



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

**POSICIÓN FILOGENÉTICA DE ALGUNOS ONCOCÉRCIDOS (NEMATODA:
ONCHOCERCIDAE) PARÁSITOS DE VERTEBRADOS SILVESTRES AMERICANOS**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BRENDA ATZIRI GARCÍA GARCÍA

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: M. EN C. LUIS GARCÍA PRIETO
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. MARÍA DEL CARMEN GUZMÁN CORNEJO
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. FAUSTO ROBERTO MÉNDEZ DE LA CRUZ
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

CD. MX.

NOVIEMBRE, 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



OFICIO CPCB/1021/2018

Asunto: Oficio de Jurado para Examen de Grado.

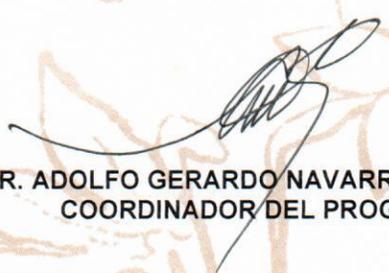
Lic. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión del Subcomité por Campo de Conocimiento de Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 17 de Septiembre de 2018, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna **GARCÍA GARCÍA BRENDA ATZIRI** con número de cuenta **305125868** con la tesis titulada **"Posición filogenética de algunos oncocercidos (Nematoda: Onchocercidae) parásitos de vertebrados silvestres americanos"**, realizada bajo la dirección del **M. EN C. LUIS GARCÍA PRIETO**:

Presidente: DR. GERARDO PÉREZ PONCE DE LEÓN
Vocal: DR. JOSÉ MARTÍN GARCÍA VARELA
Secretario: DRA. MARÍA DEL CARMEN GUZMÁN CORNEJO
Suplente: DR. ALEJANDRO FRANCISCO OCEGUERA FIGUEROA
Suplente: DR. DAVID OSORIO SARABIA

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 22 de octubre de 2018.


DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
COORDINADOR DEL PROGRAMA



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

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada durante los semestres 2017-1 a 2018-2 que me permitió estudiar el Posgrado.

Al proyecto IN 214114 PAPIIT: Inventario de argásidos (Ixodida: Argasidae) en Cuevas de México. Huéspedes, distribución y relaciones filogenéticas (2014-2016). Otorgado a la Dra. María del Carmen Guzmán Cornejo, que permitió la colecta de ejemplares en Morelos.

Al proyecto CONACYT 220408: Especificidad hospedatoria de helmintos y anuros del Occidente de México. A cargo del Dr. Alejandro Francisco Ocegüera Figueroa, que permitió la colecta de hospederos.

Al proyecto IN 210318 PAPIIT: Biodiversidad y filogenia molecular de sanguijuelas del género *Helobdella*. A cargo del Dr. Alejandro Francisco Ocegüera Figueroa, que permitió la obtención de los datos moleculares analizados en este trabajo.

Al Programa de Apoyo a Estudiantes de Posgrado (PAEP) de la UNAM, por el apoyo económico brindado para la estancia de investigación en el Smithsonian Institution, Washington D. C. del 12 de junio al 11 de agosto del 2017; así como para la presentación de los resultados en la 93rd Annual Meeting of the American Society of Parasitologists, llevada a cabo del 21 al 24 de junio del 2018 en Cancún, México.

Al M. en C. Luis García Prieto, tutor principal de este trabajo.

A los miembros del Comité Tutor:

Dra. María del Carmen Guzmán Cornejo

Dr. Fausto Roberto Méndez de la Cruz

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A mis hermanos Omar e Itzel, que siempre han confiado en mí, en mis capacidades y en quien siempre me he apoyado para seguir adelante. Gracias por todas las enseñanzas, por tanto amor y tanta paciencia.

A mi papá, porque siempre me has apoyado y cuidado. Gracias por todo, pa.

A mis sobrinos Santiago y Bruno, quienes llenan mi vida de amor y travesuras.

A Rodrigo Tlachi, por todo el apoyo, cariño y comprensión. Gracias por ayudarme a mantener siempre el ánimo, eres el mejor compañero de vida. Te quiero, mapache.

A Ville, por ser el mejor cuñado que puede existir.

A Jorge Blanco, todo mi agradecimiento y amor.

A Luis Piña, mi querido amigo.

A las mujeres Tlachi: Susana, Valeria y Paulina, que me han integrado como otro miembro más de su bonita familia compacta.

A la señora Bertha Bautista, porque siempre he encontrado en ella consejos, sabios regaños y apoyo.

A mi asesor Luis García, porque con tu humor, amabilidad y carisma siempre hiciste que el trabajo fuera ligero y agradable. Gracias por confiar tanto en mí, por aceptarme como tu estudiante y por compartir tu conocimiento conmigo.

A la M. en C. María Berenit Mendoza Garfias, responsable del Laboratorio de Microscopía y Fotografía de la Biodiversidad (I) del IBUNAM, por el proceso y obtención de imágenes en Microscopía Electrónica de Barrido.

A la Biól. Susana Guzmán Gómez, responsable del Laboratorio de Microscopía y Fotografía de la Biodiversidad (II) del IBUNAM, por la ayuda en la toma de las fotografías multifocales.

A la M. en C. Andrea Rubí Jiménez Marín, por su ayuda y facilidades para llevar a cabo el trabajo en el Laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Zoología, IBUNAM.

A la M. en C. Laura Margarita Márquez Valdelamar, responsable del Laboratorio de Biología Molecular y de la Salud, del IBUNAM por su ayuda en la obtención de las secuencias genéticas.

A la Biól. Ofelia Delgado Hernández, por toda la invaluable ayuda en el laboratorio de molecular. Gracias por tanta confianza, apoyo y generosidad en compartir tu conocimiento.

A los sinodales: Dra. María del Carmen Guzmán Cornejo, Dr. Gerardo Pérez Ponce de León, Dr. Martín García Varela, Dr. Alejandro Ocegüera Figueroa y M. en C. David Osorio Sarabia, por sus acertadas sugerencias y recomendaciones que enriquecieron este trabajo.

Al Dr. Edmundo González, por su entusiasmo y disponibilidad en compartir sus conocimientos, mil gracias por ayudarme a entender muchos fundamentos y análisis.

A la Dra. Anna J. Phillips, por aceptarme en su laboratorio y guiarme durante la estancia en el Smithsonian.

A Herman Wirshing y Freya Goetz, por su invaluable ayuda en lo molecular y morfológico durante la estancia en D.C.

A Maggie Doolin, por los agradables momentos juntas dentro y fuera del LAB.

A la M. en C. Ángeles Romero Mayén, por la colaboración con el DNA de los ejemplares de *Foleyellides*.

A la Dra. Rosario Mata López, por la donación de los ejemplares de *Pelecitus* sp. de Oaxaca.

A la M.V.Z. Claudia I. Muñoz García, por el material de *Pelecitus* de *Caracara cheriway*.

A la Dra. Carmen Guzmán, por todas las aportaciones a lo largo de los tutorales que enriquecieron el trabajo y por su ayuda en la obtención de los parásitos de Morelos.

Al Dr. Fausto Méndez y todo su equipo de estudiantes, en especial al M. en C. Diego M. Arenas Moreno, por el préstamo de hospederos preservados para su disección, así como por su disponibilidad en colaborar.

Al M.V.Z. Rodrigo Ontiveros Tlachi, por el diseño del protocolo y manejo del anestésico en los hospederos.

Al M. en C. Ángel Soto Pozos por su ayuda en las colectas de Veracruz.

A Lety Barragán, por ser una gran mamá para todos los del lab, por sus apapachos y risas compartidas.

A Lety Rodriguez por aguantarnos y siempre tener una sonrisa.

A todos mis compañeros del laboratorio, de quienes he aprendido muchas cosas. En especial muchas gracias a Jhon, Omar, David, Gisela, Gerardo, Andrés Velázquez, Yanet y Berenice por su ayuda en campo y en las disecciones de los hospederos.

Al grupo de trabajo del Laboratorio de Acarología de la Facultad de Ciencias de la UNAM y al Dr. Ricardo Paredes por permitirme colaborar con ustedes en la colecta de Morelos.

A mi querida amiga Andy Rebollo, por todos los momentos que hicieron del paso por la Maestría mágico. Por las aventuras en campo, las risas, las jilarias colectadas y el apoyo moral que siempre me has dado.

A Omar Lagunas, definitivamente sin tu ayuda y motivación no estaría aquí. Nunca tendré palabras suficientes para agradecerte todo lo que has hecho por mí.

Al Dr. David Hernández *Pandilla*, por su entusiasmo, ayuda y alegría con la que siempre me contagió.
Al maestro David Osorio, de quien he aprendido mucho. Por ese gran ánimo y entusiasmo por los parásitos. Gracias por compartir su sabiduría y su buen humor. Gracias también por la donación de ejemplares para esta tesis.

Al Dr. Alejandro Ocegüera por todo el apoyo que me has brindado. Por tanta confianza depositada en mí y en mi trabajo. Por todos los consejos académicos y de vida.

A la Dra. Sanabria, quien sin conocerme me dio los mejores consejos de vida en el momento adecuado.

A todos los miembros de mis dos hermosas familias García.

A la Universidad Nacional Autónoma de México

DEDICATORIA

A mi madre: porque siempre eres la primera persona en la que pienso en mi día a día. Porque nunca dejaré de agradecer lo maravillosa que fuiste, por enseñarme a ver la vida de manera positiva y amarla sin importar lo que pase. Todo lo que he logrado ha sido siempre gracias a ti, mamá. Te amo.

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
OBJETIVOS.....	4
GENERAL.....	4
PARTICULARES.....	4
ANTECEDENTES.....	4
MATERIALES Y MÉTODOS.....	6
OBTENCIÓN DEL MATERIAL BIOLÓGICO.....	6
ANÁLISIS MORFOLÓGICO DE LOS EJEMPLARES.....	7
EXTRACCIÓN, AMPLIFICACIÓN Y SECUENCIACIÓN DE DNA.....	7
SECUENCIACIÓN DE GENES.....	8
EDICIÓN DE SECUENCIAS.....	8
ALINEACIÓN DE SECUENCIAS.....	8
SELECCIÓN DE MODELO EVOLUTIVO.....	8
ANÁLISIS FILOGENÉTICO.....	9
DISTANCIAS GENÉTICAS.....	9
PARSIMONIA.....	9
VEROSIMILITUD MÁXIMA.....	9
INFERENCIA BAYESIANA.....	9
RESULTADOS.....	10
OBTENCIÓN DEL MATERIAL BIOLÓGICO.....	10
IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA.....	10
OSWALDOFILARIINAE CHABAUD Y CHOQUET, 1953.....	11
<i>PIRATUBA</i> LENT Y FREITAS, 1941.....	11
WALTONELLINAE BAIN Y PROD'HON, 1974.....	15
<i>FOLEYELLIDES</i> CABALLERO, 1935.....	15
<i>OCHOTERENELLA</i> CABALLERO, 1944.....	18
DIROFILARIINAE SANDGROUND, 1921.....	22
<i>PELECITUS</i> RAILLIET Y HENRY, 1910.....	22
ONCHOCERCINAE LEIPER, 1911.....	25
<i>LITOMOSOIDES</i> CHANDLER, 1931.....	25
<i>MACDONALDIUS</i> KHANNA, 1933.....	29
<i>DIPETALONEMA</i> DIESING, 1861.....	32
SELECCIÓN DEL MODELO EVOLUTIVO.....	34
GENERACIÓN DE MATRICES DE DATOS MOLECULARES.....	34
RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS FILOGENÉTICOS.....	35
DISCUSIÓN.....	39
DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS MORFOLÓGICOS.....	39
DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS FILOGENÉTICOS.....	42
DATOS ADICIONALES SOBRE LOS GENES UTILIZADOS.....	48
CONCLUSIONES.....	49
LITERATURA CITADA.....	50

LISTA DE TABLAS

TABLA 1. Historia de la clasificación de algunos géneros incluidos en Onchocercidae.....	5
TABLA 2. Sitios informativos por cada fragmento genético.....	34

LISTA DE LÁMINAS

LÁMINA I. <i>Piratuba</i> sp.....	12
LÁMINA II. <i>Piratuba</i> sp.....	13
LÁMINA III. <i>Piratuba</i> sp.....	14
LÁMINA IV. <i>Foleyellides</i> sp.....	16
LÁMINA V. <i>Foleyellides</i> sp.....	16
LÁMINA VI. <i>Foleyellides</i> sp.....	17
LÁMINA VII. <i>Ochoterenella</i> sp.....	19
LÁMINA VIII. <i>Ochoterenella</i> sp.....	20
LÁMINA IX. <i>Ochoterenella</i> sp.....	21
LÁMINA X. <i>Pelecitus</i> sp.....	23
LÁMINA XI. <i>Pelecitus</i> sp.....	24
LÁMINA XII. <i>Litomosoides</i> sp.....	26
LÁMINA XIII. <i>Litomosoides</i> sp.....	27
LÁMINA XIV. <i>Litomosoides</i> sp.....	28
LÁMINA XV. <i>Macdonaldius</i> sp.....	30
LÁMINA XVI. <i>Macdonaldius</i> sp.....	31
LÁMINA XVII. <i>Dipetalonema</i> sp.....	33

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Árbol de consenso estricto de Máxima Parsimonia.....	36
FIGURA 2. Árbol resultante del análisis de Verosimilitud Máxima.....	37
FIGURA 3. Árbol resultante del análisis de Inferencia Bayesiana.....	38
FIGURA 4. Caudas de ejemplares de <i>Ochoterenella</i> spp.....	40
FIGURA 5. Árbol resultante del análisis de Máxima Verosimilitud. Tomado de Lefoulon <i>et al.</i> , 2015..	46
FIGURA 6. Árbol resultante del análisis de Inferencia Bayesiana. Tomado de Lefoulon <i>et al.</i> , 2015....	47

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1. Especies de Onchocercidae registradas en México.....	59
ANEXO 2. Especies de Onchocercidae registradas en Costa Rica.....	61
ANEXO 3. Perfiles térmicos utilizados por fragmento genético.....	62
ANEXO 4. Números de acceso GenBank de los ejemplares incluidos en los análisis.....	63
ANEXO 5. Huéspedes examinados en las colectas de campo.....	64
ANEXO 6. Huéspedes fijados en etanol 70% previamente colectados.....	65
ANEXO 7. Material obtenido de la CNHE y donaciones.....	66
ANEXO 8. Distancias genéticas p <i>coxI</i>	67

RESUMEN

Los nematodos pertenecientes a la familia Onchocercidae pueden habitar diversos hábitats (desde el sistema linfático, circulatorio, músculos, tejido conectivo o la cavidad corporal), exhibiendo especificidad hacia el huésped o el sitio que parasitan; algunas especies son de importancia médica y veterinaria. Los organismos de este grupo se clasifican en 6 subfamilias, 87 géneros y 668 especies a nivel mundial; en México, se tienen registrados 14 géneros y 33 especies, lo que representa el 16% de los géneros y 4.9% de las especies descritas en todo el mundo; Costa Rica, a su vez, posee 11 géneros (12.6%) y 18 especies (2.7%). A pesar de la gran riqueza específica de oncocercidos en ambos países, hasta la fecha los estudios realizados se restringen a su descripción morfológica, sin analizar su posición filogenética dentro de la familia con bases moleculares. Para el grupo, la última hipótesis filogenética fue desarrollada utilizando únicamente ejemplares europeos, asiáticos, africanos y sudamericanos, sin incluir especies norte y centro americanas, en particular algunas de México y Costa Rica. El objetivo principal de la tesis fue analizar la posición filogenética de ejemplares mexicanos y centroamericanos con la finalidad de ampliar el conocimiento acerca de la familia. Los nematodos fueron obtenidos a partir de diversas fuentes (colectas, disección de hospederos preservados, ejemplares pertenecientes a la CNHE y donaciones); éstos fueron procesados para su revisión morfológica y extracción de DNA. Como paso inicial, se observaron al microscopio, fotografiaron y enviaron a Microscopía Electrónica de Barrido para su correcta asignación a nivel genérico. El DNA se extrajo con la utilización de tres kits comerciales (QIAGEN, JENA y MasterPure Complete) y se amplificaron cuatro fragmentos genéticos [dos mitocondriales (*cox1* y 12S) y dos nucleares (18S y 28S)]. Las secuencias fueron ensambladas en Geneious 10.2.2, alineadas en MAFFT ver. 7 y se establecieron los modelos evolutivos en el programa j-ModelTest. Los alineamientos de cada fragmento se concatenaron y se analizaron bajo tres enfoques: Parsimonia (en TNT), Verosimilitud Máxima (en RaxML) e Inferencia Bayesiana (en Mr. Bayes). En total se identificaron los géneros *Piratuba*, *Foleyellides*, *Ochoterenella*, *Pelecitus*, *Macdonaldius*, *Dipetalonema* y *Litomosoides*, a partir de los cuales se obtuvieron 35 secuencias concatenadas de 5 de los 7 géneros. Estas secuencias se conjuntaron con 55 procedentes de GenBank. Los árboles obtenidos fueron congruentes entre sí, recuperándose dos grupos generales (que denominamos A y B) con valores de soporte altos en los tres análisis. El grupo A se muestra como el grupo hermano de B, consistiendo de las tres subfamilias parásitas de anfibios y reptiles (Oswaldofilariinae, Waltonellinae e Icosiellinae) y se conserva como un grupo tempranamente divergente dentro de los oncocercidos, concordante con lo sugerido en filogenias previas. El grupo B incluye a Splendidofilariinae, Dirofilarinae y Onchocercinae; no obstante, a nivel de subfamilia no se muestran como grupos monofiléticos, por lo que consideramos que las características diagnósticas a nivel morfológico deben ser re-evaluadas.

ABSTRACT

Nematodes belonging to the Onchocercidae family can inhabit several habitats (from the lymphatic system, circulatory system, muscles, connective tissue or body cavity), exhibiting specificity to the host or site they parasitize. Also, some species are of medical and veterinary importance. The organisms of this group are classified in 6 subfamilies, 87 genera and 668 species worldwide; in Mexico, there are 14 genera and 33 species, which represents 16% of the genera and 4.9% of the species described throughout the world; Costa Rica, in turn, has 11 genera (12.6%) and 18 species (2.7%). In spite of the great specific richness of onchocercids in both countries, to date, the studies carried out are restricted to their morphological description, and no studies about their phylogenetic position within the family with molecular bases has been conducted. For the group, the last molecular phylogenetic hypothesis was developed only with European, Asian, African and South American specimens, and no specimens from North and Central America were included. Thus, the main objective of the thesis was the analysis of the phylogenetic position of Mexican and Central American specimens to expand the phylogenetic knowledge of the family. The nematodes were obtained from different sources (collections, dissection of preserved hosts, specimens belonging to the CNHE and donations). These worms were processed for morphological revision and DNA extraction. As an initial step, they were observed under the microscope, were photographed and sended to Scanning Electron Microscopy for its correct assignment at generic level. The DNA was extracted with the use of three commercial kits (QIAGEN, JENA and MasterPure Complete) and four genetic fragments were amplified [two mitochondrial (*cox1* and 12S) and two nuclear (18S and 28S)]. The sequences were assembled in Geneious 10.2.2, aligned in MAFFT ver. 7 and the evolutionary models were established in the j-ModelTest program. The alignments of each fragment were concatenated and analyzed under three methods: Parsimony (in TNT), Maximum Likelihood (in RaxML) and Bayesian Inference (in Mr. Bayes). In total, seven genera were identified: *Piratuba*, *Foleyellides*, *Ochoterenella*, *Pelecitus*, *Macdonaldius*, *Dipetalonema* and *Litomosoides*, from which, 35 concatenated sequences of five of these genera were obtained. These sequences were combined with 55 data sequences from GenBank. The trees became congruent with each other, recovering two general groups. Group A is shown as the sister group of B, which consists of the three parasitic subfamilies of amphibians and reptiles (Oswaldofilariinae, Waltonellinae and Icosiellinae) and is conserved as an early divergent group as in the previously proposed phylogenetic hypotheses. Group B includes the subfamilies Splendidofilariinae, Dirofilariinae and Onchocercinae; however, at subfamily level they were not shown as monophyletic groups, as a result, we consider that the diagnostic characteristics considered at morphological level must be re-evaluated.

INTRODUCCIÓN

Una gran parte de los integrantes que definen la biodiversidad del planeta presenta forma de vida parásita, siendo una de las más exitosas. Esta se ha desarrollado en muchos momentos en la historia evolutiva de diferentes grupos taxonómicos, apareciendo varias veces a partir de sus contrapartes de vida libre (Pérez-Ponce de León y García-Prieto, 2001; Paredes-León *et al.*, 2008; Pérez-Ponce de León *et al.*, 2011; Weinstein y Kuris, 2016). El parasitismo está presente en 15 (43%) de los 35 phyla reconocidos de los metazoarios (Weinstein y Kuris, 2016); dentro de éstos destaca el phylum Nematoda Cobb 1932, uno de los grupos de organismos con mayor riqueza en la naturaleza; se estima que la mayoría de las especies son de vida libre y entre las endosimbiontes, existen especies fito y zooparásitas (con más de 8359 especies parásitas de vertebrados) (Hugot *et al.* 2001).

De manera general, los nematodos zooparásitos poseen un aparato digestivo completo o incompleto en todas las etapas de su desarrollo, cuerpo cilíndrico o filiforme y cutícula elástica y resistente; ésta comúnmente es lisa, raramente con espinas, escamosa, discontinua con protuberancias y estriada de manera transversal, longitudinal o raramente oblicua; durante la etapa larval, éstos organismos llevan a cabo ecdisis, desechando la cutícula en cada muda; no obstante, algunos pueden retenerla en forma de vaina en la etapa final de la larva (Yamaguti, 1961). Dentro de los nematodos parásitos, se encuentran los pertenecientes a la superfamilia Filarioidea Weinland 1858 (Chabaud y Anderson 1959), cuyas especies están contenidas en dos familias: Filariidae Weinland 1858 (Cobbold 1879) y Onchocercidae Lieper 1911 (Chabaud y Anderson 1959) (Hodda, 2011). Los miembros de ambas familias son filariformes, habitan en los sistemas linfático y circulatorio, los tejidos muscular y conectivo, así como libres o adheridos en la cavidad corporal de vertebrados (excepto peces); poseen boca usualmente simple, que puede o no presentar labios laterales indefinidos y ocasionalmente estar rodeada por estructuras quitinosas; pueden presentar cápsula bucal rudimentaria. El esófago es cilíndrico, comúnmente dividido en dos partes; intestino simple, a veces atrofiado en la parte posterior; los machos tienen espículas generalmente desiguales y alas caudales presentes o ausentes; las hembras son de mayor tamaño que los machos y con la vulva casi siempre situada en la región esofágica, formando microfilarias como etapa infectiva (Yamaguti, 1961; Anderson y Bain, 1974; Anderson, 2000). Las microfilarias pueden desarrollarse en el útero, rodeadas de una membrana derivada del huevo; cuando maduran y eclosionan en el útero son conocidas como microfilarias desenvainadas, que se liberan en la sangre o piel del hospedero; si retienen dicha membrana se les conoce como microfilarias envainadas y son depositadas en los tejidos del hospedero hasta ser adquiridos por los vectores y eclosionar dentro de ellos (Anderson, 2000). Los miembros de Onchocercidae están

caracterizados por su hábitat restringido al tejido de los hospederos o a la cavidad corporal de los mismos, sin comunicación directa al exterior, la presencia de microfilarias que pueden migrar libremente en los líquidos como linfa y sangre, para favorecer la ingestión por los artrópodos hematófagos que fungen como vectores (piojos, pulgas, dípteros, garrapatas y ácaros) y por poseer esófago glandular durante dicha etapa infectiva (Anderson y Bain, 1974; Bain, 2002; Bain *et al.*, 2008). Algunas filarias de esta familia exhiben especificidad hacia sus huéspedes (Peláez y Pérez-Reyes, 1958) e incluso hacia el órgano que parasitan (Anderson, 2000).

Onchocercidae se compone de seis subfamilias, 87 géneros y 668 especies a nivel mundial (Hodda, 2011); en México, se tienen registrados 14 géneros y 33 especies, lo que representa el 16% de los géneros y 4.9% de las especies descritas en todo el mundo. Costa Rica, a su vez, posee 11 géneros (12.6%) y 18 especies (2.7%) (Anexos 1 y 2). Considerando ambos países, el género con mayor representación corresponde a *Foleyellides*, parasitando 7 y 12 especies de hospederos en Costa Rica y México, respectivamente. A pesar de la gran riqueza específica de oncocercidos en ambos países, hasta la fecha los estudios realizados se restringen a su descripción morfológica, sin analizar su posición filogenética dentro de la familia con bases moleculares.

OBJETIVO GENERAL

Establecer la posición filogenética de algunas especies de géneros de Onchocercidae parásitos de vertebrados silvestres norte y centroamericanos (*Dipetalonema*, *Foleyellides*, *Litomosoides*, *Macdonaldius*, *Ochoterenella*, *Pelecitus* y *Piratuba*).

OBJETIVOS PARTICULARES

-Poner a prueba la monofilia de diversos grupos que históricamente se han incluido en la familia Onchocercidae.

-Evaluar la consistencia de los caracteres morfológicos empleados para definir grupos a través de análisis filogenéticos.

ANTECEDENTES

Los estudios moleculares representan una herramienta útil para la taxonomía, y ofrecen una mejor asignación de los organismos a las categorías taxonómicas más bajas (Hebert *et al.*, 2003; Adl *et al.*, 2005; Ferri *et al.*, 2009) y dado que los taxones son entidades biológicas, éstos tienen significado filogenético (de Queiroz y Gauthier, 1994) por lo que entender sus relaciones es importante. No obstante, para algunos grupos de filáridos se carece de secuencias de DNA y/o proteínas disponibles en los repositorios electrónicos (Casiraghi *et al.*, 2004), haciendo que ciertas preguntas concernientes

a la clasificación, origen y evolución de Onchocercidae permanezcan sin respuesta (Bain *et al.*, 2008; Lefoulon *et al.*, 2015). Algunas propuestas han sido desarrolladas con base en caracteres morfológicos; por ende, los análisis basados en datos moleculares son de importancia para evaluarlas (Bain *et al.*, 2008). En el caso de Onchocercidae, la última hipótesis filogenética fue desarrollada utilizando únicamente ejemplares europeos, asiáticos, africanos y sudamericanos (Lefoulon *et al.*, 2015), sin incluir especies norte y centro americanas, en particular algunas de México y Costa Rica (ver Peláez y Pérez- Reyes, 1958, 1960; García-Prieto *et al.*, 2014; Romero-Mayén y León-Règagnon, 2016). De acuerdo con Lefoulon y colaboradores (2015), Onchocercidae se presenta como una familia monofilética con cinco clados bien soportados e identificables dentro de ella (Tabla 1). Se ha propuesto con datos tanto morfológicos como con moleculares, que las subfamilias Oswaldofilariinae, Icosiellinae y Waltonellinae conforman un clado correspondiente al grupo hermano del resto de los oncocércidos y que han sido propuestas como subfamilias con caracteres plesiomórficos dentro de los oncocércidos (Bain *et al.*, 2008; Bauer, 2015). Los clados ONC 3, ONC 4 y ONC 5 al parecer están bien soportados (Lefoulon *et al.*, 2015); sin embargo, la topología del árbol no corresponde con las delineaciones sistemáticas definidas anteriormente con datos morfológicos (Lefoulon *et al.*, 2015); los géneros incluidos en el estudio pertenecientes a las subfamilias Splendofilariinae, Onchocercinae y Dirofilariinae no se agrupan conforme a la división clásica de las tres subfamilias propuesta por Gibbons (2010), ya que de acuerdo con Lefoulon y colaboradores (2015) el clado ONC 5 incluye géneros pertenecientes a estas tres subfamilias. Asimismo, el clado ONC 3 incluye géneros de Dirofilariinae y Onchocercinae, por lo que se requiere la inclusión de más información a los análisis filogenéticos.

TABLA 1. HISTORIA DE LA CLASIFICACIÓN DE ALGUNOS GÉNEROS INCLUIDOS EN ONCHOCERCIDAE

GÉNERO	SUBFAMILIA			FAMILIA			CLADO	
	Yamaguti (1961)	Anderson y Bain (1974)	Bain <i>et al.</i> (2014)	Yamaguti (1961)	Anderson y Bain (1974)	Bain <i>et al.</i> (2014)	Lefoulon <i>et al.</i> (2015)	
<i>Oswaldofilaria</i>	Oswaldofilariinae	Oswaldofilariinae	Oswaldofilariinae	Dipetalonematidae	Onchocercidae		ONC 1	
<i>Piratuba</i>	Splendofilariinae							**
<i>Ochoterella</i>	Filariinae	Waltonellinae	Waltonellinae	Filariidae			ONC 1	
<i>Foleyellides</i> ¹	Filariinae	Dirofilariinae					**	
<i>Icosiella</i>	Filariinae	Icosiellinae	Icosiellinae				ONC 1	
<i>Setaria</i>	Dicheilonema	Setariinae	Setariinae				ONC 2	
<i>Dirofilaria</i>	Dirofilariinae	Dirofilariinae	Dirofilariinae	Dipetalonematidae			ONC 3	
<i>Foleyella</i>	Filariinae			Filariidae			Onchocercidae	ONC 5
<i>Loa</i>	Dirofilariinae			Dipetalonematidae				
<i>Pelecitus</i>	Aproctinae			Filariidae				
<i>Aproctella</i>	Splendofilariinae	Splendofilariinae	Splendofilariinae	Dipetalonematidae	Onchocercidae	ONC 5		
<i>Cardiofilaria</i>	Splendofilariinae			**				
<i>Madathamugadia</i>	**			*			*	
<i>Rumenfilaria</i>	*	*	*	*				
<i>Acanthocheilonema</i> ²	Dipetalonematinae	Onchocercinae	Onchocercinae	Dipetalonematidae	Onchocercidae	ONC 4		
<i>Breintia</i>	Dipetalonematinae					ONC 5		
<i>Brugia</i> ³	Dipetalonematinae					ONC 4		
<i>Cercopithifilaria</i>	*	*	*					
<i>Cruorifilaria</i>	*	*	*					
<i>Dipetalonema</i>	Dipetalonematinae	Onchocercinae	Onchocercinae	Dipetalonematidae	Onchocercidae			
<i>Litomosoides</i>								

<i>Loxodontofilaria</i> ²	Dipetalonematinae				ONC 3
<i>Mansonella</i>	Dipetalonematinae	**		**	ONC 5
<i>Monanema</i>	*	Onchocercinae		*	ONC 4
<i>Onchocerca</i>	Oncocercinae			Dipetalonematidae	ONC 3
<i>Macdonaldius</i>	Dipetalonematinae				**
<i>Yatesia</i>	*	*		*	ONC 4

¹Considerado sinónimo de *Foleyella* por Yamaguti (1961) y Anderson y Bain (1974); ²Considerados sinónimos de *Dipetalonema* por Yamaguti (1961); ³Considerado sinónimo de *Wuchereria*; * Descrita posterior al año de publicación; ** No incluida en el trabajo.

