae*, *V. dessetae*, and *V. vexillata* have the dorsal ray with 2 short branches arising from main trunk, whereas *V. geomyos* lacks dorsal ray branches. In addition, spicules in *V. armandae* and *V. vexillata* lack a velum at the tip, whereas in the new species this structure is well developed. Finally, in *V. dessetae* rays 10 are divided into 2 small branches at the tip, whereas in *V. geomyos* these rays are entire.

Vexillata geomyos closely resembles *V. convoluta*, *V. legallae*, and *V. brooksi* because they also lack 2 short branches arising from main trunk at dorsal ray. However, *V. geomyos* can be distinguished from *V. brooksi* because its spicules are divided at the tip (whereas in the new species spicules are entire). *Vexillata legallae* and *V. convoluta* differ from *V. geomyos* in the number and arrangement of cuticular ridges at the posterior region of the body. Descriptions of *V. legallae* (Denke, 1977) and *V. convoluta* (Caballero and Cerecero, 1943; Durette-Desset, 1972) only refer to the structure of synlophe at the midbody. However, Falcón-Ordaz and García-Prieto (2004, 2005), based on the examination of type specimens, described the synlophe of both species at the posterior region; males of *V. legallae* and *V. convoluta* possess a well-developed carene (absent in the new species), and the number of ridges is 11 and 12 versus 10, respectively. In addition, ridges of *V. geomyos* are homogeneous in size, whereas in the other 2 species ridges have different size. Likewise, females of *V. legallae* and *V. convoluta* have 12 and 11 ridges at sphincter region, respectively, and *V. geomyos* possesses only 9 at the same level.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Maria Antonieta Arizmendi and Luis García-Prieto, Instituto de Biología, UNAM, for helpful comments on earlier version of the manuscript.

LITERATURE CITED

- CABALLERO, E. AND M. C. CERECERO. 1943. *Longistriata convoluta* n. sp. (Nematoda: Trichostrongylidae) parásito del intestino de una

- “tuza” *Cratogeomys merriami* (Thomas). *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas* **14**: 201–205.
- CHEN, H., AND N. O. DRONEN. 2004. Population genetic structures of *Hymenolepis weldensis* in two pocket gopher species. *Journal of Parasitology* **90**(S1): 109.
- DENKE, A. M. 1977. Quatre nouveaux Nématodes Héligmosomes parasites de Rongeurs du Mexique. *Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle* **327**: 777–787.
- DRONEN, N. O., R. M. PITTS, AND M. J. SMOLEN. 1994. *Monoecocestus centroovarium* sp. n. (Cestoda: Anoplocephalidae) from Attwaters pocket gopher, *Geomys attwateri*, from the San Antonio Area of Texas. *Journal of the Helminthological Society of Washington* **61**: 61–63.
- DURETTE-DESSET, M. C. 1972. Compléments morphologiques à l'étude de quelques Nématodes Héligmosomes, parasites de Rongeurs Américains. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée* **47**: 243–249.
- . 1985. Trichostrongyloides nematodes and their vertebrate hosts: Reconstruction of the phylogeny of a parasitic group. *Advances in Parasitology* **24**: 239–306.
- , AND M. C., DIGIANA. 2005. Systematic position of some nearctic Heligmosomoidea (Nematoda: Trichostrongylina) from the U.S. National Parasite collection and their description. *Journal of Parasitology* **91**: 893–899.
- FALCÓN-ORDAZ, J., AND L. GARCÍA-PRieto. 2004. Análisis Morfológico de algunos Trichostrongilinos (Strongylida) depositados en la Colección Nacional de Helmintos del Instituto de Biología, UNAM, México. *Revista de Biología Tropical* **45**: 1691–1694.
- , AND ———. 2005. New species of *Vexillata* (Nematoda: Trichostrongylina: Ornithostrongylidae) parasite of *Heteromys desmarestianus* (Rodentia: Heteromyidae) from Costa Rica. *Journal of Parasitology* **91**: 329–334.
- GARDNER, S. L., E. B. FONG, L. AL-BANNA, AND S. T. RAYMOND. 1994. A new species of *Vexillata* (Nematoda: Ornithostrongylidae) from the coarse-haired pocket mouse *Chaetodipus hispidus* in New Mexico. *Journal of Parasitology* **80**: 591–594.
- HALL, E. R., AND K. R. KELSON. 1959. *The mammals of North America*. Vithe Ronald Press, New York, 1083 p.
- HALL, M. C. 1916. Nematodes parasites of the orders Rodentia, Lagomorpha and Hyracoidea. *Proceedings of the United States National Museum* **50**: 258.
- JOLLEY, T. W., R. L. HONEYCUTT, AND R. D. BRADLEY. 2000. Phylogenetic relationships of pocket gophers (genus *Geomys*) based in the mitochondrial 12S rRNA gene. *Journal of Mammalogy* **81**: 1025–1034.
- McKENNA, C. M., AND S. K. BELL. 1997. *Classification of mammals above the species level*. Columbia University Press, New York, 631 p.
- RUSSELL, R. J. 1968. Evolution and classification of pocket gophers of the subfamily Geomyinae. *Occasional Papers Museum of Natural History University of Kansas* **16**: 473–579.

CAPÍTULO III

Análisis morfológico de algunas especies del Género *Vexillata*, con comentarios de su espectro hospedatorio y distribución geográfica.

Introducción

Hasta la fecha, estudios sobre la morfología del Género *Vexillata* han sido pocos, teniendo así que Falcón-Ordaz y García-Prieto (2004) analizan el sinlofo en la región anterior y posterior de *Vexillata vexillata* y *V. convoluta*. Mientras que Durette-Desset y Digiani (2005) estudian el eje de orientación del sinlofo en la región media del cuerpo de 12 especies de *Vexillata*.

El sinlofo es una estructura de gran importancia taxonómica para este tipo de nemátodos, en el presente capítulo se examina el sinlofo de las regiones anterior y posterior del cuerpo de machos y hembras de siete especies, cuyas descripciones originales solo presentan la morfología del sinlofo en la región media del cuerpo.

Material y método

Los heterómidos se capturaron con trampas Sherman a las cuales se les colocó avena como cebo y los geómidos con trampas de cebo. El intestino de los huéspedes se colocó en solución salina al 85%, revisándose con la ayuda de tijeras de punta redonda y agujas de disección. Los nemátodos recolectados se fijaron en ácido acético glacial transfiriéndose a alcohol al 70%. Así mismo, se obtuvo material donado de la Colección Nacional de Helmintos del Instituto de Biología, UNAM, México (CNHE), Muséum National d' Histoire Naturelle, Paris, Francia (MNHN) y United States National Parasite Collection, Beltsville, Maryland, USA (USNPC) y proporcionado por el Dr. Daniel Brooks. La observación del sinlofo se realizó de acuerdo con el método propuesto por Durette-Desset (1985); el cual consiste en cortar los ejemplares transversalmente en los niveles anterior, medio y posterior del cuerpo, mediante una navaja de bisturí, obteniendo cortes con un grosor de aproximadamente 0.110 mm.

Resultados

Análisis morfológico de seis especies del Género *Vexillata*

1) *Vexillata convoluta*: la descripción del sinlofo de esta especie fue realizada por Durette-Desset (1972) para la región media de los dos sexos y por Falcón-Ordaz y García-Prieto (2004) para las regiones anterior y posterior de un macho; ambos estudios efectuados a

partir de material depositado en la CNHE (2101 y 2102). Falcón-Ordaz y García-Prieto (2005) presentan cortes de la región posterior de un macho y una hembra recolectados en *Cratogeomys merriami*. Aquí se presentan nuevos cortes de sínlofo en las regiones anterior y posterior en machos y hembras, parásitos de *Cratogeomys thylorhinus*, recolectado en el municipio de Ecatepec, estado de México.

Macho. Región anterior.- Las espinas inician a diferentes niveles del cuerpo, siempre posteriores a la vesícula cefálica. Su número en esta región es de ocho, siendo éstas de diferentes tamaños y ligeramente perpendiculares a la pared del cuerpo. A la mitad de la longitud del esófago, se cuentan un total de 11 espinas, las cuales ya tiene el eje de orientación frontal característico del género; las espinas dorsales presentan un gradiente de tamaño del lado dorsal del cuerpo que va de mayor a menor y de derecha a izquierda, mientras que la quilla es pequeña (Fig. 1 A).

Región posterior.- En un corte transversal a la mitad de la longitud de las espículas, se observa una quilla pequeña, siendo las dos espinas que forman ésta de mayor tamaño que las 10 restantes que se distribuyen alrededor del cuerpo (Fig. 1C).

Hembra. Región anterior.- Al igual que el corte del macho a nivel de la longitud media del esófago, se presenta una quilla sostenida por dos espinas; las 10 espinas restantes tiene un eje de orientación frontal; del lado dorsal exhiben un gradiente de tamaño.

Región posterior.- A nivel de la unión útero-ovivector, se cuentan 11 espinas de diferentes tamaños, estando ocho localizadas ventralmente con una dirección perpendicular al cuerpo (Fig. 1 D).

Comentario: *Vexillata convoluta*, no había sido registrada desde su descripción por Caballero y Cerecero (1943); en el presente estudio se recolectó en *Cratogeomys merriami* en dos localidades: Tlalnepantla y Cuernavaca, Morelos; otros hospederos parasitados por esta especie son: *Cratogeomys thylorhinus* del municipio de Ecatepec, México y *Cratogeomys fulvescens* de Huamantla, Tlaxcala.

2) *V. legallae*: Denke (1977) basó la descripción del sínlofo en un solo corte de la región media de un macho. En este estudio, se presentan cortes a diferentes niveles de material donado del MNHN. Resalta el hecho de que a nivel anterior y medio las espinas tienen el mismo arreglo en machos y hembras de esta especie.

Macho. Región anterior.- Presenta 11 espinas y quilla, siendo la espina dorsal de ésta de menor tamaño que la ventral; eje de orientación frontal. Las espinas de la región dorsal del cuerpo tienen un gradiente de mayor a menor talla, con una dirección de derecha a izquierda (Fig. 2 A).

Región media.- Exhibe un total de 12 espinas, dispuestas de manera similar a la descrita para la región anterior (2 B).

Región posterior.- A la mitad de la longitud de las espículas, se observan 11 espinas de diferentes tamaños, con un eje de orientación frontal. Presenta una quilla sostenida por dos espinas del mismo tamaño (Fig. 2 D).

Hembra. Región posterior.- Se realizaron cortes a nivel del esfínter e infundíbulo; en la primera región se contaron 12 espinas, la quilla es pequeña con la espina ventral de mayor tamaño que la dorsal; eje de orientación frontal. Cuatro espinas dorsales presentan un gradiente de tamaño de mayor a menor y las seis restantes son de tamaño semejante. El sinlofo a este nivel sigue manteniendo un eje de orientación frontal. A nivel del infundíbulo, presentan seis espinas, una en la región ventral y las restantes localizadas en la región dorsal con el gradiente de talla ya mencionado (Fig. 2 C).

Comentario: la localidad tipo de esta especie es Los Tuxtlas, Veracruz; sin embargo, en el presente trabajo se registra parasitando a *Heteromys desmarestianus* en una nueva localidad en el municipio de Catemaco, Veracruz

3) *V. dessetae*: al igual que en la especie anterior el material fue donado por el MNHN. Denke (1977) basó la descripción del sinlofo en cortes de la región media del macho. Cabe resaltar que el arreglo, número de espinas y eje de orientación frontal del sinlofo de machos y hembras de las regiones anterior y media son iguales.

Macho. Región anterior.- Con 12 espinas alrededor del cuerpo; las espinas dorsales tienen el gradiente de crecimiento ya descrito en las especies anteriores, mientras que las ventrales no tienen un patrón definido, observándose una quilla bien desarrollada, con la espina dorsal de menor tamaño que la ventral (Fig. 3 A).

Región media.- Tiene un número total de 12 espinas, observándose en la descripción de Denke (1977) que las de la quilla son del mismo tamaño, mientras que en los cortes realizados en el presente estudio, la espina dorsal es de menor tamaño que la ventral (Fig. 3 B).

Región posterior.- En cortes a la mitad de la longitud de las espículas, tiene 11 espinas (cinco dorsales y cuatro ventrales), con la quilla sostenida por una espina dorsal de menor tamaño que ventral (Fig. 3 D).

Hembra. Región posterior.- Se obtuvieron cortes a nivel del oviyector y esfínter, observando 10 espinas (cuatro ventrales y cuatro dorsales) de diferentes tamaños; quilla pequeña con espinas del mismo tamaño (Fig. 3 C).

Comentario: al igual que *Vexillata legallae* la localidad tipo de la especie es Los Tuxtlas, Veracruz, sin embargo en el presente trabajo se registra parasitando a *Heteromys desmarestianus* en una nueva localidad en el municipio de Catemaco, Veracruz, encontrándose *V. legallae* y *V. dessetae* parasitando al mismo organismo.

4) *V. petteri*: Durette-Desset (1970) presenta cortes a la mitad del cuerpo de una hembra, así como a nivel del útero, del esfínter y de la región de las espículas; cabe mencionar que en ese trabajo, el corte a la mitad del cuerpo exhibe 10 espinas y posteriormente Denke (1977) presenta un corte en la región media de una hembra con 11 espinas.

Macho. Región anterior.- Esta región tiene el mismo número (9) y arreglo de espinas en machos y hembras, cuatro dorsales con un gradiente de talla de mayor a menor con dirección de izquierda a derecha, tres ventrales del mismo tamaño y dos que sostienen la quilla (Fig. 4 A).

Región media.- Al igual que en las hembras, se cuentan 11 espinas, cuatro dorsales con el gradiente de crecimiento mencionado anteriormente, cinco ventrales y una quilla, en la cual la espina dorsal es de menor tamaño que la ventral (Fig. 4 B).

Región posterior.- Al igual que en el esquema presentado por Durette-Desset (1970), el sinlofo está constituido por dos espinas ventrales (Fig. 4 D).

Hembra Región posterior.- En un corte a la altura del esfínter, se observan tres espinas ventrales y una dorsal; del lado izquierdo se forma una pequeña ala al igual que en el corte original (Durette-Desset, 1970); en un corte a nivel del infundíbulo, el ala desaparece quedando dos espinas ventrales y una dorsal (Fig. 4 C).

Comentario: material donado por el MNHN.

5) *V. chabaudi*.- Yoyote (1972) describió el sinlofo de la región media del cuerpo de esta especie, basándose en el corte de un macho. El número y arreglo de las espinas del sínlofo en la región anterior y media son iguales en machos que en hembras.

Macho. Región anterior.- El número de espinas en la especie es de 10, distribuyéndose cuatro dorsales, tres ventrales con un tamaño similar y dos en la quilla, siendo la espina dorsal de menor tamaño que la ventral. (Fig. 6 A)

Región media.- Al igual que en la descripción original, se contaron 11 espinas: cuatro dorsales que tienen un gradiente de talla de mayor a menor de izquierda a derecha; cinco ventrales de diferentes tamaños y dos que forman la quilla, siendo la dorsal de menor tamaño que la ventral (Fig. 6 B).

Región posterior.- En cortes a la mitad de la longitud de las espículas se observan dos espinas ventrales y dos espinas más en el lado izquierdo del cuerpo del mismo tamaño (Fig. 6 D).

Hembra. Región posterior.- En un corte en el infundíbulo, las espinas del sinlofo se presentan en un número de 10, encontrándose alrededor del cuerpo con una disposición perpendicular y de diferentes tamaños (Fig. 6 C).

Comentario: material donado por el MNHN.

6) *V. liomyos*: Falcón-Ordaz, Gardner y Pérez-Ponce de León (2001) en la descripción de la especie analizan el sinlofo a diferentes niveles del cuerpo no encontrando diferencia alguna en el material revisado en el presente trabajo.

Comentario: esta especie se registro parasitando a *Liomys pictus* proveniente de la Estación Biológica de Chamela (Falcón-Ordaz, *et al.*, 2001), sin embargo, en el presente estudio se encontró parasitando a *Liomys irroratus* en los municipios de Hueyotlilpan y Panotla en el Estado de Tlaxcala y Tlaltizapan, Morelos.

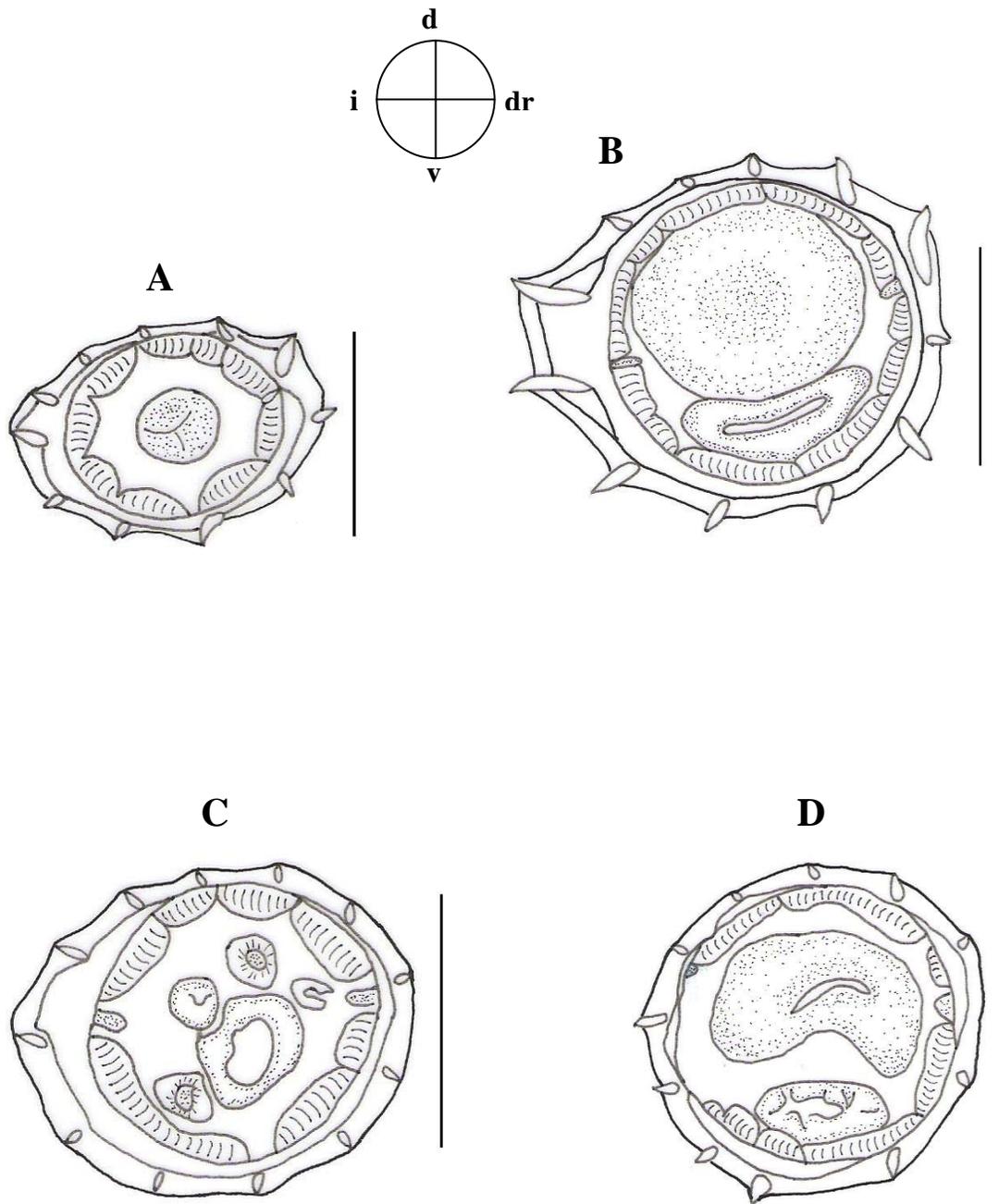


Fig. 1. *Vexillata convoluta*, cortes a diferentes niveles del cuerpo. Macho: **A**) región anterior del cuerpo y **C**) región posterior del cuerpo, aproximadamente a la mitad de la longitud de las espículas. Hembra: **B**) región media del cuerpo y **D**) región posterior del cuerpo a nivel de la unión útero-oviyector. Orientación de los cortes: d=dorsal, v=ventral, dr=derecha e i=izquierda. Escala: A, B, C, y D 0.05mm.

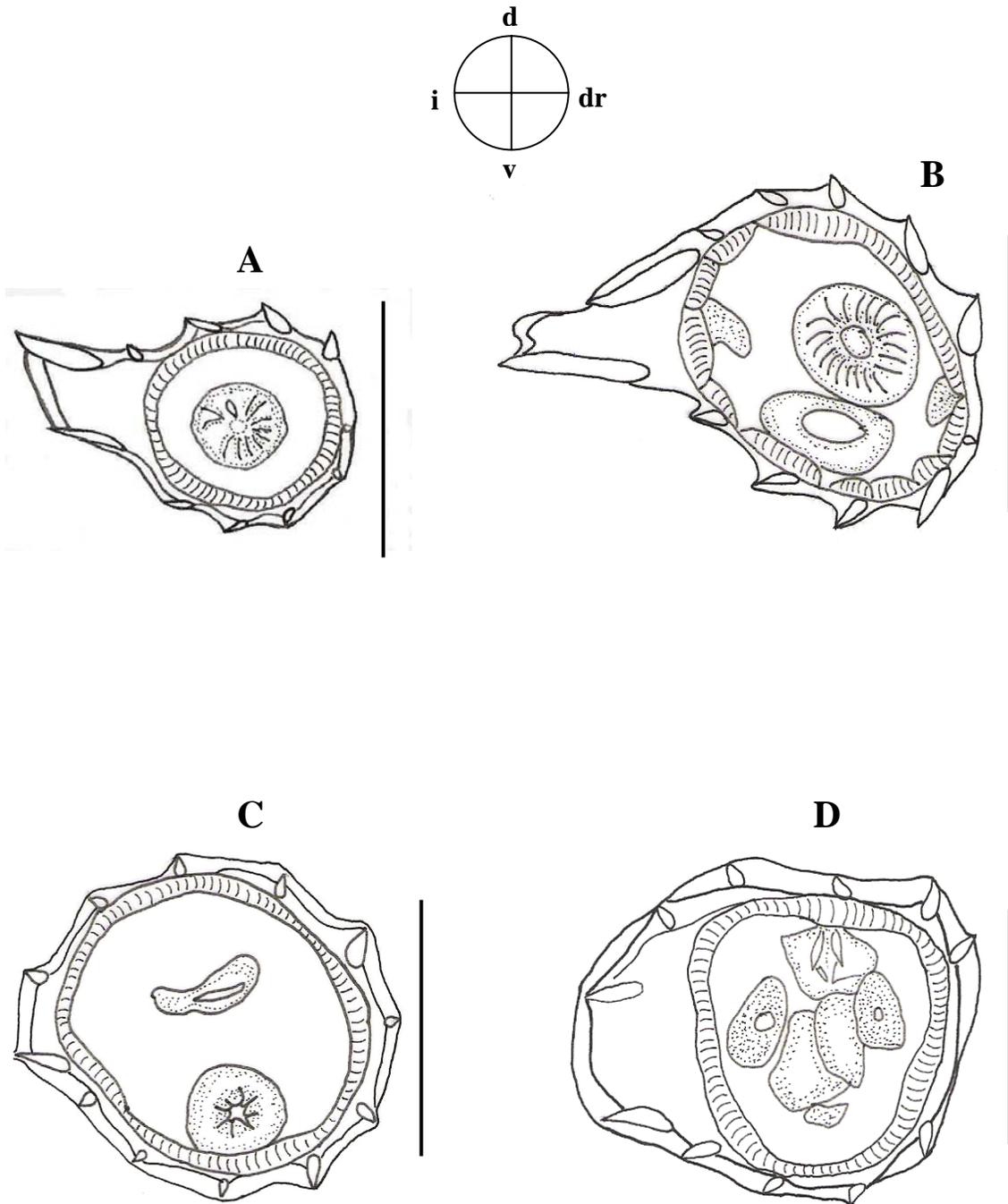


Fig. 2. *Vexillata legallae*, cortes a diferentes niveles del cuerpo. Macho: **A)** región anterior del cuerpo; **B)** región media del cuerpo y **D)** región posterior del cuerpo, aproximadamente a la mitad de la longitud de las espículas. Hembra: **C)** región posterior del cuerpo a nivel del esfínter. Orientación de los cortes: d=dorsal, v=ventral, dr=derecha e i=izquierda. Escala: A, B, C, y D 0.05mm.

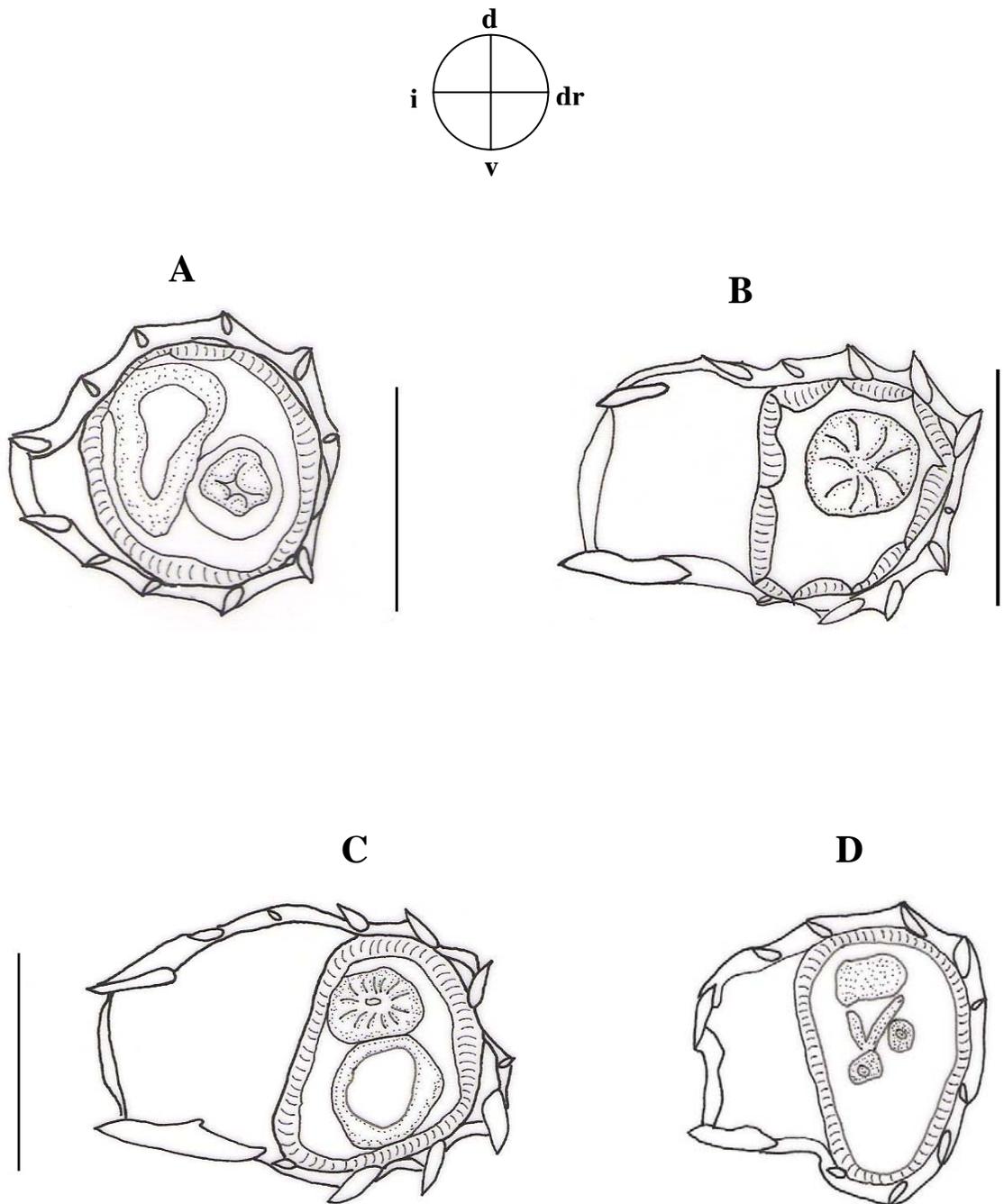


Fig. 3. *Vexillata dessetae*, cortes a diferentes niveles del cuerpo. Macho: **A**) región anterior del cuerpo; **B**) región media del cuerpo y **D**) región posterior del cuerpo, aproximadamente a la mitad de la longitud de las espículas. Hembra: **C**) región posterior del cuerpo a nivel del oviyector. Orientación de los cortes: d=dorsal, v=ventral, dr=derecha e i=izquierda. Escala: A, B, C y D 0.05 mm.

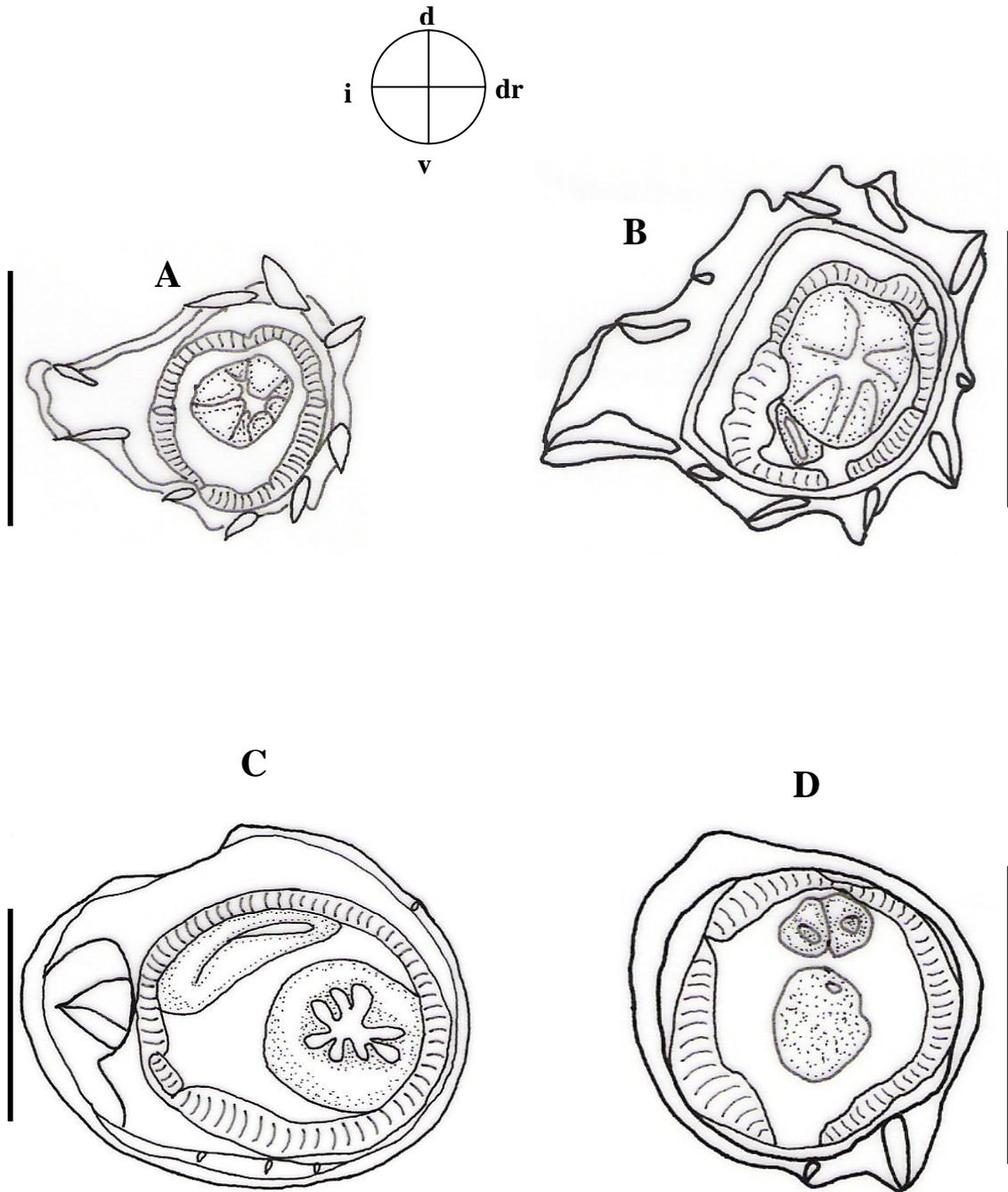


Fig. 4. *Vexillata petteri*, cortes a diferentes niveles del cuerpo. Macho: **A**) región anterior del cuerpo; **B**) región media del cuerpo y **D**) región posterior del cuerpo, aproximadamente a la mitad de la longitud de las espículas. Hembra: **C**) región posterior del cuerpo a nivel del esfínter. Orientación de los cortes: d=dorsal, v=ventral, dr=derecha e i=izquierda. Escala: A, B, C y D 0.05 mm.

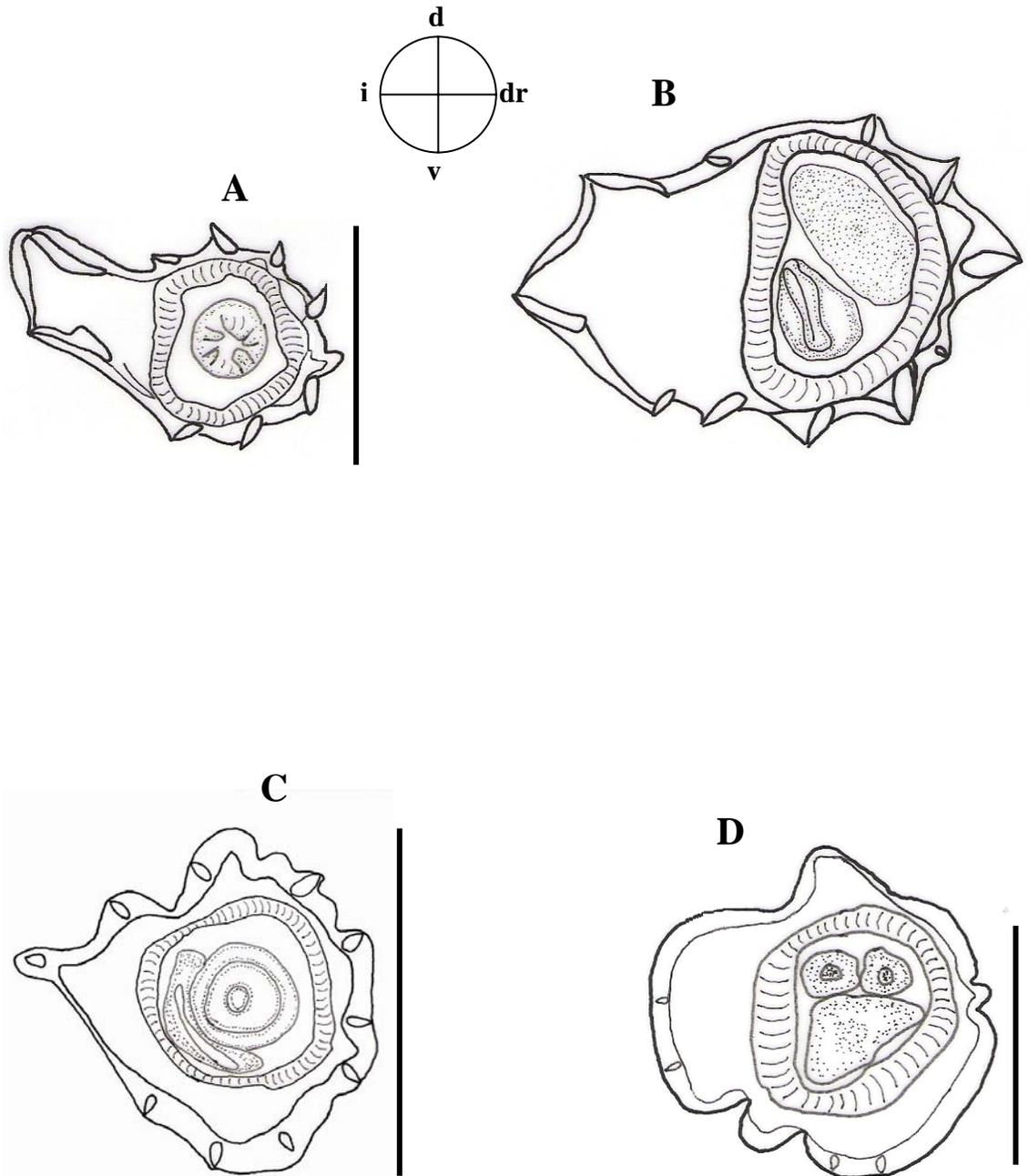


Fig. 5. *Vexillata chabaudi*, cortes a diferentes niveles del cuerpo. Macho: **A**) región anterior del cuerpo; **B**) región media del cuerpo y **D**) región posterior del cuerpo, aproximadamente a la mitad de la longitud de las espículas. Hembra: **C**) región posterior del cuerpo a nivel del infundíbulo. Orientación de los cortes: d=dorsal, v=ventral, dr=derecha e i=izquierda. Escala: Escala A, B y D 0.05 mm; C 0.1mm.

