# *Temnocephala* (Platyhelminthes, Rhabdocoela) asociados a moluscos (Caenogastropoda, Ampullariidae): ecología y biogeografía

Autora: Lic. Agustina Zivano

Directoras:

Dra. María Cristina Damborenea

Dra. Carolina Noreña Janssen

Trabajo de tesis presentado para optar al título de Doctora en Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de La Plata



Facultad de Ciencias Naturales y Museo - Universidad Nacional de La Plata

2022

# AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a la Facultad de Ciencias Naturales y Museo, por formarme y darme mi lugar de trabajo, y al CONICET por brindarme la Beca Doctoral que me permitió realizar esta tesis.

Quisiera agradecer muy especialmente a todas las personas sin quienes esto no habría sido posible.

A mis directoras, por su guía y su paciencia. A Cristina por haberme recibido con los brazos abiertos y brindarme una formación invaluable. A Carolina por haber estado a pesar de la distancia, dispuesta a correr hasta el último minuto.

A Hugo por haberme abierto las puertas de la División, por su generosidad y por empujarme siempre a más.

A Pancho y a Lisandro, por toda su ayuda y enseñanzas en el laboratorio, los muestreos compartidos y el material cedido.

A Mica, Mari, Noe y Lucía, por su ayuda y por compartir las alegrías, los bajones, las crisis y toda la locura que significa hacer una tesis.

A Samantha, por enseñarme tanto (en tan poco tiempo), apoyarme y soportar mis "fiascos", por toda la ayuda y todas las risas.

A Moni, Vero, Fabi, Regi, Diego, Mariana, Ana, Luciana, Stella y toda la División de Zoología Invertebrados, por su apoyo, su compañía y los conocimientos compartidos.

A Roberto, Ariel y Andrés, por sus siempre generosas enseñanzas, que lograron hacerme incursionar en el mundo molecular.

A los chicos de la Facu: Euge, Belu, Villa, Zul, Tati y Mari, con quienes empecé el viaje, y son siempre un gran apoyo.

A Ágata (CMDLJI), amiga del alma, por estar siempre.

Finalmente, a mi familia, por haberme dado su apoyo incondicional. Por haberme guiado, aguantado, escuchado y bancado en todo, especialmente este último tiempo de locos. A mis abuelos, al que veo y a los que no. Llegamos.

¡Gracias!

AGRADECIMIENTOS	2
RESUMEN	5
ABSTRACT	8
INTRODUCCIÓN GENERAL	11
Objetivos e hipótesis	18
MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES	20
CAPÍTULO 1 - Puesta a prueba de hipótesis morfológicas de especies de	
Temnocephala asociadas a moluscos por identificación molecular	27
Metodología para análisis moleculares	28
Extracción de ADN	28
Amplificación y secuenciación	28
Análisis bioinformático	29
a. Alineamiento de secuencias	30
b.Estimación de las distancias genéticas	30
Inferencia filogenética	30
a. Máxima Verosimilitud	31
b. Inferencia Bayesiana	32
Delimitación de especies	33
<u>Metodología para análisis morfológicos</u>	33
<u>Resultados</u>	35
Amplificación y secuenciación	38
Análisis de las distancias genéticas	38
Inferencia filogenética	43
Delimitación de especies de temnocéfalos asociados a moluscos	44
Análisis morfológico	46
<u>Discusión</u>	53
Relaciones de parentesco entre las especies de <i>Temnocephala</i> estudiadas	53
Distancias genéticas interespecíficas	54
Distancias genéticas intraespecíficas	55
Delimitación de linajes por información molecular	56
Morfología del estilete peniano	57
Información morfológica versus información molecular	58
CAPÍTULO 2 - Análisis de poblaciones de <i>Temnocephala iheringi</i> y	
<i>Temnocephala lamothei</i> mediante el uso de redes de haplotipos	59
<u>Metodología</u>	59
Redes de haplotipos	59
Prueba de Mantel	60
Resultados	60
Redes de haplotipos	60
Prueba de Mantel	66
<u>Discusión</u>	66
CAPITULO 3 – Análisis de la morfología faríngea y de la ventosa de	
Temnocephala spp	70
Introducción	70
Metodologia	76
<u>Kesultados</u>	78
Mortologia de la taringe	
Mortologia de la ventosa en Temnocephala spp.	88

170

#### RESUMEN

Los temnocéfalos (Temnocephalidae Monticelli, 1899, *sensu* Van Steenkiste *et al.*, 2021) son un grupo de Platyhelminthes Rhabdocoela ectosimbiontes comensales de invertebrados (crustáceos, moluscos e insectos) y de vertebrados (quelonios). El grupo está compuesto por 5 subfamilias que se distribuyen naturalmente a lo largo del sur del continente eurasiático, América del Sur y Central, Australia, Nueva Zelanda, Nueva Guinea y Madagascar. El género *Temnocephala* (Temnocephalinae) es endémico de las regiones Neotropical y Andina y está representado por 39 especies, de las cuales siete son comensales de moluscos gasterópodos. Dos de ellas, *Temnocephala iheringi* Haswell, 1893 y *Temnocephala lamothei* Damborenea & Brusa, 2008, han sido registradas en Argentina y son el foco del presente trabajo de tesis.

Las especies de *Temnocephala* en general han sido particularmente estudiadas en sus aspectos morfológicos, pero no existen estudios sobre las características y adaptaciones específicas a sus hábitos de vida. Asimismo, no existe información molecular a nivel específico para el género. Se plantearon tres objetivos específicos con el fin de incrementar el conocimiento biológico y morfo-funcional de especies simbiontes obligadas, así como para generar información molecular para comprender las relaciones entre poblaciones simbiontes asociadas a hospedadores moluscos: 1) poner a prueba las hipótesis morfológicas de especies de *Temnocephala* asociadas a moluscos mediante análisis moleculares; 2) realizar análisis de haplotipos de sus poblaciones; y 3) conocer las estructuras vinculadas a la alimentación y fijación de temnocéfalos asociados a moluscos.

Para alcanzar parte de los objetivos planteados fue necesario incluir en el estudio especies neotropicales asociadas a otros hospedadores, en este caso crustáceos: *Temnocephala digitata* Monticelli, 1902, comensal del camarón de agua dulce *Palaemon argentinus* (Nobili, 1901) (Decapoda, Caridea) y *Temnocephala chilensis* (Moquin-Tandon, 1846) asociada a cangrejos de río del género *Aegla* Leach, 1820 (Crustacea, Anomura) y de especies de Parastacidae (Decapoda, Astacidea). Se colectaron hospedadores moluscos en 15 localidades de la cuenca del Plata (Río Uruguay, Río Paraná y Río de la Plata) y del Río Tapajós (Brasil), y hospedadores crustáceos en siete localidades de la cuenca del Plata y la región Andina.

Los ejemplares de *Temnocephala iheringi* se encontraron asociados a gasterópodos de cinco especies diferentes: *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822),

Pomacea maculata Perry, 1810, Pomacea megastoma (G. B. Sowerby I, 1825), Pomacea linnaei (Philippi, 1852) y Asolene platae (Maton, 1811). Los ejemplares de *T. lamothei* se encontraron asociados a *Felipponea neritiniformis* (Dall, 1919) y *Pomacea megastoma* (G. B. Sowerby I, 1825). Para la identificación de los temnocéfalos se utilizó la morfología del estilete peniano, que es el carácter taxonómico de mayor importancia en el grupo.

Para los estudios moleculares se utilizó la porción anterior del cuerpo, mientras que la poción posterior se conservó como *voucher* para la identificación específica. Para alcanzar el primer objetivo específico, se realizaron análisis de inferencia filogenética mediante Inferencia Bayesiana y Máxima Verosimilitud, así como delimitación de especies por *multi-rate Poisson Tree Processes* (mPTP), y se comparó la morfología del estilete peniano y su variabilidad con la información resultante de los análisis moleculares.

Los resultados de la inferencia filogenética evidenciaron la monofilia de las especies erigidas a partir de descripciones morfológicas, así como la del grupo de especies asociados a hospedadores moluscos. Los resultados de la delimitación de especies reconocieron varios linajes en cada especie, en muchos casos coincidentes con las localidades de procedencia.

Se realizaron análisis de redes de haplotipos correspondientes a fragmentos del gen de la proteína citocromo oxidasa I para conocer las relaciones entre las diferentes poblaciones de *T. iheringi* y *T. lamothei* y evaluar la relación entre su estructura y las especies hospedadoras. Ambas especies demostraron alta diversidad genética, habiéndose hallado 13 haplotipos a partir de 20 secuencias de *T. lamothei* y 32 a partir de 56 secuencias de *T. iheringi*, comparada con estudios previos de otra especie de la familia en la que se encontraron 17 haplotipos en 61 individuos. Los grupos reconocidos en las redes de haplotipos fueron coincidentes con los linajes definidos por mPTP. Para *T. iheringi* se reconoció, en la mayoría de los casos, una asociación por localidad, mientras que para *T. lamothei* se evidenció una estructuración por hospedador y localidad. Sin embargo, la prueba de Mantel para evaluar la relación entre las distancias genéticas y geográficas de las poblaciones de *T. iheringi* no evidenció correlación entre ellas.

Con el fin de reconocer adaptaciones especiales en la faringe y en la ventosa de los temnocéfalos asociados a moluscos debido a su modo de vida (dentro de la cavidad paleal), se describió su morfología a partir de observaciones mediante microscopía óptica y confocal y se comparó con la de especies de Dalyelliidae de vida libre y con un tipo de faringe semejante. Además, se realizó una comparación entre *T. iheringi, T. lamothei* y *T. digitata*, esta última asociada a la superficie corporal de hospedadores crustáceos, que reveló diferencias en las dimensiones del esfínter posterior de la faringe y en el tamaño de la ventosa en relación al tamaño del cuerpo.

Finalmente, como aporte de este trabajo se extendió el rango de distribución de *T. iheringi* más de 1500 km al norte de su rango conocido, y se registró un hospedador nuevo para *T. lamothei*: *F. neritiniformis*.

#### ABSTRACT

Temnocephalans (Temnocephalidae Monticelli, 1899, *sensu* Van Steenkiste *et al.*, 2021) are a group of Rhabdocoela Platyhelminthes ectosymbiont of invertebrates (crustaceans, mollusks, and insects) and vertebrates (Testudines). The group is composed of five subfamilies that are naturally distributed along the southern margin of the Eurasian continent, Southern and Central America, New Guinea, and Madagascar. The genus *Temnocephala* (Temnocephalinae) is endemic to the Neotropical and Andean Regions and comprises 39 species, of which seven are commensal of gastropod mollusks. Two of them, *Temnocephala iheringi* Haswell, 1893 and *Temnocephala lamothei* Damborenea & Brusa, 2008, have been recorded in Argentina and are the focus of this thesis.

Species of the genus have been particularly studied regarding descriptive and morphological aspects, but there are no studies on the specific characteristics and adaptations to their life habit. Furthermore, there is no species-level molecular information on the genus. Three specific objectives were set in order to increase biological and morpho-functional knowledge of obligated symbiotic species, as well as to generate molecular information to understand the relationships between temnocephalan populations associated with mollusk hosts: 1) to test the morphological hypothesis of species of Temnocephala associated with mollusks hosts by molecular analyses; 2) to perform haplotype analyses of their populations; and 3) to recognize the characteristics of the structures related to feeding and attachment of temnocephalans associated with mollusks.

To accomplish part of these objectives, it was necessary to include neotropical species associated with other hosts in the study, in this case, crustaceans: *Temnocephala digitata* Monticelli, 1902, commensal of freshwater shrimp *Palaemon argentinus* (Nobili, 1901) (Decapoda, Caridea) and *Temnocephala chilensis* (Moquin-Tandon, 1846) associated with freshwater crabs of the genus *Aegla* Leach 1820 (Crustacea, Anomura) and some Parastacidae species (Decapoda, Astacidea). Mollusk hosts were collected on 15 sites from Río de la Plata basin (Uruguay River, Parana River, and Río de la Plata River) and Río Tapajós basin (Brasil), and crustacean hosts were collected on seven sites from Río de la Plata basin and the Andean Region.

Specimens of *Temnocephala iheringi* were found associated with five different gastropod species: *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822), *Pomacea maculata* Perry, 1810, *Pomacea megastoma* (G. B. Sowerby I, 1825), *Pomacea linnaei* (Philippi, 1852), and *Asolene platae* (Maton, 1811). T. lamothei specimens were found on *Felipponea neritiniformis* (Dall, 1919) y *Pomacea megastoma* (G. B. Sowerby I, 1825). Specific identification was based on the morphology of the penial stylet, which is the most important taxonomic character in this group.

For molecular studies, the anterior portion of the body was used, while the posterior region was preserved as a voucher for specific identification. To achieve the first specific objective, phylogenetic inference analyses were performed by Bayesian Inference and Maximum Likelihood, as well as species delimitation by Multi-rate Poisson Tree Processes mPTP, and the penial stylet morphology and its variability were compared with the resulting information from molecular analyses.

The results from phylogenetic inference recovered the monophyly of the morphological species, as well as that of the group of mollusk-associated species. Species delimitation analyses differentiated several lineages within each species, in many cases corresponding with their collection sites.

Haplotype networks were generated to determine the relationships between different populations of *T. iheringi* and *T. lamothei*, and to evaluate the relationship between their structure and their host species. Both species showed high genetic diversity, with 13 haplotypes from 20 *T. lamothei* sequencies and 32 from 56 *T. iheringi* sequencies, compared with previous studies on a different species of the family where 17 haplotypes were identified from 61 specimens. The groups recognized on haplotype networks were coincident with those defined by mPTP. For *T. iheringi*, groups were separated by collection site, while for T. lamothei, there was evidence of structuring by host and site. However, Mantel's test between genetic and geographic distances for *T. iheringi* populations showed no evidence of correlation.

In order to recognize special adaptations in the pharynx and adhesive disk of mollusk-associated temnocephalans due to their life habit (inside the mantle cavity), their morphology was described after observations made using optic and laser confocal scanning microscopy, and compared to free-living Dalyelliidae species with a similar pharynx. Also, a comparison between *T. iheringi*, *T. lamothei*, and *T. digitata* (associated with its host's external surface) showed significant differences

in the size of the pharyngeal posterior sphincter and the body size/ adhesive disk diameter ratio.

Finally, this study extends *Temnocephala iheringi*'s distribution range over 1500 km north of its currently known geographic distribution limit, and a new host is recorded for *T. lamothei*: *F. neritiniformis*.

#### **INTRODUCCIÓN GENERAL**

#### Temnocephalidae en el árbol de la vida

Los platelmintos, o gusanos planos, son un phylum de animales bilaterios acelomados compactos. Se caracterizan por tener un cuerpo aplanado dorsoventralmente con los órganos embebidos en un parénquima celular, sistema digestivo incompleto (que puede perderse en grupos derivados), sistema nervioso central formado por una concentración anterior de células y fibras y cordones laterales longitudinales conectados por comisuras transversales, protonefridios fundamentalmente osmorreguladores, ausencia de mitosis en las células diferenciadas y presencia de células totipotentes (stem cells) (Hartenstein, 2016; Brusa et al., 2020). Tradicionalmente fueron considerados basales entre los Bilateria, debido a su plan estructural simple, mientras que estudios recientes que incluyen varios taxa, con un gran número de marcadores y con metodologías sofisticadas, indican que los Platyheminthes se aproximan a Nemertea y Annelida (Marlétaz et al., 2019). Otros estudios filogenéticos, basados en evidencia molecular, confirman a los Platyhelminthes como un grupo monofilético y derivado entre los Bilateria por simplificación del plan estructural (Giribet & Edgecombe, 2020; Adell & Riutort, 2022).

El *phylum* se compone de dos clados principales, Catenulida y Rhabditophora. Este último incluye a la mayor parte de las especies y se caracteriza por la presencia de rhabditas (cuerpos en forma de varilla, de estructura laminar, secretados por células de la epidermis o asociadas a ella) (Rieger *et al.*, 1991).

Los Rhabditophora incluyen varios grupos de vida libre, comensal y parásita y a Neodermata (clado monofilético que incluye exclusivamente formas parásitas, generalmente de vertebrados, con una neodermis sincicial como autapomorfía) (Giribet & Edgecombe, 2020). Los Rhabditophora no-Neodermata junto con los Catenulida, forman los tradicionalmente llamados "Turbellaria". Los clados que conforman este grupo parafilético comparten algunas características en cuanto a la epidermis (simple y, en su mayoría, ciliada), la disposición de la musculatura y la presencia de rabditas o estructuras semejantes (rabdoides en Catenulida). Debido a que se trata de un nombre ampliamente utilizado en la bibliografía, advirtiendo que se trata de un grupo parafilético, en el presente trabajo se utilizará en ocasiones el nombre "turbelarios" para denominar a este grupo. Actualmente se conocen alrededor de 6500 especies de turbelarios, que habitan ambientes marinos, aguas continentales y ambientes terrestres húmedos (Laumer *et al.*, 2015). La mayor parte de las especies son depredadoras de vida libre. Sin embargo, aproximadamente 250 especies, distribuidas en 35 familias, viven como simbiontes de otros organismos (Van Steenkiste *et al.*, 2013). La mayoría pertenece al clado Dalytyphloplanida entre los Rhabdocoela (Rhabditophora) y, entre éstos, los más reconocidos por sus hábitos simbiontes son Temnocephalidae, Umagillidae, Pterastericolidae y Graffillidae, taxones sin relación filogenética estrecha entre sí; es decir, se considera que los modos de vida simbióticos se desarrollaron varias veces en el grupo de manera independiente (Van Steenkiste *et al.*, 2013) (Figura 1).

Si bien hubo intentos de vincular a los Rhabdocoela con los Neodermata, estudios subsiguientes indicaron que no están relacionados (Iomini *et al.*, 1999; Laumer *et al.*, 2015; Egger *et al.*, 2015).



**Figura 1.** Hábitos de vida de los diferentes grupos de Platyhelminthes, modificado a partir de Laumer *et al.* (2015).

#### Los "Turbellaria" simbiontes

Las asociaciones simbióticas entre los Rhabditophora varían desde simples asociaciones facultativas de refugio, pasando por foresis y ecto y endocomensalismo facultativo u obligado hasta endoparasitismo obligado (Jennings, 1980). Los grupos que exhiben estos tipos de asociaciones, con excepción de la primera, muestran diversos grados de modificación en su fisiología nutricional, en comparación con el patrón básico característico de las especies depredadoras de vida libre. El tipo de hospedador y el sitio sobre o dentro de él donde se localiza el simbionte, determinan el tipo de alimento disponible y, a partir de esto, los cambios nutricionales. En general, se considera que los temnocéfalos ectosimbiotes se alimentan y digieren de forma similar a la de los platelmintos de vida libre. De esta forma, los ectosimbiontes (como la mayoría de los Temnocephalidae) se alimentan de forma semejante a como lo hacen los de forma libre y pueden suplementar su alimentación con el alimento del hospedador (comensalismo) y sus reservas son de tipo lipídicas (Jennings, 1968). Por otra parte, los endosimbiontes pueden alimentarse de protozoos co-simbiontes, ingerir el alimento del hospedador, o alimentarse de tejidos del hospedador, siendo la sustancia de reserva generalmente glucógeno. Las estrategias alimentarias y reproductivas de las formas simbiontes son extremadamente variables y ejemplifican los caminos evolutivos seguidos por los primeros platelmintos parásitos (e.g., Graffillidae, Umagillidae y Pterastericolidae, entre los Rhabdocoela, y Neodermata), constituyendo estados tempranos hacia la dependencia metabólica del hospedador (Jenning, 1997).

#### Temnocephalidae

Los Temnocephalidae (hasta recientemente =Temnocephalida) (Van Steenkiste *et al.*, 2021), son ectosimbiontes de invertebrados (crustáceos, moluscos e insectos) y de vertebrados (quelonios), que manifiestan los pasos intermedios de la transición desde el comensalismo al parasitismo (Joffe *et al.*, 1998; Van Steenkiste *et al.*, 2013). Evidencias de sus hábitos alimenticios y de sus relaciones con los taxones hospedadores demuestran tener condiciones ancestrales, que no evolucionaron hacia una total dependencia con su hospedador.

Temnocephalidae es el taxón más diverso entre los turbelarios comensales (Cannon & Joffe, 2001), con más de 130 especies (Tyler *et al.*, 2006-2022); está compuesto por cinco taxa recientemente recategorizados como subfamilias (Van Steenkiste *et al.*, 2021). Entre ellos, Scutariellinae compone el grupo "del norte" (distribuido a lo largo del sur del continente euroasiático, desde el norte de Italia hasta Sri Lanka y Japón). Las otras cuatro subfamilias (Temnocephalinae, Diceratocephalinae, Decadidyminae y Didymorchinae) componen el grupo "del sur", que se distribuye naturalmente en América del Sur y Central, Australia, Nueva Zelanda, Nueva Guinea, Madagascar, India, el sur de China y Vietnam (Baer, 1961; Cannon & Joffe, 2001), aunque se han encontrado representantes introducidos accidentalmente por el hombre en regiones fuera de su rango natural (Sibraa *et al.*, 2021).

Las principales sinapomorfías de Temnocephalidae son: epidermis y revestimiento de la faringe formados por un mosaico de placas sinciciales, un órgano adhesivo posterior asociado a glándulas adhesivas, dos o más comisuras que relacionan el nefridio derecho con el izquierdo y comunicación génito-instestinal (Joffe *et al.*, 1998).

#### Género Temnocephala

La subfamilia Temnocephalinae (Platyhelminthes, Temnocephalidae) incluye 12 géneros, todos comensales. Los temnocéfalos de las regiones Neotropical y Andina pertenecen a dos géneros: Temnocephala Blanchard, 1849 (Temnocephalinae) y Didymorchis Haswell, 1900 (Didymorchinae), siendo Temnocephala un género endémico de América del Sur y Central (Damborenea & Cannon, 2001a). También se la presencia de Diceratocephala boschmai Baer, ha reportado 1953 (Diceratocephalinae), una especie introducida desde Australia a un criadero de langostas, Cherax tenuimanus (Smith, 1912), en Uruguay (Volonterio, 2009).

A la fecha, se conocen 39 especies de *Temnocephala* (Lenis *et al.*, 2020; Ponce de León *et al.*, 2020; Seixas *et al.*, 2020; Tyler *et al.*, 2006-2022), distribuidas en sistemas dulceacuícolas neotropicales y andinos, que presentan una asociación comensal con distintos hospedadores invertebrados (moluscos gasterópodos, crustáceos decápodos, insectos hemípteros, tricópteros y plecópteros) y vertebrados (Chelonia, Chelidae) (Damborenea & Cannon, 2001a, Amato *et al.*, 2011: Seixas *et al.*, 2015a, 2015b).

#### Temnocephala spp. comensales de moluscos

Se conocen siete especies de temnocéfalos asociadas a moluscos: *Temnocephala iheringi* Haswell, 1893, *Temnocephala rochensis* Ponce de León, 1979, *Temnocephala haswelli* Ponce de León, 1989, *Temnocephala lamothei* Damborenea & Brusa, 2008, *Temnocephala colombiensis* Garcés, Puerta, Tabares, Lenis & Velásquez, 2013, *Temnocephala euryhalina* Seixas, Amato & Amato, 2015 y *Temnocephala amatoi* Seixas & Amato, 2020. Con la excepción de *T. euryhalina*, todas son comensales de gasterópodos de la familia Ampullariidae. En nuestro país, sólo están presentes dos de ellas, por lo que el presente trabajo se centra en su estudio: *T. iheringi* y *T. lamothei* (Figura 2).

*Temnocephala iheringi* fue originalmente descripta sobre *Pomacea* sp. (=*Ampullaria* Lamarck, 1799). A la fecha se la ha registrado asociada a seis especies hospedadoras, como son *Pomacea linnaei* (Philippi, 1852), *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822), redefinida como hospedador tipo por Seixas *et al.* (2010a), *Pomacea maculata* Perry, 1810, *Pomacea megastoma* (G. B. Sowerby I, 1825), *Asolene platae* (Maton, 1811) y *Marisa planogyra* Pilsbry, 1933 (Seixas *et al.*, 2020). Aquí es necesario aclarar que *P. maculata* y *P. canaliculata* tienen una historia de sinonimizaciones y separaciones sucesivas, por lo que las identificaciones históricas de estos hospedadores no siempre son confiables (Cowie & Thiengo, 2003; Hayes *et al.*, 2012). La distribución geográfica de *T. iheringi* es amplia, abarcando desde el centro de Brasil (norte de la región del Pantanal), hasta Uruguay y el sur de la región pampeana en Argentina, entre los 16 y 39º de latitud sur (Martín *et al.*, 2005; Seixas *et al.*, 2010a, 2020; y referencias citadas allí).

*Temnocephala lamothei* sólo ha sido citada para su localidad tipo, el Arroyo Yabotí-Miní (Provincia de Misiones), como comensal de *Pomacea megastoma* (Damborenea & Brusa, 2008).



**Figura 2. A.** Ejemplar adulto de *Temnocephala iheringi* (escala 0.5 mm). **B** y **C.** Huevos de *Temnocephala lamothei* sobre el ombligo de la conchilla y el opérculo de *Pomacea megastoma* y *Felipponea neritiniformis* respectivamente. **D.** Huevos de *Temnocephala iheringi* sobre la sutura de la conchilla de *Pomacea canaliculata*.

# Grado de conocimiento de las especies de Temnocephala

Si bien las especies de *Temnocephala* presentan un importante conocimiento de base sobre aspectos morfológicos, no existen estudios sobre las características y adaptaciones específicas a sus hábitos de vida. Se han realizado escasas contribuciones vinculadas a modelos de distribución en los hospedadores (Damborenea, 1998), densidad de comensales (Damborenea, 1996; de los Rios-Escalante *et al.*, 2014; Zivano *et al.*, 2020), ensambles en hospedadores (Damborenea *et al.* 2006; Vega *et al.* 2006), ultraestructura de la epidermis (Damborenea, 1992; Ponce de León y Volonterio, 2003; Damborenea & Cannon, 2001b; Seixas *et al.*, 2015c), características particulares del sistema reproductor (Moretto y Durquet, 1977; Moretto, 2001), cariotipos (Ponce de León, 1988), estudios histológicos (Volonterio y Ponce de León, 2004), distribución geográfica (Martin *et al.*, 2005) y sobre su biología alimentaria, nutrición y reservas (Jennings, 1968).

Para algunas especies de temnocéfalos, particularmente las mas ampliamente distribuidas, como son *T. iheringi, Temnocephala chilensis* (Moquin-Tandon, 1846) y *Temnocephala axenos* Monticelli, 1899, se ha registrado variabilidad morfológica que ha llevado a los especialistas a pensar que podría tratarse de especies diferentes de difícil delimitación mofológica (Amato et al., 2003; Volonterio, 2007; Seixas et al., 2018; Ponce de León & Volonterio, 2020; Seixas et al., 2020). En muchos casos, dichos registros están asociados a diferentes técnicas de observación, o limitados a sólo algunos de los caracteres diagnósticos que se han utilizado a lo largo de la historia. Con estudios integradores se ha determinado que algunos de estos registros de amplia variabilidad corresponden en realidad a especies diferentes (Seixas et al., 2020).

Entre las especies asociadas a moluscos objeto del presente estudio, la especie con mayor conocimiento previo, que será foco de estudio, es *T. iheringi*. Esta especie se ha utilizado de base para estudios morfológicos (Moretto & Durquet, 1977; Moretto, 2001, Volonterio & Ponce de León, 2004; Seixas *et al.*, 2010a), de regeneración (Flecher & Ponce de León, 1983), de relaciones entre ectosimbiontes y hospedadores (Di Persia & Radici de Cura, 1973), y de patrones de distribución y abundancia (Damborenea 1996, 1998; Martín *et al.*, 2005; Damborenea *et al.*, 2006).

La asociación con diferentes hospedadores implica modos de vida ligeramente diferentes. En los casos de temnocéfalos asociados a crustáceos, insectos y quelonios, los comensales se disponen en la superficie externa del cuerpo (y en ocasiones dentro de la cámara branquial de algunos crustáceos). Por el contrario, aquellos temnocéfalos asociados a moluscos, tienen una relación más estrecha con el hospedador, ya que viven dentro de la cavidad paleal del caracol, depositando sus huevos sobre la conchilla (Figuras 2 B-D) (Damborenea & Brusa, 2008; Seixas *et al.*, 2010a). Por lo tanto, las especies de *Temnocephala* son excelentes modelos biológicos para poner a prueba hipótesis evolutivas que reflejen la transición de la vida libre a la comensal, la diversificación en función al escenario geográfico, y el efecto de la historia evolutiva de los hospedadores sobre los procesos de diversificación de las especies y poblaciones de los organismos comensales, así como sus adaptaciones al estilo de vida.

# **Objetivos e hipótesis**

#### **Objetivos generales**

-Incrementar el conocimiento biológico y morfo-funcional de especies simbiontes obligadas.

-Obtener información molecular para comprender las relaciones entre poblaciones simbiontes asociadas obligatoriamente a hospedadores moluscos.

#### **Objetivos específicos**

1. Poner a prueba las hipótesis morfológicas de especies de *Temnocephala* asociadas a moluscos mediante análisis moleculares.

2. Realizar análisis de haplotipos de poblaciones de *Temnocephala* asociadas a moluscos.

3. Describir y comparar las estructuras asociadas a la alimentación y a la fijación de especies de temnocéfalos asociadas a moluscos.

#### Hipótesis

1. La identificación molecular de especies de temnocéfalos no es coincidente con la identificación morfológica tradicional (Objetivo específico 1).

2. Las diferentes especies hospedadoras de *Temnocephala iheringi* y *Temnocephala lamothei* determinan la estructura genética de sus poblaciones. (Objetivo específico 2)

3. La localización de los temnocéfalos sobre sus hospedadores y su nivel de exposición al ambiente (superficie externa *versus* cavidades respiratorias) se reflejan en el desarrollo y patrón de la musculatura de la ventosa, así como en el tamaño, el desarrollo de esfínteres y número de glándulas de la faringe. (Objetivo específico 3).

El presente trabajo de tesis propone abordar por primera vez aspectos moleculares de las especies de temnocéfalos asociados a moluscos de Argentina. Para alcanzar parte de los objetivos de este trabajo, como poner a prueba la monofila del grupo de especies asociadas a moluscos y las hipótesis morfológicas de especies con datos moleculares, fue necesario ampliar el grupo de estudio e incluir especies neotropicales asociadas a otros hospedadores, en este caso crustáceos. De esta forma, se incluyen en el estudio general secuencias obtenidas a partir de ejemplares de *Temnocephala digitata* Monticelli, 1902, comensal del camarón de agua dulce *Palaemon argentinus* (Nobili, 1901) (Decapoda, Caridea), y *Temnocephala chilensis* asociada a especies de cangrejos de río del género *Aegla* Leach 1820 (Crustacea, Anomura) y de especies de Parastacidae (Decapoda, Astacidea). Debido a los objetivos del trabajo, estas secuencias provenientes de hospedadores crustáceos, forman parte de los resultados alcanzados.

Considerando la diferencia en rangos de distribución geográfica de las especies estudiadas, y que ambas fueron encontradas asociadas a más de una especie hospedadora, se realizaron análisis de redes de haplotipos. De esta manera, se propone contrastar la estructura genética de sus poblaciones con diferentes factores, como la geografía y sus hospedadores.

Con el objetivo de establecer las características morfológicas resultantes de los diferentes hábitos de vida en relación con su hospedador, se realizó un estudio morfológico de estructuras asociadas con la alimentación, específicamente la faringe, y a la fijación, particularmente de la ventosa.

#### **MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES**

#### 1. Colecta y separación de ejemplares

Se realizaron colectas de moluscos y crustáceos hospedadores de temnocéfalos entre octubre de 2016 y febrero de 2020. Además, se utilizó material previamente colectado por el grupo de trabajo entre enero de 2010 y abril de 2015, comprendiendo así un total de 22 localidades de la cuenca del Plata (Río Uruguay, Río Paraná y Río de la Plata) y del Río Tapajós (Río Arapiuns, Brasil). En 15 localidades se capturaron ejemplares de hospedadores moluscos y en 7 de hospedadores crustáceos (Figuras 3 – 4). Ambos tipos de hospedadores fueron encontrados en localidades diferentes, nunca compartiendo hábitat.

Las localidades muestreadas, las especies hospedadores colectadas en cada una de ellas, y el número de secuencias analizadas por localidad se resumen en la Tabla 1. Las coordenadas geográficas se muestran en el Anexo I, Tabla 1.



**Figura 3.** Mapa de localidades donde se colectó *Temnocephala iheringi* en Argentina. Los colores indican los diferentes hospedadores. Verde: *Pomacea canaliculata*; Rosa: *Pomacea maculata*; Azul: *Pomacea megastoma*; Amarillo: *Asolene platae*. **1.** Balneario Las Palmeritas, ER; **2.** Embalse Salto Grande, ER; **3.** Ruta Provincial 4 hacia Los Charrúas, Concordia, ER; **4.** Riacho Victoria, Barrio Quinto Cuartel, Victoria, ER; **5.** Ruta Nacional 14, Km 19, ER; **6.** Reserva Natural Otamendi, BA; **7.** Río de la Plata, Club Regatas, Ensenada, BA; **8.** La Balandra,

BA; **9.** Atalaya, BA; **10.** Parque Saavedra, La Plata, BA; **11.** Arroyo Zapata y Ruta Provincial 11, BA. **BA.** Provincia de Buenos Aires; **ER.** Provincia de Entre Ríos; **UY.** Uruguay.



**Figura 4.** Localidades donde se colectó *Temnocephala lamothei*. **1.** Río Uruguay, cerca de la desembocadura del Canal Torto; **2.** Arroyo Yabotí Guazú, Parque Provincial Moconá; **3.** Río Uruguay, Parque Provincial Moconá. **BR.** Brasil; **Ms.** Provincia de Misiones; **PY.** Paraguay.

Según las características de cada grupo hospedador se utilizaron diferentes métodos de colecta:

#### Hospedadores Ampullariidae (Mollusca, Gastropoda)

Los hospedadores se encontraron principalmente entre o asociados a la vegetación en ambientes lénticos, y entre las rocas, el fango o la arena en casos de ambientes lóticos como el arroyo Yabotí Guazú (Figura 5). Los moluscos fueron colectados con un copo o manualmente, colocados en recipientes plásticos individuales con agua del sitio y transportados vivos al laboratorio para ser examinados. Una vez en el laboratorio, fueron relajados con mentol para favorecer la liberación de temnocéfalos. También se realizaron disecciones bajo un microscopio estereoscópico (Leica serie S) para examinar la cavidad paleal de los hospedadores en busca de los comensales.

La identificación específica de los hospedadores se realizó de acuerdo a de Castellanos & Fernández (1976); Cowie & Thiengo (2003) y Hayes *et al.* (2012) (Figura 6). Se siguió la nomenclatura disponible en MolluscaBase (2022).

# Hospedadores Aeglidae (Crustacea, Anomura)

Ejemplares del género *Aegla* fueron capturados manualmente buscando entre rocas, troncos y ramas del fondo de los ríos y embalses. Los especímenes fueron revisados externamente con una lupa manual en el campo en búsqueda de temnocéfalos, los cuales fueron separados del hospedador con un pincel y fijados en etanol 100%. Cada hospedador se colocó en un recipiente separado y fue fijado en etanol 96%. En el laboratorio se examinaron los hospedadores bajo microscopio estereoscópico en búsqueda de comensales.

Los hospedadores fueron identificados acorde a Bond-Buckup & Buckup (1994).

# Hospedadores Palaemonidae (Crustacea, Caridea)

Ejemplares de camarones fueron colectados de la vegetación acuática de un ambiente léntico mediante una red de arrastre. Cada ejemplar fue separado en un contenedor individual con agua del lugar y se transportaron vivos al laboratorio para ser examinados bajo microscopio estereoscópico. Los comensales fueron separados y fijados en etanol 100%.

La identificación específica de los hospedadores se realizó de acuerdo a Ringuelet (1949) y De Grave & Ashelby (2013).



**Figura 5. A.** Arroyo Yabotí Guazú, Parque Provincial Moconá, Misiones; **B.** Balneario Las Palmeritas, Entre Ríos; **C.** Embalse Salto Grande, Entre Ríos; **D.** Charca temporal al costado de la Ruta Nacional 14 km 19, Entre Ríos.



**Figura 6.** Hospedadores Ampullariidae colectados. **A.** *Pomacea canaliculata*; **B.** *Pomacea maculata*; **C.** *Pomacea linnaei*; **D.** *Pomacea megastoma*; **E.** *Felipponea neritinifomis*; **F.** *Asolene platae*. Escala 1 cm.

#### 2. Material de estudio

Parte de los temnocéfalos colectados fueron destinados a estudios morfológicos y otros a análisis moleculares. De estos últimos, cada ejemplar fue cortado transversalmente a nivel del intestino, separando la porción anterior para estudios moleculares, y la porción posterior como *voucher* para la identificación por métodos morfológicos del ejemplar. Para evitar la contaminación cruzada, luego de procesar cada ejemplar, tanto la cápsula como la cuchilla se lavaron con una solución de hipoclorito de sodio al 10% y etanol al 70%, y se enjuagaron con abundante agua corriente y destilada.

La porción anterior de los ejemplares, destinada a análisis moleculares, se conservó en microtubos individuales con etanol 100% en freezer (aproximadamente -24°C) hasta el momento de realizarse la extracción de ADN. La porción posterior, destinada a la identificación morfológica del ejemplar, fue fijada en Polivinillactofenol como medio aclarante y conservante bajo presión del cubreobjetos. De cada uno de estos ejemplares se observaron las estructuras genitales, especialmente el estilete peniano, cuya morfología es considerada un carácter diagnóstico en el grupo (Sewell *et al.*, 2007; Seixas *et al.*, 2011; Ponce de León *et al.*, 2015; Lenis *et al.*, 2020). Se realizó la documentación fotográfica de las estructuras reproductivas de los ejemplares *voucher*.

Para los estudios morfológicos, ejemplares provenientes de hospedadores moluscos fueron fijados en formalina buffer 10% para análisis en microscopio confocal, y en Bouin y formaldehído 10% caliente para microscopía óptica (Loquin & Langeron, 1983; Suvarna *et al.*, 2018). Además, algunos ejemplares fueron preparados *in toto* entre portaobjetos y cubreobjetos con Polivinil-lactofenol. Además, se observó material depositado en la Colección Helmintológica del Museo de La Plata.

La metodología específica a cada tipo de análisis se detalla en los capítulos correspondientes.