Considerando todo lo anterior, la inclusión de ejemplares norte y centroamericanos en los análisis filogenéticos cobra importancia, ya que su incorporación mejorará el entendimiento de la filogenia del grupo. Además, la implementación de análisis moleculares pueden representar un enfoque adecuado para alcanzar una taxonomía integrativa de las especies y por ende de las relaciones filogenéticas dentro de Onchocercidae (Ferri *et al.*, 2009). Para ello, se requiere el análisis de distintas regiones del DNA, pues algunos fragmentos como el 12S, pueden funcionar como marcadores adecuados para el estudio filogenético inter-específico; en el caso de los nematodos filarioideos, el análisis con dicho fragmento reconoce grandes grupos de especies o géneros, alcanzando mayor soporte en las ramas que con el fragmento *cox1* (Casiraghi *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2010). Así mismo, aunque la subunidad menor del rRNA presenta una región altamente conservada entre los organismos (Hadziavdic *et al.*, 2014) se ha utilizado exitosamente para identificación de nematodos a nivel específico (Floyd *et al.*, 2002; Floyd *et al.*, 2005). Por tanto, es preferible utilizar diversos marcadores moleculares para llevar a cabo análisis filogenéticos.

MATERIALES Y MÉTODOS:

• OBTENCIÓN DEL MATERIAL BIOLÓGICO

Los nematodos que se analizaron en este estudio provinieron de 3 fuentes: 1) obtenidos de vertebrados silvestres colectados para el presente estudio; 2) parásitos depositados en la Colección Nacional de Helmintos (CNHE), UNAM y 3) donación de material procedente de colecciones científicas y particulares. En cuanto a la primera fuente, se llevaron a cabo colectas en cuatro estados de la República Mexicana, en los sitios donde existen registros previos de oncocercidos (permisos de colecta FAUT-0170 y FAUT-0056 expedidos por la SEMARNAT, México). La muerte de los hospederos fue inducida mediante una sobredosis (0.1-0.5 mL) de tiletamina con zolazepam (Zoletil^R), acorde a los métodos autorizados para vertebrados en la NOM-033-SAG/ZOO-2014 (DOF, 2015). La disección se realizó mediante una incisión longitudinal en el abdomen (de cloaca a garganta en el caso de anfibios y reptiles; de ano a garganta en los murciélagos); se cortó el esternón para poder examinar la cavidad celómica y se extrajeron todos los órganos internos, con la finalidad de revisar entre los mismos. Además, se revisaron las cámaras del corazón, atendiendo a los reportes previos de sitios de infección (Anexo 5 y 6). Para su estudio morfológico, las filarias recuperadas fueron fijadas en formalina al 4% caliente (Lamothe-Argumedo, 1997) y en alcohol absoluto para su estudio molecular

(Alejos-Velázquez *et al.*, 2014). El material proveniente de la CNHE, fue tratado de acuerdo al medio de preservación en el que se encontraban depositados; los ejemplares preservados en líquido conservador de helmintos [compuesto por OH 96%:1350 mL, Glicerina: 0.0920 mL, Formol 0.143 mL y agua destilada: 0.415 mL (Lamothe-Argumedo, 1997)] o que habían pasado por formalina 4%, fueron lavados previamente con alcoholes sucesivos hasta absoluto antes de ser procesados para la obtención de datos moleculares.

- ANÁLISIS MORFOLÓGICO DE LOS EJEMPLARES

Para asegurar la precisa identificación de los nematodos obtenidos a partir de las colectas, éstos fueron aclarados con una mezcla de alcohol-glicerina (en proporción 2:1) y montados en este medio en preparaciones temporales para observarlos al microscopio óptico. Los ejemplares transparentados fueron fotografiados con una cámara AxioCamMRc5 acoplada al microscopio Zeiss Axio Zoom v.16 para fotografía multifocal del Laboratorio de Microscopia y Fotografía de la Biodiversidad (II) del IBUNAM.

Algunos ejemplares preservados en alcohol al 70%, fueron estudiados con Microscopia Electrónica de Barrido (MEB); para ello, se deshidrataron gradualmente con etanol y fueron secados a punto crítico con dióxido de carbono, para posteriormente ser montados en pedestales de metal y recubiertos con oro (Bertoni-Ruiz *et al.*, 2005). Los ejemplares fueron examinados usando un microscopio marca Hitachi modelo SU1510 del Laboratorio de Microscopia y Fotografía de la Biodiversidad (I) del IBUNAM.

- EXTRACCIÓN, AMPLIFICACIÓN Y SECUENCIACIÓN DE DNA

Se utilizaron tres kits comerciales de extracción de DNA: MasterPure Complete™, DNeasy Blood & Tissue Handbook de QIAGEN y Animal and Fungi DNA Preparation Kit de Jena Bioscience. Los procedimientos se llevaron a cabo de acuerdo al protocolo de cada kit, no obstante, en caso de haber modificaciones al mismo, se mencionan:

a) MasterPure Complete: Se siguió el protocolo *Formalin-Fixed, Paraffin- Embedded (FFPE) Tissues* sin modificaciones.

b) DNeasy Blood & Tissue Handbook de QIAGEN: Se utilizaron solamente 50 µL de Buffer AE y se dejó incubar la columna 20 minutos a temperatura ambiente antes de centrifugar para eluir. Este paso se repitió por duplicado en distintos tubos colectores para obtener dos alícuotas de DNA.

c) Animal and Fungi DNA Preparation Kit de Jena Bioscience: La centrifugación para precipitar el DNA y para eliminar el etanol, se realizó por 3 minutos a 15000 rpm.

Las amplificaciones fueron realizadas mediante el método de PCR, utilizando los primers

para *12S* (Casiraghi *et al.*, 2004), *cox1* (Prosser *et al.*, 2013), *28S* y *18S* (Lefoulon *et al.*, 2015), con perfiles térmicos específicos dependiendo de la longitud del fragmento a obtener (Anexo 3).

- SECUENCIACIÓN DE GENES

Los productos de la PCR fueron enviados al Laboratorio de Secuenciación Genómica de la Biodiversidad y de la Salud, del IBUNAM, para la obtención de las secuencias de DNA, mediante la utilización de un secuenciador de capilares.

- EDICIÓN DE SECUENCIAS

Las secuencias fueron editadas en el programa Geneious versión 10.2.2. Se eliminaron los extremos correspondientes a los primers en cada una y se ensamblaron para generar una secuencia consenso que fue inspeccionada visualmente para eliminar las posibles ambigüedades, asignando el residuo que contara con una calidad mayor en el electroferograma. Para corroborar la identidad a nivel familia y descartar posibles contaminaciones, se realizó un análisis BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) en la plataforma en línea (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) del U. S. National Institutes of Health. Para revisar la ausencia de codones de alto en los fragmentos genéticos codificantes (i.e. *cox1*), éstas fueron traducidas a proteínas en el portal EMBOSS Transeq (https://www.ebi.ac.uk/Tools/st/emboss_transeq/) del European Bioinformatics Institute.

- ALINEACIÓN DE SECUENCIAS

Para llevar a cabo el alineamiento se seleccionó el programa MAFFT. Dicho procedimiento se realizó en la versión 7 disponible en línea (<https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/index.html>). El alineamiento se efectuó con las secuencias obtenidas en el presente trabajo y las de los géneros de Onchocercidae disponibles en GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>), así como con las secuencias de los nematodos *Filaria latala* (Spirurida: Filariidae) y *Protospirura muricola* (Spirurida: Spiruridae) como grupos externos (Lefoulon *et al.*, 2015). Los números de acceso de GenBank se enlistan en el Anexo 4.

Se seleccionó la estrategia L-INS-i para el alineamiento, por presentar alta precisión considerando el número de terminales (<200) que conforman la matriz (Pais, *et al.*, 2014). El valor de PAM (Point Accepted Mutation) se calibró en 20, por corresponder a organismos relacionados entre sí, pero no tan estrechamente. El resto de los parámetros se utilizaron con las opciones *default*.

- SELECCIÓN DE MODELO EVOLUTIVO

El alineamiento de cada fragmento genético se analizó con el programa j-Modeltest (Versión 2.1.10 v20160303) (Posada, 2008) para obtener el modelo evolutivo más adecuado.

ANÁLISIS FILOGENÉTICO

- DISTANCIAS GENÉTICAS

Se calcularon las distancias p no corregidas del gen *cox1* en el programa MEGA7 (Kumar *et al.*, 2015).

- PARSIMONIA

A partir de la matriz concatenada de los cuatro fragmentos genéticos obtenidos (*cox1*, *12S*, *18S* y *28S*), se realizó el análisis mediante búsqueda tradicional heurística (Inicio de búsqueda con árbol de Wagner), con un tipo de búsqueda o perturbación de árboles Tree Bisection and Reconnection (TBR) en el programa TNT versión 1.5 (Goloboff *et al.*, 2008). Los *gaps* se consideraron como datos faltantes (*missing data*). Con base en los árboles obtenidos se construyó el árbol de consenso estricto y se calcularon los índices de consistencia y de retención. Los valores de soporte se calcularon con un análisis bootstrap standard de 1000 réplicas.

- VEROSIMILITUD MÁXIMA

El análisis se llevó a cabo en la interfaz raxmlGUI versión 1.5b1 (Silvestro y Michalak, 2012), utilizando la matriz concatenada de los cuatro fragmentos genéticos obtenidos (*cox1*, *12S*, *18S*, *28S*) bajo el parámetro GTRGAMMAI+ Γ . Los niveles de confiabilidad se establecieron con un análisis bootstrap de 1000 réplicas.

- INFERENCIA BAYESIANA

Se utilizó el programa MrBayes a través de la plataforma CIPRES (Miller *et al.*, 2010) para analizar la matriz concatenada de los genes. Se realizaron 40 millones de generaciones con 4 corridas y 4 cadenas. Las cuatro particiones se analizaron bajo el modelo evolutivo GTRGAMMAI+ Γ , con el fin de evitar la subparametrización. El *burn in* se estableció en 0.05 y se obtuvo el árbol de consenso. Se reportan los valores de probabilidad posterior.

RESULTADOS

OBTENCIÓN DEL MATERIAL BIOLÓGICO

Se realizaron cuatro colectas:

- a) Del 24 de febrero al 1° de marzo de 2017: Colecta en la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, (EBTLT) (18°37'17"N, 95°05'35"W) y en las inmediaciones del Lago de Catemaco (18°22'25.0" N, 95°06'15.5"W), Veracruz, México
- b) Del 10 al 13 de marzo de 2017: Colecta en Huajintlán, Tlaquiltenango y el Salitre, Morelos, México, (18°36'50.0"N, 98°34'19.0"W).
- c) Del 8 al 14 de abril de 2017: Colecta en la EBTLT.
- d) 26 de febrero de 2018: Colecta en la Laguna de Coyuca, Guerrero (16°56'35"N; 100°00'32"W).

Los hospederos y los sitios de colecta se enlistan en el Anexo 5. En el Anexo 6 se enlistan los hospederos preservados en etanol 70% procedentes del Laboratorio de Herpetología del IBUNAM, que fueron examinados. De los 157 hospederos revisados, 19 se encontraron parasitados, pudiéndose recuperar 79 ejemplares de filarias.

El material de la CNHE y el obtenido a través de donaciones de colecciones científicas y particulares, se muestra en el Anexo 5.

IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA

Las filarias obtenidas fueron determinadas a nivel de género con el uso de literatura especializada, la cual es referida en cada ficha. Las características morfológicas que permitieron su reconocimiento se muestran en el siguiente apartado. Así mismo, se enumeran los ejemplares a partir de los cuales se obtuvieron las secuencias genéticas para el análisis filogenético, la clave del ejemplar en los árboles resultantes está conformada por: Género de oncocercido, Localidad, Número de hospedero-Número de filaria. Las secuencias de DNA serán depositadas en el repositorio GenBank previo a la publicación del artículo científico, por lo que aún no se cuenta con número de acceso para las mismas.

Oswaldofilarinae Chabaud y Choquet, 1953

***Piratuba* Lent y Freitas, 1941**

Diagnosis: Cuerpo corto con cutícula estriada longitudinalmente. Boca simple con cápsula bucal rudimentaria. Esófago dividido en dos partes, una anterior muscular y una posterior, glandular. Hembras anfidelfas con la vulva situada a medio cuerpo y ovijector largo, con la cauda digitiforme, vivíparas. Los machos con la extremidad posterior digitiforme, con 10 a 11 pares de papilas, sin gubernáculo; espículas iguales, no filiformes. Parásitos de lagartijas (Anderson y Bain, 1974). Los ejemplares encontrados en *Anolis uniformis* (de la EBTLT) se identificaron como *Piratuba* debido a que poseen útero anfidelfo a lo largo del cuerpo (Lámina I.b) y a que la vagina es larga (Lámina I.c); las espículas de tamaño similar con el borde fuertemente esclerizado (Lámina I.e) y la posición del testículo alcanzando el nivel del anillo nervioso (Lámina I.f) son caracteres que corroboran la identificación. De la misma manera, se confirmó la identificación a nivel genérico del material con número de catálogo CNHE (8520), por poseer cuerpo corto (Lámina II.a), el esófago claramente dividido (Lámina II.b), útero anfidelfo rodeando el esófago (Lámina II.c) así como por las espículas cortas, esclerotizadas y de tamaño similar (Lámina II.f). Los ejemplares depositados en la CNHE (8562) provenientes de Costa Rica corresponden al género por presentar ovarios anfidelfos rodeando el esófago (Lámina III.c), cauda digitiforme (Lámina III.e) espículas fuertemente esclerotizadas y similares entre sí en tamaño y forma (Lámina III.f). Además, el testículo alcanza el nivel del anillo nervioso (Lámina III.d).

Hospedero: *Anolis uniformis*

Localización en el hospedero: Cavidad corporal

Localidad: Camino Darwin, Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, Veracruz, México

Fecha de colecta: 11 abril 2017

Número de Catálogo: CNHE 10931

Individuos con secuencias genéticas (Clave de ejemplar: Fragmentos obtenidos):

Piratuba sp. Veracruz 18-1: *cox1*, 12S, 18S, 28S; *Piratuba* sp. Veracruz 18-2: 12S, 18S, 28S.



LÁMINA I. *Piratuba* sp. CNHE 10931

- a) Hembra (8.6X); b) Macho (10.3X); c) Útero alcanzando la extremidad anterior (24X), detalle de la vagina (40X) en el recuadro; d) Testículo alcanzando el anillo nervioso (56X) an: anillo nervioso, t: testículo, eg: esófago glandular; e) Cauda espiralada (56X); f) Detalle de las espículas y papilas (220X)

Hospedero: *Anolis uniformis*

Localización en el hospedero: Mesenterio

Localidad: Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz, México

Fecha de colecta: Septiembre 2006

Número de Catálogo: CNHE 8520

No se obtuvieron secuencias genéticas.

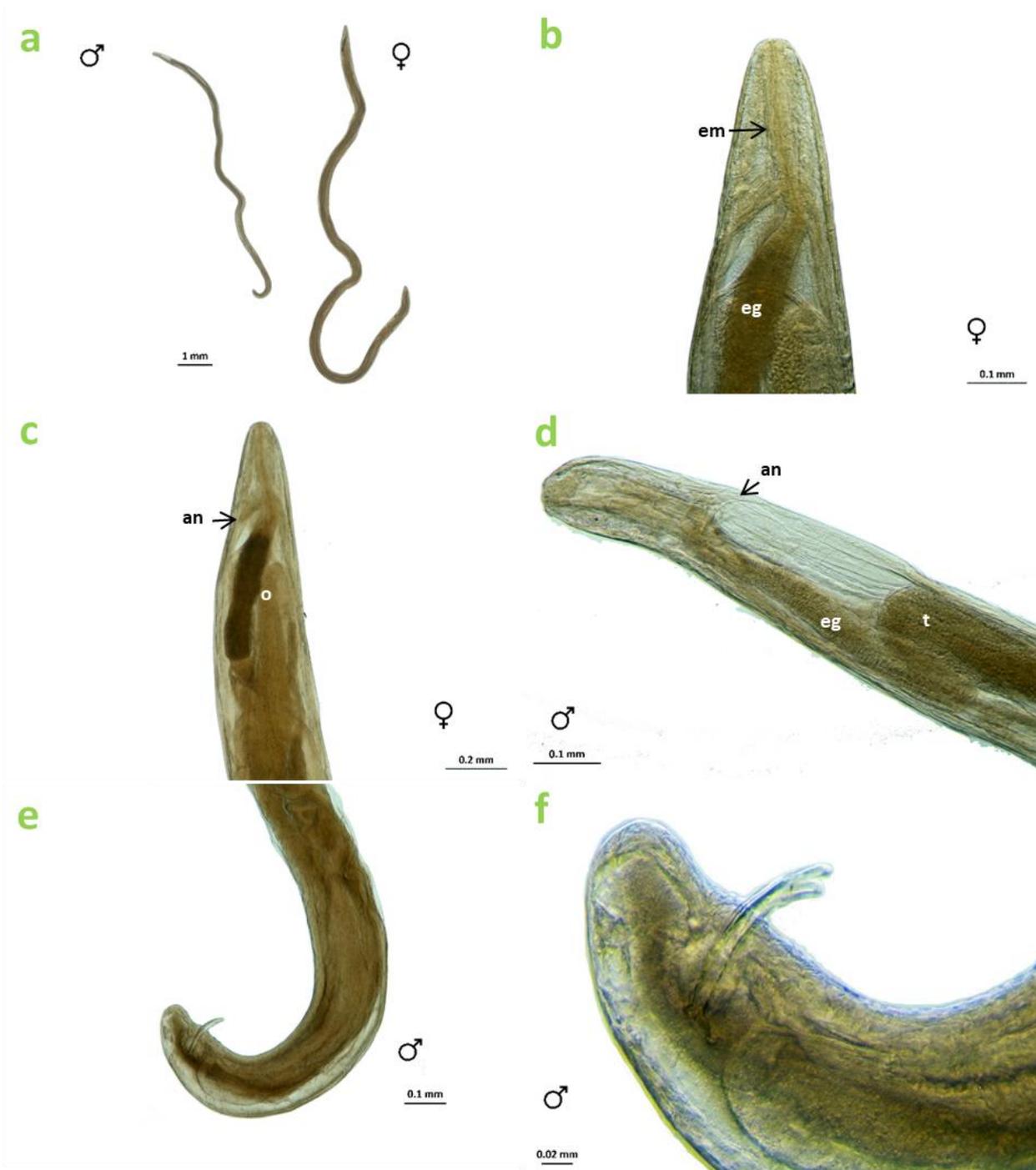


LÁMINA II. *Piratuba* sp. CNHE 8520

a) Ejemplares completos (5.9X); b) Esófago muscular (em) y glandular (eg) (101X); c) Ovario alcanzando el esófago, an: anillo nervioso, o: ovario (52X); d) Testículo alcanzando el esófago glandular, an: anillo nervioso, t: testículo, eg: esófago glandular (111X); e) Región caudal (68X); f) Espículas cortas y esclerotizadas (260X)

Hospedero: *Holcosus undulatus*

Localización en el hospedero: Mesenterio

Localidad: Guanacaste, Costa Rica

Fecha de colecta: 13 Noviembre 2002

Número de Catálogo: CNHE 8562

Individuos con secuencias genéticas (Clave de ejemplar: Fragmentos obtenidos):

Piratuba sp. Guanacaste: 12S, 18S

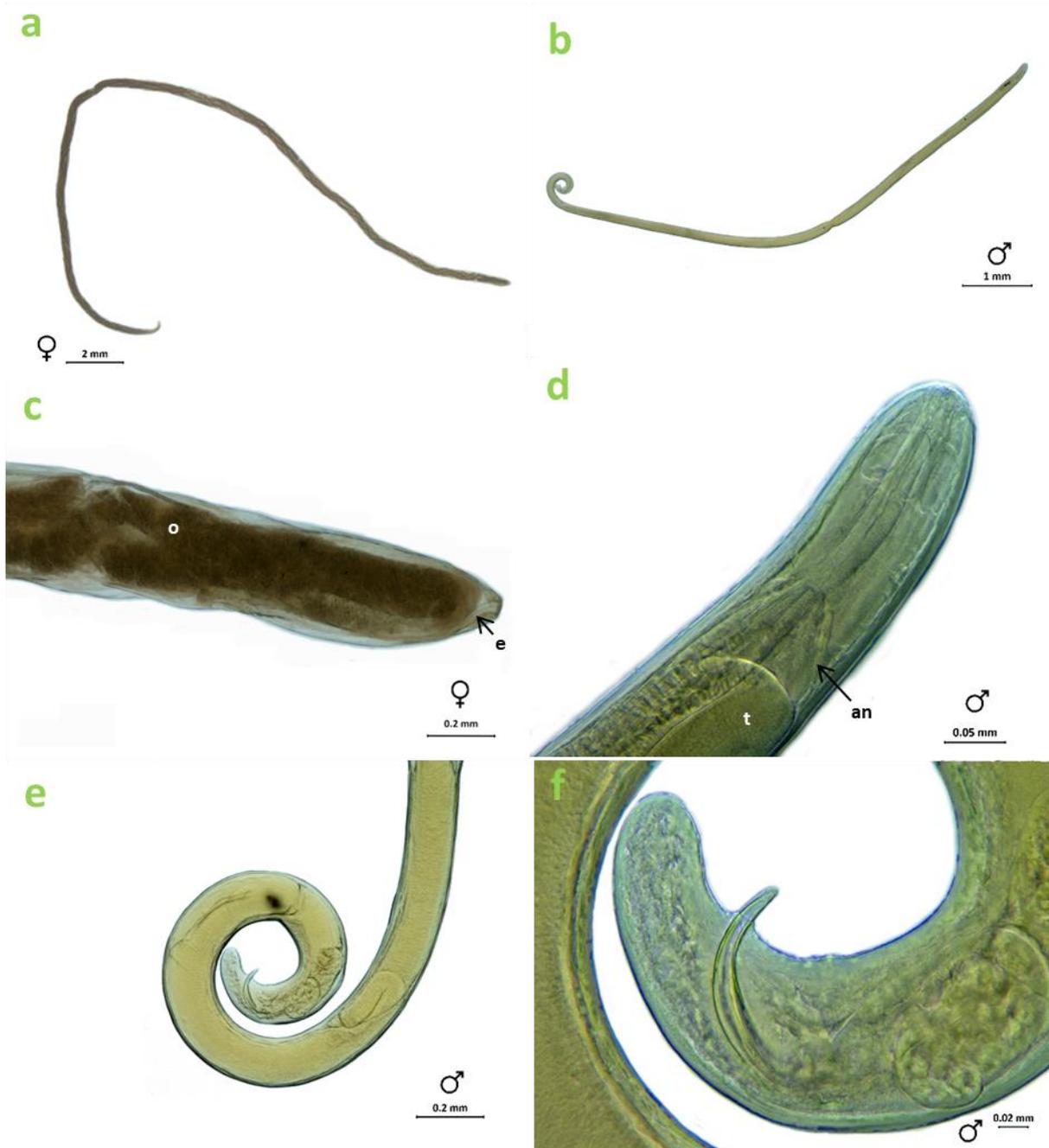


LÁMINA III. *Piratuba* sp. CNHE 8562

a) Hembra (4.8X); b) Macho (11X); c) Útero rodeando el esófago (56X) o: ovario, e: esófago; d) Testículo alcanzando el anillo nervioso (184X) t: testículo, an: anillo nervioso; e) Cauda espiralada (56X); f) Espículas (245X)

Waltonellinae Bain y Prod'hon, 1974

***Foleyellides* Caballero, 1935**

Diagnosis: Región cefálica con un par de estructuras paraestomales parecidas a aletas. Cuatro pares de papilas sensoriales cefálicas submediales, papilas externas ensanchadas en la base, con una proyección ligeramente distal. Cápsula bucal cuticularizada ausente. Presencia de alas laterales y caudales en ambos sexos. Esófago dividido, la región muscular anterior es más corta que la región glandular posterior que es más larga y ancha. La cutícula de la región media del cuerpo carece de bandas anulares de protuberancias cuticulares (“bosses”) orientadas longitudinalmente. La vulva abre en la región de la unión esófago-intestino. Parásitos de anfibios anuros, principalmente Ranidae (Esslinger, 1986a; Gibbons, 2010). La identificación de los ejemplares de *Foleyellides* Romero-Mayén y León-Règagnon, 2016 con número de catálogo CNHE (10207) se corroboró con base en la presencia de ala caudal en el macho, así como de cinco pares de papilas caudales mamiliformes y espículas filiformes y desiguales en tamaño (Lámina IV. a, b). Así mismo, se observó el área rugosa en la parte ventral (Lámina IV.a). Los ejemplares de *Lithobates megapoda* con número CNHE (9081) y los ejemplares de *L. forreri* con número CNHE (7655), se reconocieron como pertenecientes al género por presentar aletas laterales y caudales, cuatro pares de papilas caudales y espículas filiformes (Láminas V.a, b y VI.f). La vulva se observó en la región anterior del cuerpo (Lámina VI.d).

Hospedero: *Lithobates pustulosus*

Localización en el hospedero: Mesenterio

Localidad: S. carretera Barranca del Oro, Pte. Barranqueno, Nayarit

Fecha de colecta: Junio 2009

Número de Catálogo: CNHE 10207

Individuos con secuencias genéticas (Clave de ejemplar: Fragmentos obtenidos): *Foleyellides* sp. Morelos 38-1: *cox1*, 12S, 28S; *Foleyellides* sp. Guerrero 46-2: 12S, 28S; *Foleyellides* sp. Oaxaca 48-1: *cox1*, 12S, 18S, 28S; *Foleyellides* sp. Michoacán 50-1: *cox1*, 12S, 18S, 28S; *Foleyellides* sp. Michoacán 51-1: *cox1*, 12S, 18S, 28S; *Foleyellides* sp. Estado de México 55-1: *cox1*, 12S, 18S, 28S

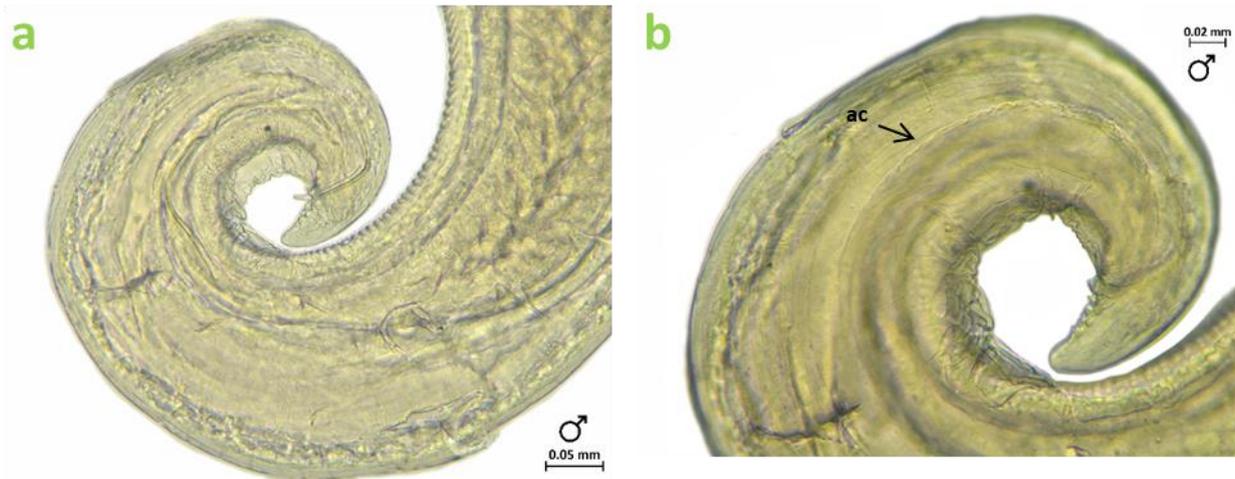


LÁMINA IV. *Foleyellides* sp. CNHE 10207

a) Cauda mostrando las espículas (152X); b) Ala caudal (ac) (260X)

Hospedero: *Lithobates forreri*

Localización en el hospedero: Cavidad corporal

Localidad: Guanacaste, Costa Rica

Fecha de colecta: 6 abril 2004

Número de Catálogo: CNHE7655

No se obtuvieron secuencias genéticas.

