



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO <sup>185</sup>

FACULTAD DE CIENCIAS

**“Proteocefálicos parásitos de peces y culebras  
en la Laguna de Tres Palos Guerrero, México  
y análisis sobre la validez de los géneros  
Proteocephalus y Ophiotaenia utilizando  
caracteres moleculares”.**

**T E S I S**  
PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**B I O L O G O**  
P R E S E N T A :  
**ROGELIO ROSAS VALDEZ**

DIRECTOR DE TESIS DE M. en C. JESÚS GARCÍA PRIETO



FACULTAD DE CIENCIAS  
SECCIÓN ESCOLAR

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

MÉXICO

2002



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**M. EN C. ELENA DE OTEYZA DE OTEYZA**  
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Ciencias  
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito:  
"Proteocefálicos parásitos de peces y culebras en la Laguna de Tres Palos  
Guerrero, México y análisis sobre la validez de los géneros Proteocephalus y  
Ophiotaenia utilizando caracteres moleculares".

realizado por Rogelio Rosas Valdez

con número de cuenta 9122914-0 , quién cubrió los créditos de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

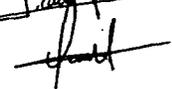
Atentamente

Director de Tesis M. en C. Luis García Prieto   
Propietario

Propietario Dr. Marcos Rafael Lamothe Argumedo 

Propietario Dra. Virginia León Regagnon 

Suplente Dr. Gerardo Pérez Ponce de León 

Suplente Biol. Ulises Jesus Razo Mendivil 

  
Consejo Departamental de Biología

FACULTAD DE CIENCIAS  
U.N.A.M.

DRA. PATRECIA RAMOS MORALES



DEPARTAMENTO  
DE BIOLOGÍA

## *Dedicatorias*

*A mis padres, ejemplo de motivación y tenacidad, por todo el apoyo y porque siempre me han enseñado lo mejor de ellos.*

*A mis hermanos, en las buenas y en las malas siempre estamos juntos.*

*A mis abuelas Esperanza y Luz, mis tíos Lupe, Andrés, Fausta † y Forge que siempre tratan de enseñarme lo mejor.*

*A Elizabeth, por el cariño, la motivación y apoyo que siempre me ha brindado.*

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Héctor Hernández Macías, director del Instituto de Biología de la UNAM y al Dr. Fernando Álvarez, jefe del departamento de Zoología; por permitirme usar las instalaciones del Instituto de Biología.

Al Dr. Rafael Lamothe, jefe del Laboratorio de Helminología; por permitirme utilizar las instalaciones del Laboratorio de Helminología y por sus comentarios sobre este trabajo.

Al Maestro en Ciencias Luis García Prieto y a la doctora Virginia León Régagnon, quienes me dirigieron durante la realización de este trabajo y por el apoyo e importantísimos comentarios para la realización de este trabajo y por iniciar mi interés en uno de los grupos y áreas más interesantes.

Al Dr. Gerardo Pérez Ponce de León, por el apoyo durante la realización de este trabajo, por sus comentarios y por permitirme participar en el proyecto 27996-N.

A la Dra. Virginia León Régagnon por permitirme utilizar las instalaciones del laboratorio de Biología molecular 3.

Al Biólogo Ulises Razo Mendivil, por todo el apoyo y comentarios durante la realización de este trabajo.

A CONACyT por el apoyo en la forma de beca para la realización del trabajo de tesis dentro del proyecto 27996-N a cargo del Dr. Gerardo Pérez Ponce de León.

A la Maestra en Ciencias Laura Márquez por la ayuda brindada en la secuenciación de ADN.

Al Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, en especial a la Histotecnóloga Lupita Juárez por la realización de los cortes histológicos.

A Elizabeth Martínez Salazar, por todo el apoyo y consejos en estos años.

A los profesores del taller de Parasitología de vertebrados; Agustín Jiménez, Berenit Mendoza, David Osorio, Gerardo Pérez, Luis García, Ulises Razo y Virginia León.

**A los compañeros del taller de Parasitología de vertebrados y del Laboratorio de Helmintología, en especial a Elizabeth Martínez, Laura Paredes, Cristina Cañeda, David Osorio y Elisa, quienes me ayudaron en la colecta, revisión de los huéspedes y/o en el procesamiento del material.**

**A Ceci Vanegas, por el apoyo y la motivación en todo momento.**

**A los profesores de la facultad quienes me han enseñado una gran infinidad de cosas: Ceci Vanegas, Jose Latournerie, Ana Luisa Carreño, Octavio Rojas, Martha Munive, Laura Vargas, Cristina Cañeda.**

## INDICE

1. Introducción y antecedentes .....	1
1.1 Historia de los géneros <i>Proteocephalus</i> y <i>Ophiotaenia</i> .....	1
1.2 Criterios morfológicos para la determinación de especies .....	7
1.3 Caracteres moleculares .....	8
1.3.1 ADN ribosomal.....	11
1.4 Utilidad del gen ribosomal 28S a diferentes niveles taxonómicos .....	12
2. Objetivos .....	14
3. Área de estudio.....	15
4. Materiales y métodos.....	17
4.1 Análisis morfológico.....	18
4.2 Análisis molecular.....	19
5. Resultados .....	21
5.1 Descripciones morfométricas.....	21
5.2 Análisis molecular.....	41
6. Conclusiones.....	47
7. Apéndices.....	48
8. Literatura citada .....	63

# 1 INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

## 1.1 Historia de los géneros *Ophiotaenia* y *Proteocephalus*

El Orden Proteocephalidea fue establecido por Mola en 1928, y forma parte de uno de los 13 Ordenes en que se divide a la subclase Eucestoda (Schmidt, 1986); los miembros de este orden son en su mayoría parásitos de peces, anfibios y reptiles (Freze, 1965), sin embargo recientemente Cañeda-Guzmán *et al.* (2001), registraron el primer proteocefálico parásito de un mamífero. Los miembros de este orden se caracterizan por la combinación de los siguientes rasgos: un escólex con ventosas simples y folículos vitelinos generalmente laterales. El orden se divide en dos familias: Proteocephalidae, La Rue, 1911 y Monticellidae, La Rue, 1911, que se distinguen, la primera por tener glándulas vitelógenas medulares, mientras que en la segunda son corticales. Más de 300 especies han sido incluidas en estas dos familias, distribuyéndose en 12 subfamilias y 46 géneros; poco más de la mitad de las especies del grupo parasitan a de peces de agua dulce, principalmente siluriformes de América del sur (Arandas-Rego *et al.*, 1998). La taxonomía de este grupo no es en particular difícil, excepto al nivel de familia y subfamilia, las cuales se diferencian por la relación entre los órganos internos y las bandas musculares longitudinales.

La familia Proteocephalidae a su vez se divide en siete subfamilias, separadas por varias características como son: la existencia de rostelo, posición de las glándulas vitelógenas, la presencia de metaescolex, órgano apical cónico espinoso y organización de los testículos. De ellas, la subfamilia Proteocephalinae Mola, 1929 se caracteriza por la ausencia de rostelo, la presencia de glándulas vitelógenas laterales extendidas en la totalidad de la longitud del proglótido, en su mayoría por la ausencia de metaescolex, de órgano apical cónico espinoso y por poseer testículos medulares (Schmidt, 1986). De los seis géneros que componen a esta subfamilia, se distinguen: *Ophiotaenia* La Rue, 1911 y *Proteocephalus* Weinland, 1858 como los más ricos en número de especies.

Los miembros de ambos géneros poseen un escólex inerme, cuatro ventosas simples con una quinta en algunas especies; cuello presente; poros genitales alternados irregularmente; bolsa del cirro desarrollada; testículos extendidos en un solo campo anterior al ovario; vagina anterior, posterior o dorsal con relación a la bolsa del cirro; ovario bilobulado, transversal al

extremo posterior del proglótido; glándulas vitelógenas laterales; útero central con ramas laterales. Son parásitos cosmopolitas de peces de agua dulce, anfibios y reptiles (Schmidt, 1986). Estos géneros difieren básicamente en el arreglo de los testículos, ya sea en uno o en dos campos; de tal manera, que Arandas-Rego (1994) señaló en la diagnosis correspondiente al género *Ophiotaenia*: “Escólex y características internas como en *Proteocephalus*, excepto por los testículos, distribuidos en dos campos laterales, en peces, anfibios y reptiles. Cosmopolita”.

El género *Proteocephalus* ha sido objeto de numerosos trabajos con el fin de discutir su independencia de otros géneros como *Ichtyotaenia* y en especial con la separación existente entre el primer género y *Ophiotaenia*: Harwood (1933), en un análisis sobre los caracteres utilizados para la determinación de Proteocephalidae encuentra difícil la separación de los géneros *Ophiotaenia* y *Proteocephalus* por la diferencia en la disposición de los testículos, ya sea en uno o dos campos, por lo que asignó la categoría de subgénero para *Ophiotaenia*.

Por su parte, Freze (1965), diferenció a las especies de los géneros principalmente por la clase del huésped parasitado y las características del escólex, considerando además algunos otros caracteres morfológicos como el tamaño de la glándula de Mehlis, la presencia de espinas tegumentarias en cuello y escólex, la preformación del útero y la relación entre el ancho y el largo de los proglótidos; con respecto a los huéspedes, situó a los proteocefálicos que parasitan a peces teleósteos en el género *Proteocephalus* (sin. *Ichtyotaenia* Lonnberg 1894), a los que parasitan culebras en el género *Ophiotaenia*, los parásitos de anfibios en *Batrachotaenia*, los de tortugas en *Testudotaenia* y aquellos que parasitan boas en el género *Crepidobothrium*.

Más tarde, Brooks (1978a, 1978b) analizando cinco de las características propuestas por Freze (1965) para diferenciar los géneros: huésped, tamaño relativo de la glándula de Mehlis, presencia o ausencia de espinas tegumentarias, extensión de glándulas vitelógenas y ancho relativo de los proglótidos; consideró a *Testudotaenia* y *Batrachotaenia* como sinónimos de *Ophiotaenia*; además analizó los caracteres por los que difieren *Ophiotaenia* y *Proteocephalus*, concluyendo que la preformación del útero y la presencia de esfínter vaginal, no constituyen diferencias sustanciales entre estos géneros, por lo que estableció a *Ophiotaenia* como sinónimo de *Proteocephalus*. Además este autor sugirió que el género *Proteocephalus* tiene un origen polifilético.

Posteriormente, Shoop y Corkum (1982) al realizar la descripción de *Proteocephalus micruricola* y De Chambrier y Vaucher (1984) al describir a *Proteocephalus gasparyi*, concordaron con Brooks (1978a) en considerar a *Ophiotaenia* sinónimo de *Proteocephalus*.

Sin embargo, la clasificación propuesta por Schmidt (1986) mantiene la separación de especies en los géneros *Proteocephalus* y *Ophiotaenia*, con base en la característica de poseer los testículos en uno y dos campos respectivamente.

Más tarde, De Chambrier (1989a y b), al efectuar la revisión del género *Crepidobothrium*, observó el arreglo de dos campos testiculares convergentes en algunas especies del mismo, rasgo similar al que exhiben las especies de los géneros *Proteocephalus* y *Ophiotaenia* y con base en esto ratificó la sinonimia de estos últimos.

De Chambrier y Vaucher (1990)<sup>1</sup>, discutieron acerca de la clasificación de los proteocefálicos sustentada en la disposición medular o cortical de las glándulas vitelógenas con relación a la musculatura longitudinal, señalando que ésta se complica por la existencia de miembros de la familia Proteocephalidae que poseen una distribución intermedia entre ambas disposiciones, a la que denominan "paramuscular". Algunas de estas especies pertenecen a los géneros *Ophiotaenia* y *Proteocephalus* (v. gr. *O. ranae* y *P. paraguayensis*) y debido a la carencia de ésta información en un gran número de especies, los autores prefieren no aventurarse a proponer modificaciones en la clasificación del grupo, sin embargo, coinciden con Brooks (1978a) al sugerir que el género puede tener un origen polifilético.

Por su parte, García (1993)<sup>2</sup> al realizar un análisis taxonómico de las especies americanas del género *Proteocephalus*, concluyó que no existen elementos morfológicos, fisiológicos, ni ontogénicos en los géneros *Ophiotaenia*, *Testudotaenia* y *Batrachotaenia*, que se puedan correlacionar y que permitan considerar su independencia de *Proteocephalus*, por lo que considera deben ser sinónimos de este último.

Por otro lado, Arandas-Rego (1994) propuso un esquema de clasificación basado en la morfología de los miembros del Orden Proteocephalidea, en donde mantiene la independencia de estos géneros de la misma manera que Schmidt (1986). Posteriormente (Arandas-Rego,

---

<sup>1</sup> De Chambrier y C. Vaucher. 1990. Proteocephalidea: Un pas vers une nouvelle classification? Bulletin de la société française de Parasitologie. No 8 Suppl 1. Resúmenes del Congreso Internacional de Parasitología. París 20-24 de agosto de 1990.

<sup>2</sup> García, P.L. 1993. Análisis del estado taxonómico de las especies americanas del género *Proteocephalus* Weinland, 1858, (Cestoda: Proteocephalidea). Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. 128 pp.

1995) analizó el esquema de Woodland usado hasta ahora y propuso una nueva clasificación para el orden Proteocephalidea, basándose en cuatro aspectos: morfología, ontogenia, ciclos de vida y distribución de especies, donde de nueva cuenta mantiene la validez de los géneros *Ophiotaenia* y *Proteocephalus*.

La distribución de las especies de estos géneros es cosmopolita (Schmidt, 1986; Arandas-Rego, 1994) y ambos están representados en nuestro país: *Ophiotaenia* con cuatro especies registradas en anfibios y reptiles de siete localidades, mientras que para *Proteocephalus* se han registrado ocho especies, tres en serpientes, una en anfibios y cuatro en peces, distribuidas en once localidades. Además, existen 23 registros de larvas de *Proteocephalus* sp. en peces y en un anfibio de diferentes localidades (Tabla 1).

**Tabla 1.** Listado de las especies de los géneros *Proteocephalus* y *Ophiotaenia* registradas en México.<sup>3</sup>

Especie	Huésped	Localidad
	<b>Peces</b>	
<i>Proteocephalus brooksi</i>	<i>Rhamdia guatemalensis</i>	Lago de Catemaco, Ver.
<i>P. chamelensis</i>	<i>Gobiomorus maculatus</i>	Estero Chamela, Jal.
<i>P. pusillus</i>	<i>Goodea atripinnis</i>	Lago de Pátzcuaro, Mich.
<i>P. singularis</i>	<i>Atractosteus tropicus</i>	Laguna Chiribital, Tab.
<i>Proteocephalus</i> sp.	<i>Micropterus salmoides</i>	Presa Vicente Guerrero, Tab.
(plerocercoide)	<i>Alloophorus robustus</i>	Lago de Pátzcuaro, Mich.
	<i>Atractosteus tropicus</i>	Laguna El Rosario, Tab.
	<i>Cichlasoma urophthalmus</i>	Estuario Celestún, Yuc.
	<i>Goodea atripinnis</i>	Lago de Pátzcuaro, Mich.
	<i>Allotoca diazi</i>	Lago de Pátzcuaro, Mich.
	<i>Ophisternon aenigmaticum</i>	Lago de Catemaco, Ver.
	<i>Potamarius nelson</i>	Presa La Angostura, Chis.
	<i>Cichlasoma pasionis</i>	Río Camellones Chontales, Chis.
	<i>Cichlasoma urophthalmus</i>	Mítza, Yuc.
	<i>Ictalurus meridionalis</i>	Presa Chicoasén, Chis.
	<i>Lepomis megalotis</i>	Laguna de Salinillas, Oax.
	<i>Atractosteus tropicus</i>	Río Jonuta, Tab.
	<i>Ictalurus meridionalis</i>	Río Jonuta, Tab.
	<i>Ictalurus dugesi</i>	Isla de los Alacranes, Chapala, Jal.
	<i>Ictalurus dugesi</i>	Chapala, Chapala, Jal.
	<i>Ictalurus dugesi</i>	San Antonio Tlayacapan, Jal.
	<i>Ictalurus meridionalis</i>	Río San Pedro, Balancán, Tab.
	<i>Ictalurus meridionalis</i>	Laguna Emiliano Zapata, Tab.
	<i>Atractosteus tropicus</i>	Laguna Emiliano Zapata, Tab.
	<i>Potamarius nelson</i>	Presa Chicoasén, Chis.
<i>P. torulosus</i>	<i>Cyprinus carpio</i>	C. A. La Rosa, Coah.

<sup>3</sup> Información obtenida de la base de datos del proyecto de Conabio U007: Actualización y depuración de la base de datos de la Colección Nacional de Helmintos.

**Tabla 1.** Listado de las especies de los géneros *Proteocephalus* y *Ophiotaenia* registradas en México.  
Continuación

<b>Especie</b>	<b>Huésped</b>	<b>Localidad</b>
<b>Anfibios</b>		
<i>Ophiotaenia filaroides</i>	<i>Rana montezumae</i>	Lago de Texcoco, Edo. de Mex.
	<i>Rana dunni</i>	Lago de Pátzcuaro, Mich.
	<i>Ambystoma tigrinum</i>	Laguna de Zumpango, Edo. de Mex.
	<i>Rana tarahumarae</i>	Yecora, Son.
<i>O. magna</i>	<i>Rana montezumae</i>	Xochimilco, D.F.
<i>O. filaroides</i>	<i>Rana montezumae</i>	Xochimilco, D.F.
<i>Proteocephalus</i> sp. (pleroceroide)	<i>Ambystoma dumerili</i>	Lago de Pátzcuaro, Mich.
<b>Reptiles</b>		
<i>O. perspicua</i>	<i>Nerodia erythrogaster</i>	Presa Rodrigo Gómez, Nvo. León.
	<i>Crotalus cinereus</i>	Tasquillo, Hgo.
<i>O. racemosa</i>	<i>Thamnophis melanogaster</i>	Lago de Pátzcuaro, Mich.
	<i>Thamnophis macrostemma</i>	Ciénaga de Lerma, Edo. de Mex.
	<i>Thamnophis macrostemma</i>	Xochimilco, D.F.
<i>P. micruricola</i>	<i>Micrurus diastema</i>	Valle Nacional, Oax.
<i>P. nattereri</i>	"Culebra roja"	Mapastepec, Chis.
<i>P. variabilis</i>	<i>Thamnophis eques</i>	San Pedro Tlaltizapán, Edo. de Mex.
	<i>Thamnophis melanogaster</i>	Lago de Cuitzeo, Mich.
	<i>Thamnophis melanogaster</i>	Lago de Pátzcuaro, Mich.
	<i>Thamnophis eques</i>	Lago de Pátzcuaro, Mich.
	<i>Thamnophis melanogaster</i>	Lago de Chapala, Jal.
	<i>Thamnophis eques</i>	Lago de Chapala, Jal.
	<i>Thamnophis melanogaster</i>	San Pedro Tlaltizapán, Edo. de Mex.
	<i>Thamnophis melanogaster</i>	Lago de Zacapu, Mich.
	<i>Thamnophis melanogaster</i>	Lago de Zirahuén, Mich.

## 1.2 Criterios morfológicos para la determinación de especies

La utilización de caracteres morfológicos para la identificación de los helmintos y en particular de proteocefálicos a distintos niveles es fundamental; la anchura y longitud de estructuras, la presencia o ausencia de órganos y el número de éstos, son algunas características utilizadas para su determinación.

A partir de un análisis de criterios para la diferenciación de las especies del género *Proteocephalus*, La Rue (1911;1914) dio paso al establecimiento de rasgos morfoanatómicos básicos con los que se han establecido la mayoría de las especies descritas (García 1993)<sup>2</sup>. Estas características son: la presencia de órgano apical en el escólex, la posición del poro genital en el margen de los proglótidos, la relación entre la longitud de la bolsa del cirro y el ancho de los segmentos, el número de testículos, el número de ramas uterinas y la apertura vaginal en el poro genital con respecto a la del aparato reproductor masculino.

Posteriormente, Harwood (1933), Freze (1965), y Brooks (1978a) adicionaron características como el desarrollo de la capa muscular longitudinal interna, la dimensión del escólex y el estróbilo, la forma del ovario, la disposición de las asas uterinas, el arreglo de los testículos, el tamaño de la oncósfera y las membranas que la envuelven, la presencia o ausencia de espinas tegumentarias y poros uterinos, entre otras más. Sin embargo, el uso de algunas de estas características se ve restringido, principalmente por la variabilidad intraespecífica que se puede encontrar y la dificultad para la observación de ciertos rasgos.

Más adelante, García (1993)<sup>2</sup>, propuso y empleó los siguientes rasgos como criterios diagnósticos a nivel específico: la longitud total del estróbilo, la presencia o ausencia del órgano apical (tipo y grado de desarrollo), la clase de vertebrado a la que parasitan, la relación entre la longitud de la bolsa del cirro y ancho de los segmentos maduros, la abertura de la vagina con respecto a la bolsa del cirro, la posición del poro genital en el margen del proglótido, distribución y número de testículos, el número de ramas uterinas y por último, la disposición de glándulas vitelógenas.

Finalmente, los estudios ultraestructurales de microtricos, espermatozoides y la oncósfera, pueden dar un mayor apoyo a la identificación específica, sin olvidar que la morfología de estructuras como el escólex -que en ocasiones puede presentar caracteres específicos en algunas taxa (Scholz *et al.*, 1998)-, forma y dimensiones del estróbilo, la

posición de los folículos vitelinos con respecto a la posición de la bolsa del cirro y la vagina, son caracteres con un gran peso en la determinación de especies además de que en algunos casos solo a través de la combinación de varios caracteres se hace posible la distinción morfológica entre taxa similares (Scholz y Hanzelová, 1998).

### 1.3 Caracteres moleculares

En general, se puede considerar que los estudios moleculares y los estudios morfológicos se complementan; los caracteres moleculares son útiles donde los morfológicos son limitados; éstos han servido para comparar hipótesis filogenéticas, que en algunos casos concuerdan con las establecidas o bien generan nuevas; por lo anterior, durante los últimos diez años, estos caracteres han sido muy utilizados en estudios sistemáticos. Otro aspecto interesante de los caracteres moleculares es que los productos resultantes de la expresión génica pueden ser alterados por el medio, mientras que el genoma generalmente no se modifica por condiciones ambientales (Hillis, 1987; Hillis y Moritz, 1990).