# **Tabla 1.** Ejemplares de *Temnocephala* estudiados por localidad; se indica la especie hospedadora.

Provincia /	Código de	Localidad	Fecha de		Tionalouse
Estado	Localidad		colecta	Hospedador	Ejempiares
Buenos Aires	AZ	Arroyo Zapata y Ruta Provincial 11	12/01/2017	Pomacea canaliculata (Lamarck, 1822)	AZ-1; AZ-2; AZ-3; AZ-4; AZ-5
	AT	Atalaya	16/07/2013	Pomacea canaliculata	AT-1
	СВ	Canteras de Berisso	14/04/2015	Palaemon argentinus (Nobili, 1901)	CB-1; CB-2; CB-3
	LB	La Balandra (arroyo)	08/11/2018	Pomacea canaliculata	LB-1; LB-2; LB-3; LB-4; LB-5; LB-6
	RNO	Reserva Natural Otamendi	30/04/2015	Pomacea canaliculata	RNO-1; RNO-2; RNO-3; RNO-4
	PS	Parque Saavedra, La Plata	04/04/2017	Pomacea canaliculata	PS-1; PS-2; PS-3; PS-4; PS-5
	RP	Río de la Plata, Club Regatas de Ensenada	25/04/2017	<i>Pomacea maculata</i> Perry, 1810	RP-1; RP-2; RP-3; RP-4; RP-5; RP-6; RP-7
Entre Ríos	BLP	Balneario Las Palmeritas	24/05/2019	<i>Pomacea megastoma</i> (G. B. Sowerby I, 1825)	BLP-1; BLP-2; BLP-3
	ESG	Embalse Salto Grande (balneario)	09/02/2017	Pomacea megastoma	ESG-1; ESG-2; ESG-3; ESG-4; ESG-5; ESG-6
	RV	Riacho Victoria, Barrio Quinto Cuartel, Victoria	11/02/2020	Asolene platae (Maton, 1811)	RV-1; RV-2; RV-3
	RN14	Ruta Nacional 14, Km 19 (charca temporal al costado de la ruta)	10/09/2016	Pomacea canaliculata	RN14-1; RN14-2; RN14-3; RN14-4; RN14-5
	LC	Ruta Provincial 4 hacia Los Charrúas, Concordia	29/03/2014	Pomacea canaliculata	LC-1; LC-2; LC-3; LC-4

# Tabla 1. Continuación

Provincia /	Código de	Localidad	Fecha de	Hospedador	Ejemplares
Estado	Localidad		colecta		
Misiones	AYG-F	Arroyo Yabotí Guazú, Parque Provincial Moconá	08/10/2016	Felipponea neritiniformis (Dall, 1919)	AYG-F-1; AYG-F-2; AYG-F-3; AYG-F-4; AYG-F-5
	AYG-P	Arroyo Yabotí Guazú, Parque Provincial Moconá	08/10/2016	Pomacea megastoma	AYG-P-1; AYG-P-2; AYG-P-3; AYG-P-4; AYG-P-5
	RUT	Río Uruguay, cerca de la desembocadura del Canal Torto	23/10/2010	Pomacea megastoma	RUT-1
	RU-F	Río Uruguay, Parque Provincial Moconá	09/10/2016	Felipponea neritiniformis (Dall, 1919)	RU-F-1; RU-F-2; RU-F-3; RU-F-4; RU-F-5
	RU-P	Río Uruguay, Parque Provincial Moconá	09/10/2016	Pomacea megastoma	RU-P-1; RU-P-2; RU-P-3; RU-P-4
Mendoza	RD	Río Diamante - Camping El Tigre	21/01/2010	Aegla sp.	RD-1; RD-2; RD-3; RD-4; RD-5
	RG	Río Grande y Ruta Nacional 40	22/01/2010	Aegla sp.	RG-1; RG-2; RG-3; RG-4; RG-5; RG-6; RG-7; RG-8
	RMB	Río Malargüe - Dique Blas Brisoli	23/01/2010	Aegla sp.	RMB-1; RMB-2; RMB-3
	RMP	Río Malargüe - Pincheira	22/01/2010	Aegla sp.	RMP-1; RMP-2; RMP-3; RMP-4
	RME	Río Mendoza - Blanco Encalada	20/01/2010	Aegla sp.	RME-1; RME-2; RME-3; RME-4
Neuquén	AC	Arroyo Covunco y Ruta Nacional 40	24/01/2010	Aegla sp.	AC-1; AC-2; AC-3; AC-4
Pará (Brasil)	RA	Río Arapiuns; Villa Franca	20/11/2013	Pomacea linnaei (Philippi, 1852)	RA-1; RA-2; RA-3; RA-4; RA-5; RA-6; RA-7

# CAPÍTULO 1 – PUESTA A PRUEBA DE HIPÓTESIS MORFOLÓGICAS DE ESPECIES DE *TEMNOCEPHALA* ASOCIADAS A MOLUSCOS POR IDENTIFICACIÓN MOLECULAR

Tradicionalmente, la identificación específica de temnocéfalos se lleva a cabo a partir de la morfología y posición de estructuras tales como las del aparato genital hermafrodita (tanto del complejo femenino como del masculino), las placas sinciciales excretoras (junto con la ubicación del nefridioporo en ellas), el vitelario y el intestino, entre otras. Sin duda, el carácter diagnóstico de mayor importancia taxonómica es el estilete peniano, ya que se trata de una estructura esclerosada y relativamente indeformable que, aunque presenta cierta variación intraespecífica, permite la identificación a nivel de especie (Damborenea, 1991; Damborenea & Cannon, 2001a; Sewell *et al.*, 2006; Garcés *et al.*, 2013; Lenis *et al.*, 2020; Seixas *et al.*, 2020). Éste está conformado por dos porciones: una en forma de embudo esclerosado denominado *shaft*, que en el transcurso del presente trabajo llamaré "cono"; y otra, de posición distal, que generalmente lleva espinas y es eversible, denominada introverto (Figuras 7 y 8) (Cannon, 1993).

Por otra parte, en sistemática molecular el gen de la subunidad 1 del complejo de la enzima citocromo oxidasa (COI) se utiliza con frecuencia para resolver las relaciones de grupos tanto a nivel de especies como de poblaciones (Avise *et al.*, 1987; Fontaneto *et al.*, 2015). La ventaja de utilizar este gen es que, siendo un gen mitocondrial, cuenta con muchas copias por célula facilitando el aspecto práctico de las amplificaciones. Además, tratándose de un gen haploide, no sufre recombinación y, heredándose sólo por vía materna, permite establecer una historia genealógica específica (la línea materna) (Avise *et al.*, 1987; Palumbi *et al.*, 1996).

En las filogenias moleculares de platelmintos, los temnocefálidos de la región Neotropical suelen estar pobremente representados (Littlewood *et al.*, 1999a; 1999b; Telford *et al.*, 2000; Van Steenkiste *et al.*, 2013; Laumer & Giribet, 2014; Van Steenkiste *et al.*, 2021) y la información molecular disponible es escasa o nula. Existen algunas secuencias de *Temnocephala* de identificación dudosa. A la fecha, solo se encuentran registradas en GenBank 11 secuencias de diferentes genes asociadas al género. De éstas, cinco (AF022864.1, KC869781.1, KC869834.1, KC869888.1, KC869919.1) pertenecen a especies del género *Temnosewellia*, (Litvaitis & Rohde, 1999; Laumer & Giribet, 2014) y se identifican como tales. Otra secuencia (L41137.1) no ha sido asociada a una especie, pero dado que la localidad de colecta se encuentra en Australia y que fue publicada previamente al trabajo de Damborenea & Cannon (2001a) (Rohde *et al.*, 1993), vale suponer que se trata en realidad del género *Temnosewellia* Damborenea & Cannon, 2001. De las restantes, cinco (AF051332.1, AJ012520.1, AJ228802.1, AJ405989.1, AJ405990.1) no poseen identificación a nivel de especie, ni se indica la localidad de la que provienen. De las secuencias asociadas a *Temnocephala* sp., sólo dos corresponden a fragmentos del gen COI (AJ405989.1, AJ405990.1) (Telford *et al.*, 2000), y se encuentran identificadas a nivel de género. Lo mencionado indica la inexistencia de información molecular del género *Temnocephala* (neotropical) identificada a nivel específico.

Con la finalidad de integrar técnicas moleculares y morfológicas y profundizar el conocimiento sobre el género *Temnocephala* en general, y de aquellas especies asociadas a moluscos en particular, en este capítulo se propone poner a prueba las hipótesis morfológicas de especies de *Temnocephala* asociadas a moluscos por identificación molecular (ver Introducción) comparando la morfología del estilete peniano con la información resultante de los análisis moleculares.

# 1. Metodología para análisis moleculares

# Extracción de ADN

Se extrajo ADN de 146 ejemplares del género *Temnocephala*, de seis especies hospedadoras diferentes, representando 22 localidades (Tabla 1).

Previamente a la extracción, se retiró el alcohol y se lavaron los ejemplares con agua ultrapura para análisis HPLC. Las extracciones de ADN se realizaron con Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega).

# Amplificación y secuenciación

Se amplificó un fragmento de gen de la subunidad I de la proteína citocromo oxidasa (COI) en una reacción de PCR en un volumen final de 25µl con las siguientes cantidades (concentraciones finales entre paréntesis): 2,5µl Buffer PCR al 10X o 5µl al 5X (1x); 2,5µl MgCl2 50mM (5mM) (en el caso en que no estuviera incluido en el Buffer de reacción); 05-1µl mix de dNTPs 2mM (0,04mM, 0.08mM o 0,1mM); Primers 0.5µl

10mM (0,2mM cada uno); Taq 0.1-0,3μl (1-2 U); ADN molde 3-5 μl. Se usaron Taq Polimerasa Platinum Invitrogen®, y GoTaq Promega®.

La amplificación se realizó utilizando los siguientes *primers* o cebadores: "425F" (5'-GGNGCTAGNTCNATWTTAGGRGC-3') (Cuthill *et al*. 2016) y "new 1200R" (5'-CCCATTGAWAMNACATAATGAAAATG-3') (Cuthill *et al*. 2016).

Las reacciones fueron llevadas a cabo en un termociclador con gradiente Ivema T21 (http://www.ivemadesarrollos.com.ar/productos/termocicladorT21/). El perfil térmico fue seleccionado luego de efectuar una reacción de prueba en un gradiente térmico de 48 a 60°C, y consistió en un período de desnaturalización a 94°C durante 5 minutos, seguido por 40 ciclos de 94°C por 45 segundos, 54°C por 54 segundos y 72°C por 1 minuto, y luego por un período de extensión final a 72°C durante 7 minutos. Se verificó el tamaño de los fragmentos obtenidos mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1,5% con una *ladder* de 100 pares de bases (pb).

Los productos de PCR fueron enviados a la empresa Macrogen Inc. (Corea del Sur) para su purificación y posterior secuenciación en ambos sentidos mediante el método de Sanger (Sanger *et al.*, 1977). Algunos de ellos fueron enviados a Secugen S.L. (España) para su secuenciación en sentido *forward* (previa purificación con ExoSAP-IT®).

# Análisis bioinformático

Una vez obtenidas las secuencias, se las editó y se eliminaron los *primers* utilizando Chromas 2.6.6 (<u>technelysium.com.au</u>) y se creó la secuencia consenso de cada ejemplar a partir de un alineamiento de las secuencias de las hebras *forward* y *reverse* con BioEdit (Hall, 1999).

Estas secuencias consenso fueron contrastadas con la base de datos de GenBank (<u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/</u>) utilizando BLAST (Basic Local Alignment Search Tool, <u>https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/</u>; Zhang *et al.*, 2000) para comprobar que se tratara de secuencias del grupo de interés y que no haya ocurrido contaminación.

Las secuencias obtenidas pertenecen a especies de temnocéfalos asociadas a moluscos y crustáceos. Se utilizaron ejemplares provenientes de estos dos grupos hospedadores a fin de contrastar las hipótesis planteadas. Se utilizó como *outgroup* una secuencia de *Temnosewellia fax* Sewell, Cannon & Blair, 2006 extraída de GenBank (KX095350.1), especie australiana de la misma subfamilia.

# a. Alineamiento de secuencias

Las secuencias se alinearon con MAFFT online (Kuraku *et al*, 2013; Katoh *et al*, 2019). Luego, se cortaron de acuerdo al alineamiento utilizando el programa Notepad++ (https://notepad-plus-plus.org/) para que todas las secuencias tuvieran la misma longitud para su comparación, dejando como *missing data* los sitios iniciales de 14 secuencias y los sitios finales de seis secuencias. Luego de comprobar el alineamiento de las secuencias cortadas, y dado que se trata de un fragmento de un gen codificante, se verificó el marco de lectura con MEGA X (Kumar *et al.*, 2018) traduciendo el alineamiento de nucleótidos a aminoácidos según el código genético de platelmintos. Se eliminó la primera posición acorde al marco de lectura.

# b. Estimación de las distancias genéticas

Se calcularon las distancias genéticas pareadas totales, dentro y entre grupos (tomando como grupos las especies morfológicas tradicionales). También se calcularon tomando como grupos las secuencias por hospedador y localidad en el caso de *T. lamothei*, y por localidad y por hospedador por separado para *T. iheringi*. Las distancias se calcularon de manera no corregida (distancia *p*, número de sustituciones nucleotídicas estimadas por sitio; Nei & Kumar, 2000; Yang, 2014), y corregidas acorde al modelo K80 ("Kimura dos parámetros", Kimura, 1980), que permite tasas diferentes para las transiciones y las transversiones y es ampliamente utilizado, especialmente en barcoding (Hebert & Gregory, 2005; Moszczynska *et al.*, 2009; Locke *et al.*, 2010; Vanhove *et al.*, 2013).

# Inferencia filogenética

Hay diferentes métodos para inferir la filogenia a partir de un conjunto de secuencias moleculares. Los métodos basados en caracteres comparan todas las secuencias del alineamiento simultáneamente, considerando un carácter (sitio del alineamiento) a la vez para calcular un árbol con un determinado puntaje. En los métodos de caracteres, el puntaje del árbol (*tree-score*) depende del método utilizado. Debido a la imposibilidad computacional de una búsqueda de árboles exhaustiva que abarque todos los árboles posibles para grandes conjuntos de datos, se usan algoritmos heurísticos. Esto no garantiza encontrar el mejor árbol, pero permite el análisis de matrices grandes (Yang & Rannala, 2012).

Dado que las secuencias moleculares parecen evolucionar en su mayoría debido a cambios aleatorios, el proceso puede describirse usando modelos estocásticos. Esto permite el uso de métodos probabilísticos para analizarlas (Strimmer & von Haesler, 2009; Wiley & Lieberman, 2011).

Para seleccionar los modelos de sustitución nucleotídica se particionaron los datos según la posición del codón. De este modo, cada posición es analizada independientemente y puede asignársele un modelo evolutivo diferente. Es importante considerar las diferentes posiciones de las secuencias independientemente porque la tasa de sustitución nucleotídica puede variar entre ellas. Por ejemplo, en genes codificantes, la tercera posición (donde ocurre la mayoría de las mutaciones sinónimas) suele mutar más rápidamente que las otras dos posiciones, seguida por la primera y por último por la segunda (en la que todas las sustituciones son no sinónimas o *"nonsense"*). Además, las posiciones pueden estar sujetas a diferentes presiones de selección (Nei & Kumar, 2000; Strimmer & von Haeseler, 2009). Los modelos analizados son estocásticos, buscan describir las variaciones aleatorias del proceso evolutivo de las secuencias moleculares y se componen de varios parámetros, tales como la frecuencia de nucleótidos que componen la secuencia y las tasas de sustitución (el cambio de estado de un nucleótido a otro) (Strimmer & von Haeseler, 2009).

Para poner a prueba las especies morfológicas estudiadas mediante análisis moleculares, así como para establecer la relación de parentesco entre ellas, se seleccionaron los dos métodos probabilísticos de inferencia filogenética más usados actualmente: Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana (Ronquist *et al*, 2009; Schmidt & von Haeseler, 2009; Yang & Rannala, 2012; Yang, 2014).

# a. Máxima Verosimilitud

Máxima verosimilitud (MV) estima la probabilidad de un conjunto de datos particular dado un árbol filogenético y brinda cierta noción de cómo fue el proceso evolutivo a lo largo del tiempo. Se basa en la función de verosimilitud, que se define como la probabilidad de los datos, dados ciertos parámetros (modelo). La verosimilitud de cada árbol es el producto de la verosimilitud de todos los sitios. El árbol que señale al conjunto de datos como el resultado más probable, será la filogenia de máxima verosimilitud. El método asume que los sitios evolucionan independientemente y que estos cambios son reversibles en el tiempo (con lo cual la raíz del árbol pierde importancia, dando como resultado un árbol sin enraizar) (Wiley & Lieberman, 2011; Yang & Rannala, 2012).

Para los análisis de máxima verosimilitud se usó el programa IQ-Tree online (Nguyen *et al.*, 2015; Chernomor *et al.*, 2016), que además permite buscar el modelo que mejor se ajuste a los datos según las particiones indicadas mediante Model Finder (Kalyaanamoorthy *et al.*, 2017) utilizando el algoritmo BIC (*Bayesian information criterion*). De acuerdo a este criterio, se elige el modelo con el menor valor de BIC, lo cual es equivalente a seleccionar el modelo con la probabilidad posterior más alta (Posada, 2003). Los modelos utilizados fueron TIM+F+I para la primera posición, F81+F+I para la segunda y GTR+F+G4 para la tercera. Para evaluar el valor de respaldo de cada nodo se usaron 1000 réplicas de *Ultrafast Bootstrap* (Minh & von Haeseler, 2013; Hoang *et al.*, 2018) y de una variante no paramétrica del *approximate likelihoodratio test* (SH-aLRT; Guindon *et al.*, 2010).

# b. Inferencia Bayesiana

Inferencia Bayesiana (IB) utiliza el teorema de Bayes para calcular la probabilidad posterior de que un árbol sea el correcto dados los datos y el modelo. Los parámetros del modelo se definen *a priori*, y se combinan con los datos para estimar la probabilidad posterior. Dado que ésta no puede ser estimada directamente, se la aproxima en un proceso de muestreo aleatorio de árboles del espacio de probabilidad posterior, mediante el algoritmo de cadenas de Marco Montecarlo (MCMC: *Markov chain Monte Carlo*). Estas cadenas exploran el espacio buscando el pico de probabilidad más alta (el árbol más probable) (Wiley & Lieberman, 2011). Los valores de respaldo del árbol obtenido se expresan como probabilidad posterior (Huelsenbeck *et al*, 2002).

Previamente al análisis, se buscaron los modelos de sustitución nucleotídica con el programa Partition Finder (Lanfear *et al.*, 2012; Lanfear *et al.*, 2016; Guindon *et al.*, 2010), mediante el algoritmo BIC.

Para los análisis de Inferencia Bayesiana se utilizó el programa Mr. Bayes (Ronquist *et al.*, 2012). Se efectuaron dos corridas simultáneas usando 3 cadenas calientes y 1 fría por 2 millones de generaciones, con un *burnin* (porción inicial del análisis que se descarta por estar muy influenciada por el punto de inicio) del 25%. Dado que uno de los modelos seleccionados (TRN) no está disponible en este programa (Ronquist *et al.*, 2020), se usó el modelo por defecto (GTR). De este modo, los modelos

usados en el análisis fueron GTR+I, F81+I y GTR+G para la primera, segunda y tercera posición respectivamente (Felsenstein, 1981; Tavare, 1986).

# Delimitación de especies

Hay varios métodos de delimitación de especies en base a datos moleculares. PTP (*Poisson Tree Process*) es un método heurístico que se basa en la distribución de la longitud de ramas (número de sustituciones nucleotídicas) en un árbol de genes. Asume que las sustituciones intra e inter-específicas siguen dos procesos de Poisson distintos, y que las intraespecíficas son mucho menores porque tienen menos tiempo de acumulación. Este método tiene la ventaja de que no requiere partir de un árbol ultramétrico (Zhang *et al.*, 2013; Fontaneto *et al.*, 2015; Lago-Barcia *et al.*, 2018; Yang & Rannala, 2020). Una variación de este método, mPTP (*Multi-rate Poisson Tree Process*), ajusta los eventos de ramificación de cada especie delimitada a una distribución exponencial distinta, incorporando la divergencia potencial en diversidad intraespecífica (Kapli *et al.*, 2017).

Se realizó un análisis de mPTP (<u>https://mptp.h-its.org/#/tree</u>) con parámetros por defecto.

# Metodología para análisis morfológicos

Cada porción posterior de los ejemplares secuenciados (ver Materiales y métodos generales) fue fijada y montada en polivinil-lactofenol para aclarar el tejido y poder observar los detalles del estilete peniano esclerosado.

De acuerdo a Seixas *et al.* (2010a), se tomaron las siguientes medidas del estilete peniano (en  $\mu$ m): longitud total; longitud, ancho basal y ancho máximo del introverto; y ancho basal del estilete (Figuras 7 y 8). Las medidas se tomaron sobre aquellos ejemplares adultos de *T. iheringi* y *T. lamothei* en los que los estiletes no mostraban quiebres, pliegues ni roturas. En aquellos estiletes en que parte del cono estuviera plegado, pero el introverto se encontrara en buenas condiciones, se incluyeron sólo las medidas del introverto. Debido a esto, y a que algunos ejemplares se utilizaron completos en los análisis moleculares, no se contó con medidas de todos los ejemplares incluidos en los árboles de genes.



**Figura 7.** Medidas tomadas sobre el estilete peniano de los especímenes de *Temnocephala iheringi* (esquema modificado de Seixas *et al.*, 2010a). **Abe**, ancho de la base del estilete; **Ami**, ancho máximo del introverto; **Li**, longitud del introverto; **Lt**, longitud total del estilete; **S**, cono (*shaft*). Las cabezas de flecha indican la base del introverto.



**Figura 8.** Medidas tomadas sobre el estilete peniano de los especímenes de *Temnocephala lamothei* (esquema modificado de Damborenea & Brusa, 2008). **Abe**, ancho de la base del estilete; **Ami**, ancho máximo del introverto; **Li**, longitud del introverto; **Lt**, longitud total del estilete; **S**, cono (*shaft*).

Para analizar las diferencias intraespecíficas en la morfología del estilete peniano de *T. iheringi* se realizó un análisis de coordenadas principales (PCoa) en Past 3.25 (Hammer *et al.*, 2001) utilizando el índice de Gower. Consiste en una representación de una serie de objetos en un sistema de eje cartesianos manteniendo las relaciones de distancia entre ellos (Legendre & Legendre, 2012).

Por otra parte, también se realizó una prueba de Kruskal-Wallis para evaluar las medidas de los estiletes penianos entre los grupos y una prueba de comparaciones múltiples para determinar entre qué grupos las diferencias fueron significativas (Sokal & Rohlf, 1995). Estas pruebas se realizaron tomando en cuenta un nivel de significancia de p<0,05 para cada medida por separado en R v.4.0.3 (R Core Team, 2020, https://www.r-project.org/).

# **Resultados**

Se identificaron un total de cinco especies de *Temnocephala*, tres de ellas asociadas a seis especies de Ampullariidae (Mollusca, Gastropoda), una asociada a *Palaemon argentinus* (Crustacea, Decapoda) y una a *Aegla* spp. (Crustacea, Decapoda, Aeglidae) (Tabla 2).

Código de Localidad	Localidad	Hospedador	Especie	Ejemplares
AZ	Arroyo Zapata y Ruta Provincial 11 (BA)	Pomacea canaliculata	Temnocephala iheringi	AZ-1; AZ-2; AZ-3; AZ-4; AZ-5
AT	Atalaya (BA)	Pomacea canaliculata	Temnocephala iheringi	AT-1
СВ	Canteras de Berisso (BA)	Palaemon argentinus	Temnocephala digitata	CB-1; CB-2; CB-3
LB	La Balandra (arroyo) (BA)	Pomacea canaliculata	Temnocephala iheringi	LB-1; LB-2; LB-3; LB-4; LB-5; LB-6
RNO	Reserva Natural Otamendi (BA)	Pomacea canaliculata	Temnocephala iheringi	RNO-1; RNO-2; RNO-3; RNO-4
PS	Parque Saavedra, La Plata (BA)	Pomacea canaliculata	Temnocephala iheringi	PS-1; PS-2; PS-3; PS-4; PS-5
RP	Río de la Plata, Club Regatas de Ensenada (BA)	Pomacea maculata	Temnocephala iheringi	RP-1; RP-2; RP-3; RP-4; RP-5; RP-6; RP-7
BLP	Balneario Las Palmeritas (ER)	Pomacea megastoma	Temnocephala iheringi	BLP-1; BLP-2; BLP-3
ESG	Embalse Salto Grande (balneario) (ER)	Pomacea megastoma	Temnocephala iheringi	ESG-1; ESG-2; ESG-3; ESG-4; ESG-5; ESG-6
RV	Riacho Victoria, Barrio Quinto Cuartel, Victoria (ER)	Asolene platae	Temnocephala iheringi	RV-1; RV-2; RV-3
RN14	Ruta Nacional 14, Km 19 (ER)	Pomacea canaliculata	Temnocephala iheringi	RN14-1; RN14-2; RN14-3; RN14-4; RN14-5
LC	Ruta Provincial 4 hacia Los Charrúas, Concordia (ER)	Pomacea canaliculata	Temnocephala iheringi	LC-1; LC-2; LC-3; LC-4

**Tabla 2.** Especies de *Temnocephala* colectadas por localidad; se indican los ejemplares estudiados y las especies hospedadoras.
## CAPÍTULO 1: PUESTA A PRUEBA DE HIPÓTESIS MORFOLÓGICAS DE ESPECIES DE *TEMNOCEPHALA* ASOCIADAS A MOLUSCOS POR IDENTIFICACIÓN MOLECULAR.

Tabla 2. Continuación.

Código de Localidad	Localidad	Hospedador	Especie	Ejemplares
AYG-F	Arroyo Yabotí Guazú, Parque Provincial Moconá (Ms)	Felipponea neritiniformis	Temnocephala lamothei	AYG-F-1; AYG-F-2; AYG-F-3; AYG-F-4; AYG-F-5 AYG-P-1: AYG-P-2: AYG-P-3:
AYG-P		Pomacea megastoma	Temnocephala lamothei	AYG-P-4; AYG-P-5
RUT	Río Uruguay, cerca de la desembocadura del Canal Torto (Ms)	Pomacea megastoma	Temnocephala lamothei	RUT-1 RU-F-1: RU-F-2: RU-F-3: RU-F-4:
RU-F	Río Uruguay, Parque Provincial Moconá (Ms)	Felipponea neritiniformis	Temnocephala lamothei	RU-F-5
RU-P		Pomacea megastoma	Temnocephala lamothei	RU-P-1; RU-P-2; RU-P-3; RU-P-4
RD	Río Diamante - Camping El Tigre (Mza)	Aegla sp.	Temnocephala chilensis	RD-1; RD-2; RD-3; RD-4; RD-5
RG	Río Grande y Ruta Nacional 40 (Mza)	Aegla sp.	Temnocephala chilensis	RG-6; RG-7; RG-8
RMB	Río Malargüe - Dique Blas Brisoli (Mza)	Aegla sp.	Temnocephala chilensis	RMB-1; RMB-2; RMB-3
RMP	Río Malargüe - Pincheira (Mza)	Aegla sp.	Temnocephala chilensis	RMP-1; RMP-2; RMP-3; RMP-4
RME	Río Mendoza - Blanco Encalada (Mza)	Aegla sp.	Temnocephala chilensis	RME-1; RME-2; RME-3; RME-4
AC	Arroyo Covunco y Ruta Nacional 40 (N)	Aegla sp.	Temnocephala chilensis	AC-1; AC-2; AC-3; AC-4
RA	Río Arapiuns; Villa Franca (Brasil)	Pomacea lineata	Temnocephala iheringi	RA-1; RA-2; RA-3; RA-6; RA-7
			Temnocephala sp.	RA-4; RA-5

## Amplificación y secuenciación

De las 146 extracciones realizadas se obtuvieron 107 secuencias de COI, de las cuales 76 pertenecen a especímenes asociados a moluscos y 31 a especímenes asociados a crustáceos (Tabla 2). Con el alineamiento final se obtuvo una matriz con una longitud de 648 pb (Anexo II, Tabla 1).

## Análisis de las distancias genéticas

Las distancias genéticas entre todas las especies de *Temnocephala* estudiadas se presentan en las Tablas 3 y 4. Entre las especies asociadas a moluscos, las distancias genéticas variaron entre 15,5% (distancia p) o 17,5% (K8O) (entre *T. iheringi* y *Temnocephala* sp.) y 19,7% (distancia p) ó 23,0% (K8O) (entre *T. iheringi* y *T. lamothei*). Entre las especies comensales de moluscos, *T. lamothei* es la que presenta mayor distancia con el resto (Tabla 3), mientras que *T. iheringi* presenta la mayor distancia interna (Tabla 4).

Por otra parte, los especímenes identificados como *Temnocephala chilensis*, muestran una distancia genética interna de 12,0% (distancia p) y 13,6 (K80), valor muy superior al registrado para las restantes especies (Tabla 4).

	Temnosewellia	T. chilensis	T. iheringi	Temnocephala	T. lamothei	T. digitata
	fax			sp.		
Temnosewellia fax		18,1	19,8	19,0	21,8	18,5
T. chilensis	20,8		19,2	18,8	21,1	19,8
T. iheringi	23,1	22,3		15,5	19,7	18,5
Temnocephala sp.	21,9	21,7	17,5		16,9	17,5
T. lamothei	25,9	24,9	23,0	19,3		20,7
T. digitata	21,2	23,1	21,3	20,0	24,4	

**Tabla 3.** Distancias genéticas en porcentaje entre grupos (especies) de *Temnocephala y Temnosewellia fax.* Margen superior derecho: distancia *p*; margen inferior izquierdo: K80. Las especies asociadas a moluscos se indican en negrita.

	Distancia p	K80	
T. chilensis	12,0	13,6	-
T. iheringi	6,7	7,3	
Temnocephala sp.	2,5	2,5	
T. lamothei	4,6	4,8	
T. digitata	0,5	0,5	

**Tabla 4.** Distancias genéticas (distancia p y K80) porcentuales calculadas dentro de grupos (especies); las especies asociadas a moluscos se indican en negrita.

## <u>Temnocephala iheringi</u>

Al analizar las distancias en *Temnocephala iheringi* según sus especies hospedadoras, las secuencias provenientes de *Pomacea canaliculata* fueron las más variables (Tabla 5). La distancia genética observada entre las secuencias de temnocéfalos provenientes de distintos hospedadores varió entre 8 y 14% aproximadamente, con la excepción de la hallada entre aquellos asociados a *P. canaliculata* y *Pomacea maculata* que fue de alrededor del 2% (Tabla 6), valor incluso menor a la distancia genética dentro del grupo de *T. iheringi* y dentro de las secuencias procedentes de *P. canaliculata* (Tablas 4 y 5).

Al considerar la distancia genética interna de *T. iheringi* según las diferentes localidades, tres poblaciones se destacaron por sus valores altos: Ruta Nacional 14, km 19 (RN14); Ruta Provincial 4 hacia Los Charrúas (LC) y Embalse Salto Grande (ESG), todas provenientes de Entre Ríos (Tabla 7).

La tabla 8 muestra la distancia genética entre cada una de las localidades de donde provinieron las muestras de *T. iheringi* y se discriminan los hospedadores. Las especies provenientes de localidades próximas al Río de la Plata, que incluyen poblaciones asociadas a *P. canaliculata* y *P. maculata* (localidades señaladas como RN14, LB, RP, AZ, PS, AT y RNO en la tabla 8), presentaron una distancia entre 0,1 y 2,5%. Por otra parte, en relación con las poblaciones provenientes de otros hospedadores o de localidades más alejadas geográficamente, la distancia fue mayor al 8%. Las mayores distancias genéticas se observaron entre las poblaciones provenientes de Embalse Salto Grande (ESG) y del Balneario Las Palmeritas (LP) -dos localidades muy próximas entre sí- con respecto a las de Parque Saavedra (PS). **Tabla 5.** Distancias genéticas (distancia p y K80) en porcentaje dentro de grupos de *Temnocephala iheringi* de acuerdo a sus hospedadores.

	Distancia p	K80
Asolene platae	0,41	0,41
Pomacea canaliculata	3,18	3,40
Pomacea maculata	0,45	0,45
Pomacea megastoma	1,64	1,73
Pomacea linnaei	0,40	0,40

**Tabla 6.** Distancias genéticas en porcentaje entre grupos de *Temnocephala iheringi* por especies hospedadoras. Margen superior derecho: distancia *p*; margen inferior izquierdo: K80.

	P. canaliculata	P. maculata	P. linnaei	A. platae	P. megastoma
Pomacea canaliculata		2,0	8,2	10,6	12,0
Pomacea maculata	2,2		8,3	10,7	12,6
Pomacea linnaei	8,7	8,8		8,6	11,1
Asolene platae	11,6	11,7	9,2		11,9
Pomacea megastoma	13,2	13,9	12,2	13,1	

**Tabla 7.** Distancias genéticas en porcentaje dentro de grupos de *Temnocephala iheringi* de acuerdo a las localidades de colecta. Localidades: **RN14**, Ruta Nacional 14, Km 19 (ER); **LB**, La Balandra (BA); **RP**, Río de la Plata, Club Regatas de Ensenada (BA); **AZ**, Arroyo Zapata y Ruta Provincial 11 (BA); **PS**, Parque Saavedra, La Plata (BA); **AT**, Atalaya (BA); **RNO**, Reserva Natural Otamendi (BA); **LC**, Ruta Provincial 4, hacia Los Charrúas (ER); **RA**, Río Arapiuns, Villa Franca (Brasil); **RV**, Riacho Victoria, Barrio Quinto Cuartel, Victoria (ER); **ESG**, Embalse Salto Grande (ER); **BLP**, Balneario Las Palmeritas (ER). Se indican como "n/c" las ocasiones en que no se pudo estimar la distancia debido a que se contó con una sola secuencia. Los colores corresponden a las especies de hospedadores indicadas en la Tabla 5.

Localidades	Distancia p	K80
RN14	3,22	3,34
LB	0,38	0,38
RP	0,45	0,45
AZ	0,30	0,30
PS	0,00	0,00
AT	n/c	n/c
RNO	0,46	0,46
LC	1,13	1,14
RA	0,40	0,40
RV	0,41	0,41
ESG	2,47	2,59
BLP	0,00	0,00

**Tabla 8.** Distancias genéticas entre grupos de *Temnocephala iheringi* (por localidades). Margen superior derecho: distancia *p*; margen inferior izquierdo: K80. Localidades: **RN14**, Ruta Nacional 14, Km 19 (ER); **LB**, La Balandra (BA); **RP**, Río de la Plata, Club Regatas de Ensenada (BA); **AZ**, Arroyo Zapata y Ruta Provincial 11 (BA); **PS**, Parque Saavedra, La Plata (BA); **AT**, Atalaya (BA); **RNO**, Reserva Natural Otamendi (BA); **LC**, Ruta Provincial 4, hacia Los Charrúas (ER); **RA**, Río Arapiuns, Villa Franca (Brasil); **RV**, Riacho Victoria, Barrio Quinto Cuartel, Victoria (ER); **ESG**, Embalse Salto Grande (ER); **BLP**, Balneario Las Palmeritas (ER). Los colores corresponden a los hospedadores indicados en la Tabla 5.

	RN14	LB	RP	AZ	PS	AT	RNO	LC	RA	RV	ESG	BLP
RN14		2,2	2,4	2,3	2,3	2,4	2,4	10,4	8,3	10,9	12,1	12,1
LB	2,3		0,5	0,4	0,3	0,4	0,6	9,8	8,0	10,5	12,1	12,1
RP	2,5	0,5		0,4	0,3	0,3	0,6	10,0	8,3	10,7	12,6	12,6
AZ	2,4	0,4	0,4		0,1	0,2	0,6	9,5	8,1	10,6	12,1	12,2
PS	2,3	0,3	0,3	0,1		0,2	0,4	9,9	8,2	10,7	12,6	12,7
AT	2,4	0,4	0,3	0,3	0,2		0,6	9,7	8,2	10,8	12,1	12,2
RNO	2,5	0,6	0,6	0,6	0,4	0,6		9,9	8,2	10,8	12,3	12,4
LC	11,3	10,6	10,8	10,3	10,7	10,5	10,8		8,5	10,3	10,4	10,3
RA	8,8	8,5	8,8	8,6	8,8	8,7	8,7	9,1		8,6	11,1	11,2
RV	11,8	11,4	11,7	11,6	11,6	11,8	11,8	11,2	9,2		11,9	11,9
ESG	13,3	13,3	13,9	13,3	14,0	13,4	13,6	11,3	12,1	13,1		1,2
BLP	13,3	13,3	13,9	13,4	14,0	13,4	13,6	11,3	12,3	13,1	1,3	

## <u>Temnocephala lamothei</u>

La distancia genética observada dentro de las poblaciones de *Temnocephala lamothei* varió entre 0,3 y 1,6% (Tabla 9). Las poblaciones provenientes del Río Uruguay (Parque Provincial Moconá (ER) y Río Uruguay, cerca de la desembocadura del Canal Torto) asociadas a *P. megastoma*, fueron las que presentaron mayores diferencias con las restantes poblaciones estudiadas (Tabla 10). Por otra parte, las secuencias provenientes del Arroyo Yabotí-Guazú (Parque Provincial Moconá), que provienen de dos especies hospedadoras que comparten el hábitat, fueron las que registraron menores diferencias (Tabla 10).

**Tabla 9.** Distancias genéticas (distancia *p* y K80) en porcentaje dentro de grupos de *Temnocephala lamothei* de acuerdo a localidades y hospedadores. Localidades: **AYG**, Arroyo Yabotí Guazú, Parque Provincial Moconá (ER); **RU**, Río Uruguay, Parque Provincial Moconá (ER); **RUT**, Río Uruguay, cerca de la desembocadura del Canal Torto (ER). Se indican como "n/c" las ocasiones en que no se pudo estimar la distancia debido a contar con una sola secuencia.

Localidades y hospedadores	Distancia p	K80	
AYG – Felipponea neritiniformis	0,3	0,3	
AYG - Pomacea megastoma	0,9	0,9	
RU - Felipponea neritiniformis	1,6	1,6	
RU - Pomacea megastoma	0,5	0,5	
RUT - Pomacea megastoma	n/c	n/c	

**Tabla 10.** Distancias genéticas en porcentaje entre grupos de *Temnocephala lamothei* por localidades y hospedadores. Localidades: **AYG**, Arroyo Yabotí Guazú, Parque Provincial Moconá (Ms); **RU**, Río Uruguay, Parque Provincial Moconá (Ms); **RUT**, Río Uruguay, cerca de la desembocadura del Canal Torto (Ms). Hospedadores: **F**, *Felipponea neritiniformis*; **P**, *Pomacea megastoma*. Margen superior derecho: distancia *p*; margen inferior izquierdo: K80.

	AYG-F	AYG-P	RU-F	RU-P	RU-P
AYG – F. neritiniformis		2,10	4,00	7,10	8,50
AYG - P. megastoma	2,10		4,20	6,80	8,60
RU - F. neritiniformis	4,10	4,30		7,40	9,10
RU - P. megastoma	7,50	7,20	7,90		7,20
RU - P. megastoma	9,10	9,30	9,80	7,60	

## Inferencia filogenética

Los análisis filogenéticos realizados evidenciaron la monofilia de las especies comensales de moluscos incluidas en este estudio, y a *Temnocephala digitata* (comensal de *Palaemon argentinus*) como el grupo hermano. Asimismo, se evidenciaron tres clados, dos de los cuales se corresponden con las especies morfológicas *Temnocephala iheringi* y *Temnocephala lamothei*. Ambos clados presentaron un buen nivel de soporte (Figura 9). Un tercer clado se correspondió con secuencias provenientes de ejemplares que no pudieron ser identificados a partir de caracteres morfológicos como ninguna especie conocida (*Temnocephala* sp.).

El clado correspondiente a *T. iheringi* demostró una estructuración interna, con una gran politomía en la base incluyendo a todas las secuencias de los ejemplares provenientes de la Provincia de Buenos Aires y a tres de la Provincia de Entre Ríos (Tabla 2). Por otra parte, las restantes secuencias formaron un clado estructurado por localidad, conteniendo ejemplares de la Provincia de Entre Ríos y de Brasil.

Las secuencias de *Temnocephala* sp. resultaron el grupo hermano de *T. iheringi*, de las que se separaron con un fuerte nivel de soporte.

Las secuencias de *T. lamothei*, resultaron el grupo hermano del clado *T. iheringi* + *Temnocephala* sp. Este clado mostró estructuración interna, agrupándose por localidad y hospedador, principalmente aquellas provenientes del Arroyo Yabotí Guazú (Figura 9).

Las secuencias de *Temnocephala chilensis* (comensales de *Aegla* spp.) incluidas en este estudio, forman un grupo monofilético conformado por dos subgrupos claramente diferenciados.

## Delimitación de especies de temnocéfalos asociados a moluscos

Los resultados del análisis de mPTP mostraron siete grupos para *Temnocephala iheringi* (L1-L7), uno para *Temnocephala* sp. (L8) y tres para *Temnocephala lamothei* (L9-L11) (Figura 9). Estos once linajes recuperados para las secuencias de comensales de moluscos presentan buenos soportes en el árbol filogenético. Se puede observar una correspondencia geográfica en la mayoría de los linajes, excepto en los provenientes de Río Arapiuns, Villa Franca (Brasil), que resulta en dos grupos bien separados (*T. iheringi* – L6 y *Temnocephala* sp. – L8), y de Río Uruguay, Parque Provincial Moconá (*T. lamothei*), donde se separan por hospedador (L9 y L10).

#### CAPÍTULO 1: PUESTA A PRUEBA DE HIPÓTESIS MORFOLÓGICAS DE ESPECIES DE *TEMNOCEPHALA* ASOCIADAS A MOLUSCOS POR IDENTIFICACIÓN MOLECULAR.



**Figura 9.** Árbol filogenético construído a partir de Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana coloreado por localidad. Los valores de soporte indicados corresponden a *Sh-aLRT/Ultrafast Bootstrap* (inferior) y probabilidad posterior (superior). Se indican las especies morfológicas con barras negras y los resultados del análisis de mPTP con barras rojas. Los puntos corresponden a las diferentes especies de hospedadores moluscos (celeste: *Pomacea megastoma*; verde: *Pomacea canaliculata*; amarillo: *Asolene platae*; naranja: *Pomacea maculata*; violeta: *Pomacea linnaei*.; rosa: *Felipponea neritiniformis*). En negro se indican los ejemplares asociados a hospedadores crustáceos.