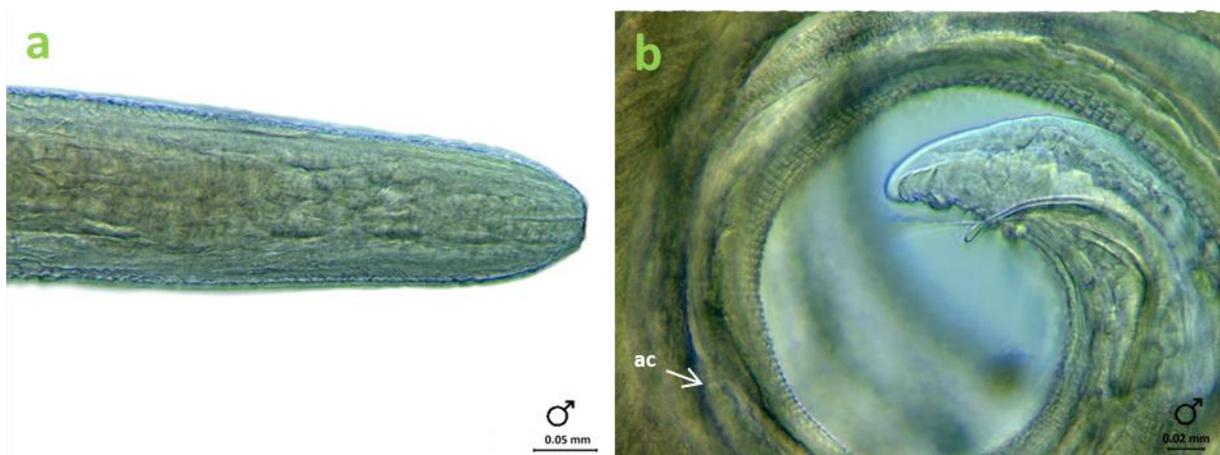


LÁMINA V. *Foleyellides* sp. CNHE7655

a) Región anterior mostrando aletas laterales (180X); b) Región caudal con ala y espículas filiformes (260X)

Hospedero: *Lithobates megapoda*

Localización en el hospedero: Cavidad y mesenterio

Localidad: Ocotlán, Lago de Chapala, Jalisco

Fecha de colecta: Agosto 2012

Número de Catálogo: CNHE 9081

Individuos con secuencias genéticas (Clave de ejemplar: Fragmentos obtenidos): *Foleyellides* sp. Jalisco: 12S, 28S

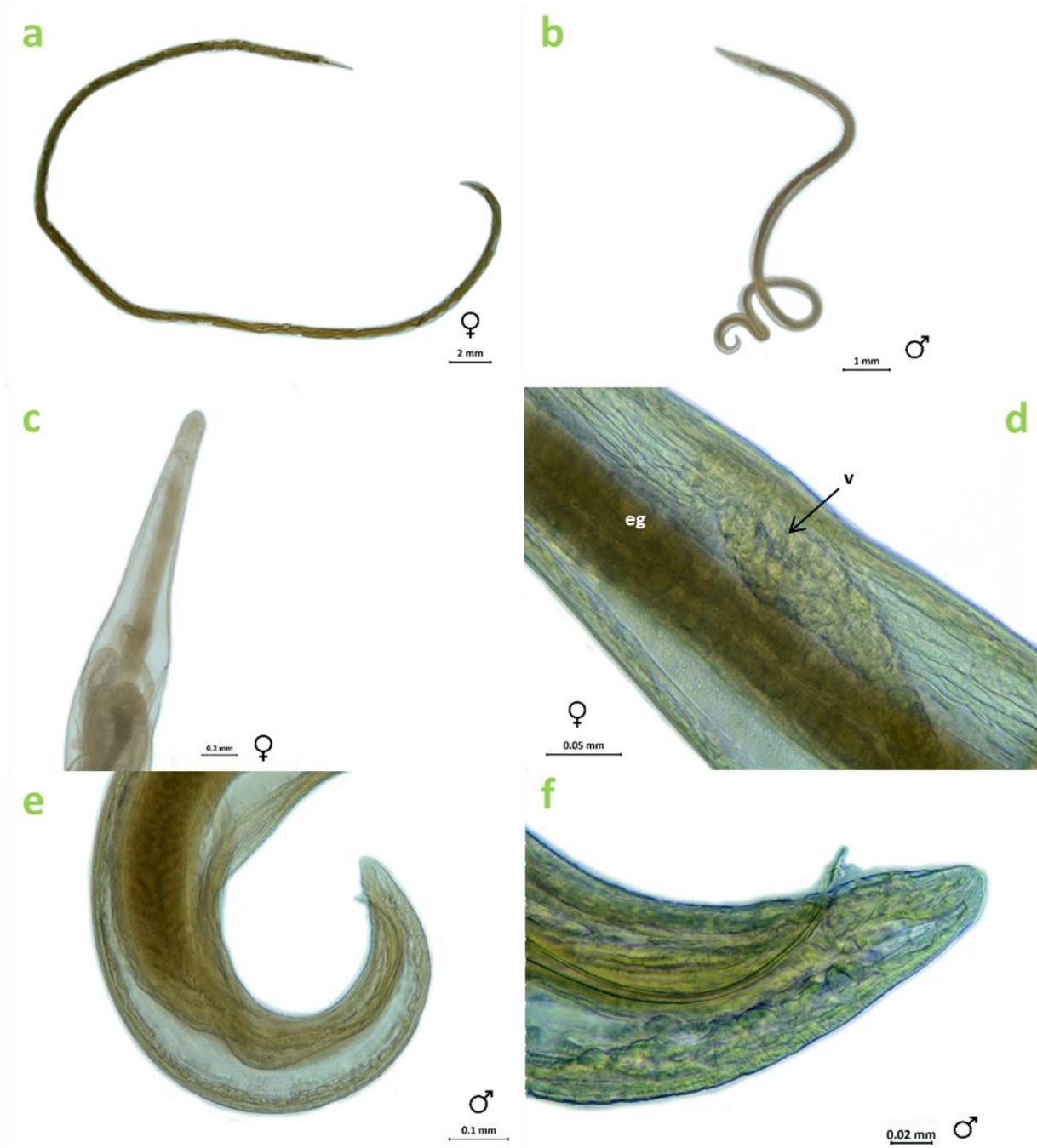


LÁMINA VI. *Foleyellides* sp. CNHE 9081

a) Hembra completa (3.5X); b) Macho completo (7.9X); c) Porción anterior de hembra madura (40X); d) Vulva en región esofágica en hembra inmadura (245X), v: vulva, eg: esófago glandular; e) Cauda (100X); f) Espículas filiformes (260X)

***Ochoterenella* Caballero, 1944**

Diagnosis: En éste género la cutícula posee bandas anulares diminutas, orientadas longitudinalmente, excepto en las extremidades. La mitad anterior del cuerpo es más ancha que la parte posterior, la cual es digitiforme. Con un par de estructuras cuticulares parecidas a un ala, posicionadas cerca de la boca. La placa cefálica se encuentra en el eje lateral y no en el eje dorsoventral. Posee cuatro pares de papilas cefálicas submediales, con un ligero desplazamiento distal. Ala lateral ausente. Macho con ala caudal ausente y papilas caudales mamiliformes. Espículas desiguales y disimilares, gubernáculo ausente. Hembras con un tamaño corporal de dos a dos veces y medio el tamaño del macho, con la apertura de la vulva en la región glandular del esófago; anfíelfas. Microfilarias sin vaina. Parásitos de anfibios anuros, principalmente en bufónidos neotropicales (Yamaguti, 1961; Anderson y Bain, 1974; Esslinger, 1986b; Gibbons, 2010). Las hembras encontradas en *Rhinella horribilis* (colectados en Catemaco, Ver.) coincidieron con la diagnosis del género en la posición de la vulva (Lámina VII.a, b) y la terminación de la cauda (Lámina VII.c), así como por la presencia del esófago glandular más de dos veces el ancho que el muscular (Lámina VII.d). A su vez, el macho posee placa córnea previa a las papilas caudales, las cuales se distribuyen de la siguiente manera: un par precloacal y tres pares postcloacales, el par final cercano a la punta de la cauda (Lámina VII.e). Tanto el macho como la hembra carecen de alas laterales. Los ejemplares obtenidos en los sapos (*R. horribilis*) de la Laguna de Coyuca, Gro., se asignaron al género por carecer de aleta lateral (Lámina VIII.c), por poseer espículas disimilares en tamaño y forma, con la derecha midiendo 0.13454 mm de longitud y la espícula izquierda 0.21483 mm de longitud, lo cual corresponde con los intervalos dados por Esslinger (1987) en la redescipción de la especie tipo del género (Lámina VIII.f). La disposición y número de las papilas cefálicas y los anfídios (Lámina VIII.d, e), corresponde también al género *Ochoterenella*. Los organismos con número CNHE (10249) presentaron el par de estructuras parastomales (Lámina IX.a), útero rodeando el esófago glandular y la vulva en dicha región (Lámina IX.b).

Hospedero: *Rhinella horribilis*

Localización en el hospedero: Cavity corporal

Localidad: Las Lajas, Catemaco, Veracruz, México

Fecha de colecta: 27 febrero 2017

Número de Catálogo: CNHE 10929

Individuos con secuencias genéticas (Clave de ejemplar: Fragmentos obtenidos): *Ochoterenella* sp. Veracruz 1-1: *cox1*, 12S, 18S, 28S; *Ochoterenella* sp. Veracruz 1-2: 12S, 18S, 28S; *Ochoterenella* sp. Veracruz 4-1: *cox1*, 12S, 18S, 28S; *Ochoterenella* sp. Veracruz 4-2: *cox1*, 12S, 28S; *Ochoterenella* sp. Veracruz 4-3: *cox1*, 12S, 18S, 28S

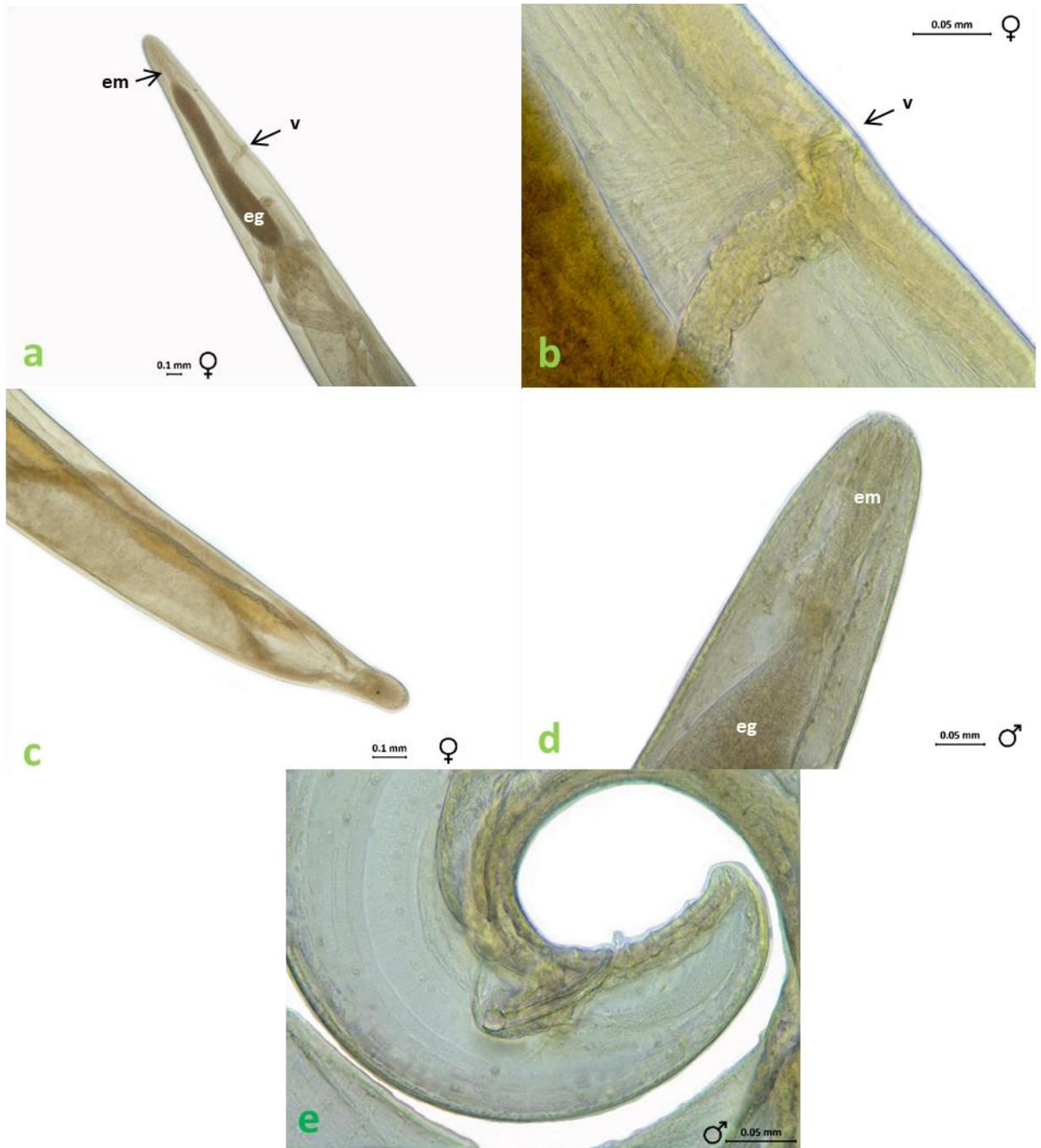


LÁMINA VII. *Ochoterenella* sp. CNHE 10929

a) Región anterior (24X); b) Detalle de la vulva en región esofágica (260X); c) Región caudal (56X); d) Esófago muscular y glandular (164X); e) Papilas caudales y espicula derecha (235X)

Hospedero: *Rhinella horribilis*

Localización en el hospedero: Cavidad corporal

Localidad: Laguna de Coyuca, Guerrero, México

Fecha de colecta: 26 febrero 2018

Número de Catálogo: CNHE 10930

Individuos con secuencias genéticas (Clave de ejemplar: Fragmentos obtenidos): *Ochoterenella* sp. Guerrero 12-1: 12S, 18S; *Ochoterenella* sp. Guerrero 16-1: *cox1*, 12S, 18S, 28S; *Ochoterenella* sp. Guerrero 24-1: 12S, 18S, 28S; *Ochoterenella* sp. Guerrero 24-2: *cox1*, 12S, 18S, 28S; *Ochoterenella* sp. Guerrero 26-1: *cox1*, 12S, 18S, 28S; *Ochoterenella* sp. Guerrero 26-2: 12S, 18S, 28S

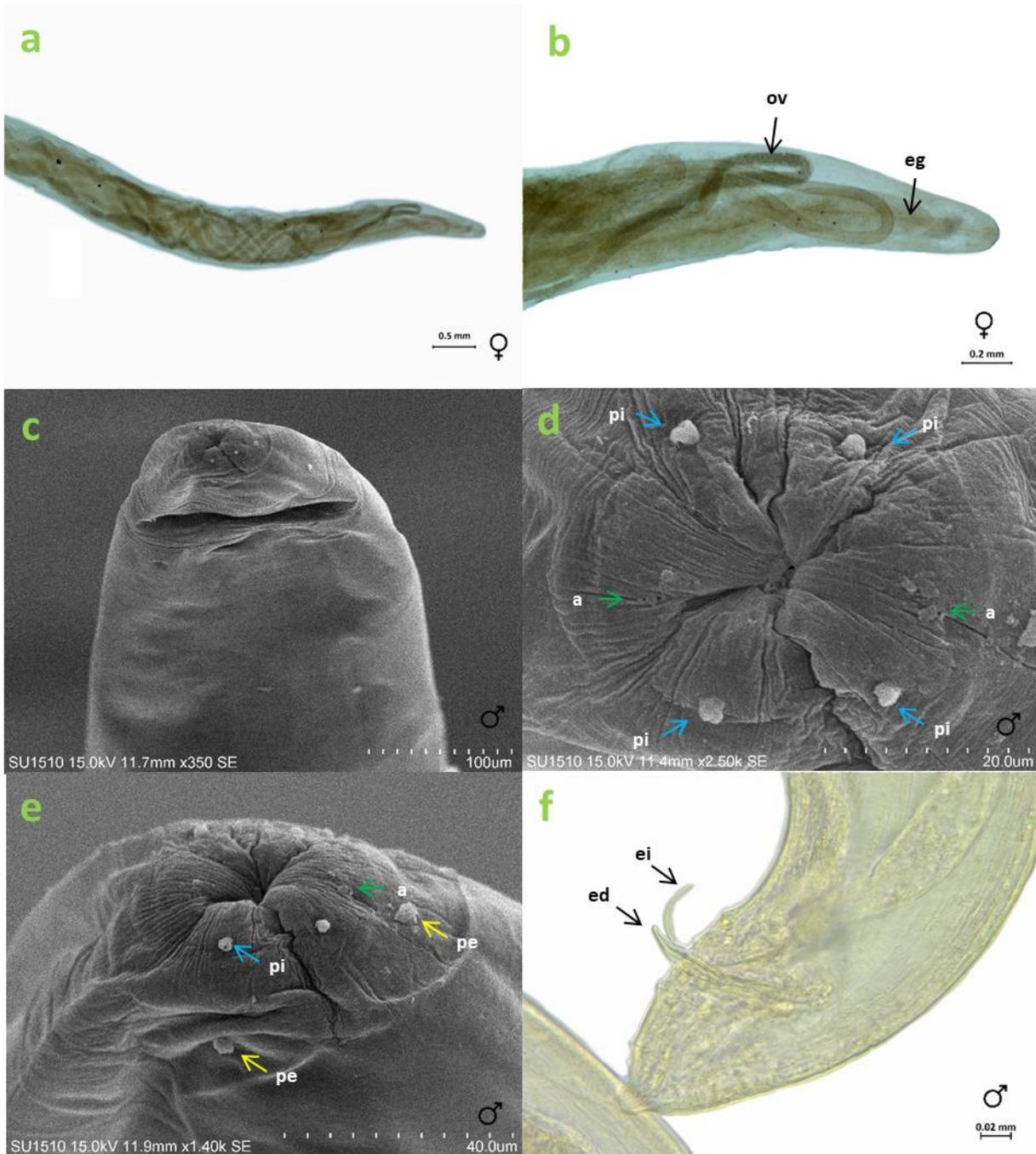


LÁMINA VIII. *Ochoterenella* sp. CNHE 10930

a) Región anterior (14.2X); b) Oviducto (ov) alcanzando la región esofágica, eg: esófago glandular (42X); c) Región cefálica mostrando ausencia de aleta lateral (350X); d) Papilas cefálicas internas (pi) y anfidios (a) (2500X); e) Papilas cefálicas externas (pe) e internas (pi), a: anfidios (1400X); f) Espícula derecha (ed) y espícula izquierda (ei) (260X)

Hospedero: *Rhinella horribilis*

Localización en el hospedero: Cavidad corporal

Localidad: Naranjal San Felipe, Orizatlán, Hidalgo, México

Fecha de colecta: 2015

Número de Catálogo: CNHE 10249

No se obtuvieron secuencias genéticas.

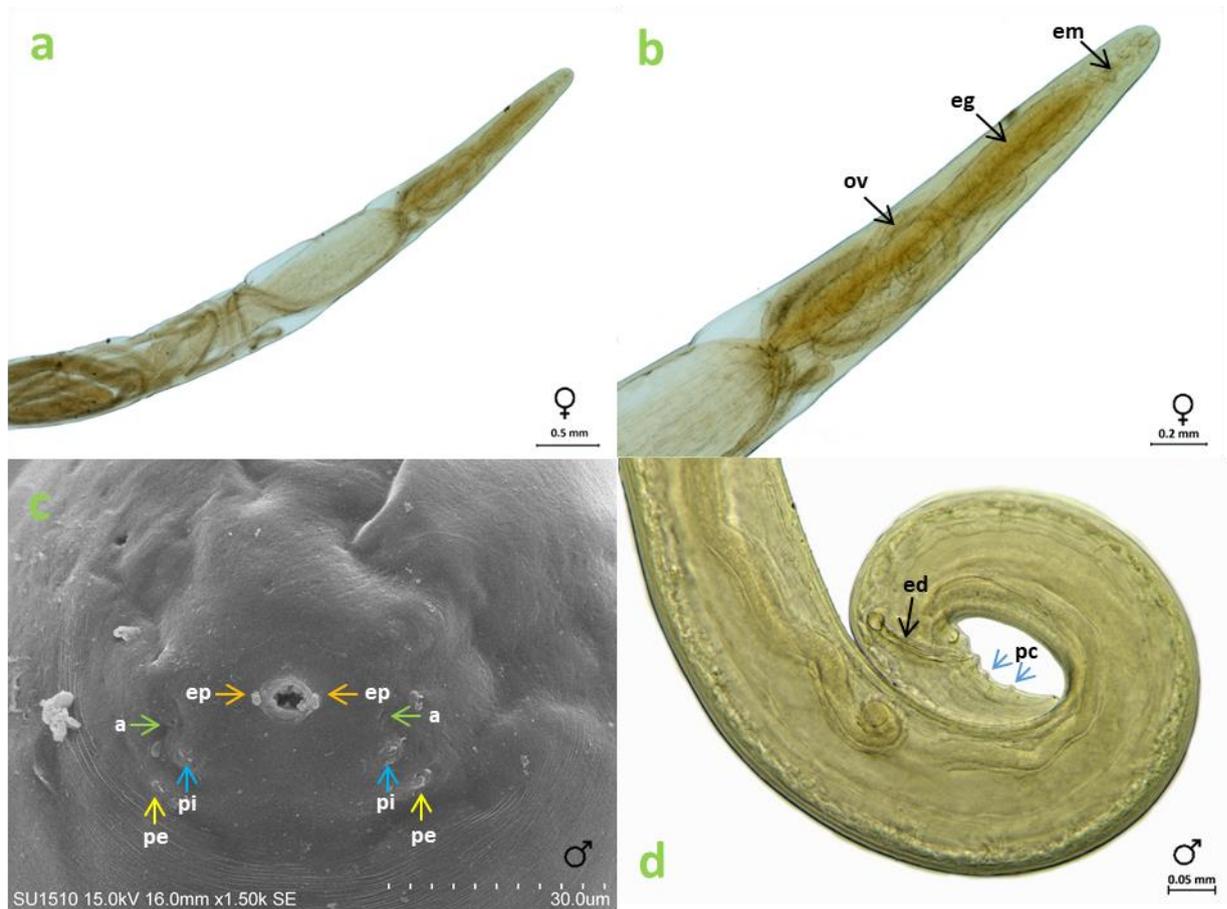


LÁMINA IX. *Ochoterenella* sp. CNHE 10249

a) Región anterior (17.8X); b) Oviducto (ov) rodeando el esófago glandular (eg), em: esófago muscular (40X); c) Región oral mostrando las estructuras parastomales (ep), a: anfidios, pi: papilas internas, pe: papilas externas (1500X); d) Región caudal, ed: espicula derecha, pc: papilas caudales (134X)

Dirofilariinae Sandground, 1921

***Pelecitus* Railliet y Henry, 1910**

Diagnosis: Adultos parásitos del tejido conjuntivo (generalmente fibroso) de sus hospederos. Cuerpo redondeado en ambos extremos. Cutícula provista de estrías transversales; protuberancias y estrías longitudinales ausentes. Presencia de alas laterales bien desarrolladas desde la región cefálica hasta el extremo distal del cuerpo. Boca simple, sin labios. Anillo cuticular presofágico presente o ausente. Extremidad anterior redondeada, provista con un par de papilas laterales y de dos a cuatro pares de papilas submediales. Esófago angosto, cilíndrico, que puede o no estar dividido en dos partes. De uno a dos deiridios posteriores dentro del ala en la mitad posterior del cuerpo. Espículas cortas, delgadas y desiguales, con proyecciones cuticulares a ambos lados de la cauda. En hembras la cauda es redondeada, con un par o dos de papilas pedunculadas. La vulva puede encontrarse en la región pre o post esofágica. El ovoyector es simple y los huevos son ovoides. Las microfilarias presentan ambos extremos ligeramente redondeados, el cuerpo acintado de un tercio a un quinto hacia el extremo distal. Vaina presente (Yamaguti, 1961; Anderson y Bain, 1974; Barlett y Greiner, 1986; Jiménez-Ruiz *et al.*, 2004; Gibbons, 2010). Asignamos a los ejemplares provenientes de *Sylvilagus floridanus* a este género porque presentaron anillo quitinoso preesofágico (Lámina X. c), alas laterales (Lámina X.d, e), los machos poseen proyecciones cuticulares a ambos lados de la cauda, así como cuatro pares de papilas pedunculadas (Lámina X.f). La vulva es prominente y se encuentra en la región esofágica (Lámina X.d, e). Así mismo, los ejemplares de *Caracara cheriway* también presentaron alas laterales a lo largo de todo el cuerpo y alas caudales (Lámina XI.a,b); la vulva es prominente y se encuentra en la región esofágica (Lámina XI.c). Las microfilarias encontradas en el corte histológico de tejido conjuntivo del *C. cheriway* presenta los extremos redondeados y el cuerpo acintado (Lámina XI.d).

Hospedero: *Sylvilagus floridanus*

Localización en el hospedero: Nódulos en la base de las orejas

Localidad: San Miguel Soyaltepec, Oaxaca, México

Fecha de colecta: Febrero 2015

Número de Catálogo: CNHE 10932

Individuos con secuencias genéticas (Clave de ejemplar: Fragmentos obtenidos): *Pelecitus* sp. Oaxaca 1: *cox1*, *12S*, *18S*, *28S*; *Pelecitus* sp. Oaxaca 2: *cox1*, *12S*, *18S*, *28S*

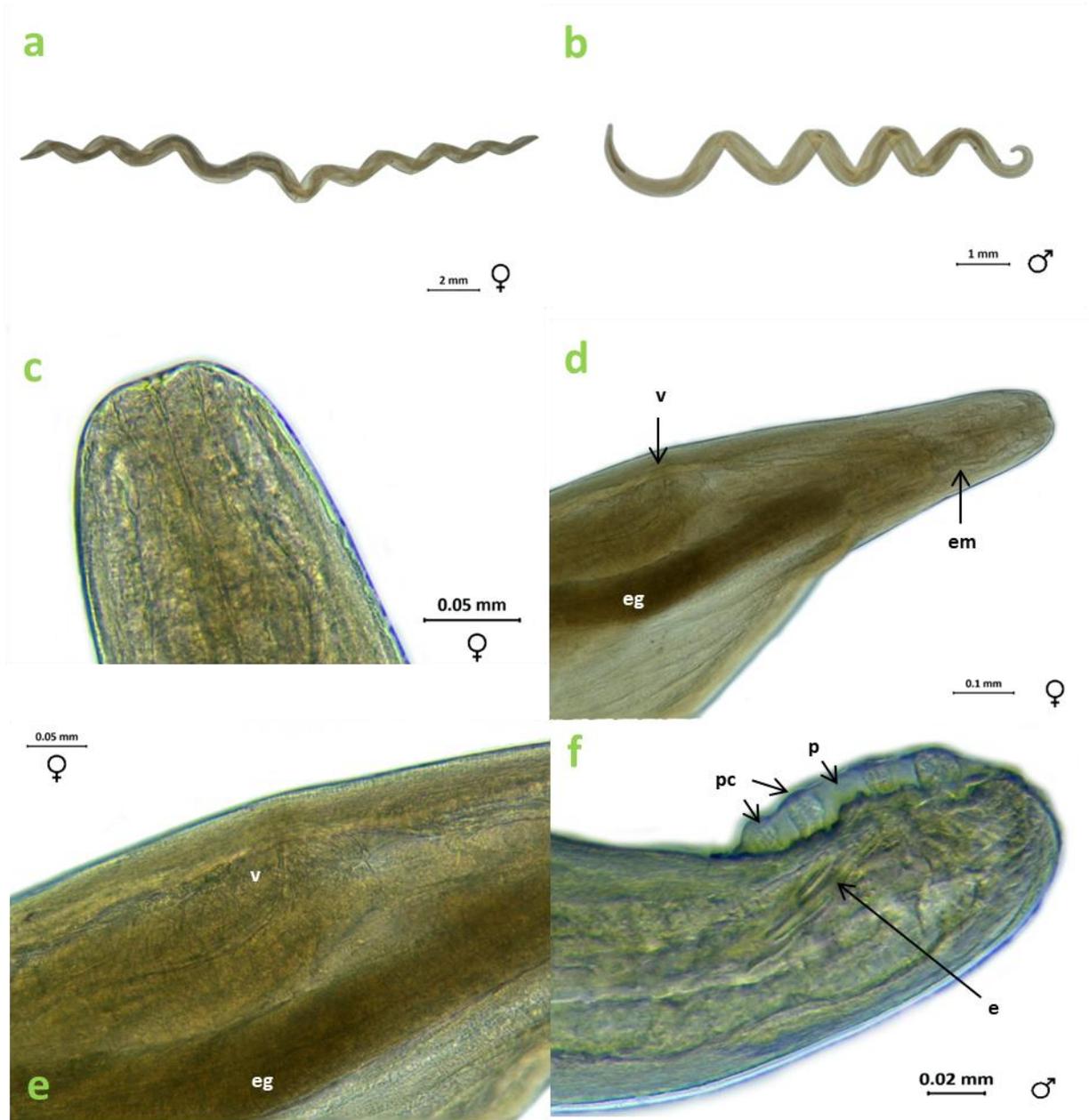


LÁMINA X. *Pelecitus* sp. CNHE 10932

a) Hembra (3.9X); b) Macho (7.5X); c) Anillo quitinoso preesofágico (188X); d) Región anterior mostrando la posición de la vulva (v), em: esófago muscular, eg: esófago glandular (98X); e) Vulva en la región esofágica, v: vulva, eg: esófago glandular (188X); f) Papilas caudales pedunculadas (pc), p: proyección cuticular, e: espículas (260X)

Hospedero: *Caracara cheriway*

Localización en el hospedero: Nódulos en articulaciones

Localidad: No disponible (ND)

Fecha de colecta: No disponible

Número de Catálogo: CNHE 10420-22.