Los eucéstodos representan un problema para los sistématas en los estudios morfológicos por varias razones, entre las que se encuentran: la accesibilidad al material, la fragilidad de los organismos, descripciones incompletas o no estandarizadas e información aparentemente conflictiva derivada de varias fuentes de caracteres (Mariaux, 1996). Por ésto, los análisis con caracteres moleculares representan una herramienta importante para su estudio. A la fecha se han realizado estudios donde se aplican diferentes técnicas de biología molecular en este gran grupo (secuenciación de genes y análisis enzimáticos, entre otros); entre éstos destacan: el análisis de las relaciones evolutivas entre los ordenes de la Clase Cestoidea (Olson y Caira, 1999) o dentro de la Subclase Eucestoda (Mariaux, 1998), dentro del Orden Proteocephalidea (Zehnder y Mariaux, 1999), sobre la posición filogenética de tres de los ordenes de la subclase Eucestoda (Kodedová *et al.*, 2000) y sobre las relaciones filogenéticas de especies de los géneros *Taenia* (Okamoto, *et al.*, 1995), *Bothriocephalus* (Verneau, *et al.*, 1997) y *Proteocephalus* (Škeříková, *et al.*, 2001), por mencionar algunos.

Asimismo, comparaciones enzimáticas y de ADN han sido de gran ayuda tanto para la diferenciación de especies (De Chambrier *et al.*, 1992), como para la sinonimización de otras (Snábel *et al.*, 1994; Turceková y Kralová, 1995).

En cuanto a los géneros *Ophiotaenia* y *Proteocephalus*, los estudios moleculares han arrojado resultados que sugieren un posible origen polifilético (Zehnder y Mariaux, 1999; Kodedová *et al.*, 2000), sin embargo estos autores no abordaron directamente esta problemática, al referirse a niveles taxonómicos superiores. Actualmente para estos dos géneros existen secuencias en GenBank de siete y 21 especies respectivamente, correspondientes a los genes ribosomales 16S, 18S, 28S, citocromo oxidasa I y para el factor de elongación 1 alfa (Tabla 2).

**Tabla 2.** Números de acceso de las secuencias de algunos genes ribosomales y mitocondriales de especies pertenecientes a los géneros *Proteocephalus* y *Ophiotaenia* disponibles en el GenBank.

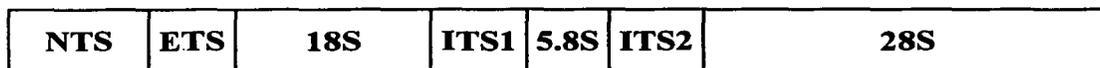
Especie	28S	18S	Col	16S	Factor 1a
<i>O. europaea</i>	AJ388598 <sup>1</sup>	Z98398 <sup>3</sup> Z98399 <sup>3</sup> Z98400 <sup>3</sup>		AJ389520 <sup>1</sup>	
<i>O. gallardi</i>	AJ388615 <sup>1</sup>			AJ389516 <sup>1</sup>	
<i>O. grandis</i>	AJ388632 <sup>1</sup>			AJ389514 <sup>1</sup>	
<i>O. jarara</i>	AJ388607 <sup>1</sup>		AJ275055 <sup>3</sup>	AJ389492 <sup>1</sup>	
<i>O. ophiodes</i>	AJ388620 <sup>1</sup>			AJ389493 <sup>1</sup>	
<i>O. paraguayensis</i>	AJ388629 <sup>1</sup>		AJ275052 <sup>3</sup>	AJ389506 <sup>1</sup>	
<i>O. sanbernardinensis</i>	AJ388637 <sup>1</sup>		AJ275049 <sup>3</sup>	AJ389511 <sup>1</sup>	
<i>P. ambloplitis</i>	AJ388633 <sup>1</sup>			AJ389505 <sup>1</sup>	
<i>P. chamelensis</i>	AJ275233 <sup>3</sup> AJ275234 <sup>3</sup>	Af267297 <sup>6</sup>		AJ275215 <sup>3</sup>	
<i>P. exiguus</i>	AJ388626 <sup>1</sup>	X99976 <sup>4</sup>		AJ389485 <sup>1</sup>	
<i>P. filicollis</i>	AJ388636 <sup>1</sup>	AF335506 <sup>7</sup>		AJ389484 <sup>1</sup>	
<i>P. hemiolopteri</i>	AJ388622 <sup>1</sup>				
<i>P. hobergi</i>	AJ275062 <sup>3</sup>			AJ275221 <sup>3</sup>	
<i>P. macrocephalus</i>	AJ388609 <sup>3</sup>	AF335507 <sup>7</sup>		AJ389487 <sup>1</sup>	
<i>P. midoriensis</i>	AJ388610 <sup>1</sup>			AJ389481 <sup>1</sup>	
<i>P. neglectus</i>	AF026116 <sup>5</sup>				
<i>P. osculatus</i>	AJ388619 <sup>1</sup>	AF335508 <sup>7</sup>		AJ389489 <sup>1</sup>	
<i>P. paraguayensis</i>		Z98392 <sup>3</sup> Z98393 <sup>3</sup> Z98394 <sup>3</sup>			
<i>P. percae</i>	AJ388594 <sup>1</sup>	AF335509 <sup>7</sup>		AJ389483 <sup>1</sup>	
<i>P. perplexus</i>	AJ275228 <sup>3</sup>	AF124472 <sup>2</sup>		AJ275216 <sup>3</sup>	AF124805 <sup>2</sup>
<i>P. pirarara</i>	AJ388616 <sup>1</sup>		AJ275054 <sup>3</sup>	AJ389513 <sup>1</sup>	
<i>P. plecoglossi</i>	AJ388606 <sup>1</sup>			AJ389490 <sup>1</sup>	
<i>P. pollanica</i>	AJ388599 <sup>1</sup>			AJ389486 <sup>1</sup>	
<i>P. renaudi</i>	AJ388638 <sup>1</sup>		AJ275043 <sup>3</sup>	AJ389503 <sup>1</sup>	
<i>P. sanbernardensis</i>		Z98395 <sup>3</sup> Z98396 <sup>3</sup>			
<i>Proteocephalus</i> sp	AJ275230 <sup>3</sup>			AJ275217 <sup>3</sup>	
<i>P. tetrastomus</i>	AJ388635 <sup>1</sup>	AF335510 <sup>7</sup>		AJ389488 <sup>1</sup>	
<i>P. torulosus</i>	AJ388601 <sup>1</sup>	AF335511 <sup>7</sup>		AJ389482 <sup>1</sup>	

Referencias: Zehnder y Mariaux, (1999)<sup>1</sup>; Olson y Cairn, (1999)<sup>2</sup>; Zehnder y Mariaux, no publicado<sup>3</sup>; Kralóva et al. (1997)<sup>4</sup>; Mollaret et al. (1997)<sup>5</sup>; Kodedová et al. (2000)<sup>6</sup>; Škeřtková et al. (2001)<sup>7</sup>.

### 1.3.1 ADN ribosomal (rDNA)

Las biomoléculas proveen un registro de la filogenia de los organismos, desde épocas recientes hasta los orígenes de la vida en la tierra, esto debido a la diversidad en tasas de cambio de diferentes porciones del genoma. Se han encontrado un gran número de genes con funciones bioquímicas fundamentales, comunes para todas las especies, que pueden ser secuenciados, alineados y analizados con el fin de estudiar las relaciones filogenéticas entre los organismos hasta la parte más basal del árbol de la vida (Hillis y Moritz, 1990).

El ADN ribosomal es una de éstas biomoléculas. En los eucariontes, el complejo ribosomal está constituido por tres genes (Figura 1): el 18S rDNA, gen que ha sido el más utilizado por involucrar las tasas de evolución más lentas dentro de los organismos y por lo tanto, se ha usado para tratar de encontrar eventos evolutivos ancestrales; el gen 5.8S, generalmente no es empleado en estudios filogenéticos debido a su tamaño relativamente pequeño y finalmente el gen 28S, que gracias a sus dominios de alta divergencia (las regiones D1 a la D18) es utilizado generalmente para reconstruir eventos evolutivos recientes. Entre estos genes, existen espaciadores de transcripción que poseen señales para procesar el RNA transcrito: un espaciador externo (ETS) está localizado donde comienza el gen 18S y dos espaciadores internos de transcripción (ITS1 e ITS2) separan los genes 18S, 5.8S y 28S. Estas regiones son las menos conservadas por lo que son utilizadas en estudios donde los grupos de interés están cercanamente emparentados. Finalmente, copias adyacentes repetidas del rDNA, son separadas por espaciadores de no-transcripción (NTS), también llamados espaciadores intergénicos (Hillis y Dixon, 1991).



**Figura 1.** Arreglo del ADN ribosomal eucarionte (modificado de Hillis y Dixon, 1991).

#### 1.4 Utilidad del gen ribosomal 28S a diferentes niveles taxonómicos

Para distinguir eventos evolutivos recientes es necesario utilizar regiones de DNA variables (Hillis y Dixon, 1991); el gen ribosomal 28S y en particular ciertas regiones poseen una tasa de cambio relativamente rápida. La subunidad 28S del rDNA es la de mayor tamaño y posee un complejo patrón de variaciones en la tasa de sustitución de nucleótidos; la variedad de dominios del gen provee un conjunto de indicadores internos que son los mejor situados para la evaluación de relaciones filogenéticas en intervalos de tiempo cortos y largos (Qu *et al.* 1988). Qu *et al.* (1986), enfocándose en el extremo 5' del gen ribosomal 28S de la molécula eucariota (cerca a 400 nucleótidos de longitud), utilizaron secuencias de representantes de vertebrados, invertebrados, levaduras y plantas; sus resultados indican variaciones en las tasas de sustitución de nucleótidos para el dominio D1 en comparación a las regiones que lo flanquean.

Barker *et al.* (1993), intentaron evaluar la utilidad del dominio D1 para realizar la inferencia filogenética entre familias distantes y cercanamente emparentadas y a la vez en cuanto a géneros y especies en la subclase Digenea. Sus resultados fueron pobres en el análisis por encima de la categoría de familia, en contraste, las secuencias de nucleótidos del dominio D1 son aparentemente útiles para inferir relaciones filogenéticas entre familias, géneros y algunas especies cercanamente emparentadas dentro de los digeneos.

Finalmente Littlewood y Johnston, (1995) utilizaron los dominios D1, D2 y D3, del gen ribosomal 28S, encontrando que resolvieron las relaciones entre cuatro especies de *Schistosoma* demostrando la utilidad del gen en especies congénicas.

En el estudio realizado por Zehnder y Mariaux (1999) para analizar la sistemática del orden Proteocephalidea, utilizaron fragmentos del gen ribosomal 28S y del 16S mitocondrial; sus resultados muestran a los géneros de nuestro interés, como grupos polifiléticos, señalando que algunas especies de *Proteocephalus* con distribución Paleártica llegan a agruparse. Posteriormente, Kodedová *et al.* (2000), utilizando parte del gen ribosomal 18S, obtienen resultados similares, señalando nuevamente el origen polifilético del género. Por otro lado, Škeříková *et al.* (2001) utilizando caracteres morfológicos y parte del gen Ribosomal 18S, encuentran que las especies europeas del género *Proteocephalus* forman un grupo monofilético por lo que sugieren que el género *Proteocephalus* está compuesto por individuos

de varios taxones, estableciendo que al menos deben existir dos grupos coincidiendo con su distribución: Paleártica y Neotropical.

En el presente trabajo se utilizó el gen ribosomal 28S con el fin de corroborar la identidad específica de algunos proteocefálicos parásitos de peces y reptiles, establecer sus relaciones de parentesco con otros miembros de la subfamilia y a partir de esto, inferir la utilidad de los caracteres moleculares para resolver la problemática taxonómica de los géneros *Proteocephalus* y *Ophiotaenia*.

## 2 OBJETIVOS

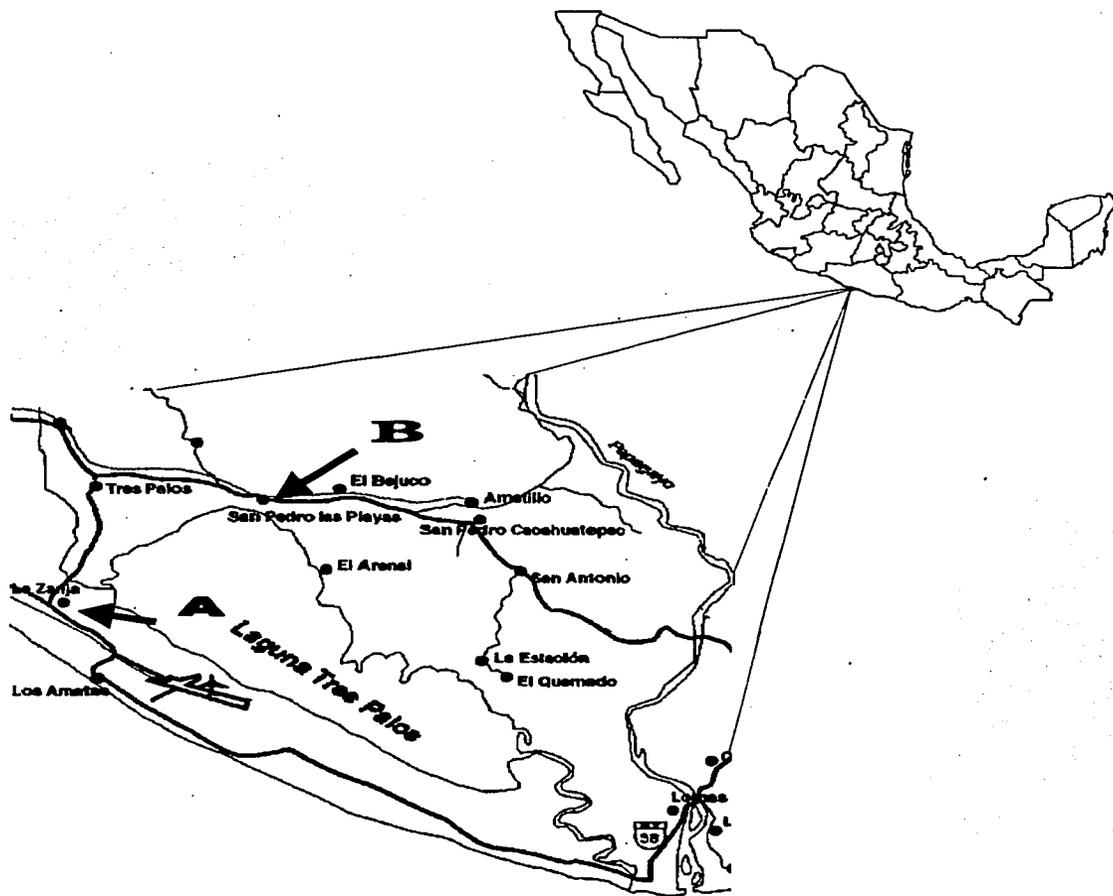
- Describir morfométricamente e identificar a los proteocefálicos colectados en tres especies de peces y un reptil, en la Laguna de Tres Palos, Acapulco, Gro.
- Comparar la secuencia parcial del gen ribosomal 28S de las especies estudiadas con las de otras especies de los géneros *Ophiotaenia* y *Proteocephalus* disponibles en Gen Bank, con el fin de conocer sus afinidades filogenéticas y con base en ellas inferir sobre la independencia de estos géneros.

### 3 ÁREA DE ESTUDIO

El sistema lagunar costero de Guerrero está formado por numerosos cuerpos de agua, de los cuales el mayor es la Laguna de Tres Palos, que se encuentra en la llamada Costa Chica, a una distancia de 25 kilómetros al sureste del puerto de Acapulco, dentro del municipio de Acapulco de Juárez (Figura 2). Se ubica a los 99° 37' y 99° 47' longitud oeste y los 16° 41' a los 16° 50' latitud norte; tiene una superficie de 48 kilómetros cuadrados aproximadamente y se comunica con el mar por medio de un canal meándrico de aproximadamente 10 kilómetros de longitud, además de la apertura de la barra, que ocurre algunos días una vez al año. Al extremo noroeste desemboca el río la Sabana proveniente de la Sierra Madre del Sur, que es la principal fuente de agua dulce, además de escorrentías y arroyos temporales; la laguna es de tipo oligohialino con variaciones dependientes de la temporada del año. Su longitud máxima es de 15.85 kilómetros, con un ancho máximo de 5.85 kilómetros y una profundidad máxima de siete metros (Diego-Pérez y Lozada, 1994).

El clima es cálido subhúmedo ( $A_w \{w\} ig$ ), con una temperatura media anual de 22° C, precipitación anual de 1200 mm, un régimen de lluvias en verano y una evaporación entre 1,900 y 2,000 mm (Diego-Pérez y Lozada, 1994). La laguna no presenta estratificación térmica, la temperatura del agua en la superficie está entre los 28.5° C y los 30° C, mientras que en el fondo el intervalo va de 28° C a 30° C; la penetración de luz es limitada; a profundidades entre los 30 y 50 cm, solo se dispone del 5% de la luz existente en la superficie; los valores de la concentración de oxígeno en la superficie van de 4 ml a 11ml/L, en el fondo la concentración va de 1ml a 4 ml; el pH tiene poca variación con tendencia a la neutralidad; la concentración de carbonato de calcio en general se encuentra entre los 100 y los 110 p.p.m. (Sevilla *et al.* 1980). La vegetación circundante la componen principalmente mangle, palmeras de coco, tule y gramíneas; el fitoplancton está representado por algas y cianobacterias. El zooplancton lo conforman protozoarios (sarcodina y ciliados), heliozoarios, rotíferos, crustáceos, copépodos, ostrácodos, anélidos, nemátodos, moluscos, celenterados y larvas de peces. En cuanto a la diversidad de peces, Yáñez-Arancibia (1978) registró 31 especies con una variación a lo largo del año en este número, llegando a disminuir hasta 19 especies, aunque el 54.9% de la ictiofauna total se encuentra durante todo el año. Las principales actividades socioeconómicas de la zona son la agricultura y la pesca; la laguna se encuentra

rodeada por comunidades, algunas son San Pedro las Playas, el Arenal, el Quemado, entre las cuales Tres Palos, La Poza y Plan de los Amates son las de mayor número de habitantes (Yokoyama, 1981)<sup>4</sup> (Figura 2).



**Figura 2.** Localización de la Laguna de Tres Palos Guerrero, y sitios de colecta de las culebras (A) y los peces (B).

<sup>4</sup> Yokoyama, K. A. M. 1981. La comunidad de aves nidificantes de la Laguna de Tres Palos Guerrero; un ejemplo de la problemática del uso de recursos naturales de México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 124 pp.

## 4 MATERIALES Y MÉTODOS

Durante el periodo comprendido entre marzo de 1999 y junio del 2000, se llevaron al cabo cinco colectas en la Laguna de Tres Palos, durante las cuales se obtuvieron diferentes especies de peces mediante la captura comercial que se realiza en las orillas de la laguna de Tres Palos en el poblado San Pedro las Playas. Estos fueron determinados con ayuda de literatura especializada (Castro-Aguirre *et al.*, 1999); En total se revisaron cuatro especies: *Ariopsis guatemalensis* (25), *Cichlasoma trimaculatum* (9), *Gobiomorus maculatus* (18), *Eleotris picta* (19).

Por otro lado, las tres culebras (*Leptodeira annulata*) se colectaron manualmente en el entronque de la carretera Acapulco-aeropuerto con la carretera 95 México-Acapulco, a pocos metros de la carretera que lleva a la laguna y de igual manera fueron identificadas con la ayuda de claves especializadas (Duellman, 1958) (Figura 2).

La disección de los peces se realizó mediante una incisión en la superficie ventral, desde el ano hasta la región de los opérculos, se extrajo el aparato digestivo, se colocó en una caja de Petri con solución salina al 0.65%, con ayuda de agujas de disección, se desgarró en toda su longitud y se revisó bajo el microscopio estereoscópico. Los céstodos encontrados fueron separados con pincel y colocados en solución salina al 0.65 %. La fijación de los gusanos se realizó de dos formas según el tipo de estudio al que se destinaron: para el análisis morfológico fueron colocados en formol al 4% caliente para relajarlos y se mantuvieron en este líquido, posteriormente se transfirieron a alcoholes graduales hasta llegar a alcohol al 70%; para el análisis molecular se fijaron en alcohol absoluto.

La extracción del aparato digestivo de las culebras se realizó mediante tres incisiones longitudinales de aproximadamente dos cm de largo, una de ellas a unos milímetros de la cabeza, la segunda aproximadamente a la mitad del cuerpo y la otra muy cerca de la cloaca; se hicieron cortes en ambos extremos del aparato digestivo y se extrajo por uno de los cortes hasta obtener el tubo digestivo completo, el cual se colocó en una caja de Petri con solución salina al 0.65%; de la misma forma, se desgarró con agujas de disección y se revisó bajo el microscopio estereoscópico. Los parásitos se colocaron en solución salina al 0.65%, para después fijarlos con los métodos descritos con anterioridad. Los valores de prevalencia y abundancia para los parásitos se presentan de acuerdo con Margolis *et al.* (1982).

Los cuerpos de las culebras fueron fijados con formol al 10% bufferado inyectado en la musculatura, al día siguiente se lavaron con agua durante veinticuatro horas y se colocaron en frascos de vidrio con alcohol 70%, los ejemplares fueron depositados en el Museo de Zoología Alfonso L. Herrera de la Facultad de Ciencias, UNAM y actualmente se encuentran en lista de espera para asignación de números de catálogo.

#### **4.1 Análisis Morfológico**

Para la descripción morfométrica de los organismos, se tiñeron previamente utilizando tres técnicas diferentes (Apéndice 1). Una vez teñidos se procedió a realizar el estudio morfológico, el cual consistió en la observación de las preparaciones permanentes bajo el microscopio óptico tomando medidas con un ocular calibrado milimétricamente y en la esquematización de sus principales rasgos con la ayuda de una cámara clara adaptada al microscopio óptico. Posteriormente, se realizó la descripción morfométrica y con ayuda de claves especializadas (Schmidt, 1986 y Arandas-Rego, 1994) la determinación a nivel genérico. Para la determinación específica, se comparó con descripciones de las especies del género, por lo que se realizó una búsqueda bibliográfica en el CAB Abstracts a partir de 1973 hasta la fecha, con la finalidad de obtener datos acerca de nuevas especies, redescripciones y/o nuevas combinaciones de especies dentro de cada género. Las medidas están dadas en milímetros; los promedios, desviaciones estándar (DS) y coeficientes de variación (CV) para cada uno de los caracteres se encuentran entre paréntesis.