Análisis morfológico de *Vexillata vexillata*

En este estudio se detectaron seis morfotipos para *V. vexillata*, cuatro durante la revisión de material depositado en colecciones científicas (USNPC, CNHE y del Dr. Daniel Brooks) y las dos restantes durante los muestreos realizados.

Las características por las que se incluyen en dicha especie son: la presencia de ramas anexas en el rayo dorsal y sinlofo en la región media del cuerpo con 12 espinas. Estos rasgos también se presentan en otras dos especies: *V. dessetae* y *V. armandae*. Sin embargo, la primera difiere de los morfotipos porque presenta la papila 10 del rayo dorsal bifurcada, mientras que en *V. vexillata* dicha papila es entera; de *V. armandae* difieren debido a que ésta cuenta con un cono genital con dos pequeños rayos conectados por un velo localizado dorsalmente, y dos pequeñas papilas dorsales, además de que las ramas del rayo dorsal son asimétricas, mientras que los morfotipos de *V. vexillata* carecen de velo y las ramas del rayo dorsal son simétricas.

Los morfotipos presentan algunas diferencias en las medidas del cuerpo, como se puede observar en la Tabla 1, así como algunas diferencias en la forma y arreglo de las espinas del sínlofo en la región media y posterior de ambos sexos (Figs. 6-8), y en la división en dos ramas del rayo dorsal (Tabla 2 y Fig. 9).

Es importante señalar que el material proveniente de la USNPC 066271, que se encontró parasitando a *Chaetodipus hispidus* proveniente de Texas, EUA, tiene las mismas características que el recolectado en *Perognathus flavus* del Estado de México, por lo que se le incluyó junto con éste en el morfotipo 2.

Por otro lado, se consideró como morfotipo 0 a los ejemplares tipo de la especie, pero al encontrarse éstos montados en preparaciones permanentes, no pudo realizarse el estudio del sínlofo; sin embargo, se estudió material voucher de la USNPC (031377), registrado en el hospedero tipo de la especie (*Thomomys talpoides*), procedente de Nuevo México, EUA; debido a que los rasgos morfométricos de éstos (1 macho y 3 hembras) coinciden con los presentados en la diagnosis original de la especie, consideramos que los cortes del sínlofo que realizamos, representan la primera descripción de los mismos para esta especie.

Cabe señalar que esta especie es la que se registró en un mayor número de nuevos hospederos y localidades: *Thomomys bottae* de Nuevo México, EUA; *Perognathus flavus* de

Axapusco, México; *Liomys irroratus* de Huehuetla, Hidalgo (segundo registro) y *Liomys salvini* de Guanacaste, Costa Rica.

Tabla 1. Intervalo de medidas (mm) de los diferentes morfotipos de *Vexillata* encontrados durante el desarrollo del presente estudio.

Localidad y hospedero	Colorado, EUA, <i>Thomomys talpoides</i> . MORFOTIPO 0 Hall (1916)		Nuevo México, EUA, <i>T talpoides</i> . MORFOTIPO 0	Nuevo México, EUA, <i>T. bottae</i> . MORFOTIPO 1		Texas, EUA, <i>Chaetodipus hispidus</i> Estado de México, México, <i>Perognathus flavus</i> . MORFOTIPO 2		Hidalgo, México, <i>Liomys irroratus</i> MORFOTIPO 3		Chiapas, México, <i>L. pictus</i> MORFOTIPO 4		Guanacaste, Costa Rica, <i>L. salvini</i> MORFOTIPO 5	
	MACHO	HEMBRA	HEMBRA	MACHO	HEMBRA	MACHO	HEMBRA	MACHO	HEMBRA	MACHO	HEMBRA	MACHO	HEMBRA
Longitud total	2.50-3.50	3.40-4.30	3.78-7.00	4.78-5.39	8.568-9.506	5.77-6.753	8.549-10.251	2.06-8.90	2.84-12.90	5.08-10.50	8.93-16.81	6.19-14.60	12.07-19.33
Ancho medio	0.08	0.09	0.054-0.075	0.09-0.12	0.081-0.150	0.105-0.157	0.129-0.185	0.06-0.23	0.06-0.18	0.12-0.20	0.14-0.24	0.09-0.17	0.15-0.22
Vesícula cefálica L x A			0.031-0.033 x 0.024-0.033	0.045 x 0.036	0.045 x 0.036	0.056-0.059 x 0.049-0.052	0.056-0.066 x 0.052-0.056	0.03-0.04 x 0.03-0.05	0.03-0.05 x 0.03-0.05	0.04 x 0.03-0.05	0.03-0.04 x 0.03-0.04	0.03-0.04 x 0.03-0.05	0.03-0.04 x 0.03-0.05
Anillo nervioso	0.11	0.11				0.185-0.241	0.255-0.262			0.18-0.20	0.21-0.24		0.21-0.24
Poros excretor			0.216-0.258	0.327	0.240-0.366	0.392-0.409	0.371-0.462	0.21-0.41	0.18-0.42	0.25-0.41	0.24-0.41	0.29-0.43	0.38-0.44
Papilas cervicales			0.222-0.27	0.315	0.240-0.390	0.392-0.416	0.367-0.455	0.18-0.39	0.21-0.40	0.18-0.39	0.23-0.39	0.28-0.40	0.35-0.44
Esófago L x A	0.27-0.29 x 0-03	0.25x0.03	0.267-0.324 x 0.021-0.030		0.291-0.486 x 0.03	0.374-0.416 x 0.035-0.038	0.437-0.500 x 0.028-0.042	0.29-0.42 x 0.03-0.04	0.30-0.54 x 0.03-0.05	0.32-0.42 x 0.03-0.04	0.35-0.49 x 0.03-0.04	0.34-0.43 x 0.03-0.05	0.41-0.48 x 0.04-0.05
Espicula derecha L.	0.36-0.44			0.417-0.429		0.490-0.546		0.37-0.64		0.45-0.70		0.27-0.36	
Espicula izquierda L.	0.36-0.44			0.417-0.429		0.490-0.546		0.36-0.63		0.49-0.69		0.27-0.36	
Gubernaculo L.				0.042-0.048		0.038-0.063		0.02-0.06		0.03-0.06			
Cono genital L.				0.030-0.036		0.038-0.042		0.01-0.03		0.03-0.06		0.02-0.07	
Vulva		0.12	0.066-0.099		0.153-0.180		0.161-0.238		0.10-0.23		0.11-0.17		0.15-0.22
Vagina			0.021		0.03		0.035-0.052		0.02-0.03		0.02-0.05		0.02-0.03
Vestíbulo			0.066-0.069		0.075-0.150		0.122-0.192		0.06-0.16		0.07-0.13		0.10-0.15
Esfínter			0.03		0.027-0.042		0.035-0.052		0.02-0.04		0.03-0.04		0.02-0.04
Infundíbulo			0.060-0.096				0.122-0.315		0.02-0.10		0.09-0.10		0.09-0.19
Ano		0.03-0.04	0.030-0.039		0.114-0.123		0.045-0.077		0.03-0.05		0.03-0.05		0.03-0.09
Huevos L x A		0.07x0.03	0.045-0.063 x 0.027-0.03		0.045-0.066 x 0.030-0.036		0.056-0.066 x 0.052-0.056		0.04-0.07 x 0.02-0.05		0.05-0.07 x 0.03		0.04-0.07 x 0.03-0.04

Tabla 2. Caracteres por los cuales se distinguen seis morfotipos de *V. vexillata*.

	Sínlofo en la región media del macho. Tamaño de las espinas de la quilla.	Sínlofo en la región media-ventral del macho. Gradiente de mayor a menor con dirección de izquierda a derecha.	Sínlofo en la región media del macho. Dirección y tamaño de la primera espina ventral.	Sínlofo en la región media de la hembra. Tamaño de las espinas de la quilla.	Sínlofo en la región posterior del macho. Tamaño de las espinas.	Sínlofo en la región posterior del macho. Arreglo aproximadamente a la mitad de la longitud de las espículas.	Sínlofo en la región posterior del macho y hembra. Presencia de quilla	Division del rayo dorsal de acuerdo a la longitud del rayo dorsal	Gubernaculo
<i>V. vexillata</i> MORFOTIPO 0	Espina ventral mayor que la dorsal.	Algunas lo presentan.	1ª espina menor que la 2ª con dirección derecha a izquierda.	Espina ventral mayor que la dorsal.	Diferente tamaño.	Espinas en la región dorsal (5) y ventral (4), carecen en las regiones laterales.	No presenta..	30 a 40%	Presente.
<i>V. vexillata</i> MORFOTIPO 1	Espina ventral menor que la dorsal.	No esta bien definido.	1ª espina menor que la 2ª con dirección perpendicular a la pared del cuerpo.	Espina ventral mayor que la dorsal.	Diferente tamaño.	Espinas en la región dorsal (5) y ventral (5), carecen en las regiones laterales.	No presenta.	50 a 60%	Presente.
<i>V. vexillata</i> MORFOTIPO 2	Espinas del mismo tamaño.	No esta bien definido.	1ª espina menor que la 2ª con dirección de derecha a izquierda.	Espinas del mismo tamaño.	Diferente tamaño.	Espinas en la región dorsal (4-6) y ventral (4-5), carecen en las regiones laterales.	No presenta.	10 a 25 %	Presente.
<i>V. vexillata</i> MORFOTIPO 3	Espina ventral mayor que la dorsal.	No esta bien definido.	1ª espina menor que la 2ª con dirección de derecha a izquierda.	Espina ventral menor que la dorsal.	Igual tamaño.	Espinas en la región dorsal (4) y ventral (4), carecen en las regiones laterales.	No presenta..	30 a 40%	Presente.
<i>V. vexillata</i> MORFOTIPO 4	Espina ventral mayor que la dorsal.	No esta bien definido.	1ª espina menor que la 2ª con dirección de derecha a izquierda.	Espina ventral menor que la dorsal.	Diferente tamaño.	Espinas en la región dorsal (5) y ventral (5), se presentan alrededor del cuerpo.	Presenta.	30 a 40%	Presente.
<i>V. vexillata</i> MORFOTIPO 5	Espina ventral mayor que la dorsal.	Bien definido.	1ª espina menor que la 2ª con dirección perpendicular a la pared del cuerpo.	Espinas del mismo tamaño.	Diferente tamaño.	Espinas en la región dorsal (5) y ventral (5), se presentan alrededor del cuerpo.	Presentan.	10 a 25 %	No presenta.

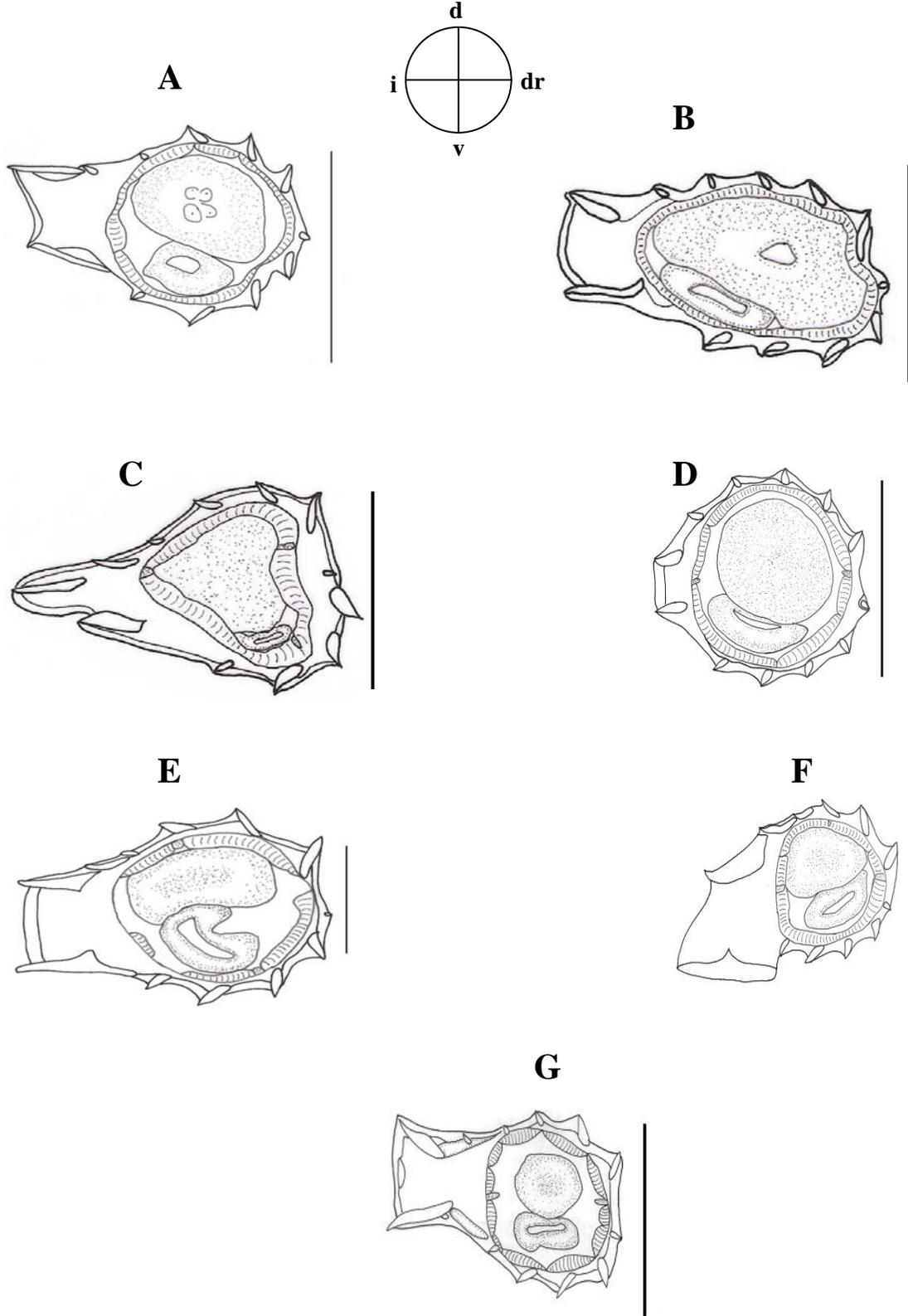


Fig. 6. Cortes de la región media del cuerpo mostrando las diferencias en el sínlofo para los seis morfotipos de *Vexillata vexillata*. **A**) morfotipo 0 (hembra); **B**) morfotipo 1 (hembra); **C**) morfotipo 1 (macho); **D**) morfotipo 2 (hembra); **E**) morfotipo 3 (hembra); **F**) morfotipo 4 (hembra); **G**) morfotipo 5 (hembra). Orientación de los cortes: d=dorsal, v=ventral, dr=derecha e i=izquierda. Escala: A, B, C, D, F y G 0.1 mm; E 0.05 mm.

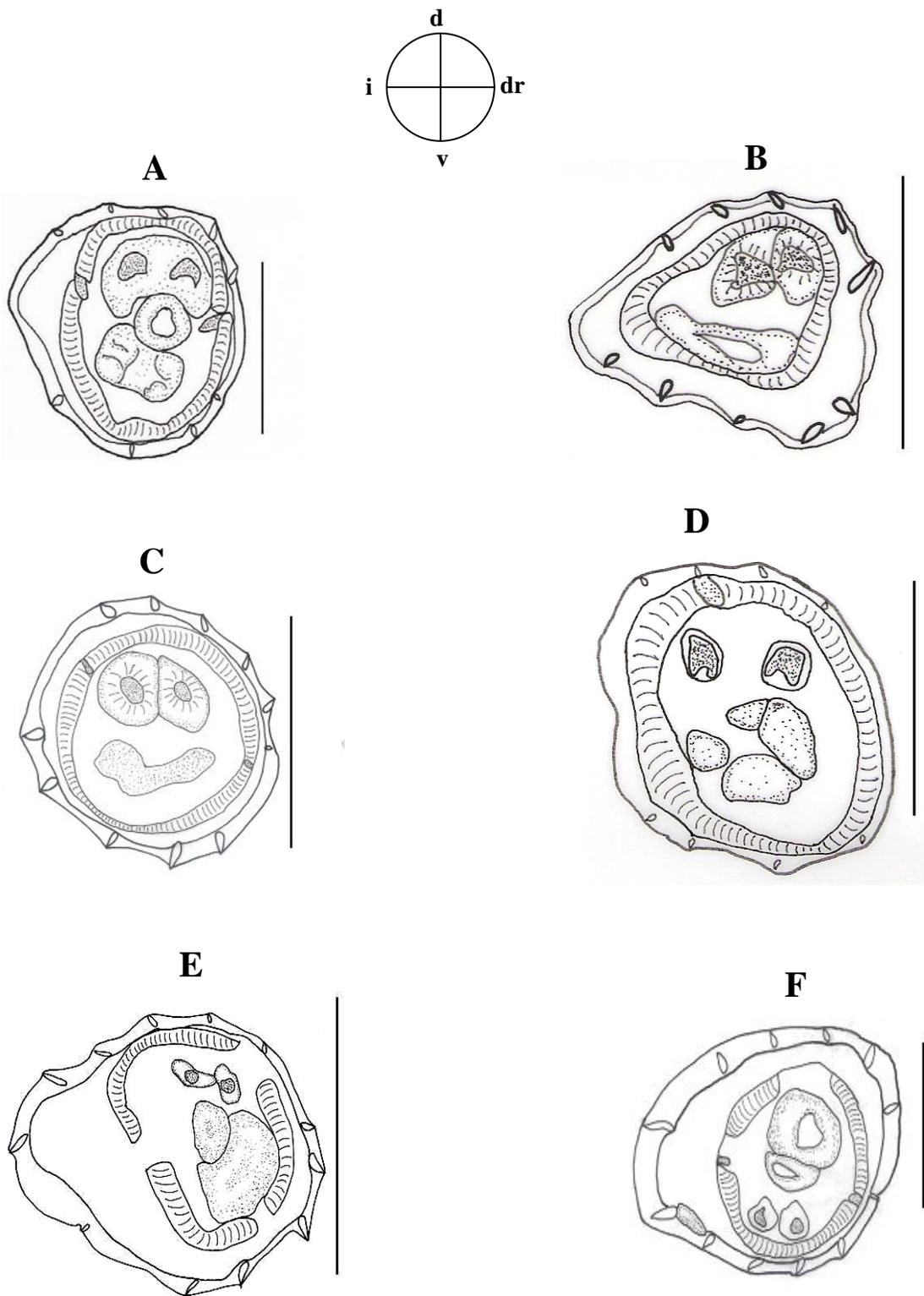


Fig. 7. Cortes aproximadamente a la mitad de la longitud de las espículas en machos, mostrando las diferencias en el sínlofo para los seis morfotipos de *Vexillata vexillata*. **A)** morfotipo 0; **B)** morfotipo1; **C)** morfotipo 2; **D)** morfotipo 3; **E)** morfotipo 4; **F)** morfotipo 5. Orientación de los cortes: d=dorsal, v=ventral, dr=derecha e i=izquierda. Escala: A, D y F 0.05mm; B y C, 0.1mm; E 0.2 mm.

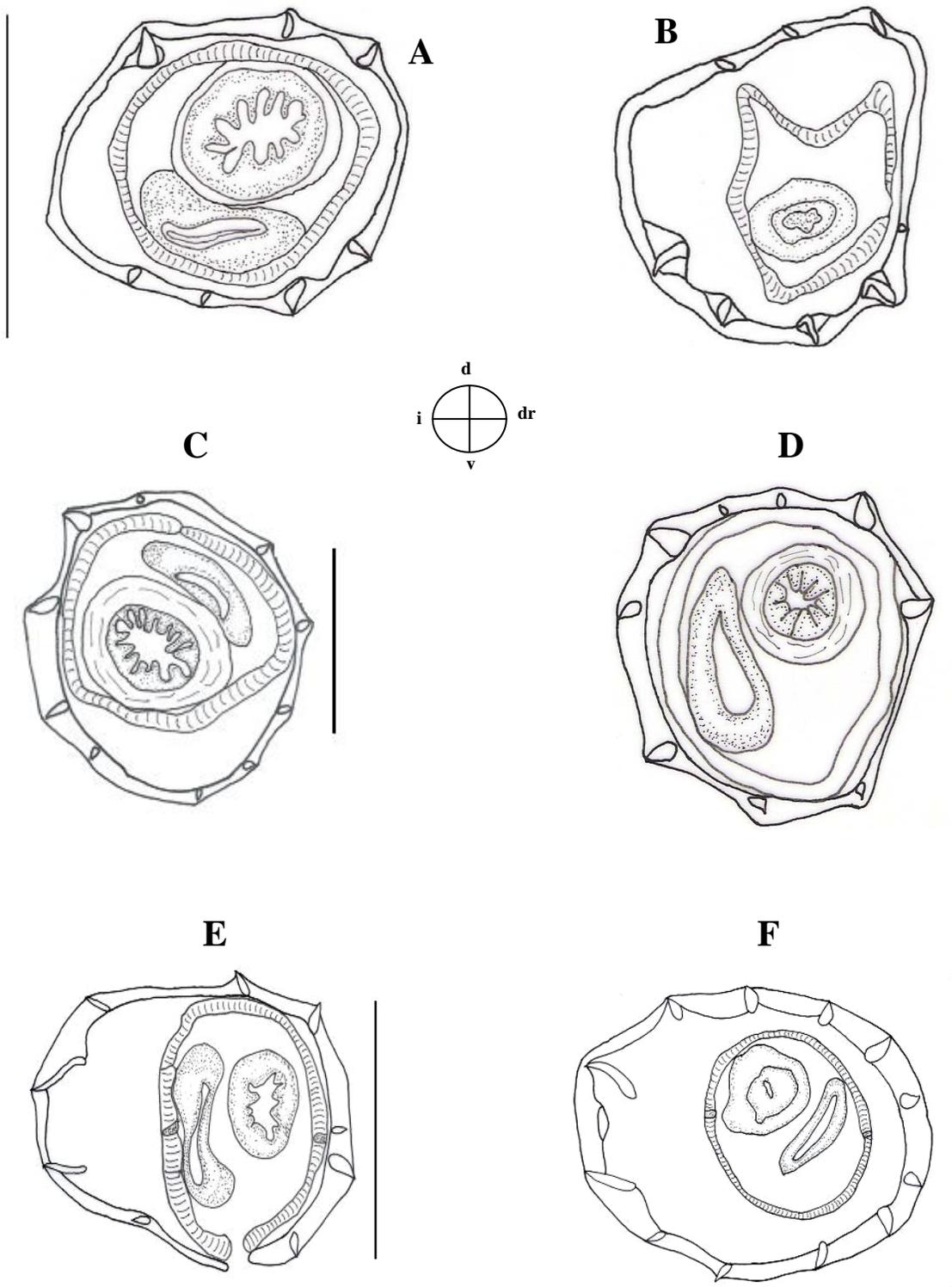


Fig. 8. Cortes de la región posterior del cuerpo en hembras mostrando las diferencias en el sínlofo para los seis morfotipos de *Vexillata vexillata*. **A)** morfotipo 0; **B)** morfotipo 1; **C)** morfotipo 2; **D)** morfotipo 3; **E)** morfotipo 4; **F)** morfotipo 5. Orientación de los cortes: d=dorsal, v=ventral, dr=derecha e i=izquierda. Escala: A, B y E 0.1mm; F 0.15 mm; C y D 0.05 mm.

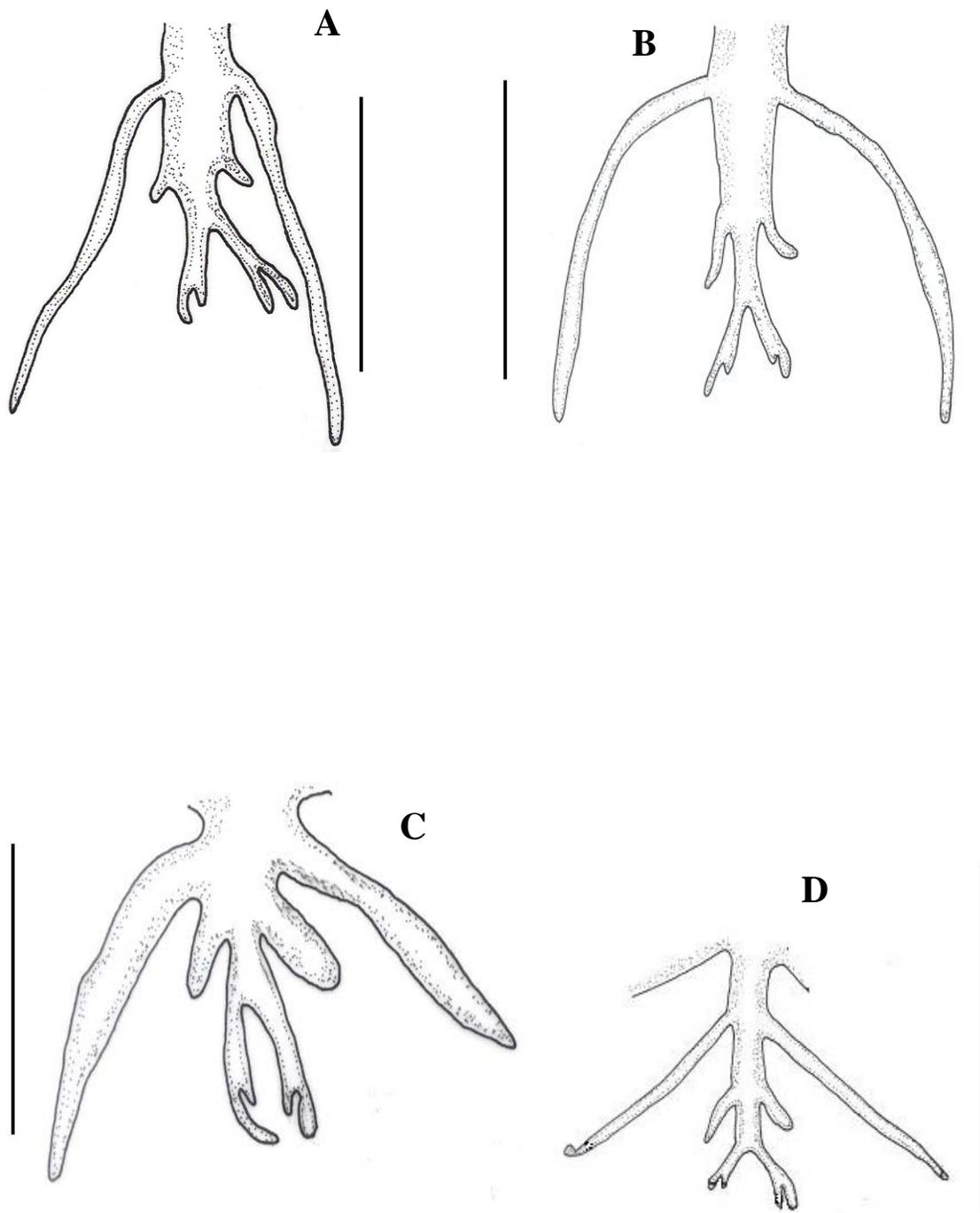


Fig. 9. Diferencias morfológicas presentes en el rayo dorsal de los machos de los morfotipos de *Vexillata vexillata*. A) morfotipo 1; B) morfotipo 2; C) morfotipo 4; D) morfotipo 5. Escala: A, B, y C 0.1mm; D 0.2mm.

Discusión

Dentro de los diferentes caracteres utilizados para la determinación taxonómica de los Trichostrongylinae el que más ha sobresalido por su uso es el sinlofo por el número, arreglo, tamaño y orientación de las espinas que lo conforman. Este carácter es utilizado como diagnóstico en los niveles subfamilia, género e inclusive especie.

En la mayoría de las especies, el conocimiento del sinlofo se ha limitado a determinar su arreglo a la mitad del cuerpo (Lichtenfels 1983), aspecto que reduce su utilidad diagnóstica. El empleo generalizado que ha tenido este carácter, se debe principalmente a que ha demostrado ser estable, a pesar de que el parásito proceda de hospederos diferentes. Lo anterior fue observado por Falcón-Ordaz y García-Prieto (2004) en *Nippostrongylus brasiliensis* colectados en *Rattus norvegicus* Erxleben, 1777, cuyo sinlofo guarda el mismo arreglo y número de espinas al descrito por Lichtenfels (1974) para la misma especie parasitando tres especies de hospederos (ratas, ratones y hámsters). De la misma manera en *Vexillata vexillata*, constantemente se han descrito 12 espinas con el mismo arreglo en la región media del cuerpo, aún cuando se han registrado parasitando hospederos de familias diferentes (Durette-Desset 1972, 1978; Falcón-Ordaz y Sanabria-Espinoza, 1997; Falcón-Ordaz y García-Prieto, 2004).

De la misma forma, autores como Lichtenfels (1977) y Lichtenfels y Pilitt (1983 a y b), han utilizado al sinlofo como una herramienta para la separación de especies morfológicamente muy similares como en *Nematodirella* Yorke & Maplestone, 1926 y *Nematodirus* Ransom, 1907, los cuales incluyen especies que cuentan con un número de espinas del sinlofo en la región media del cuerpo idéntico, mostrando diferencias en el número, arreglo y la continuidad de las estriaciones en otras regiones del cuerpo. Esta característica del sinlofo la utilizamos en el presente capítulo en la separación de los morfotipos de *V. vexillata*.

Asimismo, el empleo del sinlofo en la taxonomía del grupo, posibilita la identificación de las especies a partir de hembras en las cuales el sinlofo sea idéntico al de los machos (Lichtenfels 1983).

Finalmente, caracteres del sinlofo como número, tamaño y forma de las espinas, arreglo de las mismas a lo largo y alrededor del cuerpo y su ángulo de orientación, han mostrado su utilidad en los diferentes estudios filogenéticos realizados sobre el grupo (Durette-Desset y Justine 1991, Hoberg y Lichtenfels 1994, Durette-Desset et al. 1999, Pérez-Ponce de León et al. 2000).

Literatura citada

CABALLERO, C. E. y C. MA. CERECERO. (1943)

Longistriata convoluta n. sp. (Nematodo: Trichostrongylidae) parasito del intestino de una "tuza" *Cratogeomys merriami* (Thomas). Anales del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México. 14: 201-205.

DENKE, M. A. (1977)

Quatre nouveaux Nématodes Héligmosomes parasites de Rongeurs du Mexique. Bulletin du Museum National d' Histoire Naturelle. 3^e Série, n° 470, Zoologie 32: 777-787.

DURETTE-DESSET, M. C. (1970)

Vexillata petteri n. sp. Nématode Héligmosome parasite d'un Rongeur néarctique. Annales de Parasitologie 45: 289-293.

DURETTE-DESSET, M. C. (1972)

Compléments morphologiques à l'étude de quelques Nématodes Héligmosomes, parasites de Rongeurs américains Annales de Parasitologie 47: 243-249.

DURETTE-DESSET, M. C. (1978)

Nouvelles données morphologiques sur des Nématodes Trichostrongyloides des collections du United States National Museum. Bulletin du Museum National d' Histoire Naturelle 3^e Série no 513, Zoologie 352: 135-147.

DURETTE-DESSET, M. C. (1985)

Trichostrongyloides nematodes and their vertebrate hosts: In Reconstruction of the phylogeny of parasitic group: In Advances in Parasitology vol 24 (edited by Baker, J.R. and Muller, R.) London, U. K. Academic Press Inc.: 239-306.

DURETTE-DESSET, M. C. and M. C. DIGIANI. (2005)

The axis of orientation of the synlophe in the Heligmosomoidea (Nematoda: Trichostrongylina): a new approach. Parasite. 12: 195-202.

DURETTE-DESSET, M. C., J. P. HUGOT, P. DARLU and A. G. CHABAUD. (1999)

A cladistic analysis of the Tricjostrongyloidea (Nematoda) International Journal for Parasitology. 29: 1065-1086.

DURETTE-DESSET, M. C. and J. L. JUSTINE (1991)

A cladistic analysis of the genera in the subfamily Pudicinae (Nematoda: Trichostrongyloidea: Heligmonellidae). International Journal for Parasitology. 21: 579-587.

FALCÓN-ORDAZ, J. y L. GARCÍA-PRIETO. (2004)

Análisis Morfológico de algunos Trichostrongilinos (Strongylida) depositados en la Colección Nacional de Helmintos del Instituto de Biología, UNAM, México. Revista de Biología Tropical. 52: 377-386.

FALCÓN-ORDAZ, J. y L. GARCÍA-PRIETO. (2005)

A new species of *Vexillata* (Nematoda: Trichostrongylina: Ornithostrongylidae) parasite of *Heteromys desmarestianus* (Rodentia: Heteromyidae) from Costa Rica. Journal of Parasitology. 94: 329-334.

FALCÓN-ORDAZ, J., S. L. GARDNER and G. PÉREZ –PONCE DE LEÓN. (2001)

Vexillata liomyos n. sp. (Remata: Ornithostrongylidae) from *Liomys pictus* (Rodentia: Heteromyidae) from Mexico, with comments on the synlophe of *Vexillata armandae*. Journal of Parasitology. 87: 656-659.

FALCÓN-ORDAZ, J. y Ma. A. SANABRIA-ESPINOZA (1997)

Vexillata vexillata (Nematoda: Ornithostrongylidae) parásito de roedores de México. Revista de Biología Tropical. 45: 1691-1694.