## Análisis morfológico

En las Tablas 11 y 12 se muestran las medidas obtenidas del estilete peniano de los especímenes de *Temnocephala iheringi* y *Temnocephala lamothei* secuenciados en el desarrollo de este trabajo.

El análisis de coordenadas principales (PCoA) realizado con las medidas de los estiletes penianos de los especímenes de *T. iheringi* de este estudio (ver Tabla 10) no recuperó una agrupación o separación clara de las muestras por hospedador o localidad (Figura 10). Si bien se observa una agrupación entre los ejemplares del Balneario Las Palmeritas (LP) y del Embalse Salto Grande (ESG), no se separan de los otros puntos. Los linajes delimitados por el análisis de *multi-rate Poisson Tree Processes* (mPTP) (señalados en la figura 10 con colores) se encuentran en su mayoría dispersos y mezclados, siendo nuevamente la mayor asociación la del grupo del Balneario Las Palmeritas y el Embalse Salto Grande.



Coordenada 1

**Figura 10.** Resultados del análisis de PCoA para las medidas del estilete peniano de los ejemplares de *Temnocephala iheringi* secuenciados en este estudio y comparación con los linajes (en diferentes colores) definidos por mPTP para la especie: amarillo, **L1**; celeste, **L2**; verde, **L3**; violeta, **L4**; azul, **L5**; rojo, **L6**; negro, **L7**. Los diferentes indicadores corresponden a las especies hospedadoras: + = *Asolene platae*; × = *Pomacea linnaei*; • = *Pomacea canaliculata*; \* = *Pomacea maculata*; O = *Pomacea megastoma*.

**Tabla 11.** Medidas tomadas del estilete peniano de los especímenes de *Temnocephala iheringi* (en μm). Se indican los linajes definidos por el análisis de mPTP. En negrita se indican las medidas consideradas para Kruskal-Wallis; también se muestran los valores correspondientes a la redescripción de la especie realizada por Seixas *et al.* (2010a) como el rango seguido por la media.

		Longitud	Longitud	Ancho Base	Ancho Base	Ancho Máx.		
Linaje	Ejemplar	Total	Introverto	Estilete	Introverto	Introverto	Forma	Localidad
L1	RN14-4	207,5	55	150	30	42,5	Asimétrico	Ruta Nacional 14, Km 19 (ER)
L2	BLP-1	167,5	47,5	127,5	25	40	Simétrico	Balneario Las Palmeritas (ER)
L2	BLP-2	165	47,5	130	25	42,5	Asimétrico	Balneario Las Palmeritas (ER)
L2	BLP-3	172,5	47,5	122,5	25	42,5	Asimétrico	Balneario Las Palmeritas (ER)
L2	ESG-2	150	50	117,5	25	40	Simétrico	Embalse Salto Grande (balneario) (ER)
L3	ESG-5	180	55	132,5	27,5	42,5	Simétrico	Embalse Salto Grande (balneario) <b>(ER)</b>
L4	LC-1	162,5	50	137,5	35	52,5	Asimétrico	Ruta Provincial 4 hacia Los Charrúas, Concordia (ER)
L4	LC-2	-	50	-	22,5	50	Asimétrico	Ruta Provincial 4 hacia Los Charrúas, Concordia (ER)
L4	LC-3	-	47,5	-	25	45	Asimétrico	Ruta Provincial 4 hacia Los Charrúas, Concordia (ER)
L4	LC-4	187,5	52,5	142,5	32,5	45	Asimétrico	Ruta Provincial 4 hacia Los Charrúas, Concordia (ER)
L5	RV-3	152,5	47,5	120	22,5	35	Asimétrico	Riacho Victoria, Barrio Quinto Cuartel, Victoria <b>(ER)</b>
L6	RA-6	225	62,5	100	27,5	47,5	Asimétrico	Río Arapiuns, Villa Franca, Brasil
L6	RA-7	200	50	127,5	30	50	Asimétrico	Río Arapiuns, Villa Franca, Brasil

CAPÍTULO 1: PUESTA A PRUEBA DE HIPÓTESIS MORFOLÓGICAS DE ESPECIES DE *TEMNOCEPHALA* ASOCIADAS A MOLUSCOS POR IDENTIFICACIÓN MOLECULAR.

Tabla 11. Continuación.

		Longitud	Longitud	Ancho Base	Ancho Base	Ancho Máx.		
Linaje	Ejemplar	Total	Introverto	Estilete	Introverto	Introverto	Forma	Localidad
L7	AZ-1	175	57,5	-	32,5	47,5	Asimétrico	Arroyo Zapata y Ruta Provincial 11 (BA)
L7	AZ-2	-	52,5	-	30	42,5	Asimétrico	Arroyo Zapata y Ruta Provincial 11 (BA)
L7	AZ-3	192,5	55	157,5	27,5	42,5	Simétrico	Arroyo Zapata y Ruta Provincial 11 (BA)
L7	AZ-4	220	57,5	142,5	30	45	Asimétrico	Arroyo Zapata y Ruta Provincial 11 (BA)
L7	AZ-5	170	52,5	150	27,5	50	Asimétrico	Arroyo Zapata y Ruta Provincial 11 (BA)
L7	LB-2	197,5	47,5	150	25	40	Simétrico	La Balandra (BA)
L7	LB-3	215	57,5	140	27,5	37,5	Asimétrico	La Balandra (BA)
L7	LB-5	197,5	52,5	140	25	37,5	Asimétrico	La Balandra (BA)
L7	RN14-2	192,5	52,5	145	25	42,5	Asimétrico	Ruta Nacional 14, Km 19, ER
L7	RN14-3	190	60	142,5	32,5	47,5	Asimétrico	Ruta Nacional 14, Km 19, ER
L7	RN14-5	222,5	62,5	182,5	30	40	Asimétrico	Ruta Nacional 14, Km 19, ER
L7	RP-1	212,5	60	162,5	30	35	Asimétrico	Río de la Plata, Club Regatas de Ensenada (BA)
L7	RP-2	170	52,5	152,5	27,5	40	Simétrico	Río de la Plata, Club Regatas de Ensenada (BA)
L7	RP-3	205	55	162,5	30	37,5	Simétrico	Río de la Plata, Club Regatas de Ensenada (BA)
L7	RNO-4	-	57,5	117,5	32,5	47,5	Asimétrico	Reserva Natural Otamendi (BA)
Seix	as et al.	170-215	47-60 (52)	102-142	20-27 (22)	20-47 (25)		
(2	2010 <sup>a</sup> )	(193)	4/-00 (53)	(122)	20-27 (22)	30-4/ (35)	-	Rio Grande do Sul, Brasil

**Tabla 12**. Medidas tomadas sobre el estilete de especímenes de *Temnocephala lamothei*. Se muestran también las medidas indicadas en la descripción original (Damborenea & Brusa, 2008).

		Longitud	Longitud	Ancho Base	Ancho Base	Ancho máximo		Hospedador
Linaje	Ejemplar	Total	Introverto	estilete	Introverto	introverto	Localidad	
L9	AYG-F-2	167,5	37,5	120	35	40	Arroyo Yabotí Guazú, Parque Provincial Moconá (Ms)	F. neritiniformis
L9	AYG-P-1	187,5	37,5	145	32,5	42,5	Arroyo Yabotí Guazú, Parque Provincial Moconá (Ms)	P. megastoma
L9	AYG-P-2	182,5	37,5	150	32,5	42,5	Arroyo Yabotí Guazú, Parque Provincial Moconá (Ms)	P. megastoma
L9	AYG-P-3	182,5	37,5		37,5	47,5	Arroyo Yabotí Guazú, Parque Provincial Moconá (Ms)	P. megastoma
L9	RU-F-4	182,5	30	137,5	27,5	30	Río Uruguay, Parque Provincial Moconá (Ms)	F. neritiniformis
L9	RU-F-5	180	37,5	130	37,5	42,5	Río Uruguay, Parque Provincial Moconá (Ms)	F. neritiniformis
L10	RUP-4	172,5	37,5	150	30	37,5	Río Uruguay, Parque Provincial Moconá (Ms)	P. megastoma
Dambore	enea & Brusa						Arroyo Yabotí Miní (Ms)	P. megastoma
(2	2008)	167	21,5	115,5	40		(26°57'39.87" S, 53°49'23.07" W)	

La figura 11 muestra las microfotografías de los estiletes de los especímenes *Temnocephala iheringi* secuenciados en este estudio. Las pruebas de Kruskal-Wallis (entre los linajes L2, L4 y L7) mostraron diferencias significativas en la longitud total (p=0,01086) y el ancho de la base del estilete (p=0,01731), así como en la longitud del introverto (p=0,002615). La prueba de comparaciones múltiples evidenció que dichas diferencias en la longitud total y el ancho de la base del estilete se dan entre los linajes L2 y L7, mientras que las diferencias en la longitud del introverto se manifiestan en L7 con respecto a los otros dos linajes (L2 y L4).

La morfología del estilete de *T. lamothei* tuvo escasa variabilidad (Tabla 12 y figura 12).

## CAPÍTULO 1: PUESTA A PRUEBA DE HIPÓTESIS MORFOLÓGICAS DE ESPECIES DE *TEMNOCEPHALA* ASOCIADAS A MOLUSCOS POR IDENTIFICACIÓN MOLECULAR



**Figura 11.** Microfotografías de estiletes penianos de *Temnocephala iheringi*. **a**, RA-6. **b**, RA-7. **c**, AZ-1. **d**, AZ-2. **e**, AZ-3. **f**, AZ-4. **g**, LB-2. **h**, RN14-5. **i**, RN14-2. **j**, LB-3. **k**, RN14-4. **l**, RN14-3. **m**, RP-2. **n**, RP-3. **ñ**, ESG-2. Las abreviaturas indican localidad, de acuerdo a la tabla 11. Linajes: **a**, **b**: L6; **c**, **d**, **e**, **f**, **g**, **h**, **i**, **j**, **l**, **m**, **n**: L7; **k**: L1; **ñ**: L2. Escala 50 μm.

#### CAPÍTULO 1: PUESTA A PRUEBA DE HIPÓTESIS MORFOLÓGICAS DE ESPECIES DE *TEMNOCEPHALA* ASOCIADAS A MOLUSCOS POR IDENTIFICACIÓN MOLECULAR



**Figura 11** (continuación). **o**, ESG-5. **p**, LB-5. **q**, BLP-1. **r**, BLP-3. **s**, LC-1. **t**, LC-4. **u**, RNO-4. **v**, RV-3. **w**, BLP-2. Las abreviaturas indican localidad, de acuerdo a la tabla 11. Linajes: **o**: L3; **p**, **u**: L7; **q**, **r**, **w**: L2; **s**, **t**: L4; **v**, L5. Escala: 50 μm.



**Figura 12.** Microfotografías de estiletes penianos de *Temnocephala lamothei*. **a**, AYG-F-2. **b**, AYG-P-1. **c**, AYG-P-2. **d**, RUT (ejemplar no secuenciado). **e**, RUP-4. **f**, RU-F-4. Las abreviaturas indican localidad y hospedador, de acuerdo a las tablas 2 y 12. Linajes: **a**, **b**, **c**, **f**: L9; **d**, L11; **e**, L10. Escala 50 µm.

#### **Discusión**

En este trabajo se agrega información molecular a la información morfológica de especies del género *Temnocephala* por primera vez. Se presentan las primeras secuencias genéticas (parciales) del gen codificante de la proteína citocromo oxidasa 1 (COI), para ejemplares de Temnocephalidae de la región Neotropical, identificadas a nivel de especie.

El estudio se centró en las dos especies de temnocéfalos registradas para nuestro país. *Temnocephala lamothei* era conocida sólo por su descripción original (para la localidad y hospedador tipo), con posterioridad de la cual no hubo registros ni estudios. Aquí se registra su presencia en tres nuevas localidades y un nuevo hospedador (*Felipponea neritiniformis*). Por su parte, *Temnocephala iheringi*, siendo la especie comensal de moluscos de mayor distribución y hallada en varios hospedadores, ha sido el objeto de numerosos estudios tanto morfológicos como ecológicos (Seixas *et al.*, 2010a; Seixas *et al.*, 2020; y referencias allí). En este trabajo se extiende su rango de distribución 1500 Km al norte del último límite conocido en el centro-oeste de Brasil, hasta el norte de Brasil.

Además, se halló una especie de *Temnocephala* no identificada. Esta especie fue reconocida por información molecular y constatada por información morfológica, aunque el estado del estilete no permitió identificarla.

## Relaciones de parentesco entre las especies de Temnocephala estudiadas

Los análisis moleculares evidenciaron la monofilia de las especies morfológicas del género *Temnocephala* estudiadas con altos niveles de soporte, refutando la primera hipótesis planteada (ver Introducción), tanto para las especies asociadas a moluscos, como para las especies asociadas a crustáceos.

Las tres especies de *Temnocephala* asociadas a moluscos incluidas en este estudio conformaron un grupo monofilético. Este resultado se logró gracias a la incorporación de secuencias de especies de *Temnocephala* de la región Neotropical (i.e., *T. digitata* y *T. chilensis*) asociadas a hospedadores crustáceos. La incorporación de estas especies en el análisis fue necesaria debido a que no existen secuencias previas disponibles del gen COI identificadas a nivel específico que pudieran ser incorporadas en el estudio. De este modo, también se obtuvieron las primeras secuencias de *T. digitata*, y de *T. chilensis*, asociadas a especies de crustáceos. Además de la monofilia de las tres especies de temnocéfalos asociadas a moluscos, los análisis de máxima verosimilitud e inferencia bayesiana mostraron la monofilia de las restantes especies incluidas en el análisis, resultando *T. digitata* el clado hermano de las tres especies asociadas a moluscos. *Temnocephala chilensis* resultó un grupo con bajo soporte que mostró una neta subdivisión en dos grupos, resultados que avalan las observaciones previas que indican que se trata de una especie con una gran variación intraespecífica o de varias especies bajo el mismo nombre (Damborenea 1991, 1992; Ponce de León *et al.* 2020).

#### Distancias genéticas interespecíficas

En distintos grupos de platelmintos se han encontrado diferencias en el valor de la distancia genética entre especies cogenéricas con respecto del gen COI. Entre especies de tricládidos se ha encontrado variaciones entre 6,3 y 24,4% (Inoue *et al.*, 2020), 10,6 y 22% (Wang *et al.*, 2021) y 12,5 y 15,7% (Lenguas Francavilla *et al.*, 2021); mientras que se observaron valores de 9,4% en policladidos (Tsuyuki *et al.*, 2019), entre 4,3 y 21,4% en trematodes y cestodes (Vilas *et al.*, 2005) y alrededor de 7,7% entre especies de la misma familia en digeneos (Locke *et al.*, 2015). Los valores encontrados en este trabajo, en el que la distancia genética entre las especies de *Temnocephala* varió entre 15,5% (distancia-*p*) o 17,5% (K80) y 21,8% (distancia-*p*) o 25,9% (K80), se ubican en la parte superior del rango.

Las distancias genéticas interespecíficas de las especies neotropicales incluidas en el análisis indican una mayor semejanza entre las especies asociadas a moluscos que entre éstas y las asociadas a crustáceos y con las distancias obtenidas en relación a la especie australiana *Temnosewellia fax*. Sin embargo, estos resultados deben considerarse con cautela, debido a que tanto para *T. fax* como para *T. digitata* se contó con pocas secuencias (una y tres respectivamente), y que el número de especies incluidas en los análisis es limitado.

Respecto de las especies de temnocéfalos asociadas a moluscos estudiadas en este trabajo, se observó una distancia interespecífica mínima de 15,5 o 17,5% (según distancia-*p* o K80 respectivamente) entre *T. iheringi* y *Temnocephala* sp. y una distancia máxima de 19,7 o 23% (distancia-*p* o K80 respectivamente) entre *T. iheringi* y *T. lamothei*. Si se incluyen las especies asociadas a crustáceos de la región, la distancia máxima se extiende a 21,1 o 24,9% (distancia-*p* o K80). Por otra parte, la distancia de las especies de *Temnocephala* con respecto de la secuencia *outgroup* de *Temnosewellia fax* no es mayor que la registrada entre las especies neotropicales.

## Distancias genéticas intraespecificas

En cuanto a las distancias intraespecíficas, Locke *et al.* (2015) indican una distancia entre 0-4,22% en digeneos. Hurry *et al.* (2014) señalan que la distancia intraespecífica en temnocéfalos, en particular entre clados pertenecientes a la especie australiana *Temnosewellia albata* Sewell, Cannon & Blair, 2006, varía entre 10-12%. Los valores hallados durante el presente estudio fueron de 2,5% para *Temnocephala* sp., 6,7 o 7,3% para *T. iheringi* y de 4,6 o 4,8% para *T. lamothei* (según distancia-*p* o K80 respectivamente). Si consideramos las distancias genéticas entre poblaciones, se observa que alcanzan valores máximos de 12,7 o 14% para *T. iheringi* y de 9,10 o o 9,80% para *T. lamothei* (según distancia-*p* o K80 respectivamente). La mayor distancia intraespecífica para *T. iheringi* puede estar relacionada con la amplia distribución de la especie, su asociación a diferentes especies hospedadoras (Seixas *et al.*, 2020) y a la mayor intensidad de muestreo.

Entre las especies estudiadas asociadas a moluscos, *T. iheringi* muestra mayor variación genética interna, así como variabilidad morfológica. Debe tenerse en cuenta que estas secuencias fueron las más numerosas y que se corresponden con un rango geográfico mayor (ver las distancias genéticas pareadas en el Anexo II, Tabla 2).

*Temnocephala chilensis* mostró distancias genéticas intraespecíficas altas (12,0 y 13,6% según distancia-*p* y K80 respectivamente) en comparación con las observadas para otras especies. Como se mencionó, *T. chilensis* ha sido el foco de estudios recientes que consideran que no se trataría de una única especie (Ponce de León *et al.*, 2020), lo cual se vería reflejado en la distancia genética encontrada.

## Delimitación de linajes por información molecular

En cuanto a los linajes delimitados por mPTP, se evidenció correspondencia geográfica con algunas excepciones. En *T. iheringi* se reconocieron siete linajes. Siendo que el análisis de PTP se basa en el número de sustituciones acumuladas entre secuencias, estas mismas asociaciones pudieron reconocerse en las tablas de distancias genéticas.

Respecto a *T. lamothei*, la única secuencia proveniente del Río Uruguay, cerca de la desembocadura del Canal Torto, localidad más alejada de las otras dos con representantes de esta especie, fue reconocida como un linaje separado (L11). El linaje (L9) incluyó a las secuencias provenientes del Arroyo Yabotí Guazú, aisladas de especímenes asociados a *Pomacea megastoma* y *Felipponea neritiniformis*, y del Río Uruguay en el Parque Provincial Moconá asociada a *P. megastoma*. Las secuencias de ejemplares de esta última localidad asociados a *F. neritiniformis* conformaron su propio linaje (L10). Esto sugiere que la delimitación de linajes estuvo influenciada por la especie hospedadora. Sin embargo, también debe considerarse la diferencia de hábitat. Lamentablemente, no se dispone de suficiente información sobre la biología y características ecológicas de ambas especies hospedadoras que permita aseverar esta afirmación.

Por otra parte, los ejemplares de *Temnocephala* sp. tuvieron escasa representación en el muestreo y formaron un linaje aparte. Los especímenes de esta especie fueron encontrados en la misma localidad que ejemplares de *T. iheringi* (Río Arapiuns, Villa Franca, Brasil) compartiendo hospedador. Convivencias de este tipo se han registrado previamente para otras especies asociadas a moluscos (Seixas *et al.*, 2010b; 2010c; 2020), pero nunca se han registrado en la Argentina.

## Morfología del estilete peniano

Trabajos previos sobre la morfología de T. iheringi encontraron variabilidad morfológica en la comparación de ejemplares argentinos, brasileños y uruguayos (Dioni, 1967; Seixas et al., 2010a; Seixas et al., 2020). Seixas et al. (2010a) destacaron que temnocéfalos provenientes de Argentina y Uruguay (Hyman, 1955; Dioni, 1967; Damborenea, 1992; Damborenea et al., 1997) eran más pequeños que aquellos provenientes de Brasil (Pereira & Cuocolo, 1941; Seixas et al., 2010a). Estas diferencias, junto con las halladas en las medidas del estilete, fueron atribuidas a una diferencia latitudinal. Posteriormente, Seixas et al. (2020) encontraron diferencias en las dimensiones del estilete entre poblaciones de T. iheringi procedentes de Marisa planogyra y Pomacea maculata. También encontraron diferencias entre las poblaciones de P. canaliculata y M. planogyra con respecto a las de P. maculata, pero no en la longitud total del estilete, siendo el cono (shaft) más largo, con una ligera curvatura y el introverto más corto en los ejemplares asociados a ese último hospedador. Estos autores, además, mencionan que ejemplares del centro-oeste de Brasil (norte de la región del Pantanal) eran más similares a los ejemplares de Argentina y Uruguay que a los del sur de Brasil, con lo que descartaron la influencia latitudinal y se inclinaron por una correspondencia de las variaciones intraespecíficas con las diferentes especies hospedadoras. En el presente estudio no se encontraron diferencias en las dimensiones de los estiletes de poblaciones asociadas a P. maculata y P. canaliculata. Tampoco se observaron diferencias con respecto a su forma (considerando aquí a los estiletes que presentan cierta curvatura de uno de los lados del cono como asimétricos, y a los que no la presentan como simétricos), ya que se encontraron conos tanto simétricos como asimétricos en las mismas localidades y asociados a la misma especie hospedadora.

En este estudio se observaron diferencias para algunas dimensiones del estilete peniano entre el grupo compuesto por las poblaciones de la Provincia de Buenos Aires y sur de la Provincia de Entre Ríos, con respecto de aquellos de poblaciones del centro-norte de la Provincia de Entre Ríos, tomando en cuenta los grupos definidos por mPTP. Dado que las preparaciones de los estiletes y el número de ejemplares disponibles de cada localidad sólo permitieron la comparación morfométrica de tres linajes (L2, L4 y L7), no es posible extender los resultados a todos ellos. Sin embargo, es posible afirmar que los linajes L2 y L4 (provenientes Embalse Salto Grande - ESG -y del Balneario Las Palmeritas - BLP -) no tienen diferencias morfológicas significativas entre sí en las dimensiones del estilete, pero sí con respecto del linaje L7. Éste último, incluye ejemplares provenientes en su mayoría de localidades próximas entre sí y ubicadas en el límite sur del rango muestreado: la Provincia de Buenos Aires y la Provincia de Entre Ríos. Esta diferenciación también fue sugerida por el análisis de PCoA, aunque no de manera significativa. Los dos primeros grupos (L2 y L4) están asociados a Pomacea megastoma y P. canaliculata respectivamente, mientras que el grupo L7 está asociado a dos especies hospedadoras distintas, P. canaliculata y P. maculata. Dado que en las localidades representadas se encontró un solo tipo de hospedador, no es posible afirmar que ésta sea la causa de la variabilidad morfológica intraespecífica. Más aun considerando que no se observó diferencia en la morfometría del estilete entre poblaciones asociadas a P. maculata y P. canaliculata ni entre las asociadas a P. canaliculata y P. megastoma que estuvieran cercanas geográficamente. Esto podría sugerir que la variación depende más de un componente geográfico que de los hospedadores, aunque no estaría asociado directamente con la latitud.

Estudios previos también señalan variabilidad morfológica en *T. iheringi* relacionada al tamaño corporal y a caracteres de la faringe o las placas sinciciales excretoras, entre otros (Dioni 1967; Seixas *et al.*, 2010a; Seixas *et al.*, 2020). Estas características no pudieron contrastarse en este trabajo debido a la naturaleza de los ejemplares *voucher* de los estudios moleculares.

*Temnocephala lamothei* solo se conocía hasta la fecha para su localidad tipo. La morfología y dimensiones del estilete encontradas fueron coincidentes con las de la descripción original (Damborenea & Brusa, 2008).

## Información morfológica versus información molecular

Considerando los resultados obtenidos, es posible inferir que la variación en las dimensiones del estilete de *Temnocephala iheringi* puede estar vinculada a la distancia geográfica entre las poblaciones estudiadas. No se evidenciaron diferencias en relación con la especie hospedadora.

Para avanzar en estos aspectos, es necesario aumentar la representatividad de ejemplares de diferentes localidades y de diferentes especies hospedadoras, así como sumar al análisis otros marcadores moleculares (i.e., 16S, 28S).

# CAPÍTULO 2 – ANÁLISIS DE POBLACIONES DE *TEMNOCEPHALA IHERINGI* Y *TEMNOCEPHALA LAMOTHEI* MEDIANTE EL USO DE REDES DE HAPLOTIPOS

El análisis de haplotipos mediante redes se utiliza con diferentes fines. Entre ellos, estimar la divergencia entre poblaciones de la misma especie (Lázaro *et al.*, 2011), analizar la diversidad específica de complejos de especies crípticas (Casu *et al.*, 2011; Van Steenkiste *et al.*, 2018) o estudiar los niveles de variabilidad genética dentro de y entre poblaciones, evaluando su estructura y flujo génico (Lázaro *et al.*, 2011; Casu *et al.*, 2009; Dols-Serrate *et al.*, 2020; Yamazaki *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2021). En temnocéfalos se han realizado pocos estudios de redes de haplotipos, que se han utilizado para comparar los patrones en la estructura génica de las poblaciones de comensales y sus hospedadores para dilucidar su historia evolutiva común (Hurry *et al.*, 2014) y para contribuir a la identificación molecular de especies invasoras (Chiesa *et al.*, 2015).

En este trabajo, se utiliza el análisis de redes de haplotipos del gen COI para conocer las relaciones entre poblaciones de *Temnocephala iheringi* y de *Temnocephala lamothei*, con el fin de poner a prueba la hipótesis de que la estructura genética de sus poblaciones refleja la asociación con sus diferentes especies hospedadoras, y se analiza la relación entre las distancias genéticas y geográficas para las poblaciones de *T. iheringi*.

## Metodología

## Redes de haplotipos

Para las redes de haplotipos se crearon matrices con las secuencias de *T. lamothei* y de *T. iheringi* por separado y se las alineó con MAFFT (Kuraku *et al*, 2013; Katoh *et al*, 2019). Las redes de haplotipos se obtuvieron mediante el programa PopART (http://popart.otago.ac.nz) utilizando el método TCS (Clement *et al.*, 2002; Lázaro *et al.*, 2011; Riesgo *et al.*, 2017; Van Steenkiste *et al.*, 2018; Yamazaki *et al.*, 2020), que se basa en eventos a nivel de poblaciones, como presencia de haplotipos dominantes y recombinación, para generar una red genealógica que puede mostrar la divergencia a nivel poblacional (Rader *et al.*, 2019).

## Prueba de Mantel

Con el objetivo de comparar las distancias genéticas y geográficas para determinar si existe correlación entre ellas, se realizó una prueba de Mantel. Esta prueba se utiliza para estimar la asociación entre dos matrices de distancias independientes que describen al mismo conjunto de "entidades", y para evaluar si ésta es más fuerte que la que se esperaría obtener al azar. Parte de la hipótesis nula de que no hay asociación entre los elementos de ambas matrices. Se calcula un coeficiente de correlación, y para evaluar su nivel de significancia se realizan una serie de permutaciones. Éste se toma como significativo con un valor inferior al 0,05 (Mantel, 1967; Sokal &Rohlf, 1995).

Las distancias geográficas pareadas se obtuvieron con Google Earth (Google LLC) midiendo una línea recta entre las localidades ("*overland*"). Las distancias genéticas usadas fueron las obtenidas entre localidades de *T. iheringi*. La prueba se realizó en R v4.0.3 (<u>https://www.R-project.org/</u>) utilizando el paquete "*vegan*" (Oksanen *et al.*, 2020). Se usó el coeficiente de correlación de Pearson con 1000 permutaciones.

## **Resultados**

## Redes de haplotipos

## <u>Temnocephala iheringi</u>

La matriz de *T. iheringi* consistió en 32 haplotipos recuperados a partir de 56 secuencias y representando 12 localidades (Tabla 13). La red se puede ver en la Figura 13. Las secuencias idénticas se muestran en la Tabla 14.

Se pueden reconocer siete grupos (L1-L7) separados por un mínimo de 25 sustituciones. Dentro de cada uno de ellos, la cantidad de sustituciones nucleotídicas entre haplotipos varía entre una y 8.

El grupo L1 está compuesto por dos haplotipos de la Provincia de Entre Ríos (Ruta Nacional 14, Km 19 - RN14 -), que están separados entre sí por 2 mutaciones.

El grupo L2 está conformado por 2 haplotipos separados por una sola sustitución, representando las localidades del Balneario las Palmeritas (BLP) y el Embalse Salto Grande (ESG), en tanto que ésta última localidad también está representada por el grupo L3, compuesto por un haplotipo único. El grupo L4 está enteramente compuesto por la localidad de Ruta Provincial 4 hacia Los Charrúas (ER) - LC -, con cuatro haplotipos únicos y de una a cuatro mutaciones entre ellos, mientras que L5 está conformado por tres haplotipos únicos de la localidad Riacho Victoria, Barrio Quinto Cuartel (ER) - RV - separados por una o dos mutaciones. Los grupos L6 y L8 representan a los individuos del Río Arapiuns (Brasil) - RA - con tres y dos haplotipos separados por una a tres y cuatro a ocho mutaciones respectivamente. El grupo L7 está compuesto por todos los individuos de la Provincia de Buenos Aires y tres (de un total de 5 secuencias) provenientes de la Ruta Nacional 14, Km 19 (ER) - RN14 -. A su vez, los ejemplares de la Provincia de Buenos Aires están asociados a dos especies hospedadoras (*Pomacea canaliculata* y *P. maculata*). Los haplotipos del grupo L7 se separan por una, dos o tres mutaciones, siendo la mayoría únicos, aunque algunos haplotipos están compartidos por hasta 11 individuos de diferentes localidades y especies hospedadoras (Figura 13).

## <u>Temnocephala lamothei</u>

Por otra parte, la matriz de *Temnocephala lamothei* está compuesta por 20 secuencias y 13 haplotipos, representando tres localidades (Tabla 13). La red de haplotipos se puede ver en la Figura 14. Las secuencias idénticas se muestran en la Tabla 15. En la red de *T. lamothei* se reconocen tres grupos, separados por un mínimo de 25 mutaciones. El grupo L9 incluye 10 haplotipos asociados a dos especies hospedadoras (*Felipponea neritiniformis y Pomacea megastoma*) y dos localidades diferentes (Arroyo Yabotí Guazú y Río Uruguay, Parque Provincial Moconá) que se separan por una a nueve sustituciones. Dentro de este grupo, los haplotipos correspondientes a cada localidad se separan, así como los provenientes de la misma localidad (Arroyo Yabotí Guazú) pero de diferente especie hospedadora. Por otra parte, los grupos L10, compuesto por dos haplotipos del Río Uruguay (Parque Provincial Moconá), y L11, con un único haplotipo representante de Río Uruguay (cerca de la desembocadura del Canal Torto), comparten el mismo hospedador (*P. megastoma*) (Figura 14).

CAPÍTULO 2 – ANÁLISIS DE POBLACIONES DE *TEMNOCEPHALA IHERINGI* Y *TEMNOCEPHALA LAMOTHEI* MEDIANTE EL USO DE REDES DE HAPLOTIPOS



**Figura 13.** Red de haplotipos de *Temnocephala iheringi*. Los colores indican localidades y el tamaño de los círculos indica la cantidad de secuencias que comparten ese haplotipo. Los hospedadores se indican según el patrón de relleno: **liso**, *Pomacea canaliculata*; **espiralado**, *Pomacea linneai*; **punteado**, *Pomacea maculata*; **rayado**, *Pomacea megastoma*; **estrellado**, *Asolene platae*. También se indican los grupos reconocidos (L1- L8). **BA**, Provincia de Buenos Aires; **ER**, Provincia de Entre Ríos.

CAPÍTULO 2 – ANÁLISIS DE POBLACIONES DE *TEMNOCEPHALA IHERINGI* Y *TEMNOCEPHALA LAMOTHEI* MEDIANTE EL USO DE REDES DE HAPLOTIPOS



**Figura 14.** Red de haplotipos de *Temnocephala lamothei*. Los colores indican localidades, y el patrón de relleno el hospedador (**liso**, F: *Felipponea neritiniformis*; **rayado**, P: *Pomacea megastoma*). El tamaño de los círculos indica la cantidad de individuos que comparten ese haplotipo. También se indican los grupos reconocidos (L9-L11). **BR**, Brasil; **Ms**, Provincia de Misiones; **PY**, Paraguay.

Especie	Localidad	Código de localidad	n <sup>o</sup> secuencias analizadas	n <sup>o</sup> haplotipos
	Arroyo Zapata y Ruta Provincial 11 (BA)	AZ	5	3
	Atalaya (BA)	AT	1	1
	La Balandra (BA)	LB	6	4
	Reserva Natural Otamendi (BA)	RNO	4	3
	Parque Saavedra, La Plata (BA)	PS	5	1
	Río de la Plata, Club Regatas de Ensenada			
au	(BA)	RP	7	6
1. iheringi	Balneario Las Palmeritas (ER)	BLP	3	1
ineringi	Embalse Salto Grande (ER)	ESG	6	3
	Riacho Victoria, Barrio Quinto Cuartel,			
	Victoria (ER)	RV	3	3
	Ruta Nacional 14, Km 19 (ER)	RN14	5	5
	Ruta Provincial 4 hacia Los Charrúas,			
	Concordia (ER)	LC	4	4
	Río Arapiuns, Villa Franca (Brasil)	RA	7	5
T. lamothei	Arroyo Yabotí Guazú, Parque Provincial			
	Moconá (Ms)			
	- Felipponea neritiniformis	AYG-F	5	3
	- Pomacea megastoma	AYG-P	5	3
	Río Uruguay, cerca de la desembocadura			
	del Canal Torto (Ms)	RUT	1	1
	Río Uruguay, Parque Provincial Moconá			
	(Ms)			
	- Felipponea neritiniformis	RU-F	5	4
	- Pomacea megastoma	RU-P	4	2

## Tabla 13. Número de haplotipos por localidad de *Temnocephala iheringi* y *T. lamothei*.

	Secuencias		Secuencias		
Nodo	idénticas	Nodo	idénticas	Nodo	Secuencias idénticas
DNO 1	RNO-1		AZ-1		ESG-1
KINO-1	RNO-3		AZ-2		ESG-2
	LB-2		AZ-3		ESG-4
LB-2	LB-4		LB-3	ESG-1	ESG-6
	RP-3		LB-6		BLP-1
	LB-5	AZ-1	RP-1		BLP-2
I R-r	AT-1		PS-1		BLP-3
тв-2	RP-5		PS-2	DA 1	RA-1
	RP-6		PS-3	KA-1	RA-6
RA-2	RA-2		PS-4		
	RA-7		PS-5		

**Tabla 14.** Haplotipos compartidos de *Temnocephala iheringi* acorde a los códigos de localidad indicados en la tabla 13.

**Tabla 15** Haplotipos compartidos de *Temnocephala lamothei* acorde a los códigos de localidad indicados en la tabla 13.

Nodo	Secuencias idénticas	
	RUP-1	
RUP-1	RUP-3	
	RUP-4	
	AYG-F-1	
AYG-F-1	AYG-F-2	
	AYG-F-4	
RII-F-1	RU-F-1	
K0-1-1	RU-F-3	
	AYG-P-1	
AYG-P-1	AYG-P-3	
	AYG-P-5	

## Prueba de Mantel

La prueba de Mantel arrojó un coeficiente de correlación de r=0,2002, con un nivel de significancia de 0,34. Es decir, si bien el coeficiente de correlación es positivo, su valor es bajo y el nivel de significancia se encuentra por encima de 0,05, lo que indica una ausencia de correlación entre las distancias genéticas y geográficas.

## **Discusión**

Ambas especies estudiadas mostraron una alta diversidad genética, reconociéndose 13 haplotipos a partir de 20 secuencias de *Temnocephala lamothei* y 32 haplotipos a partir de 56 secuencias de *Temnocephala iheringi*. Esta diversidad es mayor que la hallada en otro género de la misma subfamilia de la región australiana, donde se reconocieron 17 haplotipos a partir de 61 individuos de una misma especie, *Temnosewellia albata* Sewell, Cannon & Blair, 2006. Todos ellos se hallaron en ejemplares asociados a una única especie hospedadora, *Euastacus robertsi* Monroe, 1977 (Decapoda, Parastacidae) de tres localidades diferentes (Hurry *et al.*, 2014).

Dentro de *T. iheringi*, los ocho grupos reconocidos en la red de haplotipos coinciden con los ocho linajes hallados por inferencia filogenética y por mPTP (véase Resultados Capítulo 3). El grupo L7 (representando en su mayoría a la Provincia de Buenos Aires) es el que presenta la mayor cantidad de haplotipos (15), sin mostrar ninguna estructuración interna respecto de localidades o especies hospedadoras, y con baja diferenciación entre sus haplotipos. Todas las localidades presentan al menos tres haplotipos, excepto Parque Saavedra (PS), cuyos individuos comparten todos el mismo haplotipo, presente también en otras tres localidades del grupo. Ésta es una localidad particular, ya que se trata de una pequeña laguna urbana artificial, sin conexión con otros cuerpos de agua. Todo esto sugiere cierta homogeneidad entre las localidades de la Provincia de Buenos Aires. Este grupo se correspondería con la categoría IV de Avise (2000), al tratarse de un clado sin nodos filogenéticos profundos ni separación espacial, con un alto nivel de flujo génico entre las poblaciones. Sin embargo, en este grupo están presentes también tres secuencias (haplotipos únicos) provenientes de una localidad de la Provincia de Entre Ríos (Ruta Nacional 14, Km 19).

El grupo L1 contiene las dos secuencias restantes de Ruta Nacional 14, Km 19 (RN14), y está separado de los otros haplotipos de la misma localidad (grupo L7) por numerosas mutaciones. Todos los haplotipos de esta localidad son únicos, y provienen de ejemplares asociados a diferentes individuos hospedadores. Dado que se trata de una charca temporal, es probable que los caracoles hospedadores llegaran al sitio gracias a las frecuentes inundaciones de la zona, y que algunos de ellos migren hacia las localidades de la Provincia de Buenos Aires por el mismo medio, generando flujo génico con ellas.

Las secuencias provenientes de las localidades de Ruta Provincial 4 hacia Los Charrúas - LC - (L4) y de Riacho Victoria, Barrio Quinto Cuartel - RV - (L5) en la Provincia de Entre Ríos dan lugar a poblaciones claramente separadas, con cuatro y tres haplotipos únicos, respectivamente. Esta separación coincide con las cuencas de drenaje a las que están asociadas dichas localidades (cuencas del Río Uruguay y Paraná respectivamente).

El grupo L2 está conformado por secuencias de dos localidades muy próximas entre sí, Embalse Salto Grande (ESG) y Balneario Las Palmeritas (BLP), y de una única especie hospedadora (*Pomacea megastoma*). Está compuesto por dos haplotipos, uno de los cuales está compartido por todas las secuencias del Balneario las Palmeritas y la mayoría de las del Embalse Salto Grande. Esta última localidad también está representada por el linaje L3, de un único haplotipo, que está separado del grupo L2 por numerosas mutaciones. Resulta llamativa esta separación, siendo que los haplotipos ESG-5 (grupo L3), ESG-1 y ESG-6 (ambos formando parte del haplotipo dominante del grupo L2) provienen de ejemplares asociados al mismo individuo hospedador.

Con respecto a los individuos del Río Arapiuns (Brasil), éstos se hallan separados en dos grupos, apoyando la hipótesis de que los ejemplares RA-4 y RA-5 corresponden a otra especie, no identificada (*Temnocephala* sp.).

Dado que todos los grupos encontrados se relacionan entre sí con nodos centrales faltantes, se podría inferir que los haplotipos más antiguos son raros en las poblaciones actuales (Casu *et al.*, 2011). Podría sugerirse una asociación por hospedador siendo que los grupos asociados a *Pomacea megastoma* y *Asolene platae* se separan de los de *P. canaliculata*, pero no hay separación entre esta última y *P. maculata*. Por otra parte, dado que sólo se halló una especie hospedadora por localidad, la información disponible no es suficiente para dilucidar estas relaciones.