Parte del material fijado en formol, se utilizó para efectuar cortes histológicos mediante inclusiones en parafina y tinciones con hematoxilina-eosina para observar la distribución de los órganos de los proglótidos maduros y grávidos, con relación a la musculatura longitudinal.

Para observar los huevos, se colocaron proglótidos grávidos en agua destilada durante veinte minutos, se desgarraron y se hicieron preparaciones temporales para dibujar y medir sus características bajo el microscopio.

## 4.2 Análisis molecular.

Para extraer el DNA genómico total de los ejemplares, se empleo el método básico de extracción de DNA (fenol-cloroformo) de acuerdo con Hillis *et al.* (1996), utilizando tres proglótidos por individuo. Posteriormente se evaluó la extracción en un un gel de agarosa al 1%. Una vez corroborada la presencia de DNA en las muestras, realizamos una reacción en cadena de la polimerasa (PCR); ésta técnica permite obtener in vitro, numerosas copias del fragmento del gen que deseamos utilizar. Para amplificar el fragmento del gen ribosomal 28S, se emplearon los primers 28SY 5'-CTAACCAGGATTCCTCAGTAACGGCGAGT-3' y 28SZ 5'-AGACTCCTTGGTCCG-TGTTTCAAGAC-3' (Hillis y Dixon, 1991). La PCR se llevó a cabo en volúmenes de 25µl, que contenían: templado de DNA (1.0µl), Buffer (2.5µl), dideoxinucleótidos (0.5 µl), MgCl<sub>2</sub> (0.8µl), Primer Z y Y (1.0µ respectivamente), Taq polimerasa (0.2µl) y finalmente agua destilada y esterilizada (19.0µl). Las muestras fueron sometidas a las siguientes condiciones en un termociclador marca Eppendorf: 94° C durante 1minuto, 35 ciclos de: 92° C durante 30 segundos, 55° C durante 30 seg y un paso final de 1:30 min a 72° C; por último se lleva a 4° C. Para evaluar el resultado de la PCR se corrió el total de la muestra de reacción en un gel de agarosa al 1% y se identificaron las bandas en un transiluminador (figura 12). Una vez obtenidos los fragmentos amplificados del gen ribosomal 28S, se procedió a la purificación del DNA. Para esto, se utilizó el kit QIAquick PCR Purification Kit, siguiendo las intrucciones del fabricante. La secuenciación de los fragmentos del gen ribosomal 28S, se llevó a cabo en un secuenciador automático Perkin-Elmer modelo 310. Las secuencias fueron leídas y traducidas a texto en el programa Chromas versión 1.43 (McCarthy, 1996-1997). El alineamiento de las secuencias obtenidas con aquellas de las especies de los géneros *Ophiotaenia* y *Proteocephlus* correspondientes al gen ribosomal 28S disponibles en GenBank (Tabla 1) se realizo manualmente en el programa XEsee versión 3.2 (Cabot y Beckenbach, 1998), el número de taxa fue de 29 y el total de caracteres fue de 1089 (Apéndice 2). El cálculo de la matriz de distancias entre las especies de ambos géneros, el análisis cladístico y la prueba de soporte de ramas, se realizaron en el programa PAUP\* (Phylogenetic Analyses Using Parsimony and other methods) Version 4.0b8 (Swofford, 1998); el tipo de búsqueda fue heurística bajo el criterio de máxima parsimonia utilizando Branch Swapping y el algoritmo tree-bisection-reconnection (TBR). El grupo externo fue

*Acanthotaenia* sp. (Arandas-Rego *et al.*, 1998; Zehnder y Mariaux, 1999; Kodedová *et al.*, 2000; Škeříková *et al.*, 2001) Los insertos fueron tomados por el programa como datos faltantes y no se asignó peso a algún carácter, ni relaciones de transiciones-transversiones. Por último se realizó una prueba de Bootstrap (1000 réplicas) para medir el soporte de ramas.

## 5 RESULTADOS

De las cuatro especies de peces estudiadas, únicamente *Ariopsis guatemalensis* (n =25, prevalencia 0.04%, abundancia promedio 2), *Eleotris picta* (n=19, 94.7%, 5.3) y *Gobiomorus maculatus* (n =20, 0.05%, 1) se encontraron parasitadas por céstodos; en las especies *Ariopsis guatemalensis* y *G. maculatus* solo se encontraron 2 y 1 individuos respectivamente, mientras que de *E. picta* se colectaron la mayoría de los parásitos.

Las culebras se encontraron parasitadas por siete ejemplares del género *Proteocephalus* (3, 2 y 2 individuos respectivamente).

A continuación se presentan las descripciones morfométricas de las especies de céstodos estudiadas, seguidas de una breve discusión taxonómica comparativa para cada una y finalmente se analizarán y discutirán sus afinidades filogenéticas con base en las secuencias moleculares obtenidas y las disponibles para otras especies en GenBank.

### 5.1 Descripciones Morfométricas

Clase Cestoidea Rudolphi, 1808

Subclase Eucestoda Schmidt, 1986

Orden Proteocephalidea Mola, 1928

Familia Proteocephalidae La Rue, 1911

Subfamilia Proteocephalinae Mola, 1929

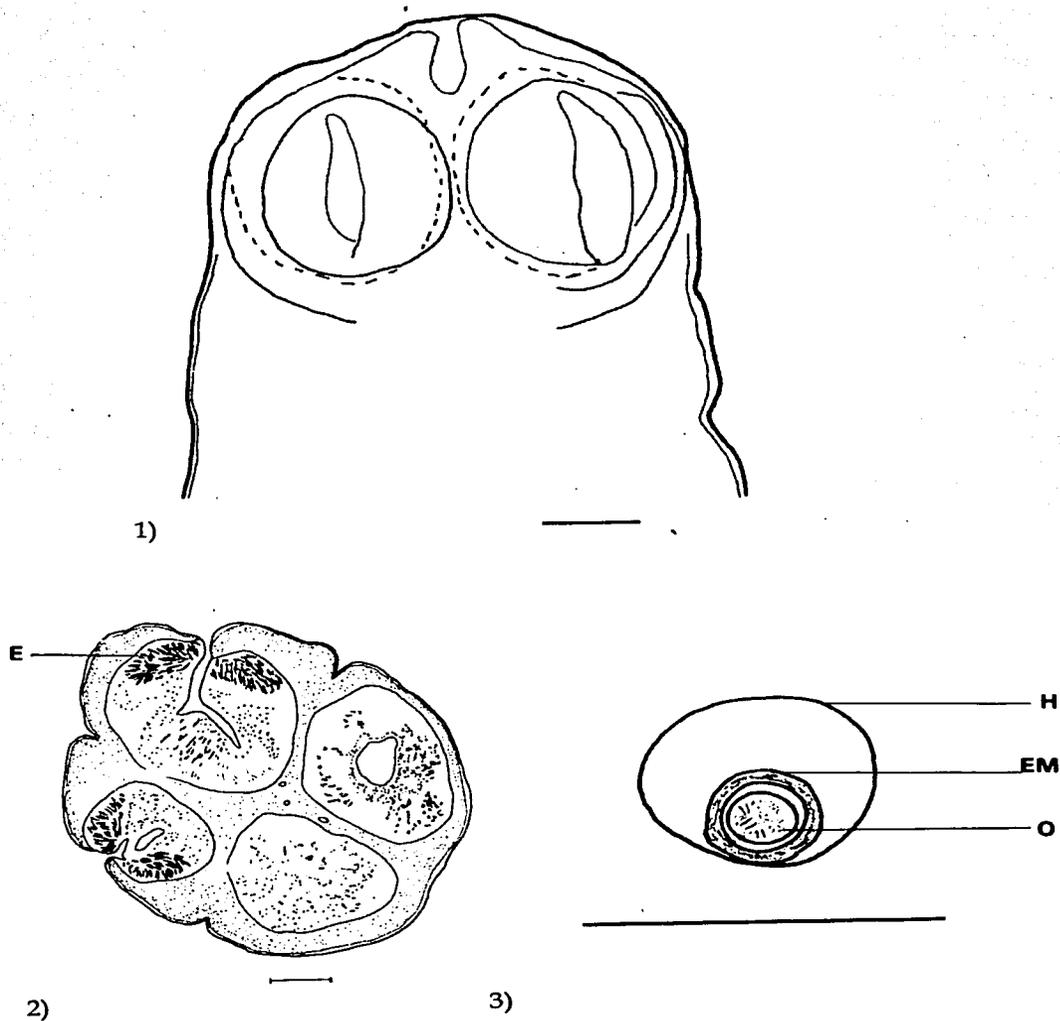
Género *Proteocephalus* Weinland, 1858

*Proteocephalus chamelensis* Pérez-Ponce de León, Brooks y  
Berman, 1995

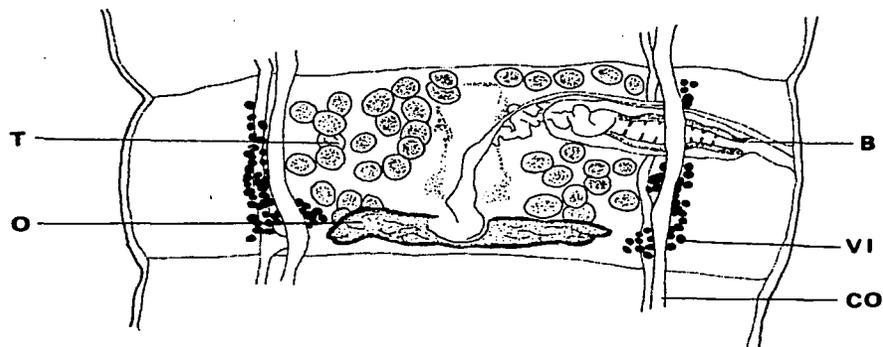
Redescripción basada en siete ejemplares completos (figuras 4, 5, 6 y 7). Gusanos de entre 11.2- 31 (19.77, SD 8.51, CV 43.0, n = 7) longitud. Estróbilo acraspedota. Tegumento cubierto de microtricos y células de contenido granular en el escólex y estrobilo. Ancho del escólex al nivel de las ventosas 0.753-0.835 (0.81, SD 0.042, CV 5.5, n =7); separado de los proglótidos por un cuello de tamaño variable, 1.096-3.151 (1.957, SD 0.669, CV 37.7, n =7). Escólex con órgano apical y cuatro ventosas semicirculares, laterales, simples y presentando

un esfínter, con un ancho de 0.26-0.411(0.301, SD 0.03, CV 10.7, n = 28) y largo de 0.301-0.427 (0.378, SD 0.036, CV 9.9, n =28). Proglótidos inmaduros más anchos que largos; 0.621-0.999 (0.793, SD 0.058, CV 7.4, n = 89) de ancho, por 0.082-0.479 (0.224, SD 0.095, CV 42.5, n = 89) de largo. Relación entre el largo y ancho de los proglótidos inmaduros 1:1.65-9.33 (4.21 SD 1.86 CV 44.3 n =87). Proglótidos maduros más anchos que largos; largo 0.246 - 0.762 (0.443, SD 0.117, CV 26.5, n =63), ancho 0.342 - 1.054 (0.834, SD1.122, CV 14.6, n = 63). Relación entre el largo y ancho de los proglótidos maduros 1:0.55-3.22 ( 1:2.095, SD 0.571, CV 27.2, n = 63). Testículos medulares, ovalados, distribuidos en dos campos ligeramente diferenciados debido a la convergencia de éstos en la región anterior de los proglótidos. De 37-76 (60.9, SD 10.96, CV 18.0, n =20) en número, distribuidos 5 - 14 (9.85, SD 3.328, CV 15.4, n =20) preporales, 8-27 (19.05, SD 5.345, CV 33.7, n =20) postporales y 22- 39 (32, SD4.941, CV 28.0, n =20) aporales; de 28-52.5 (38.5, SD 7.14, CV 18.5, n =24) ancho y 31.5-59.5 (42.8, SD 8.74, CV 20.6, n =24) de largo. Bolsa del cirro entre los conductos osmorreguladores ventral y dorsal, con una anchura de 0.063 -0.332 (0.102, SD0.04, CV 39.5, n =43) y longitud de 0.196- 0.437 (0.31, SD 0.611, CV 19.7, n = 43); dentro de la ésta se encuentran el conducto eyaculador enrollado y el cirro; radio de la bolsa del cirro con relación al ancho del proglótido: 1:1.063-5 (1:2.99, SD 0.658, CV 22.0, n = 43). Conducto deferente enrollado. Poro genital alternado irregularmente al final del primer tercio de los proglótidos. Vagina anterior con relación a la bolsa del cirro, provista de musculatura en su porción terminal (*pars copulatrix*). Ovario medular, situado en la región posterior de los proglótidos; bilobulado, con un ancho de 0.274-1.096 (0.557, SD 0.261, CV 46.9, n =56); lóbulos extendidos sin llegar a los canales osmorreguladores. En los proglótidos maduros el útero se encuentra preformado, las glándulas vitelógenas medulares se hallan distribuidas en dos bandas laterales, sin que se encuentren interrumpidas por la bolsa del cirro y llegan hasta la región posterior del ovario, la mayoría de las veces con tendencia a dirigirse hacia él. Proglótidos grávidos generalmente más anchos que largos (aproximadamente entre un 30 y 40% fueron ligeramente más anchos que largos), ancho 0.383- 0.959(0.780, SD 0.134, CV 17.2, n = 63), largo 0.479-1.082 ( 0.801, SD 0.132, CV 16.4, n = 63), con un radio (largo en ancho) 1: 1- 1.89 (1.092, SD 0.194, CV 17.8, n = 63). Testículos en número reducido y en degeneración. Útero medular central, ocupando un 7% - 67.7% del ancho del proglótido, con un número variable de dos a cuatro bolsas o sacos sin poro ventral. La envoltura hialina del

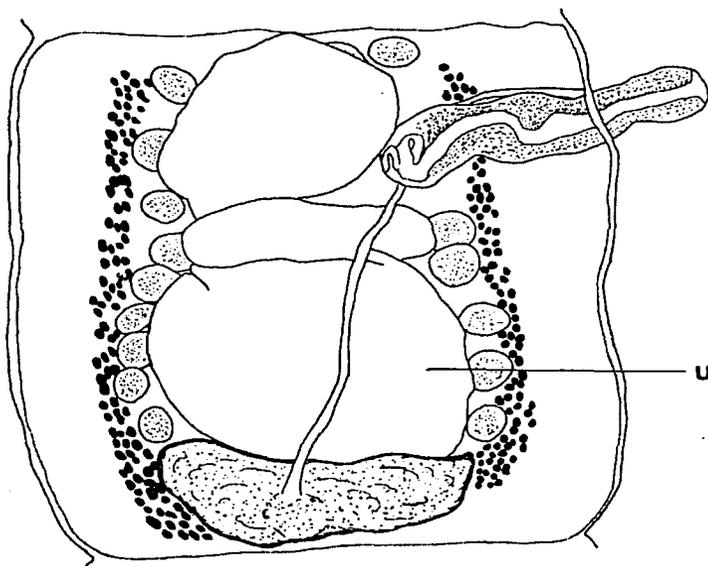
huevo tiene un diámetro de 0.0595-0.0735 (0.0665, SD 0.0049, CV 7.2, n = 21); embrióforo con diámetro de 0.0245-0.0385(0.0325, SD 0.0045, CV 13.9, n= 31), la oncósfera mide 0.014-0.021(0.017, SD 0.0016, CV 9.2, n = 29) de diámetro.



**Figura 4.** *Proteocephalus chamelensis* 1) Morfología del escolex. 2) Corte transversal del mismo a la altura de las ventosas (E= esfínter) 3); Huevo (H= envoltura hialina, Em= embrióforo, O= oncósfera). Escala = 0.1 mm.

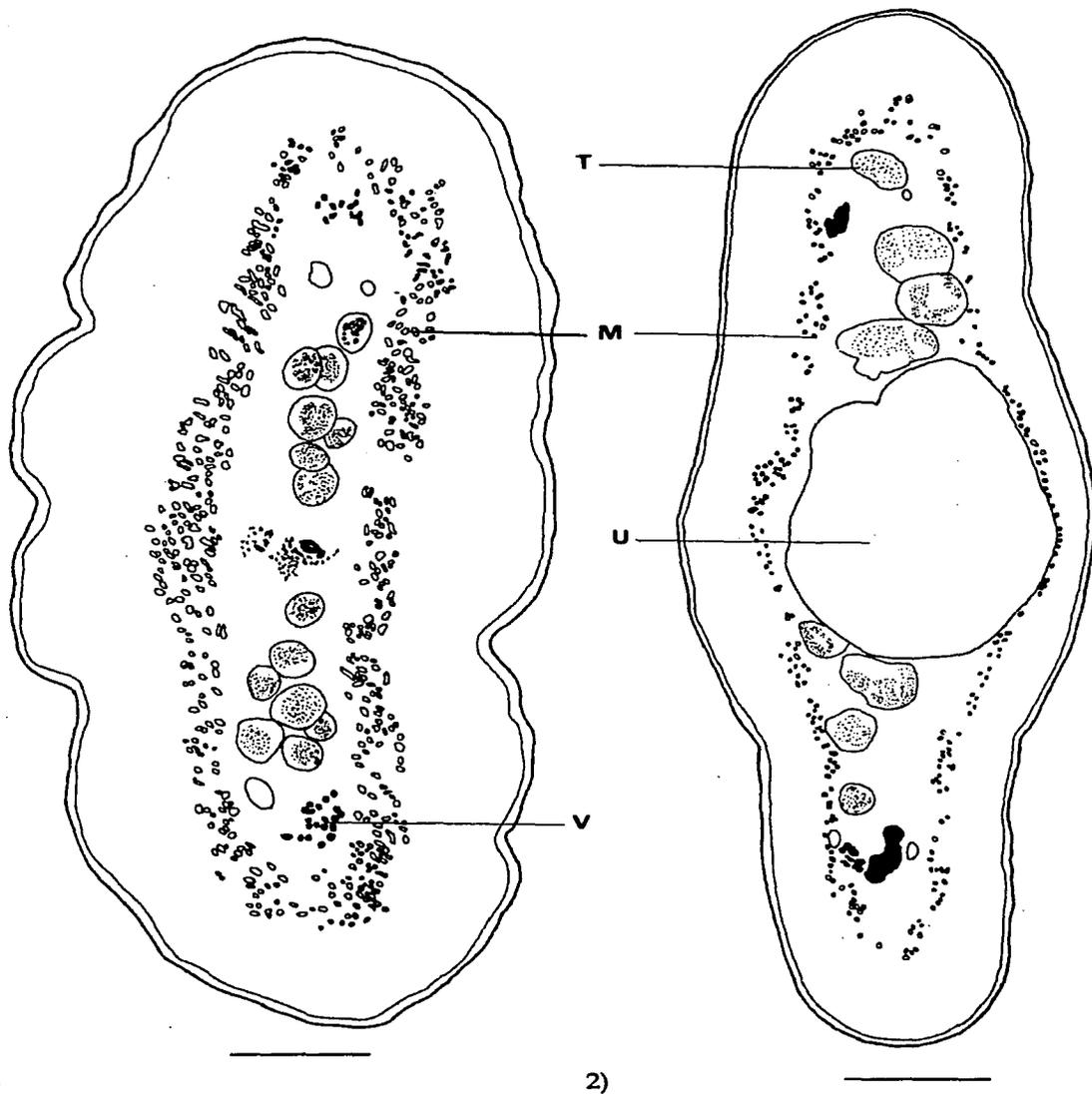


1)



2)

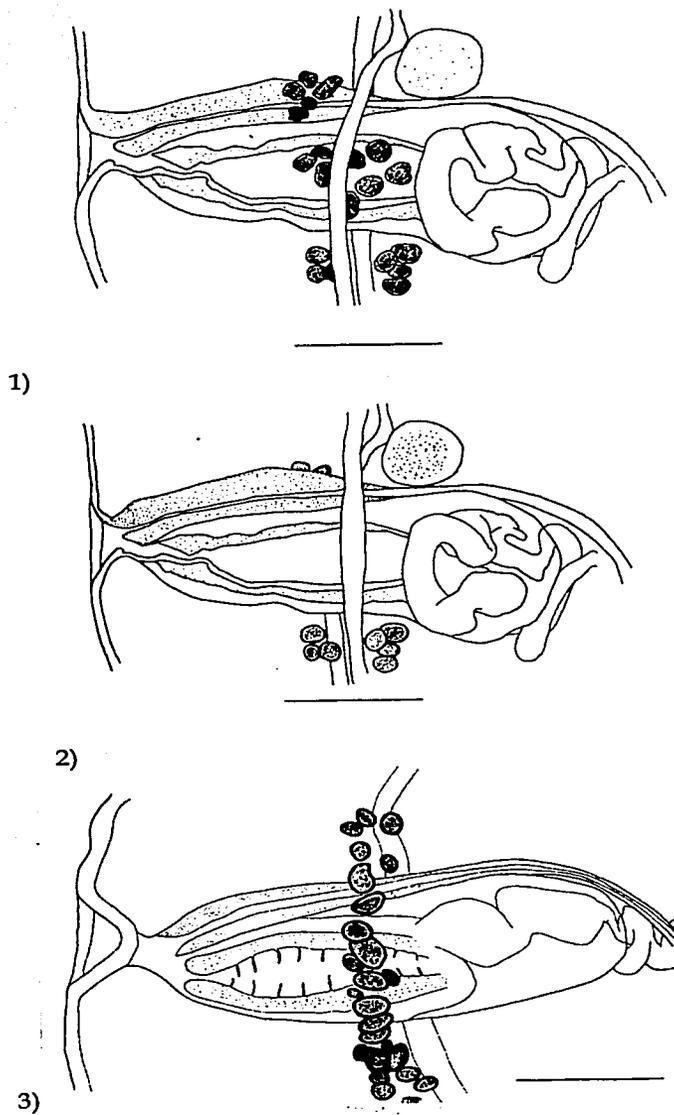
Figura 5. *Proteocephalus chamelensis* 1) Proglótidos maduros (T= testículos, O= ovario, VI= glándulas vitelógenas, B=bolsa del cirro, CO= conductos osmorreguladores); 2) Proglótidos grávidos (U= útero). Escala = 0.2 mm.