HOBERG, E. P. and J. R. LICHTENFELS. (1994)

Phylogenetic systematic analysis of the Trichostrongylidae (Nematoda), with an initial assessment of coevolution and biogeography. Journal of Parasitology. 80: 976-996.

LICHTENFELS J. R. (1977)

Differences in cuticular ridges among *Cooperia* spp. of North American ruminants with an illustrated key to species. Proceedings of the Helminthological Society of Washington. 44: 111-119.

LICHTENFELS J. R. (1983)

The sinlofo and species determination of Trichostrongyloidea: In Concepts in Nematode Systematics vol. 22 (edited by Stone, A. R., H. M. Platt and L. F. Khalil) London, U. K. Academic Press Inc.: 273-291.

LICHTENFELS J. R. and P. A. PILITT (1983a)

Cuticular ridge patterns of *Nematodirus* (Nematoda: Trichostrongyloidea) of North American ruminants, with a key to species. Systematic Parasitology. 5: 271-285.

LICHTENFELS J. R. and P. A. PILITT (1983b).

Cuticular ridge patterns of *Nematodirella* (Nematoda: Trichostrongyloidea) parasitic in domestic ruminants of North America, with a key to species. Proceedings of the Helminthological Society of Washington. 50: 261-274.

PÉREZ-PONCE DE LEON, G. S. L. GARDNER AND J. FALCÓN-ORDAZ. (2000)

Phylogenetic relationships among species of *Stilestrongylus* Freitas, Lent and Almeida, 1937 (Trichostrongyloidea: Heligmonellidae: Nippostrongylineae), parasites of myomorph rodents (Rodentia: Muridae) in the neotropics. Journal of Parasitology. 86: 1326-1335.

CAPÍTULO IV

Posición filogenética del Género *Vexillata* en la Superfamilia Heligmosomoidea.

Introducción

La superfamilia Heligmosomoidea se caracteriza por tener el cuerpo enrollado longitudinalmente a la izquierda sobre la línea ventral; algunas formas cuentan con seis labios y una cápsula bucal bien desarrollada; están provistos de vesícula cefálica; las hembras son monodelfas generalmente. En los machos la bursa caudal es de diferentes tipos, pero raramente tiene el arreglo 2-1-2; sinlofo comúnmente presente, pero jamás con una simetría bilateral. Parásitos principalmente de reptiles, monotremas, marsupiales, insectívoros, lagomorfos y roedores (Durette-Desset, 1985; Durette-Desset y Chabaud, 1993).

Hasta la fecha solo se han realizado 3 estudios filogenéticos que incluyen géneros que se encuentran clasificados en la Superfamilia Heligmosomoidea. El primero de éstos fue realizado por Durette-Desset y Justine (1991), quienes analizaron especies de la Subfamilia Pudicinae; redefiniendo los géneros y formando dos grupos supragenéricos que no nombran por no encontrarse definidos por sinapomorfias.

Hasegawa (1999) realizó el estudio filogenético de los géneros: *Nippostrongylus* Lane, 1923 y *Heligmonoides* Baylis, 1928; del primero analizó ocho especies que parasitan a múridos, distribuidos en áreas del este y oeste de la línea Wallace, obteniendo dos grupos monofiléticos que corresponden a la distribución de los roedores. En lo que respecta a *Heligmonoides*, Hasegawa estudió 11 especies que infectan a tres géneros de roedores (*Mus*, *Apodemus* y *Maxomys*), distribuidos en Corea y Japón. Dicho análisis permitió al autor proponer un género nuevo que nombra *Maxomystrongylus*, con base en el arreglo de las espinas del sinlofo.

Mas adelante, Pérez-Ponce de León *et al.* (2000) realizaron un estudio del Género *Stilestrongylus* Freitas, Lent y Almeida, 1937 obteniendo un resultado relativamente similar al postulado por Durette-Desset (1971) en su clasificación de los Nippostrongylineae, en el cual menciona una línea evolutiva que incluye a *Carolinensis* (Travassos, 1937)-*Hassalstrongylus* Durette-Desset, 1971 a *Stilestrongylus*; así mismo, concluyen que el género en estudio se dispersó en dos rutas geográficas por Sudamérica, una por el Pacífico, del lado oeste de los Andes y otra por el Atlántico, del lado este de esta cordillera.

Por lo que en el presente capítulo se desarrolla un estudio filogenético el cual permitirá comprobar la monofilia de la Superfamilia Heligmosomoidea y aunado al

resultado obtenido se ubicará el Género *Vexillata* dentro de dicha superfamilia, ya que como se mencionó en el capítulo I, este género ha tenido problemas taxonómicos a lo largo del tiempo.

Material y método

Grupo interno

Para la ubicación del Género *Vexillata* en la superfamilia Heligmosomoidea se utilizó la descripción original de la especie tipo de cada uno de los géneros con los cuales se erigió la familia o subfamilia estudiada. En caso de no contar con la descripción original, se consideró a la especie que tuviera los rasgos más parecidos de acuerdo a la descripción de la especie tipo. Se incluyó representantes de las seis familias y ocho subfamilias que componen la superfamilia Heligmosomoidea, analizándose un total de 13 especies: *Globocephaloides macropodis* Yorke y Maplestone, 1926 *Herpetostrongylus pythonis* Baylis, 1931 *Nicollina tachyglossi* (Baylis, 1930) *Ornithostrongylus volcani*¹ Durette-Desset, Guerrero y Boyer, 2000 *Vexillata vexillata* (Hall, 1916) *Inglamidium akodon* Durette-Desset, Denke y Murua, 1976 *Viannaia viannaia* Travassos, 1914 *Hydrochoerisnema anomalobursata* Arantes y Artigas, 1983 *Heligmosomum polygyrum* (Dujardin, 1845) *Heligmonella spira*(Mönnig., 1927) *Nippostrongylus brasiliensis* Travassos, 1914 *Puduca pudica* (Travassos, 1921) *Brevistriata skrjabini* (Schulz y Lubimov, 1932)

Grupo externo

Con base en Gouÿ de Bellocq *et al.* (2001), los cuales citan las tres superfamilias reconocidas por Durette-Desset y Chabaud (1993), se consideraron como grupo externo a las especies tipo de dos géneros, pertenecientes a dos subfamilias de la superfamilia Trichostrongyloidea (*Trichostrongylus calcaratus* Ransom, 1911 [Trichostrongylinae] y *Boehmiella wilsoni* Lucker, 1943 [Haemonchinae]).

Análisis cladista

A partir de la información obtenida de las descripciones originales y del estudio de material depositado en colecciones (*Trichostrongylus calcaratus*, *Boehmiella wilsoni* y *Viannaia viannaia*), se construyó una matriz de datos constituida por 11 caracteres

¹ No es especie tipo.

*Falcón-Ordaz, J. (2000)

Análisis Taxonómico de las especies de Trichostrongyloidea Parásitas de roedores y lagomorfos incluidas en la Colección Nacional de Helmintos depositadas en el Instituto de Biología de la UNAM. Tesis Profesional de Maestría. Facultad de Ciencias UNAM: 133.

†Monet, M. A. (2002)

Nemátodos parásitos del "tlacuache" *Didelphis virginiana* Kerr 1792, de dos localidades de Guerrero, México. Tesis Profesional de Licenciatura. Facultad de Ciencias UNAM: 81.

con 23 estados de carácter y 15 taxones (Tabla 1). Todos los caracteres utilizados son cualitativos.

Los estados de carácter fueron polarizados por comparación con el grupo externo (Watrous y Wheeler, 1981; Maddison *et al.*, 1984). Los caracteres plesiomórficos y apomórficos se muestran en las figuras 1 – 3.

El análisis cladista se llevó a cabo siguiendo la metodología de la sistemática filogenética (Henning, 1966; Wiley 1981; Brooks and McLennan, 1991). Los árboles filogenéticos fueron generados bajo el principio de máxima parsimonia, empleando el programa PAUP (Phylogenetic Analysis Using Parsimony) versión 4.10b Swofford (2002). Todos los caracteres fueron tratados como desordenados (no aditivos) y sin asignación de peso; así mismo, los datos faltantes se identificaron con el símbolo ?; los árboles se obtuvieron a partir de búsquedas heurísticas con 1000 réplicas al azar, utilizando las opciones stepwise addition y branch swapping (intercambio de ramas) con la opción (TBR) Tree Bisection and Reconnection (corte y reconexión binaria). Adicionalmente, se calculó el índice de Bremer para cada nodo, mediante el programa de cómputo AutoDecay versión 4.0 (Eriksson, 1998) y Bootstrap con 1000 réplicas, búsqueda heurística con una secuencia de adición al azar (10 réplicas).

Argumentación de caracteres

Los caracteres hacen referencia a diferentes estructuras de los organismos como son cápsula bucal, presencia de dientes, arreglo de los rayos bursales, características del sinlofo, enrollamiento del cuerpo, entre otros, presentando su codificación a continuación:

- 1) Cápsula bucal: Presente y poco profunda = 0; Presente y profunda = 1; No presenta cápsula bucal = 2 (Fig. 1 A-C).
- 2) Vesícula cefálica: ausente = 0; presente = 1.
- 3) Dientes en la cápsula bucal: ausentes = 0; presentes = 1.
- 4) Aparato reproductor de la hembra: didélfico = 0; monodélfico = 1 (Fig. 1 D-E).
- 5) Ancho del esófago en su unión con el intestino: más ancho el esófago que el intestino = 0; ligeramente más ancho el esófago que el intestino = 1; ancho del esófago igual al ancho del intestino = 2.
- 6) Enrollamiento del cuerpo: Ausente = 0; ligeramente = 1; totalmente = 2.
- 7) Arreglo de los rayos bursales: 1-4 = 0; 2-1-2 = 1; 1-3-1 = 2; 3-2 = 3; 2-3 = 4; 2-2-1 = 5; diferente en ambos lóbulos = 6. La codificación anterior es la utilizada de acuerdo con Durette-Desset (1985) y Digiani *et al.* (2003) (Fig. 2).

Arreglo del sinlofo en la región media del cuerpo

- 8) Sinlofo: Ausente = 0; delimitado a una región del cuerpo, sin eje de orientación = 1; a lo largo del cuerpo, con un eje de orientación y espinas continuas = 2 (Fig. 3).
- 9) Tamaño de las espinas: sin espinas = 0; pequeño y homogéneo = 1; heterogéneo = 2 (Fig. 3).
- 10) Quilla: Ausente = 0; Presente = 1 (Fig. 3).
- 11) Gradiente del tamaño de las espinas del sinlofo: Ausente = 0; presente, de izquierda a derecha en el lado ventral y de derecha a izquierda en el dorsal = 1; presente, de derecha a izquierda en el lado dorsal = 2; latero-medio = 3 (Fig. 3).

Tabla 1. Matriz obtenida a partir de la codificación de los 11 caracteres utilizados para el análisis filogenético de la Superfamilia Heligmosomoidea.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>Trichostrongylus calcaratus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Boehmiella wilsoni</i>	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0
<i>Nicollina tachyglossi</i>	0	1	1	0	0	2	2	2	2	0	0
<i>Globocephaloides macropodis</i>	1	0	1	0	0	2	2	0	0	0	0
<i>Herpetostrongylus pythonis</i>	0	1	1	0	0	2	2	0	0	0	0
<i>Viannaia viannaia</i>	2	1	0	1	1	2	1	2	2	0	0
<i>Hydrochoerisnema anomalobursata</i>	2	1	0	1	2	2	1	2	2	0	0
<i>Inglamidium akodon</i>	0	1	1	1	2	2	5	2	2	0	0
<i>Ornithostrongylus volcani</i>	0	1	1	0	2	1	5	2	2	0	0
<i>Heligmosomum polygyrum</i>	2	1	0	1	2	2	4	2	2	0	0
<i>Heligmonella spira</i>	2	1	0	1	2	2	5	2	2	0	1
<i>Pudica pudica</i>	2	1	0	1	2	2	5	2	2	1	2
<i>Brevistriata skrjabini</i>	2	1	0	1	2	2	5	2	2	1	0
<i>Nippostrongylus brasiliensis</i>	2	1	0	1	2	2	6	2	2	0	3
<i>Vexillata vexillata.</i>	2	1	0	1	2	2	5	2	2	1	2

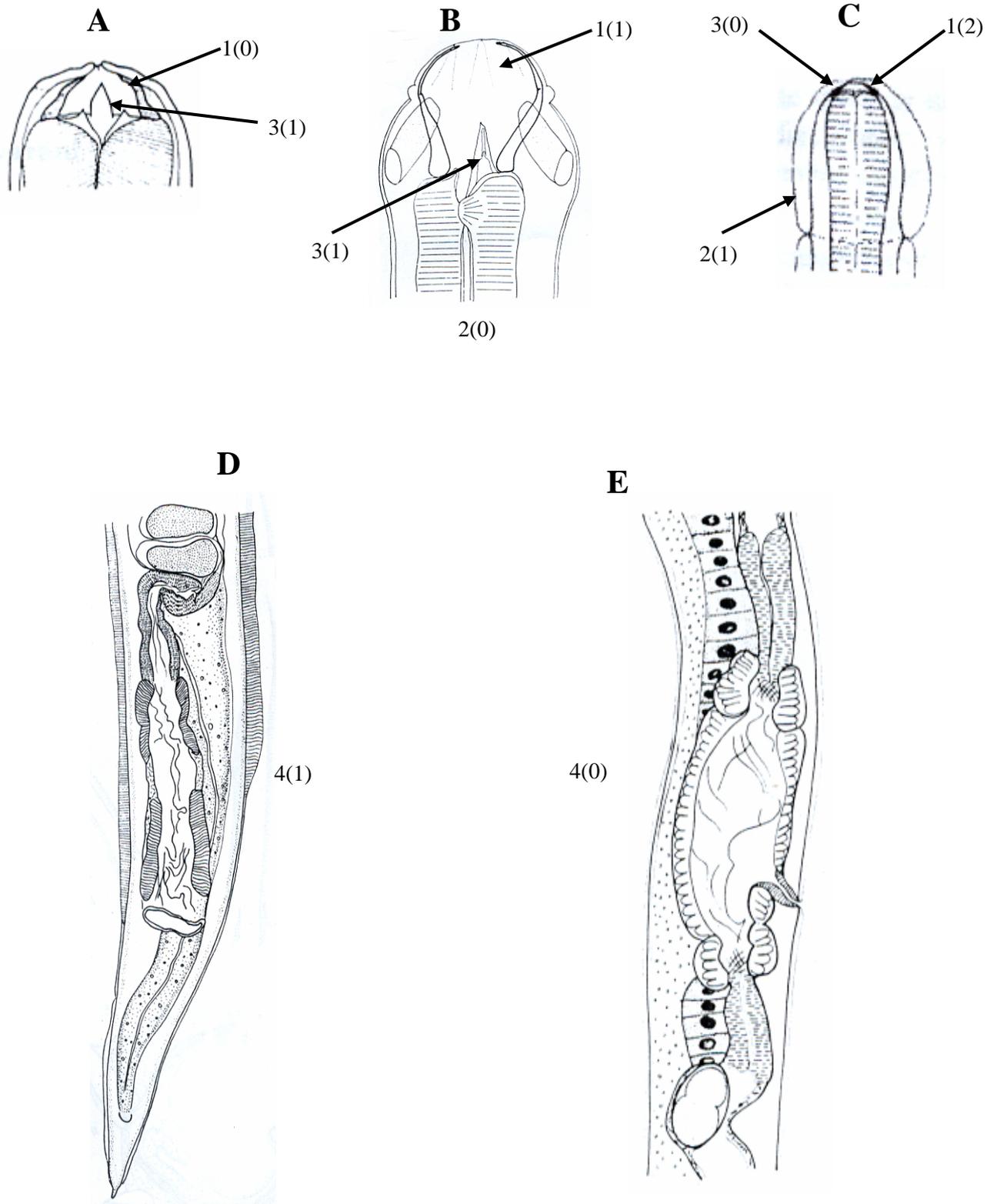


Fig. 1. Caracteres utilizados en el análisis filogenético de la Superfamilia Heligmosomoidea (sin escalas), a un costado de las figuras se indica el carácter con su estado de carácter correspondiente entre paréntesis. Caracteres cefálicos: **A**) *Herpetostrongylus pytonis* (tomado de Humphery-Smith, 1981); **B**) *Globocephaloides macropodis* (tomado de Beveridge, 1979); **C**) *Pudica pudica* (tomado de Cassone y Durette-Desset, 1991). Aparato reproductor femenino: **D**) *Heligmonella spira* (tomado de Durette-Desset, 1969); **E**) *Nicollina tachyglossi* (tomado de Durette-Desset y Cassone, 1983)

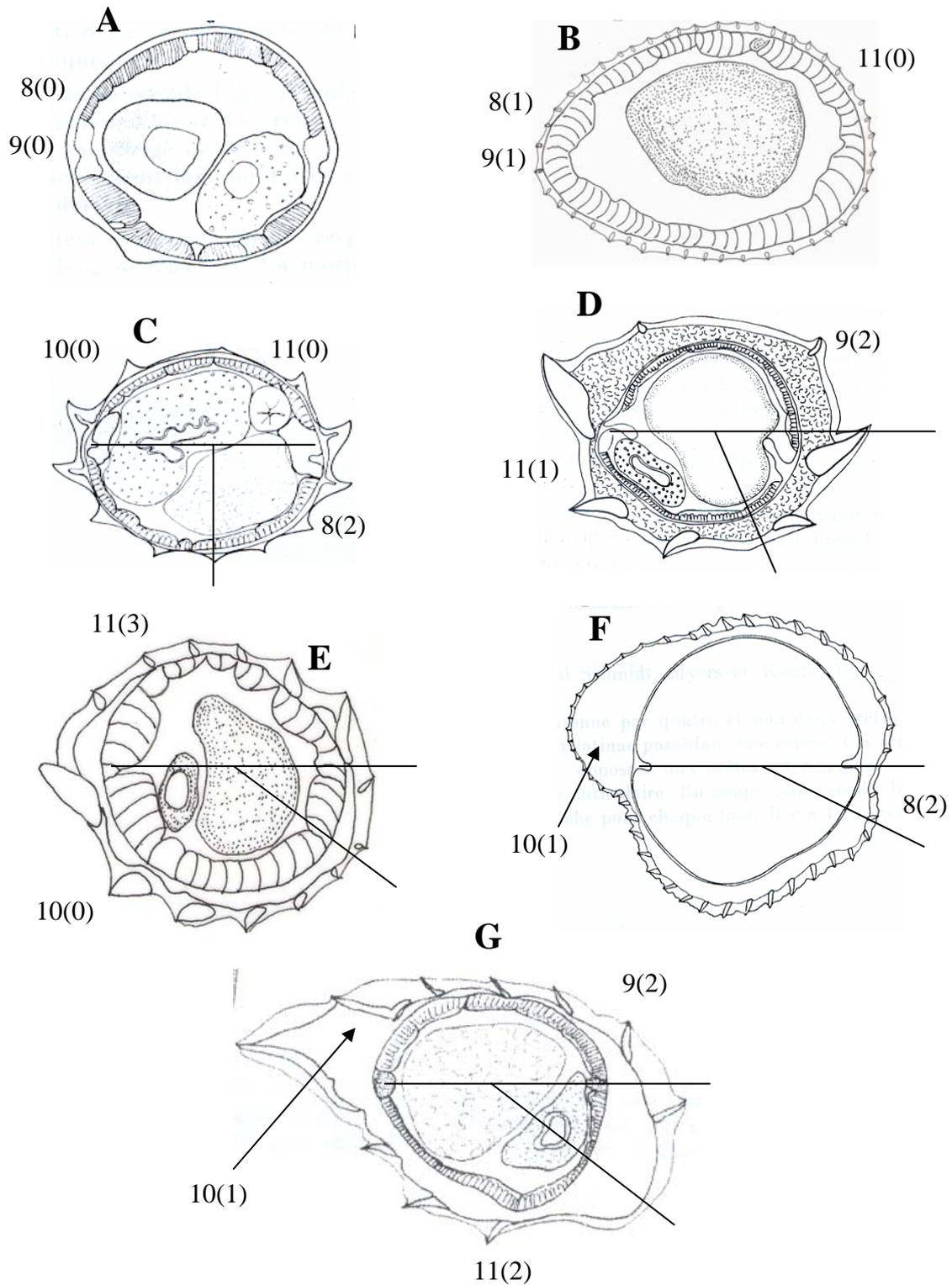


Fig. 2 Caracteres utilizados en el análisis filogenético de la Superfamilia Heligmosomoidea (sin escalas), a un costado de las figuras se indica el carácter con su estado de carácter correspondiente entre paréntesis. Síntofo: **A)** *Herpetostrongylus pytonis* (tomado de Humphery-Smith, 1981); **B)** *Bohmiella wilsoni* (tomado de Falcón-Ordaz y García-Prieto, 2004) **C)** *Nicollina tachyglossi* (tomado de Durette-Desset y Cassone, 1983); **D)** *Heligmonella spira* (tomado de Durette-Desset, 1969); **E)** *Nippostrongylus brasiliensis* (tomado de Falcón-Ordaz y García-Prieto, 2004); **F)** *Brevistriata skrjabini* (tomado de Durette-Desset, 1976); **G)** *Pudica pudica* (tomado de Cassone y Durette-Desset, 1991).

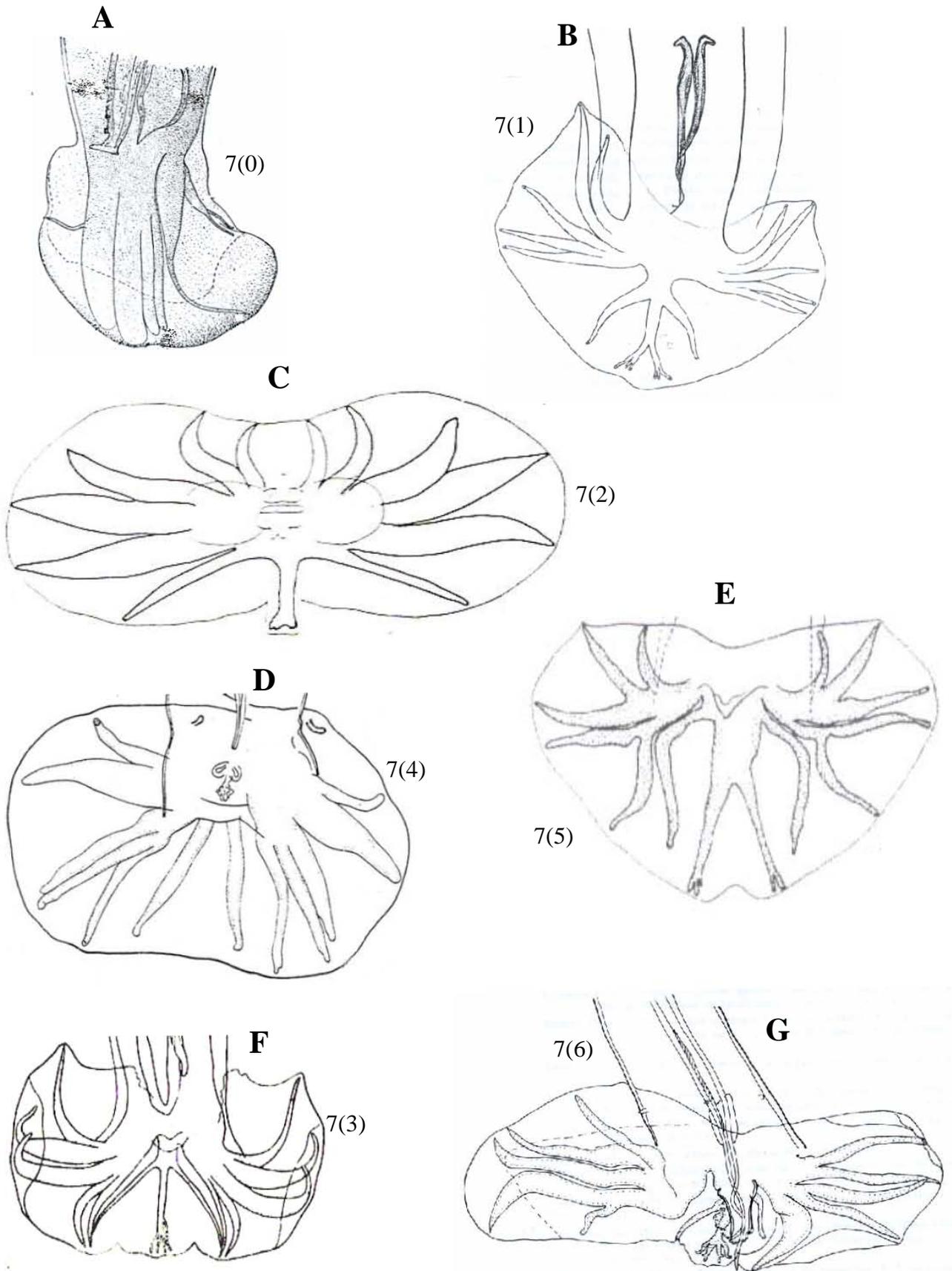


Fig. 3 Caracteres utilizados en el análisis filogenético de la Superfamilia Heligmosomoidea (sin escalas), a un costado de las figuras se indica el carácter con su estado de carácter correspondiente entre paréntesis. Rayos bursales: **A)** *Trichostrongylus calcaratus* (tomado de Hall, 1916);; **B)** *Viannaia viannaia* (tomado de Travassos, 1937); **C)** *Globocephaloides macropodis* (tomado de Beveridge, 1979); **D)** *Heligmosomum polygyrum* (tomado de Durette-Desset, 1968); **E)** *Pudica pudica* (tomado de Cassone y Durette-Desset, 1991); **F)** *Herpetostrongylus pytonis* (tomado de Yamaguti, 1961); **G)** *Nippostrongylus brasiliensis* (tomado de Chabaud y Durette-Desset, 1966).

Resultados

Filogenia de los géneros de la superfamilia Heligmosomoidea

Se obtuvieron 16 árboles igualmente parsimoniosos con una longitud de 25 pasos, índice de consistencia (IC) de 0.920 e índice de retención (IR) de 0.935. El árbol de consenso se muestra en la Fig. 4. El presente análisis comprueba la monofilia de la superfamilia Heligmosomoidea, la cual se define por dos sinapomorfias: el enrollamiento del cuerpo hacia la región ventral [6 (2)] y el arreglo 1-3-1 de los rayos bursales [7 (2)]; sin embargo, esta agrupación tiene un valor de soporte de bootstrap y Bremer bajos (69%, 1). Las relaciones internas de la superfamilia no se encuentran definidas por presentarse como grupos parafiléticos los representantes de las Familias Nicollinidae, Herpetostrongylidae y Ornithostrongylidae. Cabe resaltar que *Inglamidum akodon* es la especie hermana del resto de las especies que en conjunto forman una politomía, misma que incluye un grupo resuelto (*Brevistriata skrjabini* (*Pudica pudica*, *Vexillata vexillata*); la politomía está formada por los representantes de las familias Viannidae, Heligmosomidae y Heligmonellidae y se basa en dos caracteres: ausencia de cápsula bucal [1 (2)] (sinapomorfia inequívoca) y de dientes en la misma [3 (0)] (sinapomorfia inequívoca); dentro de este grupo se forma un clado que contiene a los representantes de las subfamilias Brevistriatinae, Pudicinae y al género *Vexillata*. Dicho clado es diferenciado por la presencia de quilla en el sínlofo [10 (1)]; asimismo, *Pudica pudica* y *Vexillata* se relacionan porque las espinas en el lado dorsal cuentan con un gradiente de tamaño derecha-izquierda [11 (2)], siendo ésta una sinapomorfia. Con base en lo anterior, al parecer el Género *Vexillata* está relacionado con las Pudicinae, aunque esta relación está apoyada por valores bajos de bootstrap (58%) y Bremer (1).

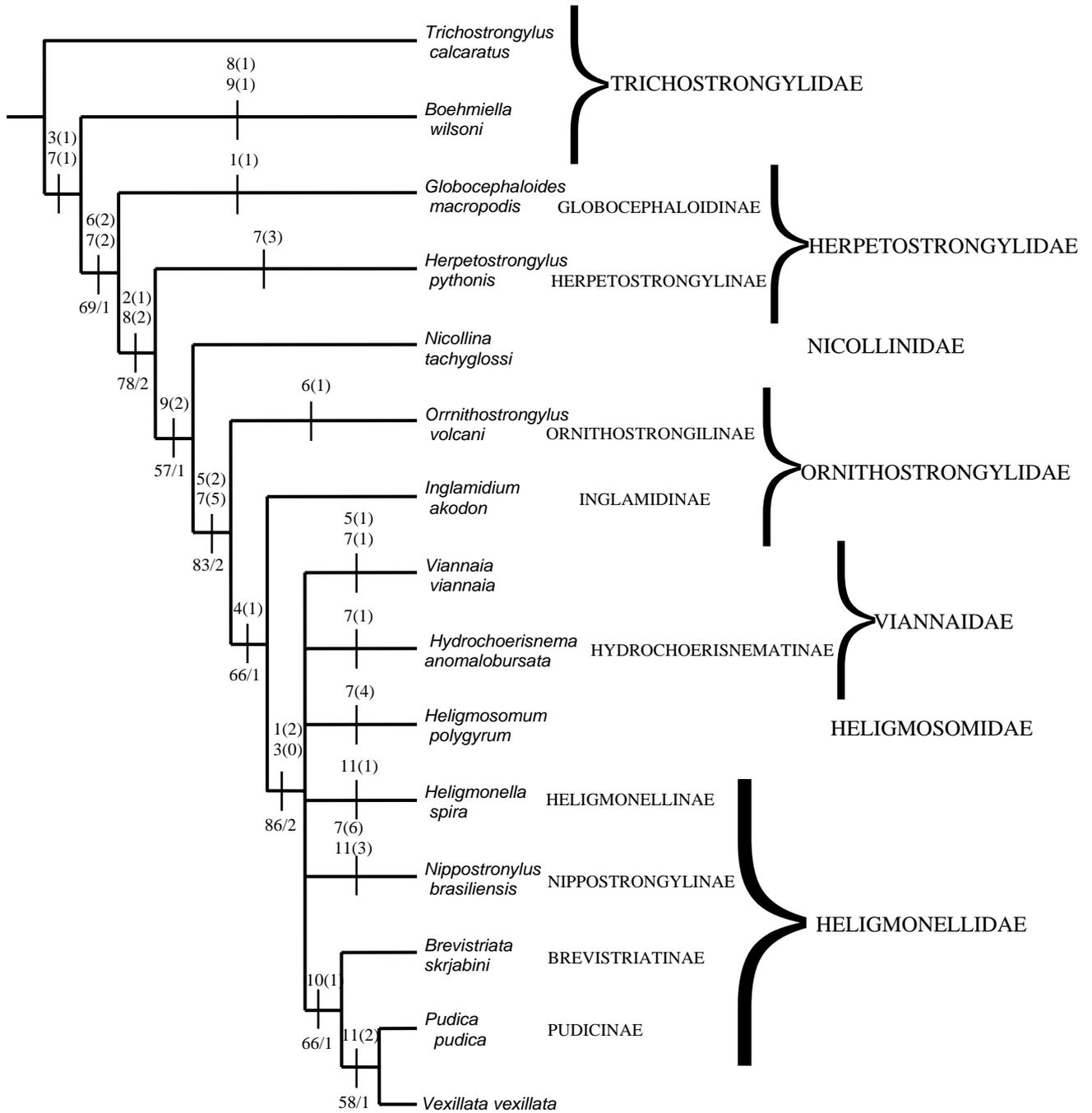


Fig. 4. Árbol de consenso estricto obtenido a partir de 16 árboles igual de parsimoniosos, mostrando la monofilia de la Superfamilia Heligmosomoidea así como la ubicación del Género *Vexillata* en dicha superfamilia. Mapeo de caracteres; valores de bootstrap / valores de índice de Bremer.

Discusión

Con los resultados obtenidos se confirma la monofilia de la Superfamilia Heligmosomoidea, la cual incluye seis familias y nueve subfamilias. Durette Desset y Chabaud (1981) proponen por primera vez la monofilia de dicha superfamilia con base en el estudio de caracteres morfológicos (careciendo de un análisis filogenético). Sus resultados los presentan esquematizados en un árbol, en el que la Familia Nicollinidae es el grupo hermano del resto, seguida de Herpetostrongylidae con sus dos subfamilias y contiguas a ésta, las Familias Viannidae y Ornithostrongylidae. En una rama independiente se encuentran la Familia Heligmosomidae junto con Heligmonellidae. Esta propuesta difiere de la que aquí se presenta en que el grupo basal es representado por la familia Herpetostrongylidae, por contar con caracteres plesiomórficos como ausencia de vesícula cefálica y de sínlofo. Asimismo, en este estudio se encontró que Viannidae no es grupo hermano de Ornithostrongylidae, ya que la primera familia se incluye en una politomía con Heligmosomidae y Heligmoneliidae, al carecer de cápsula bucal y de diente.

Los resultados obtenidos en este trabajo coinciden parcialmente con los presentados por Gouÿ de Bellocq *et al.* (2001), quienes realizaron un análisis filogenético del grupo, utilizando los dominios D1 y D2 del gen ribosomal 28S. Al igual que en nuestro estudio, estos autores establecieron la monofilia de la Superfamilia Heligmosomoidea. Sin embargo, al mapear los caracteres morfológicos sobre el cladograma obtenido a nivel grupal, observaron que la presencia de vesícula cefálica (sinapomorfia) y el sínlofo con un eje de orientación asimétrico (autapomorfia) definen a la Superfamilia Heligmosomoidea, mientras que en nuestro cladograma estos caracteres se presentan como sinapomorfias que definen la superfamilia, sólo si se excluye a la Subfamilia Globocephaloidinae, la cual carece de esos 2 rasgos, sin embargo es incluida en la superfamilia por Durette-Desset (1985). En presente estudio, la monofilia de la superfamilia (aún con la inclusión de los Globocephaloidinae) está apoyada por dos caracteres: el enrollamiento del cuerpo hacia la región ventral y el arreglo 1-3-1 de los rayos bursales.

Implicaciones taxonómicas de la ubicación del género *Vexillata*

La ubicación del Género *Vexillata* en alguna subfamilia de la Superfamilia Heligmosomoidea ha sido incierta, ya que generalmente se le ha situado con base en un solo carácter, aunque otros no coincidan con los de la superfamilia.