Individuos con secuencias genéticas (Clave de ejemplar: Fragmentos obtenidos): *Pelecitus* sp. ND 1: *cox1*, 12S, 18S, 28S; *Pelecitus* sp. ND 2: 12S, 18S, 28S

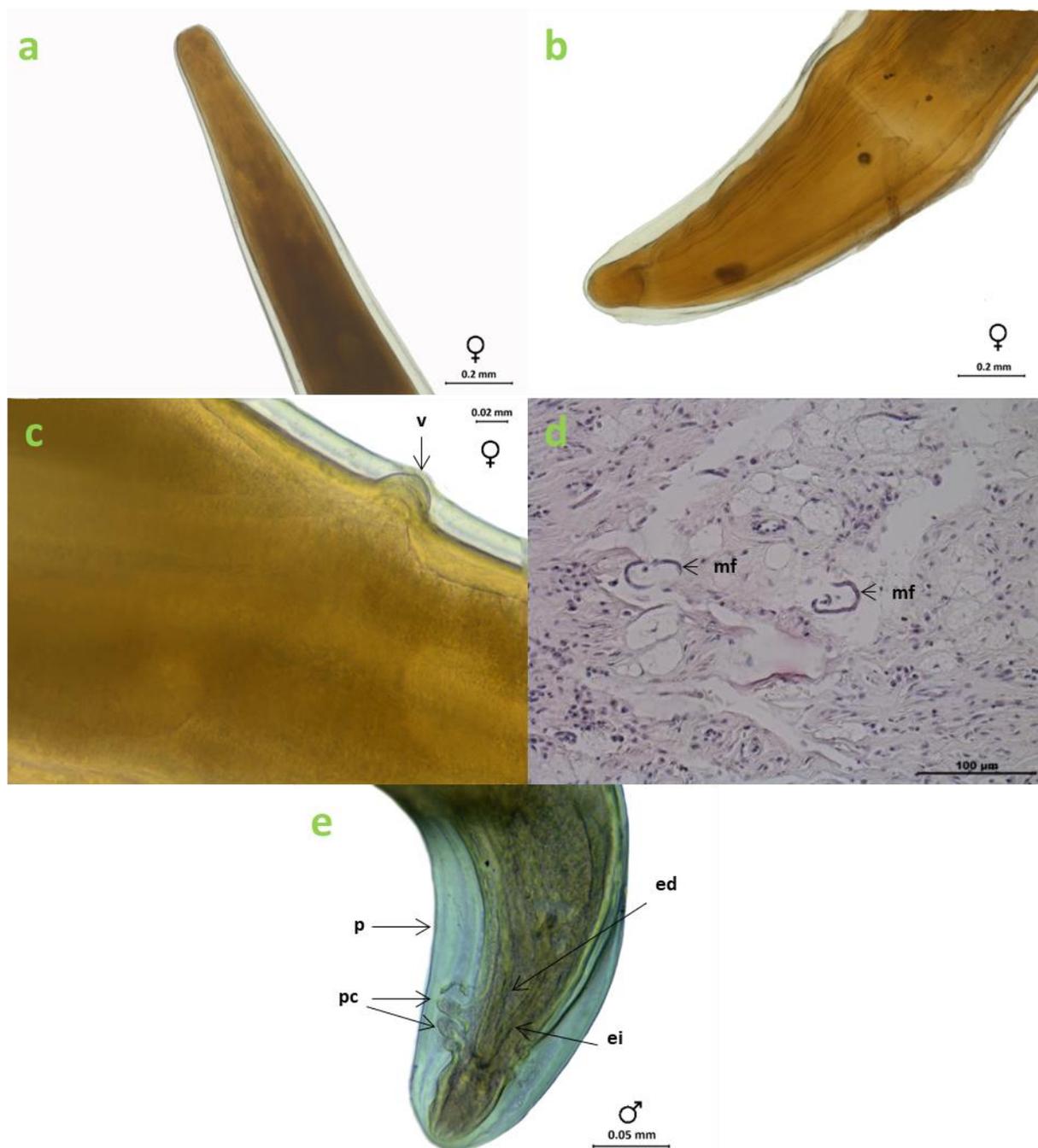


LÁMINA XI. *Pelecitus* sp. CNHE 10420-10422

a) Región anterior mostrando las alas laterales (56X); b) Región caudal mostrando las alas (56X); c) Vulva prominente (v) (260X); d) Microfilarias (mf) en tejido conjuntivo E-H (40X); e) Cauda mostrando papilas pedunculadas (pc), p: proyección cuticular, ed: espícula derecha, ei: espícula izquierda (205X)

Onchocercinae Leiper, 1911

***Litomosoides* Chandler, 1931**

Diagnosis: Cuerpo atenuado en la región anterior; la región cefálica adelgazada en vista lateral y frecuentemente redondeada en la parte media. Boca diminuta, ligeramente deprimida. Presentan largos canales de los anfidios. La cápsula bucal frecuentemente está compuesta de partes cuticularizadas (Guerrero *et al.*, 2002). Éste género se diferencia de otros oncocércidos por la estructura del estoma, que puede ser triangular (con el ápice dirigido anteriormente) o cilíndrico (con las paredes largas y cuticularizadas); dicha estructura también es característica importante para distinguir entre especies de *Litomosoides* (Brand y Gardner, 2000). En el caso de los ejemplares que colectamos en los quirópteros, el estoma cilíndrico y cuticularizado (Lámina XII.a y Lámina XIII.c) corresponde con la diagnosis del género. De acuerdo con Guerrero *et al.* (2002), el género presenta un área rugosa que inicia anteriormente a la abertura cloacal y se extiende más allá de la región enrollada de la cola, siempre compuesta por bandas transversales de crestas cortas longitudinales y cuticularizadas, caracter que fue encontrado en los ejemplares obtenidos de los murciélagos examinados (Lámina XII.b Lámina XIII.f); asimismo, estos autores señalan que la espícula derecha es fuertemente quitinizada en la región distal con un gancho o capucha en la región dorsal subterminal, rasgo que presentan los ejemplares colectados en los murciélagos (Lámina XII.c y Lámina XIII.f). Los ejemplares provenientes de la tuza *Pappogeomys tylorhynus* se asignaron al género por presentar el cuerpo atenuado en la región anterior y la región cefálica redondeada en la parte media (Lámina XIV.a,c), así como por la posición de la vulva en la región esofágica (Lámina XIV.b) y la presencia de área rugosa en el macho (Lámina XIV.d).

Hospedero: *Glossophaga soricina*

Localización en el hospedero: Cavidad corporal

Localidad: Cueva Huajintlan, Amacuzac, Morelos

Fecha de colecta: Marzo 2017

Número de Catálogo: CNHE 10933

Individuos con secuencias genéticas (Clave de ejemplar: Fragmentos obtenidos): *Litomosoides* sp. Morelos 26-1: *cox1*, 12S, 18S, 28S; *Litomosoides* sp. Morelos 26-2: 12S, 18S, 28S

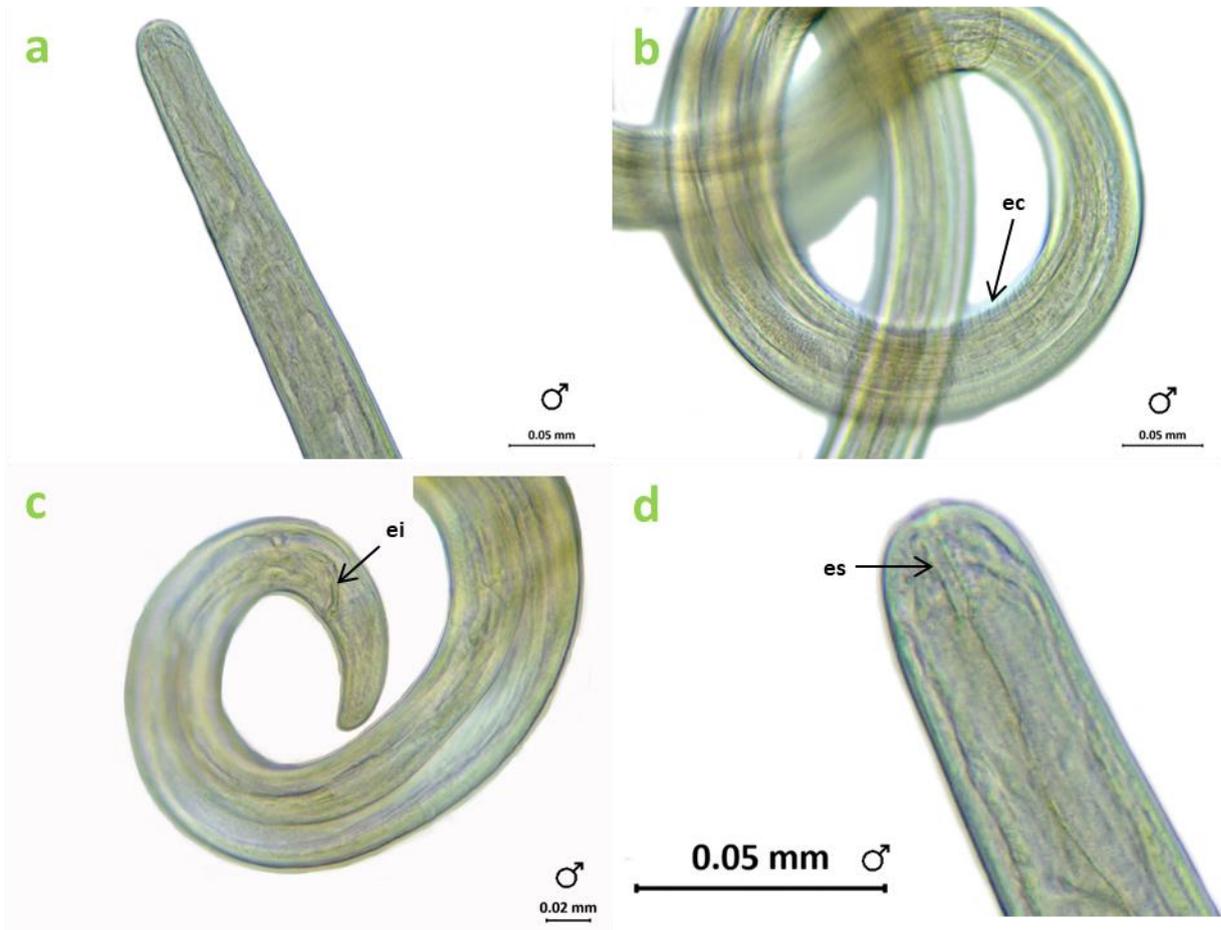


LÁMINA XII. *Litomosoides* sp. CNHE 10933

- a) Región anterior (245X); b) Estriaciones caudales (ec) (230X); c) Cauda mostrando la espícula izquierda (ei) (260X);
d) Estoma cilíndrico y cuticularizado (es) (245X)

Hospedero: *Pteronotus parnelli*

Localización en el hospedero: Cavidad corporal

Localidad: Mina Tlaquiltenango y Mina El Salitre, Morelos, México

Fecha de colecta: Marzo 2017

Número de Catálogo: CNHE 10934

Individuos con secuencias genéticas (Clave de ejemplar: Fragmentos obtenidos): *Litomosoides* sp. Morelos 36-1: 12S, 28S; *Litomosoides* sp. Morelos 43-1: 12S, 18S, 28S; *Litomosoides* sp. Morelos 43-2: 12S, 18S; *Litomosoides* sp. Morelos 49-1: 12S, 18S, 28S; *Litomosoides* sp. Morelos 49-2: 12S, 18S, 28S

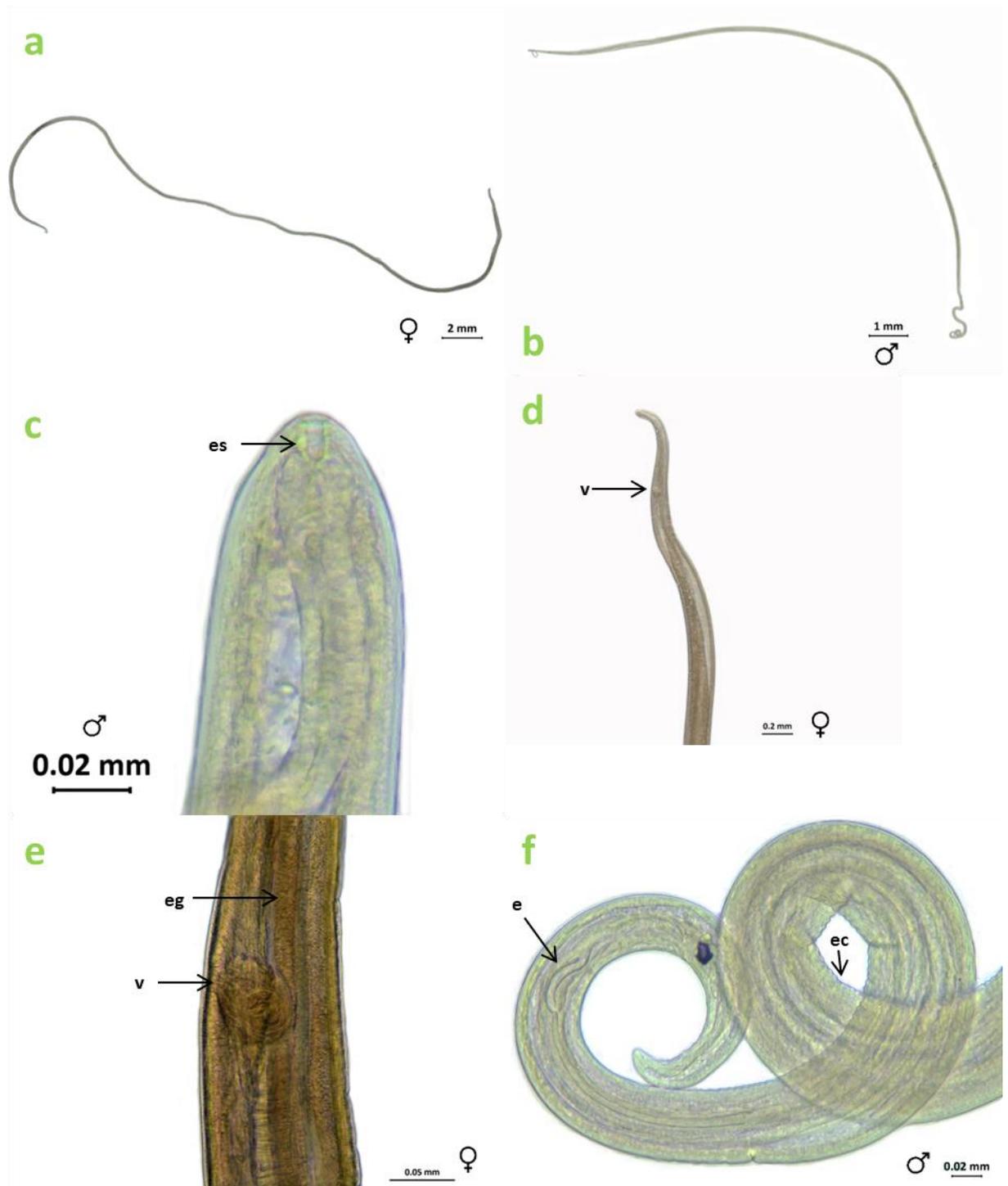


LÁMINA XIII. *Litomosoides* sp. CNHE 10934

a) Hembra (3.5X); b) Macho (6.8X); c) Estoma cuticularizado (es) (260X); d) Extremo anterior atenuado, v: vulva (27.5X); e) Posición anterior de la vulva (v), eg: esófago glandular (220X); f) Cauda mostrando las espículas (e) y estriaciones caudales (ec) (260X)

Hospedero: *Pappogeomys tylosrhynus*
Localización en el hospedero: Cavidad corporal
Localidad: Jilotepec, Estado de México, México
Fecha de colecta: Febrero 1982
Número de Catálogo: CNHE 19035
No se obtuvieron secuencias genéticas.

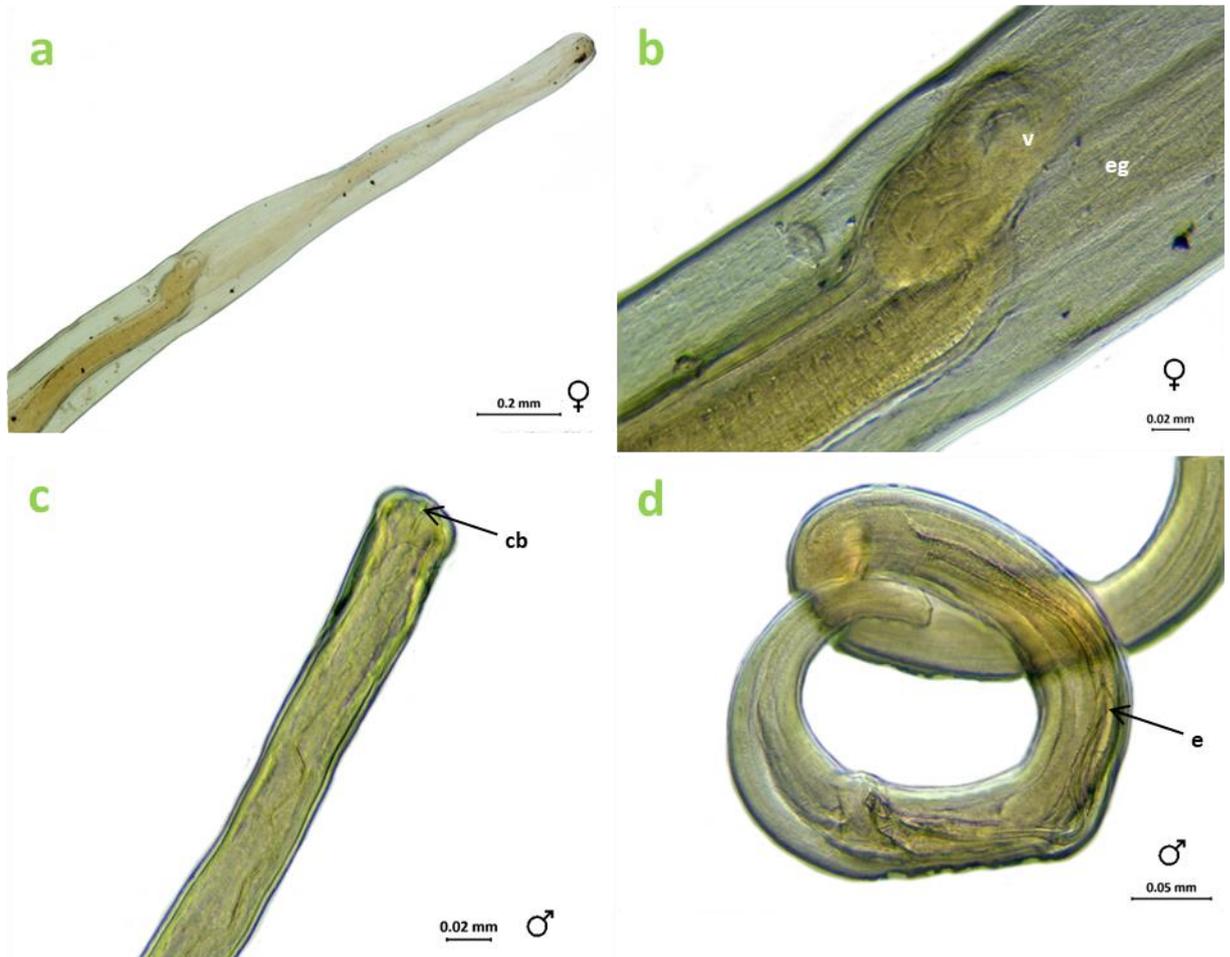


LÁMINA XIV. *Litomosoides* sp. CNHE 10935

a) Región anterior (56X); b) Posición anterior de la vulva (v), eg: esófago glandular (260X); c) Extremo anterior mostrando la cápsula bucal (cb) (260X); d) Cauda mostrando las espículas (e) (215X)

***Macdonaldius* Khanna, 1933**

Diagnosis: Cuerpo atenuado anterior y posteriormente, cutícula finamente estriada. Boca rodeada por cinco pares de papilas cefálicas dispuestas en tres círculos de dos, con cuatro cada uno. Vestíbulo pequeño en cuya porción posterior presenta un anillo quitinoso plano. Individuos con el esófago corto, cuya división puede ser indistinguible o ausente. Machos con la porción posterior enrollada espiralmente, con bordes transversales en la cutícula de la región precloacal; cola digitiforme, ala caudal ausente, un par de papilas preanales y de 3 a 4 pares postanales. Espículas desiguales y disimilares, con un radio que va de 1.6 a 4.1. Gubernáculo con forma de barco. Hembras con cauda digitiforme, vulva en la región postesofágica, vagina muy larga y enrollada; opistodelfas. Vivíparas y con microfilarias envainadas. Parásitos de reptiles (Khanna, 1933; Hull y Camin, 1959; Yamaguti, 1961). Los individuos obtenidos de *Phyllodactylus tuberculosus magnus* se incluyeron en este género por la presencia de cauda espiralada en machos (Lámina XV.b, Lámina XVI.b), por poseer anillo quitinoso preesofágico (Lámina XV.c) en hembras y machos, las espículas desiguales en forma y tamaño (Lámina XV.d, Lámina XVI.d) y la ubicación de la vulva muy por detrás del esófago (Lámina XVI.c).

Hospedero: *Phyllodactylus tuberculatus magnus*
Localización en el hospedero: Subcutáneo¹
Localidad: Mx 200, 3km S San Juan Grande, Guerrero
Fecha de colecta: 2008-2010
Número de Catálogo: CNHE 10938-10939
No se obtuvieron secuencias genéticas.

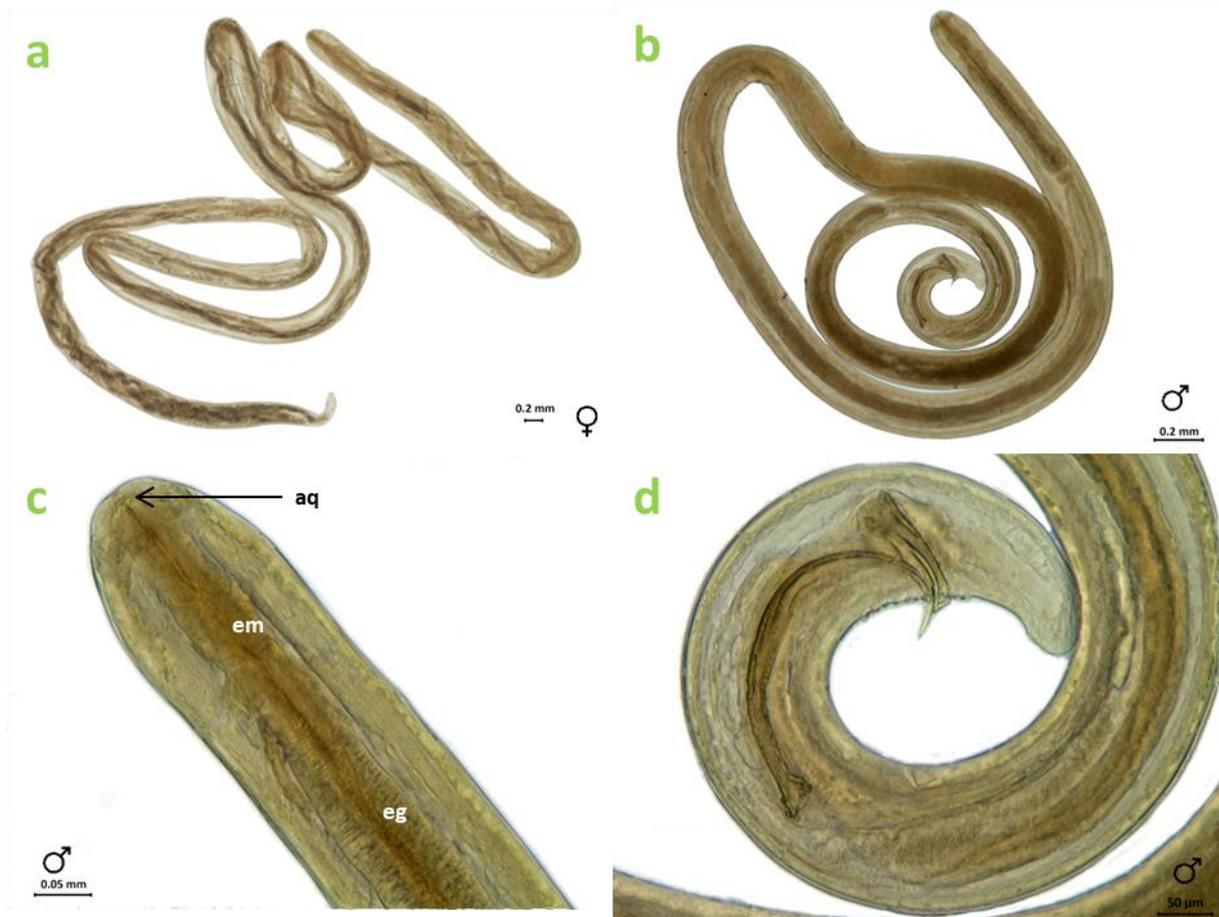


LÁMINA XV. *Macdonaldius* sp. CNHE 10938-10939
a) Hembra (12.5X); b) Macho (35X); c) Extremo anterior, aq: anillo quitinoso, em: esófago muscular, eg: esófago glandular (162X); d) Espículas (146X)

Hospedero: *Phyllodactylus tuberculatus magnus*

Localización en el hospedero: Subcutáneo¹

Localidad: Mx 200 (km132, km 225, en puentes), Puente Chiquito, Puente Manialtepec Hidalgo, Oaxaca

Fecha de colecta: 2008-2010

Número de Catálogo: CNHE 10936-10937

No se obtuvieron secuencias genéticas.

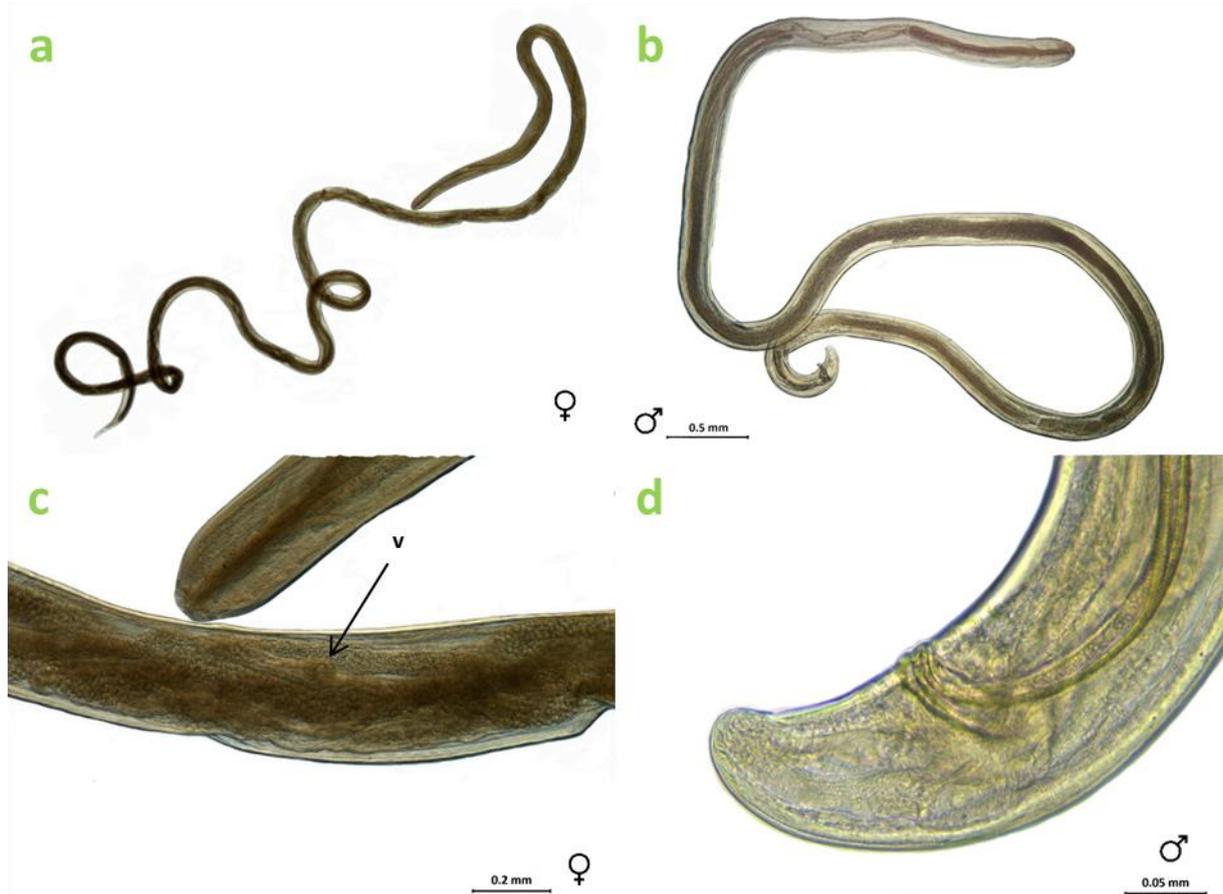


LÁMINA XVI. *Macdonaldius* sp. CNHE 10936-10937

a) Hembra (6X); b) Macho (23X); c) Detalle de la posición de la vulva (v) (56X); d) Espículas (230X)

¹Ver apartado *Discusión de resultados morfológicos*

***Dipetalonema* Diesing, 1861**

Diagnosis: Cutícula lisa, con un par de lengüetas laterales cercanas a la punta de la cauda en ambos sexos, en el macho éstas pueden ser muy pequeñas y difíciles de distinguir. La boca es simple y sin labios laterales, rodeada por un escudo cuticular de forma cuadrangular que se extiende más lateral que dorsal o ventralmente. Anillo cuticular pre esofágico generalmente presente. Dos papilas cefálicas laterales y cuatro submediales o cercanas a los bordes del escudo cuticular. Esófago dividido en dos partes, a veces sin una clara distinción. El macho presenta la extremidad posterior en espiral, cola larga y acintada, aleta caudal ausente o rudimentaria, con tres o cuatro pares de papilas pre o peri anales y dos pares de papilas postanales. Espículas desiguales y disimilares, la espícula larga es cilíndrica, ensanchada en la parte proximal pero fina en la parte distal; la espícula pequeña poco ensanchada o casi uniforme, ambas presentan terminación en gancho; gubernáculo presente. En la hembra el extremo posterior es largo y acintado, la vulva se encuentra en la región media del esófago glandular; opistodelfas y vivíparas. Los embriones pueden o no presentar vaina y se encuentran en la sangre periférica del hospedero. Parásitos de cavidades serosas y tejido conectivo de mamíferos (Yamaguti, 1961; Anderson y Bain, 1974). Los ejemplares provenientes del mono colorado (*Ateles geoffroyi*) se asignaron al género por los extremos posteriores acintados en ambos sexos (Lámina XVII.a, b, c), por la ausencia de labios laterales y presencia de anillo quitinoso pre-esofágico (Lámina XVII.d), y la terminación caudal de la hembra con dos lengüetas laterales (Lámina XVII.b recuadro). Así mismo, la hembra presenta la vulva en la región esofágica y es opistodelfa (Lámina XVII.f).