1)

2)

**Figura 6.** *Proteocephalus chamelensis* 1) Corte transversal de proglótidos maduros (T= testículos V= glándulas vitelógenas); 2) Corte transversal de proglótidos grávidos (U= útero, M= musculatura longitudinal).



**Figura 7.** *Proteocephalus chamelensis* 1) Detalle de la bolsa del cirro y vagina, vista dorsal; 2) vista ventral y *Proteocephalus chamelensis* (paratipo) 3) Vista dorsal. Escala = 0.2 mm.

## Discusión

Weinland en 1858 erigió al género *Proteocephalus* para incluir en él a céstodos parásitos de peces y anfibios; el primer proteocefálico, descrito por Muller en 1780 como *Taenia percae*, fue transferido posteriormente a *Proteocephalus* (La Rue, 1911). A partir de entonces, se han registrado una gran cantidad de especies en todo el mundo, cuyo número de acuerdo con la búsqueda bibliográfica retrospectiva que realizamos asciende a 115 especies para el Continente Americano.

Con base en la morfometría de nuestros ejemplares y de acuerdo con la descripción realizada por Pérez-Ponce de León, *et al.* (1995) para *P. chamelensis*, incluimos en ésta el material colectado en algunos peces de la Laguna de Tres Palos, ya que sus principales rasgos coinciden plenamente. Sin embargo, dos características presentaron diferencias con la descripción original: la primera es la musculatura vaginal, la cual se describió originalmente como un esfínter, mientras que para nuestros organismos se observa como "*pars copulatrix*" (conjunto de fibras musculares en la región terminal de la vagina, sin formar un anillo circular); para esclarecer la naturaleza de este carácter se revisó el material tipo de *P. chamelensis* depositado en la Colección Nacional de Helminfos (CNHE 2477 y 2478), en los que se observó una disposición similar a la exhibida por nuestro material, concluyendo que ninguno de los ejemplares tipo presenta esfínter vaginal. La segunda diferencia que encontramos, es que los ejemplares colectados presentan "sacos" o "bolsas uterinas", a diferencia de las ramas uterinas descritas para la especie por Pérez-Ponce de León *et al.* (1995). De la misma manera, este carácter se corroboró en el material tipo, y se encontró que ninguno de los ejemplares de la serie presenta ramas uterinas típicas, de manera similar a los ejemplares provenientes de Tres Palos.

Por otro lado, las diferencias morfométricas existentes entre nuestros ejemplares y *P. chamelensis* son mínimas (Tabla 3) lo que ratifica nuestra identificación. La variabilidad intraespecífica debe interpretarse cuidadosamente, ya que algunas especies del género han demostrado poseer variaciones morfométricas que aparentemente son suficientes para considerarlas como especies independientes cuando en realidad no lo son. Un ejemplo lo representan *P. exiguus*, *P. neglectus* y *P. pollanicola*, quienes recientemente se han sinonimizado con *P. longicollis* mediante un análisis más profundo combinando morfometría e isoenzimas (Scholz y Hanzelová, 1998).

Un elemento más que nos permitió corroborar la identidad de nuestros ejemplares, es la secuencia parcial del extremo 5' del gen ribosomal 28s. Este fragmento resulto con un 97.3% de similitud (26 pares de bases de diferencia), con respecto a la secuencia obtenida para *P. chamelensis* proveniente de Chamela (Zehnder y Mariaux, 1999). Esto ratifica nuestra determinación morfológica, ya que otras especies del género como *P. exiguus*, *P. neglectus* y *P. pollanicola*, que exhiben entre un 97.1% y 96.4% de similitud en este fragmento, estas especies han sido sinonimizadas con *P. longicollis* mediante un análisis más profundo de sus rasgos (Scholz *et al.*, 1998). Con base en el estudio morfológico, ampliamos el conocimiento sobre la variabilidad de la especie en rasgos como: la longitud del estróbilo, largo y ancho de las ventosas, el largo y ancho de los proglótidos inmaduros, ancho de proglótidos maduros, número total y diámetro de los testículos, largo y ancho de la bolsa del cirro, relación de la bolsa del cirro y ancho del proglótido, largo y ancho de los proglótidos grávidos. La morfometría para los proteocefálicos encontrados en peces en este estudio se resume en la Tabla 3, donde se muestra el contraste de las dimensiones y estructuras entre estos y *P. chamelensis*. Asimismo, se amplía la distribución geográfica de la especie y su espectro hospedatorio.

De las especies americanas del género, solo 14 presentan la distribución testicular en dos campos unidos anteriormente, similar a la exhibida por nuestros ejemplares: *P. testudo* Magath, 1924; *P. fragilis* Essex, 1929; *P. amphiume* Zelif, 1932; *P. agkistrodontis* Harwood, 1933; *P. amphiumicola* Brooks, 1978; *P. aberrans* Brooks, 1978; *P. rhamdiae* Holcman-Spector y Mañe-Garzon, 1988; *P. bagri* Holcman-Spector y Mañe-Garzon, 1988; *P. catzeflisi*, De Chambrier, Vaucher y Renaud, 1992; *P. renaudi* de Chambrier y Vaucher, 1994; *P. sophiae* De Chambrier y Arandas-Rego, 1994; *P. brooksi* García-Prieto, Rodríguez y Pérez Ponce de León, 1996; *P. regoi* de Chambrier, Scholz y Vaucher, 1996; *P. manherti* De Chambrier y Vaucher, 1999.

Nuestros ejemplares presentan un órgano apical, por lo que difieren de *P. rhamdiae*, *P. renaudi*, *P. brooksi*, *P. bagri*, *P. testudo*, *P. fragilis*, *P. aberrans*, *P. amphiume* y *P. agkistrodontis*, que carecen del mismo; *P. manherti*, *P. regoi*, *P. catzeflisi* y *P. sophiae* se distinguen de nuestro material porque en estas especies la abertura vaginal ocurre anterior y posterior con relación a la bolsa del cirro, mientras que en el material de Tres Palos siempre se presenta anterior. Adicionalmente por la disposición medular de las glándulas vitelógenas se

diferencian de *P. catzeflisi* y *P. sophiae*, que exhiben un arreglo paramuscular, no observado en nuestro material; por último nuestros ejemplares se distinguen de *P. amphiumicola* porque ésta presenta promedio testicular menor (99 vs. 172) y esfínter vaginal, ausente en nuestro material.

Huésped: *Eleotris picta*, *Ariopsis guatemulensis* y *Gobiomorus maculatus*.

Hábitat: Intestino anterior y medio.

Localidad de Colecta: San Pedro las Playas, Laguna de Tres Palos, Municipio Acapulco de Juárez, Guerrero, México.

Fecha: 12 de diciembre de 1999

CNHE: Preparaciones con número de catálogo 4395,4396 y 4397; viales 4401 (formol 5%) y 4402 (OH 100%)

**Tabla 3.** Comparación de caracteres entre *Proteocephalus chamelensis* en ambas localidades.

Estructura	Tres Palos, Guerrero	Chamela, Jalisco
Órgano apical	Presente	Presente
Longitud estróbilo	11.2-31 (19.77)	15-57 (34.8)
Ancho escolex	0.753-0.835 (0.81)	0.737-1.375 (0.916)
Largo ventosas	0.301-0.427 (0.378)	0.312-0.437 (0.371)
Ancho ventosas	0.26-0.411 (0.301)	0.250-0.300 (0.277)
Largo de los proglótidos inmaduros	0.082-0.479 (0.225)	0.137-0.450 (0.295)
Ancho de los proglótidos inmaduros	0.621-0.999 (0.793)	0.850-1.425 (1.081)
Radio de los proglótidos inmaduros	1:1.65-9.33 (1:4.21)	1:2.12-5.68 (1:3.73)
Largo de los proglótidos maduros	0.246-0.762 (0.443)	0.200-0.587 (0.363)
Ancho de los proglótidos maduros	0.342-1.054 (0.834)	1.062-2.162 (1.301)
Radio de los proglótidos maduros	1:0.55-3.22 (1:2.095)	1:1.9-6.9(1:4.17)
Testículos prepocales	5 - 14 (9.85)	(10)
Testículos postporales	8-27 (19.05)	(22)
Testículos apocales	22- 39 (32)	(33)
Testículos totales	37-76 (60.9)	55-81(72)
Diámetro de testículos	ancho 38.5; largo 42.28	40-50 (45)
Largo de la bolsa cirro	0.196- 0.437 (0.31)	0.250-0.462 (0.345)
Ancho de la bolsa cirro	0.063 -0.332 (0.102)	0.120-0.207 (0.150)
Relación largo de la bolsa del cirro-ancho del proglótido	1:1.063- 5 ( 1:2.99)	1:3.2-5 (1:3.79)
Posición de la vagina	Anterior	Anterior
Musculatura vaginal	"Pars copulatrix"	"Pars copulatrix"*
Distribución de glándulas vitelógenas	A todo lo largo del proglótido	A todo lo largo del proglótido
Largo de los proglótidos grávidos	0.383- 0.959 (780)	0.560-0.970 (0.730)
Ancho de los proglótidos grávidos	0.479-1.082 ( 0.801)	1800-2110 (1500)
Radio de los proglótidos grávidos	1: 1- 1.89 (1.092)	1.3-3.7 (1:2.11)
Útero	En forma de bolsas o sacos.	En forma de bolsas o sacos.**
Glándulas vitelógenas a nivel del cirro	Presentes	Presentes
Posición del poro a lo largo del proglótido	25%	22-26(25%)
Arreglo de glándulas vitelógenas	A lo largo del proglótido	A lo largo del proglótido

\* revisado en el holotipo, originalmente descrito como esfinter, \*\* revisado en el holotipo, originalmente descrito como 3 a 7 ramas uterinas a cada lado.

Género *Proteocephalus* Weinland, 1858

*Proteocephalus* sp.

Descripción basada en cuatro ejemplares completos (figuras 8, 9, 10 y 11). Largo total entre 32.4 y 117.2 (85.3, SD 46.29, CV 54.3 n =4). Estróbilo acraspedota. Tegumento cubierto de microtricos y células de contenido granular en todo el cuerpo como en el escólex. Ancho del escólex al nivel de las ventosas 0.16-0.21 (0.19, SD 0.02, CV 10.5, n =4), separado de los proglótidos por un cuello de tamaño variable, 1.2-2.88 (2.04, SD 0.6, CV 29.5, n =4). El escólex, carente de órgano apical, presenta cuatro ventosas semicirculares, simples, con un ancho de 0.035-0.07 (0.063, SD 0.009, CV 14.6, n = 16) y largo de 0.063-0.077 (0.07, SD 0.004, CV 5.0, n = 16). Proglótidos inmaduros siempre más anchos que largos; 0.54 – 2.0 (1.97, SD 0.45, CV 38.4, n =355).de ancho, por 0.0108 – 0.0671 (0.32, SD 0.12, CV 21.8, n = 355) de largo. Relación de los proglótidos inmaduros (largo en ancho) 1:1.02- 7.54 (3.33, SD 1.26, CV 38.0, n =355). Proglótidos maduros de igual manera siempre más anchos que largos; largo de 0.45 – 1.12 (0.69, SD 0.18, CV 26.2, n = 39), ancho 1.28 – 1.6 (1.5, SD 0.8, CV 5.6, n = 39). Relación de los proglótidos (largo en ancho) 1:1.25 – 3.27 (2.3, SD 0.39, CV 16.9, n = 39). La musculatura longitudinal es muy delgada. Testículos medulares, ovalados, dispuestos en dos campos diferenciados. De 124 – 279 (171.52, SD 24.5, CV 14.2, n = 33) en número, distribuidos 15 – 27 (21.21, SD 3.74, CV 17.6, n =33) prepocales, 43 – 87 (59.94, SD 9.78, CV 16.3, n = 33) postocales y 61 – 127 (90.36, SD14.24, CV 15.7, n =33) apocales; con un largo de 0.024– 0.059 (0.043, SD 0.006, CV 15.0, n = 312) y ancho de 0.175 – 0.049 (0.29, SD 0.005, CV 18.8, n = 312). La bolsa del cirro se encuentra entre los conductos osmorreguladores ventral y dorsal, con un ancho de 0.038 – 0.095 (0.062, SD 0.014, CV 22.2, n = 38) y largo de 1.07 – 1.51 (1.26, SD 0.08, CV 32.6, n = 38); dentro de ésta se encuentran el conducto eyaculador y el cirro; radio de la bolsa del cirro con relación al ancho del proglótido 1:4.3 – 7.1 (1:5.7, SD 0.54, CV 9.5, n = 38). Conducto deferente enrollado. Poro genital alternado irregularmente en el primer tercio de los proglótidos. Vagina dorsal con relación a la bolsa del cirro, provista de musculatura en su porción terminal (pars copulatrix). Ovario medular, dorsal, situado en la región posterior de los proglótidos, bilobulado, lóbulos “aplanados” con un ancho de 1.07 – 1.51 (1.24, SD 0.08, CV 6.3, n=41), extendidos más allá de los conductos osmorreguladores. Útero preformado en los proglótidos maduros; glándulas

vitelógenas en dos bandas laterales a lo largo del proglótido, sobrepasan la región anterior del ovario parcialmente interrumpidas por la bolsa del cirro. Proglótidos grávidos más anchos que largos, ancho 1.36 – 1.8 (1.62, SD 0.09, CV 5.5, n = 101), largo 0.8 – 1.2 (0.86, SD 0.17, CV 19.8, n = 101), con una relación largo en ancho de 1:1.28 – 3.15 (2.06, SD 1.55, CV 75.0, n = 101). Testículos, en número reducido y en degeneración. Útero medular, central, ocupa un 22% - 50% (34.5%, SD 66.8%, CV 19.7, n = 69) del ancho del proglótido, con un número variable de ramas totales entre 19–62 (43.01, SD 6.785, CV 15.7, n = 69), poro ventral casi en la totalidad del largo del proglótido; relación del ancho del útero en el ancho del proglótido 1.99 - 5.42 (3.01, SD 0.65, CV 21.6, n = 69). Los huevos poseen una envoltura hialina con diámetro de 0.069-0.097 (0.081, SD 0.07, CV 8.7, n = 18), el embrióforo mide 0.026- 0.032 (0.029 SD 0.001 CV 6.1 n =18), la oncósfera 0.018-0.024 (0.02, SD 0.001, CV 8.7, n =18) y ganchos con un largo de 0.007-0.008 (0.007, SD 0.0005, CV 7.1, n = 52).

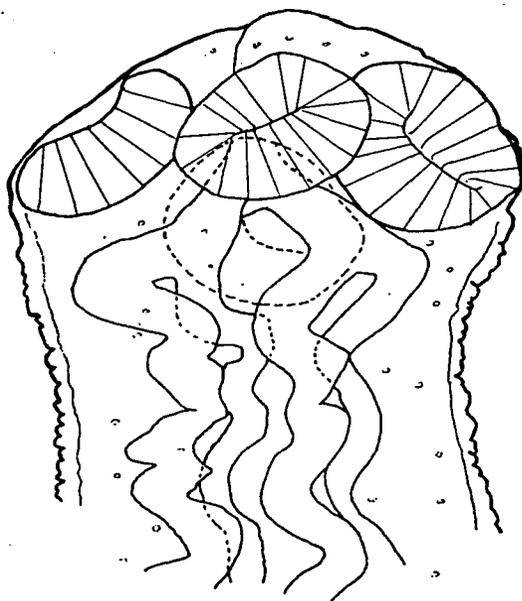
Huésped: *Leptodeira annulata*

Hábitat: Intestino anterior y medio.

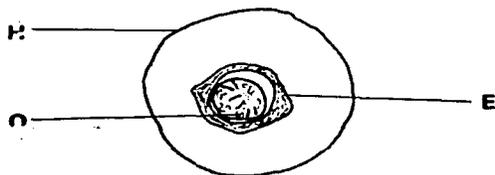
Localidad de colecta: Carretera Acapulco-Aeropuerto, entronque con la carretera México-Acapulco, Acapulco, Guerrero, México.

Fecha: 19 de Octubre de 1999

CNHE: Preparaciones con número de catálogo 4400 y 4401, viales 4403 (formol 4%) y 4404 (OH 100%)



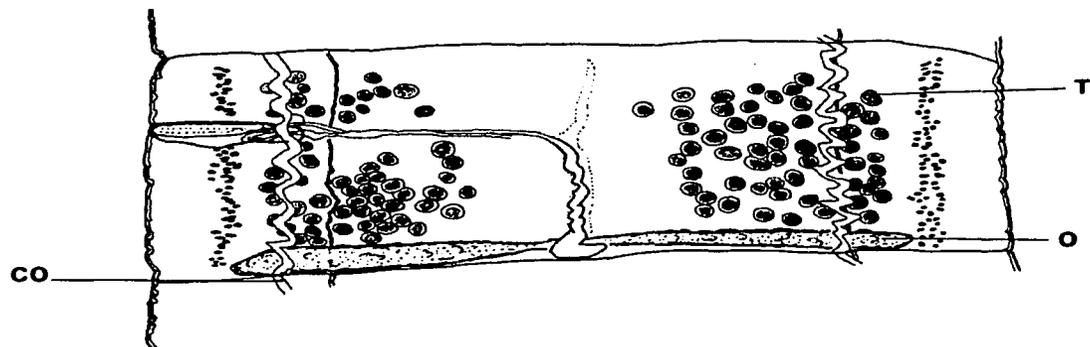
1)



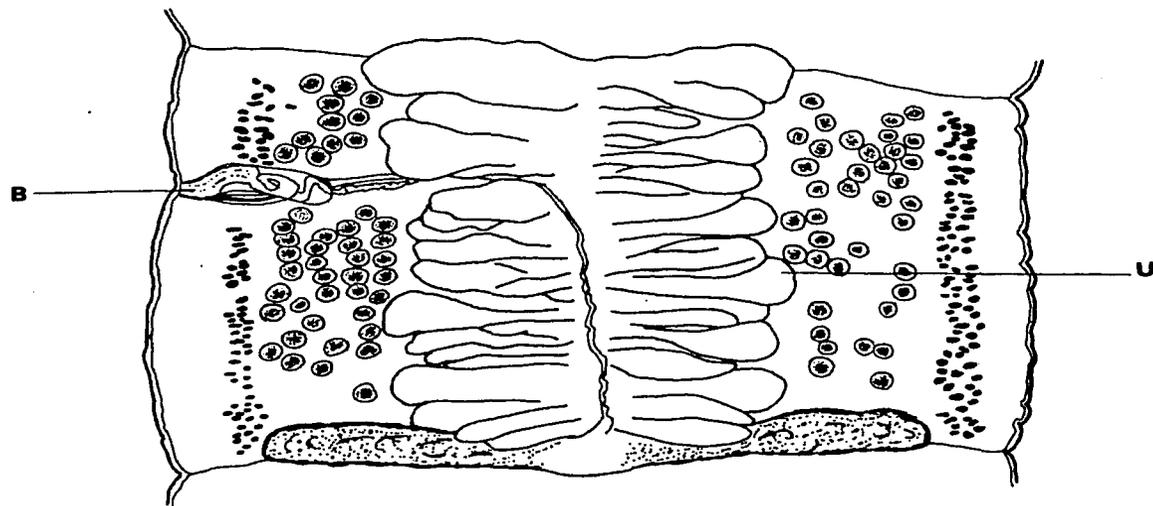
2)



Figura 8. *Proteocephalus* sp., Escolex (A) y huevo (B) (H, envoltura hialina; E, embrióforo; O, oncósfera). Barra = 0.1mm.

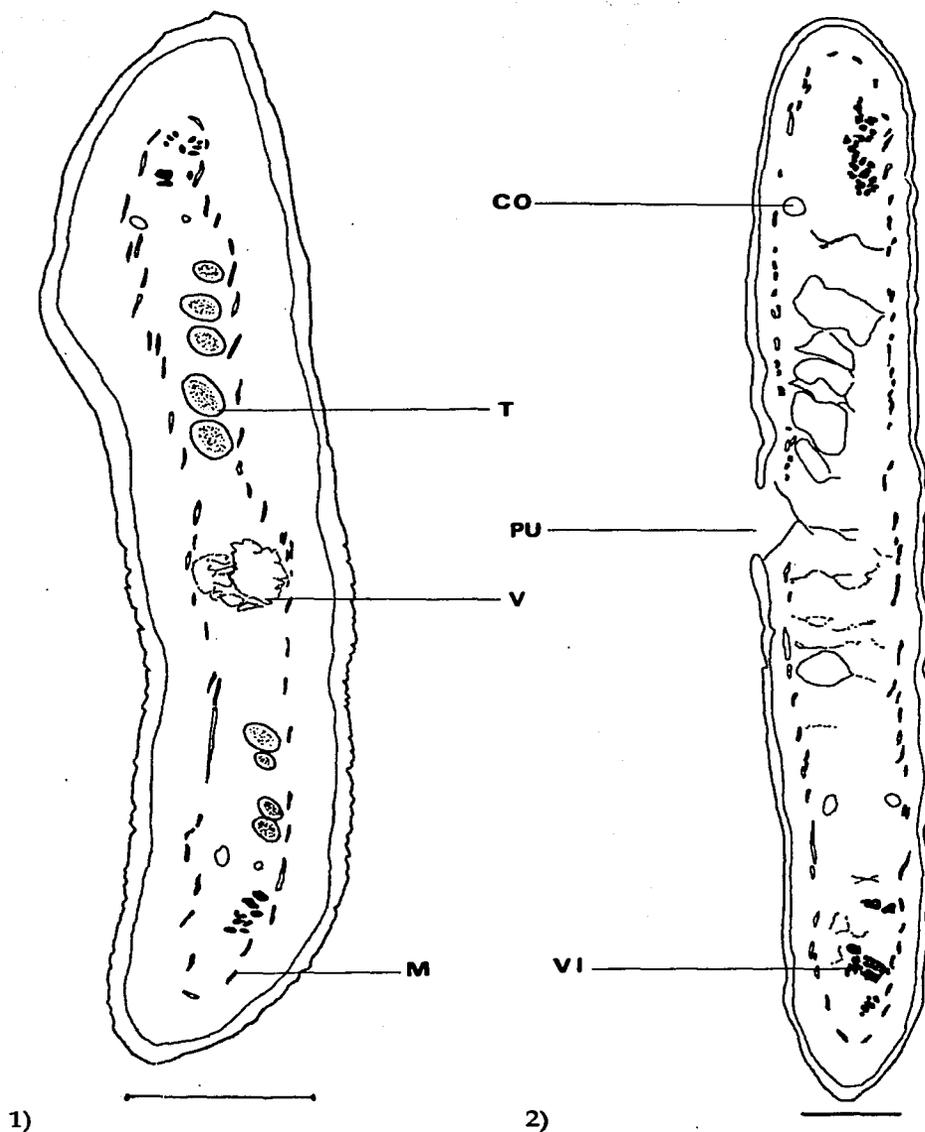


1)



2)

Figura 9. *Proteocephalus* sp. 1) Proglótidos maduros (T= testículos, O= ovario, CO= conductos osmoreguladores); 2) Proglótidos gravidos (U= útero B= bolsa del cirro). Escala = 0.2 mm.