El Género *Vexillata* fue propuesto por Travassos (1937) como un subgénero de *Longistriata* Schultz, 1926; posteriormente, Durette-Desset (1970) lo redefinió, elevándolo a la categoría de género. Esta autora, en su trabajo sobre la clasificación de los heligmosómidos (Durette-Desset, 1971) creó la Subfamilia Vexillatinae Durette-Desset, 1971, dentro de la Familia Heligmonellidae, definiéndola por: 1) simetría dorso-ventral del sínlofo (exceptuando la quilla), 2) gradiente de talla de las espinas de derecha a izquierda sobre la región dorsal o con el mismo gradiente en la región ventral, 3) punta de la espina dorsal derecha o las dos espinas derechas orientadas tangencialmente al cuerpo, 4) bursa caudal subsimétrica con los lóbulos laterales bien desarrollados y el lóbulo dorsal reducido, 5) rayo 6 separado del rayo 5, 6) rayos 8 gruesos y 7) espículas simples y finas. Posteriormente, el género fue transferido por Durette-Desset y Chabaud (1977) a la Subfamilia Viannaiinae, con base en que el número de espinas del sínlofo en la región dorsal es el mismo o menor al número encontrado en la región ventral (Durette-Desset y Chabaud, 1977). Por último, el género fue transferido a la Subfamilia Ornithostrongylinae (familia Ornithostrongylidae), por el arreglo de los rayos bursales, que es del tipo 2-2-1 (Durette-Desset y Chabaud, 1981).

Los resultados obtenidos en este trabajo indican que *Vexillata* no se relaciona con ninguna de las dos subfamilias arriba mencionadas. Viannaiinae se encuentra definida por dos caracteres: esófago ligeramente más ancho que el intestino en su unión [5(1)] y arreglo de los rayos bursales 2-1-2 [7(1)], a diferencia del género en estudio que cuenta con un esófago simple y un arreglo de los rayos bursales 2-2-1. En lo que se refiere a Ornithostrongylinae, ésta es definida por una autapomorfia: cuerpo ligeramente enrollado [6(1)] y por caracteres como cavidad bucal poco profunda, carencia de quilla y aparato reproductor didélfico, mientras que *Vexillata* presenta el cuerpo enrollado totalmente, carece de cavidad bucal, posee quilla y las hembras son monodélficas.

Nuestra propuesta, basada en el análisis filogenético de la superfamilia, es en el sentido de reincorporar al género *Vexillata* a la familia Heligmonellidae, con la que comparte rasgos como el arreglo de los rayos bursales 2-2-1, la ausencia de espina caudal en las hembras y una abertura angular del eje de orientación del sínlofo que varía de 45° a 90° (Durette-Desset, 1985). Asimismo, *Vexillata vexillata* es la especie hermana de *Pudica*

pubica, debido a que cuenta con quilla y las espinas dorsales del sínlofo en ambos taxones tienen un gradiente de tamaño de derecha-izquierda. Sin embargo, ambas se diferencian porque el rayo dorsal está profundamente dividido en *P. pudica* y en los diferentes miembros de la subfamilia a la que pertenece (Durette-Desset, 1985; Durette-Desset y Justine, 1991), mientras que en el género en estudio, la división de este rayo no rebasa la mitad de su longitud.

Literatura citada

BERVERIDGE, I. (1979)

A Review of the Globocephaloidinae Inglis (Nematoda: Amidostomatidae) from Macropodid Marsupials. Australian Journal of Zoology. 27: 151-175.

BROOKS, D.R. and D. A. MCLENNAN. (1991)

Phylogeny, ecology, and behavior: A research program in comparative biology. University of Chicago Press, Chicago, Illinois, 434 p.

CASSONE, J et M. C. DURETTE-DESSET. (1991)

Cinq espèces (dont trois nouvelles) de Nématodes Trichostrongyloides coparasites de *Dasyprocta azarae* au Paraguay. Revue suisse de Zoologie 98: 229-242.

CASSONE, J, et M. C. DURETTE-DESSET. (1966)

Nippostrongylus rauschi n. sp. Nématode parasite de Dermoptères et considérations sur *N. brasiliensis* parasite cosmopolite des Rats domestiques. Annales de Parasitologie (Paris). Tome 41: 243-249.

DIGIANI, M. C., C. A. SUTTON and M. C. DURETTE-DESSET. (2003)

A new genus of Nippostrongylinae (Nematoda: Heligmonellidae) from the water rat *Scapteromys aquaticus* (Sigmodontinae) in Argentina. Journal of Parasitology. 89: 124-132.

DURETTE-DESSET, M. C. (1968)

Identification des Strongles des Mulots et Campagnols décrits par Dujardin. Annales de Parasitologie 43: 387-404.

DURETTE-DESSET, M. C. (1969)

Nouvelles données morphologiques sur quelques nématode Héligmosomes, parasites de Rongeurs. Annales de Parasitologie 44: 37-46.

DURETTE-DESSET, M. C. (1970)

- Vexillata petteri* n. sp. Nématode Héligmosome parasite d'un Rongeur néarctique. Annales de Parasitologie 45: 289-293.
- DURETTE-DESSET, M. C. (1971)
Essai de classification des nématodes héligmosomes. Corrélations avec la paléobiogéographie des hôtes. Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle. Série A, Zoologie Tome 69: 126 pp.
- DURETTE-DESSET, M. C. (1976)
Brevistrianæ (Nematoda: Heligmosomidae) I. Compléments morphologiques à l'étude d'espèces connues. Bulletin du Museum National d' Histoire Naturelle 3^e Série no 388, Zoologie 270: 685-692.
- DURETTE-DESSET, M. C. (1985)
Trichostrongyloides nematodes and their vertebrate hosts: In Reconstruction of the phylogeny of parasitic group: In Advances in Parasitology vol 24 (edited by Baker, J.R. and Muller, R.) London, U. K. Academic Press Inc.: 239-306.
- DURETTE-DESSET, M. C. and J. CASSONE (1983)
A Taxonomic Revisión of Trichostrongyloid Nematodes Parasites of Echidna, *Tachyglossus acuelatus* (Monotremata). Australian Journal of Zoology. 31: 257-284.
- DURETTE-DESSET, M. C. et A. G. CHABAUD (1977)
Essai de classification des Nématodes Trichostrongyloidea. Annales de Parasitologie. 52: 539-558.
- DURETTE-DESSET, M. C. et A. G. CHABAUD (1981)
Nouvel essai de classification des Nématodes Trichostrongyloidea. Annales de Parasitologie. 56: 297-312.
- DURETTE-DESSET, M. C. et A. G. CHABAUD (1993)
Nomenclature des strongylida au-dessus du groupe-famille. Annales de Parasitologie. 68: 111-112.
- DURETTE-DESSET, M. C. and J. L. JUSTINE (1991)
A cladistic analysis of the genera in the subfamily Pudicinae (Nematoda: Trichostrongyloidea: Heligmonellidae). International Journal for Parasitology. 21: 579-587.
- ERIKSSON, T. (1998)
AutoDecay ver. 4.0 (program distributed by the autor). Department of Botany, Stockholm University. Stockholm.

FALCÓN-ORDAZ, J. y L. GARCÍA-PRIETO. (2004)

Análisis Morfológico de algunos Trichostrongilinos (Strongylida) depositados en la Colección Nacional de Helminos del Instituto de Biología, UNAM, México. Revista de Biología Tropical. 52: 377-386.

GOUÿ DE BELLOCQ, J., H. FERTE, J. DEPAQUIT, J. L. JUSTINE, A. TILLIER and M. C. DURETTE-DESSET (2001)

Phylogeny of the Trichostrongylina (Nematoda) inferred from 28S rDNA sequences. Molecular Phylogenetics and Evolution. 19: 430-442.

HALL, M. C. (1916)

Nematodes parasites of the orders Rodentia, Lagomorpha and Hyracoidea. Proceedings of the National Museum. Washington. 50: 123-160.

HASEGAWA, H. (1999)

Phylogeny, host-parasite relationship and zoogeography. The Korean Journal of Parasitology. 37 : 197-213.

HENNIG, W. (1966)

Phylogenetic systematics. University of Illinois Press, Urbana, Illinois, 263 p.

HUMPHERY-SMITH, I. (1981)

Compléments morphologiques au genre *Herpetostrongylus* Baylis, 1931 (Nematoda, Trichostrongyloidea) Bulletin du Museum National d' Histoire Naturelle 4^e Série, 3 section A, no 1: 133-137.

MADDISON, W. P., M. J. DONOGHUE and D. R. MADDISON. (1984)

Out-group analysis and parsimony. Systematic Zoology 33: 83–103.

PÉREZ-PONCE DE LEON, G. S. L. GARDNER and J. FALCÓN-ORDAZ. (2000)

Phylogenetic relationships among species of *Stilestrongylus* Freitas, Lent and Almeida, 1937 (Trichostrongyloidea: Heligmonellidae: Nippostrongylinae), parasites of myomorph rodents (Rodentia: Muridae) in the neotropics. Journal of Parasitology. 86: 1326-1335.

SWOFFORD, D. L. (2002)

PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Versión 4.0b4a. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

TRAVASSOS, L. (1937)

Revisão da família Trichostrongylidae Leiper, 1912. Monographias do Instituto Oswaldo Cruz 1: 512.

WATROUS, L. E. and Q. WHEELER. (1981)

The outgroup comparison method of character analysis. Systematic Zoology 30:
1–11.

WILEY, E. O. (1981)

Phylogenetics: The theory and practice of phylogenetic systematics. John Wiley
and Sons, New York, New York, 439 p.

YAMAGUTHI S. (1961)

Systema Helminthum. Volume III. The nematodes of vertebrates, part I and II.
Interscience Publishers, Inc. New York : 1261 pp.

CAPÍTULO V

Análisis filogenético de las especies del Género *Vexillata*.

Introducción

Actualmente el Género *Vexillata* (Travassos, 1937) Durette-Desset, 1970 se encuentra constituido por un total de 14 especies que parasitan a representantes de las siguientes familias: Geomyidae (4), Heteromyidae (9) y Leporidae (1), cabe resaltar que *Vexillata vexillata* es la única especie que se encuentra infectando a organismos de dos familias de huéspedes (Geomyidae y Heteromyidae) (Falcón-Ordaz y García-Prieto, 2005; Falcón-Ordaz, *et al.*, 2006; Durette-Desset y Digiani, 2005a).

La taxonomía y clasificación del género ha recibido poca atención, por lo que *Vexillata* a lo largo del tiempo perteneció a diferentes subfamilias de los heligmosómidos: Durette-Desset (1971) lo incluyó en la Subfamilia Vexillatinae Durette-Desset, 1971, dentro de la Familia Heligmosomidae. Más adelante, el género fue transferido por Durette-Desset y Chabaud (1977) a la Subfamilia Viannaiinae y por último, a la Subfamilia Ornithostrongylinae de la familia Ornithostrongylidae (Durette-Desset y Chabaud, 1981). De acuerdo con los resultados obtenidos en el capítulo IV del presente trabajo, el género en estudio no se encuentra considerada en ninguna de las subfamilias mencionadas; sin embargo, *Vexillata* se encontró relacionada con los representantes de las Subfamilias Brevistriatinae y Pudicinae de la Familia Heligmonellidae.

Por lo anterior, en el presente capítulo se desarrolla un estudio filogenético de las especies incluidas en el Género *Vexillata*, basada en un análisis comparativo de caracteres estrictamente morfológicos, usando esta filogenia para compararla con una propuesta sobre el origen del género y la relación con sus huéspedes.

Materiales y métodos

En lo que se refiere al análisis Filogenético de las especies de *Vexillata*, se siguió la siguiente metodología:

Grupo interno

En este análisis se incluyeron a 12 especies descritas hasta la fecha, así como dos especies nuevas descritas en el presente trabajo (*Vexillata brooksi* y *V. geomyos*) y los seis morfotipos descritos en el capítulo III para *Vexillata vexillata*.

Grupo externo

Como hasta la fecha se desconocían las afinidades filogenéticas del Género *Vexillata*, la elección de las especies que se utilizaron como grupos externos se basa en

los resultados que se obtuvieron en el análisis de la superfamilia Heligmosomoidea (capítulo IV).

Análisis cladista

A partir de las descripciones originales y de material depositado en colecciones [Colección Nacional de Helmintos del Instituto de Biología, UNAM, México (CNHE), Muséum National d' Histoire Naturelle, Paris, Francia (MNHN) y United States National Parasite Collection, Beltsville, Maryland, USA (USNPC)] y material recolectado, se construyó una matriz de datos constituida por 20 caracteres y 55 estados de carácter para 24 taxa (Tabla 1).

Los estados de carácter fueron polarizados por comparación con el grupo externo, el cual está formado por representantes de las Subfamilias Brevistriatine (*Brevistriata skrjabini* y *Cordicauda cordicauda*) y Pudicinae (*Fuellebornema granulosa*, *Pudica pudica* y *Sciurodendrium bravohollisae*), de acuerdo con el análisis de la Superfamilia Heligmosomoidea mostrado en el capítulo anterior (Watrous y Wheeler, 1981; Maddison *et al.*, 1984). Los caracteres plesiomórficos y apomórficos se muestran en las figuras 1 – 4.

El análisis cladista se llevó a cabo siguiendo la metodología de la sistemática filogenética (Henning, 1966; Wiley 1981; Brooks and McLennan, 1991). Los árboles filogenéticos fueron generados bajo el principio de máxima parsimonia, empleando el programa PAUP (Phylogenetic Analysis Using Parsimony) versión 4.10b Swofford (2002). Todos los caracteres fueron tratados como desordenados (no aditivos) y sin asignación de peso; así mismo, los datos faltantes se identificaron con el símbolo ?; los árboles se obtuvieron a partir de búsquedas heurísticas con 1000 réplicas al azar, utilizando las opciones stepwise addition y branch swapping (intercambio de ramas) con la opción (TBR) Tree Bisection and Reconnection (corte y reconexión binaria). Adicionalmente, se calculó el índice de Bremer para cada nodo, mediante el programa de cómputo AutoDecay versión 4.0 (Eriksson, 1998) y Bootstrap con 1000 réplicas, búsqueda heurística con una secuencia de adición al azar (10 réplicas).

Argumentación de caracteres

Los caracteres utilizados se basan principalmente en el sínlofo tanto del macho como la hembra (16) y de la bursa caudal (4), su codificación se presenta a continuación:

Sínlofo (Figs. 1 – 3).

Región media del cuerpo

Ambos sexos

- 1) Arreglo de las espinas en ambos sexos a lo largo del cuerpo: Espinas discontinuas en forma alternada = 0; espinas discontinuas en una línea = 1; espinas continuas en una línea = 2.

Machos

- 2) Ángulo de inclinación del sínlofo del lado derecho del cuerpo: 50° a 65° = 0; 70° a 80° = 1; 90° = 2. Para la medición de los ángulos se consideró el trabajo realizado por Durette-Desset y Digiani (2005b).
- 3) Ángulo de inclinación de la quilla: 70° a 80° = 0; 90° = 1.
- 4) Espinas de la quilla y tamaño de las mismas: varias espinas pequeñas = 0; dos espinas, la ventral mayor que la dorsal = 1; dos espinas, la dorsal mayor que la ventral = 2; dos espinas del mismo tamaño = 3.
- 5) Presencia y tamaño de espinas en el lado lateral derecho del cuerpo: ausentes = 0; espinas del mismo tamaño = 1; espinas de diferentes tamaños = 2.
- 6) Número total de espinas alrededor del cuerpo: 41 = 0; 18 a 26 = 1; 13 = 2; 12 = 3; 11 = 4; 10 = 5; 9 = 6; 8 = 7.
- 7) Gradiente de talla de las espinas del lado dorsal del cuerpo: ausente (son de tamaño semejante) = 0; mayor a menor, de derecha-izquierda = 1; sin gradiente definido (varios tamaños) = 2.
- 8) Gradiente de talla de las espinas del lado ventral del cuerpo: ausente = 0; de mayor a menor, de derecha izquierda = 1; algunas espinas con gradiente de derecha a izquierda = 2; gradiente no definido = 3. Este carácter en *Cordicauda cordicauda* se consideró plesiomórfico por contar con una sola espina en el área estudiada; en *Vexillata* spp., la espina ventro-lateral derecha es de menor tamaño que la adyacente, por lo que para definir los estados de carácter 1 a 3, se utilizaron las espinas restantes del lado ventral (sin considerar la espina ya mencionada).
- 9) Número de espinas del lado dorsal y ventral del cuerpo: diferente en ambos lados = 0; igual en ambos lados = 1.
- 10) Número de espinas del lado dorsal del cuerpo: 10 a 14 = 0; 5 = 1; 4 = 2. Para este carácter no se consideraron a las espinas que forman la quilla.
- 11) Primera espina ventral (tamaño y dirección): ausente = 0; 1ª espina igual a la 2ª, con dirección derecha-izquierda = 1; 1ª espina mayor que la 2ª con dirección derecha- izquierda = 2; 1ª espina menor que la 2ª con dirección derecha-

izquierda = 3; 1ª espina menor que la 2ª con dirección perpendicular a la pared del cuerpo = 4; 1ª espina igual que la 2ª con dirección derecha-izquierda = 5; 1ª espina mayor que la 2ª con dirección perpendicular a la pared del cuerpo = 6; 1ª espina menor que la 2ª con dirección opuesta al total de espinas = 7; 1ª espina mayor que la 2ª con dirección opuesta al total de espinas = 8.

Hembras

- 12) Ángulo de inclinación del sinlofo del lado derecho del cuerpo: $50^\circ = 0$; 60° a $67^\circ = 1$; 73 a $75^\circ = 2$; $90^\circ = 3$. Para la medición de los ángulos se consideró el trabajo realizado por Durette-Desset y Digiani (2005b).
- 13) Ángulo de inclinación de la quilla: 70° a $80^\circ = 0$; $90^\circ = 1$.
- 14) Espinas de la quilla y tamaño de las mismas: varias espinas pequeñas = 0; dos espinas, la ventral de mayor tamaño = 1; dos espinas, la dorsal de mayor tamaño = 2; dos espinas del mismo tamaño = 3.

Región posterior del macho

- 15) Presencia de espinas alrededor del cuerpo: perpendiculares = 0; solo espinas de la quilla = 1; sin espinas en el cuadrante derecho = 2; espinas con dirección de derecha de izquierda = 3; espinas en el lado dorsal y ventral del cuerpo = 4; espinas en el lado ventral del cuerpo = 5.
- 16) Tamaño de las espinas: ausentes = 0; del mismo tamaño = 1; de diferente tamaño = 2. Para la codificación del carácter no se consideraron las espinas de la quilla.

Bursa (Fig. 4).

- 17) Longitud de los rayos 4 y 5: 4 mayores que 5 = 0; 4 igual al 5 = 1; 4 menores que 5 = 2.
- 18) División del rayo dorsal de acuerdo a su longitud: de 10 a 25 % = 0; de 30 a 40% = 1; de 50 a 60% = 2; de 70 a 80% = 3.
- 19) Ramas anexas en el rayo dorsal: Ausentes = 0; asimétricas = 1; simétricas = 2.

Anexos sexuales

- 20) Gubernáculo: ausente = 0; presente = 1.

Tabla 1. Codificación de 20 caracteres obtenidos para el análisis filogenético del Género *Vexillata*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
<i>Brevistriata skrzjabini</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1
<i>Cordicauda cordicauda</i>	0	0	0	3	0	7	0	0	0	1	0	1	0	3	1	0	0	0	1	1
<i>Sciurodendrium bravohollisae</i>	1	2	1	3	0	1	0	0	0	0	1	3	1	3	2	2	2	3	0	0
<i>Fuellebornema granulosa</i>	2	2	1	3	0	3	0	1	1	1	2	3	0	3	2	2	2	2	0	0
<i>Pudica pudica</i>	2	2	1	1	0	5	1	1	0	1	2	0	0	1	2	2	2	2	0	0
<i>Vexillata vexillata</i> (morfortipo 0)	2	2	1	1	2	3	2	2	1	1	3	3	1	1	4	2	0	1	2	1
<i>Vexillata vexillata</i> (morfortipo 1)	2	2	1	2	2	3	2	3	1	1	4	3	1	1	4	2	0	2	2	1
<i>Vexillata vexillata</i> (morfortipo 2)	2	2	1	3	2	3	2	3	1	1	3	3	1	3	4	2	0	0	2	1
<i>Vexillata vexillata</i> (morfortipo 3)	2	2	1	1	2	3	2	3	1	1	3	3	1	2	4	1	0	1	2	1
<i>Vexillata vexillata</i> (morfortipo 4)	2	2	1	1	2	3	2	3	1	1	3	3	1	2	4	2	0	1	2	1
<i>Vexillata vexillata</i> (morfortipo 5)	2	2	1	1	2	3	2	1	1	1	4	3	1	3	4	2	0	0	2	0
<i>Vexillata armandae</i>	2	2	1	3	2	3	1	3	1	1	3	3	1	3	3	1	0	1	2	1
<i>Vexillata geomyos</i>	2	0	1	3	2	3	1	3	1	1	4	3	1	1	4	1	0	1	0	1
<i>Vexillata chitwoodi</i>	2	0	1	3	2	5	1	3	1	2	7	1	1	1	?	?	2	0	0	0
<i>Vexillata noviberdae</i>	2	0	1	1	2	2	1	3	0	1	4	1	1	1	?	?	1	2	0	1
<i>Vexillata convoluta</i>	2	0	1	1	2	3	1	3	1	1	8	1	1	1	3	1	0	2	0	1
<i>Vexillata liomyos</i>	2	2	1	3	2	6	1	3	0	2	5	3	1	3	3	2	0	1	2	1
<i>Vexillata dessetae</i>	2	0	0	3	2	3	2	3	1	1	3	2	1	3	3	2	0	1	2	0
<i>Vexillata legallae</i>	2	0	1	1	2	3	1	2	1	1	6	1	1	1	3	2	0	1	0	0
<i>Vexillata brooksi</i>	2	1	1	2	2	3	1	3	1	1	4	1	1	2	4	2	2	1	0	0
<i>Vexillata petteri</i>	2	2	1	1	2	4	1	2	0	2	3	3	1	1	5	2	0	0	0	0
<i>Vexillata chabaudi</i>	2	2	1	1	2	4	1	3	0	2	4	3	1	1	5	2	2	0	0	0
<i>Vexillata scorzai</i>	2	2	1	1	2	4	1	3	0	2	3	3	1	?	?	?	0	0	0	0
<i>Vexillata tejerae</i>	2	2	1	3	2	4	1	2	0	2	3	3	1	?	?	?	0	0	0	0

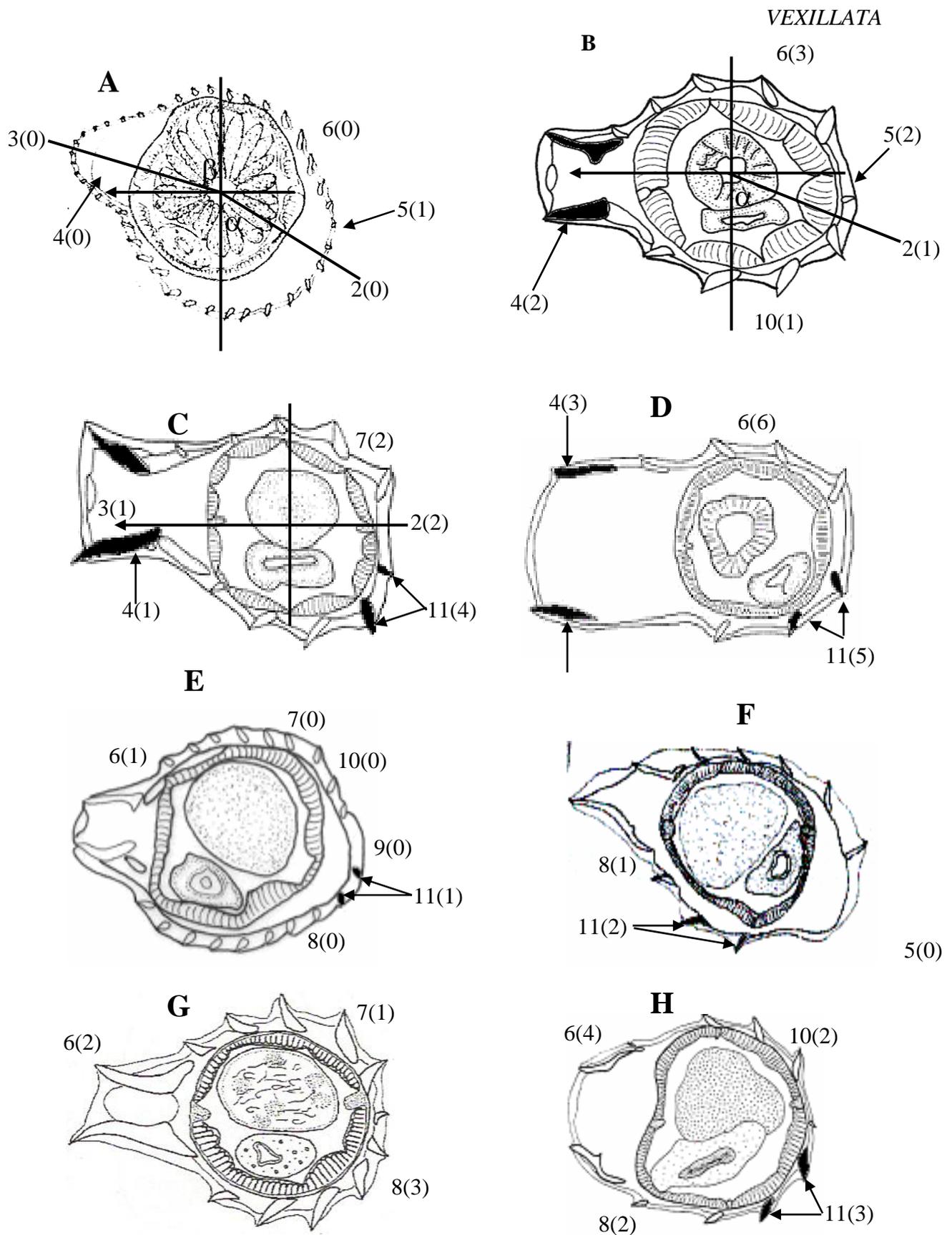


Fig. 1 Caracteres utilizados en el análisis filogenético del Género *Vexillata* (sin escalas), a un costado de las figuras se indica el carácter con su estado de carácter correspondiente entre paréntesis. Síntono en la región media del cuerpo (machos): **A**) *Brevistriata skrjabini* (tomado de Durette- Desset, 1970 a); **B**) *Vexillata brooksi* (tomado de Falcón-Ordaz y García-Prieto, 2005); **C**) *V. vexillata* morfotipo 5 (presente estudio); **D**) *V. liomyos* (tomado de Falcón-Ordaz et al., 2001); **E**) *Sciurodendrium bravohollisae* (tomado de Falcón-Ordaz y Lamothe-Argumedo, 2006); **F**) *Pudica pudica* (tomado de Cassone y Durette-Desset, 1991); **G**) *V. noviberiae* (tomado de Durette-Desset y Digiani, 2005a); **H**) *V. tejerae* (tomado de Guerrero, 1984).

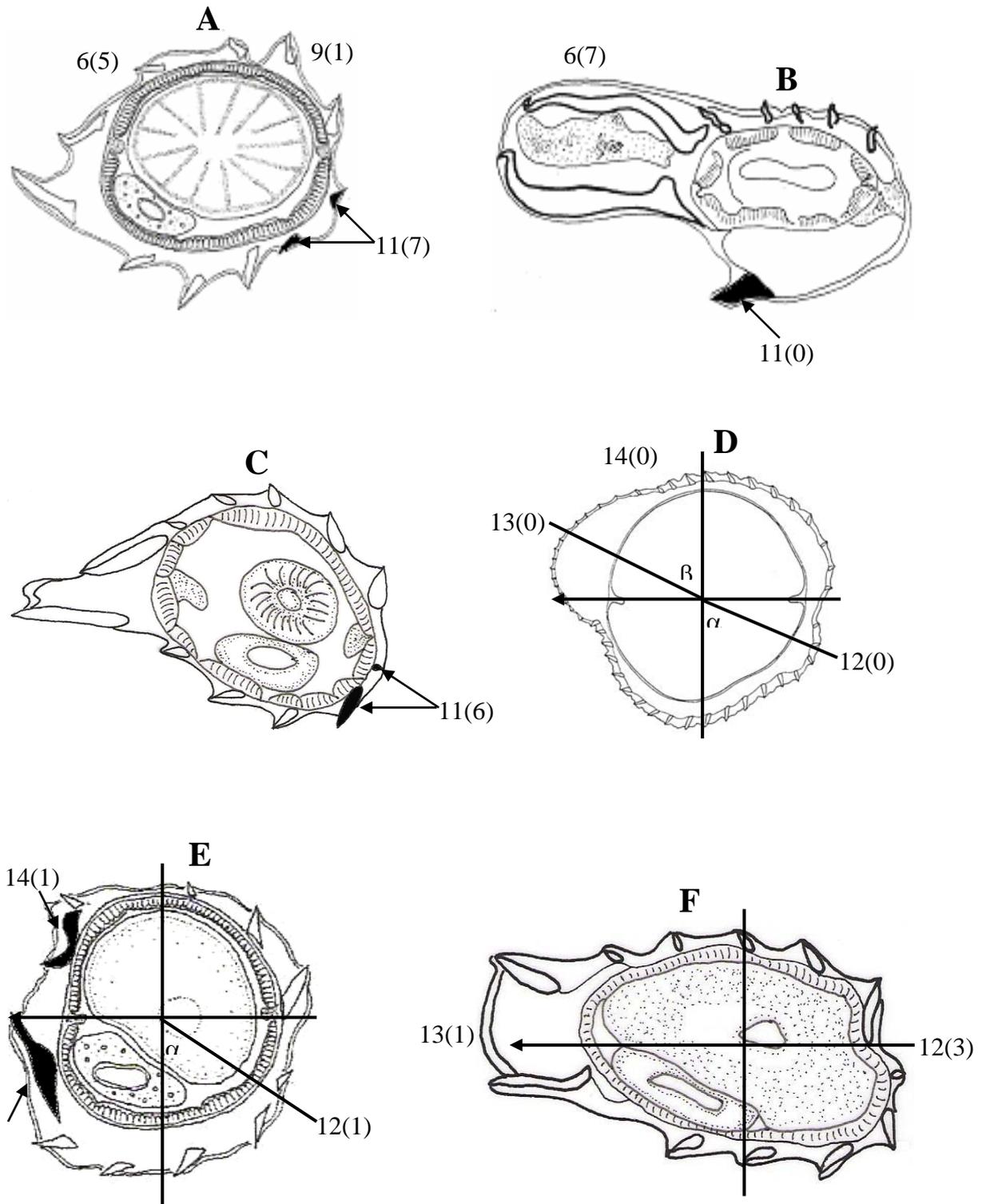


Fig 2. Caracteres utilizados en el análisis filogenético del Género *Vexillata* (sin escalas), a un costado de las figuras se indica el carácter con su estado de carácter correspondiente entre paréntesis. Sínofo en la región media del cuerpo (machos): **A**) *V. chitwoodi* (tomado de Durette-Desset y Digiani, 2005a); **B**) *Cordicauda cordicauda* (tomado de Durette-Desset, 1966); **C**) *V. legallae* (presente estudio). Sínofo en la región media del cuerpo (hembras): **D**) *Brevistriata skrjabini* (tomado de Durette-Desset, 1976); **E**) *V. chitwoodi* (tomado de Durette-Desset y Digiani, 2005a); **F**) *V. vexillata* morfotipo 1 (presente estudio).

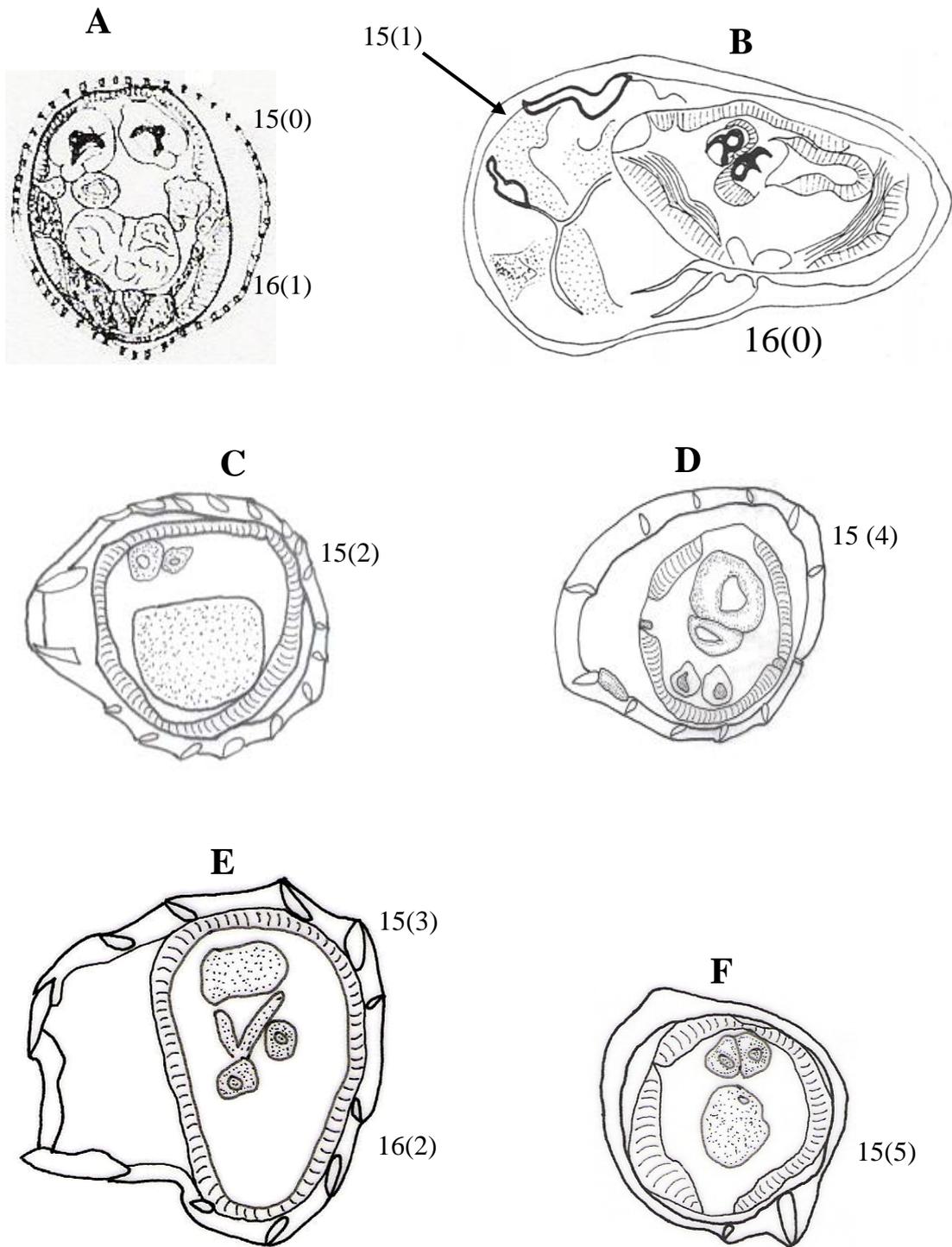


Fig. 3. Caracteres utilizados en el análisis filogenético del Género *Vexillata* (sin escalas), a un costado de las figuras se indica el carácter con su estado de carácter correspondiente entre paréntesis. Síntlofo aproximadamente a la mitad de la longitud total de las espículas (machos): **A)** *Brevistriata skrjabini* (tomado de Durette-Desset, 1970a); **B)** *Cordicauda cordicauda* (tomado de Durette-Desset, 1966); **C)** *Sciurodendrium bravohollisae* (tomado de Falcón-Ordaz y Lamothe-Argumedo, 2006); **D)** *V. vexillata* morfotipo 5 (presente estudio); **E)** *V. dessetae* (presente estudio); **F)** *V. petteri* (presente estudio).