En *Temnocephala lamothei* y, a semejanza de los resultados obtenidos a partir de la inferencia filogenética, se reconocen agrupaciones por hospedador y localidad dentro de la estructuración por linajes. Sin embargo, observando la red general, no hay una clara dominancia de la geografía o las especies hospedadoras sobre la estructura. Si se toman en cuenta los haplotipos por localidad, en el caso de Río Uruguay (P. P. Moconá) se ve mayor cantidad de sustituciones separando los grupos de diferentes especies hospedadoras, que con respecto a las otras localidades. Lo mismo ocurre si se observa la red tomando en cuenta las especies hospedadoras, resultando cercanos los haplotipos asociados a *Felipponea neritiniformis* y más separados entre sí aquellos asociados a *Pomacea megastoma*. Es decir, resultan más estrechamente relacionados los haplotipos de ambos hospedadores presentes en el Arroyo Yabotí Guazú, así como aquellos asociados a *F. neritiniformis* de ambas localidades, que los grupos resultantes de las otras combinaciones. Por otra parte, el grupo L11, de Canal Torto, corresponde a la única secuencia de dicha localidad (asociada a *P. megastoma*), por lo que no es posible estimar la situación entre hospedadores en ella.

Debido a las grandes distancias entre los sitios de colecta, se esperaba obtener una mayor correlación entre las distancias genéticas y las geográficas. Debe considerarse que, debido a la separación entre las localidades y que éstas provienen de diferentes cuencas hidrográficas, las distancias geográficas fueron calculadas en línea recta y no siguiendo los cursos de agua.

Los hospedadores, y con ellos sus comensales, se dispersan por otros medios además de la comunicación directa entre cursos de agua. Por ejemplo, las inundaciones son un mecanismo de dispersión de caracoles desde los ríos y lagunas hacia zonas aledañas, quienes de esta forma colonizan charcas y otros ambientes. Los gasterópodos de la familia Ampullariidae y, en particular algunas especies del género *Pomacea*, presentan una gran resistencia a condiciones ambientales hostiles como la desecación y las bajas temperaturas y, algunos de ellos, como *P. canaliculata* y *P. maculata*, son altamente invasivos con una gran capacidad de dispersión (Lowe *et al.*, 2000; Pierre *et al.*, 2017; Gutierre *et al.*, 2019).

Por otra parte, no se conocen bien los mecanismos de dispersión de los temnocéfalos. Se han encontrado temnocefálidos no nativos en diferentes partes del mundo, introducidos de forma no intencional por el hombre junto con sus hospedadores, tanto en granjas comerciales, como en poblaciones ya establecidas en cursos de agua naturales (Sibraa *et al.*, 2021). También se los ha registrado asociados a hospedadores nativos, distintos a los hospedadores originales junto a los cuales fueron introducidos (Avenant-Oledewage, 1993; Xylander, 1997; Tavakol *et al.*, 2016). El *host-switching* se ve

favorecido por la cercanía filogenética de los hospedadores en cuestión, así como la cercanía geográfica (Cuthill *et al.*, 2016), lo cual podría ser el caso de los ejemplares del grupo L7 (asociados a *P. canaliculata* y *P. maculata*). Además, se han encontrados huevos de temnocéfalos en las heces de aves acuáticas, y aunque no se ha probado su viabilidad (Silva *et al.*, 2021), se sabe que son más resistentes a condiciones hostiles que los adultos (Hurry *et al.*, 2014). Por su parte, Ložek (2021) registró el grado de infestación de un hospedador a partir de huevos de temnocefálidos, así como su salto a hospedadores mantenidos separados, pero en el mismo sistema de recirculación de agua, señalando la alta capacidad de dispersión potencial de los simbiontes en condiciones adecuadas. La alta diversidad génica y el flujo génico evidenciados en este estudio, podrían ser indicadores de una alta capacidad de dispersión de *Temnocephala iheringi*.

Por todo esto, para comprender la estructura genética de las poblaciones de temnocéfalos y la relación con sus hospedadores sería necesario ampliar los estudios, incluyendo redes de haplotipos de marcadores diferentes, así como más localidades y especies hospedadoras, junto con estudios de co-filogenia.

# CAPÍTULO 3 – ANÁLISIS MORFOLÓGICO DE ESPECIES DE *TEMNOCEPHALA* ASOCIADAS A MOLUSCOS CON ÉNFASIS EN ADAPTACIONES AL HÁBITO DE VIDA EN EL HOSPEDADOR

## **Introducción**

Dada la estrecha asociación con sus hospedadores, los temnocéfalos han desarrollado adaptaciones en estructuras asociadas con la alimentación y la fijación. La especialización de la faringe les permite aprovechar el acceso a presas grandes, facilitado por su modo de vida simbiótico (Jennings, 1968; Cannon & Jennings, 1987; Joffe *et al.*, 1997). A su vez, han desarrollado estructuras adhesivas en los extremos anterior y posterior del cuerpo en forma de tentáculos y un disco adhesivo, respectivamente (Cannon & Joffe, 1991; Sewell, 2013).

Tradicionalmente, la faringe de los platelmintos ha sido utilizada en la literatura zoológica clásica como un carácter estable al momento de clasificar taxa a nivel de órdenes y subórdenes (Raikova *et al.*, 2019). Estas clasificaciones quedan obsoletas en vista de las nuevas filogenias, donde los diferentes tipos de faringe no se asocian a clados específicos, sino que quedan dispersos en distintos linajes (Laumer *et al.*, 2015) (Figura 15). Se ha sugerido la necesidad de una redescripción de las mismas a fin de establecer su homología (Raikova *et al.*, 2019 y referencias allí).

En los Platyhelminthes se reconocen tres grandes tipos morfológicos de faringe (Figura 16). La faringe simple (presente en Catenulida, Macrostomida y algunos Prolecitophora) consiste en una invaginación de la pared del cuerpo sin modificación de la musculatura subepidérmica, manteniendo un epitelio ciliado. La faringe plegada (presente en parte de Polycladida, Proseriata, Tricladida y algunos representantes de Prolecithophora, Fecampiida y Rhabdocoela) es un órgano tubular muscular ciliado o con diferentes grados de reducción de cilios, contenido en una cavidad faríngea, que puede protruirse para capturar las presas, y que además permite una digestión parcial del alimento fuera del cuerpo. Por último, la faringe bulbosa, con una cavidad faríngea reducida, tiene musculatura propia y se encuentra separada del parénquima circundante por un septo de músculo y matriz extracelular. Es una estructura muy móvil dentro del cuerpo debido a los músculos retractores que la fijan a la pared del cuerpo. Debido a diferencias morfológicas, en el tipo de faringe bulbosa se reconocen tres grupos: a) *variabilis*, que es una estructura alargada, con un epitelio parcialmente ciliado cuyos núcleos se encuentran en citones embebidos en el parénquima, musculatura longitudinal por debajo del epitelio del lumen y una predominancia de glándulas intrafaríngeas, presente en algunos Prorhynchida y algunos Prolecithophora, b) *rosulatus*, de forma aproximadamente globular, orientada ventralmente, con musculatura circular por debajo del epitelio, núcleos intraepiteliales, el epitelio del borde libre de la faringe hacia la cavidad faríngea ciliado, y células glandulares ubicadas tanto por fuera como por dentro de la faringe, encontrada en algunos Rhabdocoela y algunos Neodermata; y c) *doliiformis*, elongada, con forma de barril, orientada anteriormente, con fibras musculares circulares por debajo del epitelio sin cilios, núcleos epiteliales desplazados al parénquima, y células glandulares enteramente intrafaríngeas, presente en Rhadocoela y la mayoría de los Neodermata, así como en, Fecampiida y Prolecithophora, entre otros (Rieger *et al.*, 1991; Laumer *et al.*, 2015; Raikova *et al.*, 2019).



Figura 15. Tipos de faringe en Platyhelminthes. Modificado de Laumer et al. (2015).



**Figura 16.** Tipos de faringe generales encontrados en Platyhelminthes, modificado de Noreña *et al.* (2015). Fila superior: secciones sagitales, fila inferior: secciones transversales.

Se ha propuesto, para algunos rhabdocelos y algunos taxa de faringe simple, que la musculatura longitudinal externa de la luz faríngea se forma a partir de fibras circulares especiales de la pared del cuerpo (Doe, 1987; Adami *et al.*, 2017).

En Temnocephalidae se ha descripto una faringe bulbosa doliforme típica (Figura 16). Esto significa que, a diferencia de la faringe simple y plegada, se encuentra separada del parénquima circundante por un septo de músculo y matriz extracelular. Esta separación le proporciona independencia hidrostática, haciendo así más efectivos sus movimientos, tanto para cambiar su forma como para protruirse levemente (Rieger *et al.*, 1991). Además, las células glandulares asociadas son intrafaríngeas, los cilios se reducen hasta desaparecer, los núcleos epiteliales se ubican en citones y el saco faríngeo es corto (Rieger *et al.*, 1991). En algunos casos puede presentar una simplificación en su estructura, como en el género *Craspedella* Haswell, 1893, donde la musculatura es notablemente débil y la faringe es pequeña y más esférica que doliforme (Joffe *et al.*, 1997).

En su mayoría, el conocimiento sobre la faringe del grupo proviene de estudios realizados sobre géneros y especies de Australia y Nueva Zelanda, como *Didymorchis* sp., *Temnosewellia dendyi* (Haswell, 1893), *Craspedella spenceri* Haswell, 1893, *C. pedum* Cannon & Sewell, 1995 (habitantes de la cámara branquial de langostas de río), *Diceratocephala boschmai* Baer, 1953 (encontrado sobre la superficie corporal de
langostas de río) (Joffe *et al.*, 1997), *Temnohaswellia novaezealandiae* (Wacke, 1905; Fyfe, 1942) (también sobre la superficie corporal de cangrejos de río); y algunos de la región neotropical como *Temnocephala chilensis* (Moquin-Tandon, 1846) (Wacke, 1905) y *Temnocephala gargantua* Ponce de León & Volonterio, 2018 (Ponce de León & Volonterio, 2018), ambos encontrados sobre la superficie corporal o entre los apéndices, de crustáceos de las familias Aeglidae y Parastacidae. Se han realizado estudios tanto con microscopía óptica (Wacke, 1905; Hyman, 1955; Rieger, 1991; Ponce de León & Volonterio, 2018) como microscopía electrónica de transmisión (Joffe *et al.*, 1997).

La boca en los temnocefálidos es subterminal y ventral, ubicada por detrás de los tentáculos o lóbulo anterior (Figura 17). Ésta se abre en un corto canal bucal que desemboca en la cavidad faríngea. En algunos casos, la porción anterior de la faringe protruye dentro la cavidad formando un cono faríngeo. La estructura general de la pared de la faringe se mantiene constante en los diferentes grupos de Temnocephalidae (Joffe et al., 1997). Desde la cavidad faríngea, revestida por el epitelio, hacia el parénquima el orden de las capas musculares es el siguiente: fibras musculares circulares internas, longitudinales internas, fibras radiales (entre las paredes interna y externa), fibras longitudinales externas y circulares externas (Haswell, 1893; Hyman, 1951; Rieger et al., 1991; Joffe et al., 1997) (Figura 16). La capa muscular interna suele ser más fuerte que la externa, y puede formar uno o más esfínteres (particularmente las fibras circulares). Entre ambas paredes musculares se disponen las fibras radiales, entre las que se encuentran las células glandulares, cuyos cuellos pueden anastomosarse y abrir en la zona distal de la faringe. Por fuera se encuentra recubierta en su totalidad por musculatura y parénquima extrafaríngeos. El epitelio de la luz está compuesto por varios sincitios sucesivos que ubican sus núcleos en citones fuera de la faringe, dispuestos en el parénquima circundante (Haswell, 1893; Hyman, 1951; Rieger et al., 1991; Joffe et al., 1997).



**Figura 17.** Esquema general del cuerpo del género *Temnocephala*, modificado de Damborenea & Brusa (2017). **b**, boca; **ea**, esfínter faríngeo anterior; **ep**, esfínter faríngeo posterior; **v**, ventosa.

En las especies de *Tennocephala* la faringe es alargada y está dirigida anteriormente. Tiene dos esfínteres, uno en cada extremo. El anterior, generalmente más pequeño, se sitúa inmediatamente después de la cavidad faríngea. El posterior suele ocupar aproximadamente la mitad de la longitud total de la faringe. La zona intermedia de la faringe, entre ambos esfínteres, tiene abundantes fibras musculares radiales entre las que se observan células glandulares (Haswell, 1893; Hyman, 1951; Rieger *et al.*, 1991; Ponce de León & Volonterio 2018) (Figura 18).



Figura 18. Esquema de una faringe de *Temnocephala* spp. en sección sagital. **b**, boca; **e**, epitelio; **ea**, esfínter anterior; **ep**, esfínter posterior; **fce**, fibras circulares externas; **fci**, fibras circulares internas; **fle**, fibras longitudinales externas; **fli**, fibras longitudinales internas; **fr**, fibras radiales; **g**, células glandulares; **i**, intestino.

A fin de establecer si existen adaptaciones especiales en la faringe de los temnocéfalos asociados a moluscos debido al hábito de vida, se describe la morfología de la faringe de las especies de *Temnocephala* comensales de gasterópodos (habitantes de la cavidad paleal, protegidas del ambiente) y se la compara con otras especies de *Temnocephala* con hábitos de vida diferentes (asociadas a la superficie externa de hospedadores crustáceos). Asimismo, se compara la morfología faríngea de temnocéfalos con la de especies de grupos taxonómicos afines de vida libre (Dalyelliidae) de faringe bulbosa doliforme.

Por otra parte, los tentáculos anteriores y la ventosa posterior cumplen un importante rol en la locomoción y fijación de los temnocéfalos, quienes se desplazan alternando la fijación de la región ventral de los tentáculos y la superficie ventral del disco adhesivo o ventosa (*looping*) (Williams, 1981). En los tentáculos desembocan las glándulas de las rabditas, las cuales colaboran con la fijación durante el movimiento. Por

su parte, la ventosa es un órgano muscular y en ella desembocan glándulas de secreción adhesiva. Los distintos taxones de Temnocephalinae presentan diferentes estructuras de fijación, desde superficies adhesivas hasta ventosas muy desarrolladas (Cannon & Joffe, 1991; Sewell, 2013). Sin embargo, pocos estudios han abordado la morfología funcional de esta estructura (Sewell & Whittington, 1995).

En las especies del género *Temnocephala*, en la región Neotropical, la ventosa posterior está formada por el disco adhesivo y el pedúnculo. De acuerdo al hábito de vida del hospedador, los temnocéfalos se fijan a diferentes superficies, como la superficie externa en crustáceos e insectos, las cámaras branquiales de crustáceos o la cavidad paleal de moluscos (e.g., Damborenea, 1992; Amato *et al.*, 2011; Zivano *et al.* 2020). En este estudio se compara la musculatura del disco adhesivo y el pedúnculo de tres especies: *Temnocephala digitata*, especie que se fija a la superficie externa de *Palaemon argentinus* (Crustacea, Decapoda), y de *T. iheringi* y *T. lamothei*, habitantes de la cavidad paleal de especies de Ampullariidae (Mollusca, Caenogastropoda).

### <u>Metodología</u>

Para ser observados bajo microscopio óptico, los ejemplares de *T. iheringi* y *T. lamothei* fueron incluidos en Paraplast y cortados en secciones seriadas de  $6\mu$ m de espesor con un micrótomo automático, tanto sagital como transversalmente. Luego se los tiñó con tricrómico de Masson, hematoxilina y eosina o con ácido periódico de Schiff (PAS) y se los montó en bálsamo de Canadá (Suvarna *et al.*, 2018). También, algunos ejemplares teñidos con carmín clorhídrico, hematoxilina de Delafield o con carmín acético y *fast green* fueron montados en preparaciones *in toto* (Loquin & Langeron, 1983; Amato & Amato, 2010; Suvarna *et al.*, 2018). Otras preparaciones *in toto* se realizaron con polivinil-lactofenol como medio aclarante. Además, se observó material de colección de *T. digitata* (MLP-He 7214), *T. lamothei* (MLP-He 5718-5721) y *T. iheringi* (MLP-He 5915–5920) de la Colección Helmintológica del Museo de La Plata.

Para observar la musculatura de la faringe y de la ventosa mediante microscopía confocal, se separaron tres ejemplares de *T. iheringi* y se los fijó con formaldehído (4% p/v en PBS) durante doce horas. Luego fueron lavados con PBS-Tween (0,05%) y permeabilizados con Triton X-100 (1%) por 24 horas. Finalmente, se los incubó en una solución de faloidina (Sigma-Aldrich) (1/1000) durante toda la noche a 4°C y se los montó en Vectashield® (Vector Laboratories) (Adami *et al.*, 2018).

Los ejemplares fueron observados con un Microscopio Láser Confocal Espectral (CLSM) Leica TCS SP5. Las imágenes obtenidas fueron analizadas con el software Leica Application Suite X 3.3 (www.leica-microsystems.com).

De dalyéllidos se observaron cortes histológicos de ejemplares del género *Gieysztoria* Ruebush & Hayes, 1939 (MLP 5360), *Gieysztoria kasasapa* Damborenea, Brusa & Noreña, 2005 (MLP 5700) y *Gieysztoria sasa* Damborenea, Brusa & Noreña, 2005 (MLP 5430, MLP 5429) de la Colección Helmintológica del Museo de La Plata, así como imágenes de microscopía confocal de *Dalyellia callvucurai* Damborenea, Brusa & Noreña, 2007 (material cedido por la Dra. Mariana Adami).

Para comparar las dimensiones de la faringe y de la ventosa de *T. iheringi, T. lamothei* y *T. digitata,* se tomaron las siguientes medidas sobre ejemplares montados *in toto*: longitud del cuerpo sin tentáculos, longitud de la faringe, longitud del esfínter posterior, ancho del esfínter posterior, diámetro de la ventosa, ancho del pedúnculo de la ventosa. Luego se calcularon las siguientes relaciones: longitud del cuerpo / longitud de la faringe, longitud del cuerpo / longitud del sefínter posterior, longitud del cuerpo / longitud del esfínter posterior, longitud de la faringe / longitud del cuerpo / longitud del esfínter posterior y longitud del cuerpo / diámetro de la ventosa. En base a los valores obtenidos, se realizaron análisis de Kruskal-Wallis para cada una de estas relaciones comparando las tres especies. En caso de hallarse diferencias significativas, se determinó entre cuáles especies ocurren las diferencias mediante una prueba de comparaciones múltiples (Sokal & Rohlf, 1995). Estos análisis se llevaron a cabo utilizando R v.4.0.3 (R Core Team, 2020, <u>https://www.r-project.org/</u>), tomando para ambas pruebas un nivel de significancia de *p*<0,05.

# **Resultados**

# Morfología de la faringe

# Temnocephala spp.

En las tres especies de temnocéfalos estudiadas se reconocieron características similares en cuanto a la morfología faríngea, presentando esfínteres asimétricos en los extremos de la misma.

La boca cuenta con un anillo de musculatura formado por fibras musculares circulares de la pared del cuerpo (Figura 19-B).



**Figura 19.** Ejemplar de *Temnocephala iheringi* tratado con faloidina para resaltar la musculatura, fotografiado al microscopio confocal en sección frontal. **A.** Microfotografía mostrando la musculatura de la pared de la faringe. **B.** Microfotografía mostrando la boca. **b.** boca; **e.** epitelio del lumen; **ep.** esfínter posterior; **fce.** fibras circulares externas; **fci.** fibras circulares internas; **fle.** fibras longitudinales externas; **fli.** fibras longitudinales internas; **fr.** fibras radiales; **l.** lumen. Escala 50 μm.

La boca abre en la cavidad faríngea con un cono faríngeo protruyendo ligeramente en ella, más evidente en *T. digitata* y *T. iheringi* que en *T. lamothei* (Figura 20). Inmediatamente por detrás se encuentra el esfínter anterior, con fuertes fibras circulares. Esta primera porción de la faringe está dispuesta en forma casi perpendicular al eje antero-posterior del cuerpo. Entre el esfínter anterior y el posterior se extiende una zona de luz ensanchada, algo plegada, y que se curva cambiando la orientación de la porción posterior de la faringe a antero-posterior. Aquí la pared de la faringe tiene fibras radiales entre las que se dispone el parénquima, con células nerviosas y células glandulares intrafaríngeas. También es evidente en esta porción, la disposición de las fibras musculares de la pared. La musculatura longitudinal interna de ésta se fija a los esfínteres, penetrando entre las fibras circulares (Figura 19-A; Figura 20). A continuación, se encuentra el esfínter posterior, que ocupa al menos la mitad del largo total de la faringe. El epitelio se observa plegado, formando una capa que se tiñe fuertemente a lo largo de toda la faringe (Figura 20).



**Figura 20.** Fotografías tomadas al microscopio óptico de cortes sagitales de especies de *Temnocephala* realizados a nivel de la faringe. Tinción **A** y **B**: tricrómico de Masson; **C**: PAS. **A**. *T. digitata*. **B**. *T. iheringi*. **C**. *T. lamothei*. **b**. boca; **e**. epitelio; **ea**. esfínter anterior. **ep**. esfínter posterior; **fci.** fibras circulares internas; **fli.** fibras longitudinales internas; **fr.** fibras radiales; **g**. células glandulares; **i.** intestino; **l**. lumen. Escala 50  $\mu$ m.



**Figura 21.** Fotografías tomadas al microscopio confocal en sección frontal seriada, mostrando la musculatura (resaltada mediante el uso de faloidina) de la faringe de *Temnocephala iheringi* (**A**, **B**, **C**) y *Dalyellia callvucurai* (**D**, **E**, **F**). **b**, boca; **fr**, fibras radiales; **mr**, músculos retractores; **o**, ojo. Flechas negras: fibras longitudinales internas; flechas blancas: fibras circulares internas. Escala 50 µm. La región anterior se encuentra hacia la izquierda en todas las imágenes.



**Figura 21.** (Continuación). **G**, **H**, **I.** *Temnocephala iheringi*, **J**, **K**, **L.** *Dalyellia callvucurai*. **fr**, fibras radiales; \*, fibras circulares internas. Flechas negras: fibras longitudinales internas; flechas blancas: fibras circulares externas. Escala 50  $\mu$ m. La región anterior se encuentra hacia la izquierda en todas las imágenes.

Las células glandulares se encuentran en la zona de la faringe caracterizada por las fibras radiales, entre los esfínteres. Pudieron reconocerse dos tipos de células glandulares dispuestas entre el parénquima. Uno de núcleo grande y esférico, en las que tanto el núcleo (excepto el nucléolo) como el citoplasma se tiñen pálidamente, de forma que en ocasiones es difícil distinguir este último del parénquima circundante (tipo I). El segundo tipo de célula tiene un núcleo más pequeño y ovalado, y el citoplasma de aspecto granuloso se tiñe intensamente, tanto con tricrómico de Masson como con PAS (tipo II) (Figura 22).

En cuanto a la comparación de las relaciones de medidas entre las diferentes especies (Tablas 16-18), la prueba de Kruskal-Wallis no arrojó diferencias significativas para la longitud de la faringe ni la longitud del esfínter posterior con respecto a la longitud del cuerpo. Se encontraron diferencias significativas en la relación entre el ancho y la longitud del esfínter posterior para *T. lamothei* con respecto de *T. iheringi* y *T. digitata*, con valores de p=0,0010 y p=0,0081 respectivamente.

Las tablas completas de medidas se muestran en el Anexo III.



**Figura 22.** Fotografías tomadas al microscopio óptico mostrando las células glandulares de la faringe (tinción: tricrómico de Masson). **A-B.** Cortes transversales de la faringe de *Temnocephala iheringi*. **C-D.** Cortes sagitales de la faringe de *Temnocephala lamothei*. **E-F.** Cortes transversales de la faringe de *Temnocephala digitata*. Las letras en minúscula indican los acercamientos a cada célula: **a, c, d, f**: células glandulares tipo II; **b, e, g**: células glandulares tipo I.

**Tabla 16.** Medidas tomadas sobre ejemplares de *Temnocephala iheringi* y valores extraídos de la literatura. **1.** Pereira & Cuocolo, 1941: media (rango); **2.** Damborenea, 1992: media (rango); **3.** Damborenea *et al.*, 1997: media (ds); **4.** Seixas *et al.*, 2010: media (rango); **5.** Seixas *et al.*, 2020 - *Marisa planogyra*: media (rango, ds; n); **6.** Seixas *et al.*, 2020 - *Pomacea maculata*: media (rango, ds; n); **7.** Presente trabajo: media (rango, ds; n). \*valores calculados a partir de los datos disponibles en la bibliografía. \*\*valor posteriormente corregido a 4,2 en Seixas *et al.*, 2020.

	1	2	3	4	5	6	7
Longitud del cuerpo sin tentáculos	2,94* (2,4-3,48)	2,53* (1-4,06)	2 (±0,39)	2,43 (1,93-3,19)	1,8 (1,5 -2,33 ±0,29; 9)	1,94 (1,59-2,13 ±0,24; 4)	2,12 (1,38-2,8 ±0,43; 18)
Longitud de la faringe	0,49* (0,38- 0,60)			0,44 (0,36-0,55)	0,35 (0,24-0,44 ±0,08; 9)	0,37 (0,26-0,42 ±0,07; 4)	0,33 (0,21-0,45 ±0,07; 18)
Longitud del esfínter posterior							0,21 (0,15-0,28 ±0,07; 17)
Ancho del esfínter posterior							0,34 (0,25-0,51 ±0,11; 17)
Diámetro de la ventosa	0,595* (0,49- 0,70)	0,5	0,62 (±0,1)	0,70 (0,53-0,98)	0,36 (0,19-0,43 ± 0,08; 9)	0,5 (0,46-0,55 ±0,04; 4)	0,64 (0,51-0,79 ±0,09; 18)
Ancho del pedúnculo de la ventosa							0,27 (0,23-0,32 ±0,05; 4)
Longitud del cuerpo / longitud de la							
faringe	6*			5,52*	5,07*	5,29*	6,36
Longitud del cuerpo / longitud del							
esfínter posterior							10
Longitud de la faringe / longitud del							
esfínter posterior							1,57
Ancho/longitud del esfínter posterior							1,6
Longitud del cuerpo / diámetro de la							
ventosa		5*	3,2	3,5**	5	3,9	3,32

**Tabla 17.** Medidas tomadas sobre ejemplares de *Temnocephala lamothei* en este trabajo y aquellas tomadas de la descripción original. **1.** Damborenea & Brusa, 2008: media (rango; n). **2.** Presente trabajo: media (rango, ds; n). \*valores calculados a partir de los datos disponibles en la bibliografía.

	1	2
Longitud del cuerpo sin tentáculos	2,03 (1,10-2,9; 9)	2,95 (2,06-4,62 ±0,79; 8)
Longitud de la faringe	0,59	0,45 (0,3-0,57 ±0,1; 8)
Longitud del esfínter posterior		0,3 (0,22-0,38 ±0,06; 8)
Ancho del esfínter posterior		0,7 (0,55-0,94 ±0,15; 8)
Diámetro de la ventosa	0,74 (0,75-1,15; 9)	0,94 (0,65-1,22 ±0,22; 8)
Ancho del pedúnculo de la ventosa		0,59 (0,57-0,79 ±0,19; 3)
Longitud del cuerpo / longitud de la faringe	3,44*	6,49
Longitud del cuerpo / longitud del esfínter posterior		9,71
Longitud de la faringe / longitud del esfínter posterior		1,49
Ancho/longitud del esfínter posterior		2,31
Longitud del cuerpo / diámetro de la ventosa	2,74*	3,15

**Tabla 18.** Medidas tomadas sobre ejemplares de *Temnocephala digitata*, y valores extraídos de la literatura. **1.** Monticelli, 1902; **2.** Damborenea, 1992: media (rango, ds; n); **3.** Zivano *et al.*, 2020: media (rango, ds; n); **4.** Presente trabajo: media (rango, ds; n). \*valores calculados a partir de los datos disponibles en la bibliografía. \*\*valor corregido aquí debido a un error tipográfico en el artículo.

	1	2	3	4
		2,26 (1,95-4	2,65 (1,26-3,74	2,72 (2,38-3,24
Longitud del cuerpo sin tentáculos	2-3	±0,82; 179)	±0,56; 83)	±0,4; 4)
				0,4 (0,36-0,45
Longitud de la faringe		0,37	0,41	±0,04; 4)
				0,26 (0,24-0,31
Longitud del esfínter posterior				±0,03; 4)
				0,33 (0,27-0,41
Ancho del esfínter posterior				±0,06; 4)
		0,25 (±0,06;	0,29 (0,20-0,41**	0,3 (0,26-0,32
Diámetro de la ventosa		179)	±0,04; 81)	±0,02; 4)
				0,25 (0,24-0,29
Ancho del pedúnculo de la ventosa				±0,02; 4)
Longitud del cuerpo / longitud de la faringe		6,11*	6,46*	6,82
Longitud del cuerpo / longitud del esfínter posterior				10,3
Longitud de la faringe / longitud del estinter posterior				1,5
Ancho/longitud del esfínter posterior				1,24
Longitud del cuerpo / diámetro de la ventosa		8,96	9,14	9,1

## Dalyelliidae:

La faringe tiene forma de barril, y desemboca directamente en la boca de posición terminal a subterminal. Se pueden observar músculos retractores partiendo desde la zona anterior de la faringe en varias direcciones hacia la pared del cuerpo (Figura 21-E, F). No se distinguen esfínteres y la pared es uniforme a lo largo de toda la faringe. Las fibras radiales son conspicuas a lo largo de toda la longitud de la faringe, dispuestas entre las paredes internas y externas de manera compacta, interrumpidas por las glándulas faríngeas (Figura 21).

## Morfología de la ventosa en Temnocephala spp.

En la ventosa, las fibras de la musculatura longitudinal se extienden desde la poción posterior del cuerpo hacia toda la superficie del disco (Figura 23-A, B; Figura 24). Su disposición se estrecha a la altura del pedúnculo, observándose una concentración de haces musculares en el centro del mismo, en el que algunas de ellas parecen tomar una distribución cruzada (Figura 23-A, E). Las fibras diagonales de la pared se entrecruzan en el pedúnculo formando un entramado (Figura 23-F). Por otra parte, se observan fibras musculares circulares con un fuerte desarrollo en la periferia del pedúnculo (Figura 24). Además, en la superficie del disco se pueden ver fibras dispuestas en círculos concéntricos (Figura 23-C, D).

### CAPÍTULO 3 – ANÁLISIS DE LA MORFOLOGÍA FARÍNGEA Y DE LA VENTOSA DE *TEMNOCEPHALA SPP.*



**Figura 23.** Microfotografías tomadas al microscopio confocal mostrando la musculatura de la ventosa de *Temnocephala iheringi* tratada con faloidina. **A.** Microfotografía mostrando las fibras longitudinales ingresando a la ventosa por el pedúnculo desde la porción posterior del cuerpo. **B.** Vista ventral de la porción posterior del cuerpo mostrando la superficie del disco adhesivo. Se puede ver el gonoporo (**g**). **C-D.** Microfotografías mostrando las fibras circulares de la superficie del disco, así como fibras longitudinales. **E.** Muestra los haces de fibras longitudinales del centro del pedúnculo. **F.** Se muestran las fibras diagonales de la pared del pedúnculo entrecruzadas (\*). Flechas negras: fibras musculares circulares; flechas blancas: fibras musculares longitudinales. Escala 50 μm.



**Figura 24.** Fotografías tomadas al microscopio óptico de cortes histológicos sagitales (**A**, **C**, **E**) y transversales (**B**, **D**, **F**) de especies de *Temnocephala* a nivel de la ventosa. **A-B.** *T. iheringi*; **C-D.** *T. lamothei*; **E-F.** *T. digitata.* Flechas negras: fibras musculares longitudinales; flechas blancas: fibras musculares circulares del pedúnculo. Tinción **A**, **B**, **D**, **E**: Tricrómico de Masson; **C**: PAS; **F**: Hematoxilina & eosina. Escala **A**, **B**, **C**, **E**: 50 μm; **D**: 100 μm, **F**: 20 μm.

Con respecto a la relación longitud del cuerpo / diámetro de la ventosa (Tablas 16-18), se hallaron diferencias significativas para *T. digitata* en comparación con *T. iheringi* y *T. lamothei* con valores de p=0,0075 y p=0,0081 respectivamente.

### <u>Discusión</u>

## Morfología de la faringe

Entre los Rhabdocoela Dalytyphloplanida el tipo de faringe bulbosa *doliiformis* es el predominante. Sin embargo, variaciones en tamaño, disposición de la musculatura, el desarrollo de las glándulas asociadas y la posición en el cuerpo son variables. La faringe de las especies de vida libre, como las pertenecientes a los géneros *Gieysztoria* y *Dalyelliida* (Dalyelliidae) suele tener la forma típica (Rieger *et al.*, 1991), aunque muchas de las características específicas, como el tipo de epitelio, disposición de las fibras, y presencia y disposición de las glándulas faríngeas, no suele detallarse en las descripciones. La musculatura faríngea de las especies de *Gieysztoria* y *Dalyelliida* está fuertemente desarrollada, pero no presenta los esfínteres característicos de las especies de *Temnocephala*. En las especies de este género, la faringe presenta dos esfínteres claramente delimitados.

La longitud de la faringe en especies de vida libre de Dalyelliidae es variable. La relación longitud total del cuerpo / largo de la faringe indica que ésta ocupa entre la mitad y un quinto de la longitud del cuerpo (Van Steenkiste *et al.*, 2011; 2012), siendo mayor que lo encontrado para las especies de *Temnocephala* estudiadas.

Varias especies de Dalytyphloplanida han desarrollado hábitos parásitos. Entre ellas, representantes de las familias Graffillidae, Umagillidae, Provorticidae, Pterastericolidae, entre otras, endoparásitos de invertebrados, presentan una faringe bulbosa doliforme. Detalles morfológicos de la faringe no son incluidos en las descripciones, careciendo de información sobre el epitelio y las células glandulares asociadas para la mayor parte de las especies. Por ejemplo, la faringe de *Paravortex scrobiculariae* (Graff, 1882) carece de glándulas asociadas y la musculatura faríngea, en conjunto con las cilias de la cavidad bucal generan el movimiento del alimento hasta el intestino (Jennings & Phillips, 1978). Se trata de una faringe semejante a la descripta para las especies de *Gieysztoria* y *Dalyelliida*, aunque su tamaño es mucho menor, representando menos de un décimo de la longitud total del cuerpo (Jennings & Phillips, 1978, Jondelius, 1996).

Entre los temnocefálidos, la morfología de la faringe no es frecuentemente considerada como un carácter diagnóstico (Ponce de León & Volonterio, 2018). El conocimiento detallado de su morfología podría brindar no solo nuevos caracteres de importancia taxonómica (Rieger *et al.*, 1991; Ponce de León & Volonterio, 2018), sino también información filogenética y biológica.

En cuanto al aspecto biológico, la morfología de la faringe se considera el resultado de adaptaciones al tipo de alimentación. Por lo general, los temnocefálidos tienen acceso y se alimentan de presas más grandes que sus parientes de vida libre, como pequeños crustáceos, larvas de insectos y otras presas. Una faringe especializada es una ventaja para este tipo de alimentación, que se ve facilitada por su hábito de vida simbiótico (Jennings, 1968; Cannon & Jennings, 1987; Joffe *et al.*, 1997).

La mayor parte de las descripciones morfológicas de la faringe se realizaron para especies de Australia o Nueva Zelanda (Wacke, 1905; Cannon, 1991; Joffe *et al.*, 1997; Joffe & Cannon, 1998; Jennings, 1968; Hickman, 1967). En comparación, existe escasa información detallada de la faringe de especies del género *Temnocephala* en la región Neotropical (Haswell, 1893; Wacke, 1905; Hyman, 1955; Ponce de León & Volonterio, 2018).

La observación morfológica mediante microscopía confocal mostró que la musculatura de la boca se forma a partir de fibras circulares de la pared del cuerpo, coincidiendo con observaciones previas de otros grupos de platelmintos libres (Doe, 1987; Adami *et al.*, 2017).

No se encontraron diferencias en la morfología general de la faringe entre las especies analizadas. Sin embargo, se hallaron diferencias significativas en las dimensiones del esfínter posterior (relación ancho/largo del mismo) entre *Temnocephala lamothei* (con un esfínter más corto y ancho) y *T. iheringi* y *T. digitata* (con un esfínter más elongado). En las tres especies el esfínter anterior es menor que el posterior, y la luz de la faringe se encuentra plegada, lo cual es la disposición más común en el género (Ponce de León & Volonterio, 2018). Seixas *et al.* (2020), hallaron variabilidad intraespecífica en las dimensiones de la faringe de *T. iheringi* asociados a diferentes especies hospedadoras de Brasil. Sin embargo, el presente trabajo tuvo un enfoque comparativo interespecífico. Para poder evaluar la variabilidad faríngea intraespecífica de las diferentes especies, sería necesario llevar a cabo un estudio exhaustivo con un amplio rango de muestreo que represente a todas las especies hospedadoras conocidas.

Con respecto a las células glandulares de la faringe, en el tipo doliforme son de posición intrafaríngea (Rieger et al., 1991). En la literatura se encuentran estudios de la faringe de diferentes especies de la familia utilizando microscopía electrónica de transmisión. Joffe (1997) analizó la faringe de Temnosewellia dendyi y encontró un solo tipo de células glandulares asociadas a la faringe. Describió la secreción como gránulos redondos, electrodensos, rodeados por membrana. En representantes de otros géneros de Temnocephalidae (e.g. Diceratocephala, Didymorchis) encontró dos tipos de glándulas. En Diceratocephala sp., el primer tipo con gránulos de secreción redondeados con una periferia de densidad moderada y centro electrodenso, y el segundo con una periferia electrodensa y un núcleo electrolúcido. En Didymorchis sp. observó secreciones de grandes glóbulos irregulares, oscuros en un tipo de glándula y claros en el otro. Por otra parte, Ponce de León y Volonterio (2018) en su descripción de Temnocephala gargantua, distinguen dos tipos de glándulas faríngeas con el uso de microscopía óptica, una con el citoplasma claro y numerosas extensiones, y el otro con abundantes gránulos oscuros en un citoplasma más denso y menos extensiones. En este estudio se observaron glándulas semejantes a las descriptas por Ponce de León & Volonterio (2018) en las tres especies estudiadas.

### Morfología de la ventosa

Dentro de la familia Temnocephalidae, los diferentes grupos presentan distintas estructuras de fijación. Algunos, como el género *Didymorchis*, presentan sólo superficies adhesivas por secreciones glandulares. Otros, como las especies de la subfamilia Temnocephalinae, han desarrollado una ventosa muscular, cuya acción se ve complementada por secreciones adhesivas (Cannon & Joffe, 1991; Sewell, 2013).

Con respecto a la musculatura de la ventosa, se observaron algunas diferencias en las tres especies de *Temnocephala* estudiadas según su sitio de

fijación en el hospedador. En *Temnocephala digitata,* la disposición de las fibras musculares longitudinales es más compacta en comparación con *Temnocephala iheringi* y *Temnocephala lamothei*. En éstas últimas, la disposición de las fibras longitudinales tiene un aspecto más laxo, con abundante parénquima entre ellas. Además, *T. digitata* mostró una diferencia significativa con respecto a las otras especies en el tamaño de la ventosa en relación al tamaño del cuerpo, siendo la especie conocida con la ventosa más pequeña del género (Zivano *et al.*, 2020). Estas diferencias podrían estar evidenciando una adaptación al modo de vida (asociado a la exocutícula del hospedador). En comparación, *T. iheringi* y *T. lamothei*, al habitar el interior de la cavidad paleal de sus hospedadores (principalmente sobre tejidos blandos), no están expuestas a movimientos bruscos o fuertes corrientes, lo que se ve reflejado en la musculatura más débil en la ventosa.

Los resultados aquí obtenidos indican que, tanto la faringe como la ventosa presentan adaptaciones de acuerdo al hábito de vida. La faringe de las especies de *Temnocephala* estudiadas demuestran adaptaciones que podrían vincularse a la captura de presas de gran tamaño, en comparación con formas de vida libre emparentadas. Esto es posible gracias a que se aprovechan de las corrientes alimenticias o respiratorias generados por el hospedador.

Por otra parte, entre las especies de *Temnocephala* estudiadas, la densidad de fibras del disco adhesivo también presenta relación con el hábito del hospedador y el ambiente en el que el comensal vive sobre este.