Hospedero: *Ateles geoffroyi*

Localización en el hospedero: Mesenterio

Localidad: Punta Cortéz (Cachito), Los Chiles, Costa Rica

Fecha de colecta: 9 febrero 1974

Número de Catálogo: CNHE 10928

No se obtuvieron secuencias genéticas.

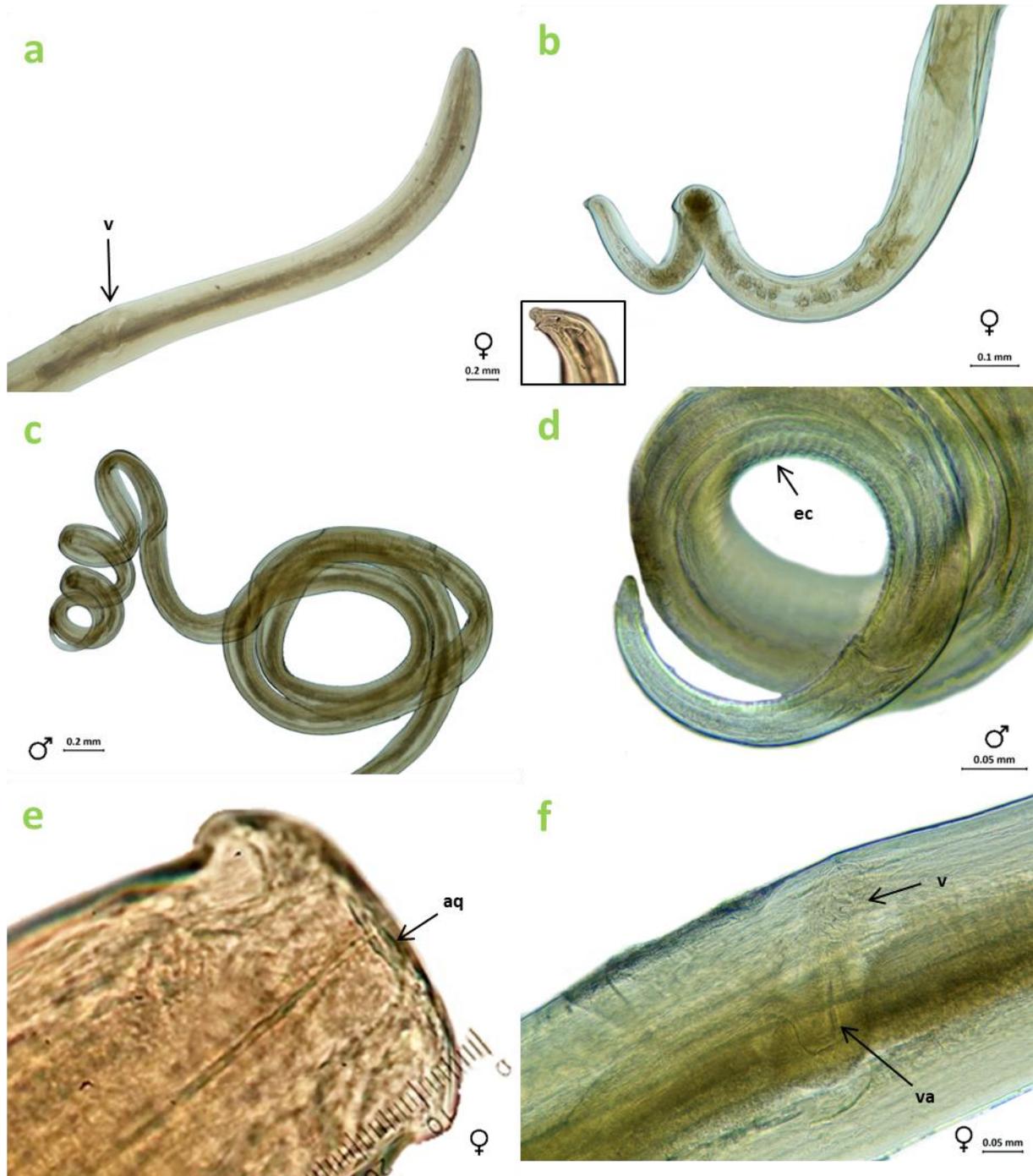


LÁMINA XVII. *Dipetalonema* sp. CNHE 10928

- a) Extremo anterior mostrando la posición de la vulva (v) (26X); b) Extremo caudal, en el recuadro se muestra en detalle las lengüetas terminales (82X); c) Extremo caudal espiralado (34X); d) Cauda mostrando las estriaciones caudales (ec) (210X); e) Anillo quitinoso preesofágico (aq) (40X); f) Vulva (v) y vagina (va) (134X)

SELECCIÓN DE MODELO EVOLUTIVO

Los modelos evolutivos se estimaron bajo el Criterio de Información Corregido de Akaike (AICc) y con el Criterio de Información Bayesiana (BIC). Dado que ambos criterios pueden ajustar de manera diferente los datos a los modelos evolutivos (Dziak *et al.*, 2012), la comparación entre ambos es necesaria. No obstante, el modelo seleccionado bajo los dos criterios fue concordante entre sí. Se reportan los valores para ambos criterios, así como el $-\ln L$ (logaritmo negativo de probabilidad) obtenido:

cox1: GTR+I+G (AIC: 16507.358523; BIC: 16992.058288; $-\ln L$: 8022.92685)

12S: HKY++I+G (AIC: 18450.104233; BIC: 19040.241863; $-\ln L$: 8954.04653)

18S: K80+I+G (AIC: 5085.428995; BIC: 5707.856783; $-\ln L$: 2335.07205)

28S: GTR+I+G (AIC: 30303.536212; BIC: 31089.903011; $-\ln L$: 14954.28524)

Cada gen se analizó con el programa MEGA7 (Kumar *et al.*, 2015) de manera individual para conocer el número de sitios conservados, variables e informativos bajo parsimonia. Los resultados se reportan en la tabla 2

TABLA 2. SITIOS INFORMATIVOS POR CADA GEN

GEN	SITIOS TOTALES	SITIOS CONSERVADOS	SITIOS VARIABLES	SITIOS INFORMATIVOS PARA PARSIMONIA
<i>cox1</i>	466	201	265	224
<i>12S</i>	539	161	358	292
<i>18S</i>	683	581	97	62
<i>28S</i>	1132	398	694	564

GENERACIÓN DE MATRICES DE DATOS MOLECULARES

Las matrices resultantes de los alineamientos individuales, fueron concatenadas utilizando el programa Mesquite Versión 3.5 (Maddison y Maddison, 2018), resultando en una matriz de 90 taxones y 2820 caracteres.

RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS FILOGENÉTICOS

Con el análisis de Parsimonia (P), se obtuvieron 20 árboles de 7363 pasos, un índice de consistencia de 0.349 y un índice de retención de 0.67. A partir de los árboles obtenidos se generó el árbol de consenso estricto (figura 1). El árbol de salida con Verosimilitud Máxima (VM) presentó un valor de $-\ln$: -36132.50635 (figura 2). La topología del árbol en Inferencia Bayesiana (IB) se obtuvo con 40 millones de generaciones, los valores de probabilidad posterior (probp) menores a 0.70 se muestran en color rojo (figura 3).

Los árboles resultantes con P (figura 1), VM (figura 2) e IB (figura 3), presentan una topología similar, pudiéndose observar la división de los géneros en dos grandes agrupamientos con valores de soporte alto (A y B). El primer gran grupo (A) lo integran Oswaldofilarinae (*Oswaldofilaria* y *Piratuba*), Icosiellinae (*Icosiella*) y Waltonellinae (*Foleyellides* y *Ochoterenella*) en la base de los árboles (valores de soporte P=94%, VM=96%, IB=0.99), mostrándose como grupo hermano de B, que contiene a los miembros de Setariinae, Dirofilariinae, Splendidofilariinae y Onchocercinae. Las principales diferencias entre los resultados de los tres análisis se observaron en las ramas internas del grupo B, en cuanto a posición de las mismas y valores de soporte (figuras 1-3). Por ejemplo, a pesar de que el conjunto de ramas que incluyen a *Brugia*, *Breinlia*, *Mansonella*, *Rumenfilaria*, *Madathamugadia*, *Cardiofilaria*, *Aproctella*, *Loa*, *Foleyella* y *Pelecitus*, persiste en los resultados de los tres análisis, los valores de soporte difieren entre los distintos enfoques, siendo IB el único que presenta un valor aceptable (0.96, ver figura 3). De la misma forma, en los tres árboles encontramos agrupados a los géneros *Yatesia*, *Cruorifilaria*, *Monanema*, *Cercopithifilaria*, *Acanthocheilonema* y *Litomosoides*, pero los valores de soporte difieren; en P el valor es bajo (48), mientras que en VM e IB los valores son altos (100 y 1, respectivamente); además, la posición que ocupa en los árboles varía (figuras 1-3). Las secuencias de *Dipetalonema* se recuperan como un grupo monofilético (valores de soporte 98%, 100% y 1), pero difieren también en la posición que ocupan en las ramas internas, mostrándose como el grupo hermano de todos los géneros de Onchocercinae, Dirofilariinae y Splendidofilariinae en el árbol de IB (probp=1, ver figura 3), y como un grupo interno en P (figura 1) y VM (figura 2), aunque los valores de soporte en éstos últimos análisis no son altos. Finalmente, el agrupamiento entre *Onchocerca*, *Loxodontofilaria* y *Dirofilaria* es consistente en todos los árboles resultantes, con valores de soporte altos en VM (77%) e IB (0.99). Sin embargo, en P, el valor de bootstrap es bajo (37%) y *Dirofilaria immitis* se muestra como la especie hermana del resto de los géneros (figura 1).

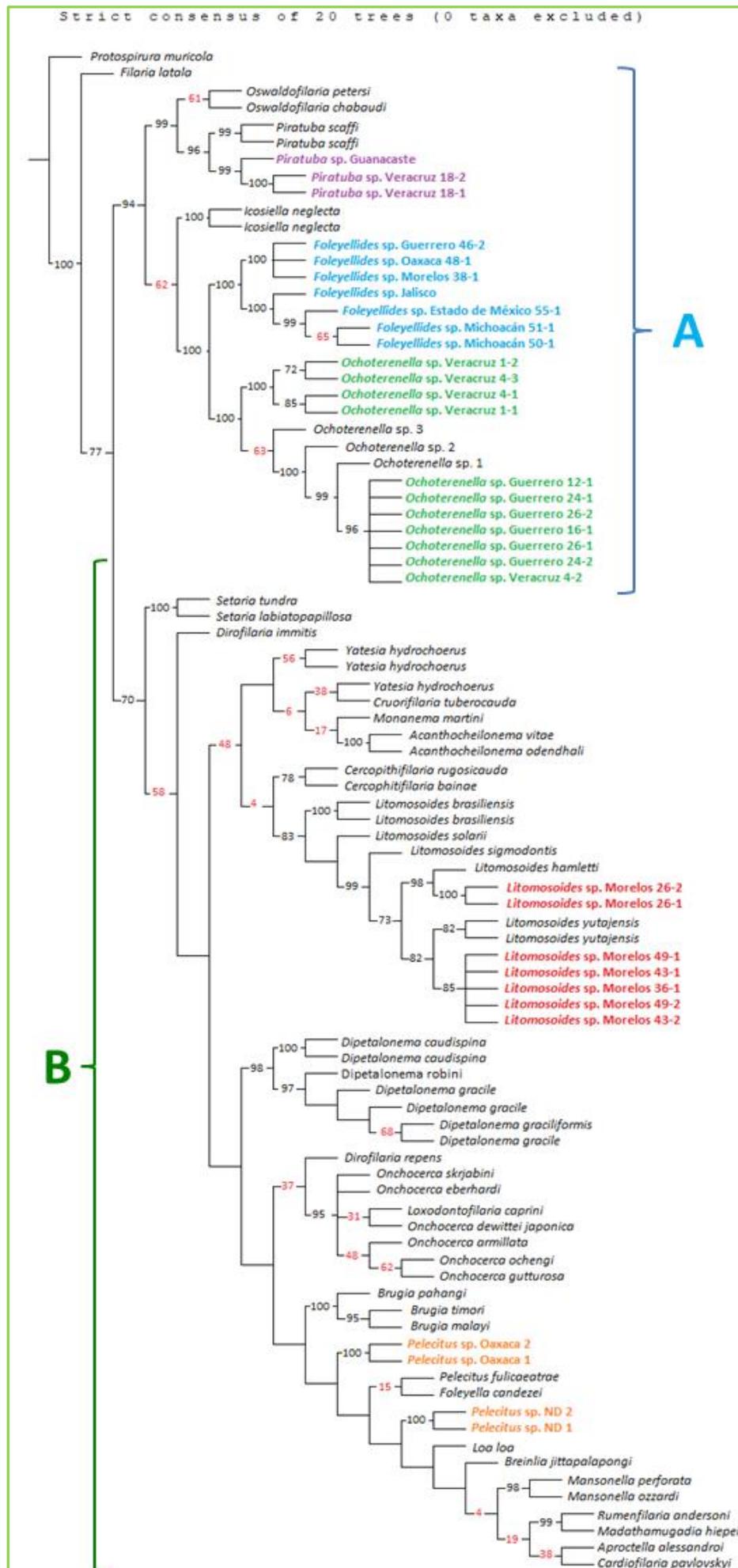


Figura 1. Árbol de consenso estricto de Parsimonia. Los valores de *bootstrap* menores a 70 se muestran en color rojo. IC: 0.349, IR: 0.67

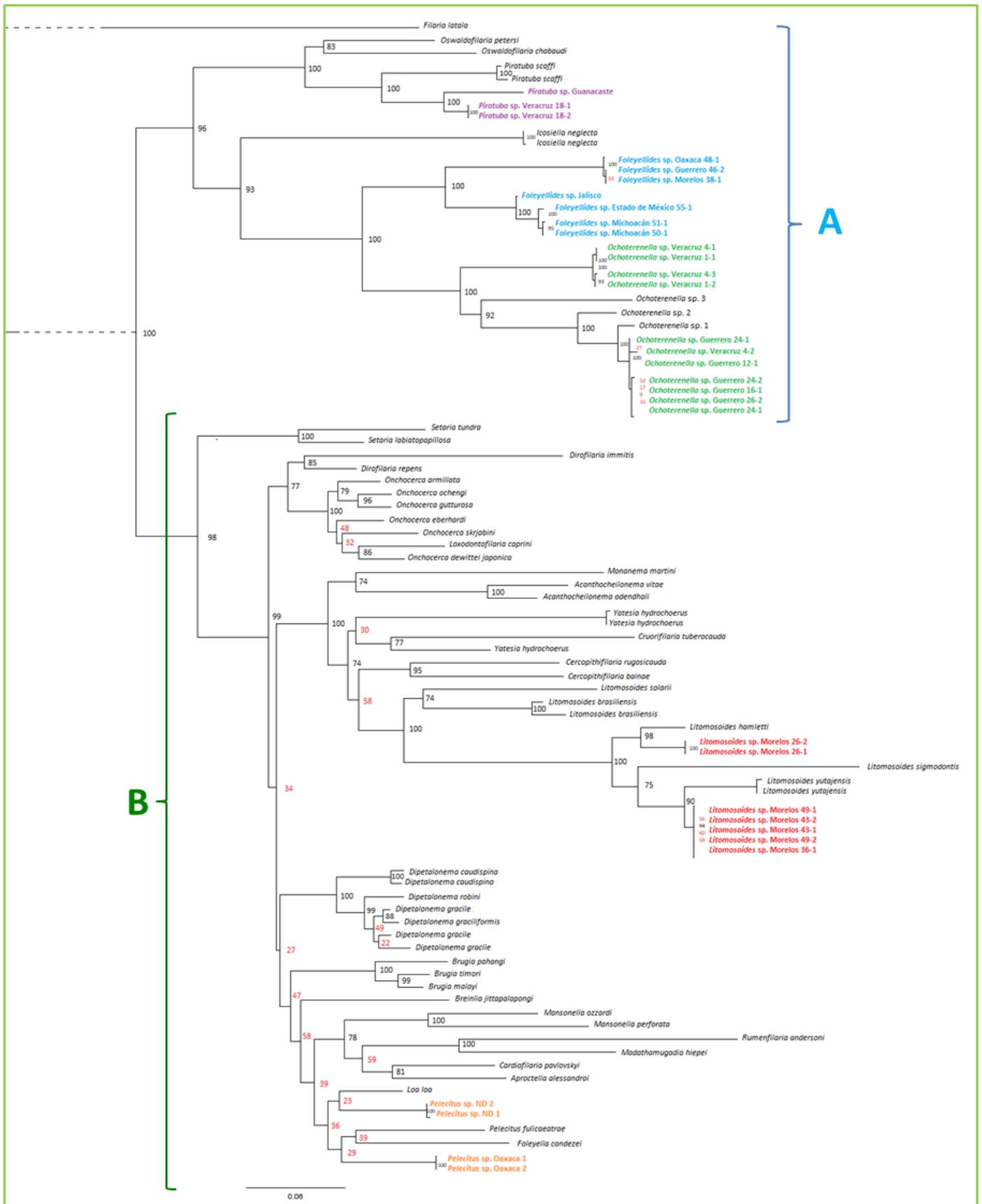


Figura 2. Árbol resultante del análisis de Verosimilitud Máxima. ML: -ln: -36132.50635

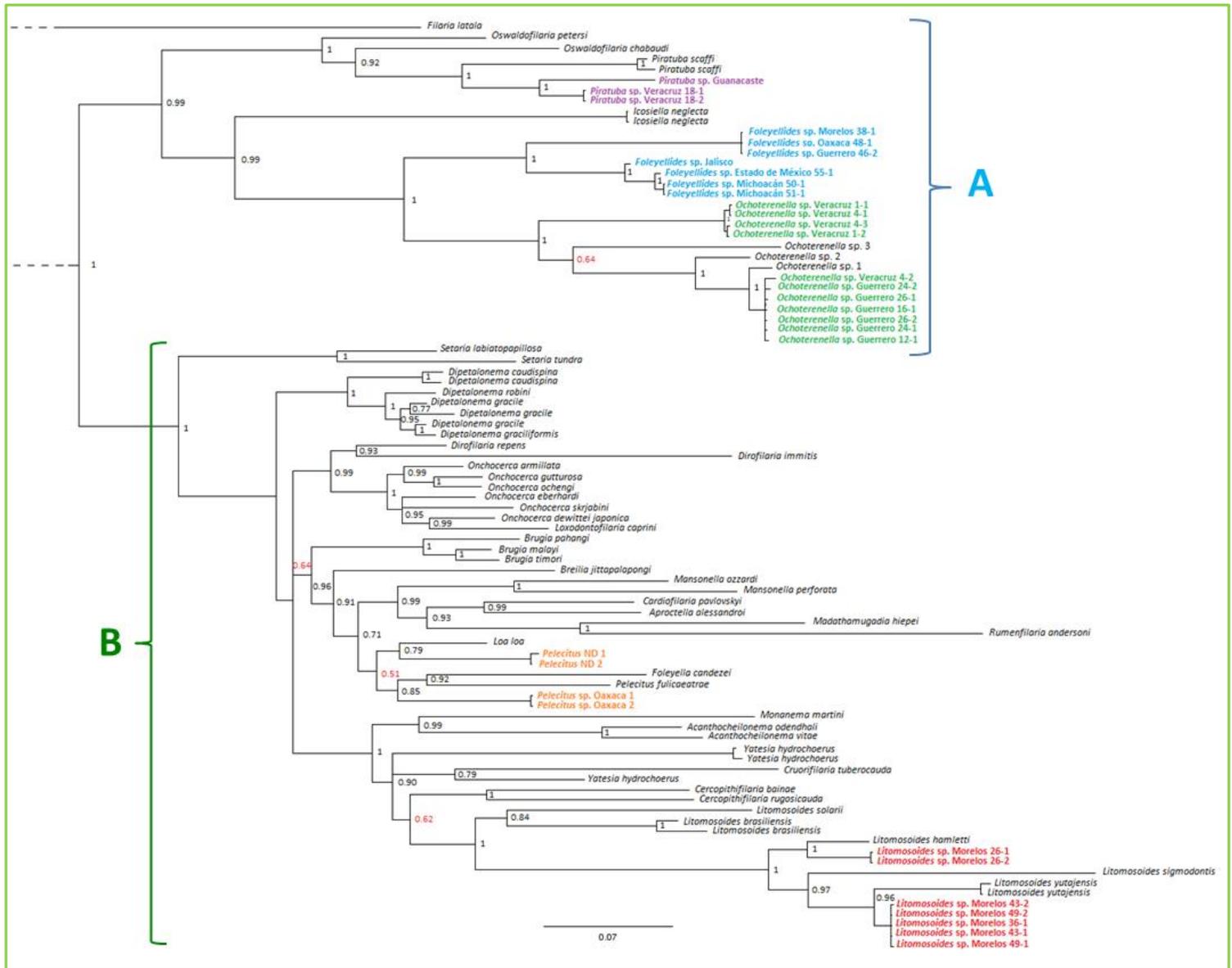


Figura 3. Árbol resultante del análisis de Inferencia Bayesiana

DISCUSIÓN

DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS MORFOLÓGICOS

Las herramientas tradicionales para la clasificación de los oncocercidos incluyen caracteres morfológicos de los adultos, el sitio que infecta en el hospedero, el fenotipo de las larvas, los datos biológicos de los vectores, el rango de hospederos y su distribución geográfica (Bain, 2002). No obstante, se ha considerado que la morfología puede ser más importante en la sistemática del grupo que el tipo de hospedero, especialmente con relación al fenómeno de “captura” o “host switching” como ocurre en especies de algunos géneros (*e.g.*, *Pelecitus*, considerado un género originalmente parásito de aves que fue capturado por mamíferos) (Barlett y Greiner, 1986). Actualmente, existe un debate al respecto; para algunos autores la morfología en este grupo de parásitos es muy poco diversa, mostrando altos niveles de homoplasia, debido a la estrategia de vida similar que presentan (asociándose a los tejidos de los hospederos) y por lo mismo, se dificulta el uso de caracteres morfológicos en los estudios taxonómicos (Morales-Hojas, 2009). Sin embargo, lo anterior no se cumple en todos los casos; por ejemplo, en el material asignado en este estudio a *Piratuba*, la morfología del material colectado fue concordante en todos los ejemplares y correspondiente con la diagnosis del género (Lent y Freitas, 1941), a pesar de que éste proviene de dos especies de hospederos obtenidos de dos localidades geográficamente aisladas. Adicionalmente, Bain (2002) sugirió que las especies de Oswaldofilariinae sólo se distribuyen en los continentes antiguos del sur: Australia, Sudamérica, la región Etiope y la India; no obstante, nuestros ejemplares, provenientes de Centro y Norteamérica, son concordantes con las características del grupo, tanto morfológicas como de hospedero (lacertilios), por lo que una búsqueda más extensa en ambas regiones podría revelar nuevas especies dentro de la subfamilia.

Dada la cercanía de la localidad tipo con el área de colecta de los sapos (*Rhinella horribilis*) de Guerrero, se esperaba encontrar a *Foleyellides rhinellae*, especie que se caracteriza por infectar bufónidos y por el número y distribución de papilas caudales (García-Prieto et al., 2014); sin embargo, los ejemplares colectados en esta localidad fueron asignados al género *Ochoterenella* debido a la ausencia de aleta caudal desarrollada y al tamaño y forma de las espículas, principalmente. Tradicionalmente, las diferencias entre ambos géneros, corresponden a la presencia de aletas laterales y caudales en *Foleyellides* (ausentes en *Ochoterenella*), así como por la presencia de protuberancias cuticulares en la región media del cuerpo que posee el segundo género (Esslinger, 1986a). De acuerdo con Bain (2002) ambas características son suficientes para distinguirlos. Utilizando MEB pudimos notar que los ejemplares de Guerrero presentaban una protuberancia ligera en la región caudal, la cual se extiende más allá de la mitad del cuerpo, característica que

podía corresponder a una aleta caudal; por tanto, para definir si los ejemplares de *Ochoterenella* podían poseer dicho carácter, un paratipo de *O. digiticauda* (CNHE 2525) fue observado en MEB. En dicho ejemplar pudimos observar la presencia de la misma estructura, similar a una aleta poco desarrollada (figura 4), por lo que consideramos que la separación entre los géneros con dicha estructura, no es válida. Sin embargo, se sugiere una revisión exhaustiva de las características morfológicas de las especies incluidas en ambos géneros, con el fin de evaluar la validez de los caracteres que los definen, dado que en ocasiones, el descubrimiento de nuevos caracteres han revelado diversos problemas taxonómicos (Bain *et al.*, 2008). Además, de acuerdo con las divergencias genéticas obtenidas con el gen *cox1*, las cuales son mayores al 10% entre los ejemplares asignados a *Foleyellides* y *Ochoterenella* (Anexo 8), consideramos que corresponden a géneros distintos.

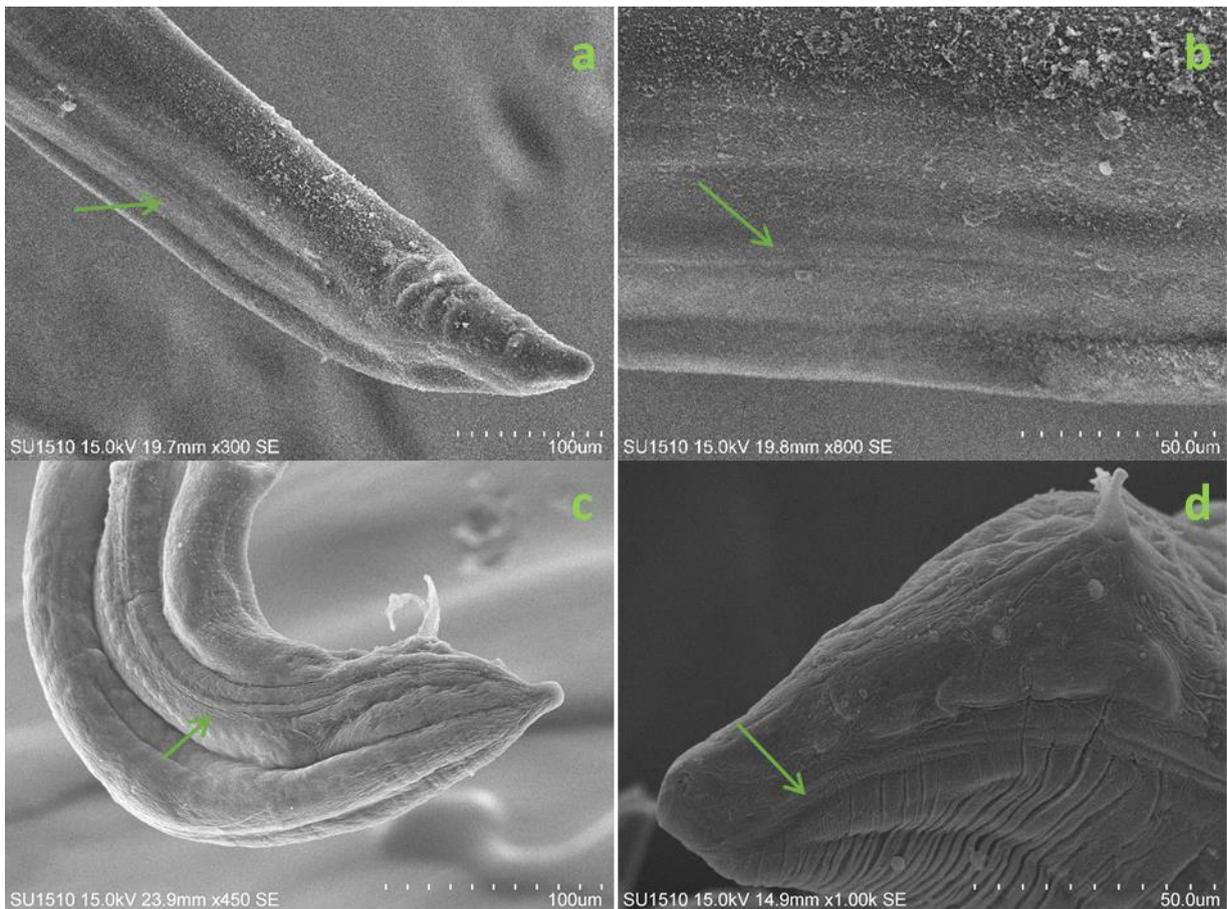


Figura 4. Caudas de ejemplares de *Ochoterenella* spp. a. Cauda del paratipo de *Ochoterenella digiticauda* CNHE 2525; b. Detalle de la ala poco desarrollada (paratipo CNHE 2525); c. Cauda del ejemplar *Ochoterenella* sp. Guerrero 12-1; d. Detalle de la ala poco desarrollada en *Ochoterenella* sp. Guerrero 16-1

Los ejemplares de *Foleyellides* sp. provenientes de Colima y Jalisco, son similares morfológicamente con los obtenidos en los estados de Morelos, Oaxaca, Estado de México, Guerrero y Michoacán, de los cuales se obtuvo el DNA para los análisis del presente trabajo.