**Figura 10.** *Proteocephalus* sp. 1) Corte transversal de proglótidos maduros (CO= conducto osmorregulador, M= musculatura longitudinal, T= testículos); 2) Corte transversal de proglótidos gravidos (PU= poro uterino; VI= glándulas vitelógenas, V= conducto vaginal) Escala = 0.1mm.

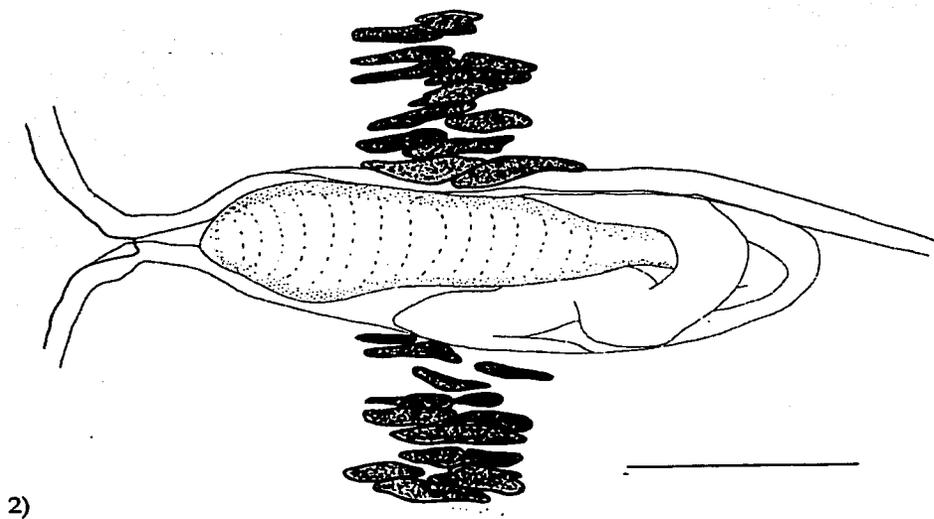
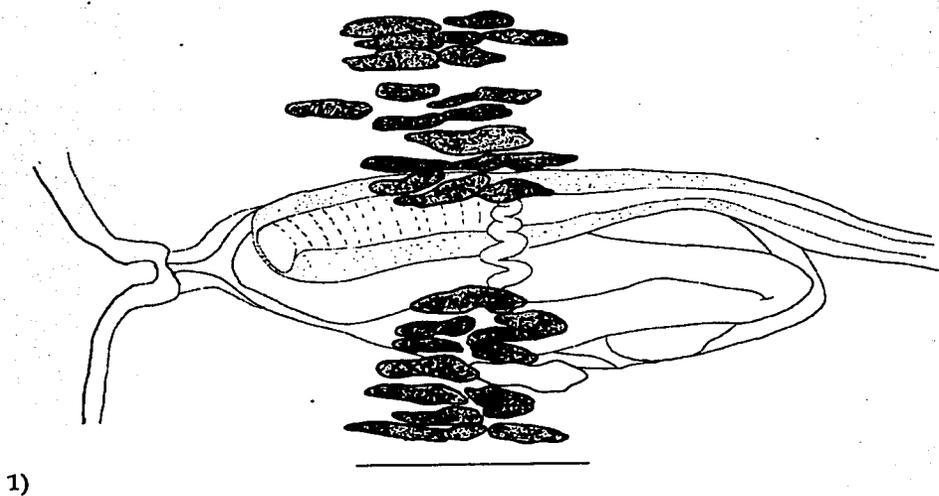


Figura 11. *Proteocephalus* sp. bolsa del cirro y apertura vaginal 1) detalle de la vista dorsal ; 2) vista ventral . Escala = 0.1mm.

## Discusión

De las 115 especies descritas para el género *Proteocephalus* en América, solo 27 presentan una distribución testicular en dos campos claramente separados, semejante a la exhibida en los ejemplares descritos en este trabajo. Al comparar los rasgos de estas especies con nuestro material, *Proteocephalus* sp. de la Laguna de Tres Palos, se distingue de las especies que poseen una distribución testicular en dos campos por presentar una abertura vaginal dorsal en relación a la bolsa del cirro. Adicionalmente por carecer de órgano apical, nuestro material se distingue de las siguientes nueve especies que si presentan ésta estructura: *P. marenzelleri* Barrois, 1898; *P. jarara* (Fuhrmann, 1927) De Chambrier, Alessio y Correa, 1991; *P. joanae* De Chambrier y Paulino, 1997; *P. saphena* Osler, 1931; *P. sireni* Brooks y Buckner, 1976; *P. azevedoi* De Chambrier, Vaucher y Renaud, 1992 y *P. grandis* La Rue, 1911; *P. faranciae* MacCallum, 1921.

De las especies que poseen una distribución testicular en dos campos y además carecen de órgano apical (como es el caso de nuestro material), podemos distinguirlo por lo siguiente: de *P. flava* (Rudin, 1917), *P. hyalina* Rudin, 1917, *P. macrobothria* Rudin, 1917 y *P. criticus* Mpoame y Landers, 1981, debido a que nuestros ejemplares desarrollan glándulas vitelógenas a todo lo largo del proglótido, sobrepasando la región anterior del ovario, mientras que en las cuatro especies mencionadas, dichas glándulas no sobrepasan este borde; diferenciamos a nuestros ejemplares de *P. macrophalus*, porque ésta especie posee un intervalo de ramas uterinas inferior (4-7 vs. 19-62) y por la orientación de sus glándulas vitelógenas hacia la región posterior del ovario; de *P. cryptobranchi* debido a la ausencia en ésta de glándulas vitelógenas prepocales; de *P. calmettei*, *P. olor* *P. loennbergi*, *P. magna* *P. gracilis* y *P. lopesi*, pues tienen una longitud estrobilar promedio mayor (490mm, 184mm, 180mm, 600mm, 150mm y 200mm respectivamente vs. 85.3mm); de *P. serrasalmus*, ya que ésta especie presenta glándulas vitelógenas en la región de la bolsa del cirro y nuestros ejemplares no, además de poseer una relación del largo de la bolsa del cirro-ancho del proglótido, inferior a la observada en nuestro material (1:3.7 vs. 1:5.7); de *P. paraguayensis* porque ésta especie posee glándulas vitelógenas paramusculares, ausentes en nuestros organismos; de *P. euzeti*, por su longitud estrobilar promedio menor (45mm vs. 85.3) y una relación entre el largo de la bolsa del cirro/ancho del proglótido menor a la de nuestros ejemplares (1-3;4 vs. 1-5.7).

Particularmente de las cinco especies del género registradas en México parasitas de reptiles (Tabla 4), la que presenta mayor similitud con nuestro material es *P. variabilis*, especialmente en el promedio testicular, la disposición de los testículos, la ausencia de órgano apical y en la relación entre el largo de la bolsa del cirro-ancho del proglótido; no obstante, ésta especie difiere de los ejemplares que aquí describimos por presentar una relación del ancho/ largo de los proglótidos grávidos de 1-4 mientras que para nuestros ejemplares ésta es de 1-1; además, el material colectado de *Leptodeira annulata* tienen una longitud estrobilar menor (32.4-117.2 vs. más de 300) y presenta un "*pars copulatrix*", ausente en *P. variabilis*. Por otro lado, nuestros ejemplares se distinguen de *P. micruricola* y *P. perspicua*, porque ambas especies presentan un órgano apical de tipo vestigial, ausente en nuestros organismos; de *P. nattereri*, porque ésta tiene mayor promedio de longitud estrobilar (162mm vs. 85.3) y presenta un esfínter vaginal, ausente en los ejemplares de Tres Palos. Dicho material se distingue de *P. racemosus*, ya que esta última exhibe una distribución testicular en dos campos unidos anteriormente. Finalmente, nuestros ejemplares poseen una combinación de rasgos que los separa de las cinco especies antes mencionadas: la disposición dorsal de la vagina y una musculatura en la región terminal de la vagina ("*pars copulatrix*").

Con base en lo anterior y considerando que el material colectado en *L. annulata* de la Laguna de Tres Palos presenta rasgos morfológicos distintos al resto de las especies, consideramos la posibilidad de que represente una especie no descrita, por lo que temporalmente la designamos como *Proteocephalus* sp.

**Tabla 4.** Comparación de las características diagnósticas de las especies del género *Proteocephalus* párasitas de reptiles en México.

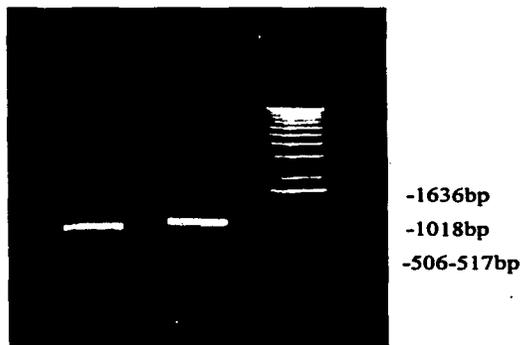
Especie	Referencia	Organo apical	Longitud estrobilar (mm)	Número de testículos	Arreglo testicular	Disposición de la abertura vaginal
<i>P. nattereri</i>	La Rue, 1914	Ausente	75-250	80-100	En dos campos	Anterior y posterior
<i>P. perspicua</i>	Brooks, 1978	Presente	360	154-285	En dos campos	Anterior y posterior
<i>P. racemosus</i>	La Rue, 1914	Ausente	160	100-120	En dos campos con tendencia a unirse	Anterior y posterior
<i>P. sp.</i>	Este trabajo	Ausente	32.4-117.2	124-279	En dos campos	Dorsal
<i>P. variabilis</i>	Brooks, 1978	Ausente	Más de 300	77-253	En dos campos	Anterior y posterior
<i>P. micruricola</i>	Shoop y Corkum, 1982	Presente	259-290	121-169	En dos campos	Anterior y posterior

Especie	Número de ramas uterinas	Relación bolsa del cirro / ancho del proglótido	Posición del poro genital a lo largo del proglótido	Disposición de las glándulas vitelógenas en la musculatura longitudinal	Musculatura vaginal
<i>P. nattereri</i>	15-20 a cada lado	1-3.2	41%	Medular	Esfinter
<i>P. perspicua</i>	36-80 totales	1-3.8	35%	Medular	Ausente
<i>P. racemosus</i>	20 a cada lado	1-3.3	30%	Medular	Ausente
<i>P. sp.</i>	19-62 totales	1-4.3;7.1	30%	Medular	"pars copulatrix"
<i>P. variabilis</i>	49-90 totales	18-33%	32-57%	Medular	Ausente
<i>P. micruricola</i>	35-53 totales	1-5.1;6.9	48-56%	?	Ausente

## 5.2 Análisis molecular

Como resultado de la PCR se obtuvieron dos fragmentos del gen ribosomal 28S de 988 pares de bases en el caso de *Proteocephalus* sp. y de de 993 en el de *Proteocephalus chamelensis* de Tres Palos, Gro (Figura 12).

El alineamiento de las secuencias de nuestros ejemplares con las registradas en GenBank se muestra en el Apéndice 2. El tamaño de la región del gen estudiado varía entre 988 para *Proteocephalus* sp (este estudio) y 1032 para *O. grandis*. En el análisis cladístico realizado en este estudio, solo 243 caracteres fueron parsimoniosamente informativos; este análisis arrojó como resultado dos árboles más parsimoniosos, con una longitud de 874 pasos, un índice de consistencia (CI) de 0.6327, índice de retención (RI) de 0.7720 y un índice de consistencia reescalado (RC) de 0.4885. La diferencia entre estos dos árboles radica en la relación entre *P. hemiliopteri* y *P. pirarara*, mostrada en el árbol de consenso como politomía (Figura 13).



**Figura 12.** Fragmento del gen ribosomal 28S amplificado por PCR, (tamaño del fragmento aproximadamente 1 Kb) en un gel de agarosa al 1%. (1 *Proteocephalus* sp, 2 *P. chamelensis*, 3 marcador de peso molecular).

## Discusión

Al comparar las secuencias de los ejemplares colectados en este estudio con aquellas registradas en Genbank (Apéndice 3), se observa que *P. chamelensis* de Tres Palos, presenta un 2.6% de divergencia con respecto a la secuencia del material colectado en la localidad tipo (obtenida de Genbank), con lo que se corrobora su identidad específica. Por otra parte, la secuencia obtenida del material de *Proteocephalus* sp. resulto más parecida con *Ophiotaenia europaea*, el porcentaje de divergencia de estas especies es de 1.4%, cabe mencionar que la matriz de distancia esta ajustada a datos faltantes, por lo que no toma en cuenta los insertos, que en el caso de estas dos especies es de 18. Esto nos da la pauta para indicar que no corresponde con alguna de las especies de proteocefálicos utilizadas en este estudio.

Por otro, lado las especies *P. midoriensis* y *P. hobergi* mostraron la mayor divergencia entre sus secuencias, con 17.2%. Por su parte, *P. torulosus* y *P. percae*, no mostraron diferencias entre sus secuencias lo que sugiere su posible sinonimia, aspecto que es necesario confirmar mediante un estudio comparativo, pues difiere de las relaciones entre estas dos especies con respecto a la hipótesis de Škeříková *et al.* (2001) (Figura 14 y Apéndice 3).

Los miembros de *Ophiotaenia* mostraron un intervalo de variación entre sus secuencias de un 1% a 8.8%; por otro lado los integrantes de *Proteocephalus* mostraron entre un 0% y 17.6% de diferencia. Las diferencias entre algunos miembros de ambos grupos oscilan entre el 3% y el 14%, lo que indica que existen mayores diferencias entre algunas especies de *Ophiotaenia* (8.8% entre *O. gallardi* y *O. europaea*) y de *Proteocephalus* entre si (17.2% *P. midoriensis* y *P. hobergi*), que entre algunos miembros de diferente género (ver Apéndice 3).

Por otro lado, los resultados de este estudio sugieren que las especies paleárticas de *Proteocephalus* pueden estar más estrechamente emparentados entre si, que con otras especies del género, ya que las diferencias entre sus secuencias oscilan entre el 0% (*P. torulosus* y *P. percae*) y el 6.6% (*P. neglectus* y *P. macrocephalus*), mientras que las diferencias entre este grupo de especies con las que se distribuyen en el resto del mundo son mayores, oscilando entre 9.2% (*P. exiguus* Europa–*P. hemioliopteri* América del sur) y el 17.2% (*P. midoriensis* Asia–*P. hobergi* América del sur).

Nuestra hipótesis filogenética es compatible con la de Zendher y Mariaux (1999), y al incluir a más especies se logró obtener mayor resolución en las relaciones entre las especies

(Figuras 13 y 14). Ninguna especie Neotropical de *Proteocephalus* apareció dentro del grupo de las especies paleárticas señalado por esos autores.

Sin embargo, las relaciones entre las especies europeas generadas por Škeříková *et al.* (2001), quienes utilizaron el gen ribosomal 18S y las relaciones generadas con el 28S (este trabajo) no fueron compatibles. En el árbol de consenso se puede observar que *P. midoriensis*, de distribución asiática y no considerada en el trabajo de Škeříková *et al.*, (2001) se incluye en el clado de las especies europeas, por lo que la monofilia para las especies de *Proteocephalus* de esta región no es sustentada por el gen ribosomal 28S.

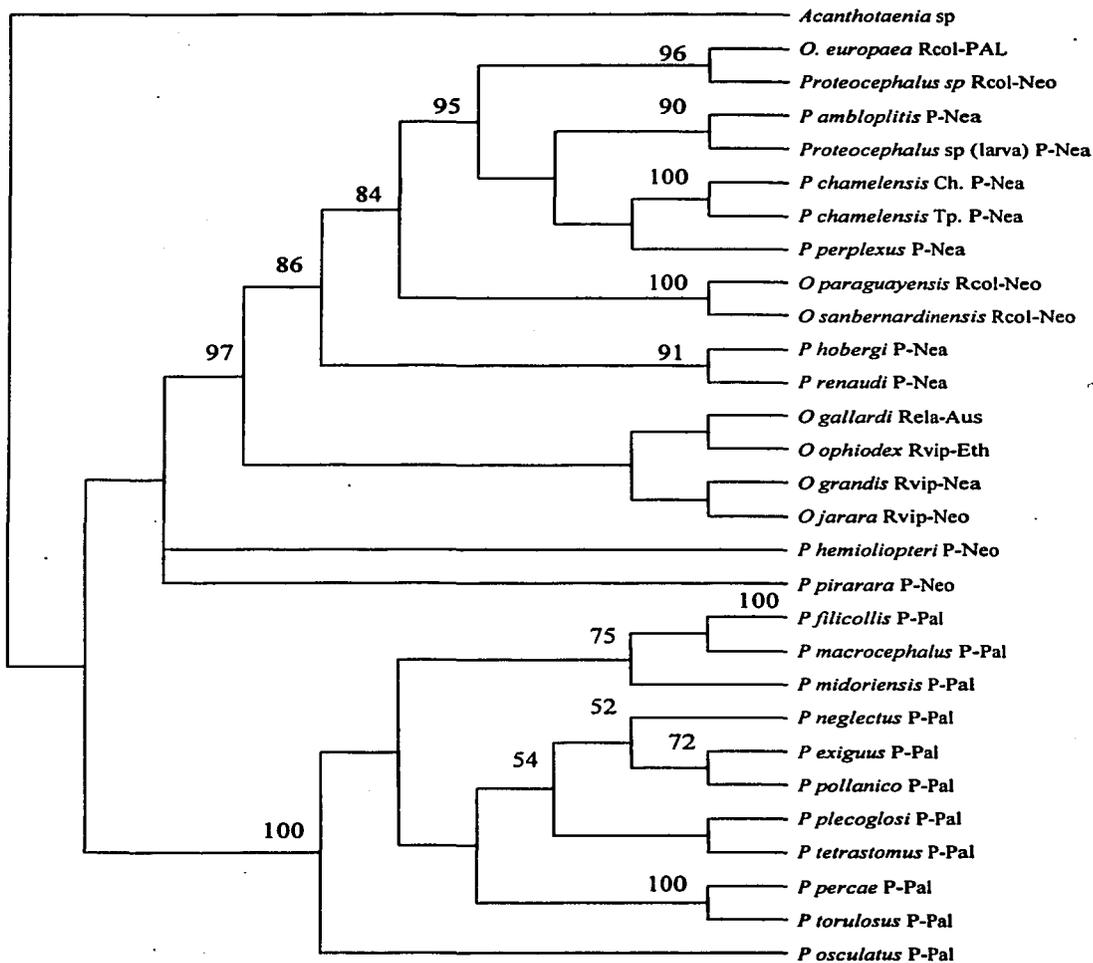
En el otro gran grupo se encuentran las especies de origen Neotropical, Neártico, Australiano y Etiope. Incluidas en éste se localizan las especies asignadas al género *Ophiotaenia* por la distribución testicular en dos campos. El grado de divergencia entre las secuencias de las especies estudiadas se ve reflejada en el cladograma, y apoyan las dos hipótesis propuestas acerca de la problemática entre estos dos géneros. Primera, las especies de *Proteocephalus* de Europa y Asia, al agruparse y formar un grupo monofilético separado del resto de las especies, sugiere el origen polifilético del género. Segunda, las especies de *Proteocephalus* distribuidas en el resto del mundo y las especies asignadas al género *Ophiotaenia* que parasitan serpientes y que presentan la distribución testicular en dos campos constituyen un clado independiente, por lo que los géneros *Proteocephalus* y *Ophiotaenia* como se reconocen en las clasificaciones actuales son parafiléticos. Estos resultados se suman a las evidencias morfológicas, que sugieren que la distinción entre los géneros *Ophiotaenia* y *Proteocephalus*, no existe y deben ser considerados sinónimos de acuerdo con los argumentos de Brooks, (1978a), De Chambrier, (1989a ;1989b) y García-Prieto, (1993)<sup>2</sup>.

De la hipótesis de las relaciones entre los individuos de distribución paleártica, destaca que las especies *P. neglectus*, *P. pollanicola* y *P. exiguus* se agrupan en un clado, dando soporte a los estudios de algunos autores que recientemente las han sinonimizado con *P. longicollis* (ver Scholz y Hanzelová, 1998). Por otro lado como se mencionó anteriormente, las relaciones entre las especies europeas obtenidas en este trabajo y la obtenida a partir del gen ribosomal 18S (Škeříková *et al.*, 2001), no fueron compatibles; la única especie que permanece constante como linaje basal en este grupo es *P. osculatus*, mientras que el resto de las especies presentó afinidades diferentes (Figuras 13 y 15).

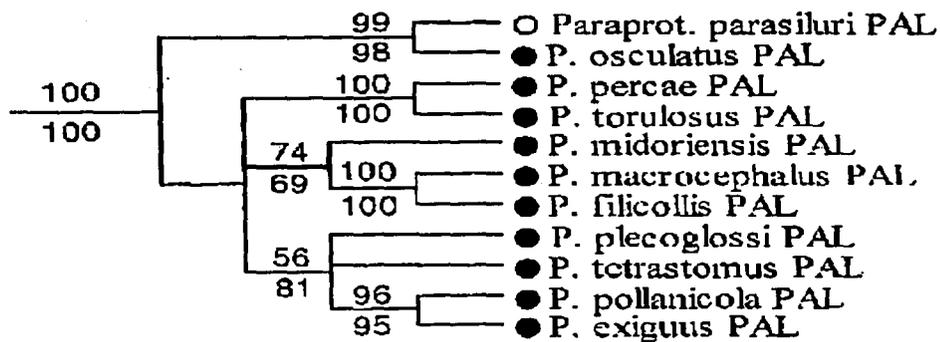
En cuanto a las relaciones entre las especies que parasitan serpientes, es obvio que no forman un grupo monofilético, por lo que la utilización del huésped como un criterio taxonómico para la clasificación de los céstodos proteocefálicos no es válido. En el cladograma se observan formando tres grupos: por un lado *O. gallardi*, *O. ophiodes*, *O. jarara* y *O. grandis*, por otro *P. paraguayensis* y *P. sanbernardinensis* y por último *O. europaea* y *Proteocephalus sp* (este trabajo). La primera parasita un elávido, los siguientes tres parasitan a vipéridos, mientras las últimas cuatro colúbridos, indicando que la colonización a reptiles se ha dado en más de una ocasión en este grupo de céstodos. Es interesante destacar que éstas agrupaciones no concuerdan con algunas características morfológicas, por ejemplo *O. jarara* y *P. paraguayensis* poseen vitelógenas paramusculares, mientras que por otro lado *P. paraguayensis* y *P. sanbernardinensis* poseen un desarrollo uterino cortical (Figura 13).