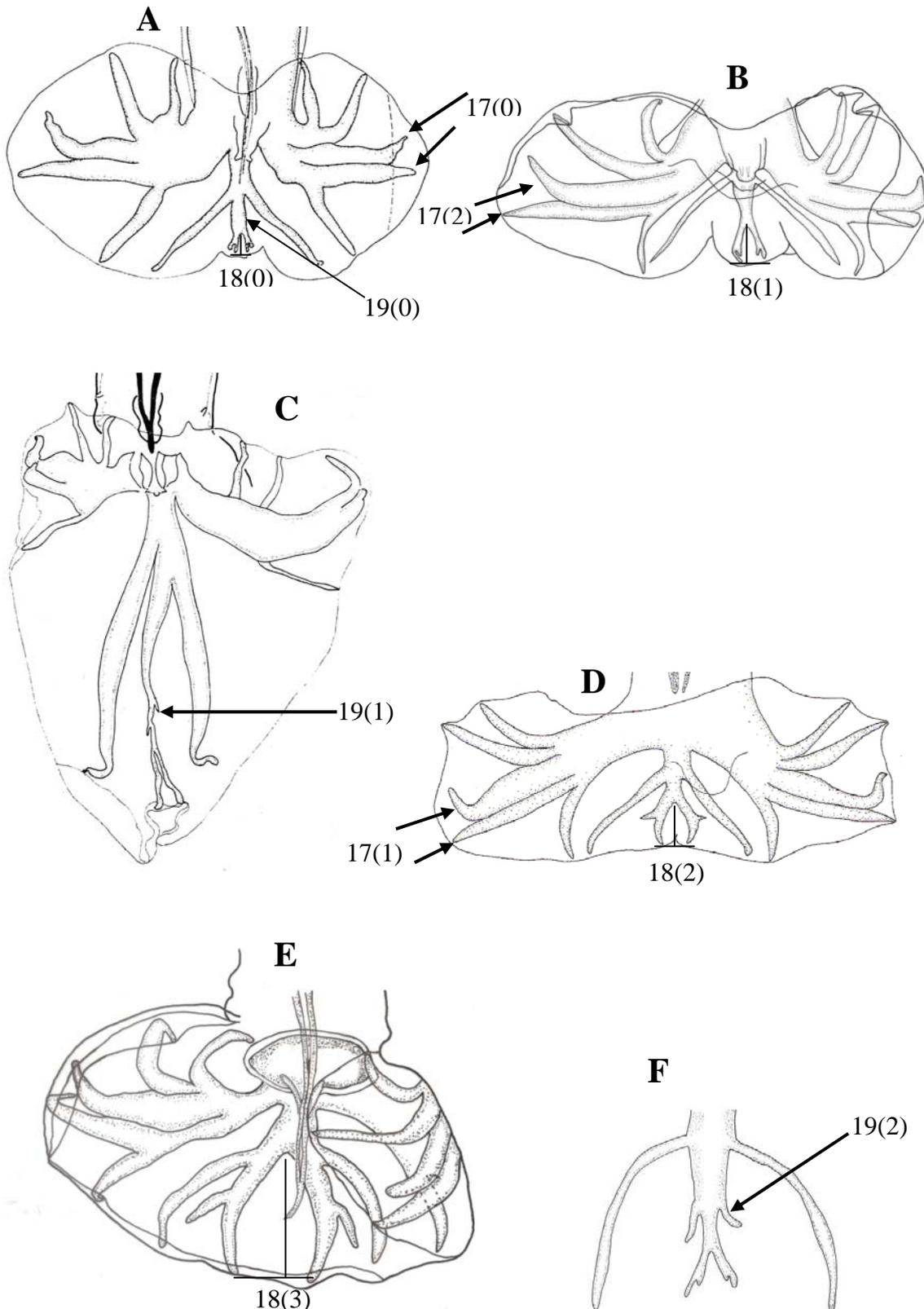


Fig. 4. Caracteres utilizados en el análisis filogenético del Género *Vexillata* (sin escalas), a un costado de las figuras se indica el carácter con su estado de carácter correspondiente entre paréntesis. Rayos bursales: **A)** *Brevistriata skrjabini* (tomado de Durette-Desset, 1970a); **B)** *V. brooksi* (tomado de Falcón-Ordaz y García-Prieto, 2005); **C)** *Cordicauda cordicauda* (tomado de Durette-Desset, 1966); **D)** *V. noviberiae* (tomado de Durette-Desset y Digiani, 2005a); **E)** *Sciurodendrium bravohollisae* (tomado de Falcón-Ordaz y Lamothe-Argumedo, 2006); **F)** *Sciurodendrium bravohollisae* (tomado de Falcón-Ordaz y Lamothe-Argumedo, 2006); **F)** *V. vexillata* morfotipo 2 (presente estudio).

Resultados

Filogenia de las especies del Género *Vexillata*

Del análisis realizado, se obtuvieron cuatro árboles igualmente parsimoniosos (Fig. 5), con una longitud de 97 pasos, índice de consistencia (IC) de 0.567 e índice retención (IR) de 0.677. Los cuatro árboles (Fig. 5) varían por la indefinición de los morfotipos de *Vexillata vexillata* 0, 3 y 4; en el árbol 1 (Fig. 5 A) los morfotipos ya mencionados forman un clado en el cual el morfotipo 0 es la especie hermana de los morfotipos 3 y 4. El árbol 2 (Fig. 5 B) muestra al morfotipo 0 como especie hermana del resto de las especies, que en conjunto forman una politoma con un grupo resuelto (morfotipo 2, *V. dessetae*, *V. armandae* y *V. liomyos*). El árbol 3 (Fig. 5 C) presenta al morfotipo 0 como especie hermana del clado formado por los morfotipos 3 y 4, que a su vez es grupo hermano del morfotipo 2. Por último, el árbol 4 (Fig. 5 D) se presenta al morfotipo 1 como especie hermana de dos grupos resueltos agrupados en politomía, uno formado por el morfotipo 3 y 4 y el segundo constituido por el morfotipo 2, *V. dessetae*, *V. armandae* y *V. liomyos*.

Ahora bien, el consenso estricto de los 4 árboles (Fig. 6) muestra la monofilia del Género *Vexillata* apoyada por tres sinapomorfías: la presencia de espinas desiguales en el lado derecho del cuerpo [5 (2)], la carencia de gradiente de tamaño definido para las espinas del lado ventral del cuerpo [8 (3)] y que la primera espina latero-ventral derecha es menor a la segunda y su dirección es perpendicular a la pared del cuerpo [11 (4)]. Además de los caracteres antes mencionados, se presentan tres homoplasias: Ángulo de la quilla en la región media de las hembras de 90° [13(1)], espinas del sínlofo en la región posterior el macho dispuestas dorsal y ventral [15 (4)] y la división del rayo dorsal a 10 a 25 % de la longitud total del mismo [19(0)].

Dentro del grupo interno se forman tres clados principales (I, II, y III, ver Fig. 6). El clado I incluye a (*V. chabaudi*, (*V. scorzai*, (*V. tejerai*, *V. petteri*))) y se encuentra apoyado por dos sinapomorfias: sínlofo formado por 11 espinas en la región media del cuerpo [6 (4)] y espinas ventrales del sínlofo en la región posterior del macho [15 (5)]. Los caracteres que sostienen a las diferentes especies de este grupo son homoplásicos. *Vexillata chabaudi* se separa de las otras especies por que la 1ª espina del sínlofo del lado ventral es menor que la 2ª con una dirección de derecha a izquierda [11(3)] y los rayos 4 son mayores que los rayos 5 [17(0)]. Ahora bien, *V. scorzai* se diferencia del grupo corona (*V. petteri* + *V. tejerai*) por el gradiente de tamaño y por la dirección de izquierda a derecha que presentan algunas espinas del sínlofo en el lado ventral del

cuerpo [8(2)]. Por último, la diferenciación entre *V. tejerai* y *V. petteri* se basa en que la primera exhibe las espinas de la quilla del mismo tamaño [4 (3)].

Los clados II y III se encuentran definidos por que el número de espinas del lado dorsal y ventral es el mismo [9 (1)] (carácter homoplásico). El clado II es apoyado por dos caracteres homoplásicos: ángulo de inclinación del sínlofo de 50° a 65° [2 (0)] y de 60° a 67° [12 (1)], en machos y hembras, respectivamente. Dicho clado se encuentra constituido por (*V. chitwoodi*, (*V. brooksi*, (*V. legallae*, (*V. geomyos*, (*V. noviberæ*, *V. convoluta*))))). *Vexillata chitwoodi* posee una autapomorfía (1ª espina ventral del sínlofo igual a la 2ª, con dirección de derecha a izquierda) [11 (7)]; se separa del resto de las especies por la división del rayo dorsal con respecto a su longitud total (30 a 40 %) [18 (1)], el cual es un carácter homoplásico; por su parte, *V. brooksi* se define por tres autapomorfías: ángulo de inclinación del sínlofo de 70° a 80° en el macho [2 (1)], y espina dorsal de la quilla de mayor tamaño que la ventral, tanto del macho [4 (2)] como de la hembra [14 (2)], separándose de las cuatro especies restantes por dos homoplasias: las espinas del sínlofo de la región posterior del macho se encuentran alrededor del cuerpo, con dirección izquierda-derecha [15(3)] y los rayos 4 son mayores que los 5 [17 (0)]. *Vexillata legalle* se diferencia de *V. geomyos*, *V. noviberæ* y *V. convoluta* porque las espinas del sínlofo en la región posterior del macho son del mismo tamaño [16 (1)] y por la presencia de gubernáculo [20 (1)] (ambos caracteres homoplásicos). Cabe mencionar que *V. legallae* cuenta con una autapomorfía: 1ª espina ventral derecha del sínlofo mayor que la 2ª, con dirección perpendicular a la pared del cuerpo. Ahora bien, *V. geomyos* se separa de *V. noviberæ* + *V. convoluta* por una homoplasia: rayo dorsal dividido a 50-60% de su longitud total [18 (2)]. Adicionalmente, ambas especies presentan autapomorfías: *V. noviberæ* exhibe 13 espinas en la región media del cuerpo [6 (2)] y la longitud de los rayos 4 es igual a la de los rayos 5 [17 (1)], mientras que en la región media del cuerpo, el sínlofo de *V. convoluta* presenta la 1ª espina ventral mayor que la 2ª, con una dirección opuesta al resto de las espinas ventrales [11 (8)].

En el clado III, el cual presenta la menor resolución, se encuentran los seis morfotipos de *Vexillata vexillata* y tres especies más, dispuestos de la siguiente manera: (*V. vexillata* MORFOTIPO 5, (*V. vexillata* MORFOTIPO 1, (*V. vexillata* MORFOTIPO 0, *V. vexillata* MORFOTIPO 3, *V. vexillata* MORFOTIPO 4, (*V. vexillata* MORFOTIPO 2, (*V. dessetæ* (*V. armandæ*, *V. liomyos*)))))). El clado se encuentra definido por dos sinapomorfías y una homoplasia, respectivamente: Las espinas dorsales del sínlofo (dispuestas de derecha a izquierda) no se acomodan con un

gradiente de tamaño definido, [7 (2)] presencia de ramas anexas en el rayo dorsal [19(2)] y longitud de los rayos 4 mayor que la de los rayos 5 [17(0)]. La especie basal de este clado es *V. vexillata* MORFOTIPO 5, cuyas espinas ventrales exhiben un gradiente de mayor a menor con dirección de derecha a izquierda [8(1)] (autapomorfia); a continuación se sitúa *V. vexillata* MORFOTIPO 1, especie hermana del resto, que en conjunto forman una politomía con un grupo resuelto. Dicho grupo es apoyado por dos homoplasias: sínlofo con la 1ª espina ventral menor que la 2ª y con dirección de derecha a izquierda [11 (3)] y con la espina dorsal de la quilla mayor que la ventral en las hembras [14 (2)]. Por otra parte, el grupo resuelto al que ya se hizo mención, se define por que las espinas que forman la quilla son iguales en machos y hembras [4 (3); 14 (3)] (homoplasias); ahora bien, la especie basal del clado es *V. vexillata* MORFOTIPO 2, la cual difiere de *V. dessetae*, *V. armandae* y *V. liomyos* en que éstas poseen espinas dorsales con un gradiente de mayor a menor y dirección derecha- izquierda [7 (1)]. Adicionalmente, el sínlofo de *V. dessetae* tiene un ángulo de inclinación que va de 73 a 75° en la región derecha del cuerpo de las hembras, carácter autapomórfico que define a la especie. Por último, el grupo corona de este clado, *V. armandae* + *V. liomyos*, se encuentra sostenido por un carácter homoplásico: rayos 4 iguales a los rayos 5 [17 (1)] y *V. liomyos* se define por dos caracteres autapomórficos: sínlofo con 9 espinas [6 (6)] y 1ª espina ventral igual a la segunda, con dirección derecha-izquierda [11 (5)].

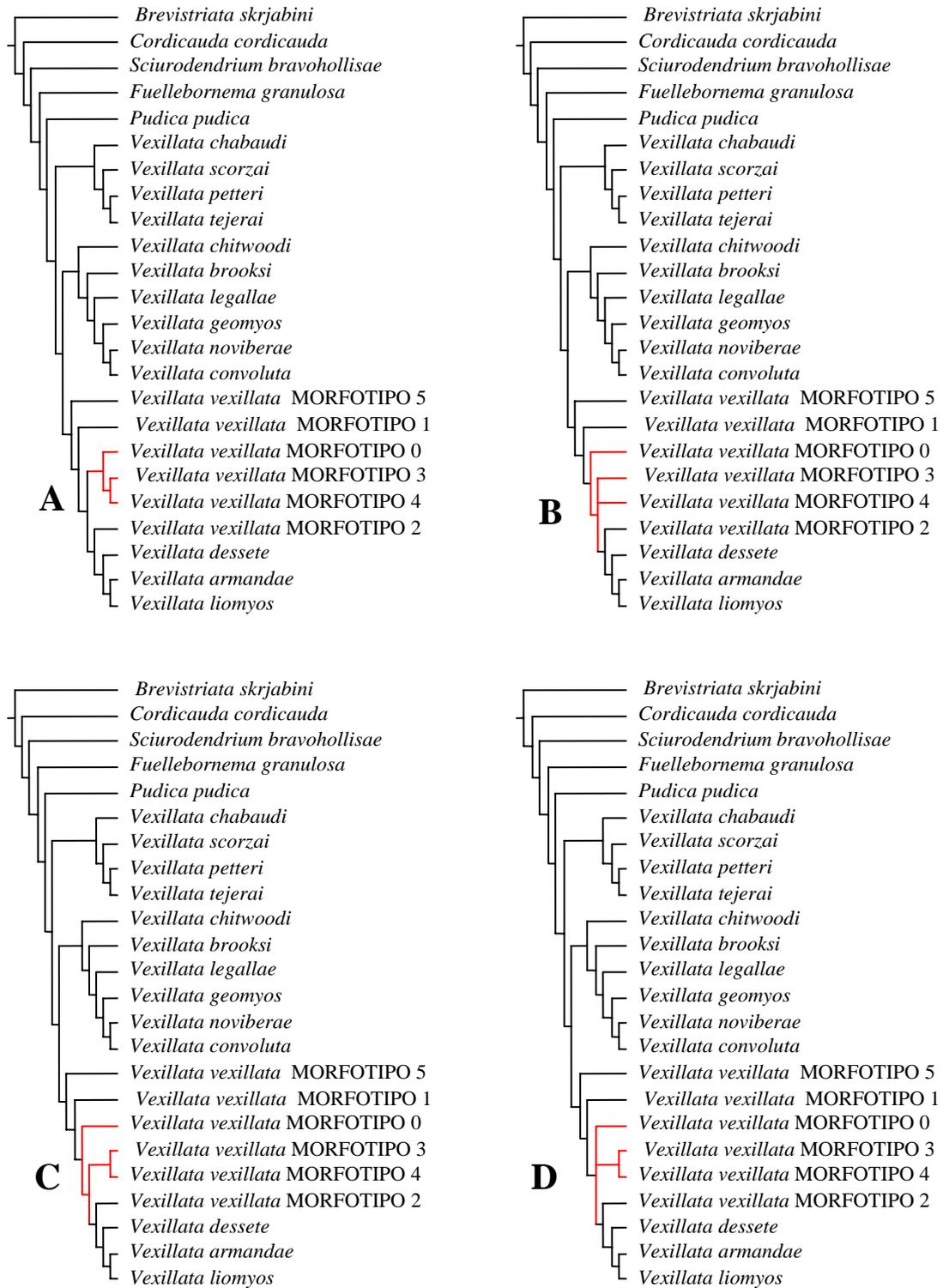


Fig. 5. Cuatro árboles igualmente parsimoniosos obtenidos del análisis de 20 caracteres morfológicos para el Género *Vexillata*, mostrando la monofilia del género en estudio. Se observa que las diferencias entre éstos son las relaciones entre los morfotipos 0, 3 y 4 de *V. vexillata*.

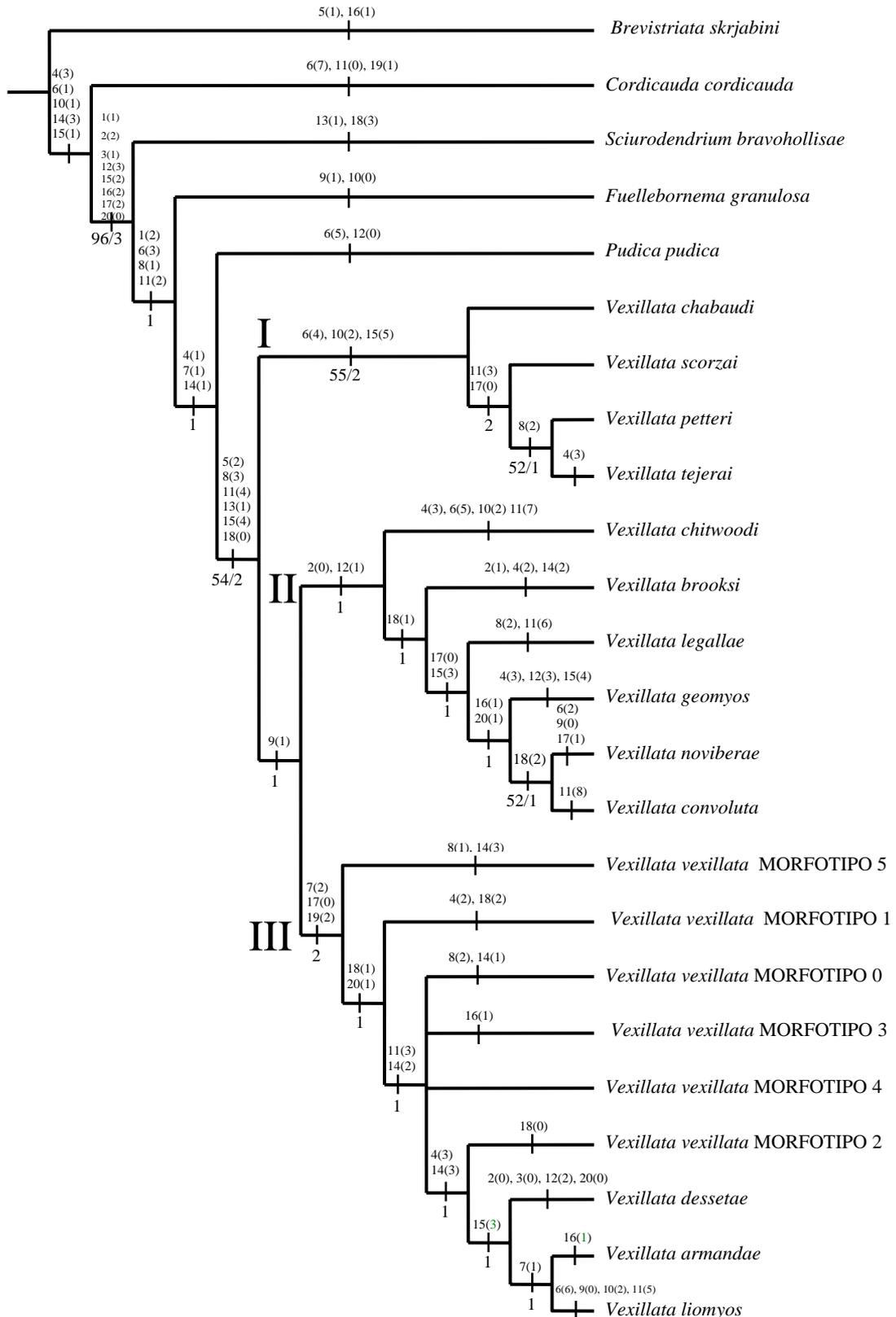


Fig. 6. Árbol de consenso estricto obtenido a partir de cuatro árboles igual de parsimoniosos, mostrando la monofilia del Género *Vexillata*. Mapeo de caracteres; valores de bootstrap/ valores de índice de bremer.

Discusión

Hasta la fecha solo existían tres trabajos que analizaban las relaciones filogenéticas de especies pertenecientes a cuatro géneros de trichostrongilinos. El primero aborda las relaciones entre las especies de los Géneros *Nippostrongylus* y *Heligmonoides* distribuidas en Asia, encontrando que su distribución corresponde con la de sus hospederos (Hasegawa, 1999). El segundo, Pérez-Ponce de León *et al.* (2000) estudiaron las diferentes especies que forman al Género neotropical *Stilestrongylus*, obteniendo un resultado similar al postulado por Durette-Desset (1971) en su clasificación de los Nippostrongylineae, en el cual mencionó la línea evolutiva *Carolinensis-Hassalstrongylus-Stilestrongylus*; asimismo, concluyeron que el género que estudiaron se disperso a través de dos rutas geográficas por Sudamérica: una por el Pacífico, del lado oeste de los Andes y otra por el Atlántico, del lado este de esta cordillera. Por último, Hoberg *et al.* (2004) analizaron 25 caracteres morfológicos de 12 especies de *Haemonchus*, obteniendo un árbol que establece la monofilia del género; a partir de dicho estudio, los autores propusieron el origen del género en África, con base en una diversificación basal en antílopes y en eventos de colonización en caprinos y bovinos (Hoberg *et al.*, 2004). Con el presente trabajo se aporta nueva información para el conocimiento de las relaciones filogenéticas entre especies de la superfamilia Heligmosomoidea (3) y Trichostrongyloidea (1).

Evolución de caracteres

Los rasgos más informativos de los trichostrongílidos para realizar análisis filogenéticos son derivados del sinlofo y la bursa (Pérez-Ponce de León *et al.*, 2000). Del primero, se obtuvieron 16 caracteres y del segundo 3, encontrando un gran nivel de homoplasia en nuestros cladogramas, similar al registrado por Hoberg *et al.* (2004) al estudiar *Haemonchus* y Pérez-Ponce de León *et al.* (2000) en el análisis filogenético del Género *Stilestrongylus*; lo anterior, de acuerdo con Pérez-Ponce de León *et al.*, (2000) sugiere una gran plasticidad adaptativa de caracteres a nivel de especie en este grupo de nemátodos.

Durette-Desset (1971) dividió al Género *Vexillata* en dos grupos, basándose principalmente en el número total de espinas del sinlofo en la región media del cuerpo; para las especies registradas en ese momento, dicho número era de 12 (grupo A) y 11 (grupo B). Nuestro análisis indica que la presencia de 12 espinas en el sinlofo es un carácter plesiomórfico, presente en el grupo externo (*Fuellebornema granulosa*) y en siete de las 14 especies del género. Este carácter tiende a disminuir, siendo de 11

espinas en el grupo basal (*V. chabaudi*, *V. scorzai*, *V. petteri* y *V. tejerai*), 10 en *V. chitwoodi* y de 9 *V. liomyos*. No obstante, *V. noviberiae* exhibe un aumento a 13 espinas.

Otra característica que define al género es la presencia de un gradiente en la talla de las espinas dorsales del cuerpo, que va de mayor a menor con dirección derecha-izquierda. Este carácter se presenta en las especies basales que forman los clados I y II, mientras que los morfotipos de *V. vexillata* y *V. dessetae* no muestran un gradiente definido de tamaño de espinas, excepto *V. armandae* y *V. liomyos* que tienen el carácter plesiomórfico. Por último, la presencia de ramas anexas simétricas en el rayo dorsal es un carácter que define a los miembros del clado III, siendo la ausencia de éstas el carácter plesiomórfico en el resto de las especies.

¿Es *Vexillata vexillata* un complejo de especies?

Vexillata vexillata fue descrita por Hall (1916) parasitando a *Thomomys talpoides* (= *T. fossor*) en Colorado, EUA; posteriormente Durette-Desset (1978) describió el sínlofo de la región media del cuerpo a partir de ejemplares recolectados en *Chaetodipus hispidus* (= *Perognathus hispidus*) provenientes de Texas, EUA. El primer registro de la especie en México fue realizado por Caballero (1958) en *Liomys pictus* de Chiapas y posteriormente fue redescrita por Falcón-Ordaz y Sanabria-Espinoza (1997) en material recolectado en *L. irroratus* y *Peromyscus difficilis* del estado de Hidalgo.

A partir del estudio de material de diferentes colecciones (CNHE y USNPC) y nuevas recolectas (EUA, México y Costa Rica), se realizó un análisis morfológico de la especie (Capítulo III), en el cual se diferenciaron seis morfotipos. La diferenciación de dichos morfotipos se basó en nueve caracteres (Tabla 2 del Capítulo III); de éstos, siete se utilizaron en el análisis filogenético (4, 8, 11, 14, 16, 18 y 20); los dos restantes no se utilizaron en el estudio por no estar presentes en el grupo externo. Los caracteres no utilizados se refieren al sínlofo en la región posterior del macho, siendo la presencia de espinas únicamente en la región dorsal y ventral y la carencia de quilla en los morfotipos 0, 1, 2 y 3. En lo que se refiere a los morfotipos 4 y 5, éstos exhiben espinas alrededor del cuerpo con la presencia de quilla (Fig. 7 del Capítulo III). Los morfotipos se definen con base en los siguientes caracteres:

Morfotipo 0: sínlofo, en la región ventral del macho con algunas espinas arregladas en gradiente de derecha a izquierda; quilla en la región media de la hembra con la espina ventral mayor que la dorsal.

Morfotipo 1: quilla en el macho con la espina dorsal mayor que la ventral; división del rayo dorsal al 50 - 60 % de su longitud.

Morfotipo 2: división del rayo dorsal al 10 a 25 % de su longitud.

Morfotipo 3: sinlofo en la región posterior del macho con espinas del mismo tamaño.

Morfotipo 4: sinlofo en la región en medio-ventral del cuerpo de los machos la 1ª espina menor que la 2ª con dirección derecha-izquierda; quilla en la hembra con la espina dorsal mayor que la ventral

Morfotipo 5: sinlofo en la región medio-ventral del cuerpo de los machos provisto de espinas con un gradiente de mayor a menor de derecha a izquierda; en las hembras las espinas de la quilla son del mismo tamaño.

En miembros de la Superfamilia Trichostrongyloidea se han realizado diversos análisis morfológicos, diferenciando especies a partir de las características de las espículas, el esófago, la cápsula bucal y el patrón de las espinas del sinlofo a lo largo del cuerpo (Hoberg, *et al.*, 1993; Lichtenfels, *et al.*, 1993; Drózd, 1995). Entre los morfotipos derivados del análisis morfológico que efectuamos, se observan algunas diferencias, siendo la principal el arreglo de las espinas del sinlofo en los machos (Tabla 2 del Capítulo III).

Los análisis filogenéticos con bases morfológicas efectuados en trichostrongiloideos, han permitido la creación de subfamilias como Obeliscoidinae (Durette-Desset *et al.*, 1999) y géneros como *Maxomstrongylus* (Hasegawa, 1999). Con base en lo anterior y considerando la topología de los árboles producto de nuestro análisis, no podemos diferenciar los morfotipos como especies independientes, por lo que creemos necesaria la aplicación de un análisis molecular que permita primero diferenciar los morfotipos y posteriormente definir la posición de estos dentro del género.

Propuesta sobre el origen del Género *Vexillata*

Durette-Desset (1971) en su trabajo sobre los heligmosomidos, dividió *Vexillata* en dos grupos (A y B); a partir de esta división, la autora hace dos propuestas sobre el origen del género. La primera propuesta plantea, en el que el grupo denominado A se origina directamente de los Heligmonellinae mientras que el grupo B tiene un origen a partir de *Travassostrongylus*, parásito de marsupiales sudamericanos. La segunda propuesta, establece el origen del grupo B a partir del grupo A con base en la distribución geográfica de sus hospederos. Sin embargo, su análisis se basó exclusivamente en el sinlofo de *Travassostrongylus*, el cual cuenta con espinas grandes y simétricas con un eje frontal y una orientación de derecha a izquierda, caracteres que poseen solo algunas especies de *Vexillata*.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio no confirman las propuestas de Durette-Desset, ya que se comprueba la monofilia del género, proponiendo como grupo hermano de *Vexillata* a Pudicinae, subfamilia con la que comparte características del sinlofo, como espinas continuas en una línea, quilla sostenida por dos espinas y el ángulo de ésta (90°). En cuanto a la segunda propuesta, origen del grupo B a partir del A, tampoco puede ser sostenida, las especies que forman el grupo B (que cuentan con 11 espinas), constituyen el clado basal que se distribuye en Sudamérica, mientras que el grupo A es el derivado, siendo su distribución de centro a Norteamérica; además, dentro de este grupo se encuentran especies que no cuentan con 12 espinas (*V. chitwoodi* 10, *V. noviberæ* 13 y *V. liomyos* 9). No es posible plantear un origen del género como lo hace Durette-Desset, por que falta un estudio más profundo de la morfología, además de un análisis molecular del total de las especies de *Vexillata*.

Relación con sus huéspedes

Las especies del Género *Vexillata* son parásitas de representantes de las Familias Geomyidae (*Thomomys*, *Geomys* y *Cratogeomys*), Heteromyidae (*Perognathus*, *Chaetodipus*, *Liomys* y *Heteromys*) y Leporidae (*Sylvilagus*). Las dos primeras familias se distribuyen desde la región sur de Canadá (Columbia Británica, Alberta, Manitoba y Saskatchewan), hasta el sur de Panamá (Geomyidae) y norte de Venezuela, Colombia y Costa pacífica de Ecuador (Heteromyidae). En lo que se refiere a la familia Leporidae, su distribución es del sur de Canadá pasando por los Estados Unidos de América [E. U. A.], México y Centroamérica hasta Colombia y Venezuela (Anderson *et al.* 2002; Hall, 1981; Schmidly *et al.*, 1993; Villa y Cervantes, 2003).

Tomando en cuenta el árbol de consenso (Fig. 7) se observa que existen patrones de asociación definidos entre las especies del género *Vexillata* y los miembros de las 3 familias de hospederos; sin embargo, no exhiben patrones biogeográficos (con excepción del clado I).

Si colocamos los nombres de las familias de hospederos sobre el árbol de consenso, encontramos que el ancestro de *Vexillata* probablemente infectó a un heterómido de la región neotropical. Lo anterior se refleja en el clado basal (I), en el que las especies de *Vexillata* parasitan a *Heteromys australis* y *H. anomalus*, las cuales se distribuyen en Colombia y Venezuela, respectivamente. El Género *Heteromys* colonizó Sudamérica una vez que se unió Panamá y Colombia durante el Plioceno (aproximadamente 3 millones de años); el paso de este género se debió a la presencia

predominante de bosque lluvioso en la región, ecosistema en el cual habita (Schmidly *et al.*, 1993; Webb, 1985).

Dentro de este clado se encuentra *V. petteri*, que al ser descrita por Durette-Desset (1970b) menciona como huésped a *Heteromys* sp., de una localidad no determinada en Norteamérica. Actualmente las 9 especies del género se distribuyen en áreas tropicales húmedas de México (Veracruz, Oaxaca, Tabasco, Chiapas, Campeche, Quintana Roo y Yucatán) y América del Sur, (Anderson *et al.* 2002; Anderson y Jarrín-V., 2002; Anderson, 2003; Schmidly *et al.*, 1993; Villa y Cervantes, 2003), por lo que el registro de *V. petteri* seguramente se realizó en un punto a lo largo de dicha distribución y con ello, la afinidad del clado es completamente neotropical.

En la figura 21, se observa en los clados II y III que las especies de *Vexillata* no exhiben un patrón biogeográfico ni uno con relación a los hospederos que parasitan, esto puede ser debido a que la distribución estos últimos se sobrelapa, teniendo afinidades Neárticas, Neotropicales y de la zona de Transición Mexicana (Escalante *et al.*, 2005; Morrone, 2005).

Tres especies de estos 2 clados, i.e., *V. brooksi* (Costa Rica), *V. legallae* y *V. dessetae* (Veracruz), parasitan a *Heteromys desmarestianus*, especie con afinidad neotropical; su distribución actual abarca desde el centro de Veracruz, a lo largo de Centro América, hasta el sur de Panamá (Schmidly *et al.*, 1993 Villa y Cervantes, 2003).

Otros heterómidos parasitados por especies de *Vexillata* incluidas en el clado III, son *Perognathus flavus*, *Chaetodipus hispidus*, *Liomys irroratus*, *L. pictus*, y *L. salvini*. Cabe mencionar que las dos primeras exhiben una afinidad Neártica y de la zona de Transición Mexicana, mientras que las especies de *Liomys* se distribuyen en la regiones Neártica y Neotropical, así como en la zona de Transición Mexicana (Escalante *et al.*, 2005; Morrone, 2005; Schmidly *et al.*, 1993 Villa y Cervantes, 2003).

El paso del parásito a la Familia Geomyidae en los clados II y III, como se observa en la figura 7, puede atribuirse a los hábitos conductuales de las especies de heterómidos; se ha documentado que especies como *H. desmarentianus* construye sus nidos en las madrigueras de tuzas (Villa y Cervantes, 2003), facilitándose el proceso de infección por presentar estos nemátodos un ciclo de vida directo (Durette-Desset, 1985; Sukhdeo *et al.*, 1997). Una de las características de este tipo de madrigueras es que el

aire de los túneles tiene una temperatura que oscila entre 25 y 27° C (Sosa, 1981¹) temperatura aproximada que necesitan los huevos de heligmosomoideos (28° C en condiciones de laboratorio) para poder ser incubados; asimismo, las larvas infectivas toleran temperaturas de 0 a 7° C por 13 días (Anderson, 2000).