El género *Pelecitus* fue propuesto por Railliet y Henry (1910) para clasificar cinco especies de filáridos descritos en la mitad del siglo XIX, obtenidos de las extremidades posteriores de aves de Brasil. Posteriormente, dos especies encontradas en mamíferos fueron transferidos a este género (Barlett y Greiner, 1986). En la actualidad, la composición del mismo asciende a 17 especies (Jiménez-Ruiz et al., 2004); no obstante, Barlett y Greiner (1986) han considerado que muchas de ellas están inadecuadamente descritas, lo que pone en duda su asignación al mismo. Lo anterior podría sustentar la opinión de Bain *et al.*, (2008) acerca de que algunos géneros no están bien delimitados y no constituyen grupos naturales. Los ejemplares de *Pelecitus* incluidos en este estudio concuerdan con las características morfológicas a nivel genérico. No obstante, las relaciones filogenéticas que aporte el estudio molecular de los mismos, contribuirá con el sustento o no de éste género como grupo natural.

Entre los géneros de Onchocercinae, en el que se incluyen principalmente parásitos de mamíferos, *Macdonaldius* es el único que se reporta parasitando lacertilios (Gibbons, 2010). La disposición papilar que presentan los ejemplares de éste género que se obtuvieron de *Phyllodactylus tuberculosus magnus* (7 pares preanales, 2 pares adanales y 2 pares postanales en los ejemplares de Guerrero; 4 pares preanales, 3 pares postanales y 1 par en la punta de la cauda en los ejemplares de Oaxaca) no corresponden con el patrón de las especies de *Macdonaldius* descritas hasta el momento (Khanna, 1933; Caballero y Caballero, 1954; Telford, 1965), por lo que consideramos corresponden a especies nuevas por describir. Adicionalmente, el encontrarlos en un hábitat inusual (subcutáneo) podría considerarse un carácter taxonómico diferencial de sus congéneres, aunque debe descartarse una posible migración del parásito, posterior a la muerte del hospedero.

Algunos géneros de oncocércinos han sido clásicamente incluidos en el llamado “linaje *Dipetalonema*”, dado por características morfológicas como la presencia de área rugosa (aparato cuticular anti-derrapante que es usado durante la copulación) (Chabaud y Bain, 1976). Sin embargo, dicho linaje está compuesto por especies que presentan caracteres plesiomórficos y derivados, por ello una definición clara del mismo es difícil (Bain *et al.*, 2008). Nosotros pudimos reconocer el área rugosa en los ejemplares de *Litomosoides* de Morelos y Estado de México, extendiéndose anterior a la región cloacal (Láminas XIIb; XIII f; XIVd), y en los ejemplares de *Dipetalonema* de Costa Rica, alcanzando la cloaca (Lámina XVIIId). Originalmente, el género *Litomosoides* no fue considerado como parte del linaje *Dipetalonema* (Chabaud y Bain, 1976), pero estudios moleculares recientes lo han situado dentro del gran grupo de especies relacionadas con ellos (Lefoulon *et al.*, 2015). En un caso similar, *Dirofilaria*, género tipo de la subfamilia Dirofiliariinae, ha sido recuperado en análisis filogenéticos como un grupo cercano a Onchocercinae, por tanto, hay controversia sobre la validez de las subfamilias como están definidas hasta el momento con bases

morfológicas (Morales-Hojas, 2009; Lefoulon *et al.*, 2015).

Ante la problemática señalada anteriormente, se ha sugerido que el uso de marcadores moleculares sería un elemento que contribuiría a resolverla en gran medida (Bain *et al.*, 2008). En el siguiente capítulo de este trabajo, presentamos los resultados de los análisis filogenéticos realizados, en los que se plantean nuevos problemas sobre la clasificación del grupo y se aportan algunos elementos de soporte para la resolución de algunos otros.

DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS FILOGENÉTICOS

En la actualidad, los datos moleculares constituyen una fuente de información para la identificación taxonómica de numerosos grupos de organismos, entre ellos los helmintos; por su parte, las filogenias moleculares proveen un marco de referencia para explorar patrones evolutivos y proponer clasificaciones (Nadler *et al.*, 2007; Ferri *et al.*, 2009). En los árboles obtenidos en el presente trabajo con tres métodos de inferencia filogenética, encontramos puntos de consistencia y diferencia, mostrando cambios en la posición de ciertos agrupamientos. Uno de los clados que se mantiene en los tres análisis corresponde al grupo conformado por las subfamilias Oswaldofilariinae, Icosiellinae y Waltonellinae. Este clado presenta valores de *bootstrap* superiores a 90 en P y VM, así como una probabilidad posterior de 0.99 en la IB (figuras 1-3). De esta manera, se ratifican las hipótesis moleculares previas propuestas sobre la conformación de un clado (ONC 1, ver figuras 5 y 6), el cual se reconoce como monofilético (Bauer, 2015; Lefoulon *et al.*, 2015). De acuerdo con Lefoulon y colaboradores (2015), el clado que nombraron ONC 1 (conformado por Oswaldofilariinae, Waltonellinae e Icosiellinae) representa el grupo hermano del resto de los oncocércidos, clado que recuperamos en nuestros análisis (figuras 1-3). A nivel morfológico, éstas tres subfamilias han sido consideradas tradicionalmente como linajes ancestrales, debido a diversas características [i. e., las espinas cefálicas en la larva infectiva de Icosiellinae, el rango de hospederos con distribución Gondwánica de Waltonellinae y la posición de la vulva muy por detrás de la porción media del cuerpo en Oswaldofilariinae de acuerdo con Bain (2002); Bain *et al.* (2008)]. Su posición en los árboles obtenidos en el presente estudio, sugiere que estas subfamilias conforman un clado tempranamente divergente en la historia evolutiva de este grupo de nematodos. El segundo agrupamiento es extenso y poco concordante a nivel interno con las clasificaciones morfológicas (figuras 1-3, tabla 1). Como mencionamos anteriormente, los géneros pertenecientes a Onchocercinae, Dirofilariinae y Splendidofilariinae no se establecen como grupos monofiléticos que sustenten las divisiones clásicas erigidas con datos morfológicos (Anderson y Bain, 1974), algo que corroboramos con nuestros resultados y que concuerda con las hipótesis filogenéticas previas acerca de la naturaleza no monofilética de dichas subfamilias (Bauer, 2015; Lefoulon *et al.*, 2015). A su vez, Setariinae no sufrió cambios en la posición respecto a la filogenia previa, conservándose

como un grupo derivado de un evento de especiación independiente dentro de los oncocercidos (Lefoulon *et al.*, 2015). Se ha considerado que el árbol de Onchocercidae permanece en general sin resolver en la base, dejando el origen de la mayoría de las subfamilias incierto (Morales-Hojas, 2009), por lo que aún se deben llevar a cabo esfuerzos para ampliar el número de géneros incluidos en la filogenia, con la finalidad de alcanzar un mejor entendimiento de las relaciones evolutivas y origen de estos parásitos.

A continuación, se discuten aspectos relevantes sobre las subfamilias a las que pertenecen los ejemplares que se aportan a la filogenia como resultado de este trabajo:

Oswaldofilarinae: Esta subfamilia, que parasita exclusivamente reptiles (Bain, 2002), se recupera en nuestros resultados como un clado monofilético, con valores de soporte altos (99%, 100% y 1). Este clado se muestra como la subfamilia hermana a la subfamilia Waltonellinae. En el caso de los ejemplares de *Piratuba* que integramos a la filogenia, la resolución con datos moleculares respalda su inclusión en el género y en la subfamilia acorde a la clasificación morfológica.

Waltonellinae: La presencia de ala lateral ligeramente desarrollada en *Ochoterenella* (ver figura 4), carácter que era considerado como decisivo para su distinción de *Foleyellides* (Esslinger, 1986a), podría sugerir que a nivel morfológico deberían ser sinonimizados; no obstante, nuestros resultados con datos moleculares permiten el reconocimiento de ambos géneros (figuras 1-3) con valores de soporte alto y mostrándose como taxones hermanos dentro de la subfamilia. Las divergencias genéticas obtenidas mayores al 10% (Anexo 8), dan pauta a considerarlos como géneros independientes. Todo ello hace necesaria la revisión de sus características morfológicas diagnósticas, pues las diferencias podrían ser más sutiles de lo que se consideraba clásicamente (Esslinger, 1986a). Nuestras secuencias de *Ochoterenella* sp., se agrupan de manera cercana a las secuencias provenientes de Venezuela [*Ochoterenella* sp. 1 y *Ochoterenella* sp. 2 (Lefoulon *et al.*, 2015)] (con valores de P=100%, VM=100%, IB=1), que en conjunto se muestran como clado hermano de *Ochoterenella* sp. 3 proveniente de Guyana Francesa (figuras 1-3) (Lefoulon *et al.*, 2015), lo que podría reflejar patrones biogeográficos de éste género, lo cual, sin embargo, está sujeto a una valoración posterior con datos más robustos.

Desde que la subfamilia fue erigida en 1974, se han descrito diversas especies (Esslinger, 1987; 1988a; 1988b; 1989, Souza-Lima *et al.*, 2012, García-Prieto *et al.*, 2014, Romero-Mayén y León-Règagnon, 2016); sin embargo, realmente el trabajo a nivel molecular que se ha desarrollado sobre el grupo es reducido (Bauer, 2015). De acuerdo con ello, cabe mencionar que en el caso de nuestros ejemplares, la topología de los árboles y los valores de soporte, nos indican la posibilidad de la existencia de diversas especies entre los ejemplares de *Foleyellides* incluidos en este estudio, aun

cuando su morfología es muy homogénea.

Dirofiliariinae: Respecto al agrupamiento donde se ubicaron nuestras secuencias de *Pelecitus*, éste es concordante con los recuperados por Lefoulon y colaboradores (2015) con VM (figura 5) e IB (figura 6) clado al cual denominaron ONC 5. El valor de probabilidad posterior que ellos reportan para el clado es de 1 (figura 6) lo cual no difiere en gran medida del valor obtenido por nosotros (0.96, figura 3). Anteriormente mencionamos que muchas de las especies incluidas en éste género podrían estar inadecuadamente descritas o identificadas (ver el apartado de discusión morfológica), y aunque nuestros ejemplares provenientes de *Caracara cheriway* y *Sylvilagus floridanus* poseen las características morfológicas concordantes con el género, a nivel molecular ninguno de ellos conformó un clado con *P. fulicaetrae* como se esperaba dada la identidad genérica de nuestro material; aunado a ello, las distancias genéticas con el gen *cox1* son elevadas entre nuestros ejemplares de *Pelecitus* [12.7% entre los de *S. floridanus* y *C. cheriway* (Anexo 8)] y con la secuencia de *P. fulicaetrae* [superiores al 19% con respecto a nuestras secuencias de ambos *Pelecitus* (Anexo 8)]. No obstante, permanecen cercanas a otros Dirofiliariinae (*Loa*, *Foleyella* y *Pelecitus*) (figuras 1-3), por lo que podría hipotetizarse que constituyen géneros distintos dentro de la subfamilia. Lo anterior debe ser analizado a profundidad desde la perspectiva de taxonomía integrativa, pues ésta es útil para detectar puntos de discordancia entre clasificaciones morfológicas y basadas en DNA (Ferri *et al.*, 2009).

Onchocercinae: Originalmente, *Litomosoides* no se consideraba dentro del linaje *Dipetalonema* (Chabaud y Bain, 1976) pero después de la propuesta filogenética con datos moleculares (Lefoulon *et al.*, 2015), se consideró como parte del linaje debido a la cercanía con otros géneros en ONC 4 designado por los autores (*Acanthocheilonema*, *Monanema*, *Cruorifilaria*, *Cercopithifilaria*, *Yatesia* y *Dipetalonema* como género hermano del resto de los géneros incluidos) (figuras 5 y 6). En nuestros resultados, observamos que aunque *Litomosoides* se mantiene cercano a éstos géneros, con valores de soporte altos en VM e IB (100% Y 1, respectivamente) (figuras 2 y 3), *Dipetalonema* no se mantiene como el género hermano de éstos, como fue propuesto en la hipótesis previamente publicada (figuras 5 y 6). Sin embargo, a pesar de ser un clado monofilético a nivel de género, se comporta de manera errante con relación a la posición que ocupa dentro de la filogenia. Se ha propuesto que *Dipetalonema* es un género que se separó tempranamente del resto del linaje y especió en la región Neotropical (Chabaud y Bain, 1976); de acuerdo con nuestros resultados, es claro que la relación entre éste género y el resto de los que están incluidos en el linaje no es tan estrecha. Desafortunadamente, no se logró la obtención de secuencias del material de *Dipetalonema* proveniente de Costa Rica; la inclusión este material en la filogenia ampliaría el rango de muestreo

para el género, ya que todas las secuencias analizadas provienen de Sudamérica (ver Anexo 4) aportando al entendimiento de la historia evolutiva del género. Así mismo, conocer la posición de *Macdonaldius* (único género de Onchocercinae que parasita ectotermos de acuerdo con Gibbons, 2010) es importante para definir su relación con el resto de los géneros de la subfamilia y con ello evaluar su pertenencia a la misma. Su incorporación a nuestro análisis no fue posible debido al método de conservación de los hospederos que fueron examinados (se fijaron en formalina 10% y preservaron en alcohol 70%). Hasta el momento, Onchocercinae se ha recuperado como un grupo no monofilético en estudios previos (Bauer, 2015; Lefoulon *et al.*, 2015) y en el presente trabajo.

Con base en todo lo anterior, consideramos fundamental continuar la incorporación de un mayor número de representantes de los distintos géneros que constituyen esta subfamilia, para lograr un mejor entendimiento de sus relaciones filogenéticas, ya que hasta el momento, es sobre la que menor resolución se ha obtenido en los estudios filogenéticos anteriores y en el actual.

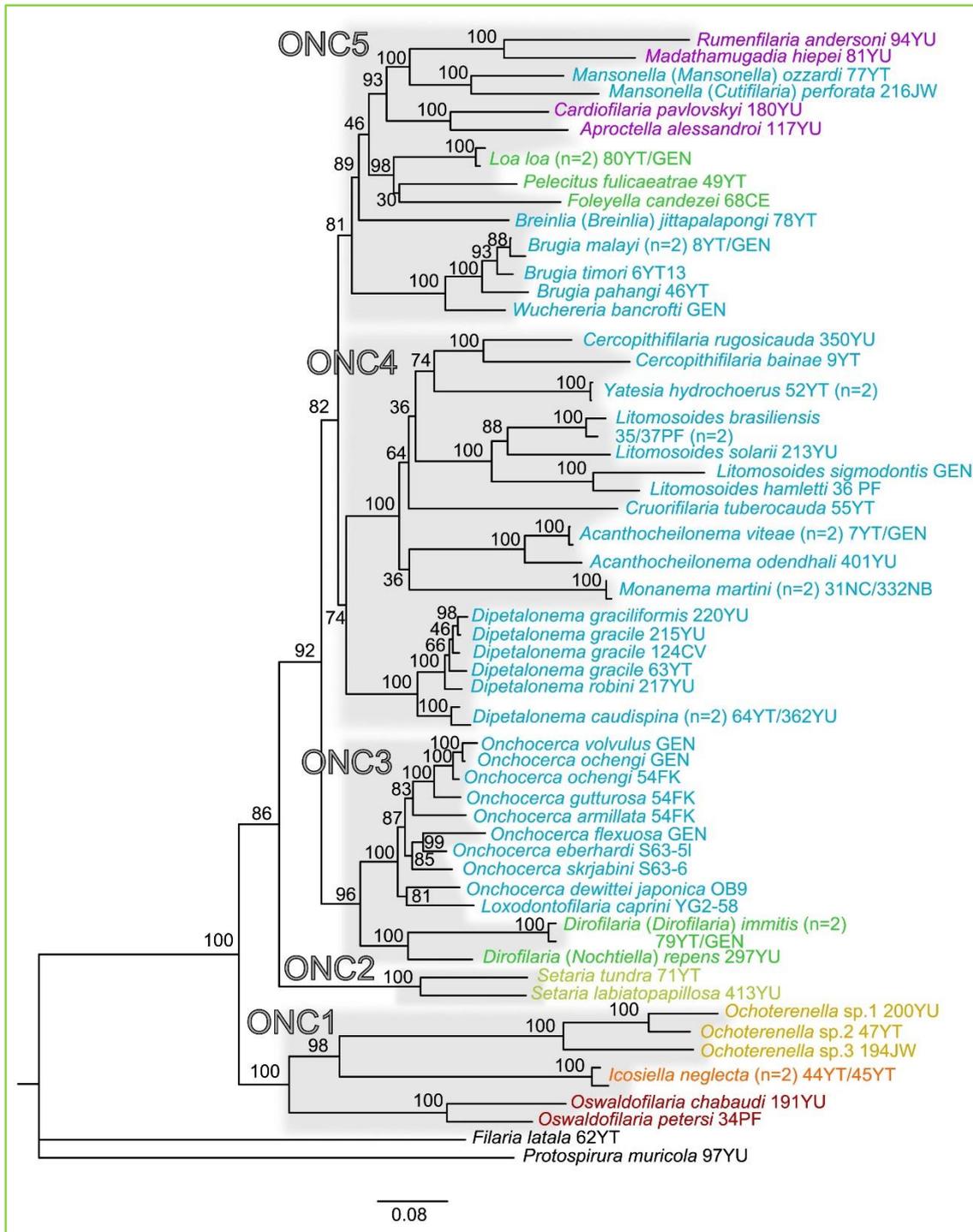


Figura 5. Árbol resultante del análisis de Verosimilitud Máxima. Tomado de Lefoulon *et al.*, 2015.

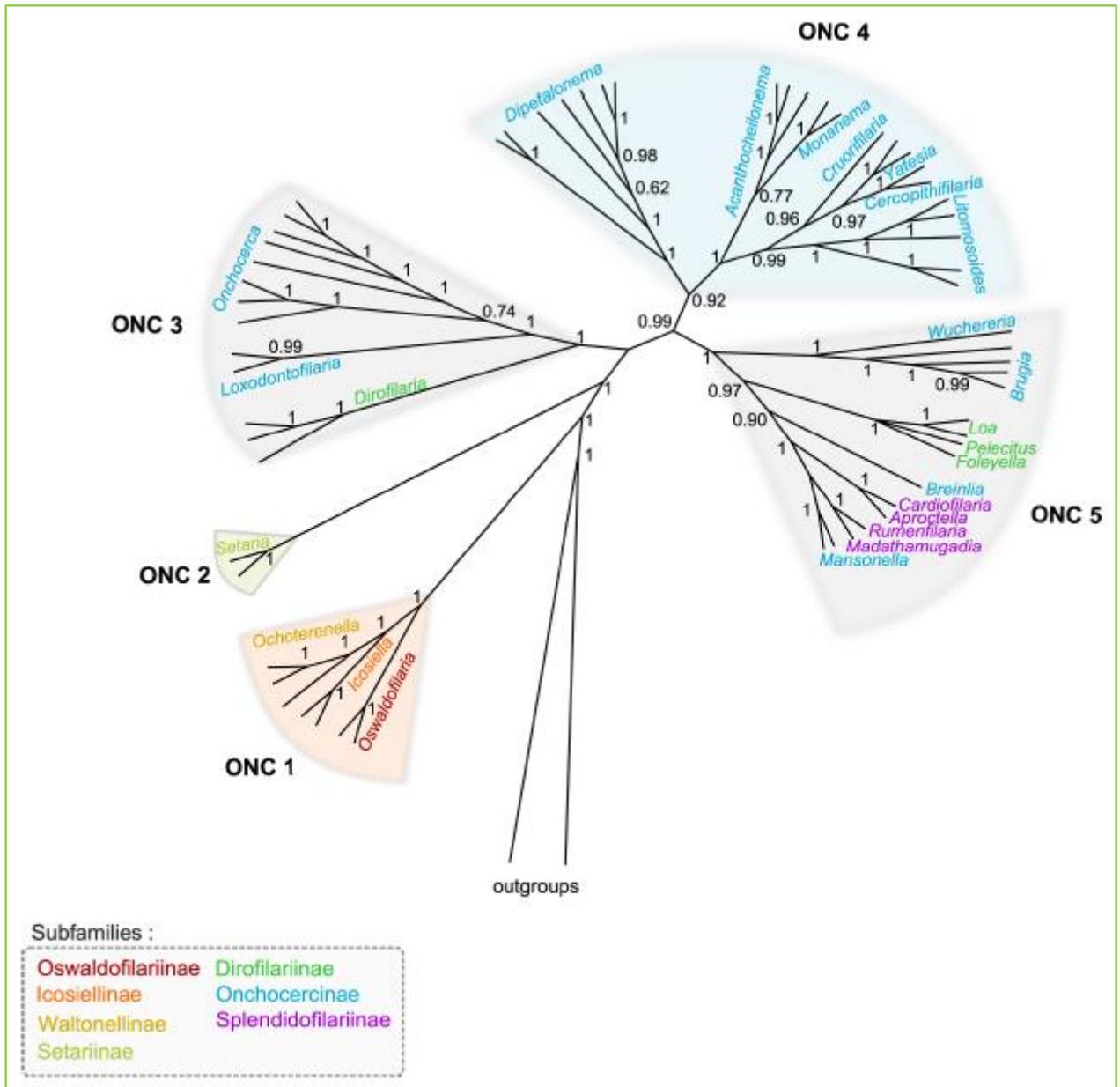


Figura 6. Árbol resultante del análisis de Inferencia Bayesiana. Tomado de Lefoulon *et al.*, 2015.

Datos adicionales sobre los genes utilizados

Gracias a que los nematodos se caracterizan por presentar tasas rápidas de recambio en los genes mitocondriales, se ha propuesto que a través de dichos genes se pueden conocer patrones de la historia evolutiva de éstos parásitos (Boore, 1999). Analizando nuestros resultados, el fragmento *12S* resulta ser más informativo que *cox1*, dado que el primero posee un porcentaje mayor de sitios variables (V) (66.4% y 58.9% respectivamente) (ver Tabla 2 en resultados). Además de ser un fragmento más fácil de amplificar en comparación a *cox1* (Ferri *et al.*, 2009), se ha observado que el fragmento *12S* provee árboles con topologías más resueltas que los generados con otros fragmentos mitocondriales (Bauer, 2015). Ciertamente, la amplificación de éste fragmento fue relativamente fácil en nuestras muestras, utilizando un perfil térmico estándar (Ver anexo 3). Por todo ello, consideramos que el fragmento *12S* puede representar una alternativa más viable al *barcoding* de oncocercidos por su alto aporte de información y su facilidad de obtención.

A pesar de que los marcadores mitocondriales son los más comúnmente seleccionados para el estudio filogenético de las especies, se ha visto que aquellas cercanamente relacionadas, pueden poseer cierto nivel de hibridización interespecífica (Ferri *et al.*, 2009). Es por ello que el uso de marcadores nucleares en conjunto con los mitocondriales, es necesario para el desarrollo de hipótesis filogenéticas que permitan un mejor entendimiento de la historia evolutiva del grupo (Park *et al.*, 2011). Los marcadores moleculares nucleares que se han utilizado, corresponden principalmente al *28S* y *18S*; éste último ha sido ampliamente empleado para el reconocimiento específico y la reconstrucción filogenética de algunos grupos de nematodos (Nadler *et al.*, 2007). No obstante, en este estudio notamos que el gen *18S* en los oncocercidos presenta el mayor número de sitios conservados y un menor número de datos informativos para parsimonia, por lo cual, no lo consideramos adecuado para el reconocimiento de especies y sólo podría ser utilizado para proponer hipótesis filogenéticas a nivel supragenérico. Por su parte, el gen *28S* resultó ser más informativo para nuestros ejemplares que el otro gen nuclear, presentando un 61% de sitios variables, lo que permite una mejor resolución de las relaciones entre los géneros de Onchocercidae. El uso de varios marcadores moleculares puede permitir que los sitios informativos predominen cuando se trata de reconstruir filogenias (Telford *et al.*, 2015); por ello, consideramos importante la utilización y análisis de matrices concatenadas para tener una mejor aproximación de las relaciones evolutivas del grupo.

CONCLUSIONES

- Se identificaron morfológicamente individuos pertenecientes a siete géneros de Onchocercidae, de los cuales cinco fueron incluidos en la filogenia molecular del grupo: *Piratuba*, *Foleyellides*, *Ochoterenella*, *Pelecitus* y *Litomosoides*.
- Los ejemplares asignados al género *Macdonaldius* representan dos especies por describir de acuerdo con los caracteres morfológicos observados.
- Éste trabajo aporta las primeras secuencias de oncocércidos Norte y Centroamericanos, siendo la primera vez que son empleados para inferir las relaciones filogenéticas del grupo.
- Por primera vez se incluyen en la filogenia ejemplares de *Ochoterenella*, *Pelecitus* y *Litomosoides* provenientes de Norteamérica.
- Se generaron las primeras secuencias de *Piratuba* spp. de Norte y Centroamérica.
- Se adicionan dos géneros (*Piratuba* y *Foleyellides*) a las hipótesis filogenéticas previas propuestas para el grupo.
- Se agregaron 35 terminales a la filogenia, representando un incremento de más del 50% del número originalmente incluido por Lefoulon y colaboradores (2015).
- La clasificación morfológica de los oncocércidos no es totalmente congruente con las hipótesis filogenéticas moleculares del grupo.
- El clado conformado por Oswaldofilariinae, Icosiellinae y Walltonellinae es el grupo hermano de Setariinae, Dirofilariinae, Splendidofilariinae y Onchocercinae.
- Las características morfológicas diagnósticas de Onchocercinae y Dirofilariinae deben ser reevaluadas para establecer una clasificación que refleje las relaciones filogenéticas entre los géneros.
- *Piratuba* se reconoce como un género morfológica y molecularmente congruente.
- Las características morfológicas distintivas entre *Foleyellides* y *Ochoterenella* requieren ser revisadas a profundidad para establecer una diagnosis adecuada para ambos géneros.
- Los ejemplares de *Pelecitus* incluidos en este trabajo deben ser examinados, dado que existe la posibilidad de que constituyan géneros independientes dentro de la familia Dirofilariinae.
- Se confirma la cercanía de *Litomosoides* con géneros incluidos en el linaje *Dipetalonema*.
- Los fragmentos genéticos 12S y 28S son los marcadores más adecuados para establecer relaciones filogenéticas entre los oncocércidos.