Finalmente, las especies de *Proteocephalus* que parasitan peces, forman algunos grupos como *P. ambloplitis*, *P.sp* (larva), *P. chamelensis* y *P. perplexus*; que están distribuidas en el continente Americano y consideradas de distribución Neártica. *Proteocephalus renaudi* y *P. hobergi*, que forman un clado, ambos parasitan peces de la familia Doradidae en el sur de América. Por último la relación de *P. hemioliopteri* y *P. pirarara*, también parásitos de peces neotropicales, con otras especies resulta incierta, ya que en uno de los árboles resultantes *P. pirarara* aparece en un clado como especie hermana de *P. hemioliopteri*, mientras en el otro aparece como grupo hermano del resto de las especies del clado.

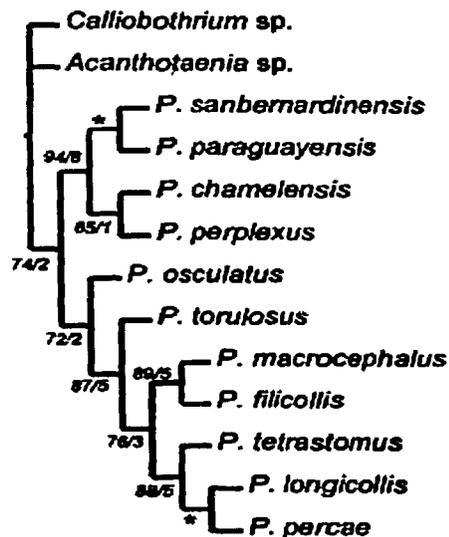
Finalmente, se propone la inclusión de más especies, la utilización de otros genes y la elaboración de estudios morfológicos inter e intraespecíficos que puedan respaldar o refutar las hipótesis biogeográficas y de cambio de huésped generadas en este trabajo.



**Figura 13.** Árbol de consenso estricto de las relaciones entre las especies del género *Proteocephalus*. *P. chamelensis* Ch= Chamela Jalisco y TP= Tres Palos Guerrero; las secuencias de *P. chamelensis* y *Proteocephalus* sp. fueron generadas en este trabajo. Huéspedes: P= peces, R= Reptiles col= Colúbridos, vip= vipéridos y ela= Elápidos; Distribución:, Nea= Neártica, Neo= Neotropical Pal= Paleártica, Eth= Ethetae y Aus= Australiana. Los números por encima de las ramas indican el valor en porcentaje para una prueba de Bootstrap de 1000 replicas.



**Figura 14.** Relaciones filogenéticas de las especies de *Proteocephalus* de distribución Paleártica, del árbol de consenso estricto del análisis del fragmento del gen ribosomal 28S realizado por Zehnder y Mariaux (1999).



**Figura 15.** Árbol de consenso estricto de las relaciones filogenéticas de las especies de *Proteocephalus* europeas, basado en el análisis del gen ribosomal 18S realizado por Škeříková *et al.* (2001).

## 6. CONCLUSIONES

1. La laguna de Tres Palos Gro. constituye la segunda localidad registrada en México para *P. chamelensis* y se establecen como nuevos huéspedes para esta especie a *Eleotris picta* y *Ariopsis guatemalensis*.
2. Se amplian los intervalos de medidas de algunas características de *P. chamelensis* modificando la descripción de algunas estructuras, particularmente la carencia de esfínter vaginal y de ramas uterinas diferenciadas.
3. Se registra por primera vez un miembro del género *Proteocephalus* en *Leptodeira annulata*, cuya morfología sugiere que puede tratarse de una especie no descrita.
4. Las relaciones entre algunas especies de proteocefálicos generadas a partir del análisis de un fragmento del gen ribosomal 28S, nos sugieren la colonización de este grupo de parásitos a huéspedes serpientes en más de una ocasión, el inadecuado criterio de utilizar al huésped en la clasificación de estos parásitos y la ocurrencia de algunas afinidades entre especies, en particular aquellas de distribución Paleártica que han sido sugeridas por algunos autores (Zehnder y Mariaux, 1999) como un grupo dentro del género.
5. El análisis del extremo 5' del gen Ribosomal 28s de algunas especies pertenecientes a los géneros *Ophiotaenia* y *Proteocephalus* mostró que no existe suficiente evidencia a este nivel para considerarlos de manera independiente, por lo que se apoya la propuesta de algunos autores para establecer a *Ophiotaenia* como sinónimo de *Proteocephalus*, con base en la carencia de evidencia morfológica, fisiológica y ontológica, como lo señalan Brooks, (1978), de Chambrier (1989 a y b) y García-Prieto, (1993).

## 7. APENDICES

### Apéndice 1. Técnicas de tinción empleadas en el estudio morfométrico.

#### Hematoxilina de Delafield.

Técnica: Lavar en alcohol al 70%  
Hidratar en alcoholes graduales 50% y 25% durante 10 minutos c/uno  
Teñir durante 10 minutos aproximadamente  
Diferenciar en agua acidulada hasta tornar un color rosa pálido  
Lavar en agua destilada por 10 minutos  
Virar con agua de la llave agregando gotas de carbonato de litio hasta virar a un color azul  
Lavar en agua destilada por 5 minutos  
Deshidratar en alcoholes graduales durante 10 minutos cada uno y por veinte minutos en alcohol absoluto  
Aclarar en salicilato de metilo  
Montar en preparación con bálsamo de Canadá

#### Paracarmín de Mayer

Técnica: Lavar los organismos en alcohol al 70%  
Lavar en alcohol al 96% durante 10 minutos  
Teñir con el colorante  
Lavar con alcohol al 96%  
Diferenciar en alcohol acidulado hasta tornar un color rosa pálido  
Lavar en alcohol al 96% durante 1 a 2 minutos  
Deshidratar en alcohol al 100% durante 15 minutos  
Aclarar en salicilato de metilo  
Montar en preparación con Bálsamo de Canadá

## Tricrómica de Gomori

Técnica:      Lavar los organismos en alcohol al 70% por 10 minutos  
                  Lavar en alcohol al 96% durante 10 minutos  
                  Teñir en el colorante durante 10 minutos aproximadamente  
                  Diferenciar en alcohol acidulado hasta distinguir los tres colores  
                  Lavar en alcohol al 96% durante 5 minutos  
                  Aclarar en salicilato de metilo  
                  Montar en preparación con Bálsamo de Canadá

**Apéndice 2.** Alineamiento de las secuencias del gen ribosomal 28S de las especies de *Proteocephalus* y *Ophiotaenia*. Los nombres de las especies en negritas indican las secuencias obtenidas de las especies colectadas en Tres Palos, Gro. Los puntos (.) indican mismos nucleótidos, los guiones (-) insertos.

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
<i>Acanthotaenia</i> sp	aggattcccctagtaacggcgagtg	gaagagggaaaagcccagcaccga	agcctg	cg-caaattt	gctg	ttagg	caatgt	ggtgtt	gggtc	ggctcg	tgg
<i>O europaea</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>O gallardi</i>	.....	.....	.....g.....	.....t.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>O grandis</i>	.....	.....	.....cg.....	.....	.....	.....	.....	.....g.....	.....	.....c.....	.....
<i>O jarara</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>O ophiodes</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>O paraguayensis</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<b><i>Proteocephalus</i> sp</b>	????????????????????????	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>O sanbernardinensis</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P ambloplitis</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P chamelensis</i> Ch	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<b><i>P chamelensis</i> Tp</b>	????????????????????????	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P fillicolis</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P hemioliopteri</i>	.....	.....ta.....	.....	.....g.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P hobergi</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P macrocephalus</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P midoriensis</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P neglectus</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P osculatus</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P percae</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P perplexus</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P pirarara</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P plecoglosi</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P exiguus</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P pollanicola</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P renaudi</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P sp (larva)</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P tetrastomus</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P torulosus</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....

**Apéndice 2.** Alineamiento de las secuencias del gen ribosomal 28S de las especies de *Proteocephalus* y *Ophiotaenia*. Los nombres de las especies en negritas indican las secuencias obtenidas de las especies colectadas en Tres Palos, Gro. Los puntos (.) indican mismos nucleótidos, los guiones (-) insertos. *Continuación*

	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200
<i>Acanthotaenia</i> sp	gattgccactccactcgaagtccagcattgagtatggt-cactggatttggcccagagagggtgaaaggcccgtac-ggtggaggttcagacatgtaag-									
<i>O europaea</i>	.c.a.	.	.	t-	.	.	.	.	ta.	g.-
<i>O gallardi</i>	.cca.	.	.	t-	.	.	.	ga.	ta.	g.t
<i>O grandis</i>	.cca.	.	.	t-	.	.	g.-	.	ta.	g.g.t
<i>O jarara</i>	.cca.g.	.	.	t-	.	.	.	.	ta.	g.t
<i>O ophiodes</i>	.cca.g.	.	.	t-	.	.	.	.	ta.	g.t
<i>O paraguayensis</i>	.c.a.	.	.	t-	.	.	.	.	ta.	g.-
<b><i>Proteocephalus</i> sp</b>	.c.a.	.	.	tactc.	.	.	.	g.	ta.	g.-
<i>O sanbernardinensis</i>	.ca.	.	.	t	.	.	.	.	ta.	g.-
<i>P ambloplitis</i>	.c.a.	.	.	t-	.	.	.	.	ta.	g.-
<i>P chamelensis</i> Cl.	.c.a.	.	a	t-	.	D.	.	g.	ta.	g.-
<b><i>P chamelensis</i> Tr</b>	.c.a.	.	a	t-	.	.	.	g.	ta.	g.-
<i>P fillicolis</i>	.c.	c.	.	ta	.	.	.	-	ta.	a.g.-
<i>P hemioliopleri</i>	.ca.	.	.	tt-	.	c.	.	.	ta.	g.-
<i>P hobergi</i>	a.c.c.t.	t.	.	tt	a.	t.	.	g.ga.	g.ta.	g.-
<i>P macrocephalus</i>	.c.	c.	.	ta	a.	.	.	-	ta.	a.g.-
<i>P midoriensis</i>	.c.	c.	.	tt	.	.	.	-	ta.	a.g.-
<i>P neglectus</i>	.	c.	.	tt	t.	.	gg.	.	ta.	a.g.-
<i>P osculatus</i>	.g.	c.	.	tt.	a.	.	.	-t.	ta.	a.g.-
<i>P percae</i>	.	c.	.	tt	.	.	.	.	t.	a.g.-
<i>P perplexus</i>	.c.a.	.	.	t-	.	.	g.	.	ta.	g.-
<i>P pirarara</i>	.c.a.	.	.	tt-	.	.	.	.	ta.	g.-
<i>P plecoglosi</i>	.	c.	.	tt	.	.	-	-	ta.	a.g.-
<i>P exiguus</i>	.	c.	.	tt	.	.	-	-	ta.	a.g.-
<i>P pollanicola</i>	.	c.	.	tt	.	.	-	-	ta.	a.g.-
<i>P renaudi</i>	.cca.	.	.	t-c.	a.	.	.	.	ta.	g.-
<i>P sp (larva)</i>	.c.a.	.	.	t-	.	.	g.	.	ta.	g.-
<i>P tetrastomus</i>	.	c.	.	tt.	.	.	-	-	ta.	a.g.-
<i>P torulosus</i>	.	c.	.	tt	.	.	-	-	t.	a.g.-

**Apéndice 2.** Alineamiento de las secuencias del gen ribosomal 28S de las especies de *Proteocephalus* y *Ophiotaenia*. Los nombres de las especies en negritas indican las secuencias obtenidas de las especies colectadas en Tres Palos, Gro. Los puntos (.) indican mismos nucleótidos, los guiones (-) insertos. *Continuación*

	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300
<i>Acanthotaenia</i> sp	-gcagttcaccaggccgaccttagagtcgggttgtttgagaatgcagcccaagcgggtgtaaacctccatccaaggctaaatacaagcagcagtcggat									
<i>O europaea</i>	-.tg.....t.....g.....t.....									
<i>O gallardi</i>	t.tg.....t.....g.....a.....t.....									
<i>O grandis</i>	t.tg.....t.g.....g.....t.....c.....									
<i>O jarara</i>	t.tg.....t.....g.....t.....t.....									
<i>O ophiodes</i>	t.tg.....g.....g.....t.....t.....									
<i>O paraguayensis</i>	-.tg.....t.....g.....t.....									
<i>Proteocephalus</i> sp	-.tg.....t.g.....g.....t.....									
<i>O sanbernardinensis</i>	-.tg.....t.....g.....t.....									
<i>P ambloplitis</i>	-.tg.....t.....g.....t.....									
<i>P chamelensis</i> Ch	-.tg.....g.....t.....									
<b><i>P chamelensis</i> Tp</b>	-.tg.....g.....t.....									
<i>P fillicolis</i>	-.tg.....t.g.....g.....									
<i>P hemioliopteri</i>	-.tg.....t.....g.....t.....									
<i>P hobergi</i>	-.g...t...t.g...cg...g...c...t...gg...									
<i>P macrocephalus</i>	-.tg.....t.g.....g.....									
<i>P midoriensis</i>	-.tg.....t.....g.....									
<i>P neglectus</i>	-.tg.....t.....g.....									
<i>P osculatus</i>	-.tg.....t.....g.....									
<i>P percae</i>	-.tg.....t.....g.....									
<i>P perplexus</i>	-.tg.....t.....g.....t.....									
<i>P pirarara</i>	-.tg.....g.....g.....t.....									
<i>P plecoglosi</i>	-.tg.....t.....g.....									
<i>P exiguus</i>	-.tg.....t.....g.....									
<i>P pollanicola</i>	-.tg.....t.....g.....									
<i>P renaudi</i>	-.tg.c...t...t.....g.....t.....t.....									
<i>P sp (larva)</i>	-.tg.....t.....g.....a.....									
<i>P tetrastomus</i>	-.tg.....t.....g.....									
<i>P torulosus</i>	-.tg.....t.....g.....									

**Apéndice 2.** Alineamiento de las secuencias del gen ribosomal 28S de las especies de *Proteocephalus* y *Ophiotaenia*. Los nombres de las especies en negritas indican las secuencias obtenidas de las especies colectadas en Tres Palos, Gro. Los puntos (.) indican mismos nucleótidos, los guiones (-) insertos. *Continuación*

	310	320	330	340	350	360	370	380	390	400
<i>Acanthotaenia</i> sp	agcgaacaagtaccr	gtgagggaaagt	tgaaaagtactct	gaagagagagta	aacagtagctg	aaaccgatgc	caggtaac-	gggtggcg	tcaagctg	ca
<i>O europaea</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>O gallardi</i>	...c.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....t	.....
<i>O grandis</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>O jarara</i>	.....	.....	.....	.....t	.....	.....	.....g	.....	.....	.....
<i>O ophiodex</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>O paraguayensis</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>Proteocephalus</i> sp	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>O sanbernardinensis</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P ambloplitis</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P chamelensis</i> Ch	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<b><i>P chamelensis</i> Tp</b>	.....	.....	.....	.....	.....c	.....c	.....c	.....c	.....a	.....c.a.t
<i>P fillicolis</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P hemioliopteri</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P hobergi</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P macrocephalus</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P midoriensis</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P neglectus</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P osculatus</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P percae</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P perplexus</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P pirarara</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P plecoglossi</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P exiguus</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P pollanicola</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P renaudi</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....g	.....	.....	.....
<i>P sp (larva)</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P tetrastomus</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>P torulosus</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....

**Apéndice 2.** Alineamiento de las secuencias del gen ribosomal 28S de las especies de *Proteocephalus* y *Ophiotaenia*. Los nombres de las especies en negritas indican las secuencias obtenidas de las especies colectadas en Tres Palos, Gro. Los puntos (.) indican mismos nucleótidos, los guiones (-) inserte. *Continuación*

	410	420	430	440	450	460	470	480	490	500
<i>Acanthotaenia</i> sp	agccc-ggaggattc-agccggc-ta-ggatggtt-gtgtatg-cgcc-tggcgc-atc-tatca-gtc-ggagtatga---ttggatagtagcc-acc-gg									
<i>O europaea</i>	.....a.....t.....t.....t.....t.....t.....c.....a.....a.....g.....g.....-ta.									
<i>O gallardi</i>	.....a.....t.....g.....g.....g.....g.....ag--a.....gt.cga...g.....-t..									
<i>O grandis</i>	.....a.....t.....t.....c.....t.....t.....t.....t.....t.....g.....g.....-ta.									
<i>O jarara</i>	.....a.....a.....t.....g.....t.....t.....t.....t.....t.....a.....c.....g.....-ta.									
<i>O ophiodes</i>	.....a.....a.....t.....g.....t.....t.....t.....t.....t.....aggc---g.....g.....-ta.									
<i>O paraguayensis</i>	.....a.....a.....t.....t.....t.....t.....t.....tg---tc---a.....g.....g.....-ta.									
<i>Proteocephalus</i> sp	.....c.....a.....t.....t.....t.....t.....t.....t.....c.....a.....g.....g.....-tac									
<i>O sanbernardinensis</i>	.....a.....a.....t.....t.....t.....t.....t.....t.....c.....a.....g.....g.....-ta.									
<i>P ambloplitis</i>	.....a.....t.....t.....t.....t.....t.....t.....c.....a.....g.....g.....-ta.									
<i>P chamelensis</i> Ch	.....a.....t.....t.....t.....t.....t.....t.....cc.....a.....g.....g.....-ta.									
<b><i>P chamelensis</i> Tp</b>	.....ca..t.ct.c.....t.....g.....ct.....c..cc...a..ca.gagg.atgat.g.g.....g.gta.									
<i>P fillicolis</i>	g...-a.....t.a.....t..-a.....t.....t.....c.....g.....g.....ag...g...-t..									
<i>P hemioliopteri</i>	.a..-a.....t.....t.....t.....t.....t.....t.....t.....t.....t.....-ta.									
<i>P hobergi</i>	.....a.a.....t.....t.....t.....t.....t.....t.....t.....t.....aataat.g--g..g.....-ta.									
<i>P macrocephalus</i>	g...-a.....t.a.....t..-a.....t.....t.....c.....g.....g.....ag...g...-t..									
<i>P midoriensis</i>	g...-a.....t.a.....t..-a.....t.....t.....c.....a.....g.....g.....cag.....-t.c									
<i>P neglectus</i>	g...ca.....c.t.a.c.a.t...ac.tatgt.ctg...c.ca..ca..ca...g...-tt.gaat.a..c..-t..									
<i>P osculatus</i>	g...-a.....t.a.....t..-a.....t.....t.....c.....a.....g.....g.....ag...g...-t..									
<i>P percae</i>	g...-a.....t.a.....t..-a.....t.....t.....c.....a.....g.....g.....ag...g...-t..									
<i>P perplexus</i>	.....a.....t.....t.....t.....t.....t.....t.....c.....a.....g.....g.....-ta.									
<i>P pirarara</i>	.....a.a.....t.....t.....t.....t.....t.....t.....t.....t.....g.....g.....-ta.									
<i>P plecoglosi</i>	g...-a.....t.a.....t..-a.....t.....t.....c.....a.....g.....g.....ag...g...-t..									
<i>P exiguus</i>	g...-a.....t.a.....t..-a.....t.....t.....c.....a.....g.....g.....ag...g...-t..									
<i>P pollanicola</i>	g...-a.....t.a.....t..-a.....t.....t.....c.....a.....g.....g.....ag...g...-t..									
<i>P renaudi</i>	.....a.....t.....t.....t.....t.....t.....t.....c.....a.....g.....g.....-ta.									
<i>P sp (larva)</i>	.....a.....t.....t.....t.....t.....t.....t.....c.....a.....g.....g.....-ta.									
<i>P tetrastomus</i>	g...-a.....t.a.....t..-a.....t.....t.....c.....a.....g.....g.....ag...g...-t..									
<i>P torulosus</i>	g...-a.....t.a.....t..-a.....t.....t.....c.....a.....g.....g.....ag...g...-t..									