#### CONCLUSIONES

- I. En relación con el objetivo específico 1, poner a prueba las hipótesis morfológicas de especies de *Temnocephala* asociadas a moluscos mediante análisis moleculares, se alcanzaron las siguientes conclusiones:
- Se recuperan las especies morfológicas mediante la información molecular obtenida por inferencia filogenética (IB y MV) del gen COI. De este modo, se rechazó la hipótesis planteada de que la identificación molecular de temnocéfalos no es coincidente con la identificación morfológica tradicional.
- Además, en los análisis de inferencia filogenética, se recuperó la monofilia de las especies de temnocéfalos asociadas a moluscos incluidas en el estudio.
- Considerando las distancias genéticas obtenidas, se estableció la distancia mínima entre especies de *Temnocephala* en 15,5 o 17,5% (según distancia *p* o K80 respectivamente). Por otra parte, la distancia intraespecífica se estableció en 6,7 o 7,3% para *Temnocephala iheringi*, y en 4,6 o 4,8% para *Temnocephala lamothei* (según distancia *p* o K80 respectivamente).
- *Temnocephala iheringi* mostró mayor variación genética interna, justificada por su amplio rango de distribución.
- La distancia genética y los resultados obtenidos mediante inferencia filogenética apoyan los estudios previos que sugieren que *Temnocephala chilensis* se trata de más de una especie.
- Mediante mPTP se reconocieron siete linajes de *T. iheringi* principalmente delimitados por localidad, excepto en la provincia de Buenos Aires, donde todos los sitios muestreados formaron parte del mismo linaje.
- Para *Temnocephala lamothei* se reconocieron tres linajes, siendo los ejemplares asociados a *Pomacea megastoma* los más distantes genéticamente, sugiriendo una delimitación de linajes influenciada por la especie hospedadora.
- En cuanto a la variabilidad morfológica de *T. iheringi*, los análisis estadísticos demostraron diferencias significativas en caracteres del estilete peniano entre algunos de los linajes más distantes geográficamente. Es decir, se encontraron diferencias en la longitud total y el ancho basal del estilete entre el linaje proveniente del Embalse Salto Grande y el Balneario Las Palmeritas (L2) y aquél proveniente en su mayoría de la Provincia de Buenos Aires (L7). Además, se

encontraron diferencias significativas con respecto a la longitud del introverto entre los linajes L2 y L4 (proveniente de Ruta Provincial 4, hacia los Charrúas), ambos del norte de la Provincia de Entre Ríos, y el linaje L7 (representativo de la Provincia de Buenos Aires). No se encontraron diferencias en relación con la especie hospedadora.

- Una especie no identificada (*Temnocephala* sp.) asociada a *Pomacea linnaei* se registró en el Río Tapajos, Villa Franca en el estado de Pará (Brasil). Esta especie se reconoció por información molecular pero no pudo ser identificada por la morfología del estilete.
- Se presentan las primeras secuencias de especies del género *Temnocephala* para el gen COI, siendo la primera vez que se obtiene información molecular de la familia Temnocephalidae de la región Neotropical identificada a nivel específico.
- Se amplió el rango de distribución de *T. iheringi* 1500 km al norte del límite actualmente conocido, desde el centro-oeste hasta el norte de Brasil.
- Se registró un nuevo hospedador (*Felipponea neritiniformis*) y tres localidades nuevas para *T. lamothei*, previamente conocida solamente para su localidad y hospedador tipo.
- II. En cuanto al objetivo específico 2, realizar análisis de haplotipos de poblaciones de *Temnocephala* asociadas a moluscos, se concluye que:
- Las especies estudiadas tienen gran diversidad haplotípica, habiéndose reconocido 13 haplotipos a partir de 20 secuencias de *T. lamothei* y 32 haplotipos a partir de 56 secuencias de *T. iheringi*.
- Los grupos que se evidenciaron a partir de las redes de haplotipos coinciden con los linajes delimitados por el análisis de mPTP en ambas especies estudiadas.
- Los siete grupos de haplotipos de *T. iheringi* se separaron por localidad, excepto el grupo representante de la Provincia de Buenos Aires (L7). Este grupo demostró mayor homogeneidad genética, sin diferenciación por localidades ni especies hospedadoras.
- La localidad de Ruta Nacional 14, Km 19, al ser un ambiente temporario, mostró gran variabilidad, con haplotipos únicos asociados a diferentes grupos (L1, L7).
- En el Embalse Salto Grande se encontraron tres haplotipos de los cuales uno fue muy dominante sobre los otros dos, y otro se separó en un grupo aparte.

CONCLUSIONES

- Los grupos de *T. lamothei* se separaron por especie hospedadora y localidad, resultado las agrupaciones más cercanas aquellas entre ejemplares asociados a *F. neritiniformis* y al Arroyo Yabotí Guazú.
- En cuanto al rango geográfico de *T. iheringi* muestreado, no se encontró correlación entre las distancias genéticas y geográficas. Esto puede estar relacionado a la gran variedad de especies hospedadoras a las que puede asociarse, quienes además tienen una gran capacidad de dispersión.
- III. Con respecto al objetivo específico 3, conocer las estructuras asociadas a la alimentación y a la fijación de temnocéfalos asociados a moluscos, se concluye que:
  - La faringe de las especies de Temnocephala estudiados es menor en relación al tamaño del cuerpo que las especies de Dalyelliidae (de vida libre), pero mayor en comparación a los Dalytyphloplanida parásitos.
  - La morfología faríngea no presentó una diferenciación entre las especies asociadas a moluscos y las asociadas a crustáceos.
  - *Temnocephala digitata* (asociada a hospedadores crustáceos) y *T. iheringi* (asociada a hospedadores moluscos) tienen un esfínter faríngeo posterior más largo que *T. lamothei* (asociada a hospedadores moluscos).
  - En las tres especies estudiadas se encontraron los mismos dos tipos de células glandulares intrafaríngeas, semejantes a los tipos encontrados en estudios previos de otras especies. De éstos dos, el tipo I es de núcleo grande y esférico, con citoplasma claro, y el tipo II con núcleo pequeño y ovalado, con citoplasma oscuro y granuloso.
  - En cuanto a la morfología de la ventosa, se encontraron diferencias entre las especies asociadas a moluscos (*T. iheringi* y *T. lamothei*) y *T. digitata* (asociada a crustáceos). La ventosa de ésta última es significativamente más pequeña y su musculatura más densa. En las especies asociadas a moluscos se encontró una ventosa de mayor diámetro y de musculatura más laxa, posiblemente debido a la menor necesidad de una fuerte fijación al hallarse resguardadas dentro de la cavidad paleal de sus hospedadores.

#### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Adell, T. & Riutort, M. (2022). Phylum Plathelminthes. En: Schierwater B. & DeSalle R. *Invertebrate Zoology: a tree of life approach.* CRC Press. 219-230.
- Adami, M. L., Brusa, F., Ronderos, J. R., & Damborenea, C. (2017). Muscular pattern in three species of *Macrostomum* (Platyhelminthes, Macrostomorpha). *Journal of Morphology*, 278(2), 264-282. <u>https://doi.org/10.1002/jmor.20633</u>
- Adami, M. L., Brusa, F., Galliari, F. C., Lachowicz, C., & Damborenea, C. (2018). New insights into the genital musculature of *Macrostomum johni* (Platyhelminthes, Macrostomorpha), revealed with CLSM. *Zoologischer Anzeiger*, *275*, 13-19. https://doi.org/10.1016/j.jcz.2018.04.003
- Amato, J. F. R., Amato, S. B., & Daudt, L. C. C. (2003). New species of *Temnocephala* Blanchard (Platyhelminthes, Temnocephalida) ectosymbiont on *Aegla serrana* Buckup & Rossi (Crustacea, Anomura) from southern Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia, 20*, 493-500. <u>https://doi.org/10.1590/S0101-81752003000300021</u>
- Amato, J. F. R., & Amato, S. B. (2010). Técnicas gerais para coleta e preparação de helmintos endoparasitos de aves. Ornitologia e conservação: ciência aplicada, técnicas de pesquisa e levantamento, 16, 369-393.
- Amato, J. F., Amato, S. B., Seixas, S. A., Vidigal, T. H. D. A., & Andrade, C. P. (2011).
  Trichoptera-the newest insect order host of temnocephalans (Platyhelminthes, Temnocephalida) and the description of a new species of *Temnocephala* from Brazil. *Zootaxa*, 2975(1), 47-58. https://doi.org/10.11646/zootaxa.2975.1.4
- Avise, J. C., Arnold, J., Ball, R. M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J. E., Reeb, C. A., & Saunders, N. C. (1987). Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual review of ecology and systematics*, 18(1), 489-522.
- Avenant-Oldewage, A. (1993). Occurrence of *Temnocephala chaeropsis* on *Cherax tenuimanus* imported into South Africa, and notes on its infestation of an indigenous crab. *South African Journal of Science*, *89*(9), 427-428.
- Blanchard E. (1849). Fauna Chilena (Annulares-Articulados). 51-52. En: Gay, C. Historia Fisica y Politica de Chile - Zoologia. 547pp.

- Brusa, F., Leal-Zanchet, A. M., Noreña, C., & Damborenea, C. (2020). Phylum Platyhelminthes. En: Thorp, J. H., & Rogers, D. C. (2020). *Freshwater Invertebrates*, 101– 120. <u>https://doi.org/10.1016/b978-0-12-804225-0.00005-8</u>
- Bond-Buckup, G., & Buckup, L. (1994). A família Aeglidae (Crustacea, Decapoda, Anomura). *Arquivos de Zoologia*, 32(4), 159-346.
- Cannon, L. R. (1991). Temnocephalan symbionts of the freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* from northern Australia. *Hydrobiologia*, 227(1), 341-347. https://doi.org/10.1007/BF00027620
- Cannon, L. R. G. (1993). New temnocephalans (Platyhelminthes): ectosymbionts of freshwater crabs and shrimps. Memoirs of the Queensland Museum, 33(1), 17-40.
  Cannon, L. R. G., & Joffe, B. I. (2001). The Temnocephalida. En: Littlewood, D. T. J., *The Interrelationships of the Platyhelminthes*. London, 83-91.
- Cannon, L. R. G., & Jennings, J. B. (1987). Occurrence and nutritional relationships of four ectosymbiotes of the freshwater crayfish *Cherax dispar* Riek and *Cherax punctatus* Clark (Crustacea: Decapoda) in Queensland. *Marine and Freshwater Research*, 38(3), 419-427. <u>https://doi.org/10.1071/MF9870419</u>
- Casu, M., Lai, T., Sanna, D., Cossu, P., & Curini-Galletti, M. (2009). An integrative approach to the taxonomy of the pigmented European *Pseudomonocelis* Meixner, 1943 (Platyhelminthes: Proseriata). *Biological Journal of the Linnean Society*, *98*(4), 907-922. <u>https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2009.01316.x</u>
- Casu, M., Sanna, D., Cossu, P., Lai, T., Francalacci, P., & Curini-Galletti, M. (2011). Molecular phylogeography of the microturbellarian *Monocelis lineata* (Platyhelminthes: Proseriata) in the North-East Atlantic. *Biological Journal of the Linnean Society*, 103(1), 117-135. <u>https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2011.01630.x</u>
- Chernomor, O., Von Haeseler, A., & Minh, B. Q. (2016). Terrace aware data structure for phylogenomic inference from supermatrices. *Systematic biology*, *65*(6), 997-1008.
- Chiesa, S., Scalici, M., Lucentini, L., & Marzano, F. N. (2015). Molecular identification of an alien temnocephalan crayfish parasite in Italian freshwaters. *Aquatic Invasions*, *10*(2). https://doi.org/10.3391/ai.2015.10.2.09
- Clement, M., Snell, Q., Walker, P., Posada, D., & Crandall, K. (2002, April). TCS: estimating gene genealogies. In *Parallel and Distributed Processing Symposium, International* (Vol. 3, pp. 0184-0184). IEEE Computer Society.

- Cowie, R., & Thiengo, S. (2003). The apple snails of the Americas (Mollusca: Gastropoda: Ampullariidae: *Asolene, Felipponea, Marisa, Pomacea, Pomella*): a nomenclatural and type catalog. *Malacologia, 45*(1), 41-100.
- Cuthill, H. J. F., Sewell, K. B., Cannon, L. R. G., Charleston, M. A., Lawler, S., Littlewood, D. T. J., Olson, P. D. & Blair, D. (2016). Australian spiny mountain crayfish and their temnocephalan ectosymbionts: an ancient association on the edge of coextinction? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *283*(1831), 20160585. http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2016.0585
- Damborenea, M. C. (1991). *Temnocephala* (Platyhelminthes, Temnocephalidae) de la Argentina: Revisión de caracteres específcos. *Iheringia, Serie Zoologia 71*: 111–120. https://archive.org/details/biostor-80236
- Damborenea, M. C. (1992). Especies de *Temnocephala* (Platyhelminthes, Temnocephalidae) de crustáceos y moluscos de la Argentina. *Iheringia, Série Zoologia, 72*, 3-21.
- Damborenea, M. C. (1996). Patrones de distribución y abundancia de *Temnocephala iheringi* (Platyhelminthes, Temnocephalidae) en una población de *Pomacea canaliculata* (Mollusca Ampullariidae). *Gayana, Zoología, 60*(1), 1-12.
- Damborenea, M. C. (1998). Distribution patterns of temnocephalids commensal with Crustacea and Mollusca from Argentina. *Hydrobiologia*, *383*(1), 269-274. <u>https://doi.org/10.1023/A:1003430131129</u>
- Damborenea, C., & Brusa, F. (2008). Una especie nueva de *Temnocephala* (Platyhelminthes, Temnocephalida) comensal de *Pomella megastoma* (Mollusca, Ampullariidae) de Misiones, Argentina. *Revista mexicana de biodiversidad, 79*, 1-7.
- Damborenea, C. & Brusa, F. (2017). Capítulo 3: Turbelarios simbiontes. 36-41 En: Drago F. (coordinadora). *Macroparásitos: Diversidad y Biología*. Universidad Nacional de La Plata. ISBN 978-950-34-1521-4. 188pp. <u>https://doi.org/10.35537/10915/62010</u>
- Damborenea, M. C., & Cannon, L. R. (2001)a. On neotropical *Temnocephala* (platyhelminthes). *Journal of Natural History*, *35*(8), 1103-1118. https://doi.org/10.1080/00222930152434454
- Damborenea, M. C., & Cannon, L. R. (2001)b. The mosaic of the epidermal syncytia in *Didymorchis* sp. (Didymorchidae, Temnocephalida) from South America. *Belgian Journal of Zoology*, *131*, 167-171.

- Damborenea, C., Brusa, F., & Noreña, C. (2005). New species of Gieysztoria (Platyhelminthes, Rhabdocoela) from Peruvian Amazon floodplain with description of their stylet ultrastructure. *Zoological science*, 22(12), 1319-1329. <u>https://doi.org/10.2108/zsj.22.1319</u>
- Damborenea, C., Brusa, F., & Paola, A. (2006). Variation in worm assemblages associated with *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda, Ampullariidae) in sites near the Río de la Plata estuary, Argentina. *Biocell*, *30*(3), 457-468.
- Damborenea, C., Brusa, F., & Noreña, C. (2007). New Dalyelliidae (Platyhelminthes, Rhabditophora) from Buenos Aires Province, Argentina, and their stylet ultrastructure. *Zoological Science*, 24(8), 803-810. <u>https://doi.org/10.2108/zsj.24.803</u>
- de Castellanos, Z., & Fernández, D. (1976). Mollusca Gasteropoda Ampullariidae. En: Ringuelet, R. A., Fauna de agua dulce de la República Argentina. Buenos Aires, Fundación para la Educación, Ciencia y la Cultura. XV:1
- De Grave, S., & Ashelby, C. W. (2013). A re-appraisal of the systematic status of selected genera in Palaemoninae (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae). *Zootaxa*, *3734*(3), 331-344.
- De Los Rios-Escalante, P., Salgado, I., Rauque, C., & Gonzalez, N. (2014). Modelo probabilistico para comprender la presencia de *Temnocephala chilensis* (Moquin-Tandom 1846) (Platyhelminthes: Temnocephalidae) en una población adulta de *Parastacus pugnax* (Poeppig 1835) (Decapoda: Parastacidae) en el sur de Chile. *Gayana* (*Concepción*), 78(2), 81-84. http://dx.doi.org/10.4067/S0717-65382014000200001
- Di Persia, D. H., & Radici de Cura, M. S. (1973). Algunas consideraciones acerca de los organismos epibiontes desarrollados sobre Ampullariidae. *Physis B*, *32*(85), 309-319.
- Doe, D. A. (1981). Comparative ultrastructure of the pharynx simplex in Turbellaria. *Zoomorphology*, *97*(1), 133-193. <u>https://doi.org/10.1007/BF00310107</u>
- Dols-Serrate, D., Leria, L., Aguilar, J. P., Stocchino, G. A., & Riutort, M. (2020). *Dugesia hepta* and *Dugesia benazzii* (Platyhelminthes: Tricladida): two sympatric species with occasional sex? *Organisms Diversity & Evolution*, *20*(3), 369-386. <u>https://doi.org/10.1007/s13127-020-00438-z</u>
- Egger, B., Lapraz, F., Tomiczek, B., Müller, S., Dessimoz, C., Girstmair, J., Škunca, N., Rawlinson, K. A., Cameron, C. B., Beli, E., Todaro, M. A., Gammoudi, M., Noreña, C., & Telford, M. J. (2015). A transcriptomic-phylogenomic analysis of the evolutionary

relationships of flatworms. *Current Biology*, *25*(10), 1347-1353. https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.03.034

- Ehlers, U. (1985). Das Phylogenetische System der Plathelminthes. Gustav Fischer, Stuttgart, New York, 317 p.
- Felsenstein, J. (1981). Evolutionary trees from DNA sequences: A maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*, *17*(6), 368-376.
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, *39*(4), 783-791.
- Flecher, L., & Ponce de León, R. (1983). Observaciones acerca de la regeneracion en Temnocephala iheringi Haswell, 1893, (Platyhelminthes, Turbellaria). Boletín de la Sociedad Zoológica del Uruguay, 1, 67-72.
- Fontaneto, D., Flot, J. F., & Tang, C. Q. (2015). Guidelines for DNA taxonomy, with a focus on the meiofauna. *Marine Biodiversity*, *45*(3), 433-451. <u>https://doi.org/10.1007/s12526-</u> 015-0319-7
- Fyfe, M. L. (1942). The anatomy and systematic position of *Temnocephala novae-zealandiae* Haswell. *Royal Society of New Zealand*.
- Garcés, A. C., Puerta, L., Tabares, Y., Lenis, C., & Velásquez, L. E. (2013). *Temnocephala colombiensis* n. sp. (Platyhelminthes: Temnocephalidae) from Antioquia, Colombia. *Revista mexicana de biodiversidad*, *84*(4), 1090-1099. https://doi.org/10.7550/rmb.30259
- Giribet, G., & Edgecombe, G. D. (2020). *The invertebrate tree of life*. Princeton University Press. 589pp.
- Guindon, S., Dufayard, J. F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., & Gascuel, O. (2010). New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic biology*, *59*(3), 307-321.
- Gutierre, S. M., Darby, P. C., Valentine-Darby, P. L., Mellow, D. J., Therrien, M., & Watford, M. (2019). Contrasting Patterns of *Pomacea maculata* Establishment and Dispersal in an Everglades Wetland Unit and a Central Florida Lake. *Diversity*, *11*(10), 183. https://doi.org/10.3390/d11100183
- Hall, T. A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp. Ser. 41*, 95-98.

- Hammer, Ø., Harper, D. A. T., & Ryan, P. D. (2001). PAST-Palaeontological statistics.*Palaeontologia electronica*, 4(1), 1-9.
- Haswell, W. A. (1893). A monograph of the Temnocephaleae. Proceedings of the Linnean Society of New South Wales. The Macleay Memorial Volume, 93-152.
- Haswell, W. A. (1900). On *Didymorchis*, a Rhabdocoele Turbellarian inhabiting the branchial cavities of New Zealand Crayfishes. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales*. Sydney 1900, 424-429.
- Hayes, K. A., Cowie, R. H., Thiengo, S. C., & Strong, E. E. (2012). Comparing apples with apples: clarifying the identities of two highly invasive Neotropical Ampullariidae (Caenogastropoda). *Zoological Journal of the Linnean Society*, *166*(4), 723-753.
- Hebert, P. D., & Gregory, T. R. (2005). The promise of DNA barcoding for taxonomy. *Systematic biology*, *54*(5), 852-859.
- Hickman, V. V. (1967). Tasmanian temnocephalidea. *Papers and Proceedings of the Royal Society of Tasmania*, 101, 227-252.
- Hoang, D. T., Chernomor, O., Von Haeseler, A., Minh, B. Q., & Vinh, L. S. (2018). UFBoot2: improving the ultrafast bootstrap approximation. *Molecular biology and evolution*, *35*(2), 518-522.
- Huelsenbeck, J. P., Larget, B., Miller, R. E., & Ronquist, F. (2002). Potential applications and pitfalls of Bayesian inference of phylogeny. *Systematic biology*, *51*(5), 673-688.
- Hyman, L. H. (1951). *Platyhelminthes and Rhynchocoela, the acoelomate Bilateria*. En: *The invertebrates* II: 52.
- Hyman, L. H. (1955). Miscellaneous marine and terrestrial flatworms from South America. *American Museum novitates*, *1742*, 1-33.
- Inoue, K., Pohl, A. L., Sei, M., Lang, B. K., & Berg, D. J. (2020). Use of species delimitation approaches to assess biodiversity in freshwater planaria (Platyhelminthes, Tricladida) from desert springs. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 30(2), 209-218. <u>https://doi.org/10.1002/aqc.3273</u>
- Iomini, C., Ferraguti, M., & Justine, J. L. (1999). Ultrastructure of glands in a scutariellid (Platyhelminthes) and possible phylogenetic implications. *Folia Parasitologica*, *46*(3), 199-203.

- Jennings, J. B. (1968). Feeding, digestion and food storage in two species of temnocephalid flatworms (Turbellaria: Rhabdocoela). *Journal of Zoology*, *156*(1), 1-8.
- Jennings, J. B. (1997). Nutritional and respiratory pathways to parasitism exemplified in the Turbellaria. *International Journal for Parasitology*, *27*(6), 679-691. https://doi.org/10.1016/S0020-7519(97)00010-6
- Jennings, J. B. (1980). Nutrition in symbiotic Turbellaria. En: Smith, D. C. & Tiffon,
  Y. Nutrition in the Lower Metazoa, Pergamon, 45-56. <u>https://doi.org/10.1016/B978-0-08-025904-8.50007-9</u>
- Jennings, J. B., & Phillips, J. I. (1978). Feeding and digestion in three entosymbiotic graffillid rhabdocoels from bivalve and gastropod molluscs. *The Biological Bulletin*, *155*(3), 542-562.
- Joffe, B. I., Solovei, I. V., Watson, N. A., & Cannon, L. R. (1997). Structure and evolution of the pharynx in the Temnocephalida (Platyhelminthes). *Canadian journal of zoology*, *75*(2), 205-226. <u>https://doi.org/10.1139/z97-028</u>
- Joffe, B. I., Cannon, L. R. G., & Schockaert, E. R. (1998). On the phylogeny of families and genera within the Temnocephalida. *Hydrobiologia*, *383*(1), 263-268. https://doi.org/10.1023/A:1003438321560
- Jondelius, U. (1996). Three echinoderm inhabiting flatworms (Platyhelminthes, Rhabdocoela) from Western Australia. *Belgian Journal of Zoology*, *126*, 37-48.
- Kalyaanamoorthy, S., Minh, B. Q., Wong, T. K., Von Haeseler, A., & Jermiin, L. S. (2017).
  ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature methods*, 14(6), 587-589.
- Katoh, K., Rozewicki, J., & Yamada, K. D. (2019). MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in bioinformatics*, 20(4), 1160-1166. <u>https://doi.org/10.1093/bib/bbx108</u>
- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of molecular evolution*, 16(2), 111-120.
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., & Tamura K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547-1549.

- Kuraku, S., Zmasek, C. M., Nishimura, O., & Katoh, K. (2013). aLeaves facilitates on-demand exploration of metazoan gene family trees on MAFFT sequence alignment server with enhanced interactivity. *Nucleic acids research*, *41*(W1), W22-W28. <u>https://doi.org/10.1093/nar/gkt389</u>
- Lago-Barcia, D., Fernández-Álvarez, F. Á., Brusa, F., Rojo, I., Damborenea, C., Negrete, L., Grande, C., & Noreña, C. (2018). Reconstructing routes of invasion of Obama nungara (Platyhelminthes: Tricladida) in the Iberian Peninsula. *Biological Invasions*, 21(2), 289-302. <a href="https://doi.org/10.1007/s10530-018-1834-9">https://doi.org/10.1007/s10530-018-1834-9</a>
- Lamarck, J.-B. M. de. (1822). *Histoire naturelle des animaux sans vertèbres. Tome sixième, 2me partie.* Paris. 232p.
- Lanfear, R., Calcott, B., Ho, S. Y., & Guindon, S. (2012). PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. *Molecular biology and evolution*, *29*(6), 1695-1701.
- Lanfear, R., Frandsen, P. B., Wright, A. M., Senfeld, T., & Calcott, B. (2017). PartitionFinder
  2: new methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses. *Molecular biology and evolution*, 34(3), 772-773. https://dx.doi.org/10.1093/molbev/msw260
- Laumer, C. E., & Giribet, G. (2014). Inclusive taxon sampling suggests a single, stepwise origin of ectolecithality in Platyhelminthes. *Biological journal of the Linnean Society*, *111*(3), 570-588.
- Laumer, C. E., Hejnol, A., & Giribet, G. (2015). Nuclear genomic signals of the 'microturbellarian' roots of platyhelminth evolutionary innovation. *eLife*, *4*, e05503. https://doi.org/10.7554/eLife.05503.002
- Lázaro, E. M., Harrath, A. H., Stocchino, G. A., Pala, M., Baguñà, J., & Riutort, M. (2011). Schmidtea mediterranea phylogeography: an old species surviving on a few Mediterranean islands? BMC evolutionary biology, 11(1), 1-15. https://doi.org/10.1186/1471-2148-11-274
- Leach, W.E. (1820). Galatéadées, Galateadæ. (Crust.). En: Cuvier, F., Dictionnaire des Sciences Naturelles, dans lequel on trait Méthodiquement des Différens étres de la Nature, considérés soit en eux-mêmes, d'après l'état actuel de nos connoissances, soit relativement a l'utilité qu'en peuvent retirer la Médecine, l'Agriculture, le Commerce et les Arts. Suivi d'une biographie des plus Célèbres Naturalistes. Ouvrage destiné aux médecins, aux agriculteurs, aux commerçans, aux artistes, aux manufacturiers, et à tous

ceux qui ont intérêt à connoître les productions de la nature, leurs caractères génériques et spécifi ques, leur lieu natal, leurs propiétés et leurs usages.. F. G. Levrault et Le Normant, Strasbourg et Paris. *18*, 49–56.

Legendre, P., & Legendre, L. (2012). Numerical ecology. Elsevier.

- Lenguas Francavilla, M., Negrete, L., Martínez-Aquino, A., Damborenea, C., & Brusa, F. (2021). Two new freshwater planarian species (Platyhelminthes: Tricladida: Dugesiidae) partially sympatric in Argentinean Patagonia. *Canadian Journal of Zoology*, 99(4), 269-278. <u>https://doi.org/10.1139/cjz-2020-0169</u>
- Lenis, C., Ruiz, F., Muskus, C., Marcilla, A., & Vélez, I. (2020). A new flatworm species of *Temnocephala* (Rhabdocoela, Temnocephalidae) ectosymbiont on the freshwater crab *Valdivia serrata* (Decapoda, Trichodactylidae) from Amazonas, Colombia. *ZooKeys*, *918*, 1.
- Littlewood, D. T. J., & Bray, R. A. (Eds.). (2000). *Interrelationships of the Platyhelminthes*. CRC Press.
- Littlewood, D. T. J., Rohde, K., & Clough, K. A. (1999)a. The interrelationships of all major groups of Platyhelminthes: phylogenetic evidence from morphology and molecules. *Biological Journal of the Linnean Society*, *66*(1), 75-114.
- Littlewood, D. T. J., Rohde, K., Bray, R. A., & Herniou, E. A. (1999)b. Phylogeny of the Platyhelminthes and the evolution of parasitism. *Biological Journal of the Linnean Society*, 68(1-2), 257-287.
- Litvaitis, M. K., & Rohde, K. (1999). A molecular test of platyhelminth phylogeny: inferences from partial 28S rDNA sequences. *Invertebrate Biology*, 42-56.
- Locke, S. A., Daniel McLaughlin, J., & Marcogliese, D. J. (2010). DNA barcodes show cryptic diversity and a potential physiological basis for host specificity among Diplostomoidea (Platyhelminthes: Digenea) parasitizing freshwater fishes in the St. Lawrence River, Canada. *Molecular Ecology*, 19(13), 2813-2827.
- Locquin, M., & Langeron, M. (1983). Handbook of microscopy. Butterworths.
- Locke, S. A., Al-Nasiri, F. S., Caffara, M., Drago, F., Kalbe, M., Lapierre, A. R., McLaughlin, J. D., Nie, P., Overstreet, R. M., Souza, G. T. R., Takemoto, R. M., & Marcogliese, D. J. (2015). Diversity, specificity and speciation in larval Diplostomidae (Platyhelminthes: Digenea) in the eyes of freshwater fish, as revealed by DNA barcodes. *International Journal for Parasitology*, 45(13), 841-855. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2015.07.001

- Lowe, S., Browne, M., Boudjelas, S., & De Poorter, M. (2000). 100 of the world's worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database (Vol. 12). Auckland: Invasive Species Specialist Group.
- Ložek, F., Patoka, J., & Bláha, M. (2021). Another hitchhiker exposed: *Diceratocephala boschmai* (Platyhelminthes: Temnocephalida) found associated with ornamental crayfish Cherax spp. Knowledge & Management of Aquatic Ecosystems, (422), 25. https://doi.org/10.1051/kmae/2021023
- Mantel, N. (1967). The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer research*, *27* (2-1), 209-220.
- Marlétaz, F., Peijnenburg, K. T., Goto, T., Satoh, N., & Rokhsar, D. S. (2019). A new spiralian phylogeny places the enigmatic arrow worms among gnathiferans. *Current Biology*, *29*(2), 312-318. <u>https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.11.042</u>
- Martín, P. R., Estebenet, A. L., & Burela, S. (2005). Factors affecting the distribution and abundance of the commensal *Temnocephala iheringi* (Platyhelminthes: Temnocephalidae) among the southernmost populations of the apple snail *Pomacea canaliculata* (Mollusca: Ampullariidae). *Hydrobiologia*, *545*(1), 45-53. https://doi.org/10.1007/s10750-005-1825-6
- Maton, W. G. (1811). XIII. Description of Seven new Species of Testacea. *Transactions of the Linnean Society of London*, (2), 325-332.
- Minh, B. Q., Nguyen, M. A. T., & von Haeseler, A. (2013). Ultrafast approximation for phylogenetic bootstrap. *Molecular biology and evolution*, *30*(5), 1188-1195.
- MolluscaBase eds. (2022). MolluscaBase. Accessed at <u>https://www.molluscabase.org</u> on 2022-05-13. <u>https://doi.org/10.14284/448</u>
- Monroe, R. (1977). A New Species of *Euastacus* (Decapoda: Parastacidae) from North Queensland. *Memoirs of the Queensland Museum, 18,* 65-67.
- Monticelli, F.S. (1902). *Temnocephala digitata* n. sp. *Bollettino della Società dei naturalisti in Napoli*, C.R. desSeances 16, 390.
- Moquin-Tandon, A. (1846). *Monographie de la famille des Hirudinces*. 1- 448 + atlas. Bailliere, Paris.
- Moretto, H. J. (2001). The resorptive vesicle of *Temnocephala jheringi* (Temnocephalida). *Belgian Journal of Zoology*, *131*(1), 179-182.

- Moretto, H. J. A., & Durquet, J. (1977). El sistema reproductor en *Temnocephala jheringi* Haswell, 1893 (Temnocephaloidea), epibionte de *Pomacea canaliculata* (Scott, 1957) (Mollusca). *Physis*, 37(93), 75-88.
- Moszczynska, A., Locke, S. A., McLaughlin, J. D., Marcogliese, D. J., & Crease, T. J. (2009). Development of primers for the mitochondrial cytochrome c oxidase I gene in digenetic trematodes (Platyhelminthes) illustrates the challenge of barcoding parasitic helminths. *Molecular Ecology Resources*, *9*, 75-82.
- Nei, M., & Kumar, S. (2000). *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford university press.
- Nguyen, L. T., Schmidt, H. A., Von Haeseler, A., & Minh, B. Q. (2015). IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Molecular biology and evolution*, *32*(1), 268-274.
- Nobili, G., & Silvestri, F. (1901). Decapodi raccolti dal Dr. Filippo Silvestri nell'America meridionale. Accame. Bollettino dei musei di zoologia ed anatomia comparata della R. Università di Torino 16 (402), 1-16.
- Noreña Janssen, C., Damborenea, C., & Brusa, F. (2015). Chapter 10: Phylum Platyhelminthes. 181-203. En: J. H. Thorp & Covich (eds.). *Freshwater Invertebrates, Volume I: Ecology and General Biology*. Fourth Edition. Elsevier. ISBN 9780123850263. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385026-3.00010-3
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., Minchin, P. R., O'Hara, R. B., Simpson, G. L., Solymos, P., Stevens, M. H. H., Szoecs, E., & Wagner, H. (2020). vegan: Community Ecology Package. R package version 2.5-7. <u>https://CRAN.R-project.org/package=vegan</u>
- Palumbi, S. R. (1996). Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. *Molecular systematics*, 205-247.
- Perry, G., Busby, T. L., & Mathews, G. M. (1811). Arcana, or, The museum of natural history: containing the most recent discovered objects: embellished with coloured plates, and corresponding descriptions: with extracts relating to animals, and remarks of celebrated travellers; combining a general survey of nature. George Smeeton, London. 7-100.
- Philippi, R. A. (1851-1852). Die Gattung Ampullaria. In Abbildungen nach der Natur mit Beschreibungen. En: Schuberth, G. H.; Wagner, J. A., Eds. Systematisches Conchylien-Cabinet von Martini und Chemnitz. Neu herausgegeben und vervollständigt. Ersten Bandes zwanzigste Abtheilung. 1-74
- Pierre, S. M., Quintana-Ascencio, P. F., Boughton, E. H., & Jenkins, D. G. (2017). Dispersal and local environment affect the spread of an invasive apple snail (*Pomacea maculata*) in Florida, USA. *Biological Invasions*, 19(9), 2647-2661. <u>https://doi.org/10.1007/s10530-017-1474-5</u>
- Ponce de León, R. (1979). Espécies americanas de Temnocephalidea Benham (Platyhelmintha), I. Descripcion de *Temnocephala rochensis* n. sp. de la camara paleal de *Pomacea canaliculata* (Lamarck). *Revista de Biología del Uruguay*, *7*(1), 39-48.
- Ponce de León, R. (1988). Karyotypes of two species of *Temnocephala* (Platyhelminthes). *Fortschritte der Zoologie*, *36*, 145-149.
- Ponce de León, R. (1989). Description of *Temnocephala haswelli* n. sp.(Platyhelminthes) from the mantle cavity of *Pomacea canaliculata* (Lamarck). *The Journal of parasitology*, 524-526. <u>https://doi.org/10.2307/3282900</u>
- Ponce de León, R., & Volonterio, O. (2003). First description of collar receptors in Temnocephalidae (Platyhelminthes). *Acta Zoologica*, *84*(2), 155-160. <u>https://doi.org/10.1046/j.1463-6395.2003.00141.x</u>
- Ponce de León, R. & Volonterio, O. (2018). A new species of *Temnocephala* (Platyhelminthes) with an unusual pharynx, including an amendment of the diagnosis of the genus. *Zootaxa*, *4378*(3), 323-336. <u>https://doi.org/10.11646/zootaxa.4378.3.2</u>
- Posada, D. (2003). Selecting models of evolution, 345-361. En: Lemey, P., Salemi, M., & Vandamme, A. M. (2009). The Phylogenetic Handbook: A Practical Approach to Phylogenetic Analysis and Hypothesis Testing, 2nd Edition. Cambridge University Press, Cambridge, 723 pp.
- R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <u>https://www.R-project.org/</u>.
- Rader, R. B., Unmack, P. J., Christensen, W. F., & Jiang, X. (2019). Connectivity of two species with contrasting dispersal abilities: a test of the isolated tributary hypothesis. *Freshwater Science*, 38(1), 142-155. <u>https://doi.org/10.1086/701671</u>
- Rannala, B., & Yang, Z. (2020). Species delimitation. *Phylogenetics in the Genomic Era*, No commercial publisher, 5.5:1–5.5:18. <u>https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02536468</u>
- Ringuelet, R. A., (1949). Camarones y cangrejos de la zona de Goya (Sergestidae Palaemonidae y Trichodactylinae). *Notas Mus. La Plata. Univ. Nac. La Plata, 14* (119), 79-109.

- Rieger, M. R., Tyler, S., Smith, J. P. S., Rieger, G. E., Harrison, F. W., & Bogitsh, B. J. (1991). *Microscopic anatomy of invertebrates. Platyhelminthes and Nemertinea*, *3*, 7-140.
- Riesgo, A., Burke, E. A., Laumer, C., & Giribet, G. (2017). Genetic variation and geographic differentiation in the marine triclad *Bdelloura candida* (Platyhelminthes, Tricladida, Maricola), ectocommensal on the American horseshoe crab *Limulus polyphemus*. *Marine biology*, 164(5), 1-14. <u>https://doi.org/10.1007/s00227-017-3132-y</u>
- Rohde, K., Hefford, C., Ellis, J. T., Baverstock, P. R., Johnson, A. M., Watson, N. A., & Dittmann, S. (1993). Contributions to the phylogeny of Platyhelminthes based on partial sequencing of 18S ribosomal DNA. *International Journal for Parasitology*, 23(6), 705-724.
- Ronquist, F., van der Mark, P., & Huelsenbeck, J. P. (2009). Bayesian phylogenetic analysis using MrBayes, 210-266. En: Lemey, P., Salemi, M., & Vandamme, A. M. (2009). The Phylogenetic Handbook: A Practical Approach to Phylogenetic Analysis and Hypothesis Testing, 2nd Edition. Cambridge University Press, Cambridge, 723 pp.
- Ronquist, F., Teslenko, M., van der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A., & Huelsenbeck, J. P. (2012). MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model selection across a large model space. *Systematic biology*, 61(3), 539-542.
- Ronquist, F., Huelsenbeck, J. P., Teslenko, M., Zhang, C., & Nylander, J. A. A. (2020). MrBayes version 3.2 manual: tutorials and model summaries. Distributed with the software from <u>https://github.com/NBISweden/MrBayes</u>
- Ruebush, T. K., & Hayes, W. J. (1939). The genus *Dalyellia* in America II. A new form from Tennessee and a discussion of the relationships within the genus. *Zoologischer Anzeiger*, 128, 136-152.
- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular biology and evolution*, *4*(4), 406-425.
- Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the national academy of sciences*, *74*(12), 5463-5467.
- Schmidt, H. A., & von Haeseler, A. (2009). Phylogenetic inference using maximum likelihood methods, 181-209. En: Lemey, P., Salemi, M., & Vandamme, A. M. (2009). The Phylogenetic Handbook: A Practical Approach to Phylogenetic Analysis and Hypothesis Testing, 2nd Edition. Cambridge University Press, Cambridge, 723 pp.