LITERATURA CITADA

- Adl, S. M., Simpson, A. G. B., Farmer, M. A., Andersen, R. A., Anderson, O. R., Barta, J. R., Bowser, S. S., Brugerolle, G., Fensome, R. A., Fredericq, S., James, T. Y., Karpov, S., Kugrens, P., Krug, J., Lane, C. E., Lewis, L. A., Lodge, J., Lynn, D. H., Mann, D. G., McCourt, R. M., Mendoza, L., Moestrup, Ø., Mozley-Standridge, S. E., Nerad, T. A., Shearer, C. A., Smirnov, A. V., Spiegel, F. W. y Taylor, M. F. J. (2005). The new higher level classification of Eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 52(5): 399-451
- Alejos-Velázquez, L. P., Aragón-Martínez, M. del C. y Cornejo-Romero, A. (2014). Extracción y purificación de ADN. En Cornejo-Romero, A., Serrato-Díaz, A., Rendón-Aguilar, B. y Rocha-Munive, M. G. (Comp.). Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos. SEMARNAT-INECC, México, D. F., 2014: 256 pp.
- Alencaster-Ybarra, G. (1948). Estudio monográfico de nemátodos parásitos de las aves de México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México D. F. 58 pp
- Anderson, R. C. (2000). Nematode parasites of vertebrates. Their development and transmission. Segunda edición. Publicaciones CABI, Reino Unido. 670 pp
- Anderson, R. C. y Bain, O. (1974). Filarioidea, Aprotoidea and Diplostriaenoidea. En CIH Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates. Commonwealth Institute of Parasitology. 60 pp
- Bain, O. (2002). Evolutionary relationships among filarial nematodes. En *World Class Parasites: Volume 5 The Filaria*. Klein, T. R. y Rajan, T. V. (Eds). Springer US. 182 pp
- Bain, O., Casiraghi, M., Martin, C. y Uni, S. (2008). The nematoda filarioidea: critical analysis linking molecular and traditional approaches. *Parasite*, 15: 342-348
- Bartlett, C. M. y Greiner, E. C. (1986). A revision of *Pelecitus* Railliet & Henry, 1910 (Filarioidea, Dirofilarinae) and evidence for the "capture" by mammals of filarioids from birds. *Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle*, 8(1): 47-99
- Bauer, S. M. (2015). Phylogenetic analysis of mitochondrial genomes of filarial nematodes in the subfamily Waltonellinae. Tesis de Maestría en Ciencias, University of North Dakota, EUA. 52 pp
- Bertoni-Ruiz, F., García-Prieto, L., Osorio-Sarabia, D. y León-Règagnon, V. (2005). A new species of *Gnathostoma* (Nematoda: Gnathostomatidae) in *Procyon lotor hernandezii* from Mexico. *Journal of Parasitology*, 91(5): 1143-1149
- BLAST. Recurso en línea disponible en <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>, consultado el 7 de marzo de 2017
- Boore, J. L. (1999). Animal mitochondrial genomes. *Nucleic Acids Research*, 27(8): 1767-1780
- Brand, S. V. y Gardner, S. L. (2000). Phylogeny of species of the genus *Litomosoides* (Nematoda: Onchocercidae): evidence of rampant host switching. *Journal of Parasitology*, 86(3): 545-554
- Brenes-Madrigal, R. R. y Bravo-Hollis, M. (1959). Helminths of the República de Costa Rica VIII. Nematoda 2. Algunos nemátodos de *Bufo marinus marinus* (L) y algunas consideraciones sobre los géneros *Oxysomatium* y *Aplectana**. *Revista de Biología Tropical*, 7(1): 35-55
- Brenes-Madrigal, R. R. (1961). Catálogo de los helmintos parásitos de Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 9(1): 67-95
- Burse, C. R. y Goldberg, S. R. (2001). *Falcaustra lowei* n. sp. and other helminths from the tarahumara

- frog, *Rana tarahumarae* (Anura: Ranidae), from Sonora, Mexico. *Journal of Parasitology*, 87(2): 340-344
- Burse, C. R. y Goldberg, S. R. (2003). *Acanthocephalus saurius* n. sp. (Acanthocephala: Echinorhynchidae) and other Helminths from the lizard *Norops limifrons* (Sauria: Polychrotidae) from Costa Rica. *Journal of Parasitology*, 89(3): 573-576
- Burse, C. R. y Brooks, D. R. (2010a). Nematode Parasites of 41 Anuran Species from the Area de Conservación Guanacaste, Costa Rica. *Comparative Parasitology*, 77(2): 221-231
- Burse, C. R. y Brooks, D. R. (2010b). Nematode Parasites of 16 Lizard Species from the Area de Conservación Guanacaste, Costa Rica. *Comparative Parasitology*, 77(2): 232-235
- Burse, C. R., Goldberg, S. R., Telford Jr., S. R. y Vitt, L. J. (2012). Metazoan Endoparasites of 13 Species of Central American Anoles (Sauria: Polychrotidae: Anolis) with a Review of the Helminth Communities of Caribbean, Mexican, North American, and South American Anoles. *Comparative Parasitology*, 79(1): 75-132
- Butts, D. C. A. (1948). La infección filárica en Costa Rica. *Revista Médica de Costa Rica*, 103-108
- Caballero y Caballero, E. (1935). Nemátodos parásitos de los batracios de México III. Cuarta contribución al conocimiento de la Parasitología de *Rana montezumae*. *Anales Del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México*, 6: 103-117
- Caballero y Caballero, E. (1938). Livro Jubilar do Professor Lauro Travassos. Contribución al conocimiento de los nematodos de las aves de México V. *ExLibris*, 91-97
- Caballero y Caballero, E. (1939a). Nemátodos de los reptiles de México III. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México*, 10: 73-82
- Caballero y Caballero, E. (1939b). A new filariid worm from Mexican bats. *Transactions of the American Microscopical Society*, 58: 456-458
- Caballero y Caballero, E. (1944a). Estudios helmintológicos de la región oncocercosa de México y de la República de Guatemala. Nematoda: 1ª Parte. Filarioidea I. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México*, 15: 87-108
- Caballero y Caballero, E. (1944b). Acerca de la presencia de *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) en un tejón silvestre de la región de Tuxtepec, Oaxaca. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México*, 15: 109-114.
- Caballero y Caballero, E. (1944c). Una nueva especie del género *Litomosoides* y consideraciones acerca de los caracteres sistemáticos de las especies de este género. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México*, 15: 383- 388.
- Caballero y Caballero, E. (1948a). Estudios helmintológicos de la región oncocercosa de México y de la República de Guatemala. Nematoda, 4ª Parte. Filarioidea III. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología* 19: 137-151
- Caballero y Caballero, E. (1948b). Études helminthologiques sur la vallé du Rio Papaloapan (Mexique) II. Quelques filaires de batraciens et d'oiseaux. *Annales de Parasitologie Humaine et comparée*, 23: 323-333
- Caballero y Caballero, E. (1954). Nemátodos de los reptiles de México XI. Nuevo género y nueva especie de filaria de iguanidos. *Rivista di Parassitologia*, 15: 305-313

- Caballero y Caballero, E. y Peregrina, D. I. (1938a). Contribución al conocimiento de los nematodos de las aves de México VII. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología*, 9: 151-163
- Caballero y Caballero, E. y Peregrina, D. I. (1938b). Nematodos de los mamíferos de México I. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología*, 9: 289-306
- Cabrera-Guzmán, E. y Garrido-Olvera, L. (2014). Helminth parasites of the lesser scaly anole, *Anolis uniformis* (Squamata: Dactyloidae), from Los Tuxtlas, Southern Mexico: Evidence of diet and hábitat use. *South American Journal of Herpetology*, 9(3): 183-189
- Cabrera-Guzmán, E., Garrido-Olvera, L. y León-Règagnon, V. (2010). Helminth parasites of the Leopard Frog *Lithobates sp.* Colima (Amphibia: Ranidae) from Colima, Mexico. *Journal of Parasitology*, 96(4): 736-739
- Cabrera-Guzmán, E., León-Règagnon, V. y García-Prieto, L. (2007). Helminth parasites of the Leopard Frog *Rana cf. forreri* (Amphibia: Ranidae) in Acapulco, Guerrero, México. *Comparative Parasitology*, 74(1): 96-107
- Carreño, R. A., Durden, L. A., Brooks, D. R., Abrams, A. y Hoberg, E. P. (2001). Parelaphostrongylus tenuis (Nematoda: Protostrongylidae) and Other Parasites of White-Tailed Deer (Odocoileus virginianus) in Costa Rica. *Comparative Parasitology*, 68(2): 177-184
- Casiraghi, M., Anderson, T. J. C., Bandi, C., Bazzocchi, C., Genchi, C. (2001). A phylogenetic analysis of filarial nematodes: comparison with the phylogeny of *Wolbachia* endosymbionts. *Parasitology*, 122: 93-103
- Casiraghi, M., Bain, O., Guerrero, R., Martin, C., Pocacqua, V., Gardner, S. L., Franceschi, A. y Bandi, C. (2004). Mapping the presence of *Wolbachia pipientis* on the phylogeny of filarial nematodes: evidence for symbiont loss during evolution. *International Journal for Parasitology*, 34: 191-203
- Caspeta-Mandujano, J. M., Peralta-Rodríguez, J. L., Ramírez-Chávez, S. B., Ramírez-Díaz, S. E., Tapia-Osorio, M., Juárez-Urbina, M. G., Guerrero-Enríquez, J. A., Galindo-García, M. G., Martínez-Rodríguez, G., Patricia-Ojeda, M. C. y Juárez-González, V. (2017). Helminths parasites of murciélagos in México. Primera Edición. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, 277 pp
- Cerecero, M. C. (1943). Algunos helmintos de las ratas domésticas y silvestres de México con descripción de dos nuevas especies. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México D. F. 77 pp
- Chabaud, A. G. y Bain, O. (1976). La lignée *Dipetalonema*. Nouvel essai de classification. *Annales de Parasitologie*, 51(3): 365-397
- Chabaud, A. G. y Frank, W. (1961). Nouvelle filaire parasite des artères de pythons: *Macdonaldius oschei* n. sp. * (Nematodes, Onchocercidae). *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 20: 434-439
- Chitwood, B.G. (1938). Some nematodes from the caves of Yucatan IV. *Carnegie Institution of Washington Publication*, 491: 51-66
- Cid del Prado-Vera, I. (1971). Estudio taxonómico de algunos nemátodos parásitos de reptiles de México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México D. F. 102 pp
- De Queiroz, K. y Gauthier, J. (1994). Toward a phylogenetic system of biological nomenclature. *Trends in ecology and evolution*, 9(1): 27-31

- Desser, S. S. (1997). Blood parasites of the iguanid lizard, *Ctenosaura similis* from Costa Rica, with a description of *Hepatozoon gamezi* n. sp. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 44(2): 162-167
- Desser, S. S. (2001). The blood parasites of anurans from Costa Rica with reflections on the taxonomy of their trypanosomes. *Journal of Parasitology*, 87 (1): 152-160
- Dziak, J. J., Coffman, D. L., Lanza, S. T. y Runze, L. (2012). Sensitivity and specificity of information criteria. *Technical Report Series #12-119*. College of Health and Human Development, The Pennsylvania State University. 30 pp
- EMBOSS Transeq, recurso en línea disponible en https://www.ebi.ac.uk/Tools/st/emboss_transeq/
- Eslava-Araujo, A. G. (2005). Helminths in the mastofauna silvestre de la Sierra de Monte Negro, Morelos, México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, 75 pp
- Espinoza-Jiménez, A., García-Prieto, L., Osorio-Sarabia, D. y León-Règagnon, V. (2007). Checklist of Helminth Parasites of the Cane Toad *Bufo marinus* (Anura: Bufonidae) from Mexico. *Journal of Parasitology*, 93(4): 937-944
- Esslinger, J. H. (1986a). Redescription of *Foleyellides striatus* (Ochoterena and Caballero, 1932) (Nematoda: Filarioidea) from a Mexican Frog, *Rana montezumae*, with Reinstatement of the Genus *Foleyellides* Caballero, 1935. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 53(2): 218-223
- Esslinger, J. H. (1986b). Redescription of *Ochoterenella digiticauda* Caballero, 1944 (Nematoda: Filarioidea) from the Toad, *Bufo marinus*, with a Redefinition of the Genus *Ochoterenella* Caballero, 1944. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 53(2): 210-217
- Esslinger, J. H. (1987). *Ochoterenella caballeroi* sp. n. y *O. nanolarvata* sp. n. (Nematoda: Filarioidea) from the Toad *Bufo marinus*. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 54(1): 126-132
- Esslinger, J. H. (1988a). *Ochoterenella figueroai* sp. n. y *O. lamonthei* sp. n. (Nematoda: Filarioidea) from the Toad *Bufo marinus*. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 55 (2): 146-154.
- Esslinger, J. H. (1988b). *Ochoterenella chiapensis* n. sp. (Nematoda: Filarioidea) from the Toad *Bufo marinus* in Mexico and Guatemala. *Transactions of the American Microscopical Society*, 107(2): 203-208.
- Esslinger, J. H. (1989). *Ochoterenella complicate* n. sp. (Nematoda: Filarioidea) from the toad *Bufo marinus* in Western Colombia. *Transactions of the American Microscopical Society*, 108(2): 197-203
- Ferri, E., Barbuto, M., Bain, O., Galimberti, A., Uni, S., Guerrero, R., Ferté, H., Bandi, C., Martin, C. y Casiraghi, M. (2009). Integrated taxonomy: tradicional approach and DNA barcoding for the identification of filaroid worms and related parasites (Nematoda). *Frontiers in Zoology*, 6(1): doi: 10.1186/1742-9994-6-1
- Floyd, R., Abebe, E., Papert, A. y Blaxter, M. (2002). Molecular barcodes for soil nematode identification. *Molecular Ecology*, 11: 839-850
- Floyd, R., Rogers, A. D., Lamshead, J. D. y Smith, C. R. (2005). Nematode-specific PCR primers for the 18S small subunit rRNA gene. *Molecular Ecology*, 5: 611-612
- Galicia-Guerrero, S., Bursey, C.R., Goldberg, R.S. y Salgado-Maldonado, G. (2000). Helminths of two sympatric toad species, *Bufo marinus* (Linnaeus) and *Bufo marmoratus* Wiegmann, 1833 (Anura:

- Bufonidae) from Chamela, Jalisco, Mexico. *Comparative Parasitology*, 67: 129–133.
- García-Prieto, L., Ruiz-Torres, N., Osorio-Sarabia, D. y Merlo-Serna, A. (2014). *Foleyellides rhinellae* sp. nov. (Nematoda: Onchocercidae) a new filaria parasitizing *Rhinella marina* (Anura, Bufonidae) in Mexico. *Acta Parasitologica*, 59(3): 478-484
- García-Vargas, F. Osorio-Sarabia, D. y Pérez-Ponce de León, G. (1996). Helminth parasites of bats (Mormoopidae and Phyllostomidae) from the Estación de Biología Chamela, Jalisco State, México. *Bat Research News*, 37: 7-8
- GenBank. Recurso digital disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>, consultado el 17 de abril de 2017
- Gibbons, L. M. (2010). Keys to the Nematode Parasite of Vertebrates. Supplementary Volume. Cambridge University Press, Cambridge. Reino Unido. 416 pp.
- Goldberg, S. R., Bursey, C. R. y Bezy, R. L. (1996). Gastrointestinal helminths of Yarrow's spiny lizard, *Sceloporus jarrovi* (Phrynosomatidae) in Mexico. *American Midland Naturalist*, 135(2): 299-309
- Goldberg, S. R., Bursey, C. R., Salgado-Maldonado, G., Báez, R. y Cañeda, C. (2002). Helminth parasites of six species of anurans from Los Tuxtlas and Catemaco Lake, Veracruz, Mexico. *The Southwestern Naturalist*, 47(2): 293-299
- Goldberg, S. R. y Bursey, C. R. (2002). Helminth parasites of seven anuran species from Northwestern, Mexico. *Western North American Naturalist*, 62(2): 160-169
- Goldberg, S. R. y Bursey, C. R. (2008a). Helminths from fifteen species of frogs (Anura, Hylidae) from Costa Rica. *Phyllomedusa*, 7(1): 25-33
- Goldberg, S. R. y Bursey, C. R. (2008b). Helminths from 10 species of Brachycephalid frogs (Anura: Brachycephalidae) from Costa Rica. *Comparative Parasitology*, 75(5): 255-262
- Goloboff, P. A., Farris, J. S. y Nixon, K. C. (2008). TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics*, 24: 774-786
- Guerrero, R., Martin, C., Gardner, S. y Bain, O. (2002). New and known species of *Litomosoides* (Nematoda: Filarioidea): Important adult and larval characters and taxonomic changes. *Comparative Parasitology*, 69(2): 177-195
- Gutiérrez-González, J. (1980). Algunos helmintos parásitos en ratas silvestres de Apodaca, Nuevo León, México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL, Monterrey Nuevo León, 38 pp
- Gutiérrez-Peña, E. J. (1987). *Dunnifilaria meningica* sp. n. (Filarioidea: Onchocercidae) from the central nervous system of the wood rat (*Neotoma micropus*) in Mexico. *Tropical Medicine and Parasitology* 38(4), 294-298
- Hadziavdic, K., Lekang, K., Lanzen, A., Jonassen, I., Thompson, E. M. y Troedsson, C. (2014). Characterization of the 18S rRNA gene for designing universal Eukaryote specific primers. *PLOS one* 9(2): e87624. doi:10.1371/journal.pone.0087624
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L. y deWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 270: 313-321
- Hernández-Camacho, N. y Pineda-López, R. (2012). Primer registro de *Dirofilaria immitis* (Spirurida: Onchocercidae) en Coyotes de México. *Acta Zoológica Mexicana*, 28: 659-662

- Hernández-Camacho, N., Cantó-Alarcón, G. J., Jones, R. W., Zamora-Ledesma, S., Ruiz-Botello, J. M. y Camacho-Macías, B. (2015). Presencia de filarias de *Dirofilaria immitis* (Spirurida: Onchocercidae) en zorra gris (*Urocyon cinereoargenteus*) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 86: 252-254
- Hodda, M. (2011). Phylum Nematoda Cobb 1932. *Zootaxa*, 3148: 63–95
- Hugot, J. P., Baujard, P. y Morand, S. (2001). Biodiversity in helminths and nematodes as a field of study: an overview. *Nematology*, 3(3): 199-208
- Hull, R. W. y Camin, J. H. (1959). *Macdonaldius seetae* Khanna, 1933 in captive snakes. *Transactions of the American Microscopical Society*, 78(3): 323-329
- Jiménez-Quirós, O. y Arroyo, G. (1960). Helminths de la República de Costa Rica. XV. Nematoda 3. Presencia de *Litomosoides peñai* n. sp. en *Hemiderma perspicillatum aztecum* (Saussure, 1860). *Revista de Biología Tropical*, 8(1): 63-67
- Jiménez-Ruiz, A., Gardner, S. L., Cervantes-Reza, F. A. y Lorenzo, C. (2004). A new species of *Pelecitus* (Filaroidea: Onchocercidae) from the endangered Tehuantepec Jackrabbit *Lepus flavigularis*. *Journal of Parasitology*, 90(4): 803-807
- Khanna, R. K. (1933). A new filarial worm from a North American Snake. *Journal of Helminthology*, 11(2): 105-108
- Kumar, S., Stecher, G. y Tamura, K. (2015). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis versión 7.0. *Molecular Biology and Evolution* (Submitted)
- Lamothe-Argumedo, R. (1997). Manual de técnicas para preparar y estudiar los parásitos de animales silvestres. A. G. T. Editor, S. A. 43 pp
- Lamothe-Argumedo, R., Pérez-Ponce de León, G. y García-Prieto, L. (1997). Helminths parásitos de animales silvestres. En González, S. E., Dirzo, R. y Vogt, R. C. (Eds): Historia Natural de Los Tuxtlas, Veracruz. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México, 387-394 pp
- Lefoulon, E., Bain, O., Bourret, J., Junker, K., Guerrero, R., Cañizales, I., Kuzmin, Y., Baskoro-T. Satoto, T., Cárdenas-Callirgos, J. M., de Souza-Lima, S., Raccurt, C., Mutafchiev, Y., Gavotte, L. y Martin, C. (2015). Shaking the Tree: Multi-locus Sequence Typing Usurps Current Onchocercid (Filarial Nematode) Phylogeny. *Plos One, Neglected Tropical Diseases*, 9(11): e0004233. doi: 10.1371/journal.pntd.0004233
- Lent, H. y Freitas, J. F. (1941). Sôbre os filarídeos parasitos de lacertídeos neotrópicos. *Revista Brasileira de Biología*, 1(4): 383-386
- Leuterer, G. y Gothe, R. (1993). Die Herzwurmkrankheit des Hundes: Erregerbiologie und –ökologie, Pathogenese, Klinik, Diagnose, Therapie und Prophylaxe. *Kleintierprax*, 38: 633-646.
- Li, J., Zhao, G. H., Zou, F. C., Mo, X. H., Yuan, Z. G., Ai, L., Li, H. L., Weng, Y. B., Lin, R. Q. y Zhu, X. Q. (2010). Combined mitochondrial 16S and 12S rDNA sequences: an effective genetic marker for inter-species phylogenetic analysis of zoonotic trematodes. *Parasitology Research*, 107: 561-569
- Lieske, H. (1954). Filariasis en Puerto Limón, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 2(1): 37-44
- Lowichik, A., Nystuen, L. y Palma, M. (1988). Lizard hemoparasites from “Los Tuxtlas” Tropical Biology Station, Veracruz, Mexico. *The Journal of Parasitology*, 74(5): 885-888
- Maddison, W. P. y Maddison, D. R. (2018). Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.51, <http://www.mesquiteproject.org>

MAFFT, recurso en línea disponible en <https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/index.html>

Marroquín-Muciño, M. A., Osorio-Sarabia, D., García-Prieto, L. y Mata-López, R. (2017). A new species of *Molineus* (Nematoda: Molineidae) parasite of *Procyon lotor* (Mammalia: Carnivora) in Mexico with a taxonomic key for the species of the genus. *Zootaxa*, 4320(2): 391-400

Miller, M.A., Pfeiffer, W., and Schwartz, T. (2010). Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees in *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, 14 Nov. 2010, New Orleans, LA: 1 - 8

Morales-Hojas, R. (2009). Molecular systematics of filarial parasites, with an emphasis on groups of medical and veterinary importance, and its relevance for epidemiology. *Infection, Genetics and Evolution*, 9: 748-759

Nadler, S. A., Carreno, R. A., Mejía-Madrid, H., Ullberg, J., Pagan, C., Houston, R. y Hugot, J. P. (2007). Molecular phylogeny of clade III nematodes reveals multiple origins of tissue parasitism. *Parasitology*, 134: 1421-1442

Norma Oficial Mexicana NOM-033-SAG/ZOO-2014, Métodos para dar muerte a los animales domésticos y silvestres. Publicada en el Diario Oficial de la Federación (DOF) el 26 de agosto del 2015

Ochoterena, I. y Caballero y Caballero, E. (1932). Una nueva filaria parásita de las ranas. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México*, 3: 29-32

Pais, F. S.-M., de Cássia Ruy, P., Oliveira, G. y Coimbra, R. S. (2014). Assessing the efficiency of multiple sequence alignment programs. *Algorithms for Molecular Biology*, 9: 4, doi: 10.1186/1748-7188-9-4

Paniagua, F., Garcés, J. L., Granados, C., Zúñiga, A., Ramírez, M. y Jiménez, L. (1983). Prevalence of Bancroftian filariasis in the city of Puerto Limón and the Province of Limón, Costa Rica. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 32(6): 1294-1297

Paredes-León, R., García-Prieto, L., Guzmán-Cornejo, C., León-Règagnon, V. y Pérez, T. M. (2008). Metazoan parasites of Mexican amphibians and reptiles. *Zootaxa*, 1904: 1-166.

Park, J. K., Sultana, T., Lee, S. H., Kang, S., Kim, H. K., Min, G. S., Eom, K. S. y Nadler, S. A. (2011). Monophyly of clade III nematodes is not supported by phylogenetic analysis of complete mitochondrial genome sequences. *BMC Genomics*, 12: 392

Pearse, A. S. (1936). Parasites from Yucatan. Carnegie Institution of Washington Publications, 457: 45-59

Peláez, D. y Pérez-Reyes, R. (1958). *Piratuba prolífica* nov. sp., parásita de un *Sceloporus* mexicano (Nemat. Filar.). *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas*, IX(1-4): 49-59.

Peláez, D. y Pérez-Reyes, R. (1960). *Piratuba lanceolata* nov. sp. parásita de la lagartija *Sceloporus teapensis* Günther, 1890 (Nemat. Filar.). *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 3 (2): 67-73.

Pérez-Ponce de León, G. y García-Prieto, L. (2001). Los parásitos en el contexto de la biodiversidad y la conservación. CONABIO. *Biodiversitas*, 34: 11-15.

Pérez-Ponce de León, G., García-Prieto, L. y Mendoza-Garfias, B. (2011). Describing Parasite Biodiversity: The Case of the Helminth Fauna of Wildlife Vertebrates in Mexico. En Grillo, O. (Ed.) *Changing Diversity in Changing Environment*, InTech, 33-54.

Posada, D. (2008). jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution*, 25(7):

Prosser, S. W. J., Velarde-Aguilar, M. G., León-Régagnon, V. y Hebert, P. D. N. (2013). Advancing nematode barcoding: A primer cocktail for the cytochrome *c* oxidase subunit I gene from vertebrate parasitic nematodes. *Molecular Ecology Resources*, 13(6): 1108-1115.

Pulido-Flores, G. (1994). Helminths of *Rana dunni* especie endémica del Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México. *Anales del Instituto de Biología, Serie Zoología*, Universidad Nacional Autónoma de México. 65(1): 205-207

Pulido-Flores, G., Monks, S. y Pérez-Romero, G. (2009). Helminths parasites of *Lithobates spectabilis* Hillis y Frost, 1985, de la Reserva de la Biósfera Barranca de Meztitlán, Hidalgo, México. En Monk, S., Pulido-Flores, G. y López-Herrera, M. (Eds.) Estudios científicos en el Estado de Hidalgo y zonas aledañas. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca, Hidalgo, México: 23-33

Railliet, A., y Henry, A. (1910). Les onchocerques, nématodes parasites du tissu conjonctif. *Comptes Rendus des Séances et Mémoires de la Société de Biologie*, 68: 248-251

Rodríguez-Ortíz, B., González, R. y Chinchilla, M. (2000). Helminths parasites of the rat *Sigmodon hispidus* (Rodentia: Cricetidae) de un hábitat estacional y otro perenne en Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 48(1): 121-123

Rodríguez-Ortíz, B., García-Prieto, L. y Pérez-Ponce de León, G. (2004). Checklist of the helminth parasites of vertebrates in Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 52(2): 313-354

Romero-Mayén, A. R. y León-Régagnon, V. (2016). A new species of *Foleyellides* (Nematoda: Onchocercidae) parasite of *Lithobates* spp. (Amphibia: Ranidae) from Mexico with a key for the species of the genus. *Zootaxa*, 4170(3): 581-586.

Sancho, E., M. Peña y Alvarado, R. (1989). Frecuencia de *Dirofilaria immitis* y de *Spirocerca lupi* en *Canis familiaris*, en el Servicio de Patología, Escuela Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Heredia, Costa Rica. *Ciencias Veterinarias*, 11: 23-25

Silvestro, D. y Michalak, I. (2012). raxmlGUI: A graphical front-end for RAxML. *Organisms Diversity & Evolution* 12: 335-337, doi: 10.1007/s13127-011-0056-0

Sosa-Fernández, V.J. (1981). Contribución al conocimiento de la historia natural de la tuza *Pappogeomys tylosinus tylosinus* (Rodentia: Goemyidae) en una zona semiárida. B. S. Tesis, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico, 66 pp

Souza-Lima, S., Marun, B., Alves, P. V. y Bain, O. (2012). *Ochoterenella esslingeri* n. sp. (Nematoda: Onchocercidae: Waltonellinae) from *Bokermannohyla luctuosa* (Anura: Hylidae) in Minas Gerais, Brazil, with notes on *Paraochoterenella* Purnomo & Bangs, 1999. *Parasite*, 19: 341-350

Telford, S. R. (1965). A study in Filariasis in Mexican snakes. *Japanese Journal of Experimental Medicine*, 35: 565-586

Telford, M. J., Budd, G. E. y Phillippe, H. (2015). Phylogenomic insights into animal evolution. *Current Biology*, 25: R876-R887

Vargas, R. y Contreras, R. (1998). Helminthiasis intestinales en perros callejeros (*Canis familiaris*) capturados en el área metropolitana de San José, Costa Rica. *Ciencias Veterinarias*, 21: 43-45.

Velarde-Aguilar, M. G. (2014). Estudio filogenético y helmintológico de *Lithobates megapoda* en el estado de Jalisco. Tesis de Maestría en Ciencias, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma

de México, México D.F. 130 pp

Velázquez, J., Estrada, M. y Mendoza, L. (1983). Mal de Cruz en equinos causado por *Onchocerca cervicalis*. *Ciencias Veterinarias*, 5: 25-26

Velázquez-Urrieta, M. Y. (2014). Helmintofauna de dos especies de Ranas leopardo (Amphibia: Ranidae) del estado de Chiapas, México. Tesis de Licenciatura, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, Puebla. 156 pp

Weinstein, S. B. y Kuris, A. M. (2016). Independent origins of parasitism in Animalia. *Biology Letters*, 12: 20160324

Yamaguti, S. (1961). *Systema helminthum*, Volume III. The Nematodes of Vertebrates Part. II. *Interscience Publishers, Inc.* Nueva York, 1261 pp

Yáñez-Arenas, C. A. y Guillén-Hernández, S. (2010). Helminth fauna of *Lithobates brownorum* (Anura: Ranidae) at three localities in the state of Yucatán, Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 81: 191-195

ANEXO 1. ESPECIES DE ONCHOCERCIDAE REGISTRADAS EN MÉXICO

Orden	Familia	Especie huésped	Especie de oncocercido	Referencia	
Anura	Bufonidae	<i>Incilius valliceps</i>	<i>Ochoterenella</i> sp. (V)	Galicia-Guerrero <i>et al.</i> (2000)	
		<i>Rhinella horribilis</i>	<i>Foleyellides rhinellae</i> (G)	García-Prieto <i>et al.</i> (2014)	
			<i>Icosiella</i> (Y)	Pearse (1936)	
			<i>Ochoterenella</i> sp (V)	Galicia-Guerrero <i>et al.</i> (2000), Goldberg <i>et al.</i> (2002)	
			<i>O. caballeroi</i> (Ch)	Caballero y Caballero (1944a)	
			<i>O. chiapensis</i> (Ch)	Caballero y Caballero (1944a), Esslinger (1988b)	
			<i>O. digiticauda</i> (Ch)	Caballero y Caballero (1944a),	
			<i>O. digiticauda</i> (V)	Galicia-Guerrero <i>et al.</i> (2000)	
			<i>O. digiticauda</i> (O)	Espinoza-Jiménez <i>et al.</i> (2007)	
			<i>O. figueroai</i> (Ch)	Caballero y Caballero (1944a), Esslinger (1988a)	
			<i>O. lamothei</i> (Ch)	Esslinger (1988a)	
	<i>O. nanolarvata</i> (O)	Esslinger (1987)			
	Ranidae	<i>Lithobates</i> sp.	<i>Foleyellides striatus</i> (¿?)	Ochoterena y Caballero-Caballero (1932)	
			<i>Foleyellides striatus</i> (Co)	Cabrera-Guzmán <i>et al.</i> (2010),	
		<i>Lithobates brownorum</i>	<i>Foleyellides striatus</i> (Y)	Yáñez-Arenas y Guillén-Hernández (2010)	
			<i>Foleyellides striatus</i> (Ch)	Velázquez-Urrieta (2014)	
		<i>Lithobates dunni</i>	<i>Ochoterenella digiticauda</i> (M)	Pulido-Flores (1994)	
			<i>Foleyellides striatus</i> (M)		
		<i>Lithobates cf forreri</i>	<i>Foleyellides striatus</i> (G)	Cabrera-Guzmán <i>et al.</i> (2007),	
			<i>Foleyellides striatus</i> (Ch)	Velázquez-Urrieta (2014)	
		<i>Lithobates forreri</i>	<i>Foleyellides striatus</i> (S)	Goldberg y Bursey (2002)	
		Ranidae	<i>Lithobates magnaocularis</i>	<i>Foleyellides striatus</i> (S)	Goldberg y Bursey (2002)
			<i>Lithobates megapoda</i>	<i>Foleyellides striatus</i> (J, M)	Velarde-Aguilar (2014)
	<i>Lithobates montezumae</i>		<i>Foleyellides striatus</i> (CM)	Caballero y Caballero (1935)	
			<i>Foleyellides striatus</i> (¿?)	Ochoterena y Caballero y Caballero (1932)	
	<i>Lithobates psilonota</i>		<i>Foleyellides mayenae</i> (J)	Romero-Mayén y León-Règagnon (2016)	
	<i>Lithobates pustulosus</i>		<i>Foleyellides mayenae</i> (N)		
	<i>Lithobates spectabilis</i>		<i>Ochoterenella digiticauda</i> (H)	Pulido-Flores <i>et al.</i> (2009)	
	<i>Lithobates tarahumarae</i>		<i>Foleyellides striatus</i> (So)	Bursey Goldberg (2001)	
	<i>Lithobates vaillanti</i>	<i>Ochoterenella digiticauda</i> (V)	Goldberg <i>et al.</i> (2002)		
	Squamata	Corytophanidae	<i>Corytophanes hernandesi</i>	<i>Piratuba</i> sp (V)	Lowichik <i>et al.</i> (1988)
		Iguanidae	<i>Iguana iguana</i>	<i>Oswaldofilaria brevicaudata</i> (G)	Caballero y Caballero (1939a)
Phrynosomatidae		<i>Sceloporus jarrovi</i>	<i>Macdonaldius grassii</i> (Chi, D, Gu, H, SLP)	<i>Piratuba prolifica</i> (S)	Goldberg <i>et al.</i> (1996)
			<i>Piratuba prolifica</i> (S)		
		<i>Sceloporus omiltemanus</i>	<i>Piratuba prolifica</i> (G)	Peláez y Pérez-Reyes (1958)	
		<i>Sceloporus torquatus</i>	<i>Macdonaldius grassii</i> (CM)	Caballero y Caballero (1954)	
			<i>Macdonaldius grassii</i> (CM)	Cid del Prado-Vera (1971)	
<i>Sceloporus variabilis</i>		<i>Piratuba lanceolata</i> (V)	Peláez y Pérez-Reyes (1960)		
Dactyloidae		<i>Anolis tropidonotus</i>	<i>Piratuba</i> sp (V)	Lowichik <i>et al.</i> (1988)	
		<i>Anolis uniformis</i>	<i>Piratuba</i> sp (V)	Cabrera-Guzmán y Garrido-Olvera (2014)	
Helodermatidae		<i>Heloderma suspectum</i>	<i>Macdonaldius andersoni</i> (So)	Chaubaud y Frank (1961)	
Boidae		<i>Boa constrictor</i>	<i>Macdonaldius colimensis</i> (Co)	Telford (1965)	
			<i>Macdonaldius oschei</i> (Co)		
Colubridae	<i>Clelia clelia</i>	<i>Macdonaldius oschei</i> (Co)			
	<i>Conophis vittatus</i>	<i>Macdonaldius oschei</i> (Co)			