Los géneros de “tuza” parasitados por *Vexillata* son *Geomys*, *Thomomys* y *Cratogeomys*, el primero se distribuyó hasta Aguascalientes en el Pleistoceno de acuerdo al registro fósil (Ferrusquía-Villafranca, 1978); actualmente este género solamente se encuentra en las Grandes Planicies al sureste de E.U.A. (Jolley *et al.*, 2000), área que corresponde a la región Neártica. En lo que respecta a registros fósiles de *Thomomys* y *Cratogeomys*, éstos se han encontrado desde el Pleistoceno en Nuevo León y el centro de México, por lo que estos géneros estuvieron y están en contacto con heterómidos, ya que la distribución actual de *Thomomys* abarca del sur de Canadá al Eje Volcánico Transversal, mientras que *Cratogeomys* se localiza en Texas, Nuevo México, Colorado y Kansas en E. U. A., estados del norte y centro de México, además de Colima, teniendo ambos géneros una afinidad Neártica, zona de Transición Mexicana y Neotropical (únicamente para *C. fumosus*) (Escalante *et al.*, 2005; Morrone, 2005; Villa y Cervantes, 2003).

Por último, el registro de *V. noviberæ* en *Sylvilagus floridanus* en el clado II, lo consideramos una infección accidental, infiriendo que probablemente el hospedero definitivo natural es una “tuza” del Género *Geomys* (posiblemente *G. breviceps*), con base en la localidad en la que se recolectó el hospedero (Louisiana, E. U. A.), ya que el clado está formado por especies parásitas de Geomyidae.

¹ Sosa Fernández V. de J. (1981)

Contribución al conocimiento de la historia natural de la tuza *Pappogeomys tylorhinus tylorhinus* (Rodentia: Geomyidae) en una zona semiárida. Tesis Licenciatura. Facultad de Ciencias UNAM.: 136 pp.

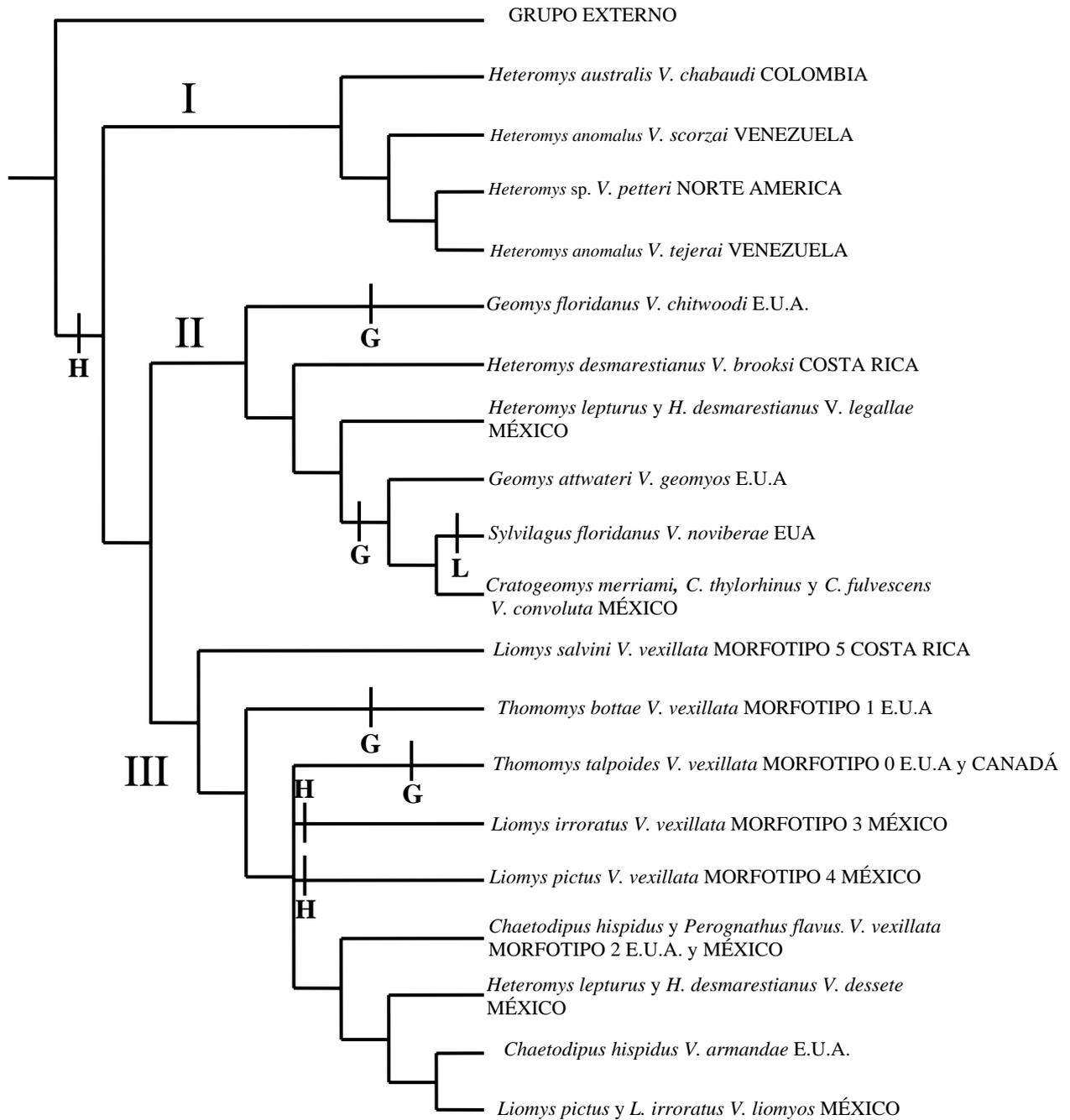


Fig. 7. Árbol de consenso estricto donde se muestran las relaciones del género *Vexillata* con sus hospederos. H = Heteromyidae; G = Geomyidae L = Leporidae.

Clave dicotómica para especies del Género *Vexillata*

Esta clave se basa en las descripciones originales de las especies, así como de la revisión morfológica realizada en el presente trabajo.

- 1.- Rayo dorsal con ramas suplementarias.....2
- 1 a.- Rayo dorsal sin ramas suplementarias.....8
- 2.- Sinlofo con 9 espinas en la región media del cuerpo*Vexillata liomyos*
- 2 a.- Sinlofo de los machos con 12 espinas en la región media3
- 3.- Rayos 10 bifurcados.....*Vexillata dessetae*
- 3 a.- Rayos 10 enteros.....4
- 4.- Ramas del rayo dorsal de diferente longitud*Vexillata armandae*
- 4 a.- Ramas del rayo dorsal de igual longitud5
- 5.- Sinlofo con quilla a nivel de las espículas *Vexillata vexillata* morfotipo 5
- 5 a.- Sinlofo sin quilla a nivel de las espículas6
- 6.- Quilla en la región media del cuerpo del macho con espinas de diferente tamaño
.....7
- 6 a.- Quilla en la región media del cuerpo del macho con espinas del mismo tamaño
..... *Vexillata vexillata* morfotipo 2
- 7.- Quilla en la región media del cuerpo del macho con la espina ventral mayor que la
dorsal *Vexillata vexillata*
- 7 a.- Quilla en la región media del cuerpo del macho con la espina ventral menor que la
dorsal *Vexillata vexillata* morfotipo 1
- 8.- 4 espinas dorsales en el sinlofo a nivel de la región media del cuerpo del macho9
- 8 a.- 5 espinas dorsales en el sinlofo a nivel de la región media del cuerpo del macho
.....13
- 9.-Rayos 4 rectos.....*Vexillata chitwoodi*
- 9 a.- Rayos 4 curvados hacia la región dorsal 10
- 10.- Espina dorsal de la quilla en la región media del cuerpo del macho es de menor
tamaño que la ventral.....11
- 10 a.- Espina dorsal de la quilla en la región media del cuerpo del macho es de igual
tamaño que la ventral.....*Vexillata tejeraei*
- 11.- 1ª espina ventral del sinlofo del macho con dirección derecha-izquierda
.....12
- 11 a.- 1ª espina ventral del sinlofo del macho con dirección perpendicular a la pared del

VEXILLATA

cuerpo	<i>Vexillata chabaudi</i>
12.- Rayo 2 de tamaño similar al del rayo 3.....	<i>Vexillata scorzai</i>
12 a.- Rayo 2 de menor tamaño que el rayo 3.....	<i>Vexillata petteri</i>
13.- Sinlofo en la región media del cuerpo del macho con 5 espinas en el lado ventral....	14
13 a.- Sinlofo en la región media del cuerpo del macho con más de 5 espinas en el lado ventral	<i>Vexillata noviberæ</i>
14.- Espículas simples, delgadas y finalizan en punta.....	15
14 a.-Espículas delgadas, bifurcadas en su punta.....	<i>Vexillata brooksi</i>
15.- Sinlofo con una pequeña quilla en la región posterior del macho	16
15 a.- Sinlofo sin quilla en la región posterior del macho	<i>Vexillata geomyos</i>
16.- El rayo dorsal se divide en dos ramas aproximadamente a la mitad de su longitud.....	<i>Vexillata convoluta</i>
16 a.- El rayo dorsal se divide en dos ramas aproximadamente en el 3/3 de su longitud	<i>Vexillata legallæ</i>

Literatura citada

ANDERSON, A. P. (2003)

Taxonomy, Distribution, and Natural History of the Genus *Heteromys* (Rodentia: Heteromyidae) in Western Venezuela, with the Description of a Dwarf Species from the Península de Paraguaná. American Museum Novitates. (3396): 43 pp.

ANDERSON, A. P.; GÓMEZ-LAVERDE, M and PETERSON, T. (2002)

Geographical distributions of spiny pocket mice in South America: insights from predictive models. Global Ecology & Biogeography 11: 131-141.

ANDERSON, A. P. and JARRÍN-V, P. (2002)

A New Species of Spiny Pocket Mouse (Heteromyidae: *Heteromys*) Endemic to Western Ecuador. American Museum Novitates. (3382): 26 pp.

ANDERSON, R. C. (2000)

Nematode Parasites of Vertebrates. Their Development and Transmisión. 2nd ed. CABI Publishing. UK. 650 pp.

BROOKS, D.R. and D. A. MCLENNAN. (1991)

Phylogeny, ecology, and behavior: A research program in comparative biology. University of Chicago Press, Chicago, Illinois, 434 p.

CABALLERO, C. E. (1958)

Estudios Helmintologicos de la región oncocercosa de México y de la República de Guatemala Nematoda: 10^a parte. Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. México. (9-4): 64-66.

CASSONE, J et M. C. DURETTE-DESSET. (1991)

Cinq espes (dont tríos nouvelles) de Nématodes Trichostrongyloides coparasites de *Dasyprocta azarae* au Paraguay. Revue suisse de Zoologie 98: 229-242.

DRÓZDZ, J (1995)

Polymorphism in the Ostertagiinae Lopez-Neyra, 1974 and comments on the systematics of these nematodes. Systematic Parasitology. 32 : 91-99.

DURETTE-DESSET, M. C. (1966)

Sur deux nouveaux Trichostrongyles, parasites du Porc-Epic, au Viet-Nam. Annales de Parasitologie 41: 453-466.

DURETTE-DESSET, M. C. (1970 a)

Brevistriata bergerandi nouveau Nématode Heligmosome, Parasite d'un écureuil de Corée. Bulletin du Museum National d' Histoire Naturelle 2^e Série Tome 42: 419-423.

DURETTE-DESSET, M. C. (1970 b)

Vexillata petteri n. sp. Nématode Héligmosome parasite d'un Rongeur néarctique. Annales de Parasitologie 45: 289-293.

DURETTE-DESSET, M. C. (1971)

Essai de classification des nématodes héligmosomes. Corrélations avec la paléobiogéographie des hôtes. Mémoires du Muséum National d' Histoire Naturelle. Série A, Zoologie Tome 69: 126 pp.

DURETTE-DESSET, M. C. (1976)

Brevistrianae (Nematoda: Heligmosomidae) I. Compléments morphologiques à l'étude d'espèces connues. Bulletin du Museum National d' Histoire Naturelle 3^e Série no 388, Zoologie 270: 685-692.

DURETTE-DESSET, M. C. (1978)

Nouvelles données morphologiques sur des Nématodes Trichostrongyloides des collections du United States National Museum. Bulletin du Museum National d' Histoire Naturelle 3^e Série no 513, Zoologie 352: 135-147.

DURETTE-DESSET, M. C. (1985)

Trichostrongyloides nematodes and their vertebrate hosts: In Reconstruction of the phylogeny of parasitic group: In Advances in Parasitology vol 24 (edited by Baker, J.R. and Muller, R.) London, U. K. Academic Press Inc.: 239-306.

DURETTE-DESSET, M. C. et A. G. CHABAUD (1977)

Essai de classification des Nématodes Trichostrongyloidea. Annales de Parasitologie.52: 539-558.

DURETTE-DESSET, M. C. et A. G. CHABAUD (1981)

Nouvel essai de classification des Nématodes Trichostrongyloidea. Annales de Parasitologie.56: 297-312.

DURETTE-DESSET, M. C. and M. C. DIGIANI. (2005 a)

Systematic position of some nearctic heligmosomoidea (Nematoda: Trichostrongylinea) from the U.S. National Parasite Collection and their description Journal of Parasitology. 91: 893–899

DURETTE-DESSET, M. C. and M. C. DIGIANI. (2005b)

- The axis of orientation of the synopse in the Heligmosomoidea (Nematoda: Trichostrongylina): a new approach. Parasite. 12: 195-202.
- DURETTE-DESSET, M. C., J. P. HUGOT, P. DARLU and A. G. CHABAUD. (1999)
A cladistic analysis of the Tricjostrongyloidea (Nematoda) International Journal for Parasitology. 29: 1065-1086.
- ERIKSSON, T. (1998)
AutoDecay ver. 4.0 (program distributed by the autor). Department of Botany, Stockholm University. Stockholm.
- ESCALANTE, T., G. RODRÍGUEZ y J. J. MORRONE. (2005)
Las provincias biogeográficas del componente Mexicano de Montaña desde la perspectiva de los mamíferos continentales. Revista Mexicana de Biodiversidad. 76: 199-206.
- FALCÓN-ORDAZ, J. y L. GARCÍA-PRIETO. (2005)
A new species of *Vexillata* (Nematoda: Trichostrongylina: Ornithostrongylidae) parasite of *Heteromys desmarestianus* (Rodentia: Heteromyidae) from Costa Rica. Journal of Parasitology. 94: 329-334.
- FALCÓN-ORDAZ, J., S. L. GARDNER and G. PÉREZ –PONCE DE LÉON. (2001)
Vexillata liomyos n. sp. (Remata: Ornithostrongylidae) from *Liomys pictus* (Rodentia: Heteromyidae) from Mexico, with comments on the synopse of *Vexillata armandae*. Journal of Parasitology. 87: 656-659.
- FALCÓN-ORDAZ, J., CH. HSUAN-WIEN and R. LAMOTHE-ARGUMEDO (2006)
A new species of *Vexillata* (Nematoda: Ornithostrongylidae) in attwater's pocket gopher from Texas. Journal of Parasitology. 92: 595-599.
- FALCÓN-ORDAZ, J. and R. LAMOTHE-ARGUMEDO (2006)
A new species of *Sciurodendrium* Nematoda: Heligmonellidae) in *Sciurus* Journal of Parasitology. 92: 600 - 605.
- FALCÓN-ORDAZ, J. y Ma. A. SANABRIA-ESPINOZA (1997)
Vexillata vexillata (Nematoda: Ornithostrongylidae) parásito de roedores de México. Revista de Biología. Tropical. 45: 1691-1694.
- FERRUSQUÍA-VILAFRANCA, I (1978)
Distribution of Cenozoic vertebrate faunas in Middle America and problems of migration between North and South America.: In Conexiones terrestres entre Norte y Sudamérica, (editado I. Ferrsuquía-Villafranca.). Boletín 101, Instituto de Geología, UNAM, México: 193–308 p.

GUERRERO, R. (1984)

Nematoda: Trichostrongyloidea parasites of Venezuelan wild mammals. III. The genus *Vexillata* Travassos, 1937. Annales de Parasitologie 59: 253-261.

HALL, E. R. (1981)

The mammals of North America. Second edition. John Wiley and Sons, New York, 1: 600 pp.

HALL, M. C. (1916)

Nematodes parasites of the orders Rodentia, Lagomorpha and Hyracoidea. Proceedings of the National Museum. Washington. 50: 123-160.

HASEGAWA, H. (1999)

Phylogeny, host-parasite relationship and zoogeography. The Korean Journal of Parasitology. 37 : 197-213.

HENNIG, W. (1966)

Phylogenetic systematics. University of Illinois Press, Urbana, Illinois, 263 p.

HOBERG, E. P., J. R. LICHTENFELS. and P. A. PILITT. (1993)

Comparative morphology of *Ostertagia mossi* and *Ostertagia dikmansi* (Trichostrongylidae) from *Odocoileus virginianus* and comments on other *Ostertagia* spp. From the Cervidae. Systematic Parasitology. 24: 111-127.

HOBERG, E. P., J. R. LICHTENFELS. and L. GIBBONS. (2004)

Phylogeny for species of *Haemonchus* (Nematoda: Trichostrongyloidea): Considerations of their evolutionary and global biogeography among camelidae and pecora (Artiodactyla). Journal of Parasitology. 90: 1085-1102.

JOLLEY, T. W., R. L. HONEYCUTT, AND R. D. BRADLEY. (2000).

Phylogenetic relationships of pocket gophers (genus *Geomys*) based in the mitochondrial 12S rRNA gene. Journal of Mammalogy 81: 1025–1034.

LICHTENFELS J. R., E. P. HOBERG., P. A. PILITT. and A. M. G. BELEM (1993).

A comparison of cuticular ridge patterns and other morphological characters of *Mazamastrongylus odocoilei* and *Mazamastrongylus pursglovei* (Nematoda: Trichostrongyloidea) from white-tailed deer *Odocoileus virginianus* Systematic Parasitology. 24: 1-15.

MADDISON, W. P., M. J. DONOGHUE and D. R. MADDISON. (1984)

Out-group analysis and parsimony. Systematic Zoology 33: 83–103.

MORRONE, J. J. (2005)

- Hacia una síntesis biogeográfica de México. Revista Mexicana de Biodiversidad. 76: 207-252.
- PÉREZ-PONCE DE LEON, G. S. L. GARDNER and J. FALCÓN-ORDAZ. (2000)
Phylogenetic relationships among species of *Stilestrongylus* Freitas, Lent and Almeida, 1937 (Trichostrongyloidea: Heligmonellidae: Nippostrongylineae), parasites of myomorph rodents (Rodentia: Muridae) in the neotropics. Journal of Parasitology. 86: 1326-1335.
- SCHMIDLY, D. J., K. T. WILKINS, and J. M. DER. (1993)
Biogeography: Biology of the Heteromyidae. Special Publication No. 10. (edited Genoways, H. H. and J. H. Brown). The American Society of Mammalogists: 319-356.
- SUKHDEO, S. C., M. V. K. SUKHDEO, M. B. BLACK and R. C. VRIJENHOEK. (1997)
The evolution of tissue migration in parasitic nematodes (Nematoda: Strongylida) inferred from a protein-coding mitochondrial gene. Biological Journal of the Linnean Society 61: 281-298.
- SWOFFORD, D. L. (2000)
PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Versión 4.0b4a. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- VILLA, R. B. Y CERVANTES, F. A. (2003)
Los Mamíferos de México. Grupo Editorial Iberoamericana, S. A. de C. V. México D. F. 140 pp.
- WATROUS, L. E. and Q. WHEELER. (1981)
The outgroup comparison method of character analysis. Systematic Zoology 30: 1-11.
- WEBB, S. D. (1985)
Late Cenozoic Mammal Dispersals between the Americas: The great American biotic interchange (edited F. G. Stehli and S. D. Webb). Plenum Press, New York: 357-386.
- WILEY, E. O. (1981)
Phylogenetics: The theory and practice of phylogenetic systematics. John Wiley and Sons, New York, New York, 439 p.

CAPÍTULO VI

Diferenciación de algunas especies de *Vexillata* por evidencia molecular.

Introducción

Tradicionalmente los caracteres morfológicos han jugado un papel importante en la clasificación de los diferentes taxones; sin embargo, con el paso del tiempo se han utilizado caracteres moleculares que han incorporado una herramienta más en la clasificación de aquellos taxones para los cuales los caracteres morfológicos y de otro tipo, por sí solos, no permiten resolver los problemas taxonómicos. (González, 1997).

En la historia tan corta de la filogenia molecular de los nemátodos, un número diferente de genes han sido utilizados para su análisis como citocromo C, globinas, ARN polimerasa II, shock térmico de proteínas 70, ARN ribosomal y sus espaciadores así como genes mitocondriales (Blaxter, 2001).

La utilización del ADN mitocondrial (mtADN) en problemas nematológicos se ha utilizado en:

- 1.- Diagnóstico molecular: varias características únicas del mtADN hacen de éste una herramienta obvia para la diagnóstico molecular de nemátodos, porque se presenta en miles de copias en cada célula. El rápido índice evolutivo del mtADN provee una huella taxonómica que discrimina entre aislados cercanamente relacionados. Debido a que el mtADN es material heredado y no recombina a niveles detectables, los cambios genéticos aparecen solo en los descendientes de hembras, lo que permite la relación entre individuos.
- 2.- Evolución molecular y sistemática: el genoma mitocondrial es fácilmente caracterizable, está sujeto a rápidas tasas de mutación, ésta compuesto en su mayor parte de secuencias codificantes y se transmite uniparentalmente como material heredable; el mtADN es una herramienta que se utiliza para resolver problemas en genética poblacional, relaciones filogenéticas y biología evolutiva; así mismo, se usa como marcador de eventos evolutivos, historia de especies, dinámica de zonas híbridas y flujo génico de hembras (Hyman, 1988).

En lo que se refiere al análisis filogenético de tricostrongiloideos utilizando caracteres moleculares, se cuenta con tres estudios: Sukhdeo *et al.* (1997), Chilton *et al.* (2001) y Gouÿ de Bellocq *et al.* (2001), en el primero los autores estudiaron la evolución de los procesos de infección de tricostrongiloideos y los dos siguientes trabajos analizaron las relaciones evolutivas de especies de la superfamilia Trichostrongyloidea.

Material y método

Las localidades de colecta así como los huéspedes se muestran en la Tabla 1. Los heterómidos se capturaron con trampas Sherman y los geómidos con trampas de sepo.

El intestino de los huéspedes se colocó en solución salina al 85%; desgarrándose con tijeras y agujas de disección bajo la luz de un microscopio estereoscópico, procediéndose a la recolecta de los nemátodos; para la fijación de los organismos se utilizaron los siguientes procedimientos: 1) para el estudio morfológico, los organismos se fijaron con ácido acético glacial por unos segundos y se transfirieron a alcohol al 70%; 2) el material utilizado para la técnica molecular se colocó en alcohol absoluto, para la extracción de ADN genómico (ADNg).

Se extrajo ADNg de cinco especies: *V. vexillata*, *V. liomyos*, *V. convoluta*, *V. dessetae* y *V. legallae*. Los tipos de extracción utilizados fueron: Fenol-Cloroformo (Hillis *et al.*, 1996); DNA easy Kit de Quiagen™ y DNAzol kit (Molecular Research Center, Cincinnati, Ohio). [Apéndice I]. Con el fin de comprobar los resultados de las metodologías antes mencionadas, se corrieron entre 1 y 5 µl de cada muestra de ADNg en un gel de agarosa al 1%, teñido con bromuro de etidio en un buffer de Tris-Acetato-EDTA (TAE).

Una vez obtenido el ADNg, se amplificó el gen mitocondrial Citocromo Oxidasa subunidad I (*cox1*). La amplificación y secuenciación de éste, se realizó con la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés). Cada una de las mezclas de reacción se prepararon a en volumen final de 25 µl: 2.5 µl de Buffer PCR, 2.5 µl de la mezcla de dNTP's (200 µM cada uno), 1.25 µl de 50mM MgCl₂, 2.5µl de cada oligonucleótido (10 pmol/µl), 5 µl de ADNg, 1.25 µl de la Taq DNA polimerasa y 7.5 µl de agua destilada, desionizada y esterilizada. Los oligonucleótidos empleados para la amplificación parcial del gen mitocondrial fueron: *cox1* COIR (5'-TAA AGA AAG AAC ATA ATG AAA ATG-3') COIF (5'-TTT TTT GGG GAT CCT GAG GTT TAT-3') (Morgan y Blair, 1998)

El programa de PCR consistió en una desnaturalización inicial a 95° C por 5 minutos seguida por 35 ciclos de 30 segundos a 95° C para desnaturalizar la doble cadena de DNA, 45 segundos a 47° C para el alineamiento de los oligonucleótidos y 1.30 minutos a 72° para la extensión de los productos por medio de la Taq DNA

polimerasa. Finalizados los ciclos, el programa fue completado con un último ciclo de 10 minutos a 72° C para asegurar una completa extensión de los productos amplificados. Finalmente, las mezclas de reacción se mantuvieron a 4° C. Los productos amplificados. Los productos amplificados fueron purificados con el QIAquick PCR purification Kit (250) de Qiagen. Para la obtención de las secuencias de los productos purificados se utilizó un secuenciador automático ABI PRISM 310 de Applied Biosystems. Las secuencias fueron leídas y editadas en el programa Chromas versión 1.43 (McCarthy, 1996-1997).

La alineación de las secuencias fue manual, utilizándose el programa de cómputo Bioedit (Hall, 1999). Por otro lado, con la finalidad de comparar las secuencias de las especies del género ya mencionadas, se obtuvo del GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/index.html>) una secuencia parcial del gen *cox1* de *Nippostrongylus brasiliensis* AF096235.2; dicha secuencia se alineó con las secuencias de las especies de *Vexillata*. El alineamiento de las secuencias se realizó por medio del programa Clustal W con los parámetros de alineamiento por default (Gap opening y Gap extension) (Thompson *et al.*, 1994). Posteriormente, el alineamiento generado fue editado y corregido manualmente en el programa Bioedit (Hall, 1999).

Para la obtención de los árboles filogenéticos fueron generados bajo el principio de máxima parsimonia, empleando el programa PAUP (Phylogenetic Analysis Using Parsimony) versión 4.10b Swofford (2000). Todos los caracteres fueron tratados como desordenados (no aditivos) y sin asignación de peso; así mismo, los gaps se consideraron datos faltantes; los árboles se obtuvieron a partir de búsquedas heurísticas con 1000 réplicas al azar, utilizando las opciones stepwise addition y branch swapping (intercambio de ramas) con la opción (TBR) Tree Bisection and Reconnection (corte y reconexión binaria). Adicionalmente, se calculó el índice de Bremer para cada nodo, mediante el programa de cómputo AutoDecay versión 4.0 (Eriksson, 1998) y Bootstrap con 1000 réplicas, búsqueda heurística con una secuencia de adición al azar (10 réplicas).

Tabla 1. Huéspedes y localidades de colectas de cinco especies de *Vexillata*.

HUÉSPED FAMILIA/ESPECIE	LOCALIDAD	FECHA DE COLECTA	ESPECIES DE <i>VEXILLATA</i>
Geomyidae/ <i>Thomomys bottae</i> (Eydoux Gervais, 1836)	Albuquerque, Bernardillo Co., Nuevo México, EUA. (35°01'11'' N, 106°43'13'' O)	Febrero-2005	<i>V. vexillata</i>
Geomyidae/ <i>C. fulvescens</i> Merriam, 1895	Carretera Huamantla-El Carmen Tequexquitla, Huamantla, Tlaxcala. (19°19'09'' N, 97°54'53'' O)	Mayo-2005	<i>V. convoluta</i>
Heteromyidae/ <i>L. irroratus</i>	Barranca huehuetitla, San Ambrosio Texantla, Panotla Tlaxcala. (19°21'37'' N, 98°15'28'' O)	Octubre-2002 y Septiembre-2003	<i>V. liomyos</i>
Heteromyidae/ <i>P. flavus</i>	Atla, Axapusco, México (14°44'57'' N, 98°41'02'' O).	Noviembre-2003	<i>V. vexillata</i>
Heteromyidae/ <i>H. desmarestianus</i>	0.7 km. NE., Adolfo López Mateos, Catemaco, Veracruz (18°25'49'' N, 94°58'09'' O y 18°26'19'' N, 94°57'56'' O)	Diciembre-2004	<i>V. dessetae</i> y <i>V. legallae</i>
Heteromyidae/ <i>L. irroratus</i>	2 km. E., San Andrés Cuajimalpal, Hueyotlilpan, Tlaxcala. (19°23'17'' N, 98°20'12'' O)	Enero-2005	<i>V. liomyos</i>

Resultados

A partir del ADNg de seis especies de *Vexillata*, se obtuvieron 14 secuencias parciales del gen mitocondrial *cox1*, con una longitud de 376 pares de bases (pb). Para el alineamiento de las secuencias se utilizó la secuencia del *cox1* de *Nippostrongylus brasiliensis* obtenida de GenBank, única especie de la superfamilia cuya secuencia del *cox1* está disponible en GenBank. De las 376 pb 292 son constantes, 23 no aportan información y 61 son informativas (Apéndice II).

Análisis filogenético

El análisis cladístico del alineamiento de los 376 pb del gen mitocondrial *cox1* de las cinco especies de *Vexillata*, realizado por medio de una búsqueda heurística simple, produjo siete árboles igualmente parsimoniosos (Fig. 1), con una longitud de 133 pasos, un índice de consistencia (IC) de 0.782 y un índice de retención (IR) de 0.846. Las diferencias entre los siete árboles obtenidos radicaron exclusivamente en las relaciones entre los individuos de *V. lyomios*, ya que la posición de los ejemplares de Ixtacuixtla y Panotla 2 varió dentro de los cladogramas, colocándose como especies hermanas del total de los ejemplares de esta especie (árboles A, C, E y G). Los dos ejemplares ya mencionados forman un clado, el cual aparece como grupo hermano del resto de los ejemplares o como un grupo definido dentro de la politomía que se forma en *V. lyomios* (árboles D y F); por último, en el árbol B se forma una politomía con todos los ejemplares al igual que en el árbol consenso.

La topología que exhiben el resto de los clados analizados es la misma en los siete cladogramas obtenidos, por lo que nos referiremos al árbol consenso; en éste observamos a los dos ejemplares de *V. convoluta* formando un clado basal y constituyendo el grupo hermano del resto de las especies analizadas. *Vexillata dessetae* y *V. legallae* forman un clado que sugiere una fuerte relación entre ambas; este clado es el grupo hermano de *V. vexillata* morfotipos 1 y 2 junto con *V. lyomios*. En lo que se refiere a los morfotipos de *V. vexillata*, aparecen como grupos hermanos, conformando un clado. Cabe señalar que el soporte de las ramas es fuerte (Fig. 2), teniendo valores de bootstrap de 100% y un índice de Bremer alto (7 a 13) para las ramas de *V. convoluta*, *V. dessetae*, *V. legallae*, *V. vexillata* morfotipo 1 y *V. lyomios*.

Matriz de distancia

La matriz de distancias pareadas (Tabla 2) obtenida con base en las secuencias del gen *cox1* para las especies de *Vexillata* analizadas, nos muestra que la similitud

entre las secuencias de los individuos de la misma especie es estrecha, como lo podemos observar en *V. lyomios*, especie para la cual se recolectaron ejemplares en dos localidades del estado de Tlaxcala (Ixtacuixtla y Panotla), entre los que existe una variación que va de 0.0 a 1.330 % (i. e., 0 a 5 pb).

En lo que se refiere a la variación interespecífica, ésta exhibe un intervalo amplio; por ejemplo, *V. convoluta* exhibe un intervalo de variación en sus secuencias que va de 10.106 a 11.170 % (38 a 42 pb) con respecto al resto de las especies de *Vexillata*. Las especies que presentan una menor diferencia son *V. vexillata* morfotipo 1 y *V. lyomios*, teniendo un porcentaje de 7.979 – 8.777 (30 a 33 pb) de diferencia.

Entre los morfotipos de *V. vexillata* se tiene una diferencia de 6.383 % lo que equivale a 24 bases distintas entre sus secuencias. La diferencia anterior es comparable con la registrada por Blouin (2002) para *Ancylostoma duodenale* y *A. tubaeforme*, quienes difieren en un 6.9 % de bases en sus secuencias de *cox1*. Este resultado nos sugiere la posibilidad de que los dos morfotipos de *V. vexillata* pudieran representar dos especies, diferentes lo que se discutirá posteriormente.

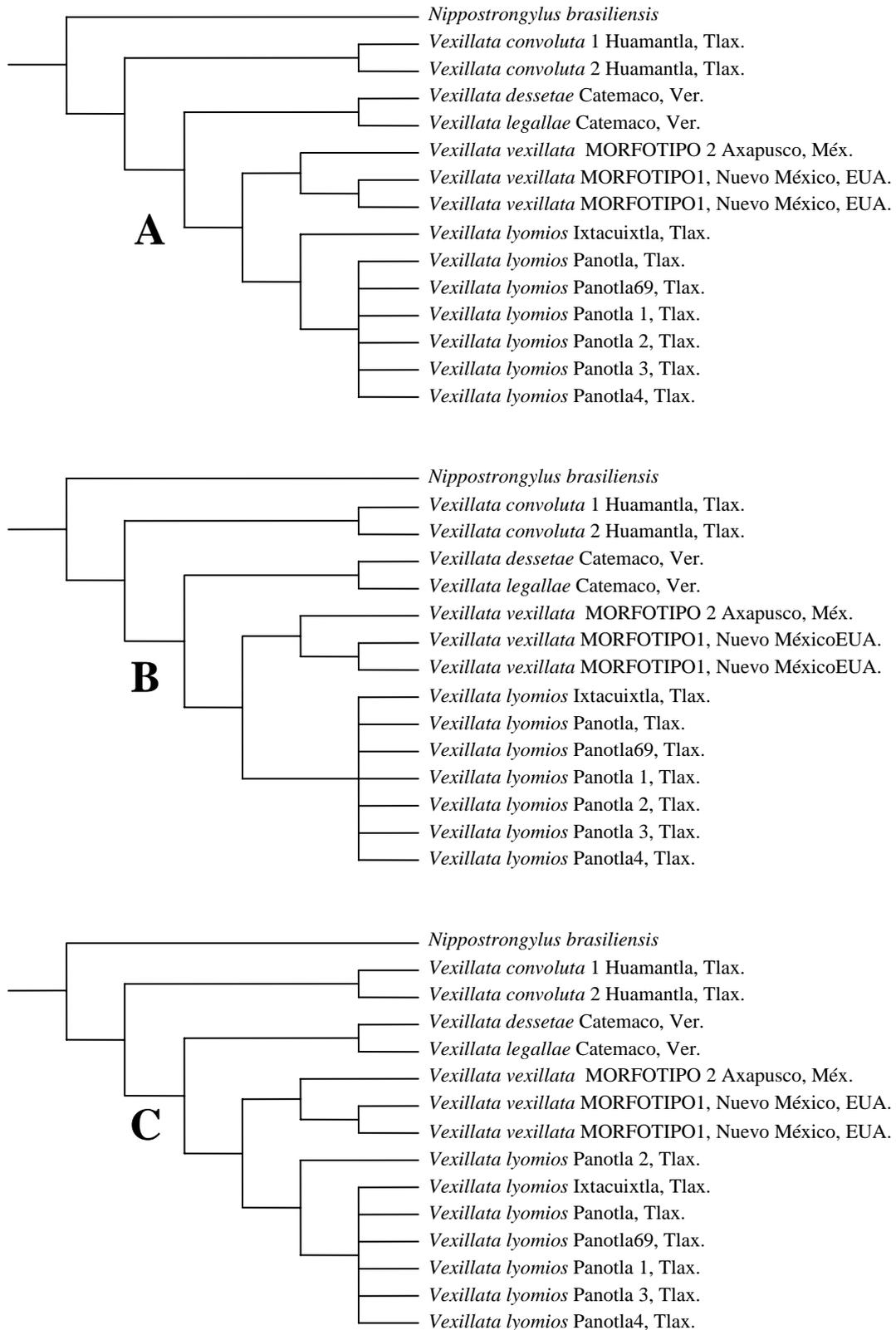


Fig. 1. Siete árboles obtenidos del análisis de 376 pb del gen mitocondrial *COX1*. Mostrando la monofilia del género, observando variación intraespecífica en *Vexillata lyomios*.