- Seixas, S. A., Amato, J. F., & Amato, S. B. (2010)a. Redescription of *Temnocephala iheringi* (Platyhelminthes: Temnocephalida) based on specimens from *Pomacea canaliculata* (Mollusca: Ampullariidae) of the state of Rio Grande do Sul, Brazil: the possible type host and type locality. *Zoologia (Curitiba)*, 27(2), 245-257. <u>https://doi.org/10.1590/S1984-46702010000200012</u>
- Seixas, S. A., Amato, J. F., & Amato, S. B. (2010)b. First report of *Temnocephala haswelli* (Platyhelminthes: Temnocephalida) in *Pomacea canaliculata* (Mollusca: Ampullariidae) from Brazil: description update based on specimens from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Zoologia (Curitiba)*, 27(3), 455-464. <u>https://doi.org/10.1590/S1984-</u> <u>46702010000300020</u>
- Seixas, S. A., Amato, J. F., & Amato, S. B. (2010)c. First report of *Temnocephala rochensis* (Platyhelminthes: Temnocephalida) from *Pomacea canaliculata* (Mollusca: Ampullariidae) outside Uruguay: description update based on specimens from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Zoologia (Curitiba)*, 27(5), 820-828. https://doi.org/10.1590/S1984-46702010000500019
- Seixas, S. A., Amato, J. F. R., Amato, S. B. (2011) A new species of *Temnocephala* Blanchard (Platyhelminthes, Temnocephalida) ectosymbiont on *Dilocarcinus septemdentatus* (Decapoda, Trichodactylidae) from the Brazilian Amazonia. *Neotropical Helminthology*, 5(2), 201–212. <u>https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3889454</u>
- Seixas, S. A., Amato, J. F., & Amato, S. B. (2015)a. A new species of *Temnocephala* Blanchard (Platyhelminthes, Temnocephalida) ectosymbiont of *Kempnyia reticulata* (Klapálek) (Insecta, Plecoptera) immatures from Brazil. Neotropical Helminthology, 9(2), 277-284.
- Seixas, S. A., Amato, J. F., & Amato, S. B. (2015)b. A new species of *Temnocephala* (Platyhelminthes, Temnocephalida) ectosymbiont on *Neritina zebra* (Mollusca, Neritidae) from the Brazilian Amazonia. Neotropical Helminthology, 9(1), 41-53.
- Seixas, S. A., Amato, J. F., & Amato, S. B. (2015)c. The epidermal 'excretory' syncytial plates in species of *Temnocephala* (Platyhelminthes, Temnocephalida): Proposal of a new methodology. Revista Brasileira de Biociências, 13(4).
- Seixas, S. A., Dametto, N., & Périco, E. (2018). New species of *Temnocephala* (Platyhelminthes, Temnocephalida) ectosymbiont on vulnerable species of aeglids (Crustacea, Anomura) from the Neotropical Region. *Biota Neotropica*, 18(4). <u>https://doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2017-0475</u>

- Seixas, S. A., Amato, S. B., & Amato, J. F. (2020). Temnocephalan epibionts (Platyhelminthes, Temnocephalida) on mollusks from Pantanal wetland, Brazil. *Zootaxa*, 4858(3), zootaxa-4858. <u>https://doi.org/10.11646/zootaxa.4858.3.2</u>
- Sewell, K. B. (2013). Key to the genera and checklist of species of Australian temnocephalans (Temnocephalida). *Museum Victoria Science Reports*, *17*, 1-13.
- Sewell, K. B., & Whittington, I. D. (1995). A light microscope study of the attachment organs and their role in locomotion of *Craspedella* sp. (Platyhelminthes: Rhabdocoela: Temnocephalidae), an ectosymbiont from the branchial chamber of *Cherax quadricarinatus* (Crustacea: Parastacidae) in Queensland, Australia. Journal of natural history, 29(5), 1121-1141. https://doi.org/10.1080/00222939500770471
- Sewell, K. B., Cannon, L. R., & Blair, D. (2006). A review of *Temnohaswellia* and *Temnosewellia* (Platyhelminthes: Temnocephalida: Temnocephalidae), ectosymbionts from Australian crayfish *Euastacus* (Parastacidae). *Memoirs of the Queensland Museum*, 52, 199-279.
- Sibraa, L., Barton, D., & Shamsi, S. (2021). Occurrence of Temnocephalidae flatworms in Australia. *Journal of Natural History*, *55*(45-46), 2879-2907. <u>https://doi.org/10.1080/00222933.2022.2033869</u>
- Silva, G. G., Green, A. J., Stenert, C., & Maltchik, L. (2021). Invertebrate dispersal by waterbird species in neotropical wetlands. *Brazilian Journal of Biology, 84*. https://doi.org/10.1590/1519-6984.250280
- Sokal, R. R. & Rohlf, F. J. (1995). *Biometry, the principles and practice of statistics in biological research*. 3rd Edition., Nueva York: Freeman.
- Sowerby, G. B. (1825). A catalogue of the shells contained in the collection of the late Earl of Tankerville: arranged according to the Lamarckian conchological system; together with an appendix containing descriptions of many new species. EJ Stirling. London, vii + 92 + xxxiv pp.
- Strimmer, K., von Haeseler, A., & Salemi, M. (2009). Genetic distances and nucleotide substitution models, 111-141. En: Lemey, P., Salemi, M., & Vandamme, A. M. (2009). The Phylogenetic Handbook: A Practical Approach to Phylogenetic Analysis and Hypothesis Testing, 2nd Edition. Cambridge University Press, Cambridge, 723 pp.
- Studier, J. A., & Keppler, K. J. (1988). A note on the neighbor-joining algorithm of Saitou and Nei. *Molecular biology and evolution*, *5*(6), 729-731.

- Suvarna, K. S., Layton, C., & Bancroft, J. D. (2018). *Bancroft's theory and practice of histological techniques E-Book*. Elsevier health sciences.
- Tavakol, S., Luus-Powell, W. J., Smit, W. J., Baker, C., Hoffman, A., & Halajian, A. (2016). First introduction of two Australian temnocephalan species into Africa with an alien host: double trouble. *Journal of Parasitology*, *102*(6), 653-658. <u>https://doi.org/10.1645/15-936</u>
- Tavaré, S. (1986). Some probabilistic and statistical problems in the analysis of DNA sequences. *Lectures on mathematics in the life sciences*, *17*(2), 57-86.
- Telford, M. J., Herniou, E. A., Russell, R. B., & Littlewood, D. T. J. (2000). Changes in mitochondrial genetic codes as phylogenetic characters: two examples from the flatworms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *97*(21), 11359-11364.
- Tsuyuki, A., Oya, Y., & Kajihara, H. (2019). A new species of *Prosthiostomum* (Platyhelminthes: Polycladida) from Shirahama, Japan. *Species Diversity*, 24(2), 137-143. <u>https://doi.org/10.12782/specdiv.24.137</u>
- Tyler, S., & Hooge, M. (2004). Comparative morphology of the body wall in flatworms (Platyhelminthes). *Canadian Journal of Zoology*, *82*(2), 194-210. https://doi.org/10.1139/z03-222
- Tyler S, Schilling S, Hooge M, and Bush LF (comp.) (2006-2022) *Turbellarian taxonomic database*. Version 2.0 <u>http://turbellaria.umaine.edu</u>
- Van Steenkiste, N., Gobert, S., Davison, P., Kolasa, J., & Artois, T. (2011). Freshwater Dalyelliidae from the Nearctic (Platyhelminthes, Rhabdocoela): new taxa and records from Ontario, Canada and Michigan and Alabama, USA. *Zootaxa*, *3091*(1), 1-32.
- Van Steenkiste, N., Tessens, B., Willems, W., Van Mulken, E., & Artois, T. (2012). The "Falcatae", a new Gondwanan species group of *Gieysztoria* (Platyhelminthes: Dalyelliidae), with the description of five new species. *Zoologischer Anzeiger-A Journal of Comparative Zoology*, 251(4), 344-356. https://doi.org/10.1016/j.jcz.2011.12.001
- Van Steenkiste, N., Tessens, B., Willems, W., Backeljau, T., Jondelius, U., & Artois, T. (2013).
  A comprehensive molecular phylogeny of Dalytyphloplanida (Platyhelminthes: Rhabdocoela) reveals multiple escapes from the marine environment and origins of symbiotic relationships. *PLoS One*, *8*(3), e59917.

https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059917

- Van Steenkiste, N. W., Herbert, E. R., & Leander, B. S. (2018). Species diversity in the marine microturbellarian *Astrotorhynchus bifidus* sensu lato (Platyhelminthes: Rhabdocoela) from the Northeast Pacific Ocean. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 120, 259-273. <u>https://doi.org/10.1016/j.ympev.2017.12.012</u>
- Van Steenkiste, N. W., Rivlin, N., Kahn, P., Wakeman, K., & Leander, B. S. (2021). Grappleria corona gen. et sp. nov. (Platyhelminthes: Rhabdocoela: Jenseniidae fam. nov.) and an updated molecular phylogeny of 'dalyelliid' and temnocephalid microturbellarians. Systematics and Biodiversity, 19(3), 261-272. https://doi.org/10.1080/14772000.2020.1841326
- Vanhove, M. P., Tessens, B., Schoelinck, C., Jondelius, U., Littlewood, D. T. J., Artois, T., & Huyse, T. (2013). Problematic barcoding in flatworms: A case-study on monogeneans and rhabdocoels (Platyhelminthes). *ZooKeys*, (365), 355.
- Vega, I. A., Damborenea, M. C., Gamarra-Luques, C., Koch, E., Cueto, J. A., & Castro-Vazquez,
  A. (2006). Facultative and obligate symbiotic associations of Pomacea canaliculata (Caenogastropoda, Ampullariidae). *Biocell*, 30(2), 367-375.
- Vilas, R., Criscione, C. D., & Blouin, M. S. (2005). A comparison between mitochondrial DNA and the ribosomal internal transcribed regions in prospecting for cryptic species of platyhelminth parasites. *Parasitology*, 131(6), 839-846. <u>https://doi.org/10.1017/S0031182005008437</u>
- Volonterio, O. (2007). A new species of *Temnocephala* (Platyhelminthes, Temnocephalida) and a description of *T. axenos* from Uruguay. *Journal of Natural History*, *4*1(21-24), 1245-1257. <u>https://doi.org/10.1080/00222930701360208</u>
- Volonterio, O. (2009). First report of the introduction of an Australian temnocephalidan into the New World. *Journal of Parasitology*, *95*(1), 120-123.
- Volonterio, O., & Ponce de León, R. (2004). The first ultrastructural description of the Haswell cells in Temnocephalidae (Platyhelminthes, Temnocephalida), with insights into their function. *Parasitology Research*, *92*(5), 355-360. <u>https://doi.org/10.1007/s00436-003-1053-9</u>
- Wacke, R. (1905). "Beitrage zur Kenntniss der Temnocephalen. (*Temnocephala chilensis*, *Temnocephala tumbesiana* n. sp. und *Temnocephala novae-zelandiae*)." Zoolog.
  Jahrbücher, Supplement 6 (Fauna chilensis Bd. III) Heft 1: 1-115.

- Wang, L., Dong, Z. M., Chen, G. W., Sluys, R., & Liu, D. Z. (2021). Integrative descriptions of two new species of *Dugesia* from Hainan Island, China (Platyhelminthes, Tricladida, Dugesiidae). *ZooKeys*, 1028, 1. <u>https://doi.org/10.3897/zookeys.1028.60838</u>
- Watson, N. (2001). Insights from comparative spermatology in the 'turbellarian' Rhabdocoela. En D.T.J. Littlewood (ed.), *The Interrelationships of the Platyhelminthes*. Taylor and Francis, London, 217–230.
- Wiley, E. O., & Lieberman, B. S. (2011). *Phylogenetics: theory and practice of phylogenetic systematics*. John Wiley & Sons.
- Williams, J. B. (1981). Classification of the Temnocephaloidea (Platyhelminthes). Journal of natural history, 15(2), 277-299. <u>https://doi.org/10.1080/00222938100770211</u>
- Xylander, W. E. (1997). Epidermis and sensory receptors of *Temnocephala minor* (Plathelminthes, Rhabdocoela, Temnocephalida): an electron microscopic study. *Zoomorphology*, *117*(3), 147-154. <u>https://doi.org/10.1007/s004350050039</u>
- Yamazaki, D., Aota, T., & Chiba, S. (2020). The genetic structure of the marine flatworm Stylochoplana pusilla (Rhabditophora: Polycladida) and its use of intertidal snails. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 100(5), 713-717. https://doi.org/10.1017/S0025315420000570
- Yang, Z. (2014). Molecular evolution: a statistical approach. Oxford University Press.
- Yang, Z., & Rannala, B. (2012). Molecular phylogenetics: principles and practice. Nature reviews genetics, 13(5), 303-314.
- Zhang, Z., Schwartz, S., Wagner, L., & Miller, W. (2000). A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *Journal of Computational biology*, *7*(1-2), 203-214.
- Zhang, J., Kapli, P., Pavlidis, P., & Stamatakis, A. (2013). A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. *Bioinformatics*, 29(22), 2869-2876. <u>https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt499</u>
- Zhang, H., Hu, T., Shi, C., Chen, G., & Liu, D. (2021). Genetic diversity, population structure and demographic history of *Dugesia japonica* in Taihang Mountains. 动物分类学报, 46(2), 153-162. <u>https://doi.org/10.11865/zs.2021202</u>
- Zivano, A., Brusa, F., & Damborenea, C. (2020). Integrated morphological and ecological traits to identify *Temnocephala digitata* Monticelli, 1902 (Platyhelminthes,

Temnocephalida) and neotype designation. Zoologischer Anzeiger, 287, 31-44.

https://doi.org/10.1016/j.jcz.2020.04.005.

# Anexo I

Provincia / Estado	Código de Localidad	Localidad	Latitud	Longitud
	AZ	Arroyo Zapata y Ruta Provincial 11	-34,98844	-57,71676
	AT	Atalaya	-35,01567	-57,52769
	СВ	Canteras de Berisso	-34,88778	-57,82833
<b>Buenos Aires</b>	LB	La Balandra (arroyo)	-34,92964	-57,71329
	RNO	Reserva Natural Otamendi	-34,23739	-58,88056
	PS	Parque Saavedra, La Plata	-34,9305	-57,94188
	RP	Río de la Plata, Club Regatas de Ensenada	-34,84063	-57,92177
	BLP	Balneario Las Palmeritas	-31,23887	-57,95625
	ESG	Embalse Salto Grande (balneario)	-31,2373	-57,95278
Entre Ríos	RV	Riacho Victoria, Barrio Quinto Cuartel, Victoria	-32,64479	-60,15541
	RN14	Ruta Nacional 14, Km 19	-33,35344	-58,72764
	LC	Ruta Provincial 4 hacia Los Charrúas, Concordia	-31,33638	-58,104
	AYG-F; AYG-P	Arroyo Yabotí Guazú, Parque Provincial Moconá	-27,14526	-53,90778
Misiones	RUT	Río Uruguay, cerca de la desembocadura del Canal Torto	-27,53563	-54,78917
	RU-F; RU-P	Río Uruguay, Parque Provincial Moconá	-27,14542	-53,88976

 Tabla 1. Coordenadas de las localidades representadas.

Tabla 1. Continuación.

Provincia / Estado	Código de Localidad	Localidad	Latitud	Longitud
	RD	Río Diamante - Camping El Tigre	-34,60798	-68,60685
	RG	Río Grande y Ruta Nacional 40	-35,85875	-69,8078
Mendoza	RMB	Río Malargüe - Dique Blas Brisoli	-35,54675	-69,64322
	RMP	Río Malargüe - Pincheira	-35,51697	-69,82325
	RME	Río Mendoza - Blanco Encalada	-33,03773	-69,02598
Neuquén	AC	Arroyo Covunco y Ruta Nacional 40	-38,79338	-70,19003
Pará (Brasil)	RA	Río Arapiuns; Villa Franca	-2,333739	-55,03345

# Anexo II – Tabla 1. Alineamiento final.

KX095350.1	GGTAATTTATCTTTATACGGCTGGTCAGTATTTACTGCCATATTATTACTTATTACTGCCATATTATTAACTTCATTACCTGTTTTAGCAGGTGCTATTAC
RME-1	attaattttatatctactttggttgctaataataagttaaagtatataggagaattatcactctatgggtggtcggttttaataacagcagttttgttgttaacttctttacctgttttagctggcgcaattac
RME-2	attaattttatatctactttggttgctaataataagttaaagtatataggagaattatcactctatgggtggtcggttttaataacagcagttttgttgttgttaacttctttacctgttttagctggcgcaattac
RME-3	attaattttatatctactttggttgctaataataagttaaagtatataggagaattatcactctatgggtggtcggttttaataacagcagttttgttgttaacttctttacctgttttagctggcgcaattac
RME-4	attaattttatatctactttggttgctaataataagttaaagtatataggagaattatcactttatgggtggtcggttttaataacagcagttttgttgttaacttctttacctgttttagctggcgcaattac
RD-1	attaattttatatctactttggttgctaacaataagttaaagtatataggagaattatctctttatgggtggtctgtgttaataacagcagttttgttattaacttcttttacctgttttagctggagcaattac
RD-4	attaattttatatctactttggttgctaacaataagttaaagtatataggagaattatctctttatgggtggtctgtgttaataacagcagttttgttattaacttcttttacctgttttagctggagcaattac
RD-5	attaattttatatctactttggttgctaacaataagttaaagtatataggagaattatctctttatgggtggtctgtgttaataacagcagttttgttattaacttcttttacctgttttagctggagcaattac
RD-2	attaattttatatctactttgattgctaacaataagttaaagtatataggagaattatctctttatgggtggtctgtgttaataacagcagttttgttattaacttctttacctgttttagctggagcaattac
RD-3	attaattttatatctactttggttgctaataataagttaaagtatataggagaattatctctctatgggtggtctgttttaataacagcatttttgttgttgacttctttacctgttttagctggagcaattac
RG-3	attaattttatatctaccttggttgctaataataagttaaagtatataggagagttatccctatatgggtggtcagttttaataacagcaattttattaacttctttacctgttttagctggagcaattac
RG-4	attaattttatatctaccttggttgctaataataagttaaagtatataggagagttatccctatatgggtggtcagttttaataacagcaattttattaacctctttacctgttttagctggagcaattac
RG-8	attaattttatatccaccttggttgctaataataagttaaagtatataggagagttatccctatatgggtggtcagttttaataacagcaattttattattaacctctttacctgttttagctggagcaattac
RG-6	attaattttatatctaccttggttgctaataataagttgaagtatataggagagttatccctatatgggtggtcagttttaataacagcaattttattattaacctctttacctgttttagctggagcaattac
RMP-1	ataaatttcatatcaacgttagtagccaaaaacaagctgaagtatttaggtgagctttcttt
RMP-2	ataaatttcatatcaacgttagtagccaaaaacaagctgaagtatttaggtgagctttcttt
RMP-4	ataaatttcatatcaacgttagtagccaaaaacaagctgaagtatttaggtgagctttcttt
RMB-3	ataaatttcatatcaacgttagtagccaaaaacaagctgaagtatttaggtgagctttcttt
RG-1	ataaatttcatatcaacgttagtagcaaaaaaacaagctgaagtatttaggtgagctttcttt
RG-2	ataaatttcatatcaacgttagtagcaaaaaaacaagctgaagtatttaggtgagctttcttt
RMB-2	ataaatttcatatcaacgttagtagcaaaaaaacaagctgaagtatttaggtgagctttcttt
RMB-1	ATAAATTTCATATCAACGTTAGTCGCCAAAAACAAGCTGAAGTATTTAGGTGAGCTTTCTTT

RG-5	ataaatttcatatcaacgttagtagccaaaaacaagctgaagtatttgggtgagctttcttt
RG-7	ataaatttcatatcaacgttagtagccaaaaacaagctgaagtatttgggtgagctttcttt
RMP-3	ataaatttcatatcaacgttagtggccaaaaacaagctgaagtatttaggtgagctttcttt
AC-1	ataaactttatatctactctagtagctaataataagtttaagcatctcggggaactttcttt
AC-2	ataaactttatatctactctagtagctaataataagtttaagcatctcggggaactttcttt
AC-3	ataaactttatatctactctagtagctaataataagtttaagcatctcggggaactttcttt
AC-4	ataaactttatatctactctagtagctaataataagtttaagcatctcggggaactttcttt
RN14-1	attaattttatttctaccttggtagctaataataagaataagcatttaggtgagctttcttt
RN14-4	attaattttatttctaccttggtagctaataataagaataagcatttaggtgagctttcttt
LB-1	attaattttatttctactttggtagctaataataagaataagcatttgggtgagctttctctgtatgggtggtcagttttaataactgctgttttattattaacttctcttccggttttagctggtgctattac
LB-2	attaattttatttctactttggtagctaataataagaataagcatttgggtgagctttctctgtatgggtggtcagttttaataactgctgttttattattaacttctctctc
RP-3	attaattttatttctactttggtagctaataataagaataagcatttgggtgagctttctctgtatgggtggtcagttttaataactgctgttttattattaacttctcttccggttttagctggtgctattac
LB-4	attaattttatttctactttggtagctaataataagaataagcatttgggtgagctttctctgtatgggtggtcagttttaataactgctgttttattattaacttctctctc
RN14-5	attaattttatttctactttggtagctaataataagaataagcatttgggtgagctttctctgtatgggtggtcagttttaataactgctgttttattattattacttctcttccggttttagctggtgctattac
AZ-1	attaattttatttctactttggtagctaataataagaataagcatttgggtgagctttctctgtatgggtggtcagttttaataactgctgttttattattgacttctcttccggttttagctggtgctattac
AZ-2	attaattttatttctactttggtagctaataataagaataagcatttgggtgagctttctctgtatgggtggtcagttttaataactgctgttttattattgacttctctctc
LB-6	attaattttatttctactttggtagctaataataagaataagcatttgggtgagctttctctgtatgggtggtcagttttaataactgctgttttattattgacttctcttccggttttagctggtgctattac
AZ-3	attaattttatttctactttggtagctaataataagaataagcatttgggtgagctttctctgtatgggtggtcagttttaataactgctgttttattattgacttctcttccggttttagctggtgctattac
LB-3	attaattttatttctactttggtagctaataataagaataagcatttgggtgagctttctctgtatgggtggtcagttttaataactgctgttttattattgacttctctctc
PS-3	GCATTTGGgTGAGCTTTCTCTGTATGGGTGGTCAGTTTTAATAACTGCTGTTTTATTATTGACTTCTCTGGGTTTTAGCTGGTGCTATTAC
PS-2	GCATTTGGGTGAGCTTTCTCTGTATGGGTGAGCTTTTAATAACTGCTGTTTTATTATTGACTTCTCTGGGTTTTAGCTGGTGCTATTAC
PS-5	GCATTTGGGTGAGCTTTCTCTGTATGGGTGAGCTTTTAATAACTGCTGTTTTATTATTGACTTCTCTGCGGTTTTAGCTGGTGCTATTAC
PS-4	GCATTTGGGTGAGCTTTCTCTGTATGGGTGGTCAGTTTTAATAACTGCTGTTTTATTATTGACTTCTCTGCGGTTTTAGCTGGTGCTATTAC

PS-1	GCATTTGGGTGAGCTTTCTCTGTATGGGTGGTCAGTTTTAATAACTGCTGTTTTATTATTGACTTCTCTGGGTTTTAGCTGGTGCTATTAC
RP-1	${\tt TTTAATTTTATTTCTACTTTGGTAGCTAATTATAAGAATAAGCATTTGGGTGAGCTTTCTCTGTATGGGTGGTCAGTTTTAATAACTGCTGTTTTATTATTGACTTCTCTCCGGTTTTAGCTGGTGCTATTACTAGCTGGTGTGTTTATTATTGACTTCTCTCTC$
LB-5	${\tt ATTAATTTTATTTCTACTTTGGTAGCTAATAATAAGAATAAGCATTTGGGTGAGCTTTCTCTGTATGGGTGGTCAGTTTTAATAACTGCTGTTTTATTATTGACTTCTCTCCGGTTTTAGCTGGTGCTATTACTAGCTGGTGTGTTTTATTATTGACTTCTCTCTC$
AT-1	${\tt ATTAATTTTATTTCTACTTTGGTAGCTAATAATAAGAATAAGCATTTGGGTGAGCTTTCTCTGTATGGGTGGTCAGTTTTAATAACTGCTGTTTTATTATTGACTTCTCTCCGGTTTTAGCTGGTGCTATTACTAGCTGGTGTGTTTTATTATTGACTTCTCTCTC$
RP-5	GCATTTGGGTGAGCTTTCTCTGTATGGGTGGTCAGTTTTAATAACTGCTGTTTTATTATTGACTTCTCTGCGGTTTTAGCTGGTGCTATTAC
RP-6	GCATTTGGGTGAGCTTTCTCTGTATGGGTGGTCAGTTTTAATAACTGCTGTTTTATTATTGACTTCTCTGGGTTTTAGCTGGTGCTATTAC
RP-7	GCATTTGGGTGAGCTTTCTCTGTATGGGTGGTCAGTTTTAATAACTGCTGTTTTATTATTGACTTCTCTGCGGTTTTAGCTGGTGCTATTAC
RP-4	GCATTTGGGTGAGCTTTCTCTGTATGGGTGAGTTTTAATAACTGCTGTTTTATTATTGACTTCTCTGGGTTTTAGCTGGTGCTATTAC
AZ-4	${\tt ATTAATTTTATTTCTACTTTGGTAGCTAATAACAAGAATAAGCATTTGGGTGAGCTTTCTCTGTACGGGTGGTCAGTTTTAATAACTGCTGTTTTATTATTGACTTCTCTCTC$
AZ-5	${\tt ATTAATTTTATTTCTACTTTGGTAGCTAATAATAAGAATAAGCATTTGGGTGAGCTTTCTCTGTATGGGTGGTCAGTTTTAATAACTGCTGTTTTATTATTGACTTCTCTCTC$
RN14-2	${\tt ATTAATTTTATTTCTACTTTGGTAGCTAATAATAAGAATAAGCATTTGGGTGAGCTTTCTCTGTATGGGTGGTCAGTTTTAATAACTGCTGTTTTATTAACTTCTCTCTC$
RP-2	attaattttatttctactttggtagctaataataagaataagcatttgggtgagctttctctgtatgggtggtcagttttaataactgctgttttattattattacttcacttccggttttagctggtgctattacttagctggtgtgagctattagctggtggtggtggtggtggtggtggtggtggtggtggtg
RNO-1	${\tt ATTAATTTTTTTTTCTACTTTGGTAGCTAATAATAAGAATAAGCATTTGGGTGAGCTTTCTCTGTATGGGTGGTCAGTTTTAATAACTGCTGTTTTATTAACTTCACTTCCGGTTTTAGCTGGTGCTATTACTTAGCTGGTGCTATTACTTCACTTCACTTCCGGTTTTAGCTGGTGCTATTACTTCACTTCACTTCACTTCACTTCCGGTTTTAGCTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTG$
RNO-3	${\tt ATTAATTTTTTTTTCTACTTTGGTAGCTAATAATAAGAATAAGCATTTGGGTGAGCTTTCTCTGTATGGGTGGTCAGTTTTAATAACTGCTGTTTTATTAACTTCACTTCCGGTTTTAGCTGGTGCTATTACTTAGCTGGTGCTATTACTTCACTTCACTTCCGGTTTTAGCTGGTGCTATTACTTCACTTCACTTCACTTCACTTCCGGTTTTAGCTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTG$
RNO-4	${\tt ATTAATTTTTTTTTCTACTTTGGTAGCTAATAATAAGAATAAGCATTTGGGTGAGCTTTCTCTGTATGGGTGGTCAGTTTTAATAACTGCTGTTTTATTAACTTCACTTCCGGTTTTAGCTGGTGCTATTACTTAGCTGGTGCTATTACTTCACTTCACTTCCGGTTTTAGCTGGTGCTATTACTTCACTTCACTTCACTTCACTTCCGGTTTTAGCTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTG$
RNO-2	${\tt ATTAATTTTATTTCTACTTTGGTAGCTAATAATAAGAATAAGCATTTGGGTGAGCTTTCTCTGTATGGGTGGTCAGTTTTAATAACTGCTGTTTTATTATTGACTTCTCTCCGGTTTTAGCTGGTGCTATTACTAGCTGGTGTGTTTTATTATTGACTTCTCTCTC$
RN14-3	${\tt ATTAATTTTATTTCTACTTTGGTAGCTAATTATAAGAATAAGCATTTGGGTGAGCTTTCTCCGTATGGGTGGTCAGTTTTAATAACTGCTGTTTTATTATTAACTTCTCTCCGGTTTTAGCTGGTGCTATTACTTATTAACTTCTCTCTC$
LC-1	${\tt ATTAATTTTATTTCTACTTTGGTGGCTAATAACAAGAATAAGTATTTAGGAGAGCTTTCTTT$
LC-2	${\tt ATTAATTTTATTTCTACTTTGGTGGCTAATAACAAGAATAAGTATTTAGGAGAGCTTTCTTT$
LC-3	${\tt ATTAATTTTATTTCTACTTTGGTGGCTAATAACAAGAATAAGTATTTAGGAGAGCTTTCTTT$
LC-4	${\tt ATCAATTTTATTTCTACTTTGGTGGCTAATAACAAGAATAAGTATTTAGGAGAGCTTTCTTT$
RA-1	${\tt ATAAATTTTATTTCTACTTTGGTAGCTAATAACAAGAATAAGTATTTGGGAGAGCTTTCTTT$
RA-6	${\tt ATAAATTTTATTTCTACTTTGGTAGCTAATAACAAGAATAAGTATTTGGGAGAGCTTTCTTT$
	4.24

RA-2	ataaattttatttctactttggtagctaataacaagaataagtatttgggagagctttcttt
RA-7	${\tt ATAAATTTTATTTCTACTTTGGTAGCTAATAACAAGAATAAGTATTTGGGAGAGCTTTCTTT$
RA-3	${\tt ATAAATTTTATTTCTACTTTGGTAGCTAATAACAAGAATAAGTATTTGGGAGAGCTTTCTTT$
RV-1	${\tt ATTAATTTTATTTCAACTATGGTAGCTAATAATAAGAACAGGTATTTGGGTGAGCTTTCTCTTTATGGGTGGTCAGTTCTTATAACCGCTGTTTTATTAACTTCTCTCTC$
RV-2	${\tt ATTAATTTTATTTCAACTATGGTAGCTAATAACAAGAACAGGTATTTGGGTGAGCTTTCTCTCTATGGGTGGTCAGTTCTTATAACCGCTGTTTTATTAACTTCTCTCTC$
RV-3	${\tt ATTAATTTTATTTCAACTATGGTAGCTAATAATAAGAACAGATATTTGGGTGAGCTTTCTCTCTATGGGTGGTCAGTTCTTATAACCGCTGTTTTATTATTAACTTCTCTCTC$
ESG-1	${\tt ATTAATTTTATTTCTACTTTGGTGGCTAATAATAAGAATAAGTATTTAGTGGAGCTTTCTTT$
ESG-2	${\tt ATTAATTTTATTTCTACTTTGGTGGCTAATAATAAGAATAAGTATTTAGTGGAGCTTTCTTT$
ESG-4	${\tt ATTAATTTTATTTCTACTTTGGTGGCTAATAATAAGAATAAGTATTTAGTGGAGCTTTCTTT$
ESG-6	${\tt ATTAATTTTATTTCTACTTTGGTGGCTAATAATAAGAATAAGTATTTAGTGGAGCTTTCTTT$
BLP-1	${\tt ATTAATTTTATTTCTACTTTGGTGGCTAATAATAAGAATAAGTATTTAGTGGAGCTTTCTTT$
BLP-2	${\tt ATTAATTTTATTTCTACTTTGGTGGCTAATAATAAGAATAAGTATTTAGTGGAGCTTTCTTT$
BLP-3	${\tt ATTAATTTTATTTCTACTTTGGTGGCTAATAATAAGAATAAGTATTTAGTGGAGCTTTCTTT$
ESG-3	${\tt ATTAATTTTATTTCTACTTTGGTGGCTAATAATAAGAATAAGTATTTAGTGGAGCTTTCTTT$
ESG-5	${\tt ATCAATTTTATTTCTACTTTGGTGGCTAATAATAAGAATAAGTATTTAGTGGAGCTTTCTTT$
RA-4	${\tt ATTAATTTTATTTCAACTCTTGTGGCTAATAAAAAGACTAAGCATTTAGGAGAATTATCTCTTTATGGGTGGTCGGTTTTAATTACTGCTGTGTTGCTTTTAACGTCTTTAACGTCTTTAGCCGGAGCTATTAC$
RA-5	${\tt ATTAATTTCATTTCAACTCTTGTTGCTAATAAAAAGACTAAGCATTTAGGAGAATTATCTCTTTATGGGTGGTCGGTTTTAATTACTGCTGTGTTGCTTCTAACGTCTTTACCTGTTTTAGCCGGAGCTATTAC$
AYG-F-1	${\tt ATTAATTTTATATCCACCCTGGTTGCTAAAAGAAAGTCCAATTATTTGGGTGAATTGTCCCTCTATGGTTGGT$
AYG-F-4	TTATTTGGGTGaATTGTCCCTCTATGGTTGGTCTGTTTTAATTACTGCGGTACTTTTGTTAGCTTCTTTGCCGGTTCTAGCAGGAGCAATCAC
AYG-F-3	attaattttatatccaccctggttgctaaaagaaagtccaattatttgggtgaattgtccctctatggttggt
AYG-F-5	TTATTTGGGTGAATTGTCCCTCTATGGTTGGTCTGTTTTAATTACTGCGGTTCTTTTGTTAGCTTCTTTGCCGGTTCTAGCAGGAGCAATCAC
AYG-F-2	attaattttatatccaccctggttgctaaaagaaagtccaattatttgggtgaattgtccctctatggttggt
AYG-P-1	${\tt ATTAATTTTATATCCACCCTGGTTGCTAAAAGAAAGTCCAATTATTTGGGTGAATTGTCTCTTTATGGTTGGT$
	400

AYG-P-5	
AYG-P-3	attaattttatatccaccctggttgctaaaagaaagtccaattatttgggtgaattgtctctttatggttggt
AYG-P-4	TTATTTGGGTGAATTGTCCCTTTATGGTTGGTCTGTTTTAATTACTGCGGTTCTTTGTTAGCTTCTTTGCCGGTTCTAGCAGGAGCAATAAC
AYG-P-2	attaattttatatccaccctggttgctaaaagaaagtccaattatttgggtgaattgtccctttatggttggt
RU-F-1	attaatttcatatccaccttggttgctaaaagaaagtccaattatttgggtgaattgtccctttatggttggt
RU-F-3	attaatttcatatccaccttggttgctaaaagaaagtccaattatttgggtgaattgtccctttatggttggt
RU-F-4	attaatttcatatccaccttggttgctaaaagaaagtccaattatttgggtgaattgtccctttatggttggt
RU-F-2	attaatttcatatccaccttggttgctaaaagaaagtccaattatttgggtgaattgtccctttatggttggt
RU-F-5	attaatttcatatccaccttggttgctaaaagaaagtccaattatttgggtgaattgtccctttatggttggt
RU-P-1	atcaatttcatatccactttggttgctaaaagaaagtctaattatctgggtgaattgtccctgtatggttggt
RU-P-3	atcaatttcatatccactttggttgctaaaagaaagtctaattatctgggtgaattgtccctgtatggttggt
RU-P-4	atcaatttcatatccactttggttgctaaaagaaagtctaattatctgggtgaattgtccctgtatggttggt
RU-P-2	atcaatttaatatccactttggttgctaaaagaaagtctaattatctgggtgaattgtccctgtatggttggt
RUT-1	ataaattttatatcaactttggttgctaaaagaaagtccaattatctaggtgaattgtccctctatggttggt
CB-1	ataaaatttatttcaactatggttgctaaaaataagttaaaggttttaggtgagttgtctctttatggttgatcggttttaattactgctgtattgttactaacttctttacctgtattagcgggggctattactaacttattagcgggggggg
CB-3	ataaaatttatttcaactatggttgctaaaaataagttaaaggttttaggtgagttgtctctttatggttgatcggttttaattactgctgtattgttactaacttctttacctgtattagcgggggctattactaacttattagcgggggggg
CB-2	ATAAAATTTATTTCAACTATGGTTGCTAAAAATAAGTTAAAGGTTTTAGGTGAGTTGTCTCTTTATGGTTGATCGGTTTTAATTACTGCTGTATTGTTACTAACTTCTTTACCTGTATTAGCGGGGGCTATTAC

KX095350.1	TATGTTGTTATGTGATCGTAATTTTAAAACTACTTTTTTGATCCTTTAGGTGGGGGGGG
RME-1	${\tt tatgttattatgtgatcgtaattttaatactacgttttttgatccaatgggaggtggagacccaattttatttcaacatttattt$
RME-2	${\tt tatgttattatgtgatcgtaattttaatactacgttttttgatccaatgggaggtggagacccaatcttatttcaacatttattt$
RME-3	${\tt tatgttattatgtgatcgtaattttaatactacgttttttgatccaatgggaggtggagacccaatcttatttcaacatttattt$
RME-4	${\tt tatgttattatgtgatcgtaattttaatactacgttttttgatccaatgggaggtggagacccaatcttatttcaacatttattt$
RD-1	${\tt tatgctattatgcgaccgtaattttaatactacgttttttgatccaatgggaggtggagaccctattttatttcaacatctattttggtcatcctgaagtttatattttaatatttaccaggttttggtttttggtcatcctgaagtttatattttaatatttaccaggttttggtttttggtcatcctgaagtttatattttaatatttaccaggttttggtttttggtcatcctgaagtttatattttaatatttaccaggttttggttttttggtcatcctgaagtttatattttaatatttaccaggtttttggtttttggtcatcctgaagtttatattttaatattttagtttttggtcatcctgaagtttatattttaatattttagtttttggtcatcctgaagtttatattttaatattttagtttttggtcatcctgaagtttatattttagtttttggtcatcctgaagtttatattttagtttttggtcatcctgaagtttatattttagtttttggtcatcctgaagtttatatttttagtttttggtcatcctgaagtttatattttagttttttggtcatcctgaagtttatattttagtttttggtcatcctgaagtttttttggtcatcctgaagtttatattttagtttttggtcatcctgaagtttatggtggagtggagttggagtggagtggagtggagtggagtttttt$
RD-4	${\tt tatgctattatgcgaccgtaattttaatactacgttttttgatccaatgggaggtggagaccctattttatttcaacatctattttggtcatcctgaagtttatattttaatatttaccaggttttggtttttggtcatcctgaagtttatattttaatatttaccaggttttggtttttggtcatcctgaagtttatattttaatatttaccaggttttggtttttggtcatcctgaagtttatattttaatatttaccaggttttggttttttggtcatcctgaagtttatattttaatatttaccaggtttttggtttttggtcatcctgaagtttatattttaatattttagtttttggtcatcctgaagtttatattttaatattttagtttttggtcatcctgaagtttatattttaatattttagtttttggtcatcctgaagtttatattttagtttttggtcatcctgaagtttatattttagtttttggtcatcctgaagtttatattttagtttttggtcatcctgaagtttatatttttagtttttggtcatcctgaagtttatattttagttttttggtcatcctgaagtttatattttagtttttggtcatcctgaagtttttttggtcatcctgaagtttatattttagtttttggtcatcctgaagtttatggtggagtggagttggagtggagtggagtggagtggagtttttt$
RD-5	${\tt tatgctattatgcgaccgtaattttaatactacgttttttgatccaatgggaggtggagaccctattttatttcaacatctattttggtcatcctgaagtttatattttaatatttaccaggttttggtttttggtcatcctgaagtttatattttaatatttaccaggttttggtttttggtcatcctgaagtttatattttaatatttaccaggttttggtttttggtcatcctgaagtttatattttaatatttaccaggttttggttttttggtcatcctgaagtttatattttaatatttaccaggtttttggtttttggtcatcctgaagtttatattttaatattttagtttttggtcatcctgaagtttatattttaatattttagtttttggtcatcctgaagtttatattttaatattttagtttttggtcatcctgaagtttatattttagtttttggtcatcctgaagtttatattttagtttttggtcatcctgaagtttatattttagtttttggtcatcctgaagtttatatttttagtttttggtcatcctgaagtttatattttagttttttggtcatcctgaagtttatattttagtttttggtcatcctgaagtttttttggtcatcctgaagtttatattttagtttttggtcatcctgaagtttatggtggagtggagttggagtggagtggagtggagtggagtttttt$
RD-2	${\tt tatgctattatgtgatcgtaattttaatactacgttttttgatccaatgggaggtggagaccctattttatttcaacatctattttggtcatcctgaagtttatattttaatatttaccaggttttggtttttggtcatcctgaagtttatattttaatatttaccaggttttggtttttggtcatcctgaagtttatattttaatatttaccaggttttggtttttggtcatcctgaagtttatattttaatatttaccaggttttggttttttggtcatcctgaagtttatattttaatatttaccaggtttttggttttttggtcatcctgaagtttatattttaatattttagtggtggagagtggagagtggagaccctatttttttt$
RD-3	${\tt tatgttgttatgtgatcgtaattttaacactacgttttttgatcccatgggaggtgggggaccctattttattttattttggttatcccagaagtttatattttaatatttaccaggttttggttatatttatt$
RG-3	${\tt tatgttattatgtgatcgaaattttaatactacgttttttgaccctatgggaggtggggatccaattttgttccaacatttattt$
RG-4	${\tt tatgttattatgtgatcgaaattttaatactacgttttttgaccctatgggaggtggggatccaattttgttccaacatttattt$
RG-8	${\tt tatgttattatgtgatcgaaattttaatactacgttttttgaccctatgggaggtggggatccaattttgttccaacatttattt$
RG-6	${\tt tatgttattatgtgatcgaaattttaatactacgttttttgaccctatgggaggtggggatccaattttgttccaacatttattt$
RMP-1	${\tt tatgttattatgcgatcgtaattttaacacaacgttctttgacccaatgggcgggggggg$
RMP-2	${\tt tatgttattatgcgatcgtaattttaacacaacgttctttgacccaatgggcgggggggg$
RMP-4	${\tt tatgttattatgcgatcgtaattttaacacaacgttctttgacccaatgggcgggggggg$
RMB-3	${\tt tatgttattatgcgatcgtaattttaacacaacgttctttgacccaatgggcgggggggg$
RG-1	${\tt tatgttattatgcgatcgtaattttaacacaacgttctttgacccaatgggcgggggggg$
RG-2	${\tt tatgttattatgcgatcgtaattttaacacaacgttctttgacccaatgggcggggggagacccaattttatttcagcatttgttttggttttggacacccggaggtttatattttaatactacctggatttggattggatttatatttaatactacctggatttggatttggattggattggattgggattg$
RMB-2	${\tt tatgttattatgcgatcgtaattttaacacaacgttctttgacccaatgggcgggggggg$
RMB-1	${\tt tatgttattatgcgatcgtaattttaacacaacgttctttgacccaatgggcggggggagacccaattttatttcagcatttgttttggttttggacacccggaggtttatattttaatactacctggatttggattggatttatatttaatactacctggatttggatttggattggattggattgggattg$
RG-5	${\tt tatgttattatgcgatcgtaattttaacacaacgttcttcgacccaatgggcgggggggg$
	124