**Apéndice 2.** Alineamiento de las secuencias del gen ribosomal 28S de las especies de *Proteocephalus* y *Ophiotaenia*. Los nombres de las especies en negritas indican las secuencias obtenidas de las especies colectadas en Tres Palos, Gro. Los puntos (.) indican mismos nucleótidos, los guiones (-) insertos. *Continuación*

	510	520	530	540	550	560	570	580	590	600
<i>Acanthotaenia</i> sp	t--agacggt-gg-ccc-ggc--gcaag--tcggatatgtg-taccgggtggg-tgccgg-agcatgctatcc---	gtctagga-ctgtctagccggt								
<i>O europaea</i>	..a.a.a..g.-t.t.c-....ggca.....	.....g.....								
<i>O gallardi</i>	g--a.a.a..g.-t..c-....gtca.....	.....g.....								
<i>O grandis</i>	g--a.a.a..g.-t.t.c-....gtca.....	.....								
<i>O jarara</i>	--a.a.a..g.-t.t.c-....tca.....	.....g..g.....								
<i>O ophiodes</i>	--a.a.a.c..g.-t.t.c-....gtca.....	.....c.....								
<i>O paraguayensis</i>	..a.a.a..g.-t.ttc-....ggca.....	.....a.....								
<i>Proteocephalus</i> sp	--a.a.a.a.g..t.t.cc...aggca.....	.....a.....								
<i>O sanbernardinensis</i>	..a.a.a..g.-t.t.c-t...ggca.....	.....								
<i>P ambloplitis</i>	..a.a.a..g.-t.t.c-....tca.....	.....ga.....								
<i>P chamelensis</i> Ch	..a.aa..g.-t.t.c-t...ggca.....	.....ga.....								
<b><i>P chamelensis</i></b> Tp	..a.a.aa.g.g.-t.t.cg.t.ggca.....	tggtg.....g.g.....								
<i>P fillicolis</i>	g--a.c.-ag.-t..c-....tca...g.....	a.....c...ct----								
<i>P hemiliopteri</i>	..a.a.a..g.-t..c-....gc.a.....	.....a.t----								
<i>P hobergi</i>	--a.g...g.-t.t.c-tg.gtca.....	.....tga.....								
<i>P macrocephalus</i>	g--a.c.-ag.-t..c-....tca..g.....	a.....c...ct----								
<i>P midoriensis</i>	ggg.ac.c---gt.-t..c-....tcg.c.g.....	a.....ct----								
<i>P neglectus</i>	gtt.a.c.-g.-t..cgc...gtca..g...aac.N.a.tgc.g.....	ctt----tct.t.ga.....								
<i>P osculatus</i>	ct--a.c.-g.-t..c-....tcg.....	a.....ct----								
<i>P percae</i>	gt--c.-gt.-t..c-....tca..g.....	a.....ct----								
<i>P perplexus</i>	..a.a.a..g.-t.t.c-....gtca.....	.....c.....								
<i>P pirarara</i>	--a.a.a..g.-t..c-....gtca.-atatgtg.....	.....KM----								
<i>P plecoglosi</i>	gt--a.c.-g.-t..g.-tcg..g.....	a.....ct----								
<i>P exiguus</i>	gt--a.c.-g.-t..c-....gtca..g.....	a.....ct----								
<i>P pollanicola</i>	gt--a.c.-g.-t..c-....gtca..g.....	a.....ct----								
<i>P renaudi</i>	..a.....g.-t.t.c-....tca.....	.....c.....								
<i>P sp (larva)</i>	..a.a.a..g.-t.t.c-....gtca.....	.....								
<i>P tetrastomus</i>	gt--a.c.-g.-t..c-....gtcg..g.....	a.....ct----								
<i>P torulosus</i>	gt...c.-gt.-t..c-....gtca..g.....	a.....ct----								

**Apéndice 2.** Alineamiento de las secuencias del gen ribosomal 28S de las especies de *Proteocephalus* y *Ophiotaenia*. Los nombres de las especies en negritas indican las secuencias obtenidas de las especies colectadas en Tres Palos, Gro. Los puntos (.) indican mismos nucleótidos, los guiones (-) insertos. *Continuación*

	610	620	630	640	650	660	670	680	690	700
<i>Acanthotaenia</i> sp	gcac-tttctctgtggtgaacaccacga-ccggtggtatgcccagctgctgtgtccaagtcgcttgaaggtcc--ttgtggccaactgggtgga									
<i>O europaea</i>	.....C.....C.....						cat...t.....			...c.a.....
<i>O gallardi</i>	.....C.....				a.ag.....		c.tc.ct.....	--cc.....		act.c...
<i>O grandis</i>	.....C.....		-t.....		a.ca...g...		ca.c.cat.a...	---c.....		C.....
<i>O jarara</i>	.....C.....				a.....		catc.at....	atc.c.....		C.....
<i>O ophiodes</i>	.....C.....			c.....	a.....		c.tc.ct.....	---c.....		g.c.a.....
<i>O paraguayensis</i>	.....C.....						cat...t.....	---g.c.a.t.		
<i>Proteocephalus</i> sp	...a.....C.....			a.....			a.....t.....	---c.a.....		
<i>O sanberardinensis</i>	.....C.....						cat...t.....	---g.c.a.t.		
<i>P ambloplitis</i>	.....C.....				a.....		cat...t.....	---t...c.a.....		
<i>P chamelensis</i> Ch	.....C.....	cg.....			a.....		cat...t.....	---a...t...t.a.....		
<b><i>P chamelensis</i></b> Tp	.....C.....	cg.....			a.....		cat...t.....	---a...t...t.a.....		
<i>P fillicolis</i>	.....C.....			c.....			ct...t...c.ct.....	---t.gg.....		
<i>P hemioliopteri</i>	.....tg.....				a.....		tg...c...tt.....			
<i>P hobergi</i>	.....tg.....			t...c.....			catag.t.....	---c...at.g.c.t.....		
<i>P macrocephalus</i>	.....C.....			c.....			c.ct...t.....	---t.g.g.....		
<i>P midoriensis</i>	.....C.....			c.....			ct...t...c.ct.....	---t.g.....		
<i>P neglectus</i>	...Yt...t.c.....						ct...t...tt.....	---t.g.....		
<i>P osculatus</i>	.....C.....				a...t...t.....		tt...t.g.....			
<i>P percae</i>	.....C.....			t...ct...t...c.tt.....			---a...t.g.....			
<i>P perplexus</i>	.....C.....				a.....		cat...t.....	---c.a.....		
<i>P pirarara</i>	.....C.....						catc.tg...c...tt.....			
<i>P plecoglosi</i>	.....C.....						ct...t...c.tt.....	---t.g.....		
<i>P exiguus</i>	.....C.....						ct...t...tt.....	---t.g.....		
<i>P pollanicola</i>	.....C.....			ta.tgcc.....			ct...t...tt.....	---t.g.....		
<i>P renaudi</i>	.....c.c.tg.....			t...cac.ct.....			cat...t.....	---c.c.t...ca.t.....		
<i>P sp (larva)</i>	.....C.....				a.....		cat...t.....	---c.a.....		
<i>P tetrastomus</i>	.....C.....						ct...t...c.tt.....	---t.g.....		
<i>P torulosus</i>	.....c.....			t...ct...t...c.tt.....			---a...t.g.....			

**Apéndice 2.** Alineamiento de las secuencias del gen ribosomal 28S de las especies de *Proteocephalus* y *Ophiotaenia*. Los nombres de las especies en negritas indican las secuencias obtenidas de las especies colectadas en Tres Palos, Gro. Los puntos (.) indican mismos nucleótidos, los guiones (-) insertos. *Continuación*

	710	720	730	740	750	760	770	780	790	800
<i>Acanthotaenia</i> sp	tgacaggcaaactcagtaaacggcgtagaggtatct---	cggtacctttgcgtgttatcggc-tactggttg	caacgggcctgcccggtgtgcttgtg							
<i>O europaea</i>	.c.....	gac...gct.---	c.gtg.cat.....						t.t...t-	gt..
<i>O gallardi</i>	.c.gc.....	ga...g.---	c.t.....						g.....tg...	t-gt..
<i>O grandis</i>	.c..c.t.....	gac..g.---	a.c.t.....						a.g....a...t....	t-gt..
<i>O jarara</i>	.c..c.g.....	gag..g.---	a.c.t.....						g.....t....	t-gt..
<i>O ophiodes</i>	.c..c.....	ga...g..ttct..	c.t.c.....						g....a....t....	t-gt..
<i>O paraguayensis</i>	.c.....	g...gct.---	c.t.cat.....						g.....t.t...t-	gt..
<i>Proteocephalus</i> sp	.c.....	gac..gct.---	c.gtg.cat.....						a.....t.t...t-	gt..
<i>O sanbernardinensis</i>	.c.....	g...gc.---	c.t.cat.....						t.t...t-	gt..
<i>P ambloplitis</i>	.c.....	gaga.gct.---	c.t.cat.....						t.t...t-	gt..
<i>P chamelensis</i> Ch	.c...a.g.....	gag..g.t.---	c.t.cat.....						g...c.....t.t...t-	gt..
<b><i>P chamelensis</i></b> Tp	.c...a.g.....	gag..g.t.---	c.t.cat.....						g...c.....a...t.t...t-	gt..
<i>P fillicolis</i>	.c.....tg...g.....	cg.g.gc.---	t.c.....						c.....g.a.....t-	gt..
<i>P hemioliopteri</i>	.c.....t...g.....	g.t.---	c.t.....						c.....a.ct-	gt..
<i>P hobergi</i>	.c..ta...tg...g.....	gag..g.t.---	c.t.g.....						a.g...ta.t.c...t-agtc.	
<i>P macrocephalus</i>	.c.....tt...g.....	cc.g.gc.---	t.g.....						c.....g.a.....t-	gt..
<i>P midoriensis</i>	.c.....t...g.....	cg.g.a.gc.---	t.c.....						c.....c.a...g.....t-	gt..
<i>P neglectus</i>	.c.....t...g.....	cg.g.gct.---	t.c.....						c.....a.....t-	gt..
<i>P osculatus</i>	.c.....t...g.....	cg.g.gct.---	t.c.....						c.....c.a...t...a...t-	gt..
<i>P percae</i>	.c.....g...g.....	cg.gt...t.---	tg.c.....						gc.....a.....a...t-	gt..
<i>P perplexus</i>	.c.....t...g.....	gag..g.t.---	c.t.cat.....						g.t.a...t-	gt..
<i>P pirarara</i>	.c.....t...g.....	g.t.---	c.t.....						-ta.....t.c...t-	gt..
<i>P plecoglosi</i>	.c.....t...g.....	cg.g.gc.---	t.c.....						c.....a.....t-	gt..
<i>P exiguus</i>	.c.....t...g.....	cg.g.gct.---	t.c.....						c.....a.....t-	gt..
<i>P pollanicola</i>	.c.....t...g.....	cg.g.gct.---	t.c.....						c.....a.....t-	gt..
<i>P renaudi</i>	.c.....t...g.....	ga.a.g.t.---	c.g...a.....						gc.....g.....t.a...t-	gt..
<i>P sp (larva)</i>	.c.....t...g.....	gag..gct.---	c.t.cat.....						g.....t.t...t-	gt..
<i>P tetrastomus</i>	.c.....t...g.....	cg.g.gc.---	t.c.....						c.....a.....t-	gt..
<i>P torulosus</i>	.c.....t...g.....	cg.gt...t.---	tg.c.....						gc.....a.....a...t-	gt..

**Apéndice 2.** Alineamiento de las secuencias del gen ribosomal 28S de las especies de *Proteocephalus* y *Ophiotaenia*. Los nombres de las especies en negritas indican las secuencias obtenidas de las especies colectadas en Tres Palos, Gro. Los puntos (.) indican mismos nucleótidos, los guiones (-) insertos. *Continuación*

	810	820	830	840	850	860	870	880	890	900
<i>Acanthotaenia</i> sp	tagccggcaccggg	-----	tggtctggtggg	catggtgga	aagaata	aactgtgca	aggcaccggagt	tatcggcctcaaa	--	tgcttctgcacccat
<i>O europaea</i>	..a...-aca...	g-----	.....c.....	.....t.g.....	.....g.....	.....g.....	.....cg.....	.....t.g.c.c.	gt...c	
<i>O gallardi</i>	..a.....tca	g--tg.c.g.t.	.....g.a.....	.....g.....	.....g.....	.....g.....	.....cg.....	.....t.g.c.c.	gt...c	
<i>O grandis</i>	..a.....t.c	-----	ctc.....	.....g.c.g.	.....g.c.g.	.....g.c.g.	.....g.c.g.	.....t.g.c.c.	gt...c	
<i>O jarara</i>	..a.....t.g	-----	..c.....	.....g.....	.....g.....	.....g.c.g.	.....g.c.g.	.....t.g.c.c.	gt...c	
<i>O ophiodes</i>	..a.....t.g	-----	ctc.....	.....g.c.g.	.....g.c.g.	.....g.c.g.	.....g.c.g.	.....t.g.c.c.	gt...c	
<i>O paraguayensis</i>	..a...-aca...	g-----	.....c.....	.....g.....	.....g.....	.....g.....	.....g.c.g.	.....t.g.c.c.	gt...c	
<i>Proteocephalus</i> sp	..a...-aca...	g-----	.....c.....	.....t.g.....	.....g.c.c.	gt...c				
<i>O sanbernardinensis</i>	..a...-aca...	g-----	.....c.....	.....g.....	.....g.c.c.	gt...c				
<i>P ambloplitis</i>	.gat.-aca...	g-----	.....t.g.....	.....g.c.c.	gt...c					
<i>P chamelensis</i> Ch	.ga...-aca...	g-----	.....c.....	.....c.....	.....g.....	.....g.c.c.	gt...c			
<b><i>P chamelensis</i> Tp</b>	.ga...-aca...	g-----	.....c.....	.....g.c.c.	.....g.....	.....g.c.c.	gt...c			
<i>P fillicolis</i>	..a...-catt.g	-----	.....a.....	.....g.....	.....g.....	.....g.....	.....ctg.c.c.	gt...c		
<i>P hemioliopteri</i>	..a...-catt.g	-----	ctc.....	.....c.....	.....g.c.c.	gt...c				
<i>P hobergi</i>	..a...-acat.tag	caaca.....	.....c.....	.....t.....	.....g.....	.....g.....	.....tg...a.c.ca.g.t.c			
<i>P macrocephalus</i>	..a...-catt.g	-----	.....a.....	.....a.....	.....g.....	.....g.....	.....ctg.c.c.	gt...c		
<i>P midoriensis</i>	..a...-cat...t	-----	.....a.....	.....g.....	.....g.....	.....g.c.c.	gt...c			
<i>P neglectus</i>	..a...-catt.g	-----	.....a.....	.....g.....	.....g.....	.....g.c.c.	gt...c			
<i>P osculatus</i>	..a...-atgtt.g	-----	a.....	.....a.....	.....g.....	.....g.c.c.	gt...c			
<i>P percae</i>	..a...-catt.g	-----	.....a.....	.....g.....	.....g.....	.....g.c.c.	gt...c			
<i>P perplexus</i>	..a...-aca.a.g	-----	.....c.....	.....t.g.....	.....g.c.c.	gt...c				
<i>P pirarara</i>	..a...-aca.t.gg	-----	.....c.....	.....g.c.c.	.....g.c.c.	gt...c				
<i>P plecoglosi</i>	..a...-catt.g	-----	.....a.....	.....g.....	.....g.....	.....tg.c.c.c.	gt...c			
<i>P exiguus</i>	..a...-catt.g	-----	.....a.....	.....g.....	.....g.....	.....ctg.c.c.	gt...c			
<i>P pollanicola</i>	..a...-catt.g	-----	.....a.....	.....g.....	.....g.....	.....ctg.c.c.	gt...c			
<i>P renaudi</i>	.ga...-aca.a.g	-----	.....g.....	.....c.....	.....g.....	.....g.c.c.	gt...c			
<i>P sp (larva)</i>	..a...-aca...g	-----	.....t.g.....	.....g.c.c.	gt...c					
<i>P tetrastomus</i>	..a...-catt.g	-----	.....a.c.....	.....g.....	.....g.c.c.	gt...c				
<i>P torulosus</i>	..a...-catt.g	-----	.....a.....	.....g.....	.....g.c.c.	gt...c				

**Apéndice 2.** Alineamiento de las secuencias del gen ribosomal 28S de las especies de *Proteocephalus* y *Ophiotaenia*. Los nombres de las especies en negritas indican las secuencias obtenidas de las especies colectadas en Tres Palos, Gro. Los puntos (.) indican mismos nucleótidos, los guiones (-) insertos. *Continuación*

	910	920	930	940	950	960	970	980	990	1000
<i>Acanthotaenia</i> sp	gttacagtggt	-----	-----	-----	aatggcagtg	tcgttgctac	ctgcccggtg	tgggctctg	attgctgctgc	ctgcctgcac
<i>O europaea</i>	.....agt..gt	-----	-----	-----	tttgt.ggta	.t.....c...	g.....t....	c.....g.....	-----	.....g.
<i>O gallardi</i>	.....agt..	-----	-----	-----	tagtccat.	ca..t.....c...	g.....c.....	c.....g.....	.....c.....	.....g.
<i>O grandis</i>	...c...agt.gtg	gtgtgtgtgtgtgtgtgt	ttcacacgcacac	aS.t...c..cg..	g.....t..c.c.	g.....g.....	t.....g.....	g.....t.....	.....g.	.....g.
<i>O jarara</i>	.....agt.gtgt	-----	-----	-----	ctcgtact.c.	ga.....c...	g.....c.....	g.....g.....	.....t.....	.....g.
<i>O ophiodes</i>	.....agt..	-----	-----	-----	aactgtgctattac	.ca.a.t.c...	c.....g.....	t.....t.....	.....g.....	.....t.....
<i>O paraguayensis</i>	.....agt..	-----	-----	-----	t.ggta.t.	.....c...	g.....t....	c.....g.....	-----	.....g.
<i>Proteocephalus</i> sp	.....agt..gt	-----	-----	-----	tctgt.ggta	.t.....c...	g.....t....	c.....g.....	.....g.....	.....g.
<i>O sanbernardinensis</i>	.....agt..	-----	-----	-----	ggtt.t.	.....c...	g.....t....	c.....g.....	-----	.....g.
<i>P ambloplitis</i>	.....agt.gtgt	-----	-----	-----	ggatt.c.	.....c...	g.....t....	c.....g.....	-----	.....g.
<i>P chamelensis</i> Ch	..g..agt..	-----	-----	-----	aagtggta	.t.c..ac...	g.....t....	c.....g.....	.....g.....	.....t.....
<b><i>P chamelensis</i></b> Tp	...g..agt..	-----	-----	-----	aagtggta	.t.c..ac...	g.....t....	c.....g.....	.....ag.....	.....t.....
<i>P fillicolis</i>	.....agt.gtg	-----	-----	-----	ctt.g...	g.c...g.tc...	t.....t....	g.....g.....	.....g.....	.....tc..ga
<i>P hemiliopteri</i>	..g..agt.gtgt	-----	-----	-----	t.tc..ga	.....c...	g.....t....	a.....g.....	.....g.....	.....t.....
<i>P hobergi</i>	.....agt.gt	-----	-----	-----	aagagataaagc	.gt..t.....c.t...	t.....c...	g.....g.....	.....a.....	.....t.....
<i>P macrocephalus</i>	.....agt.gtg	-----	-----	-----	ctt.g...	g.c...g.tc.t...	t.....t....	g.....g.....	.....g.....	.....gga
<i>P midoriensis</i>	.....agt.gtg	-----	-----	-----	ctt.g.....	c.c..g.tc.t...	t.....t....	g.....g.....	.....c.tg..	ga
<i>P neglectus</i>	.....agt.gtg	-----	-----	-----	att.g...	g...g.c.t...	t.....t....	g.....g.....	.....t.....	.....c.ga
<i>P osculatus</i>	.....agt.gtg	-----	-----	-----	ctt.g...	g.c...g-t...	t.....t....	a.....g.....	.....g.....	.....t.....c.ga
<i>P percae</i>	.....agt.gtg	-----	-----	-----	ctg.g...	g.c...g.c.t...	t.....t....	g.....g.....	.....g.....	.....t.....g.ga
<i>P perplexus</i>	.....agt..	-----	-----	-----	t.ggt.t.	.....cc..g...	t.....c...	g.....g.....	.....g.....	.....t.....
<i>P pirarara</i>	.....agt.g	-----	-----	-----	tattaat	.tc..ga.....g...	t.....c...	g.....g.....	.....g.....	.....t.....
<i>P plecoglosi</i>	.....agt.gtg	-----	-----	-----	ctt.g...	g.....g-c.t...	t.....t....	g.....g.....	.....g.....	.....ga
<i>P exiguus</i>	.....agt.gtg	-----	-----	-----	att.g...	g...g-c.t...	t.....t....	g.....g.....	.....g.....	.....gga
<i>P pollanicola</i>	.....agt.gtg	-----	-----	-----	att.g...	g...g-c.t...	t.....t....	g.....g.....	.....g.....	.....gga
<i>P renaudi</i>	.....agt.gt	-----	-----	-----	atgatagt	.ggta.t.....c...	g.....t....	c.....g.....	.....g.....	.....g.
<i>P sp (larva)</i>	.....agt..gtgtgtgt	-----	-----	-----	ggatt.c.	.....c...	g.....t....	c.....g.....	.....g.....	.....g.
<i>P tetrastomus</i>	.....agt.gtg	-----	-----	-----	ctt.g...	g...g.c.t...	t.....t....	g.....g.....	.....g.....	.....ga
<i>P torulosus</i>	.....agt.gtg	-----	-----	-----	ctg.g...	g.c...g.c.t...	t.....t....	g.....g.....	.....g.....	.....t.....g.ga

**Apéndice 2.** Alineamiento de las secuencias del gen ribosomal 28S de las especies de *Proteocephalus* y *Ophiotaenia*. Los nombres de las especies en negritas indican las secuencias obtenidas de las especies colectadas en Tres Palos, Gro. Los puntos (.) indican mismos nucleótidos, los guiones (-) insertc. *Continuación*