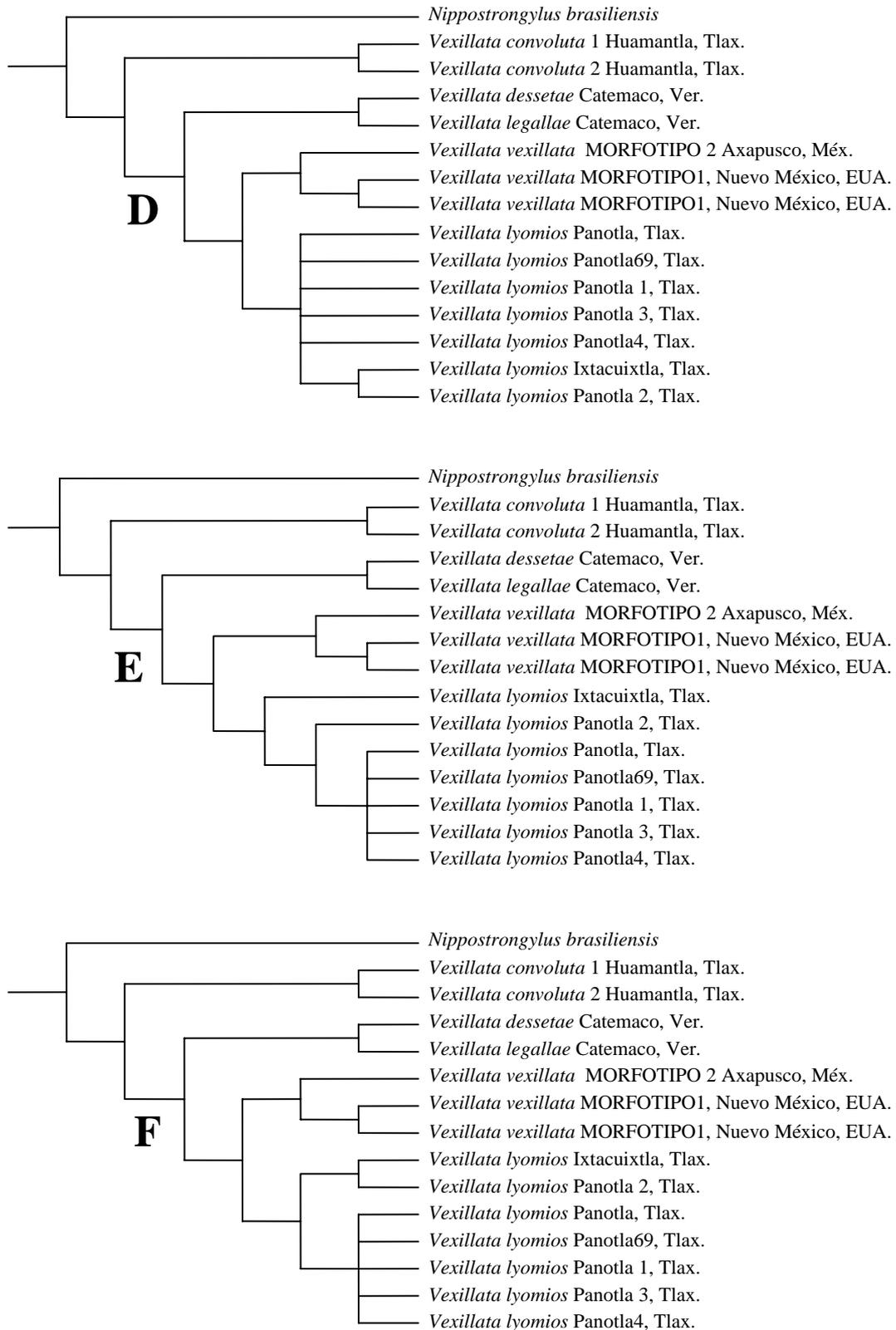


Fig 1. Continuación.

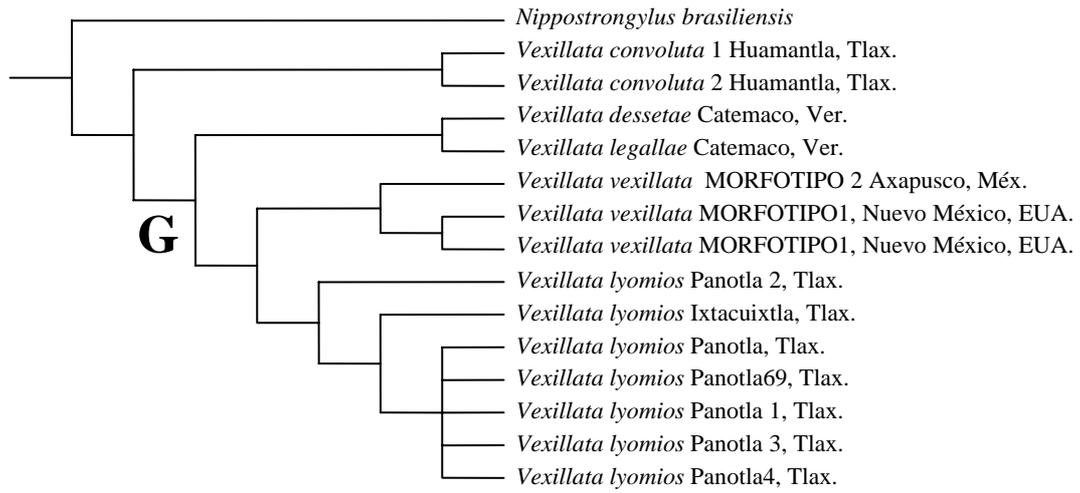


Fig 1. Continuación.

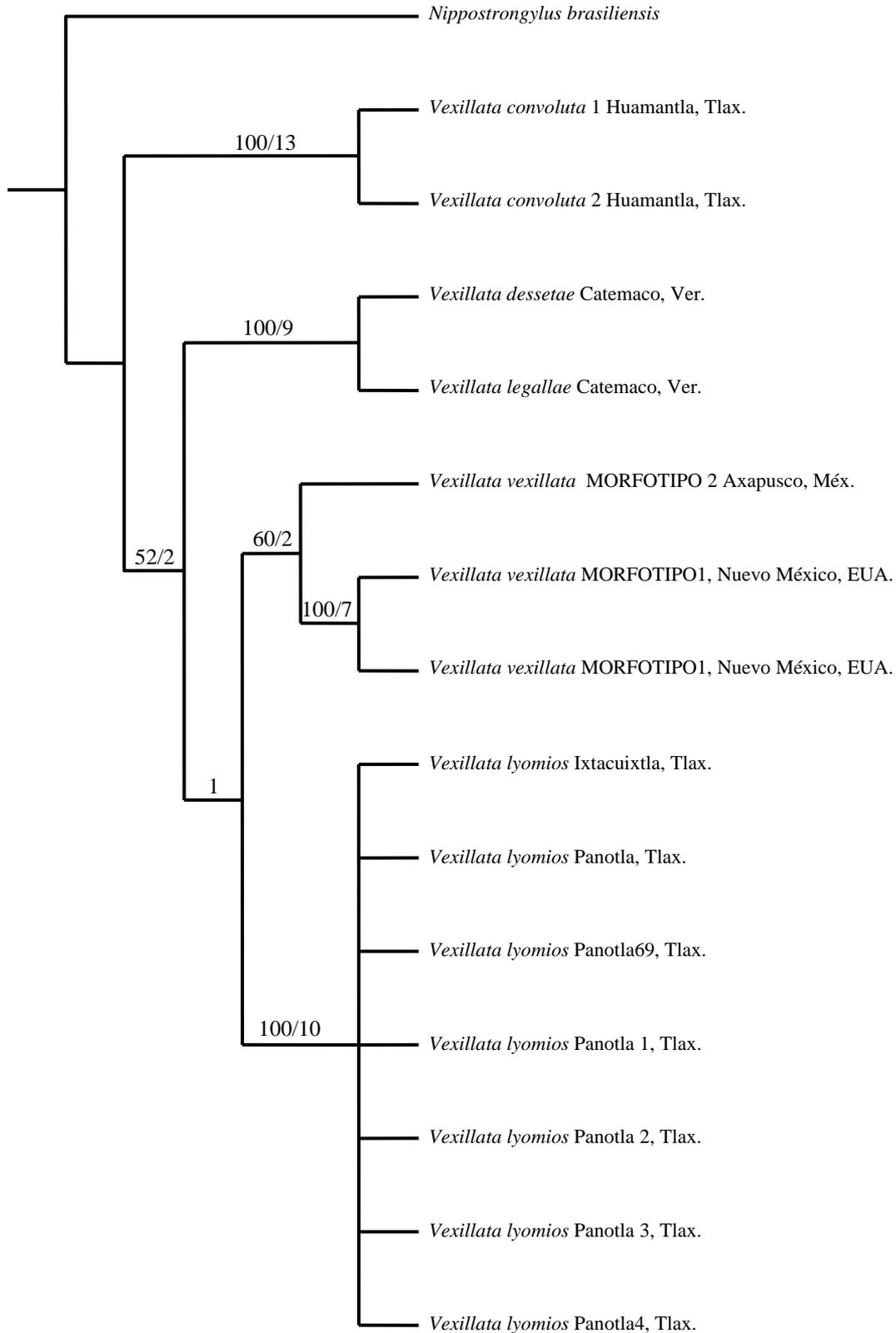


Fig. 2. Árbol de consenso estricto obtenido a partir de siete árboles igual de parsimoniosos. En color negro se muestran los valores de bootstrap/ valores de índice de Bremer.

Tabla 2. Matriz de distancias pareadas obtenida con base en las secuencias del gen *cox1* para las especies de *Vexillata* analizadas. Se muestran las diferencias intra e interespecíficas de las especies del género.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1 <i>Nippostrongylus brasiliensis</i>														
2 <i>Vexillata vexillata</i> MORFOTIPO 1	0.11436													
3 <i>V. vexillata</i> MORFOTIPO 1	0.11436	0.00000												
4 <i>V. vexillata</i> MORFOTIPO 2	0.12766	0.06383	0.06383											
5 <i>V. dessetae</i>	0.11436	0.08245	0.08245	0.09309										
6 <i>V. legallae</i>	0.11436	0.08245	0.08245	0.09840	0.00532									
7 <i>V. convoluta</i> 1	0.12234	0.10372	0.10372	0.10106	0.10372	0.10372								
8 <i>V. convoluta</i> 2	0.12500	0.10638	0.10638	0.09840	0.10106	0.10638	0.00798							
9 <i>V. lyomios</i> Ixtacuixtla	0.12234	0.07979	0.07979	0.09043	0.09574	0.10106	0.10904	0.10638						
10 <i>V. lyomios</i> Panotla	0.11702	0.08245	0.08245	0.08777	0.09309	0.09840	0.10904	0.10638	0.00798					
11 <i>V. lyomios</i> 69	0.11702	0.08245	0.08245	0.08777	0.09309	0.09840	0.10904	0.10638	0.00798	0.00000				
12 <i>V. lyomios</i> 1	0.11702	0.08245	0.08245	0.08777	0.09309	0.09840	0.10904	0.10638	0.00798	0.00000	0.00000			
13 <i>V. lyomios</i> 2	0.12500	0.08777	0.08777	0.093309	0.09574	0.10106	0.11436	0.11170	0.01330	0.00798	0.00798	0.00798		
14 <i>V. lyomios</i> 3	0.11702	0.08245	0.08245	0.08777	0.09309	0.09840	0.10904	0.10638	0.00798	0.00000	0.00000	0.00000	0.00798	
15 <i>V. lyomios</i> 4	0.11968	0.08511	0.08511	0.09043	0.09574	0.10106	0.10638	0.10372	0.01064	0.00266	0.00266	0.00266	0.01064	0.00266

DISCUSIÓN

Similitud intra e interespecifica

A partir de la base de datos construida con 14 secuencias del gen mitocondrial *cox1*, derivadas de seis especies de *Vexillata*, se observa que la variación entre los ejemplares de una misma especie es nula o muy baja, de acuerdo con los porcentajes obtenidos; por ejemplo, entre los ejemplares de *V. vexillata* morfotipo 1 la diferencia es de 0%, mientras que en los ejemplares de *V. convoluta* es de 0.798 % y entre los de *V. liomyos* varía de 0 a 1.33%. Los resultados obtenidos son inferiores a los registrados por Blouin *et al.* (1998), quienes encontraron que la variación en el ADN mitocondrial entre individuos de la misma especie es de 2 % y la máxima diferencia entre un par de individuos de poblaciones diferentes es de 6 % (*Ostertagia ostertagi*).

Las diferencias interespecíficas para las seis especies de *Vexillata* estudiadas, varían de 0.532 a 11.436%. *Vexillata convoluta*, especie basal de nuestro análisis, exhibe una diferencia de 10.106 a 11.170 % con respecto al resto de las especies. En el siguiente clado, formado por *V. dessetae* y *V. legallae*, el porcentaje de diferencia es muy reducido (0.532 %); aunado a lo anterior, el sinlofo en ambas especies a lo largo del cuerpo es prácticamente idéntico. Ambos elementos sugieren que estas podrían ser conespecíficas, ya que únicamente difieren por la presencia de ramas anexas en el rayo dorsal de la bursa caudal en *V. dessetae*; sin embargo, para la definición de su estado taxonómico, se requiere secuenciar más organismos. Las diferencias entre estas especies y el resto van de 8.245 a 10.372 %.

Para el morfotipo 1 de *Vexillata vexillata* se obtuvieron dos secuencias y una para el morfotipo 2; la diferencia entre ambos es de 6.383 %. Ahora bien, entre el morfotipo 1 y el resto de las especies, la variación presenta un intervalo de 7.97 a 10.638 %, mientras que las diferencias entre el morfotipo 2 y éstas van de 8.777 a 10.106 %. Por último, el porcentaje de diferencia entre *V. liomyos* y las especies analizadas va de 8.245 a 11.436 %.

Los porcentajes de similitud obtenidos en este análisis están incluidos en el intervalo observado en las secuencias de *cox1* de otras especies de nemátodos de los Géneros *Ancylostoma*, *Cylicocycylus* y *Haemonchus*, que oscila entre 6.9 y 13.0 % (Blouin, 2002).

¿Los morfotipos 1 y 2 de *V. vexillata* son especies diferentes?

Para la delimitación molecular de especies en tricostrongílidos se ha utilizado ADN ribosomal, particularmente espaciadores de transcripción interna (ITS) (Audebert *et al.*, 2000; Gasser *et al.*, 1999; Hoste *et al.*, 1998). Sin embargo, los ITS son de poca utilidad para identificar especies potencialmente crípticas a partir de un pequeño número de individuos, por la baja variación en sus secuencias. En un análisis filogenético de tremátodos del Género *Echinostoma*, utilizando ADNm e ITS, se demostró que la tasa de evolución es mayor en el primero que en los ITS, permitiendo con esto distinguir especies cercanamente relacionadas (Morgan y Blair, 1998). En diversos estudios se ha señalado que el ADNm de los tremátodos parece evolucionar de una manera muy similar al de los nemátodos (Blouin *et al.*, 1998; McDonnell *et al.*, 2000; Morgan y Blair, 1998; Nadler y Hudspeth, 2000).

Los porcentajes de variación en las secuencias del *cox1* que se han observado en diferentes especies de parásitos son: 6.3 a 18.2 % para *Taenia* (Bowles y McManus, 1994; Okamoto *et al.*, 1995); *Echinococcus* de 6.0 a 11.5 % (Bowles y McManus, 1993); *Schistosoma* 8.0 a 21 % (Bowles *et al.*, 1995); *Echinostoma* de 6.3 a 14.8 % (Morgan y Blair, 1998) y de 6.9 % a 10.7 % para *Ancylostoma* (Blouin, 2002). En la tabla de distancias obtenida, se observa que la diferencia entre los morfotipos I y II de *Vexillata* es 6.383 % (24 pb), el cual es semejante al presentado en los datos previos; lo anterior sugiere que estos morfotipos constituyen especies independientes, lo que coincide con los resultados del análisis morfológico de la especie, en el cual los morfotipos está, definidos por los siguientes rasgos:

Morfotipo 1: quilla en el macho con la espina dorsal mayor que la ventral; división del rayo dorsal al 50 - 60 % de su longitud.

Morfotipo 2: espinas de la quilla del macho del mismo tamaño, división del rayo dorsal al 10 a 25 % de su longitud.

Con base en las dos fuentes de información utilizadas (morfológica y molecular) y considerando además la amplia diferencia que ambos morfotipos presentan en cuanto a su hospedero (*Thomomys bottae*, *Peognathus flavus*) y su distribución (Nuevo México, EUA; Axapusco, México), se propone que los morfotipos 1 y 2 de *Vexillata vexillata* representan dos especies diferentes aún no descritas.

Apéndice I

En el presente apartado se describen los diferentes tipos de extracción utilizados para la obtención del ADNg y su purificación.

A) EXTRACCIÓN DEL ADN GENÓMICO CON FORMOL/CLOROFORMO

Digestión de tejidos

- 1.- Fragmentar el tejido y colocarlo en un tubo eppendorf de 1.5 ml.
- 2.- Adicionar al tubo con el tejido 500 µl de buffer STE, 20 µl de proteinasa K (25 mg/ml) y 75 µl de SDS al 10%.
- 3.- Agitar perfectamente e incubar durante 12 hrs a 55° C. Agitar ocasionalmente durante el período de incubación.

Extracción

- 1.- Agregar 600 µl de fenol al tubo que contiene el tejido digerido. Mezclar suavemente e incubar durante 5 min a temperatura ambiente. Mezclar cada vez que las fases se separen.
- 2.- Centrifugar a 13,000 rpm por 5 min.
- 3.- Remover cuidadosamente la fase acuosa con una micropipeta y transferir a un tubo eppendorf limpio. Tener cuidado de no alterar la interfase.
- 4.- Repetir los pasos 1-3.
- 5.- Agregar 600 µl de CI y mezclar suavemente e incubar a temperatura ambiente durante 2 min. Mezclar cada vez que las fases se separen.
- 6.- Centrifugar a 13,000 rpm por 3 min.
- 7.- Remover la fase acuosa y transferir a un tubo limpio cuidando de no alterar la interfase.
- 8.- Agregar 1/10 del volumen de la muestra (aproximadamente 45 µl) de 2 M NaCl y 2.5 volúmenes de OH 96% frío (-20° C).
- 9.- Precipitar el DNA a -20° C durante 12 hrs.
- 10.- Centrifugar el precipitado a 13,00 rpm durante 10 min.
- 11.- Desechar el sobrenadante y lavar el botón de DNA dos veces con OH 70%.
- 12.- Secar en una centrífuga con vacío.

B) EXTRACCIÓN DEL ADN GENÓMICO CON KIT QUIAGEN™

- 1.- Se coloca un organismo en un tubo eppendorf y se adicionan 180 μ l de Buffer ATL y 20 μ l de proteinasa K, se mezcla e incuba a 55° C durante 24 horas. Se puede mezclar durante el tiempo de incubación para disgregar el tejido.
- 2.- Se mezcla en un vortex durante 15 segundos y se agrega el Buffer AL a la muestra, nuevamente se mezcla en un vortex fuertemente y se incuba a 70° C por 10 minutos.
- 3.- Se adicionan 200 μ l de alcohol (96-100%) y se mezcla en un vortex fuertemente.
- 4.- Se pipetea la mezcla del paso 3, colocándose en una mini-columna DNeasy con tubo de 2 ml. Se centrifuga a 8000 rpm por un minuto, decantándose el líquido.
- 5.- A la mini-columna DNeasy se le agregan 500 μ l de Buffer AW1 y se centrifuga por un minuto a 8000 rpm y se decanta el líquido.
- 6.- La mini-columna DNeasy se coloca en un tubo nuevo de 2ml agregándose a ésta 500 μ l de Buffer AW2 y se centrifuga por tres minutos a velocidad máxima para secar la membrana, decantándose el sobrenadante.
- 7.- La mini-columna DNeasy se coloca en un tubo eppendorf, adicionándose 50 μ l de Buffer AE a la mini-columna, incubándose ésta a temperatura ambiente durante un minuto para posteriormente centrifugarse por un minuto a 8000 rpm.
- 8.- Se elimina la mini-columna DNeasy, guardando en refrigeración el líquido del tubo eppendorf.

C) EXTRACCIÓN DEL ADN GENÓMICO CON DNAzol KIT

- 1.- Se prepara una mezcla de solución digestiva:

100 mM Tris HCL pH 7.6	200 μ l
200 mM NaCl	200 μ l
0.5 M EDTA pH 8.0	400 μ l
10% Sarkosyl	200 μ l
Proteinasa K (10 mg/ml).....	200 μ l
Agua bidestilada	980 μ l

- 2.- Se coloca un nemátodo en un tubo eppendorf adicionándose 100 μ l de solución digestiva.
- 3.- El tubo se coloca en baño María a 56° C durante 24 horas.
- 4.- Se inhibe el efecto de la proteínas calentando el tubo a 95° C en un termociclador por 15 minutos.

- 5.- Se deja enfriar el tubo y posteriormente la muestra se centrifuga cinco minutos a 10000 rpm.
- 6.- Retirar 95 μ l de solución y a los 5 μ l restantes agregarles 1ml de DNAzol, además de 4 μ l solución Polyacryl Carrier.
- 7.- La mezcla se agita cinco veces manualmente.
- 8.- Se coloca en el tubo 0.5 ml de alcohol al 100%, agitándose manualmente 10 veces.
- 9.- La muestra se deja reposar a temperatura ambiente por cinco minutos.
- 10.- El “botón” de DNA se obtiene centrifugando el tubo por cinco minutos a 7000 rpm.
- 11.- Se decanta el alcohol al 100% y el “botón” de ADN se lava dos veces con 800 μ l de alcohol al 75%.
- 12.- Una vez al tener el tubo sin alcohol el “botón” de ADN se deja secar a temperatura ambiente.
- 13.- La muestra se resuspende en 30 μ l de agua bidestilada, agitando suavemente en un vortex.

D) PURIFICACIÓN DIRECTA DE PCR.

- 1.- A una columna de purificación se adicionan cinco volúmenes de buffer PB por cada volumen de muestra de PCR y se mezcla (25 μ l de muestra).
- 2.- La mezcla se coloca en una columna de purificación y se centrifuga durante un minuto a 13,000 rpm.
- 3.- Se decanta el contenido y se agrega 750 μ l de buffer PE, se deja reposar cuatro minutos y posteriormente se centrifuga un minuto por 13,000 rpm.
- 4.- Nuevamente se decanta el contenido y se centrifuga un minuto por 13,000 rpm.
- 5.- La columna se coloca en un tubo limpio de 1.5 ml y se adicionan 50 μ l de ddH₂O dejándose reposar un minuto y posteriormente se centrifuga a 13,000 rpm.
- 6.- La muestra se concentra a 35 μ l.
- 7.- Se corre un gel con 2 μ l de purificado.

110	120	130	140	150
Nippostrongylus brasiliensis	G G G G	A T A G T T T A T G C T A T T T T A A G G	A T T G G T T T A A T T G G	A T G T G T A G T T T G G	
V. vexillata MORFOTIPO 1	A G G T	A T A G T T T A T G C T A T T T T A A G T	A T T G G T T T A A T T G G T	T G T G T G	G T T T G G
V. vexillata MORFOTIPO 1	A G G T	A T A G T T T A T G C T A T T T T A A G T	A T T G G T T T A A T T G G T	T G T G T G	G T T T G G
V. vexillata MORFOTIPO 2	A G G T	A T G G T T T A T G C T A T T T T A A G A	A T T G G T T T A A T T G G T	T G T G T G	G G T T T G A
V. dessetae	G G G T	A T G G T A T A T G C T A T T T T A A G T	A T T G G A T T A A T T G G T	T G T G T G	G G T T T G G
V. legallae	G G G T	A T G G T A T A T G C T A T T T T A A G T	A T T G G A T T A A T T G G T	T G T G T G	G G T T T G G
V. convoluta 1	G G G T	A T G G T T T A T G C A A T T T T A A G T	A T T G G T T T G A T T G G T	T G T G T A G T T T G A	
V. convoluta 2	G G G T	A T G G T T T A T G C A A T T T T A A G T	A T T G G T T T G A T T G G T	T G T G T A G T T T G A	
V. lyomios Ixtacuixtla	G G G T	A T G G T T T A T G C T A T T T T A A G T	A T T G G T T T A A T T G G T	T G T G T T	G T T T G A
V. lyomios Panotla	G G G T	A T G G T T T A T G C T A T T T T A A G T	A T T G G T T T A A T T G G T	T G T G T T	G T T T G A
V. lyomios Panotla69	G G G T	A T G G T T T A T G C T A T T T T A A G T	A T T G G T T T A A T T G G T	T G T G T T	G T T T G A
V. lyomios Panotla 1	G G G T	A T G G T T T A T G C T A T T T T A A G T	A T T G G T T T A A T T G G T	T G T G T T	G T T T G A
V. lyomios Panotla 2	G G G T	A T G G T T T A T G C T A T T T T A A G T	A T T G G T T T A A T T G G T	T G T G T T	G T T T G A
V. lyomios Panotla 3	G G G T	A T G G T T T A T G C T A T T T T A A G T	A T T G G T T T A A T T G G T	T G T G T T	G T T T G A
V. lyomios Panotla 4	G G G T	A T G G T T T A T G C T A T T T T A A G T	A T T G G T T T A A T T G G T	T G T G T T	G T T T G A

	160	170	180	190	200
Nippostrongylus brasiliensis	G C T C A T C A T A T G T A T A C T G T A G G T A T A G A T T T A G A C T C T C G T G C T T A T T T T A				
V. vexillata MORFOTIPO 1	G C A C A C C A T A T G T A T A C T G T T G G T A T G G A T T T A G A T T C T C G T G C T T A T T T T A				
V. vexillata MORFOTIPO 1	G C A C A C C A T A T G T A T A C T G T T G G T A T G G A T T T A G A T T C T C G T G C T T A T T T T A				
V. vexillata MORFOTIPO 2	G C A C A T C A T A T G T A T A C T G T G G G T A T A G A T T T G G A T T C T C G T G C T T A T T T T A				
V. dessetae	G C T C A T C A T A T G T A T A C A G T T G G T A T G G A T T T A G A T T C T C G T G C T T A T T T T A				
V. legallae	G C T C A T C A T A T G T A T A C A G T T G G T A T G G A T T T A G A T T C T C G T G C T T A T T T T A				
V. convoluta 1	G C A C A T C A C A T G T A T A C G G T A G G A A T A G A T T T G G A T T C T C G T G C T T A T T T T A				
V. convoluta 2	G C A C A T C A C A T G T A T A C G G T A G G A A T A G A T T T G G A T T C T C G T G C T T A T T T T A				
V. lyomios Ixtacuixtla	G C A C A C C A T A T G T A C A C T G T A G G T A T A G A T T T A G A T T C G C G T G C T T A T T T T A				
V. lyomios Panotla	G C A C A T C A T A T G T A C A C T G T A G G T A T A G A T T T A G A T T C G C G T G C T T A T T T T A				
V. lyomios Panotla69	G C A C A T C A T A T G T A C A C T G T A G G T A T A G A T T T A G A T T C G C G T G C T T A T T T T A				
V. lyomios Panotla 1	G C A C A T C A T A T G T A C A C T G T A G G T A T A G A T T T A G A T T C G C G T G C T T A T T T T A				
V. lyomios Panotla 2	G C A C A T C A T A T G T A C A C T G T A G G T A T A G A T T T A G A T T C G C G T G C T T A T T T T A				
V. lyomios Panotla 3	G C A C A T C A T A T G T A C A C T G T A G G T A T A G A T T T A G A T T C G C G T G C T T A T T T T A				
V. lyomios Panotla 4	G C A C A T C A C A T G T A C A C T G T A G G T A T A G A T T T A G A T T C G C G T G C T T A T T T T A				

	320	330	340	350	360
Nippostrongylus brasiliensis	G T T T T A G G T T T T A T T T T T T T T A T T T A C T A T T G G T G G A T T T A A C G G G T G T A G T A T				
V. vexillata MORFOTIPO 1	G T T T T A G G T T T T A T T T T T T T T G T T T A C T A T T G G A G G T T T T A A C A G G T G T G G T T T				
V. vexillata MORFOTIPO 1	G T T T T A G G T T T T A T T T T T T T T G T T T A C T A T T G G A G G T T T T A A C A G G T G T G G T T T				
V. vexillata MORFOTIPO 2	G T T T T G G G T T T T A T T T T T T T T G T T T A C T A T T G G T G G T T T T G A C A G G T G T T G T T T				
V. dessetae	G T G T T G G G T T T T A T T T T T T T T G T T T A C T A T T G G T G G T T T T A A C A G G T G T T G T T T				
V. legallae	G T G T T A G G T T T T A T T T T T T T T G T T T A C T A T T G G T G G T T T T A A C A G G T G T T G T T T				
V. convoluta 1	G T T T T A G G T T T T A T T A T T T T T G T T T A C T A T T G G T G G A T T T A A C A G G T G T G G T T T				
V. convoluta 2	G T T T T G G G T T T T A T T T T T T T T G T T T A C T A T T G G T G G A T T T A A C A G G G G T G G T T T				
V. lyomios Ixtacuixtla	G T T T T G G G T T T T A T T T T T T T T G T T T A C T A T T G G T G G T T T T A A C G G T G T G G T G T				
V. lyomios Panotla	G T T T T G G G T T T T A T T T T T T T T G T T T A C T A T T G G T G G T T T T A A C T G G T G T G G T G T				
V. lyomios Panotla69	G T T T T G G G T T T T A T T T T T T T T G T T T A C T A T T G G T G G T T T T A A C T G G T G T G G T G T				
V. lyomios Panotla 1	G T T T T G G G T T T T A T T T T T T T T G T T T A C T A T T G G T G G T T T T A A C T G G T G T G G T G T				
V. lyomios Panotla 2	G T T T T G G G T T T T A T T T T T T T T G T T T A C T A T T G G T G G T T T T A A C T G G T G C G G T G T				
V. lyomios Panotla 3	G T T T T G G G T T T T A T T T T T T T T G T T T A C T A T T G G T G G T T T T A A C T G G T G T G G T G T				
V. lyomios Panotla 4	G T T T T G G G T T T T A T T T T T T T T G T T T A C T A T T G G T G G T T T T A A C T G G T G T G G T G T				

	370
Nippostrongylus brasiliensis	T A T C T A A C T C A A
V. vexillata MORFOTIPO 1	T G T C C A A T T C T A
V. vexillata MORFOTIPO 1	T G T C C A A T T C T A
V. vexillata MORFOTIPO 2	T G T C C A A T T C C A
V. dessetae	T G T C A A A T T C T A
V. legallae	T G T C A A A T T C T A
V. convoluta 1	T G T C G A A T T C T A
V. convoluta 2	T G T C G A A T T C T A
V. lyomios Ixtacuixtla	T A T C G A A T T C T A
V. lyomios Panotla	T A T C T A A T T C T A
V. lyomios Panotla69	T A T C T A A T T C T A
V. lyomios Panotla 1	T A T C T A A T T C T A
V. lyomios Panotla 2	T A C A A A T T C T A
V. lyomios Panotla 3	T A T C T A A T T C T A
V. lyomios Panotla 4	T A T C T A A T T C T A

Literatura citada

AUDEBERT, F.; M. C. DURETTE-DESSET and N. B. CHILTON. (2000)

Internal transcribed spacer rDNA can be used to infer the phylogenetic relationships of species within the genus *Nematodirus* (Nematoda: Molineoidea). International Journal for Parasitology. 30: 187-191.

BLAXTER, M. L. (2001)

Molecular analysis of nematode evolution : In Parasitic Nematodes. Molecular Biology, Biochemistry and Immunology (edited by M. W. Kennedy and W. Harnett) London, U. K. CABI Publishing: 1-24.

BLOUIN, M. S. (2002)

Molecular prospecting for cryptic species of nematodes: mitochondrial DNA versus internal transcribed spacer. International Journal for Parasitology. 32: 527-531.

BLOUIN, M. S., CH. A. YOWELL, CH. H. COURTNEY, and J. B. DAME (1998)

Substitution Bias, Rapid Saturation, and the Use of mtDNA for Nematode Systematics. Molecular Biology and Evolution. 15: 1719-1727.

BOWLES J. and D. P. McMANUS (1993)

NADH dehydrogenase 1 gene sequence compared for species and strains of the genus *Echinococcus*. International Journal for Parasitology. 23: 969-972.

BOWLES J. and D. P. McMANUS (1994)

Genetic characterization of the Asian *Taenia*, a newly described Taeniid cestode in humans. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 50: 33-44.

BOWLES J., D.BLAIR and D.P. McMANUS (1995).

A molecular phylogeny of the human schistosomes Molecular Phylogenetics and Evolution. 4: 103-109

CHILTON, N. B., L. A. NEWTON, I. BEVERIDGE and R. B. GASSER (2001)

Evolutionary relationships of Trichostrongyloid nematodes (Strongylida) inferred from ribosomal DNA sequence data. Molecular Phylogenetics and Evolution. 19: 367-386.

ERIKSSON, T. (1998).

AutoDecay ver. 4.0 (program distributed by the autor). Department of Botany, Stockholm University. Stockholm.