RG-7	${\tt TATGTTATTATGCGATCGTAATTTTAACACAACGTTCTTCGACCCAATGGGCGGGGGGGG$
RMP-3	${\tt tatgttattatgcgatcgtaattttaacacaacgttctttgacccaatgggcgggggggg$
AC-1	${\tt AATGCTTCTATGCGATCGGAATTTTAATACTACTTTTTTTGATCCAATGGGTGGAGGGGGCCCAATTTTATTTCAACATTTGTTTTGGTTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATATTTTAATACTACCGGGATTTGGTTTTTGGTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATATTTTAATACTACCGGGATTTGGTTTTTGGTTTTTGGTCAACATTTGGTTTTTGGTCAACGTGGGGGGGG$
AC-2	${\tt GATGCTTCTATGCGATCGGAATTTTAATACTACTTTTTTTGATCCAATGGGTGGAGGGGGGCCCAATTTTATTTCAACATTTGTTTTGGTTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATATTTTAATACTACCGGGATTTG$
AC-3	${\tt GATGCTTCTATGCGATCGGAATTTTAATACTACTTTTTTTGATCCAATGGGTGGAGGGGGGCCCAATTTTATTTCAACATTTGTTTTGGTTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATATTTTAATACTACCGGGATTTG$
AC-4	${\tt GATGCTTCTATGCGATCGGAATTTTAATACTACTTTTTTTGATCCAATGGGTGGAGGGGGGCCCAATTTTATTTCAACATTTGTTTTGGTTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATATTTTAATACTACCGGGATTTG$
RN14-1	${\tt tatgttgctttgtgatcgaaattttaatacttcttttttgatccgatgggggggg$
RN14-4	${\tt tatgttgctttgtgatcgaaattttaatacttcttttttgatccgatgggggggg$
LB-1	${\tt tatgttgctttgtgatcgaaattttaatacttcttttttgatccgatgggggggg$
LB-2	${\tt tatgttgctttgtgatcgaaattttaatacttcttttttgatccgatgggggggg$
RP-3	${\tt tatgttgctttgtgatcgaaattttaatacttcttttttgatccgatgggggggg$
LB-4	${\tt tatgttgctttgtgatcgaaattttaatacttcttttttgatccgatgggggggg$
RN14-5	${\tt tatgttgctttgtgatcgaaattttaatacttcttttttgatccgatgggggggg$
AZ-1	${\tt tatgttgctttgtgatcgaaattttaatacttcttttttgatccgatgggggggg$
AZ-2	${\tt tatgttgctttgtgatcgaaattttaatacttcttttttgatccgatgggggggg$
LB-6	${\tt tatgttgctttgtgatcgaaattttaatacttcttttttgatccgatgggggggg$
AZ-3	${\tt tatgttgctttgtgatcgaaattttaatacttcttttttgatccgatgggggggg$
LB-3	${\tt tatgttgctttgtgatcgaaattttaatacttcttttttgatccgatgggggggg$
PS-3	${\tt tatgttgctttgtgatcgaaattttaatacttcttttttgatccgatgggggggg$
PS-2	${\tt tatgttgctttgtgatcgaaattttaatacttcttttttgatccgatgggggggg$
PS-5	${\tt tatgttgctttgtgatcgaaattttaatacttcttttttgatccgatgggggggg$
PS-4	${\tt tatgttgctttgtgatcgaaattttaatacttcttttttgatccgatgggggggg$
PS-1	${\tt tatgttgctttgtgatcgaaattttaatacttcttttttgatccgatgggggggg$
	125

RP-1	${\tt TATGTTGCTTTGTGATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTGATCCGATGGGTGGG$
LB-5	${\tt tatgttgctttgtgatcgaaattttaatacttcttttttgatccgatgggggggg$
AT-1	${\tt tatgttgcttgtgatcgaaattttaatacttcttttttgatccgatgggggggg$
RP-5	${\tt tatgttgcttgtgatcgaaattttaatacttcttttttgatccgatgggggggg$
RP-6	${\tt TATGTTGCTTTGTGATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTGATCCGATGGGTGGG$
RP-7	${\tt TATGTTGCTTTGTGATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTGATCCGATGGGTGGG$
RP-4	${\tt tatgttgcttgtgatcgaaattttaatacttcttttttgatccgatgggggggg$
AZ-4	${\tt tatgttgcttgtgatcgaaattttaatacttcttttttgatccgatgggggggg$
AZ-5	${\tt TATGTTGCTTTGTGATCGAAAATTTCAATACTTCTTTTTTGATCCGATGGGTGGG$
RN14-2	${\tt tatgttgcttgtgatcgaaattttaatacttcttttttgatccgatgggggggg$
RP-2	${\tt TATGTTGCTTTGTGATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTGATCCGATGGGTGGG$
RNO-1	${\tt TATGTTGCTTTGTGATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTGATCCGATGGGTGGG$
RNO-3	${\tt TATGTTGCTTTGTGATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTGATCCGATGGGTGGG$
RNO-4	${\tt tatgttgcttgtgatcgaaattttaatacttcttttttgatccgatgggggggg$
RNO-2	${\tt TATGTTGCTTTGTGATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTGATCCGATGGGTGGG$
RN14-3	${\tt tatgttgcttgtgatcgaaattttaatacttcttttttgacccgatgggggggg$
LC-1	${\tt AATGCTGCTTTGTGATCGAAATTTTAATACTTCGTTTTTTGATCCGATGGGAGGGGGGGG$
LC-2	${\tt AATGCTACTTTGTGATCGAAATTTTAATACTTCGTTTTTTGATCCGATGGGAGGGGGGGG$
LC-3	${\tt AATGCTACTTTGTGATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTGATCCGATGGGAGGGGGGGG$
LC-4	${\tt AATGCTACTTTGTGATCGAAATTTTAATACTTCTTTTTTGATCCGATGGGAGGGGGGGG$
RA-1	${\tt GATGTTGCTTTGTGATCGAAAATTTTAAAAACTTCATTTTTTGATCCAATGGGTGGG$
RA-6	${\tt GATGTTGCTTTGTGATCGAAATTTTAAAACTTCATTTTTTGATCCAATGGGTGGG$
RA-2	${\tt GATGTTGCTTTGTGATCGAAAATTTTAAAAACTTCATTTTTTGATCCAATGGGTGGG$
	126

RA-7	${\tt GATGTTGCTTTGTGATCGAAATTTTAAAACTTCATTTTTTGATCCAATGGGTGGG$
RA-3	${\tt GATGTTGCCTTTGCGATCGAAATTTTAAAAACTTCATTTTTTGATCCAATGGGTGGG$
RV-1	${\tt GATGTTACTTTGTGATCGAAAATTTAATACTTCTTTTTTGATCCTATGGGAGGGGGGGG$
RV-2	${\tt GATGTTACTTTGTGATCGAAAATTTAATACTTCTTTTTTGATCCTATGGGAGGGGGGGG$
RV-3	${\tt GATGTTACTTTGTGATCGAAAATTTAATACTTCTTTTTTGATCCTATGGGAGGAGGGGGATCCTATTTTATTCCAACATTTATTT$
ESG-1	${\tt AATGTTACTTTGTGACCGGAATTTTAATACCTCTTTTTTTGACCCTATGGGAGGGGGGGG$
ESG-2	${\tt AATGTTACTTTGTGACCGGAATTTTAATACCTCTTTTTTTGACCCTATGGGAGGGGGGGG$
ESG-4	${\tt AATGTTACTTTGTGACCGGAATTTTAATACCTCTTTTTTTGACCCTATGGGAGGGGGGGG$
ESG-6	${\tt AATGTTACTTTGTGACCGGAATTTTAATACCTCTTTTTTTGACCCTATGGGAGGGGGGGG$
BLP-1	${\tt AATGTTACTTTGTGACCGGAATTTTAATACCTCTTTTTTTGACCCTATGGGAGGGGGGGG$
BLP-2	${\tt AATGTTACTTTGTGACCGGAATTTTAATACCTCTTTTTTTGACCCTATGGGAGGGGGGGG$
BLP-3	${\tt AATGTTACTTTGTGACCGGAATTTTAATACCTCTTTTTTTGACCCTATGGGAGGGGGGGG$
ESG-3	${\tt AATGTTACTTTGTGATCGGAATTTTAATACCTCTTTTTTTGACCCTATGGGAGGGGGGGG$
ESG-5	${\tt AATGTTGCTTTGTGACCGGAATTTTAATACTTCTTTTTTGACCCGATGGGAGGGGGGGG$
RA-4	${\tt AATGCTTTTATGTGATCGTAAATTTAATACTTCTTTTTTGATCCAATGGGAGGGGGGGG$
RA-5	AATGCTTTTATGTGATCGTAAATTTAATACTTCTTTTTTGATCCAATGGGAGGGGGGGG
AYG-F-1	${\tt tatgctgctatgtgatcgtaaatttaaaacttcattttttgatcccatgggagggggggg$
AYG-F-4	${\tt tatgctgctatgtgatcgtaaatttaaaacttcattttttgatcccatgggagggggggg$
AYG-F-3	${\tt tatgctgctatgtgatcgtaaatttaaaacttcattttttgatcccatgggagggggggg$
AYG-F-5	${\tt tatgctgctatgtgatcgtaaatttaaaacttcattttttgatcccatgggagggggggg$
AYG-F-2	${\tt tatgctgctatgtgatcgtaaatttaaaacttcattttttgatcccatgggagggggggg$
AYG-P-1	${\tt tatgctgctatgtgatcgtaaatttaaaacttcattttttgatcccatgggagggggggg$
AYG-P-5	${\tt tatgctgctatgtgatcgtaaatttaaaacttcattttttgatcccatgggagggggggg$
	127

AYG-P-3	TATGCTGCTATGTGATCGTAAATTTAAAACTTCATTTTTGATCCCATGGGAGGGGGGGG
AYG-P-4	${\tt tatgctgctatgtgatcgtaaatttaaaacttcattttttgatcccatgggagggggggg$
AYG-P-2	${\tt tatgctgctatgtgatcgtaaatttaaaacttcattttttgatcccatgggagggggggg$
RU-F-1	${\tt tatgctgttatgtgaccgcaaatttaaaacttcattttttgaccccatgggagggggggg$
RU-F-3	${\tt tatgctgttatgtgaccgcaaatttaaaacttcattttttgaccccatgggagggggggg$
RU-F-4	${\tt tatgctgttatgtgaccgcaaatttaaaacttcattttttgaccccatgggagggggggg$
RU-F-2	${\tt tatgctgttatgtgaccgcaaatttaaaacttcatttttgatcccatgggagggggggg$
RU-F-5	${\tt tatgctactatgtgaccgcaaatttaaaacttcatttttgatcccatgggagggggggcgaccccatcctttttcagcatttattt$
RU-P-1	${\tt tatgctgttatgtgatcgcaaatttaaaacttcatttttgatcccatgggggggg$
RU-P-3	${\tt tatgctgttatgtgatcgcaaatttaaaacttcatttttgatcccatgggggggg$
RU-P-4	${\tt tatgctgttatgtgatcgcaaatttaaaacttcatttttgatcccatgggggggg$
RU-P-2	${\tt tatgctgttatgtgatcgcaaatttaaaacttcatttttgatcccatgggggggg$
RUT-1	${\tt tatgttgttatgtgatcgtaaatttaaaacttcattttttgatcccatgggagggggggcccgattctttttcagcatttattt$
CB-1	${\tt tatgttgttatgtgatcgaaaaatttaatactactttttttgatcctatgggaggtgatccgattctttttcaacatttattt$
CB-3	${\tt tatgttgttatgtgatcgaaaaatttaatactactttttttgatcctatgggaggtgatccgattctttttcaacatttattt$
CB-2	TATGTTGTTATGTGATCGAAAATTTAATACTACTTTTTTGATCCTATGGGAGGAGGAGGTGATCCGATTCTTTTCAACATTTATTT

KX095350.1	${\tt GTATTATTTCTCAAATAGTTATATTTTATGCATCTAAGGATCAAGCATTTGGTCATTTAGGAATGATTTTTGCTATGGTTTCTATTGGGATTTTAGGGTTTATAGTATGGGCTCACCATATGTTTACTGTTGGG$
RME-1	${\tt GTCTTATATCTCAAATTGTTGTTTTTTTTTCCTCTAAGGATCAAGGTTTTGGTCATTTGGGTATGATTTTTGCAATGATTTCTATAGGAGTTTTAGGTTTTATAGTTTGAGCTCATCATATGTTTACTGTGGGT$
RME-2	${\tt GTCTTATATCTCAAATTGTTGTTTTTTATTCCTCTAAGGATCAAGGTTTTGGTCATTTGGGTATGATTTTTGCAATGATTTCTATAGGAGTTTTAGGTTTTATAGTTTGAGCTCATCATATGTTTACTGTGGGT$
RME-3	${\tt GTCTTATATCTCAAATTGTTGTTTTTTATTCCTCTAAGGATCAAGGTTTTGGTCATTTGGGTATGATTTTTGCAATGATTTCTATAGGAGTTTTAGGTTTTATAGTTTGAGCTCATCATATGTTTACTGTGGGT$
RME-4	${\tt GTCTTATATCTCAAATTGTTGTTTTTTATTCCTCTAAGGATCAAGGTTTTGGTCATTTGGGTATGATTTTTGCAATGATTTCTATAGGAGTTTTAGGTTTTATAGTTTGAGCTCATCATATGTTTACTGTGGGT$
RD-1	${\tt GTCTTATATCTCAAATTGTTGTTTTTTTTTTTCTTCTAAGGATCAAGCTTTTGGTCATTTGGGTATGATCTTTGCAATGATTTCTATAGGAGTTTTAGGTTTTATTGTTTGAGCCCATCATATGTTTACTGTAGGT$
RD-4	${\tt GTCTTATATCTCAAATTGTTGTTTTTTTTTTTCTTCTAAGGATCAAGCTTTTGGTCATTTGGGTATGATCTTTGCAATGATTTCTATAGGAGTTTTAGGTTTTATTGTTTGAGCCCATCATATGTTTACTGTAGGT$
RD-5	${\tt GTCTTGTATCTCAAATTGTTGTTTTTTTTTTTCTTCTAAGGATCAAGCTTTTGGTCATTTGGGTATGATCTTTGCAATGATTTCTATAGGAGTTTTAGGTTTTATTGTTTGAGCCCATCATATGTTTACTGTAGGT$
RD-2	${\tt GTCTTATATCTCAAATTGTTGTTTTTTTTTTTTTTTTTT$
RD-3	${\tt GTCTTATATCTCAAATTGTTATTTTTTTTTTTCCTCTAAGGATCAAGCTTTTGGTCATTTGGGTATGATCTTTGCAATGATTTCTATAGGAGTTTTAGGTTTTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTAGGT$
RG-3	${\tt GTCTTGTATCCCAAATAGTTGTTTTTTTTTTTTTTTTTT$
RG-4	${\tt GTCTTGTGTCCCAAATAGTTGTTTTTTTTTTTTTTTTTT$
RG-8	${\tt GTCTTGTATCCCAAATAGTTGTTTTTATTCTTCTAAGGATCAAGCTTTTGGACATCTTGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATAGGGGTTTTAGGTTTTATTGTTTGAGCTCATCATATGTTTACTGTAGGTTTATGTTTGAGCTCATCATATGTTTACTGTAGGTTTTATTGTTTGAGCTCATCATATGTTTACTGTAGGTTTTTGCTATGGTTTTATGGTTTTGGTAGGTTTTATTGTTTGAGCTCATCATATGTTTACTGTAGGTTTTATTGTTTGGTAGGTTTTAGGTGTTTTGGTAGGTTTTGGTAGGTTTTGGTAGGTTTTGGTAGGTTTTGGTAGGTTTTGGTAGGTTTTGGTAGGTTTTGGTAGGTTTGGTGG$
RG-6	${\tt GTCTTGTATCCCAAATAGTTGTTTTTTTTTTTTTTTTTT$
RMP-1	${\tt GGTTAGTATCCCAAATTGTGGTTTTTTATTCATCTAAGGATCAAGCGTTTGGTCATTTAGGTATGATTTTGCTATGATTTCAATAGGTGTTTTTGGTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTTGGG$
RMP-2	${\tt GGTTAGTATCCCAAATTGTGGTTTTTTATTCATCTAAGGATCAAGCGTTTGGTCATTTAGGTATGATTTTGCTATGATTTCAATAGGTGTTTTTGGTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTTGGG$
RMP-4	${\tt GGTTAGTATCCCAAATTGTGGTTTTTTATTCATCTAAGGATCAAGCGTTTGGTCATTTAGGTATGATTTTGCTATGATTTCAATAGGTGTTTTTGGTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTTGGG$
RMB-3	${\tt GGTTAGTATCCCAAATTGTGGTTTTTTATTCATCTAAGGATCAAGCGTTTGGTCATTTAGGTATGATTTTGCTATGATTTCAATAGGTGTTTTTGGTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTTGGG$
RG-1	${\tt GGTTAGTATCCCAAATTGTGGTTTTTTATTCATCTAAGGATCAAGCGTTTGGTCATTTAGGTATGATTTTGCTATGATTTCAATAGGTGTTTTTGGTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTTGGG$
RG-2	${\tt GGTTAGTATCCCAAATTGTGGTTTTTTATTCATCTAAGGATCAAGCGTTTGGTCATTTAGGTATGATTTTGCTATGATTTCAATAGGTGTTTTTGGTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTTGGGTTTTTGGTATGATTTCAATAGGTGTTTTTGGTGTTTTGGTGGTTTTTGGTGGTTTTGGGTGT$
RMB-2	${\tt GGTTAGTATCCCAAATTGTGGTTTTTTATTCATCTAAGGATCAAGCGTTTGGTCATTTAGGTATGATTTTGCTATGATTTCAATAGGTGTTTTTGGTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTTGGG$
RMB-1	${\tt GGTTAGTATCCCAAATTGTGGTTTTTTTTCATCTAAGGATCAAGCGTTTGGTCATTTAGGTATGATTTTGCTATGATTTCAATAGGTGTTTTTGGTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTTGGG$
RG-5	${\tt GGTTAGTATCCCAAATTGTGGTGTTTTATTCATCTAAGGATCAAGCGTTTGGTCATTTAGGTATGATTTTGCTATGATTTCAATAGGTGTTTTAGGATTTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTTGGG$
	129

RG-7	${\tt GGTTAGTATCCCAAATTGTGGTGTTTTATTCATCTAAGGATCAAGCGTTTGGTCATTTAGGTATGATTTTGCTATGATTTCAATAGGTGTTTTAGGATTTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTTGGG$
RMP-3	${\tt GGTTAGTATCCCAAATCGTGGTTTTTTATTCATCTAAGGATCAAGCGTTTGGTCATTTAGGTATGATTTTGCTATGATTTCCATAGGTGTTTTAGGATTTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTTGGG$
AC-1	${\tt GTTT}{\tt GATATC}{\tt GC}{\tt GATTTT}{\tt GTTT}{\tt GATC}{\tt AAG}{\tt GATC}{\tt AAG}{\tt CATTT}{\tt GG}{\tt GATTT}{\tt GG}{\tt GAT}{\tt GATTT}{\tt GAT}{\tt GAT}{$
AC-2	${\tt GTTT}{\tt GATATC}{\tt GC}{\tt GATTTT}{\tt GTTT}{\tt GATC}{\tt AAG}{\tt GATC}{\tt AAG}{\tt CATTT}{\tt GG}{\tt GATTT}{\tt GG}{\tt GAT}{\tt GATTT}{\tt GAT}{\tt GAT}{$
AC-3	${\tt GTTT}{\tt GATATC}{\tt GC}{\tt GATTTT}{\tt GATC}{\tt AAG}{\tt GATC}{\tt AAG}{\tt CATTT}{\tt GG}{\tt GATTT}{\tt GG}{\tt GAT}{\tt GATTT}{\tt GAT}{\tt GAT}{\tt$
AC-4	${\tt GTTT}{\tt GATATC}{\tt GC}{\tt GATTTT}{\tt GATC}{\tt AAG}{\tt GATC}{\tt AAG}{\tt CATTT}{\tt GG}{\tt GATTT}{\tt GG}{\tt GATTT}{\tt GAT}{\tt GAT}{\tt$
RN14-1	${\tt GTTTGATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCGTTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATCGGAGTGCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
RN14-4	${\tt GTTTGATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCGTTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATCGGAGTGCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
LB-1	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
LB-2	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
RP-3	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
LB-4	${\tt GTTTGATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
RN14-5	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
AZ-1	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
AZ-2	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
LB-6	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
AZ-3	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
LB-3	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
PS-3	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
PS-2	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
PS-5	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
PS-4	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
PS-1	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
	130

RP-1	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGGTTTATTGTTTGGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
LB-5	${\tt GTTTGATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
AT-1	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
RP-5	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
RP-6	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
RP-7	${\tt GTTTGATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACAGTGGGG$
RP-4	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
AZ-4	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
AZ-5	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
RN14-2	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
RP-2	${\tt GTTTGATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
RNO-1	${\tt GTTTGATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
RNO-3	${\tt GTTTGATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
RNO-4	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
RNO-2	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
RN14-3	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTCGGGCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCCCATCATATGTTTACGGTGGGG$
LC-1	${\tt GTTTGATATCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGACCAGTCATTTGGTCATTTAGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCTCACCATATGTTTACGGTGGGG$
LC-2	${\tt GTTTGATATCTCAAATAGTAATGTTTTATTCGTCTAAGGACCAGTCATTTGGTCATTTAGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCTCACCATATGTTTACGGTGGGG$
LC-3	${\tt GTTTGATATCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGACCAGGCATTTGGTCATTTAGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCTCACCATATGTTTACGGTGGGG$
LC-4	${\tt GTTTGATATCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGACCAGTCATTTGGTCATTTAGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCTCACCATATGTTTACGGTGGGG$
RA-1	${\tt GTTTAATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCGTTTGGTCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCTCATCATATGTTTACGGTGGGG$
RA-6	${\tt GTTTAATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCGTTTGGTCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCTCATCATATGTTTACGGTGGGG$
RA-2	${\tt GTTTAATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCGTTTGGTCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCTCATCATATGTTTACGGTGGGG$
	131

RA-7	${\tt GTTTAATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCGTTTGGTCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGGTTTATTGTTTGGGCTCATCATATGTTTACGGTGGGG$
RA-3	${\tt GTTTAATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCGTTTGGTCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTCCTTGGGTTTATTGTTTGGGCTCATCATATGTTTACGGTGGGG$
RV-1	${\tt GTTT}{\tt GATTTCCCAAATAGTTATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTTGGTCATTTAGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCTCATCATATGTTTACGGTAGGG$
RV-2	${\tt GTTT}{\tt GATTTCCCAAATAGTTATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTTGGTCATTTAGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCTCATCATATGTTTACGGTAGGG$
RV-3	${\tt GTTT}{\tt GATTTCCCAAATAGTTATGTTTTATTCTTCTAAGGATCAGGCATTTGGTCATTTAGGTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGAGTTCTTGGGTTTATTGTTTGGGCTCATCATATGTTTACGGTAGGG$
ESG-1	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCCTCTAAGGACCAGGCGTTTGGTCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGGTTACTATTGGTGTTCTTGGATTTATTGTTTGGGCGCACCATATGTTTACGGTGGGG$
ESG-2	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCCTCTAAGGACCAGGCGTTTGGTCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGGTTACTATTGGTGTTCTTGGATTTATTGTTTGGGCGCACCATATGTTTACGGTGGGG$
ESG-4	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCCTCTAAGGACCAGGCGTTTGGTCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGGTTACTATTGGTGTTCTTGGATTTATTGTTTGGGCGCACCATATGTTTACGGTGGGG$
ESG-6	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCCTCTAAGGACCAGGCGTTTGGTCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGGTTACTATTGGTGTTCTTGGATTTATTGTTTGGGCGCACCATATGTTTACGGTGGGG$
BLP-1	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCCTCTAAGGACCAGGCGTTTGGTCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGGTTACTATTGGTGTTCTTGGATTTATTGTTTGGGCGCACCATATGTTTACGGTGGGG$
BLP-2	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCCTCTAAGGACCAGGCGTTTGGTCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGGTTACTATTGGTGTTCTTGGATTTATTGTTTGGGCGCACCATATGTTTACGGTGGGG$
BLP-3	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCCTCTAAGGACCAGGCGTTTGGTCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGGTTACTATTGGTGTTCTTGGATTTATTGTTTGGGCGCACCATATGTTTACGGTGGGG$
ESG-3	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATGTTTTATTCCTCTAAGGACCAGGCGTTTGGTCATTTGGGTATGATTTTTGCTATGGTTACTATTGGTGTTCTTGGATTTATTGTTTGGGCGCACCATATGTTTACGGTGGGG$
ESG-5	${\tt GTTT}{\tt GATTTCTCAAATAGTAATTTTTTATTCTTCTAAGGATCAGTCGTTTGGTCATTTGGCTATGATTTTTGCTATGATTTCTATTGGGGCTCTTGGGTATATTGTTTGGGCGCATCATATGTTTACGGTGGGG$
RA-4	${\tt GGTTAATTTCACAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGACCAAGCATTTGGACATTTAGGAATGATTTTTGCTATGGTTTCAATTGGGGTTCTTGGTTTTATTGTTTGGGCTCATCATATGTTTACTGTGGGT$
RA-5	${\tt GGTTAATCTCACAAATAGTAATGTTTTATTCTTCTAAGGACCAAGCATTTGGACATTTAGGAATGATTTTGCTATGATTTCAATCGGGGTTCTTGGTTTTATTGTTTGGGCTCATCATATGTTTACTGTGGGT$
AYG-F-1	${\tt GATTAATTTCCCAAATAGTTATGTTTTATTCTTCTAAGGACCAGGCGTTTGGGCACCTAGGGATGATTTTTGCGATGGTTTCGATAGGGGTACTTGGTTTTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTAGGT$
AYG-F-4	${\tt GATTAATTTCCCAAATAGTTATGTTTTATTCTTCTAAGGACCAGGCGTTTGGGCACCTAGGGATGATTTTTGCGATGGTTTCGATAGGGGTACTTGGTTTTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTAGGT$
AYG-F-3	${\tt GATTAATTTCCCAAATAGTTATGTTTTATTCTTCTAAGGACCAGGCGTTTGGGCACCTAGGGATGATTTTTGCGATGGTTTCGATAGGGGTACTTGGTTTTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTAGGT$
AYG-F-5	${\tt GATTAATTTCCCAAATAGTTATGTTTTATTCTTCTAAGGACCAGGCGTTTGGGCACCTAGGGATGATTTTTGCGATGGTTTCGATAGGGGTACTTGGTTTTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTAGGT$
AYG-F-2	${\tt GATTAATTTCCCAAATAGTTATGTTTTATTCTTCTAAGGACCAGGCGTTTGGGCACCTAGGGATGATTTTTGCGATGGTTTCGATAGGGGTACTTGGTTTTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTAGGT$
AYG-P-1	${\tt GATTAATTTCCCAAATAGTTATGTTTTATTCTTCTAAGGACCAGGCGTTTGGGCACCTAGGGATGATTTTTGCGATGGTTTCGATAGGGGTACTTGGTTTTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTAGGT$
AYG-P-5	${\tt GATTAATTTCCCAAATAGTTATGTTTTATTCTTCTAAGGACCAGGCGTTTGGGCACCTAGGGATGATTTTTGCGATGGTTTCGATAGGGGTACTTGGTTTTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTAGGT$
	132

AYG-P-3	GATTAATTTCCCAAATAGTTATGTTTTATTCTTCTAAGGACCAGGCGTTTGGGCACCTAGGGATGATTTTTGCGATGGTTTCGATAGGGGTACTTGGTTTTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTAGGT
AYG-P-4	${\tt GATTAATTTCCCAAATAGTTATGTTTATTCTTCTAAGGACCAGGCGTTTGGGCACCTAGGGATGATTTTTGCGATGGTTTCGATAGGGGTACTTGGTTTTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTAGGT$
AYG-P-2	${\tt GATTAATTTCCCAAATAGTTATGTTTATTCTTCTAAGGACCAGGCGTTTGGGCACCTAGGGATGATTTTTGCGATGGTTTCGATAGGGGTACTTGGTTTTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTAGGT$
RU-F-1	${\tt GGTTAATTTCCCAAATAGTTATGTTTATTCTTCCAAGGACCAGGCGTTTGGGCACTTAGGGATGATTTTTGCGATGGTTTCGATAGGGGTACTTGGTTTTATTGTTTGAGCCCATCATATGTTTACTGTAGGT$
RU-F-3	${\tt GGTTAATTTCCCAAATAGTTATGTTTATTCTTCCAAGGACCAGGCGTTTGGGCACTTAGGGATGATTTTTGCGATGGTTTCGATAGGGGTACTTGGTTTTATTGTTTGAGCCCATCATATGTTTACTGTAGGT$
RU-F-4	${\tt GGTTAATTTCCCAAATAGTTATGTTTTATTCTTCCAAGGACCAGGCGTTTGGGCACTTAGGGATGATTTTTGCGATGGTTTCGATAGGGGTACTTGGTTTTATTGTTTGAGCCCATCATATGTTTACTGTAGGT$
RU-F-2	${\tt GGTTAATTTCCCAAATAGTTATGTTTATTCTTCTAAGGACCAGGCGTTTGGACACTTAGGGATGATTTTTGCGATGGTTTCGATAGGGGTACTTGGTTTTATTGTTTGAGCCCATCATATGTTTACTGTAGGT$
RU-F-5	${\tt GGTTAATTTCCCAAATAGTTATGTTTATTCTTCCAAGGACCAGGCGTTTGGACACTTAGGGATGATTTTTGCGATGGTTTCGATAGGGGTACTTGGTTTTATTGTTTGAGCCCATCATATGTTTACTGTAGGT$
RU-P-1	${\tt GTTTAATCTCCCAAATAGTCATGTTTTATTCCTCTAAGGACCAGGCATTTGGACACCTAGGGATGATTTTTGCGATGGTTTCGATTGGGGTACTTGGTTTTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTAGGT$
RU-P-3	${\tt GTTTAATCTCCCAAATAGTCATGTTTTATTCCTCTAAGGACCAGGCATTTGGACACCTAGGGATGATTTTTGCGATGGTTTCGATTGGGGTACTTGGTTTTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTAGGT$
RU-P-4	${\tt GTTTAATCTCCCAAATAGTCATGTTTTATTCCTCTAAGGACCAGGCATTTGGACACCTAGGGATGATTTTTGCGATGGTTTCGATTGGGGTACTTGGTTTTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTAGGT$
RU-P-2	${\tt GTTTAATCTCCCAAATAGTCATGTTTTATTCCTCTAAGGACCAGGCATTTGGACACCTAGGGATGATTTTTGCGATGGTTTCGATTGGGGTACTTGGTTTTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACAGTAGGT$
RUT-1	${\tt GTTTAATCTCCCAAATAGTCATGTTTTATTCCTCCAAGGATCAGGCATTCGGGCACTTAGGGATGATTTTTGCTATGGTCTCGATAGGAGTACTTGGTTTTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTAGGTCTCGATAGGAGTACTTGGTTTTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTAGGTCTCGATAGGAGTACTTGGTTTTATTGTTTGAGCCCACCATATGTTTACTGTAGGTAG$
CB-1	${\tt G}{\tt G}{\tt G}{\tt G}{\tt G}{\tt G}{\tt T}{\tt A}{\tt T}{\tt A}{\tt T}{\tt A}{\tt T}{\tt T}{\tt T}{\tt T}{\tt T}{\tt T}{\tt C}{\tt A}{\tt A}{\tt G}{\tt G}{\tt G}{\tt C}{\tt A}{\tt C}{\tt G}{\tt G}{\tt A}{\tt G}{\tt A}{\tt T}{\tt T}{\tt T}{\tt C}{\tt A}{\tt A}{\tt G}{\tt A}{\tt T}{\tt C}{\tt A}{\tt A}{\tt G}{\tt A}{\tt T}{\tt C}{\tt A}{\tt A}{\tt G}{\tt A}{\tt C}{\tt C}{\tt C}{\tt C}{\tt C}{\tt C}{\tt C}{\tt C$
CB-3	${\tt G}{\tt G}{\tt G}{\tt G}{\tt G}{\tt G}{\tt T}{\tt A}{\tt T}{\tt A}{\tt T}{\tt A}{\tt T}{\tt T}{\tt T}{\tt T}{\tt T}{\tt T}{\tt C}{\tt A}{\tt A}{\tt G}{\tt G}{\tt G}{\tt C}{\tt A}{\tt C}{\tt G}{\tt G}{\tt A}{\tt G}{\tt A}{\tt T}{\tt T}{\tt T}{\tt C}{\tt A}{\tt A}{\tt G}{\tt A}{\tt T}{\tt C}{\tt A}{\tt A}{\tt G}{\tt A}{\tt T}{\tt C}{\tt A}{\tt A}{\tt G}{\tt A}{\tt C}{\tt C}{\tt C}{\tt C}{\tt C}{\tt C}{\tt C}{\tt C$
CB-2	GGGTTATTTCTCAAATAGTTATTTTTTATTCTTCAAAGGATCAGGCGTTTGGCCACCTAGGAATGATTTTTGCGATGATTTCTATTGGAGTGTTAGGATTTATTGTTTGGGCCCATCACATGTTTACAGTTGGT

KX095350.1	TTAGATGTTGATACTCGAGCTTATTTTACTGCTGCTACAATGATTATTGCTGTTCCAACTGGAGTAAAGGTTTTTAGTTGGATGGCTACTTTATATGGTACCCCTAATAATATTAATGACAGAACCTGTTTT
RME-1	${\tt TTAGATGTTGATACTCGAGCTTATTTTACTGCTGCTACAATGATTATTGCAGTTCCAACTGGAGTTAAGATTTTTAGATGATTAGCTACTTTGTATGGAAGTCCAACTAGTACTTTAGTTTCAGAGCCTGTTTTTTAGATGATTAGCTACTTTGTATGGAAGTCCAACTAGTACTTTAGTTTCAGAGCCTGTTTTTTTT$
RME-2	${\tt TTAGATGTTGATACTCGAGCTTATTTTACTGCTGCTACAATGATTATTGCAGTTCCAACTGGAGTTAAGATTTTTAGATGATTAGCTACTTTGTACGGAAGTCCAACTAGTACTTTAGTTTCAGAGCCTGTTTTTAGATGATTAGCTACTTTGTACGGAAGTCCAACTAGTACTTTAGTTTCAGAGCCTGTTTTTTAGATGATTAGCTACTTTGTACGGAAGTCCAACTAGTACTTTAGTTTCAGAGCCTGTTTTTAGATGATTAGCTACTTTGTACGGAAGTCCAACTAGTACTTTAGGTTCAGAGCCTGTTTTTAGATGATTAGCTACTTTGTACGGAAGTCCAACTAGTACTTTAGGTTCAGAGCCTGTTTTTAGATGATTAGCTACTTTGTACGGAAGTCCAACTAGTACTTTAGGTTCAGAGCCTGTTTTTAGATGATTAGCTACTTTGTACGGAAGTCCAACTAGTACTTTAGGTTCAGAGCCTGTTTTTAGATGATTAGCTACTTTGTACGGAAGTCCAACTAGTACTTTAGGTTGAGTTAGGTTAGGTTAGGTTAGGTTAGGTTGAGTTGTGAGTTGTGAGTTGGAGTTAGGTTGGAGTTAGGTTGGAGTTAGGTTGGAGTTGGAGTTGGAGTTGGAGTTGGAGTTGGAGTTGGAGTTGGAGTGGAGTTGGAGTTGGAGTTGGAGTGGAGTTGGAGTTGGGAGTTGGGAGTTGGGAGTTGGGAGTTGGGAGTGGGTGGAGTTGGGAGTTGGGAGTTGGGAGTTGGGAGTTGGGGAGTTGGGAGTTGGGGAGTTGGGTGGGAGTTGGGGGTGGGTGGGTGGGTGGGTGGGTGGGTGGGGGG$
RME-3	${\tt TTAGATGTTGATACTCGAGCTTATTTTACTGCTGCTACAATGATTATTGCAGTTCCAACTGGAGTTAAGATTTTTAGATGATTAGCTACTTTGTATGGAAGTCCAACTAGTACTTTAGTTTCAGAGCCTGTTTTTTAGATGATTAGCTACTTTGTATGGAAGTCCAACTAGTACTTTAGTTTCAGAGCCTGTTTTTTTT$
RME-4	${\tt TTAGATGTTGATACTCGAGCTTATTTTACTGCTGCTACAATGATTATTGCAGTTCCGACTGGAGTTAAGATTTTTAGATGATTAGCTACTTTGTATGGAAGTCCAACTAGTACTTTAGTTTCAGAGCCTGTTTTTTAGATGATTAGCTACTTTGTATGGAAGTCCAACTAGTACTTTAGTTTCAGAGCCTGTTTTTTTT$
RD-1	${\tt TTAGATGTGGATACTCGAGCTTATTTTACTGCTGCTACAATGATTATTGCAGTCCCCACTGGAGTTAAGATTTTTAGATGGTTAGCTACTTTATACGGAAGTCCCACTAGTACTTTAGTTCAGAGCCTGTTTTTAGATGGTTAGCTACTTTATACGGAAGTCCCACTAGTACTTTAGTTCAGAGCCTGTTTTTAGATGGTTAGCTACTTTATACGGAAGTCCCACTAGTACTTTAGATGGTTAGCTAGTAGCTACTTTATACGGAAGTCCCACTAGTACTTTAGATGGTTAGCTAGTTAGCTAGTAGTTAGT$
RD-4	${\tt TTAGATGTGGATACTCGAGCTTATTTTACTGCTGCTACAATGATTATTGCAGTCCCCACTGGAGTTAAGATTTTTAGATGGTTAGCTACTTTATACGGAAGTCCCACTAGTACTTTAGTTCAGAGCCTGTTTTTAGATGGTTAGCTACTTTATACGGAAGTCCCACTAGTACTTTAGTTCAGAGCCTGTTTTTAGATGGTTAGCTACTTTATACGGAAGTCCCACTAGTACTTTAGTTCAGAGCCTGTTTTTAGATGGTTAGCTACTTTATACGGAAGTCCCACTAGTACTTTAGTTCAGAGCCTGTTTTTAGATGGTTAGCTACTTTATACGGAAGTCCCACTAGTACTTTAGTTCAGAGCCTGTTTTTAGTTGGTTAGCTACTTTATACGGAAGTCCCACTAGTACTTTAGTTCAGAGCCTGTTTTTAGATGGTTAGCTACTTTATACGGAAGTCCCACTAGTACTTTAGTTCAGAGCCTGTTTTTAGATGGTTAGCTACTTTATACGGAAGTCCCACTAGTACTTTAGTTCAGAGCCTGTTTTTAGATGGTTAGCTACTTTATACGGAAGTCCCACTAGTACTTTAGTTCAGAGCCTGTTTTTAGATGGTTAGCTACTTTATACGGAAGTCCCACTAGTACTTTAGTTCAGAGCCTGTTTTTAGATGGTTAGCTACTTTAGTTGCAGTCCCACTAGTAGTTTTAGTTGGAGTCCCACTAGTAGTTTTTAGTTGCAGTCCCACTAGTAGTTTTTAGTTGCAGTCCCACTGGTTAGCTTAGCTGGTTAGCTTTTTTTAGTTGCGGAGTTAGCTGGTTAGCTTTTTAGTTGCGGAGTTAGCTGTTTTTTGGAGTGGTTGGT$
RD-5	${\tt TTAGATGTGGATACTCGAGCTTATTTTACTGCTGCTACAATGATTATTGCAGTCCCCACTGGAGTTAAGATTTTTAGATGGTTAGCTACTTTATACGGAAGTCCCACTAGTACTTTAGTTTCAGAGCCTGTTTTTTAGATGGTTAGCTACTTTATACGGAAGTCCCACTAGTACTTTAGTTTCAGAGCCTGTTTTTTTT$
RD-2	${\tt TTAGATGTGGATACTCGAGCTTATTTTACTGCTGCTACAATGATTATTGCAGTCCCTACTGGAGTTAAGATTTTTAGATGGTTAGCTACTTTATACGGAAGTCCCACTAGTACTTTAGTTCAGAGCCTGTTTTTAGATGGTTAGCTACTTTATACGGAAGTCCCACTAGTACTTTAGTTCAGAGCCTGTTTTTTTT$
RD-3	${\tt TTAGATGTGGATACTCGAGCTTATTTTACTGCTGCTACAATGATTATTGCAGTACCTACTGGAGTTAAGATTTTTAGATGGTTAGCTACTTTATACGGAAGTCCTACTAGTACTTTAGTTTCAGAGCCTGTTTTTTAGATGGTTAGCTACTTTATACGGAAGTCCTACTAGTACTTTAGTTTCAGAGCCTGTTTTTTTT$
RG-3	${\tt TTAGATGTTGATACTCGAGCATATTTTACAGCTGCTACAATGATTATTGCAGTCCCCACTGGAGTTAAGATCTTTAGATGGCTAGCTA$
RG-4	${\tt TTAGATGTTGATACTCGAGCATATTTTACAGCTGCTACAATGATTATTGCAGTCCCCACTGGAGTTAAGATCTTTAGATGGCTAGCTA$
RG-8	${\tt TTAGATGTTGATACTCGAGCATATTTTACAGCTGCTACAATGATTATTGCAGTCCCCACTGGAGTTAAGATCTTTAGATGGCTAGCTA$
RG-6	${\tt TTAGATGTTGATACTCGAGCATATTTTACAGCTGCTACAATGATTATTGCAGTCCCCACTGGAGTTAAGATCTTTAGATGGCTAGCTA$
RMP-1	${\tt TTGGATGTAGATACTCGGGCCTTATTTTACTGCAGCCACAATGATTATAGCAGTACCAACTGGAGTTAAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGACCACTAGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGACCACTAGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGGTTAGGTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGGTTAGGTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGGAGCCTGCATTATGGTAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGGAGCCTGCATTATGGTAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGGAGCCTGCATTATGGTAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGGAGCCTGCATTATGGTAGGTTAGGTTAGGTAGG$
RMP-2	${\tt TTGGATGTAGATACTCGGGCCTTATTTTACTGCAGCCACAATGATTATAGCAGTACCAACTGGAGTTAAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGACCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGACCACTGGAGTTAAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGGTTAGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGGAGCCTGCATTATGGTAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGGAGCCTGCATTATGGTAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGGAGCCTGCATTATGGTAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTTTTAGTTGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGGAGCCTGCATTATGGTAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTGTAGGTAG$
RMP-4	${\tt TTGGATGTAGATACTCGGGCCTTATTTTACTGCAGCCACAATGATTATAGCAGTACCAACTGGAGTTAAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGACCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGACCACTGGAGTTAAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGGTTAGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGGAGCCTGCATTATGGTAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGGAGCCTGCATTATGGTAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGGAGCCTGCATTATGGTAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTTTTAGTTGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGGAGCCTGCATTATGGTAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTGTAGGTAG$
RMB-3	${\tt TTGGATGTAGATACTCGGGGCTTATTTTACTGCAGCCACAATGATTATAGCAGTACCAACTGGAGTTAAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGACCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATAGCAGTACTACTGGAGTTAAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATAGCAGTAACTACTGGAGTTAAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATAGCAGTAACTACTGGAGTTAAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATAGCAGTAACTACTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGGAGCCTGCATTATAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGGAGCCTGCATTATAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATAGTTGGTTAGCCACTGGTAGCCAGTAACTACTTTATGGTAGAGTTATAGTAGTTAGT$
RG-1	${\tt TTGGATGTAGATACTCGGGGCTTATTTTACTGCAGCCACAATGATTATAGCAGTACCAACTGGAGTTAAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGACCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGGTTAGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTGGTTAGGTTAGGTTAGGTTAGGTTAGGTTAGGTAGG$
RG-2	${\tt TTGGATGTAGATACTCGGGCCTTATTTTACTGCAGCCACAATGATTATAGCAGTACCAACTGGAGTTAAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGACCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGACCACTGGAGTTAAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGGTTAGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGGAGCCTGCATTATGGTAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGGAGCCTGCATTATGGTAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGGAGCCTGCATTATGGTAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTTTTAGTTGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGGAGCCTGCATTATGGTAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTGTAGGTAG$
RMB-2	${\tt TTGGATGTAGATACTCGGGGCTTATTTTACTGCAGCCACAATGATTATAGCAGTACCAACTGGAGTTAAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGACCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATAGCAGTACTACTGGAGTTAAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATAGCAGTAACTACTGGAGTTAAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATAGCAGTAACTACTGGAGTTAAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATAGCAGTAACTACTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGGAGCCTGCATTATAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGGAGCCTGCATTATAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATAGTTGGTTAGCCACTGGTAGCCAGTAACTACTTTATGGTAGAGTTATAGTAGTTAGT$
RMB-1	${\tt TTGGATGTAGATACTCGGGGCTTATTTTACTGCAGCCACAATGATTATAGCAGTACCAACTGGAGTTAAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGACCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGGTTAGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTGGTTAGGTTAGGTTAGGTTAGGTTAGGTTAGGTAGG$
RG-5	${\tt TTGGATGTAGATACTCGGGCCTTATTTTACTGCAGCCACAATGATTATAGCAGTACCAACTGGAGTTAAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGACCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATTATGGTAGACCACTGGTAGCCACTGCAGTAACTACTGCAGAGCCTGCATTATGGTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGGAGCCTGCATTATGGTAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGGAGCCTGCATTATGGTAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTTATGGGCAGGAGCCTGCATTATGGTAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTTATCGGCAGGAGCCTGCATTTTTAGTTGGTTAGCCACTTTTTTTT$