	1010	1020	1030	1040	1050	1060	1070	1080	
<i>Acanthotaenia</i> sp	aaagtaggcccgagctggttcgactcgggatgggtagt--ggatgatgttgttagt--gcaggaggtggtgggccaatagtcagtg								[995]
<i>O europaea</i>	.....-c.a...c...gt...a.g.....t--g.gc....cgacggc.t...gc.....t.....								[1006]
<i>O gallardi</i>	.....-g....c...gt...c.....g.t--g.gc....cg.ggc.tg.gc.t.....								[1016]
<i>O grandis</i>	.....t.ga...c...g.....c...t--g.-c....c--cggc.tg.gc.t.....								[1032]
<i>O jarara</i>	.....t.g....c...g.....g.t--g.gc....c-----gg.gc.ct.....								[1009]
<i>O ophiodes</i>	.....--a...c...g.....t--g.gc....cgccggc.tg.gc.t.....								[1018]
<i>O paraguayensis</i>	.....t.a...c...gt...a.g.....t--g.gc....cgacggc.tg.gc.....t.....								[1000]
<i>Proteocephalus</i> sp	.....t...c.a...c...gt...a.g.....t--gg.gc....cgacggc.t...gc-.t-.g.								[988]
<i>O sanbernardinensis</i>	.....t.a...c...gt...a.g.....t--g.gc....cgacggc.tg.gc.....t.....								[999]
<i>P ambloplitis</i>	.....t.a...c...gt...a.g....t--g.gc....cgacggc.t...gc.....t.....								[1002]
<i>P chamelensis</i> Ch	.g.....ctga.ac...gt...a.g.....t--g.gc....cga.ggc....gc.....t.....								[1006]
<b><i>P chamelensis</i></b> Tp	.g.....ctga.ac...gt...a.g.....t--gg.gc....cga.ggc....gc.....t-.g.								[993]
<i>P fillicolis</i>	...cg.....t....c...g.....g.ctt--gc.g....c--ggt.tg...c.....								[997]
<i>P hemioliopteri</i>	.....c.....c...g...a.....t--gc.gg....c--ggt.tg.gc.t.....a.....t..								[1000]
<i>P hobergi</i>	.....t.t.ga...c.t.gt...a.g....g.ca--g.gc.a.gcgactgt.tg...t.....a.....								[1027]
<i>P macrocephalus</i>	...cg.....t....c...g.....g.ctt--gc.g....c--ggt.tg...c.....-.....								[994]
<i>P midoriensis</i>	...cg.....t....c...c.....g.ttttgc.gc....c--ggt.t...c.....t.....								[998]
<i>P neglectus</i>	...cg.....c.....c...t.a.....g.tt--gc.gc.c...c--ggt.tg...c..N.???????????????								[1006]
<i>P osculatus</i>	...g.....ct....c...g.....g.tt--gc.gc....c--ggt.tg...c.....t.....								[996]
<i>P percae</i>	...cg.....-.....c...t.a.....g.tt--gc.gc....c--ggt.tg...c.....-.....								[998]
<i>P perplexus</i>	.....ct.a...c...gt...a.g....c...t--g.gc....cgacggc.t...gc.c.....t.....								[1003]
<i>P pirarara</i>	.....c...g...a.....t--gc.g....c--ggt.tg.gc.t.....a.....t..								[1006]
<i>P plecoglosi</i>	...cg.....c.....c...t.a.....g.tt--gc.gc.c...c--ggt.tg...c.-.....								[993]
<i>P exiguus</i>	...cg.....c...t.a.....g.tt--gc.gc.c...c--ggt.tg...c.....								[996]
<i>P pollanicola</i>	...cg.....c.....c...t.a.....g.tt--gc.gc.c...c--ggt.tg...c.....								[998]
<i>P renaudi</i>	...c.....t.ga...cc.gtc.a.g....g.t--g.gc.c...cgacggc.t...tc.ct.....a.c...g..								[1008]
<i>P sp (larva)</i>	.....t.a...c...gt...a.g.....t--g.gc....cgacRgc.t...gc.....t.....g..								[1011]
<i>P tetrastomus</i>	...cg.....c.....c...t.a.....g.tt--gc.gc.c...c--ggt.tg...c.....								[999]
<i>P torulosus</i>	...cg.....-c.....c...t.a.....g.tt--gc.gc....c--ggt.tg...c.....								[1002]

**Apéndice 3. Matriz de distancias entre especies de los géneros Ophiotaenia y Proteocephalus. Las especies en negritas corresponden a las colectadas en Tres Palos, Gro.**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1 <i>Acanthotaenia</i> sp	-										
2 <i>O europaea</i>	0.09635	-									
3 <i>O gallardi</i>	0.11452	0.08895	-								
4 <i>O grandis</i>	0.11047	0.08271	0.08725	-							
5 <i>O jarara</i>	0.10269	0.07349	0.06900	0.05464	-						
6 <i>O ophiodes</i>	0.11148	0.07921	0.07866	0.07429	0.05711	-					
7 <i>O paraguayensis</i>	0.09546	0.02000	0.09348	0.08223	0.07493	0.08350	-				
8 <b><i>Proteocephalus</i> sp</b>	0.11468	0.01438	0.10288	0.09540	0.08822	0.09385	0.03412	-			
9 <i>O sanbernardinensis</i>	0.09023	0.02002	0.09046	0.07714	0.06984	0.07953	0.01006	0.03409	-		
10 <i>P ambloplitis</i>	0.10347	0.01600	0.09057	0.08610	0.07482	0.07769	0.02710	0.02991	0.02909	-	
11 <i>P chamelensis</i> Ch	0.11430	0.03796	0.10595	0.09688	0.08172	0.09325	0.04513	0.05249	0.04610	0.03512	-
12 <b><i>P chamelensis</i> Tp</b>	0.14612	0.06602	0.13563	0.12553	0.10907	0.11780	0.07343	0.07726	0.07443	0.06314	0.02674
13 <i>P filicollis</i>	0.11371	0.11722	0.12760	0.12999	0.11520	0.12435	0.11678	0.13181	0.11573	0.11551	0.13350
14 <i>P hemioliopteri</i>	0.09684	0.08470	0.09987	0.09727	0.08089	0.08801	0.08596	0.09839	0.08293	0.09286	0.09488
15 <i>P hobergi</i>	0.15935	0.11720	0.15365	0.14365	0.12875	0.14133	0.11284	0.13276	0.11185	0.11376	0.12833
16 <i>P macrocephalus</i>	0.11715	0.12165	0.13217	0.13257	0.12072	0.12792	0.12121	0.13610	0.12010	0.11975	0.13999
17 <i>P midoriensis</i>	0.11195	0.12258	0.14428	0.14245	0.13158	0.13881	0.12315	0.13623	0.12109	0.12173	0.14094
18 <i>P neglectus</i>	0.12543	0.12356	0.15508	0.14907	0.12959	0.14582	0.12202	0.13974	0.12212	0.12717	0.14310
19 <i>P osculatus</i>	0.10773	0.11151	0.13194	0.13020	0.11243	0.12039	0.11203	0.12967	0.11198	0.10862	0.12370
20 <i>P percae</i>	0.10159	0.11120	0.13257	0.12879	0.11411	0.12510	0.10972	0.12853	0.10763	0.10830	0.12143
21 <i>P perplexus</i>	0.10227	0.01806	0.08617	0.07302	0.06158	0.07222	0.02903	0.03086	0.03004	0.02211	0.03796
22 <i>P pirarara</i>	0.08959	0.06832	0.09911	0.08792	0.07045	0.08528	0.06471	0.08251	0.06473	0.07483	0.08454
23 <i>P plecoglos</i>	0.10085	0.10457	0.12442	0.12764	0.10759	0.12400	0.10620	0.12188	0.10307	0.10679	0.12311
24 <i>P exiguus</i>	0.09872	0.09830	0.12181	0.12217	0.10429	0.12045	0.09879	0.11540	0.09781	0.09952	0.11669
25 <i>P pollanico</i>	0.10676	0.10506	0.12882	0.13015	0.11228	0.12643	0.10672	0.12241	0.10573	0.10743	0.12357
26 <i>P renaudi</i>	0.12854	0.06599	0.10673	0.10719	0.09335	0.10607	0.07435	0.08015	0.07329	0.06528	0.08100
27 <i>P</i> sp (larva)	0.10414	0.01695	0.08926	0.09060	0.07358	0.08051	0.02803	0.03083	0.03000	0.01097	0.03794
28 <i>P tetrastomus</i>	0.09738	0.09888	0.12259	0.12291	0.10708	0.11925	0.10051	0.11604	0.09745	0.10122	0.11833
29 <i>P torulosus</i>	0.10238	0.11070	0.13225	0.12949	0.11483	0.12480	0.11039	0.12831	0.10835	0.10915	0.12103

**Apéndice 3.** Matriz de distancias entre especies de los géneros *Ophiotaenia* y *Protócephalus*. Las especies en negritas corresponden a las colectadas en Tres Palos, Gro. *Continuación*

	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
12 <i>P chamelensis</i> Tp	-										
13 <i>P filicollis</i>	0.15927	-									
14 <i>P hemioliopteri</i>	0.12167	0.10725	-								
15 <i>P hobergi</i>	0.15137	0.16703	0.14053	-							
16 <i>P macrocephalus</i>	0.16782	0.01411	0.10965	0.16455	-						
17 <i>P midoriensis</i>	0.16977	0.04434	0.11968	0.17251	0.04952	-					
18 <i>P neglectus</i>	0.16958	0.06074	0.11422	0.17137	0.06607	0.06591	-				
19 <i>P osculatus</i>	0.15192	0.05265	0.09551	0.16219	0.05472	0.05366	0.05571	-			
20 <i>P percae</i>	0.14960	0.04333	0.09815	0.15580	0.04842	0.04230	0.04625	0.04141	-		
21 <i>P perplexus</i>	0.06594	0.11437	0.08075	0.11244	0.11882	0.11982	0.12069	0.10351	0.10540	-	
22 <i>P pirarara</i>	0.10459	0.11264	0.05348	0.13004	0.11601	0.12190	0.11953	0.10972	0.10434	0.06754	-
23 <i>P plecoglosi</i>	0.15148	0.03440	0.09771	0.15448	0.03744	0.04259	0.03609	0.03648	0.02521	0.10191	0.10616
24 <i>P exiguus</i>	0.14487	0.03223	0.09237	0.14917	0.03523	0.04242	0.02888	0.03439	0.02212	0.09553	0.09955
25 <i>P pollanicola</i>	0.15188	0.03920	0.09927	0.15694	0.04025	0.04940	0.03600	0.04141	0.02917	0.10244	0.10657
26 <i>P renaudi</i>	0.10829	0.13438	0.10262	0.12381	0.13684	0.13874	0.14195	0.13475	0.12532	0.06508	0.09615
27 <i>P sp (larva)</i>	0.06495	0.11313	0.08959	0.11819	0.11753	0.11857	0.12247	0.10640	0.10713	0.02303	0.07060
28 <i>P tetrastomus</i>	0.14647	0.03519	0.09308	0.15282	0.03827	0.03727	0.03288	0.03533	0.02009	0.09624	0.10141
29 <i>P torulosus</i>	0.14932	0.04421	0.09784	0.15732	0.04937	0.04326	0.04613	0.04140	0.00000	0.10506	0.10409
	23	24	25	26	27	28	29				
23 <i>P plecoglosi</i>	-										
24 <i>P exiguus</i>	0.00705	-									
25 <i>P pollanicola</i>	0.01409	0.00704	-								
26 <i>P renaudi</i>	0.12412	0.11660	0.12448	-							
27 <i>P sp (larva)</i>	0.10464	0.09730	0.10522	0.06610	-						
28 <i>P tetrastomus</i>	0.00706	0.00807	0.01503	0.11930	0.09901	-					
29 <i>P torulosus</i>	0.02516	0.02213	0.02907	0.12599	0.10780	0.02002	-				

## 8. LITERATURA CITADA

- Arandas-Rego, A.** 1995. A new clasification of the Cestode Order Proteocephlidea Mola. *Revista Brasileira de Zoologia*. 12 : 791-814.
- Arandas-Rego, A., A. De Chambrier, V. Hanzelová, E. Hoberg, T. Scholz, P. Weekes & M. Zehnder.** 1998. Preliminary phylogenetic analysis of subfamilies of the Proteocephalidea (Eucestoda). *Systematic Parasitology*. 40: 1-19.
- Arandas-Rego, A.** 1994. Order Proteocephalidea Mola, 1928. In: Kalil, F. J.; A., Jones; R. A. (Bray) eds. *Keys to cestode parasites of vertebrates*. Wallingford. CAB. International. 257-293.
- Barker, S. C., D. Blair, A. R. Garret y T. H. Cribb.** 1993. Utility of the D1 domain of nuclear 28s rRNA for phylogenetic inference in the Digenea. *Systematic Parasitology*. 26: 183-188.
- Brooks, D.R.** 1978a. Systematic status of proteocephalid cestodes from reptiles and amphibians in North America, with descriptions of three new species. *Proceedings of Helminthological Society of Washington*. 45(1): 1-28.
- Brooks, D.R.** 1978b. Evolutionary history of the cestode Order Proteocephalidea. *Systematic Zoology*. 27(3): 312-323.
- Cañeda-Guzmán, I. C., De Chambrier, A., T. Scholz, T.** 2001. *Thaumasioscolex didelphidis* n. gen. and n. sp. (Cestoda: Proteocephalidae) from the black-eared opossum *Didelphis marsupialis* from México, the first Proteocephalidean tapeworm from a mammal. *Journal of Parasitology*. 87, 639-47.
- Castro-Aguirre, J. L., H. S. Espinoza-Pérez y J. J. Schmitter-Soto.** 1999. Ictiofauna estuarino-lagunar y vicaria de México. Noriega Limusa. México D.F. 711 pp.
- Cabot, E.L., & T. Beckenbach.** 1989. Simultaneous editing of multiple nucleic acid and protein secuencias with ESEE. *Comparative Applied Biology*. 5: 233- 234.
- De Chambrier, A.** 1989a. Révision du genre *Crepidobothrium* Monticelli, 1900 (Cestoda: Proteocephalidae) parasite d' Ofidiens néotropicaux. I. *C. gerrardi* (Baird, 1860) et *C. viperis* (Beddard, 1913). *Revue Suisse de Zoologie*. 96(2): 191-217.

- De Chambrier, A.** 1989b. Révision du genre *Crepidobothrium* Monticelli, 1900 (Cestoda: Proteocephalidae) parasite d' Ofidiens néotropicaux. II *C. dollfusi* Freze, 1965, *C. lachesidis* (MacCallum, 1921) et conclusions. *Revue Suisse de Zoologie*. 96(2): 345-380.
- De Chambrier, A y C., Vaucher.** 1984. *Proteocephalus gasparsi* n. sp. (Cestoda: Proteocephalidae), parasite de *Lepisosteus tropicus* (Gill) au Lac Managua (Nicaragua). *Revue Suisse de Zoologie*. 91(1): 15-32.
- De Chambrier, A., C. Vaucher y F. Renaud.** 1992. Etude des caracteres morpho anatomiques et des fluxes géniques chez quatre *Proteocephalus* (Cestoda: Proteocephalidae) parasites de *Bothrops jararaca* du Brésil et description de trois especes nouvelles. *Systematic Parasitology*. 23: 141-156.
- De Chambrier A. et Arandas-Rego A.** 1994. *Proteocephalus sophiae* n. sp. (Cestoda: Proteocephalidae) a parasite of the siluroid fish *Paulicea luetkeni* (Pisces: Pimelodidae) from tha Brazilian Amazon. *Revue Suisse de Zoologie*. 101 (2): 361-368.
- De Chambrier, A., T. Scholz y C. Vaucher.** 1996. Tapeworms (Cestoda:Proteocephalidea) of *Hoplias malabaricus* (Pisces: Characiformes, Erythrinidae) in Paraguay: description of *P. regoi* and redescription of *Nomimoscolex matogrossensis*.
- De Chambrier, A. et C., Vaucher.** 1997. Revisión des cestodes (Monticellidae) décrits par Woodland (1934) chez *Brachyplatystoma filamentosum* avec redéfinition des genres *Endorchis* Woodland, 1934 et *Nomimoscolex* Woodland, 1934. *Systematic Parasitology*. 37: 219-233.
- Diego-Pérez, N. Y L. Lozada.** 1994. Estudios florísticos en Guerrero 3. No 3. Laguna de Tres Palos. Facultad de Ciencias UNAM. 30 pp.
- Duellman, W.E.** 1958. A monographic study of the colubrid snake genus *Leptodeira* . *Bulletin of the American Museum of Natural History*. New York. 114 (1).
- Freze, V.I.** 1965. Principles of Cestodology. Proteocephalata. Vol 5. Skrjabin K.I. Ed. Izdatel'stvo. Nauka, Moscow. English Translations: Israel. Program of Science. Translations. Jerusalem. 597 pp.
- García-Prieto, L., L. M. Rodríguez y G. Pérez-Ponce de León.** 1996. *Proteocephalus brooksi* n. sp. (Cestoda: Proteocephalidae) in the neotropical freshwater fish *Rhamdia*

- guatemalensis* (Siluriformes: Pimelodidae) from lake Catemaco, veracruz, Mexico. *Journal of Parasitology*. 82(6): 992-997.
- Harwood, P.** 1933. The helminths parasitic in a water moccasin (snake) with a discussion of the characters of the Proteocephalidae. *Parasitology*. 25: 130-142.
- Hillis, D.M.** 1987. Molecular versus morphological approaches to systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 18: 23-42.
- Hillis, D.M. y Moritz.** 1990. An overview of applications of molecular systematics. In Hillis, D.M. and C. Moritz (eds), *Molecular Systematics*. Sinauer Associates, Sunderland. pp. 502-515.
- Hillis, D. M. y C. M. T. Dixon.** 1991. Ribosomal DNA; Molecular evolution and phylogenetic inference. *The Quarterly Review of Biology*. 66(4): 411-453.
- Hillis, D. M., C. Moritz y B. Mable.** 1996. *Molecular Systematics*. Sinauer Associates, Sunderland. 655 pp.
- Kodědová, I., D. Dodežel, M. Broučková, M. Jirků, V. Hypša y T. Scholz.** 2000. On the phylogenetic position of the Caryophylidea, Pseudophylidea y Proteocephalidea (Eucestoda) inferred from 18S rRNA. *International Journal of Parasitology*. 30, 1109-1113.
- Král'ová, I., Y. V. de Peer, M. Jirků, M. V. Ranst, T. Scholz, & J. Lukeš.** 1997. Phylogenetic analyses of a fish tapeworm, *Proteocephalus exiguus*, based on the small subunit rRNA gene. *Molecular and Biochemical Parasitology*. 84, 263-266.
- La Rue, G.** 1911. A Revision of the cestode family Proteocephalidae. *Zoological Anzeiger*. 38(22/23): 473-482.
- La Rue, G.** 1914. A Revision of the cestode family Proteocephalidae. III. *Biological Monographs*. 1(1-2): 1-350.
- Littlewood, D. T. & D. A. Johnson.** 1995. Molecular phylogenetics of the four *Schistosoma* species groups determined with partial 28S ribosomal RNA genes sequences. *Parasitology*. 111: 167-175.
- MacCarthy, C.** 1996-1997. School of Biomolecular and Biomedical Science, Faculty of Science and technology Griffith University, Brisbane, Queensland, Australia.

- Mariaux, J.** 1996. Cestode sistematics: any progress. *International Journal of Parasitology*. 26 (3): 231-243.
- Mariaux, J.** 1998. A molecular phylogeny of the Eucestoda. *Journal of Parasitology*. 84(1):114-124.
- Mollaret, I., B.G., Jamieson, R.D, Adlard, A., Hugali, G., Lecointre, C., Chombard & J. L. Justine.** 1997. Phylogenetic analysis of the Monogenea and their relationships with Digenea and Eucestoda inferred from 28S rDNA sequences. *Molecular Biochemical of Parasitology*. 90(2): 433-438.
- Olson, P.D. & J.N. Caira.** 1999. Evolution of the major lineajes of tapeworms (Platyhelminthes: Cestoidea) inferred from 18S ribosomal DNA and elongation factor 1 alpha. *Journal of Parasitology*. 85(6): 1134-1159.
- Okamoto, M., Y. Bessho, M. Kamiya, T. Kurosawa & T. Horii.** 1995. Phylogenetic relationships within *Taenia taeniformis* variants and other taenid cestodes inferred from the nucleotid sequence of the citocromo c oxidasa subunit 1 gene. *Parasitological Research*. 81: 451-458.
- Pérez-Ponce de León, G., D. R. Brooks y R. Berman.** 1995. *Proteocephalus chamelensis* n. sp. (Cestoda: Proteocephalidae) from the "guavina" *Gobiomorus maculatus* (Osteichthyes: Eleotrididae) in Chamela Bay, Jalisco, México. *Journal of Parasitology*. 81(5) 773-776.
- Qu, L.H., N. Hardmann, L. L. Gill, L. Chappell, M. Nicoloso y J. P. Bachellerie.** 1986. Phylogeny of helminths determined by rRNA secuence comparison. *Molecular and Biochemical Parasitology*. 20: 93-99.
- Qu, L.H., M. Nicoloso y J. P. Bachellerie.** 1988. Phylogenetic calibration of the 5' terminal domain of large rRNA achived by determining twenty eucariotic secuenses. *Journal of Molecular Evolution*. 28: 113-24.
- Schmidt, G.D.** 1986. Handbook of tapeworm identification. CRC. Press, Boca Ratón, Florida. 675 pp.
- Scholz, T. y V. Hanzelová.** 1998. Tapeworms of the genus *Proteocephalus*, Weinland, 1858 (Cestoda: Proteocephalidae). Parasites of fishes in Europe. Academia Praha. 118 pp.

- Scholz, T. y V. Hanzelová.** 1999. Species of *Proteocephalus* Weinland 1858 (Cestoda: Proteocephalidae) from Cyprinid fishes in North América. *Journal of Parasitology*. 85 (1) 150-154.
- Scholz, T., R. Drábeck y V. Hanzelová.** 1998. Scolex morphology of *Proteocephalus* tapeworms (Cestoda: Proteocephalidae), parasites of freshwater fish in the Palearctic Region. *Folia Parasitologica*. 45: 27-43.
- Sevilla, M.L., E.A. Chávez, R. Ramírez Granados y E. Hidalgo.** 1980. Prospección ecológica de la Laguna de Tres Palos, Guerrero. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas*. 22: 149-164.
- Shoop, W. L. y C. K., Corkum.** 1982. *Proteocephalus micruricola* sp.n., (Cestoda: Proteocephalidae) from *Micrurus diastema affinis* in Oaxaca, Mexico. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*. 49: 62-64.
- Škeříková, A., V. Hypša & T. Scholz.** 2001. Phylogentic analysis of European species of *Proteocephalus* (Cestoda: Proteocephalidae): compatibility of molecular and morphological data, and parasite-host coevolution. *International Journal for parasitology*. 31: 1121-1128.
- Šnábel, V., Hanzelová, V., Fagerholm, H. P.** 1994. morphological and genetic comparasion of two *Proteocephalus* species (Cestoda: Proteocephalidae). *Parasitology Research*. 80: 141-146.
- Swofford, D. L.** 1998. PAUP. Phylogenetic analyses using parsimony and other methods. Ver. 4.0b8. Sinauer, associates Sunderland, Massachusetts.
- Turčeková, L. y Kralová, I.** 1995. Characterization of DNA restriction profiles and rRNA gene restriction fragment length polymorphisms of *Proteocephalus exiguus* and *P. neglectus* from geographically distinct regions. *Journal of Helminthology*. 69: 159-163
- Verneau, O., F. Catzeflis y F. Renaud.** 1997a. Molecular relationships between closely related species of *Botriocephalus* (Cestoda: Platyhelminthes). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 7(2): 201-207.
- Yañez-Arancibia, A.** 1978. Taxonomía, ecología y estructura de las comunidades de peces en lagunas costeras con bocas efímeras del Pacífico Mexicano. *Anales de Ciencias del Mar y Limnología*. UNAM. 18: 137-155.

**Zehnder, M. P. y J. Mariaux. 1999. Molecular systematic of the order Proteocephalidea (Eucestoda) based on mitochondrial and nuclear rDNA sequences. International Journal of Parasitology. 29: 1841-1852.**