GASSER, R. B.; L. ROSSI and X. ZHU. (1999)

- Identification of *Nematodirus* (Nematoda: Molineoidea) from wild ruminants in Italy using ribosomal DNA markers. International Journal for Parasitology. 29: 1809-1817.
- GONZÁLEZ, D. (1997).
El uso de secuencias génicas para estudios taxonómicos. Boletín de la Sociedad Botánica de México. 60: 137-157.
- GOUÏ DE BELLOCQ, J., H. FERTE, J. DEPAQUIT, J. L. JUSTINE, A. TILLIER and M. C. DURETTE-DESSET (2001)
Phylogeny of the Trichostrongylina (Nematoda) inferred from 28S rDNA sequences. Molecular Phylogenetics and Evolution. 19: 430-442.
- HALL, T. A. (1999)
Bioedit: A user friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series, 41: 95-98.
- HILLIS, D., B.K. MABLE, and C. MORITZ, (1996)
Nucleic acids IV: Sequencing and cloning: In Molecular systematics (Eds. Hillis, D., C. Moritz, and B.K.Mable). Sunderland, Massachusetts: Sinauer: 321-338.
- HOSTE, H. N. B. CHILTON. I. BEVERIDGE and R. B. GASSER. (1998)
A comparison of the first internal transcribed spacer of ribosomal DNA in seven species of *Trichostrongylus* (Nematoda: Trichostrongylidae). International Journal for Parasitology. 28: 1251-1260.
- HYMAN, B. C. (1988)
Nematode mitochondrial DNA: anomalies and applications. Journal of Nematology. 20: 523-531.
- McCARTHY, C. (1996-1997).
School of biomolecular and biomedical science, faculty of science and technology. Griffith University, Brisbane, Queensland, Australia.
- McDONNELL, A., S. LOVE, A. TAIT, J. R. LICHTENFELS, and J. B. MATTHEWS (2000).
Phylogenetic analysis of partial mitochondrial cytochrome oxidase c subunit I and large ribosomal RNA sequences and nuclear internal transcribed spacer I sequences from species of Cyathostominae and Strongylinae (Nematoda, Order Strongylida) parasites of the horse. Parasitology. 121: 649-659.
- MORGAN J. A. T. and D. BLAIR (1998).

Relative merits of nuclear ribosomal internal transcribed spacers and mitochondrial COI and ND1 genes for distinguishing among *Echinostoma* species (Trematoda). Parasitology 116: 289-297.

NADLER, S. A. and D. S. S. HUDSPETH (2000)

Phylogeny of the Ascaroidea (Nematode: Ascaridida) based on three genes and morphology: hypotheses of structural and sequence evolution. Journal of Parasitology. 86: 380-393.

OKAMOTO, M.; Y. BESSHO; M. KAMIYA; T. KUROSAWA and T. HORII (1995)

Phylogenetic relationships within *Taenia taeniaeformis* variants and other taeniid cestodes inferred from the nucleotide sequence of the cytochrome C oxidase subunit I gene. Parasitology Research. 81: 451-458.

SUKHDEO, S. C., M. V. K. SUKHDEO, M. B. BLACK and R. C. VRIJENHOEK.
(1997)

The evolution of tissue migration in parasitic nematodes (Nematoda: Strongylida) inferred from a protein-coding mitochondrial gene. Biological Journal of the Linnean Society 61: 281-298.

SWOFFORD, D. L. (2000)

PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Versión 4.0b4a. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

THOMPSON, J. D., D. G. HIGGINS AND T. J. GIBSON. (1994)

CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Research, 22: 4673-4680.

CAPÍTULO VII

DISCUSIÓN GENERAL

Las propuestas de clasificación de los Trichostrongylina han variado a lo largo del tiempo, paralelamente con la adición de caracteres para su determinación taxonómica; no obstante, la primera propuesta, relacionada con el número, arreglo, tamaño y orientación de las espinas que conforman el sinlofo, ha sobresalido por su amplia aceptación. Dicho rasgo constituye uno de los principales caracteres diagnósticos en los niveles subfamilia, género e inclusive especie.

En la mayoría de las especies, el conocimiento del sinlofo se ha limitado a determinar su arreglo a la mitad del cuerpo (Lichtenfels 1983), aspecto que reduce su utilidad diagnóstica. El empleo generalizado que ha tenido este carácter, se debe principalmente a que ha demostrado ser estable, a pesar de que el parásito proceda de hospederos diferentes. Lo anterior se ha observado en *Nippostrongylus brasiliensis* recolectado de tres especies de hospederos (ratas, ratones y hámsteres) cuyo sinlofo, a todos los niveles, conserva su arreglo (Lichtenfels, 1974; Falcón-Ordaz y García-Prieto, 2004). De la misma forma, para *V. vexillata* y *V. convoluta* constantemente se han descrito 12 espinas en la región media del cuerpo, aún cuando se han registrado parasitando hospederos de familias diferentes (Durette-Desset 1972, 1978; Falcón-Ordaz y García-Prieto, 2004, 2005 y el presente estudio). Autores como Lichtenfels (1977), Lichtenfels y Pilitt (1983 a y b) y Falcón-Ordaz y García-Prieto (2005) han utilizado al sinlofo como una herramienta para la separación de especies morfológicamente muy similares, pero que exhiben diferencias en alguna región del cuerpo; por ejemplo, *V. brooksi* se diferenció de *V. convoluta* y *V. legallae* por el arreglo y número de espinas del sinlofo en la región posterior de hembras y machos (Falcón-Ordaz y García-Prieto, 2005); asimismo, la variación de este carácter en la región posterior permitió la separación de seis morfotipos de la especie *V. vexillata* en este estudio.

El empleo del sinlofo en la taxonomía del grupo, posibilita la identificación de las especies a partir de hembras en las cuales el sinlofo sea idéntico al de los machos (Lichtenfels, 1983) lo cual no se presenta en el género en estudio. Finalmente, caracteres del sinlofo como número, tamaño y forma de las espinas, arreglo de las mismas a lo largo y alrededor del cuerpo y su ángulo de orientación, han mostrado su utilidad en diferentes análisis filogenéticos realizados sobre el grupo (Durette-Desset y Justine 1991, Durette-

Desset *et al.*, 1999, Hoberg y Lichtenfels, 1994, Pérez-Ponce de León *et al.*, 2000).

La forma, arreglo y tamaño de los rayos bursales cuentan también con una amplia aceptación entre los especialistas del grupo (Durette-Desset y Chabaud, 1977, 1981, Guerrero, 1984). Esta herramienta permitió incluir a *Obeliscoides cuniculi* (Graybill, 1923) Graybill, 1924 y *Teporingonema cerropeladoensis* Harris, 1985 en la subfamilia Libyostromylinae, ya que ambos exhiben el arreglo característico de la misma (rayo tres más largo que el dos, formando una “pinza”) (Falcón-Ordaz y García Prieto, 2005). A nivel genérico, las características de la bursa también juegan un papel importante; un ejemplo de ésto lo constituyen *Libyostromylus* Lane, 1923 y *Paralibyostromylus* Ortlepp, 1939, que presentan el rayo dorsal corto, mientras *Obeliscoides* Graybill, 1924 lo exhibe largo, aspecto que utiliza Durette-Desset (1983) para la separación de los géneros. De la misma forma, la utilidad de la bursa en la diferenciación de especies puede constatarse en nuestro material, al separar a *V. geomyos* de cinco especies del género (*V. chabaudi*, *V. chitwoodi*, *V. petteri*, *V. scorzai* y *V. tejeraï*) con base en la división del rayo dorsal en dos ramas en el cuarto distal de su longitud, mientras que en *V. geomyos* la división del rayo dorsal es postecuatorial. Asimismo, *V. liomyos* exhibe un velo en el rayo dorsal, característica que lo distingue del total de las especies del género. Por último, en *V. chitwoodi* y *V. noviberiae* el rayo 9 es más pequeño que el rayo 10, rasgo que las separa del resto de las especies, al presentar éstas las dimensiones inversas.

El uso de los caracteres anteriores ha permitido la realización de análisis filogenéticos con tricostrongilidos, con distintos propósitos:

1) Establecer un arreglo taxonómico dentro del grupo, por ejemplo Durette-Desset *et al.* (1999) analiza una serie de especies de la superfamilia Trichostrongyloidea, proponiendo una clasificación que incluye tres familias y ocho subfamilias, de las cuales una es nueva (Obeliscoidinae); además, con dicho análisis modifica la clasificación establecida por Durette-Desset (1983). En el presente trabajo proponemos una modificación a la clasificación de los heligmosomidos propuesta por Durette-Desset (1983): excluir al género *Vexillata* de la subfamilia Ornithostromylinae, ya que ésta está definida por una autapomorfia: cuerpo ligeramente enrollado, y por caracteres como cavidad bucal poco profunda, carencia de quilla y aparato reproductor didélfico, mientras que *Vexillata* presenta el cuerpo enrollado totalmente, carece de cavidad bucal, posee quilla y las hembras son monodélficas. Estas características,

junto con rasgos como el arreglo de los rayos bursales (2-2-1), la ausencia de espina caudal en las hembras y una abertura angular del eje de orientación del sinlofo que varía de 45° a 90°, son compartidas con los miembros de Heligmonellidae, por lo que proponemos su reincorporación a esta familia. Cabe señalar que *Vexillata vexillata* como representante del género en estudio, es la especie hermana de *Pudica pudica* (representante de la subfamilia Pudicinae); sin embargo, con los resultados obtenidos no podemos asegurar que *Vexillata* sea un género más de dicha subfamilia, ya que se diferencian en que el rayo dorsal está profundamente dividido en *P. pudica* y en los diferentes miembros de la subfamilia a la que pertenece (Durette-Desset, 1985; Durette-Desset y Justine, 1991), mientras que en *Vexillata*, la división de este rayo no rebasa la mitad de su longitud. De la misma forma, el establecimiento de una subfamilia nueva no se justifica debido al reducido número de rasgos diferenciales entre ambas. Los caracteres que utilizó Durette-Desset (1971) para erigir la subfamilia Vexillatinae son compartidos con integrantes de las subfamilias Pudicinae y Brevistriatinae; dichos caracteres son: A) simetría dorso-ventral del sinlofo (exceptuando la quilla) [presente en géneros como *Pudica*, *Sciurodendrium*, *Cordicauda* y *Brevistriata*, entre otros] B) gradiente de talla de las espinas de derecha a izquierda sobre la región dorsal o con el mismo gradiente en la región ventral (e. g., *Pudica pudica*), C) punta de la espina dorsal derecha o las dos espinas derechas orientadas tangencialmente al cuerpo (se presenta en el pudícino *Sciurodendrium*), D) bursa caudal subsimétrica con los lóbulos laterales bien desarrollados y el lóbulo dorsal reducido, no obstante, durante la revisión del género *Vexillata* se observó que el lóbulo dorsal no es reducido, llegando a ser del mismo tamaño que los lóbulos laterales como en algunos Brevistriatinae y Pudicinae, E) rayo 6 separado del rayo 5 (es un carácter presente también en los géneros de las subfamilias Pudicinae y Brevistriatinae), F) rayos 8 gruesos (de acuerdo con el análisis morfológico realizado no es un carácter con valor taxonómico) y G) espículas simples y finas (éstas son similares a las de Pudicinae y Brevistriatinae).

2) Conocer las relaciones filogenéticas de los géneros que componen una subfamilia, como lo demostraron Hoberg *et al.* (2005) con los representantes de la subfamilia Nematodirinae, encontrando que su monofilia sólo se sustenta para cinco géneros (*Murielus*, *Nematodirella*, *Nematodiroides*, *Nematodirus* y *Rauschia*), debiendo excluirse a *Lamanema*.

3) Conocer las relaciones filogenéticas entre las especies que componen un género; como ejemplo de este tipo de análisis encontramos los realizados para *Stilestrongylus* (Pérez-

Ponce de León *et al.*, 2000) y *Haemonchus* (Hoberg *et al.*, 2004). En este par de estudios se abordan las relaciones que mantienen las especies de los géneros, considerando su biogeografía histórica y asociación hospedatoria. En el presente trabajo obtuvimos la filogenia de las especies que componen el género *Vexillata*, encontrando que éste se divide en tres clados: el primero (*V. chabaudi*, *V. scorzai*, *V. tejeraei* y *V. petteri*) tiene una distribución sudamericana, caracterizándose básicamente por presentar 11 espinas en el sinlofo de la región media del cuerpo; los otros dos clados se encuentran compuestos por especies que se encuentran del centro de los EUA hasta Costa Rica; el clado II se define por el ángulo de inclinación del sinlofo de 50° a 65° y de 60° a 67°, en machos y hembras, respectivamente, mientras que las especies que componen el clado III presentan ramas anexas en el rayo dorsal. En este clado se encuentran los seis morfotipos de *V. vexillata*; el arreglo que presentan dichos morfotipos, sugeriría la existencia de tres especies: morfotipos 1, 2 y 5, mientras que los morfotipos 0, 3 y 4, conforman una politomía y es difícil diferenciarlos a nivel morfológico.

Las diferencias morfológicas en la que se basa la propuesta de distinguir los morfotipos 1, 2 y 5 como especies independientes son las siguientes: los morfotipos 1 y 2 se separan de los morfotipos 0, 3, 4 y 5 porque en ellos las espinas de la quilla en los machos son de diferente tamaño (siendo la ventral mayor que la dorsal), mientras que en el morfotipo 1, éstas tienen un arreglo inverso y en el morfotipo 2 son del mismo tamaño. Adicionalmente, en los morfotipos 0, 3 y 4 la división del rayo dorsal se presenta entre el 30 - 40% de su longitud; en el morfotipo 1 esta ocurre entre el 50 - 60% y en los morfotipos 2 y 5 entre el 10 y el 25%.

Un carácter más que separa a los morfotipos 4 y 5 de los morfotipos 0, 1, 2 y 3 es que los primeros presentan quilla en el sinlofo posterior en ambos sexos, mientras que los segundos carecen de ésta; finalmente, el morfotipo 5 difiere del total de los morfotipos por la carencia de gubernáculo, estructura presente en el resto de ellos.

Los morfotipos 1, 2 y 5 se asemejan a *V. armandae*, *V. dessetae* y *V. liomyos* en la presencia de rayos anexas en el rayo dorsal; sin embargo, difieren de la primera porque ésta exhibe dos pequeños rayos conectados con un velo dorsal en el cono genital, además de dos pequeñas papilas, estructuras de las que carecen los morfotipos referidos. *Vexillata liomyos* presenta como rasgo característico la conformación del sinlofo por nueve espinas en la región media del cuerpo, mientras que los morfotipos 1, 2 y 5 tienen 12; además, el

morfotipo 5 se separa de *V. armandae* y *V. liomyos*, porque éstas carecen de quilla en el sinlofo de la región posterior de ambos sexos, mientras que el morfotipo si se presenta. *Vexillata. dessetae* se caracteriza porque el rayo 10 se encuentra bifurcado, mientras que en los morfotipos 1, 2 y 5 este rayo es entero. Adicionalmente, la ausencia de quilla en el sinlofo posterior de ambos sexos de los morfotipos 1 y 2 y su presencia en el de *V. dessetae*, permite su distinción. Finalmente, el morfotipo 5 puede separarse de *V. dessetae* por la longitud de las espinas de la quilla del sinlofo en la región media de los machos, que en el morfotipo son desiguales mientras que en *V. dessetae* son del mismo tamaño.

Los morfotipos 1, 2 y 5 también exhiben rasgos que permiten separarlos de todas las especies del género; *Vexillata brooksi*, *V. chabaudi*, *V. chitwoodi*, *V. convoluta*, *V. geomyos*, *V. legallae*, *V. noviberiae*, *V. petteri*, *V. scorzai* y *V. tejerai* carecen de rayos anexos en el rayo dorsal, mientras que los morfotipos si los presentan; asimismo, *V. chabaudi*, *V. petteri*, *V. scorzai* y *V. tejerai* poseen 11 espinas en la región media del cuerpo, una menos que la observada en los morfotipos; este mismo carácter los separa de *V. chitwoodi* y *V. noviberiae*, que poseen 10 y 13 espinas respectivamente. Adicionalmente, ambas especies se distinguen de los 3 morfotipos porque los rayos 9 son de menor talla que los rayos 10, mientras que en éstos las dimensiones son inversas. En lo que se refiere a *V. brooksi* y *V. geomyos*, las diferencias se presentan a nivel de las espículas (en *V. brooksi* se encuentran divididas en su punta, en *V. geomyos* están curvadas y con un velo apical y los morfotipos poseen espículas simples).

El morfotipo 5 se asemeja a *V. convoluta* y *V. legallae* por presentar el sinlofo de la región posterior con quilla; sin embargo, se distingue de la primera porque en ésta la cola de la hembra se encuentra curvada ventralmente, las espinas de la quilla de la región posterior en ambos sexos son pequeñas y la bifurcación del rayo dorsal ocurre entre el 50 y el 60% de su longitud total (en el morfotipo la cola de la hembra es recta, las espinas de la quilla de la región posterior son grandes y la división en dos ramas del rayo dorsal ocurre entre el 10 y el 25% de su longitud). Las diferencias entre *V. legallae* y el morfotipo 5 se presentan a nivel de los rayos ventrales (separados desde su inicio de los laterales vs. unidos a los laterales desde su origen, respectivamente) y de las espículas (aladas contra simples, respectivamente). Finalmente, los morfotipos 1 y 2 difieren de *V. convoluta*, y *V. legallae* porque éstas presentan quilla en el sinlofo de la región posterior de ambos sexos, estructura

de la cual carecen los morfotipos. Con base en las diferencias encontradas, consideramos posible establecer tres nuevas especies a partir de los ejemplares antes referidos.

Para la diferenciación de las especies, tanto de vertebrados como de invertebrados, actualmente se utilizan junto con la morfología herramientas moleculares. Algunas especies de tricostrongílidos se han diferenciado con ADN ribosomal, tales como los espaciadores de transcripción interna (ITS) (Audebert, *et al.*, 2000; Gasser *et al.*, 1999; Hoste *et al.*, 1998). Sin embargo, se ha demostrado que los ITS son de poca utilidad para identificar especies potencialmente crípticas a partir de un pequeño número de individuos, ésto debido a que la tasa de sustitución de nucleótidos es mayor en el ADN mitocondrial que en los ITS. Como ejemplo de lo anterior, la diferencia entre *Haemonchus contortus* y *H. placei* utilizando como marcadores los ITS fue de 1%, mientras que con un gen mitocondrial dicha diferencia osciló entre 13 y 16% (Blouin *et al.*, 1998; Blouin, 2002). Como resultado del presente trabajo, se obtuvieron secuencias de *cox1* para los morfotipos 1 y 2 de *V. vexillata*, observando una diferencia entre dichas secuencias de 6.383 % (24 pb); en estudios previos con helmintos utilizando el mismo gen, este varía en un rango de 6.0 a 21 % (Blouin, 2002; Bowles y McManus, 1993, 1994; Bowles *et al.*, 1995; Morgan y Blair, 1998; Okamoto *et al.*, 1995), lo que nos permite suponer que los morfotipos pueden representar dos especies no descritas aún.

Blouin *et al.* (1998) sugieren que la identificación de una especie no solo se debe hacer con base en caracteres moleculares, sino también debe tomarse en cuenta otros, como los morfológicos; asimismo, Wiens y Penkrot (2002) proponen tres aproximaciones que se deben cumplir para delimitar una especie:

- 1) A partir de un árbol de datos moleculares.
- 2) A partir de caracteres morfológicos diagnósticos.
- 3) A partir de congruencia geográfica

De acuerdo con lo expresado por los autores anteriores, proponemos que los morfotipos 1 y 2 de *V. vexillata* representan dos especies no descritas aún, ya que cumplen con los tres supuestos referidos previamente; en el caso del morfotipo 5, aún cuando lo podemos diferenciar morfológicamente del resto de las especies congénicas, consideramos necesario efectuar su análisis molecular para lograr una delimitación robusta de la especie.

En el mismo caso se encuentran los morfotipos 0, 3 y 4, cuya morfología no permite una distinción precisa.

El análisis molecular de *V. legallae* y *V. dessetae* reveló que no presentan diferencia alguna en su secuencia, aún cuando morfológicamente pueden distinguirse a partir de caracteres como la presencia en *V. dessetae* de un rayo dorsal con ramas anexas (ausentes en *V. legallae*), y la división del rayo 10 en dos pequeñas ramas (siendo entero en *V. legallae*); asimismo, las hembras de las dos especies son indistinguibles. Lo anterior, aunado a que parasitan al mismo hospedero (*Heteromys desmarentianus*) en la misma localidad (Catemaco, Veracruz), sugiere que dichas especies podrían ser sinónimos. Sin embargo, consideramos necesario secuenciar un mayor número de organismos para corroborarlo, ya que este proceso únicamente se realizó con un individuo de cada especie. Situaciones similares a la anterior son frecuentes en tricostrongílidos, por ejemplo *Cooperia onchophora* (Railliet, 1898) y *C. surnabada* Antipin, 1931, así como con *Ostertagia gruehneri* Skrjabin, 1929 y *O. arctica* Mitskevitch, 1929 (Dallas *et al.*, 2000; Newton *et al.*, 1998); en ambos estudios, las especies presentan diferencias morfológicas, pero secuencias idénticas, por lo que las consideran conespecíficas.

El uso de caracteres morfológicos y moleculares en trabajos filogenéticos ha sido la base de un gran número de debates entre diferentes autores; algunos comentan que los caracteres moleculares son relativamente endebles, mientras otros mencionan que los morfológicos dan poca información o bien, ésta es confusa. No obstante, diversos estudios han demostrado que lo que realmente importa para la práctica de la sistemática es en todo caso, que los caracteres examinados exhiban la variación apropiada para responder diferentes preguntas. La combinación de hipótesis filogenéticas derivadas de estos tipos de estudios proveen mejores descripciones e interpretaciones de diversidad biológica (Moritz y Hillis, 1996).

Como ejemplo de lo anterior, actualmente se tienen estudios filogenéticos sobre la superfamilia Trichostrotongyloidea con datos morfológicos (Durette-Dessett *et al.*, 1999) y moleculares (Chilton *et al.*, 2001). Estos trabajos no coinciden en sus resultados a nivel taxonómico, sin embargo plantean el probable origen de los Trichostrongyloidea en marsupiales o aves acuáticas en Australia durante el inicio del periodo Cretácico, cuando Australia y Sudamérica se estaban separando de la Antártida.

En lo que se refiere al presente trabajo, se obtuvieron dos hipótesis filogenéticas para *Vexillata* basadas en datos morfológicos y moleculares, respectivamente; dichas propuestas son las primeras realizadas para el género en ambos niveles; para el análisis morfológico se estudiaron el total de especies que componen el género actualmente (13) y seis morfotipos de *V. vexillata*; en el caso del estudio molecular, solo se obtuvieron secuencias para cuatro especies (*V. convoluta*, *V. dessetae*, *V. legallae* y *V. liomyos*) y dos morfotipos (1 y 2). Las correspondencias entre las hipótesis obtenidas son 2: 1) *V. convoluta* se encuentra en un clado independiente, y 2) los morfotipos 1 y 2 de *V. vexillata* y *V. liomyos* se agrupan en un mismo clado como 3 especies. La discrepancia encontrada entre las hipótesis está en relación con *V. dessetae* y *V. legallae*, ya que en el análisis morfológico dichas especies se encuentran en clados diferentes, mientras que en el árbol con datos moleculares ambas se reúnen en un solo clado.

A partir del presente estudio, el número de especies para el género *Vexillata* aumentó a 14, la mayoría de las cuales se han registrado parasitando roedores de las familias Geomyidae y Heteromyidae, con dos excepciones: *V. vexillata* morfotipo 3 encontrado en *Peromyscus difficilis* (Muridae) (Falcón-Ordaz y Sanabria-Espinoza, 1997) y *V. noviberæ* proveniente de *Sylvilagus floridanus* (Leporidae) (Durette-Desset y Digiani, 2005). La presencia de estas especies en hospederos distintos a los que parasitan la mayoría, puede atribuirse a su distribución simpátrica con éstos; incluso, se han documentado hábitos conductuales de especies como *H. desmarentianus*, quien construye sus nidos en las madrigueras de tuzas (Villa y Cervantes, 2003), facilitándose el proceso de infección cruzada por presentar estos nemátodos un ciclo de vida directo (Durette-Desset, 1985; Sukhdeo *et al.*, 1997).

Finalmente, consideramos que para robustecer las hipótesis filogenéticas planteadas previamente, es necesario realizar más muestreos a lo largo de diferentes localidades en el país, así como en EUA y Centroamérica, mismos que a su vez permitan comprobar la estabilidad del sinlofo y de los rayos bursales como rasgos diagnósticos de las especies del género.

CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos llegamos a las siguientes conclusiones:

-Derivado del análisis filogenético de la Superfamilia Heligmosomoidea se propone la exclusión del Género *Vexillata* de la subfamilia Ornithostrongylinae.

-Se describieron dos nuevas especies: *Vexillata brooksi* parásita de *Heteromys desmarentianus* proveniente de Costa Rica y *V. geomyos* recolectada de *Geomys attwateri* de EUA.

-Se estudio el sinlofo de las regiones anterior y posterior del cuerpo de las especies: *V. chabaudi*, *V. convoluta*, *V. dessetae*, *V. legallae*, *V. petteri* y *V. vexillata*.

-Se amplía el espectro hospedatorio y distribución geográfica de las especies: *V. convoluta*, *V. dessetae*, *V. legallae* y *V. liomyos*. *Vexillata vexillata* (morfotipo 2) se registra por primera vez en *Perognathus flavus* del Estado de México.

-La distribución geográfica del género abarca desde el noroeste de los EUA hasta Venezuela y Colombia. Sin embargo, es necesario muestrear puntos intermedios de la región norte de México, así como un mayor número de localidades de Centro y Sudamérica.

-El análisis filogenético morfológico del género establece la monofilia de *Vexillata*.

-La validez de los morfotipos 1 y 2 de *V. vexillata* como especies independientes, fue corroborada a partir de su análisis molecular.

-Con base en el marcador molecular utilizado se sugiere más estudios entre las especies *V. dessetae* y *V. legallae*.

Literatura citada

AUDEBERT, F.; M. C. DURETTE-DESSET and N. B. CHILTON. (2000)

Internal transcribed spacer rDNA can be used to infer the phylogenetic relationships of species within the genus *Nematodirus* (Nematoda: Molineoidea). International Journal for Parasitology. 30: 187-191.

BLOUIN, M. S. (2002)

Molecular prospecting for cryptic species of nematodes: mitochondrial DNA versus internal transcribed spacer. International Journal for Parasitology. 32: 527-531.

BLOUIN, M. S., CH. A. YOWELL, CH. H. COURTNEY, and J. B. DAME (1998)

- Substitution Bias, Rapid Saturation, and the Use of mtDNA for Nematode Systematics. Molecular Biology and Evolution. 15: 1719-1727.
- BOWLES J. and D. P. McMANUS (1993)
NADH dehydrogenase 1 gene sequence compared for species and strains of the genus *Echinococcus*. International Journal for Parasitology. 23: 969-972.
- BOWLES J. and D. P. McMANUS (1994)
Genetic characterization of the Asian *Taenia*, a newly described Taeniid cestode in humans. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 50: 33-44.
- BOWLES J., D. BLAIR and D. P. McMANUS (1995).
A molecular phylogeny of the human schistosomes Molecular Phylogenetics and Evolution. 4: 103-109
- CHILTON, N. B., L. A. NEWTON, I. BEVERIDGE and R. B. GASSER (2001)
Evolutionary relationships of Trichostrongyloid nematodes (Strongylida) inferred from ribosomal DNA sequence data. Molecular Phylogenetics and Evolution. 19: 367-386.
- DALLAS, J. F., R. J. IRVINE and O. HALVORSEN (2000)
DNA evidence that *Ostertagia gruehneri* and *Ostertagia arctica* (Nematoda : Ostertagiinae) in reindeer from Norway and Svalbard are conspecific. International Journal for Parasitology. 30 : 655-658.
- DURETTE-DESSET, M. C. (1971)
Essai de classification des nématodes héligmosomes. Corrélations avec la paléobiogéographie des hôtes. Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle. Série A, Zoologie Tome 69: 126 pp.
- DURETTE-DESSET, M. C. (1972)
Compléments morphologiques à l'étude de quelques Nématodes Héligmosomes, parasites de Rongeurs américains Annales de Parasitologie 47: 243-249.
- DURETTE-DESSET, M. C. (1978)
Nouvelles données morphologiques sur des Nématodes Trichostrongyloides des collections du United States National Museum. Bulletin du Museum National d'Histoire Naturelle 3^e Série no 513, Zoologie 352: 135-147.
- DURETTE-DESSET, M. C. (1983)

- Keys to genera of the superfamily Trichostrongyloidea : In CIH key to the nematode parasites of vertebrates. (edited R. C. Anderson and A. G. Chabaud) Commonwealth Agricultural Bureaux vol. 10 : 69
- DURETTE-DESSET, M. C. (1985)
Trichostrongyloides nematodes and their vertebrate hosts: In Reconstruction of the phylogeny of parasitic group: In Advances in Parasitology vol 24 (edited by Baker, J.R. and Muller, R.) London, U. K. Academic Press Inc.: 239-306.
- DURETTE-DESSET, M. C. et A. G. CHABAUD (1977)
Essai de classification des Nématodes Trichostrongyloidea. Annales de Parasitologie.52: 539-558.
- DURETTE-DESSET, M. C. et A. G. CHABAUD (1981)
Nouvel essai de classification des Nématodes Trichostrongyloidea. Annales de Parasitologie.56: 297-312.
- DURETTE-DESSET, M. C. and M. C. DIGIANI. (2005)
Systematic position of some nearctic heligmosomoidea (Nematoda: Trichostrongylina) from the U.S. National Parasite Collection and their description Journal of Parasitology. 91: 893–899
- DURETTE-DESSET, M. C., J. P. HUGOT, P. DARLU and A. G. CHABAUD. (1999)
A cladistic analysis of the Trichostrongyloidea (Nematoda) International Journal for Parasitology. 29: 1065-1086.
- DURETTE-DESSET, M. C. and J. L. JUSTINE (1991)
A cladistic analysis of the genera in the subfamily Pudicinae (Nematoda: Trichostrongyloidea: Heligmonellidae). International Journal for Parasitology. 21: 579-587.
- FALCÓN-ORDAZ, J. y L. GARCÍA-PRIETO. (2004)
Análisis Morfológico de algunos Trichostrongilinos (Strongylida) depositados en la Colección Nacional de Helmintos del Instituto de Biología, UNAM, México. Revista de Biología Tropical. 52: 377-386.
- FALCÓN-ORDAZ, J. y L. GARCÍA-PRIETO. (2005)

- A new species of *Vexillata* (Nematoda: Trichostrongylinea: Ornithostrongylidae) parasite of *Heteromys desmarestianus* (Rodentia: Heteromyidae) from Costa Rica. Journal of Parasitology. 94: 329-334.
- FALCÓN-ORDAZ, J. y Ma. A. SANABRIA-ESPINOZA (1997)
Vexillata vexillata (Nematoda: Ornithostrongylidae) parásito de roedores de México. Revista de Biología. Tropical. 45: 1691-1694.
- GASSER, R. B.; L. ROSSI and X. ZHU. (1999)
 Identification of *Nematodirus* (Nematoda: Molineoidea) from wild ruminants in Italy using ribosomal DNA markers. International Journal for Parasitology. 29: 1809-1817.
- GUERRERO, R. (1984)
 Nematoda: Trichostrongyloidea parasites of Venezuelan wild mammals. III. The genus *Vexillata* Travassos, 1937. Annales de Parasitologie 59: 253-261.
- HOBERG, E. P. and J. R. LICHTENFELS. (1994)
 Phylogenetic systematic analysis of the Trichostrongylidae (Nematoda), with an initial assessment of coevolution and biogeography. Journal of Parasitology. 80: 976-996.
- HOBERG, E. P. and J. R. LICHTENFELS and L. GIBBONS. (2004)
 Phylogeny for species of *Haemonchus* (Nematoda: Trichostrongyloidea): Considerations of their evolutionary and global biogeography among camelidae and pecora (Artiodactyla). Journal of Parasitology. 90: 1085-1102.
- HOBERG, E. P. and J. R. LICHTENFELS and L. G. RICKARD. (2005)
 Phylogeny for genera of Nematodirinae (Nematoda: Trichostrongylinea). Journal of Parasitology. 91: 382-389.
- HOSTE, H. N. B. CHILTON. I. BEVERIDGE and R. B. GASSER. (1998)
 A comparison of the first internal transcribed spacer of ribosomal DNA in seven species of *Trichostrongylus* (Nematoda: Trichostrongylidae). International Journal for Parasitology. 28: 1251-1260.
- LICHTENFELS, J. R. (1974)
 Number and distribution of ridges in the cuticle of *Nippostrongylus brasiliensis* (Travassos, 1914) (Nematoda: Heligmosomatoidea). Journal of Parasitology. 60 : 285-288.

LICHTENFELS, J. R. (1977)

Differences in cuticular ridges among *Cooperia* spp. of North American ruminants with an illustrated key to species. Proceedings of the Helminthological Society of Washington. 44: 111-119.

LICHTENFELS, J. R. (1983)

The sinlofo and species determination of Trichostrongyloidea: In Concepts in Nematode Systematics vol. 22 (edited by Stone, A. R., H. M.Platt and L. F. Khalil) London, U. K. Academic Press Inc.: 273-291.

LICHTENFELS, J. R.,and P. A. PILITT(1983a)

Cuticular ridge pat-terns of *Nematodirus* (Nematoda: Trichostrongyloidea) of North American ruminants, with a key to species. Systematic Parasitology. 5: 271-285.

LICHTENFELS, J. R.,and P. A. PILITT (1983b).

Cuticular ridge patterns of *Nematodirella* (Nematoda: Trichostrongyloidea) parasitic in domestic ruminants of North America, with a key to species. Proceedings of the Helminthological Society of Washington. 50: 261-274.

MORGAN J. A. T. and D. BLAIR (1998)

Relative merits of nuclear ribosomal internal transcribed spacers and mitochondrial COI and ND1 genes for distinguishing among *Echinostoma* species (Trematoda). Parasitology 116: 289-297.

MORITZ C. and D HILLIS (1996)

Molecular Systematics: Context and Controversies.: In Molecular systematics (edited Hillis, D., C. Moritz, and B.K.Mable). Sunderland, Massachusetts: Sinauer: 1-13.

NEWTON, L. A., N. B. CHILTON, I. BEVERIDGE and R. B. GASSER (1998)

Genetic evidence indicating that *Cooperia surnabada* and *Cooperia oncophora* are one species. International Journal for Parasitology. 28: 331-336.

OKAMOTO,M; Y. BESSHO; M. KAMIYA; T. KUROSAWA and T. HORII (1995)

Phylogenetic relationships within *Taenia taeniaeformis* variants an other taeniid cestodes inferred from the nucleotide sequence of the cytochrome C oxidase subunit I gene. Parasitology Research. 81: 451-458.

- PÉREZ-PONCE DE LEON, G. S. L. GARDNER AND J. FALCÓN-ORDAZ. (2000)
Phylogenetic relationships among species of *Stilestrongylus* Freitas, Lent and Almeida, 1937 (Trichostrongyloidea: Heligmonellidae: Nippostrongylinae), parasites of myomorph rodents (Rodentia: Muridae) in the neotropics. Journal of Parasitology. 86: 1326-1335.
- SUKHDEO, S. C., M. V. K. SUKHDEO, M. B. BLACK and R. C. VRIJENHOEK. (1997)
The evolution of tissue migration in parasitic nematodes (Nematoda: Strongylida) inferred from a protein-coding mitochondrial gene. Biological Journal of the Linnean Society 61: 281-298.
- VILLA, R. B. Y CERVANTES, F. A. (2003)
Los Mamíferos de México. Grupo Editorial Iberoamericana, S. A. de C. V. México D. F. 140 pp.
- WIENS, J. J. and T. A. PENKORT (2002)
Delimiting Species Using DNA and Morphological Variation and Discordant Species Limits in Spiny Lizards (*Sceloporus*). Systematic Biology. 51: 69-91.