		<i>Drymarchon corais</i>	<i>Macdonaldius oschei</i> (Co)	
		<i>Lampropeltis</i> spp	<i>Macdonaldius oschei</i> (Co)	
		<i>Trimorphodon biscutatus</i>	<i>Macdonaldius colimensis</i> (Co)	
			<i>Macdonaldius oschei</i> (Co)	
			<i>Macdonaldius seetai</i> (Co)	
Viperidae	<i>Crotalus basiliscus</i>	<i>Macdonaldius oschei</i> (Co)		
Caprimulgiformes	Caprimulgidae	<i>Chordeiles acutipennis</i>	<i>Aproctiana nyctidromi</i> (Mo)	Caballero y Caballero y Peregrina (1938a)
		<i>Nyctidromus albicollis</i>	<i>Aproctiana nyctidromi</i> (G)	
Passeriformes	Ptilonidae	<i>Phainopepla nitens</i>	<i>Aproctella nuda</i> (H)	Alencaster-Ybarra (1948)
			<i>Aproctiana travassosi</i> (V)	Caballero y Caballero (1938)
	Tyrannidae	<i>Tyrannus</i> sp	<i>Chandlerella periarterialis</i> (O)	Caballero y Caballero (1948b)
Trogoniformes	Trogonidae	<i>Trogon massaena</i>	<i>Aproctiana travassosi</i> (V)	Caballero y Caballero (1938)
Primates	Atelidae	<i>Ateles geoffroyi</i>	<i>Dipetalonema gracile</i> (Ch)	Caballero y Caballero (1948a)
		<i>Ateles pan</i>	<i>Dipetalonema gracile</i> (Ca, Ch)	Caballero y Caballero y Peregrina (1938b)
Rodentia	Geomyidae	<i>Cratogeomys tylorhinus</i>	<i>Litomosoides carinii</i> (EM)	Sosa-Fernández (1981)
	Cricetidae	<i>Neotoma micropus</i>	<i>Dunnifilaria meningica</i> (NL)	Gutiérrez-Peña (1987)
		<i>Sigmodon hispidus</i>	<i>Litomosoides carinii</i> (NL)	Gutiérrez-González (1980)
			<i>Litomosoides sigmodontis</i> (J, M)	Ochoterena y Caballero y Caballero (1932)
<i>Sigmodon melanotis</i>	<i>Litomosoides sigmodontis</i> (M)	Cerecero (1943)		
Lagomorpha	Leporidae	<i>Lepus flavigularis</i>	<i>Pelecitus meridionaleporinus</i> (O)	Jiménez-Ruiz <i>et al.</i> (2004)
Chiroptera	Phyllostomidae	<i>Artibeus intermedius</i>	<i>Litomosoides</i> sp (J)	García-Vargas <i>et al.</i> (1996)
		<i>Artibeus jamaicensis</i>	<i>Litomosoides</i> sp (J)	García-Vargas <i>et al.</i> (1996)
			<i>Litomosoides</i> sp (Mo)	Eslava-Araujo (2005)
			<i>Litomosoides chitwoodi</i> (Y)	Chitwood (1938)
		<i>Artibeus toltecus</i>	<i>Litomosoides brasiliensis</i> (V)	Lamothe-Argumedo <i>et al.</i> (1997)
		<i>Carollia perspicillata</i>	<i>Litomosoides carolliae</i> (SLP)	Caballero y Caballero (1944c)
		<i>Glossophaga soricina</i>	<i>Litomosoides hamletti</i> (Y)	Chitwood (1938)
		<i>Macrotus mexicanus</i>	<i>Litomosoides leonilavazquezae</i> (G)	Caballero y Caballero (1939b)
		<i>Sturnira lilium</i>	<i>Litomosoides</i> sp (Mo)	Eslava-Araujo (2005)
	Mormoopidae	<i>Artibeus azteca</i>	<i>Litomosoides guiterasi</i> (M)	Caspeta-Mandujano <i>et al.</i> (2017)
		<i>Leptonycteris yerbabuenae</i>		
<i>Pteronotus parnelli</i>				
Carnivora	Canidae	<i>Canis latrans</i>	<i>Dirofilaria immitis</i> (Q)	Hernández-Camacho y Pineda- López (2012)
		<i>Urocyon cinereoargenteus</i>	<i>Dirofilaria immitis</i> (Q)	Hernández-Camacho <i>et al.</i> (2015)
		<i>Vulpes vulpes</i> *	<i>Dirofilaria repens</i> (CM)	Caballero y Caballero y Peregrina (1938b)
	Procyonidae	<i>Nasua narica</i>	<i>Dirofilaria immitis</i> (O)	Caballero y Caballero (1944b)
			<i>Dirofilaria immitis</i> (Ch)	Caballero y Caballero (1948a)
<i>Procyon lotor</i>	<i>Dirofilaria immitis</i> (V)	Marroquín-Muciño <i>et al.</i> (2017)		
Artiodactyla	Cervidae	<i>Odocoileus virginianus nelsoni</i>	<i>Setaria cervi</i> (Ch)	Caballero y Caballero (1948a)

Estados: Ca: Campeche, Ch: Chiapas, Chi: Chihuahua, CM: Ciudad de México, Co: Colima, D: Durango, EM: Estado de México, G: Guerrero, Gu: Guanajuato, H: Hidalgo, J: Jalisco, M: Michoacán, Mo: Morelos, NL: Nuevo León, O: Oaxaca, Q: Querétaro, QR: Quintana Roo, S: Sinaloa, SLP: San Luis Potosí, So: Sonora, V: Veracruz, Y: Yucatán, ¿? Sin dato en la publicación original. *Especie europea en cautiverio.

ANEXO 2. ESPECIES DE ONCHOCERCIDAE REGISTRADAS EN COSTA RICA

Orden	Familia	Especie huésped	Especie de oncocérido	Referencia
Anura	Bufonidae	<i>Incilius luetkenii</i>	<i>Ochoterenella digiticauda</i> (G)	Burse y Brooks (2010)a
		<i>Incilius valliceps</i>	<i>Ochoterenella digiticauda</i> (G)	Burse y Brooks (2010)a
		<i>Rhinella horribilis</i>	<i>Ochoterenella</i> sp. (G)	Desser (2001)
			<i>Ochoterenella caballeroi</i> (SJ)	Esslinger (1987)
			<i>Ochoterenella digiticauda</i> (SJ)	Brenes-Madrigal y Bravo-Hollis (1959)
			<i>Ochoterenella digiticauda</i> (G)	Burse y Brooks (2010)a
	Craugastoridae	<i>Craugastor ranoides</i>	<i>Ochoterenella digiticauda</i> (¿?)	Goldberg y Bursey (2008)b
		<i>Craugastor taurus</i>	<i>Ochoterenella digiticauda</i> (¿?)	Goldberg y Bursey (2008)b
	Eleutherodactylidae	<i>Diasporus diastema</i>	<i>Ochoterenella digiticauda</i> (G)	Burse y Brooks (2010)a
	Hylidae	<i>Smilisca sordida</i>	<i>Ochoterenella digiticauda</i> (¿?)	Goldberg y Bursey (2008)a
	Ranidae	<i>Lithobates forreri</i>	<i>Foleyella</i> sp. (G)	Desser (2001)
<i>Foleyellides striatus</i> (G)			Burse y Brooks (2010)a	
<i>Foleyellides striatus</i> (G)			Burse y Brooks (2010)a	
Squamata	Corytophanidae	<i>Corytophanes cristatus</i>	<i>Piratuba digiticauda</i> (G)	Burse y Brooks (2010)b
	Dactyloidae	<i>Anolis humilis</i>	<i>Piratuba digiticauda</i> (G)	Burse y Brooks (2010)b
		<i>Anolis limifrons</i>	<i>Piratuba digiticauda</i> (L)	Burse y Goldberg (2003)
		<i>Anolis lionotus</i> *	<i>Piratuba digiticauda</i> (G)	Burse y Brooks (2010)b
		<i>Anolis pachypus</i>	<i>Piratuba digiticauda</i> (P)	Burse et al. (2012)
	Iguanidae	<i>Ctenosaura similis</i>	<i>Oswaldofilaria brevicaudata</i> (G)	Desser (1997)
Teiidae	<i>Holcosus undulatus</i>	<i>Piratuba digiticauda</i> (G)	Burse y Brooks (2010)b	
Artiodactyla	Bovidae	<i>Bos taurus</i>	<i>Setaria cervi</i> (¿?)	Brenes-Madrigal, 1961
			<i>Setaria labiatopapillosa</i> (SJ)	Rodríguez-Ortiz et al. (2004)
	Cervidae	<i>Odocoileus virginianus</i>	<i>Onchocerca cervipedis</i> (G)	Carreño et al. (2001)
			<i>Setaria yehi</i> (G)	Carreño et al. (2001)
Carnivora	Canidae	<i>Canis lupus familiaris</i>	<i>Dirofilaria immitis</i> (SJ)	Leuterer y Gothe (1993) y Vargas y Contreras (1998)
			<i>Dirofilaria immitis</i> (H)	Sancho et al. (1989)
Chiroptera	Phyllostomidae	<i>Carollia perspicillata azteca</i>	<i>Litomosoides peñai</i> (SJ)	Jiménez-Quirós y Arroyo-Sancho (1960)
Perissodactyla	Equidae	<i>Equus caballus</i>	<i>Onchocerca cervicalis</i> (P)	Velázquez et al. (1983)
			<i>Setaria equina</i> (¿?)	Brenes-Madrigal, 1961
Primates	Cebidae	<i>Cebus capucinus</i>	<i>Dipetalonema gracile</i> (¿?)	Rodríguez-Ortiz et al. (2004)
	Hominidae	<i>Homo sapiens</i>		Butts (1948)
			<i>Wuchereria bancrofti</i> (L)	Lieske (1954)
				Paniagua et al. (1983)
Rodentia	Cricetidae	<i>Sigmodon hispidus</i>	<i>Litomosoides carinii</i> (G)	Rodríguez-Ortiz et al. (2000)

Provincias: G: Guanacaste, H: Heredia, L: Limón, P: Puntarenas, SJ: San José, ¿? Sin dato en la publicación original. *De acuerdo al sitio The Reptile Database, ésta especie no se distribuye en Costa Rica.

ANEXO 3. PERFILES TÉRMICOS UTILIZADOS POR GEN

Fragmento genético	Primer (5'-3')	Tamaño pb	Perfil térmico PCR ^a										
			D I		D		A		E		E F		n
			T°	t	T°	t	T°	t	T°	t	T°	t	
12S ¹	12SF (GTTCCAGAATAATCGGCTA)	450	94	300	94	45	48 ± 2	45	72	45	72	420	35
	12SdegR (ATTGACGGATGRTTTGTACC)												
<i>cox1</i> ²	P17447-NemF1_t1-M13 (TGTA AACGACGGCCAGTCRACWGT WAATCAYAARAATATTGG)	661	94	300	94	40	41 ± 4	40	72	60	72	300	35
	P17449-NemF2_t1-M13 (TGTA AACGACGGCCAGTARAGATCT ACATCATAAAGATATYGG)												
	P17451-NemF3_t1-M13 (TGTA AACGACGGCCAGTARAGTTCT AATCATAARGATATTGG)												
	P17453-NemR1_t1-M13 (CAGGAAACAGCTATGACTAAACTTCW GGRTGACCAAAAAATCA)												
	P17455-NemR2_t1-M13 (CAGGAAACAGCTATGACTAWACYTC WGGRTGMCCAAAAAYCA)												
	P17457-NemR3_t1-M13 (CAGGAAACAGCTATGACTAAACCTCW GGATGACCAAAAAATCA)												
18S ³	F18ScF1 (ACCGCCCTAGTTCTGACCGTAAA)	~740	95	300	95	30	48 ± 2	45	72	90	72	420	40
	F18ScR1(GGTTCAAGCCACTGCGATTAA AGC)												
28S ³	F28SF1 (CCTCAACTCAGTCGTGATTACC)	~1150	95	300	95	60	58 ± 4	60	72	180	72	600	38
	F28SR2 (CTCTGGCTTCATCCTGCTCA)												
	F28SF1 (CCTCAACTCAGTCGTGATTACC)	~970	95	300	95	30	60	60	72	120	72	600	38
	F28SintdR1* (TCTTYACTTTCATTAYGCTT)												

¹Casiraghi *et al.* (2001); ²Prosser *et al.* (2013), Cocktail preparado en proporción 1:1:1 de los F y 1:1:1 de los R; ³Lefoulon *et al.*, (2015). ^aD I: Desnaturalización Inicial; D: Desnaturalización; A: Alineamiento; E: Extensión; E F: Extensión Final; n: Número de ciclos; T°: Temperatura dada en °C; t: Tiempo dado en segundos

ANEXO 4. NÚMEROS DE ACCESO GENBANK DE LOS EJEMPLARES INCLUIDOS EN LOS ANÁLISIS

Especie	Localidad	ID muestra	cox1	12S rRNA	18S rRNA	28S rRNA
<i>Acanthocheilonema odendhali</i>	Alaska	401YU	KP760168	KP760314	KP760116	KP760358
<i>Acanthocheilonema vitaea</i>	Linaje FR3	7YT	KP760169	KP760315	KP760117	KP760359
<i>Aproctella alessandroi</i>	Brasil	117YU	FR823335	FR827905	KP760118	KP760360
<i>Breinlia (Breinlia) jittapalaponi</i>	Laos	78YT	KP760170	KP760316	KP760119	KP760361
<i>Brugia malayi</i>	Linaje FR3	8YT	KP760171	KP760317	KP760120	KP760362
<i>Brugia pahangi</i>	Linaje FR3	46YT	KP760172	KP760318	KP760121	KP760363
<i>Brugia timori</i>	Indonesia	6YT	KP760173	KP760319	KP760122	KP760364
<i>Cardiofilaria pavlovskyi</i>	Bulgaria	180YU	KP760174	KP760320	∅	∅
<i>Cercopithifilaria binae</i>	Experimental	9YT3	KP760175	KP760321	KP760123	KP760365
<i>Cercopithifilaria rugosicauda</i>	Francia	350YU	KC610815	KC610812	KP760124	KP760366
<i>Cruorifilaria tubero cauda</i>	Venezuela	55YT	KP760176	KP760322	KP760125	KP760367
<i>Dipetalonema caudispina</i>	Guyana	362YU	KP760177	KP760323	KP760126	KP760368
		64YT	KP760178	KP760324	KP760127	KP760369
<i>Dipetalonema gracile</i>	Venezuela	124CV	KP760179	KP760325	KP760128	KP760370
	Perú	215YU	KP760180	KP760326	KP760129	KP760371
	Guyana	63YT	KP760181	KP760327	KP760130	KP760372
<i>Dipetalonema graciliformis</i>	Perú	220YU	KP760182	KP760328	KP760131	KP760373
<i>Dipetalonema robini</i>	Perú	217YU	KP760183	KP760329	KP760132	KP760374
<i>Dirofilaria immitis</i>	Linaje Bayer	79YT	KP760184	KP760330	KP760133	KP760375
<i>Dirofilaria repens</i>	Italia	297YU	KP760185	KP760331	KP760134	KP760376
<i>Filaria latala</i>	Sudáfrica	62YT	KP760186	KP760332	KP760135	KP760377
<i>Foleyella candezei</i>	Togo	68CE	KP760187	FR827906	KP760136	KP760378
<i>Icosiella neglecta</i>	Ucrania	44YT	KP760188	KP760333	KP760137	KP760379
	Francia	45YT	KP760189	KP760334	KP760138	KP760380
<i>Litomosoides brasiliensis</i>	Perú	PF35	KP760190	KP760335	KP760139	KP760381
		PF37	KP760191	KP760336	KP760140	KP760382
<i>Litomosoides hamletti</i>	Perú	PF36	KP760192	KP760337	KP760141	KP760383
<i>Litomosoides sigmodontis</i>	Linaje MNHN	ext.	∅	∅	AF227233	KP760384
<i>Litomosoides solarii</i>	Venezuela	213YU	KP760193	KP760338	KP760142	KP760385
<i>Litomosoides yutajensis</i>	Venezuela	39YU	AM749280.1	AM779825.1	∅	∅
			AJ544869	AJ544846.1	∅	∅
<i>Loa loa</i>	Francia	80YT	KP760194	KP760339	KP760143	KP760386
<i>Loxodontofilaria caprini</i>	Japón	YG2-58	AM749237	AM779817	KP760144	KP760387
<i>Mansonella (Cutifilaria) perforata</i>	Japón	216JW	AM749265	AM779802	KP760145	KP760388
<i>Madathamugadia hiepei</i>	Sudáfrica	81YU	JQ888270	JQ888289	KP760146	KP760389
<i>Mansonella (Mansonella) ozzardi</i>	Haití	77YT	KP760195	KP760340	KP760147	KP760390
<i>Monanema martini</i>	Senegal	31NC	KP760196	FR827911	KP760148	KP760391
<i>Ochoterenella sp1</i>	Venezuela	210YU	KP760198	KP760343	KP760151	KP760394
<i>Ochoterenella sp2</i>	Venezuela	47YT	KP760199	KP760344	KP760152	KP760395
<i>Ochoterenella sp3</i>	Guyana Francesa	194 JW	KP760197	KP760342	KP760150	KP760393
<i>Onchocerca armilatta</i>	Camerún	54FKa1	KP760200	KP760345	KP760153	KP760396
<i>Onchocerca dewittei japonica</i>	Japón	OB9	KP760203	KP760349	KP760154	KP760397
<i>Onchocerca eberhardi</i>	Japón	S63-5	AM749268	KP760346	KP760155	KP760398
<i>Onchocerca gutturosa</i>	Camerún	54FKg1	KP760201	KP760347	KP760156	KP760399
<i>Onchocerca ochengi</i>	Camerún	54FKo1	KP760202	KP760348	KP760157	KP760400
<i>Onchocerca skrjabini</i>	Japón	S63-6	AM749269	AM779806	KP760158	KP760401
<i>Oswaldofilaria chabaudi</i>	Brasil	191 YU	KP760204	KP760350	KP760159	KP760402
<i>Oswaldofilaria petersi</i>	Perú	PF34	KP760205	KP760351	KP760160	KP760403
<i>Pelecitus fulicaeatrae</i>	España	49YT	KP760206	KP760352	KP760161	KP760404
<i>Piratuba scaffii</i>	Venezuela	34YU1	AM749281.1	AM779831.1	∅	∅
		34YU2	AM749282.1	AM779832.1	∅	∅
<i>Protospirura muricola</i>	República Africana Central	97YU	KP760207	KP760353	KP760162	KP760405
<i>Rumenfilaria andersoni</i>	Finlandia	94YU	JQ888273	JQ888291	KP760163	KP760406
<i>Setaria labiatopapillosa</i>	Camerún	413YU	KP760208	KP760354	KP760164	KP760407
<i>Setaria tundra</i>	Finlandia	71YT	KP760209	KP760355	KP760165	KP760408
<i>Yatesia hydrochoerus</i>	Venezuela	52YTind1	KP760210	KP760356	∅	∅
		52YTind2	KP760211	KP760357	KP760166	∅
		52YTind3	∅	∅	KP760167	KP760409

ANEXO 5. HUÉSPEDES EXAMINADOS EN LAS COLECTAS DE CAMPO

Fecha de colecta	Localidad	Orden: Familia	Huésped	n	Positivos a filarias Clave de hospedero (Morf/Mol)
Septiembre 2016	Pluma Hidalgo, Oaxaca	Squamata: Dactyloidae	<i>Anolis nebulosus</i>	7	0
		Squamata: Phrynosomatidae	<i>Sceloporus</i> sp.	1	0
	Juquila, Oaxaca	Squamata: Dactyloidae	<i>Anolis nebulosus</i>	5	0
	Mixtepec, Oaxaca	Squamata: Dactyloidae	<i>Anolis nebulosus</i>	7	0
	Carrizal de Bravo, Guerrero	Squamata: Phrynosomatidae	<i>Sceloporus adleri</i>	4	0
	El Tejocote, Guerrero	Squamata: Dactyloidae	<i>Anolis</i> sp.	1	0
	El Potrero, Coaxtlahuacan, Guerrero	Squamata: Dactyloidae	<i>Anolis</i> sp.	2	0
Octubre 2016	Teocelo, Veracruz	Squamata: Dactyloidae	<i>Anolis lemurinus</i>	3	0
			<i>Anolis laevis</i>	1	0
			<i>Anolis</i> sp.	1	0
	Xico Viejo, Veracruz		<i>Anolis schiedei</i>	1	0
Febrero 2017	Estación de Biología Los Tuxtlas, Veracruz	Anura: Hylidae	<i>Smilisca baudinii</i>	2	0
		Anura: Bufonidae	<i>Incilius valliceps</i>	1	0
		Anura: Craugastoridae	<i>Craugastor</i> sp.	1	0
		Squamata: Dactyloidae	<i>Anolis uniformis</i>	1	0
	Las Lajas, Catemaco, Veracruz	Anura: Bufonidae	<i>Rhinella horribilis</i>	5	TuxRh1 (4H, 1M; 5H) TuxRh2 (3H, 7H)
Marzo 2017	Cueva Huajintlan, Amacuzac, Morelos	Chiroptera: Phyllostomidae	<i>Glossophaga soricina</i>	5	ARGAMA226 (1H, 1M; 4H)
		Chiroptera: Mormoopidae	<i>Pteronotus parnelli</i>	4	0
	Mina, Tlaquiltenango, Morelos	Chiroptera: Phyllostomidae	<i>Glossophaga soricina</i>	1	0
		Chiroptera: Mormoopidae	<i>Pteronotus parnelli</i>	10	ARGAMA236 (1M;1M) ARGAMA243 (3H, 1M; 5H)
			<i>Mormoops megalophyla</i>	1	0
	Cueva El Salitre, Morelos	Chiroptera: Mormoopidae	<i>Pteronotus parnelli</i>	6	ARGAMA249 (1H; 2H)
			<i>Leptonycteris yerbabuena</i>	1	0
		Chiroptera: Vespertilionidae	<i>Myotis velifer</i>	1	0
Abril 2017	Cueva de los murciélagos, Sontecomapan, Veracruz	Chiroptera: Phyllostomidae	<i>Desmodus rotundus</i>	2	0
			<i>Carollia</i> sp.	1	0
		Squamata: Dactyloidae	<i>Anolis uniformis</i>	2	0
	Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz	Squamata: Dactyloidae	<i>Anolis uniformis</i>	1	0
	Estación de Biología Los Tuxtlas, Veracruz	Squamata: Dactyloidae	<i>Anolis uniformis</i>	9	TuxAnun18(3H, 1M; 2H)
			<i>Anolis tropidonotus</i>	3	0
	Febrero 2018	Laguna de Coyuca, Guerrero	Anura: Bufonidae	<i>Rhinella horribilis</i>	30

¹ARGAMA se refiere a la clave del Proyecto Argásidos de Mamíferos, Proyecto PAPIIT IN214114; ²Los ejemplares con catálogo ROM pertenecen al Royal Ontario Museum, ejemplares depositados en el Laboratorio de Herpetología, IBUNAM.

ANEXO 6. HUÉSPEDES FIJADOS EN ETANOL 70% PREVIAMENTE COLECTADOS

Fecha de colecta	Localidad	Orden: Familia	Huésped	n	Positivos a filarias Clave de hospedero (Morf/Mol)
Agosto 2016	Estación de Biología Los Tuxtlas, Veracruz	Squamata: Xantusiidae	<i>Lepidophyma tuxtlae</i>	2	0
		Squamata: Dactyloidae	<i>Anolis tropidonotus</i>	2	0
Septiembre 2016	Estación de Biología Los Tuxtlas, Veracruz	Squamata: Dactyloidae	<i>Anolis uniformis</i>	1	0
			<i>Anolis sericeus</i>	1	0
			<i>Anolis barkeri</i>	1	0
		Squamata: Xantusiidae	<i>Lepidophyma tuxtlae</i>	1	0
Octubre 2016	Estación de Biología Los Tuxtlas, Veracruz	Squamata: Dactyloidae	<i>Anolis uniformis</i>	5	0
			<i>Anolis uniformis</i>	2	0
			<i>Anolis barkeri</i>	1	0
2008-2010	Mx 200, 17km NE del Puente Tonalá, Chiapas	Squamata: Phyllodactylidae	<i>Phyllodactylus tuberculatus magnus</i>	1	0
	Mx 200 Puente Tiltepec, Chiapas		<i>Phyllodactylus tuberculatus magnus</i>	1	0
	Mx 200, 3km S San Juan Grande, Guerrero		<i>Phyllodactylus tuberculatus magnus</i>	1	ROM42803 (2H, 1M)
	Mx 200, km50, 9km S San Marcos, Puente La Estancia II, Guerrero		<i>Phyllodactylus tuberculatus magnus</i>	1	0
	Mx 200, km60, Puente El Cagaco, Guerrero		<i>Phyllodactylus lanei lanei</i>	1	0
	Mx 200, km132 en puente, Oaxaca		<i>Phyllodactylus tuberculatus magnus</i>	3	ROM42830 (1H) ROM42834 (3H, 10M)
	Mx 200, km221 en puente, Oaxaca		<i>Phyllodactylus tuberculatus magnus</i>	1	0
	Mx 200, km225 en puente, Oaxaca		<i>Phyllodactylus tuberculatus magnus</i>	2	ROM42817 (1H)
	Mx200, Puente Chiquito, Oaxaca		<i>Phyllodactylus tuberculatus magnus</i>	4	ROM42825 (2H, 3M) ROM42826 (1H) ROM42828 (2H)
	Mx 200, Puente Manialtepec Hidalgo, Oaxaca		<i>Phyllodactylus tuberculatus magnus</i>	1	ROM42836 (3H)
	Mx 200 Puente Merro II, Oaxaca		<i>Phyllodactylus tuberculatus magnus</i>	2	0
	Sin dato		<i>Phyllodactylus sp.</i>	2	0

ANEXO 7. MATERIAL OBTENIDO DE LA CNHE Y DONACIONES

Género	Especie	Orden: Familia	Hospedero	Localidad	Colecta/CNHE
<i>Piratuba</i>	<i>Piratuba digiticauda</i>	Squamata: Teiidae	<i>Holcosus undulatus</i>	Costa Rica	CNHE8562
	<i>Piratuba</i> sp.	Squamata: Dactyloidae	<i>Anolis uniformis</i>	Los Tuxtlas, Veracruz, México	CNHE8520
<i>Foleyellides</i>	<i>Foleyellides rhinellae</i>	Anura: Bufonidae	<i>Rhinella horribilis</i>	Laguna de Coyuca, Guerrero, México	CNHE10207
	<i>Foleyellides striatus</i>	Anura: Ranidae	<i>Lithobates forreri</i>	Guanacaste, Costa Rica	CNHE7655
			<i>L. megapoda</i>	Jalisco, México	CNHE 9081
	<i>Foleyellides mayenae</i>		<i>Lithobates zweifeli</i>	Las Juntas, Morelos, México	arm38-1
			<i>L. sierramadrensis</i>	Acahuzotla, Guerrero, México; Pluma Hidalgo, Oaxaca, México	arm46-2
			<i>Lithobates</i> sp.	Zacapu, Michoacán, México	arm50-1
<i>Pelecitus</i>	<i>Pelecitus</i> sp.		Falconiformes: Falconidae	<i>Caracara cheriway</i>	Sin localidad, proviene de decomiso
	<i>Pelecitus</i> sp.	Lagomorpha: Leporidae	<i>Sylvilagus floridanus</i>	San Miguel Soyoltepec, Oaxaca, México	Donación (7H, 5 M; 4 H)
<i>Ochoterenella</i>	<i>Ochoterenella digiticauda</i>	Anura: Bufonidae	<i>Rhinella horribilis</i>	Naranjal San Felipe, Orizatlán, Hidalgo, México	CNHE10249
<i>Dipetalonema</i>	<i>Dipetalonema graciliformis</i>	Primates: Atelidae	<i>Ateles geoffroyi</i>	Punta Cortez (Cachito), Los Chiles, Costa Rica	Donación
<i>Litomosoides</i>	<i>Litomosoides</i> sp.	Rodentia: Geomyidae	<i>Pappogeomys tylorhynus</i>	Jilotepec, Estado de México	Donación