RG-7	${\tt TTGGATGTAGATACTCGGGCTTATTTTACTGCAGCCACAATGATTATAGCAGTACCAACTGGAGTTAAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATT$
RMP-3	${\tt TTGGATGTAGATACTCGGGCTTATTTTACTGCAGCCACAATGATTATAGCAGTACCAACTGGAGTTAAGGTTTTTAGTTGGTTAGCCACTCTTTATGGTAGACCAGTAACTACTTTATCGGCAGAGCCTGCATT$
AC-1	${\tt CTAGATGTAGACACTCGTGCTTATTTTACAGCAGCTACAATGATTATAGCTGTGCCGACTGGAGTTAAGGTTTTTAGATGGTTAGCCACTCTCTATGGTAGACCTGTCACTACTTTATCAGCAGAGCCTGCTTTTAGATGGTTAGCCACTCTCTATGGTAGACCTGTCACTACTTTATCAGCAGAGCCTGCTTTTAGATGGTTAGCCACTCTCTATGGTAGACCTGTCACTACTTTATCAGCAGAGCCTGCCT$
AC-2	${\tt ctagatgtagacactcgtgcttattttacagcagctacaatgattatagctgtgccgactggagttaaggtttttggatggttagccactctctatggtagacctgtcactactttatcagcagagcctgctttttagatggttagccactctctatggtagacctgtcactactttatcagcagagcctgcttttttagatggttagccactctctatggtagacctgtcactactttatcagcagagcctgcttttttagatggttagccactctctatggtagacctgtcactactttatcagcagagcctgctttttttt$
AC-3	${\tt ctagatgtagacactcgtgcttattttacagcagctacaatgattatagctgtgccgactggagttaaggtttttagatggttagccactctctatggtagacctgtcactactttatcagcagagcctgctttttagatggttagccactctctatggtagacctgtcactactttatcagcagagcctgctttttagatggttagccactctctatggtagacctgtcactactttatcagcagagcctgctttttagatggttagccactctctatggtagacctgtcactactttatcagcagagcctgcttttttagatggttagccactctctatggtagacctgtcactactttatcagcagagcctgctttttttt$
AC-4	${\tt ctagatgtagacactcgtgcttattttacagcagctacaatgattatagctgtgccgactggagttaaggtttttggatggttagccactctctatggtagacctgtcactactttatcagcagagcctgcttt$
RN14-1	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCGACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGGTTAGCCACTCTTTATGGTTCTCCAGTCACTATTTTATCTTCTGAACCAGTGTTAGGTTTTTAGGTGGTTAGCCACTCTTTATGGTTCTCCAGTCACTATTTTATCTTCTGAACCAGTGTTTTAGGTTGTTAGGTGGTTAGCCACTCTTTATGGTTCTCCAGTCACTATTTTATCTTCTGAACCAGTGTTTTAGGTGGTTAGGCCACTCTTTTTGGTTCTCCAGTCACTATTTTATCTTCTGAACCAGTGTTTTAGGTGGTTAGGTGGTTAGGTGGTTAGGTGGTTAGGTGTTCTCCAGTCACTATTTTTTTT$
RN14-4	${\tt cttgatgtggatactcgagcatattttactgcagctactatgattattgctgtgccgactggggttaaggtttttaggtggttagccactctttatggttctccagtcactattttatcttctgaaccagtgtt}$
LB-1	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
LB-2	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
RP-3	${\tt cttgatgtggatactcgagcatattttactgcagctactatgattattgctgtgccaactggggttaaggtttttaggtgattagccactctttatggctctcctgttactattttatcttctgagccagtgtt}$
LB-4	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
RN14-5	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
AZ-1	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
AZ-2	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
LB-6	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
AZ-3	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
LB-3	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
PS-3	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
PS-2	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
PS-5	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
PS-4	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
PS-1	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
	135

RP-1	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTT$
LB-5	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTCAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
AT-1	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTCAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
RP-5	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTCAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
RP-6	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTCAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
RP-7	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTCAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
RP-4	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTCAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
AZ-4	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTCAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
AZ-5	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
RN14-2	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
RP-2	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
RNO-1	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
RNO-3	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
RNO-4	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
RNO-2	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCTACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
RN14-3	${\tt CTTGATGTGGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCAACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTGTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTGTTTAGGTGATTAGCCACTCTGTATGGCTCTCCTGTTACTATTTTTTTT$
LC-1	${\tt CTTGATGTGGATACACGAGCATATTTTACAGCGGCTACTATGATTATTGCTGTGCCCACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCGCCAGTTACTGTTTTGTCTTCCGAGCCGGTTTT$
LC-2	${\tt CTTGATGTGGATACACGAGCATATTTTACAGCGGCTACTATGATTATTGCTGTGCCCACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCGCCAGTTACTGTTTTGTCTTCCGAGCCGGTTTT$
LC-3	${\tt CTTGACGTGGATACACGAGCATATTTTACAGCGGCTACTATGATTATTGCTGTGCCCACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCGCCAGTTACTGTTTTGTCTTCCGAGCCGGTTTT$
LC-4	${\tt CTTGACGTGGATACACGAGCATATTTTACAGCGGCTACTATGATTATTGCTGTGCCCACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGCTCGCCAGTTACTGTTTTGTCTTCCGAGCCGGTTTT$
RA-1	${\tt CTTGATGTGGATACTCGCGCGTATTTTACAGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCGACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGTTCGCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTTTT$
RA-6	${\tt CTTGATGTGGATACTCGCGCGTATTTTACAGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCGACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGTTCGCCTGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTTTT$
RA-2	${\tt CTTGATGTGGATACTCGCGCGTATTTTACAGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCGACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGTTCGCCCGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGTTCGCCCGTTACTATTTTTTTT$
	136

RA-7	${\tt CTTGATGTGGATACTCGCGCGTATTTTACAGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCGACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGATTAGCCACTCTTTATGGTTCGCCCGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTTTT$
RA-3	${\tt CTTGATGTGGATACTCGTGCGTATTTTACAGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCGACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGGTTAGCCACTCTTTATGGTTCGCCCGTTACTATTTTATCTTCTGAGCCAGTTTTTAGGTGGTTAGCCACTCTTTATGGTTCGCCCGTTACTATTTTTTTT$
RV-1	${\tt CTTGACGTGGATACTCGGGCCTATTTTACAGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCGACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGGCTACTCTTTATGGTTCACCAGTCACTGTTTTGTCTTCTGAGCCGGTTTTTAGGTTGGCTACTCTTTATGGTTCACCAGTCACTGTTTTGTCTTCTGAGCCGGTTTTTTTT$
RV-2	${\tt CTTGACGTGGATACTCGGGCCTATTTTACAGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCGACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGGTTGGCTACTCTTTATGGTTCACCAGTCACTGTTTTGTCTTCTGAGCCGGTTTTTAGGTTGGCTACTCTTTATGGTTCACCAGTCACTGTTTTGTCTTCTGAGCCGGTTTTTTTT$
RV-3	${\tt CTTGACGTGGATACTCGGGCCTATTTTACAGCAGCTACTATGATTATTGCTGTGCCGACTGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGGCTACTCTTTATGGTTCACCAGTCACTGTTTTGTCTTCTGAGCCGGTTTTTAGGTTGGCTACTCTTTATGGTTCACCAGTCACTGTTTTGTCTTCTGAGCCGGTTTTTTTT$
ESG-1	${\tt CTTGATGTAGACACCAGGAGCTTATTTTACAGCAGCCACTATGATCATCGCTGTGCCGACAGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTACTGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTACTGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTTTTTT$
ESG-2	${\tt CTTGATGTAGACACCAGGAGCTTATTTTACAGCAGCCACTATGATCATCGCTGTGCCGACAGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTACTGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTACTGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTTTTTT$
ESG-4	${\tt CTTGATGTAGACACCAGGAGCTTATTTTACAGCAGCCACTATGATCATCGCTGTGCCGACAGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTACTGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTACTGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTTTTTT$
ESG-6	${\tt CTTGATGTAGACACCAGGAGCTTATTTTACAGCAGCCACTATGATCATCGCTGTGCCGACAGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTACTGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTACTGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTTTTTT$
BLP-1	${\tt CTTGATGTAGACACCAGGAGCTTATTTTACAGCAGCCACTATGATCATCGCTGTGCCGACAGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTACTGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTACTGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTTTTTT$
BLP-2	${\tt CTTGATGTAGACACCAGGAGCTTATTTTACAGCAGCCACTATGATCATCGCTGTGCCGACAGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTACTGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTACTGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTTTTTT$
BLP-3	${\tt CTTGATGTAGACACCAGGAGCTTATTTTACAGCAGCCACTATGATCATCGCTGTGCCGACAGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTACTGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTACTGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTTTTTT$
ESG-3	${\tt CTTGATGTAGACACCAGGAGCTTATTTTACAGCAGCCACTATGATCATCGCTGTGCCGACAGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTACTGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTACTGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCGCCAGTTATGTCTTCCGAACCAGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTTTTTT$
ESG-5	${\tt CTTGATGTAGACACCAGGAGCTTATTTTACAGCAGCCACTATGATTATCGCTGTGCCGACAGGGGTTAAGGTTTTTAGGTGGTTAGCTACTCTTTATGGTTCTCCCGCTACTGTTTTGTCTTCCGAACCAGTTTT$
RA-4	${\tt TTAGATGTGGATACTCGGGCATATTTTACTGCGGCTACTATGATTATTGCGGTTCCAACTGGGGTAAAGGTTTTTAGGTGATTGGCAACTTTATATGGCTCTCCGGTTACTATTTTATCATCTGAGCCCGTGTT$
RA-5	${\tt TTAGATGTGGACACTCGGGCATATTTTACTGCGGCCACTATGATTATTGCAGTTCCAACTGGGGTAAAGGTTTTTAGGTGATTGGCAACTTTATATGGCTCTCCGGTTACTATTTTATCATCTGAGCCAGTGCT$
AYG-F-1	${\tt TTGGATGTTGATACTCGGGCATATTTTACTGCAGCAACCATGATAATCGCCGTCCCGACTGGAGTAAAGGTTTTCAGATGGTTGGCGACTTTATATGGCTCCCCTGTGGCTATTTTATCTTCTGAGCCGGTTTT$
AYG-F-4	${\tt TTGGATGTTGATACTCGGGCATATTTTACTGCAGCAACCATGATAATCGCCGTCCCGACTGGAGTAAAGGTTTTCAGATGGTTGGCGACTTTATATGGCTCCCCTGTGGCTATTTTATCTTCTGAGCCGGTTTTTATCTTCTGAGCCGGTTTTTATCTTCTGAGCCGGTTTTTATCTTCTGAGCCGGTTTTTATCTTCTGAGCCGGTTTTTATGGCTCCCCTGTGGCTATTTTTTTT$
AYG-F-3	${\tt TTGGATGTTGATACTCGGGCATATTTTACTGCAGCAACCATGATAATCGCCGTCCCGACTGGAGTAAAGGTTTTCAGATGGTTGGCGACTTTATATGGCTCCCCTGTGGCTATTTTATCCTCTGAGCCGGTTTT$
AYG-F-5	${\tt TTGGATGTTGATACTCGGGCATATTTTACTGCAGCAACCATGATAATCGCCGTCCCGACTGGAGTAAAGGTTTTCAGATGGTTGGCGACTTTATATGGCTCCCCTGTGGCTATTTTATCTTCTGAGCCGGTTTT$
AYG-F-2	${\tt TTGGATGTTGATACTCGGGCATATTTTACTGCAGCAACCATGATAATCGCCGTCCCGACTGGAGTAAAGGTTTTCAGATGGTTGGCGACTTTATATGGCTCCCCTGTGGCTATTTTATCTTCTGAGCCGGTTTT$
AYG-P-1	${\tt TTGGATGTTGATACTCGGGCATATTTTACTGCAGCAACCATGATAATCGCCGTCCCGACGGGAGTAAAGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATATGGCTCCCCTGTGGCTATTTTATCTTCTGAGCCGGTTTT$
AYG-P-5	${\tt TTGGATGTTGATACTCGGGCATATTTTACTGCAGCAACCATGATAATCGCCGTCCCGACGGGAGTAAAGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATATGGCTCCCCTGTGGCTATTTTATCTTCTGAGCCGGTTTT$
	137

AYG-P-3	${\tt TTGGATGTTGATACTCGGGCATATTTTACTGCAGCAACCATGATAATCGCCGTCCCGACGGGAGTAAAGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATATGGCTCCCCTGTGGCTATTTTATCTTCTGAGCCGGTTTT$
AYG-P-4	${\tt TTGGATGTTGATACTCGGGCATATTTTACTGCAGCAACCATGATAATCGCCGTCCCGACTGGAGTAAAGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATATGGCTCTCCTGTGGCTATTTTATCTTCTGAGCCGGTTTTTATATGGCTCTCCTGTGGCTATTTTATCTTCTGAGCCGGTTTTTTATGGCTGGC$
AYG-P-2	${\tt TTGGATGTGGATACTCGGGCATATTTTACTGCAGCAACCATGATAATCGCCGTCCCGACTGGAGTAAAGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATATGGCTCCCCTGTGGCTATTTTATCCTCTGAGCCGGTTTTTATATGGCTCCCCTGTGGCTATTTTATCCTCTGAGCCGGTTTTTTATGGCTGGC$
RU-F-1	${\tt TTGGATGTTGATACTCGGGCTTATTTTACTGCAGCAACCATGATAATCGCCGTCCCAACTGGAGTAAAGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATACGGCTCCCCCGTGGCTATTTTATCTTCTGAGCCGGTTTTTAAAGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATACGGCTCCCCCGTGGCTATTTTATCTTCTGAGCCGGTTTTTAAAGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATACGGCTCCCCGTGGCTATTTTATCTTCTGAGCCGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATACGGCTCCCCGTGGCTATTTTATCTTCTGGGCGACTTTATACGGCTCCCCGTGGCTATTTTATCTTCTGGGCGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATACGGCTCCCCGTGGCTATTTTATCTTCTGGGCGGTTTTTGGGGGGCGGCTGGCT$
RU-F-3	${\tt TTGGATGTTGATACTCGGGCTTATTTTACTGCAGCAACCATGATAATCGCCGTCCCAACTGGAGTAAAGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATACGGCTCCCCCGTGGCTATTTTATCTTCTGAGCCGGTTTTTAAAGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATACGGCTCCCCCGTGGCTATTTTATCTTCTGAGCCGGTTTTTAAAGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATACGGCTCCCCGTGGCTATTTTATCTTCTGAGCCGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATACGGCTCCCCGTGGCTATTTTATCTTCTGGGCGACTTTATACGGCTCCCCGTGGCTATTTTATCTTCTGGGCGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATACGGCTCCCCGTGGCTATTTTATCTTCTGGGCGGTTTTTGGGGGGCGGCTGGCT$
RU-F-4	${\tt TTGGATGTTGATACTCGGGCTTATTTTACTGCAGCAACCATGATAATCGCCGTCCCAACTGGAGTAAAGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATACGGCTCTCCCGTGGCTATTTTATCTTCTTGAGCCGGTTTTTAAAGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATACGGCTCTCCCGTGGCTATTTTATCTTCTTCTGAGCCGGTTTTTAAAGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATACGGCTCTCCCGTGGCTATTTTATCTTCTTCTGAGCCGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATACGGCTCTCCCGTGGCTATTTTATCTTCTGAGCCGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATACGGCTCTCCCGTGGCTATTTTATCTTCTTCTGAGCCGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATACGGCTCTCCCGTGGCTATTTTATCTTCTTGGGCGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATACGGCTCTCCCGTGGCTATTTTATCTTCTGAGCCGGTTTTTGGAGTAAAGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATACGGCTCTCCCGTGGCTATTTTATCTTCTGGGCGGTTTTTGGAGTGGTGGCGACTTTATACGGCTCTCCCGTGGCTATTTTATCTTCTGGGCGGTTTTTGGAGTGGTGGCGACTTTATACGGCTCTCCCGTGGCTATTTTTGGGCGGTTTTTGGAGTGGTGGCGGCGGTTTTTGGGGGGTGGCGGTTTTTGGGGGG$
RU-F-2	${\tt TTGGATGTTGATACTCGGGCTTATTTTACTGCAGCAACCATGATAATCGCCGTCCCGACTGGAGTAAAGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATATGGCTCCCCGGTGGCTATTTTATCTTCTGAGCCGGTTTTTAAAGGTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATATGGCTCCCCGGTGGCTATTTTATCTTCTGAGCCGGTTTTTAAAGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATATGGCTCCCGGTGGCTATTTTATCTTCTGAGCCGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATATGGCTCCCGGTGGCTATTTTATCTTCTGGCGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATATGGCTCCCGGTGGCTATTTTATCTTCTGGGCGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATATGGCTCCCGGTGGCTATTTTATCTTCTGGGCGGTTTTTGGCGGCGGTGGCTATTTTTGGGCGGCGGTGGCTATTTTTGGGCGGTGGCGGTGGCTGGGGGTGGCGGTTTTTGGGTGGGGGCGGGGGG$
RU-F-5	${\tt TTGGATGTTGATACTCGGGCTTATTTTACTGCAGCAACCATGATAATCGCCGTCCCGACTGGAGTAAAGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATATGGCTCCCCGGTGGCTATTTTATCTTCTGAGCCGGTTTTTAAAGGTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATATGGCTCCCCGGTGGCTATTTTATCTTCTGAGCCGGTTTTTAAAGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATATGGCTCCCGGTGGCTATTTTATCTTCTGAGCCGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATATGGCTCCCGGTGGCTATTTTATCTTCTGGCGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATATGGCTCCCGGTGGCTATTTTATCTTCTGGGCGGTTTTTAGATGGTTGGCGACTTTATATGGCTCCCGGTGGCTATTTTATCTTCTGGGCGGTTTTTGGCGGCGGTGGCTATTTTTGGGCGGCTGGCGGTGGCTATTTTTGGCTGGGGTGGCTGGGGGTGGCGGTTTTTGGGTGGGGGCGGGGGG$
RU-P-1	${\tt TTGGATGTTGATACTCGAGCCTATTTTACTGCAGCAACTATGATAATCGCCGTCCCGACTGGGGTGAAGGTTTTTAGTTGGTTG$
RU-P-3	${\tt TTGGATGTTGATACTCGAGCCTATTTTACTGCAGCAACTATGATAATCGCCGTCCCGACTGGGGTGAAGGTTTTTAGTTGGTTG$
RU-P-4	${\tt TTGGATGTTGATACTCGAGCCTATTTTACTGCAGCAACTATGATAATCGCCGTCCCGACTGGGGTGAAGGTTTTTAGTTGGTTG$
RU-P-2	${\tt TTGGATGTTGATACTCGAGCATATTTTACTGCAGCAACTATGATAATAGCCGTCCCGACTGGGGTGAAGGTTTTTAGTTGGTTG$
RUT-1	${\tt TTGGATGTGGATACTCGGGCATATTTTACTGCAGCAACTATGATAATTGCCGTCCCCACTGGGGTAAAGGTTTTTAGTTGGTTG$
CB-1	${\tt ctagatgttgacacacgtgcttattttacggctgctactatgattattgctgttcccacaggagtaaagatttttaggtggttagcaactttgtatggctcacctgtaagtattttatcctctgaaccttcttttatgattgat$
CB-3	${\tt ctagatgttgacacacgtgcttattttacggctgctactatgattattgctgttcccacaggagtaaagatttttaggtggttagcaactttgtatggctcacctgtaagtattttatcctctgaaccttcttt$
CB-2	CTAGATGTTGACACACGTGCTTATTTTACGGCTGCTACTATGATTATTGCTGTTCCCACAGGAGTAAAGATTTTTAGGTGGTTAGCAACTTTGTATGGCTCACCTGTAAGTATTTTATCCTCTGAACCTTCTTT

KX095350.1	ATTTTGAGTAAAAGGTTTTATTTTTTTTTTGTTTACTATTGGTGGCTTAACTGGAGTAGTTTTATCAAAAGCC
RME-1	${\tt ATTTTGAGTTAATGGATTTATTTTTTTTTTTTTTTTTT$
RME-2	${\tt ATTTTGAGTTAATGGATTTATTTTTTTTTTTTTTTTTT$
RME-3	${\tt ATTTTGAGTTAATGGATTTATTTTTTTTTTTTTTTTTT$
RME-4	${\tt ATTTTGAGTTAATGGATTTATTTTTTTTTTTTTTTTTT$
RD-1	${\tt ATTTTGAGTTAATGGATTTATTTTTTTTTTTTTTTTTT$
RD-4	${\tt ATTTTGAGTTAATGGATTTATTTTTTTTTTTTTTTTTT$
RD-5	${\tt ATTTTGAGTTAATGGATTTATTTTTTTTTTTTTTTTTT$
RD-2	${\tt ATTTTGAGTTAATGGATTTATTTTTTTTTTTTTTTTTT$
RD-3	${\tt ATTTTGAGTTAATGGATTTATTTTTTTTTTTTTTTTTT$
RG-3	${\tt GTTTTGAGTTAATGGATTTATTTTTTTTTTTTTTTTTT$
RG-4	${\tt GTTTTGAGTTAATGGATTTATTTTTTTTTTTTTTTTTT$
RG-8	${\tt GTTTTGAGTTAATGGATTTATTTTTTTTTTTTTTTTTT$
RG-6	${\tt GTTTTGAGTTAATGGATTTATTTTTTTTTTTTTTTTTT$
RMP-1	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTGTTTACTATTGGGGGGGCCTTACTGGGGTAGTTTTGTCTAATGCTAGACTAGATGTTTCTTTACATGATACTTACT$
RMP-2	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTGTTTACTATTGGGGGGGCCTTACTGGGGTAGTTTTGTCTAATGCTAGACTAGATGTTTCTTTACATGATACTTACT$
RMP-4	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTTTTTTGTTACTATTGGGGGGGCCTTACTGGGGTAGTTTTGTCTAATGCTAGACTAGATGTTTCTTTACATGATACTTACT$
RMB-3	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTGTTTACTATTGGGGGGGCCTTACTGGGGTAGTTTTGTCTAATGCTAGACTAGATGTTTCTTTACATGATACTTACT$
RG-1	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTGTTTACTATTGGGGGGGCCTTACTGGGGTAGTTTTGTCTAATGCTAGACTAGATGTTTCTTTACATGATACTTACT$
RG-2	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTGTTTACTATTGGGGGGGCCTTACTGGGGTAGTTTTGTCTAATGCTAGACTAGATGTTTCTTTACATGATACTTACT$
RMB-2	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTGTTTACTATTGGGGGGGCCTTACTGGGGTAGTTTTGTCTAATGCTAGACTAGATGTTTCTTTACATGATACTTACT$
RMB-1	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTGTTTACTATTGGGGGGGCCTTACTGGGGTAGTTTTGTCTAATGCTAGACTAGATGTTTCTTTACATGATACTTACT$
RG-5	GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTGTTTACTATTGGGGGGCCTTACTGGGGGTAGTTTTGTCTAATGCTAGACTAGATGTTTCTTTACATGATACTTACT

RG-7	GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTGTTTACTATTGGGGGGGCCTTACTGGGGTAGTTTTGTCTAATGCTAGACTAGATGTTTCTTTACATGATACTTACT
RMP-3	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTTGTTTACTATTGGGGGGCCTGACTGGGGTAGTTTTGTCTAATGCTAGACTAGATGTTTCTTTACATGATACTTACT$
AC-1	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTTTTTTTT$
AC-2	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTTTTTTTT$
AC-3	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTTTTTTTT$
AC-4	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTTTTTTTT$
RN14-1	${\tt GTTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTTATTTA$
RN14-4	GTTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTATTTA
LB-1	${\tt ATTCTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGG$
LB-2	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGG$
RP-3	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGG$
LB-4	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGG$
RN14-5	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGG$
AZ-1	ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGCTTACTGGAGTAGTG
AZ-2	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGG$
LB-6	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGG$
AZ-3	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGG$
LB-3	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGG$
PS-3	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGG$
PS-2	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGG$
PS-5	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGG$
PS-4	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGG$
PS-1	ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGG

RP-1	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGG$
LB-5	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGCTTACTGGAGTAGTGCTGTCTAATGCTAGATTAGATGTGTCTCTTCATGACACTTATTATGTTGTTGCCCCCCCC$
AT-1	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGCTTACTGGAGTAGTGCTGTCTAATGCTAGATTAGATGTGTCTCTTCATGACACTTATTATGTTGTTGCTGCTGTCTAATGCTAGATTAGATGTGTCTCTTCATGACACTTATTATGTTGTTGTTGCTGCTGTCTAATGCTAGATTAGATGTGTCTCTTCATGACACTTATTATGTTGTTGTTGCTGCTGTCTAATGCTAGATTAGATGTGTCTCTTCATGACACTTATTATGTTGTTGTTGCTGCTGTCTAATGCTAGATTAGATGTGTCTCTTCATGACACTTATTATGTTGTTGTTGCTGCTGTCTAATGCTAGATTAGATGTGTCTCTTCATGACACTTATTATGTTGTTGTTGTTGCTGTCTGT$
RP-5	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGG$
RP-6	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGCTTACTGGAGTAGTGCTGTCTAATGCTAGATTAGATGTGTCTCTTCATGACACTTATTATGttgttGCT$
RP-7	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGCTTACTGGAGTAGTGCTGTCTAATGCTAGATGTGTCTCTTCATGACACTTATTATGTTgtTGCT$
RP-4	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGCTTACTGGAGTAGTGCTGTCTAATGCTAGATTAGATGTGTCTCTTCATGACACTTATTATGTTgtTGCT$
AZ-4	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGCTTACTGGAGTAGTGCTGTCTAATGCTAGATTAGATGTGTCTCTTCATGACACTTATTATGTTGTTGTTGCTGTCTTATTGTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTT$
AZ-5	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGCTTACTGGAGTAGTGCTGTCTAATGCTAGATTAGATGTGTCTCTTCATGACACTTATTATGTTGTTGTTGCTGTCTTATTGTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTT$
RN14-2	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGCTTACTGGAGTAGTGCTGTCTAATGCTAGATTAGATGTGTCTCTTCATGACACTTATTATGTTGTTGTTGCTGTCTTATTGTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTT$
RP-2	ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGCTCACTGGAGTAGTGCTG
RNO-1	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGG$
RNO-3	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGCTTACTGGAGTAGTGCTGTCTAATGCTAGATTAGATGTGTCTCTTCATGACACTTATTATGTTGTTGTTGCTGTCTTATTGTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTT$
RNO-4	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGCTTACTGGAGTAGTGCTGTCTAATGCTAGATTAGATGTGTCTCTTCATGACACTTATTATGTTGTTGTTGCTGTCTTATTGTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTT$
RNO-2	${\tt ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGCTTACTGGAGTAGTGCTGTCTAATGCTAGATTAGATGTGTCTCTTCATGACACTTATAATGTTGTTGCTGTCTTTTTTTT$
RN14-3	ATTTTGGGTAAACGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTGGGGGGGCTTACTGGAGTAGTGCTATCTAATGCTAGA
LC-1	${\tt GTTTTGGGTGAATGGATTTATTTTTTTTTTTTGTTCACTATAGGGGGGTTAACAGGAGTGGTTTTGTCTAATGCTAGGTTGGATGTGTCCCTTCATGACACTTATTATGTTGTGGCCCTTCATGACACTTATTATGTTGTGGCCCTTCATGACACTTATTATGTTGTGGCCCTTCATGGCCCTTCATGACACTTATTATGTTGTGGCCCTTCATGGCCCTTCATGACACTTATTATGTTGTGGCCCTTCATGCTAGGTTGGATGTGTGTG$
LC-2	${\tt GTTTTGGGTGAATGGATTTATTTTTTTTTTTGTTCACTATAGGGGGGTTAACAGGAGTGGTTTTGTCTAATGCTAGGTTGGATGTGTCCCTTCATGACACTTATTATGTTGTGGCC$
LC-3	${\tt GTTTTGGGTGAATGGATTTATTTTTTTTTTTGTTCACTATAGGGGGGTTAACAGGAGTGGTTTTGTCTAATGCTAGGTTGGATGTGTCCCTTCATGACACTTATTATGTTGTGGCC$
LC-4	${\tt GTTTTGGGTGAATGGATTTATTTTTTTTTTTGTTCACTATGGGGGGGG$
RA-1	${\tt ATTTTGGGTTAATGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTTT$
RA-6	${\tt ATTTTGGGTTAATGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTTT$
RA-2	ATTTTGGGTTAATGGGTTTATTTTTTTGTTTACTATAGGGGGGATTAACTGGGGTTGTATTGTCTAATGCTAGGTTGGATGTGTCCCTTCATGACACTTATTATGTTGTTGCT

RA-7	${\tt ATTTTGGGTTAATGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTTT$
RA-3	${\tt ATTTTGGGTTAATGGGTTTATTTTTTTTTTTTTTTTTT$
RV-1	${\tt ATTTTGAGTAAATGGATTTATTTTTTTTTTTTTTTTTT$
RV-2	${\tt ATTTTGAGTAAATGGATTTATTTTTTTTTTTTTTTTTT$
RV-3	${\tt attttgagtaaatggatttatttttttttttttttttt$
ESG-1	${\tt ATTTTGGGTAAAAGGATTTATTTTTTTGTTTACTATAGGGGGGGG$
ESG-2	${\tt attttgggtaaaaggatttatttttttttttttttttatta$
ESG-4	${\tt attttgggtaaaaggatttatttttttttttttttttt$
ESG-6	${\tt attttgggtaaaaggatttatttttttttttttttttatta$
BLP-1	${\tt attttgggtaaaaggatttatttttttttttttttttatta$
BLP-2	${\tt ATTTTGGGTAAAAGGATTTATTTTTTTGTTTACTATAGGGGGGGG$
BLP-3	${\tt attttgggtaaaaggatttatttttttttttttttttatta$
ESG-3	${\tt ATTTTGGGTAAAAGGATTTATTTTTTTGTTTACTATAGGGGGGGG$
ESG-5	${\tt attttgggtttatggatttatttttttttttttttttt$
RA-4	${\tt attttgggttaaaggatttatatttttgtttactattgggggggcttacaggggtcgttttatcgaatgctaggttagacgtgtctttacatgatacttattatgtagttgct$
RA-5	${\tt ATTTTGGGTTAACGGATTTATATTTTTGTTTACTATTGGGGGGGG$
AYG-F-1	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTTTCACTATTGGGGGGGTTGACAGGAGTTGTTCTCTCTAATGCCAGGCTTGATGTGGCATTGCATGACACTTACTATGTTGTTGCGGGGTTGACAGGAGTTGTTCTCTCTAATGCCAGGCTTGATGTGGCATTGCATGACACTTACTATGTTGTTGCGGGGTTGACAGGAGTTGTTCTCTCTAATGCCAGGCTTGATGTGGCATTGCATGACACTTACTATGTTGTTGTGCGGGTTGTTCTCTCTC$
AYG-F-4	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTTTCACTATTGGGGGGGTTGACAGGAGTTGTTCTCTCTAATGCCAGGCTTGATGTGGCATTGCATGACACTTACTATGTTGTTGCGGGGTTGACAGGAGTTGTTCTCTCTAATGCCAGGCTTGATGTGGCATTGCATGACACTTACTATGTTGTTGCGGGGTTGACAGGAGTTGTTCTCTCTAATGCCAGGCTTGATGTGGCATTGCATGACACTTACTATGTTGTTGTGCGGGTTGTTCTCTCTC$
AYG-F-3	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTTTCACTATTGGGGGGGTTGACAGGAGTTGTTCTCTCTAATGCCAGGCTTGATGTGGCATTGCATGACACTTACTATGTTGTTGCGGGGTTGACAGGAGTTGTTCTCTCTAATGCCAGGCTTGATGTGGCATTGCATGACACTTACTATGTTGTTGCGGGGTTGACAGGAGTTGTTCTCTCTAATGCCAGGCTTGATGTGGCATTGCATGACACTTACTATGTTGTTGTGCGGGTTGTTCTCTCTC$
AYG-F-5	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTTTCACTATTGGGGGGGTTGACAGGAGTTGTTCTCTCTAATGCCAGGCTTGATGtGgcATTGCATGACACTTACTATGTTGTTGcg}$
AYG-F-2	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTTTCACTATTGGGGGGGTTGACAGGAGTTGTTCTCTCTAATGCCAGGCTTGATGTGGCATTGCATGACACTTACAATGTTGTTGCCAGGAGTTGTTCTCTCTAATGCCAGGCTTGATGTGGCATTGCATGACACTTACAATGTTGTTGCCAGGAGTTGTTCTCTCTC$
AYG-P-1	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTTTTCACTATTGGGGGGGCTGACAGGAGTTGTGCTCTCTAATGCCAGGCTTGATGTGGCATTGCATGACACTTATTATGTTGTTGCCGGGTTGTGCCAGGCTTGATGTGGCATTGCATGACACTTATTATGTTGTTGCCGGGTTGTGCCCAGGCTTGATGTGGCATGCCATGCATG$
AYG-P-5	GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTTTCACTATTGGGGGGGCTGACAGGAGTTGTGCTCTCTAATGCCAGGCTTGATGTGGCATTGCATGACACTTATTATGTTGTTGCG

AYG-P-3	GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTTTCACTATTGGGGGGGCTGACAGGAGTTGTGCTCTCTAATGCCAGGCTTGATGTGGCATTGCATGACACTTATTATGTTGTTGCC
AYG-P-4	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTTTCACTATTGGGGGGGCTGACAGGAGTTGTACTCTCTAATGCCAGGCTTGATGTGGCATTGCATGACACTTATTATGTTGTTGCGGAGTTGTAATGCCAGGCTTGATGTGGCATTGCATGACACTTATTATGTTGTTGCGGGGGGCTGACAGGAGTTGTACTCTCTAATGCCAGGCTTGATGTGGCATTGCATGACACTTATTATGTTGTTGCGGGGGGGG$
AYG-P-2	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTTTTCACTATTGGGGGGGCTGACAGGAGTTGTACTCTCTAATGCCAGGCTTGATGTGGCATTGCATGACACTTATTATGTTGTTGCGGAGTTGTAATGCCAGGCTTGATGTGGCATTGCATGACACTTATTATGTTGTTGCGGGGGGCTGACAGGAGTTGTACTCTCTAATGCCAGGCTTGATGTGGCATTGCATGACACTTATTATGTTGTTGCGGGGGGGG$
RU-F-1	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTTTCACTATTGGGGGGGCTGACAGGAGTTGTTCTCTCTAATGCCAGGCTTGATGTGGCATTACATGACACTTATTATGTTGTTGCCAGGCTTGATGTGGCATTACATGACACTTATTATGTTGTTGCCAGGCTTGATGTGGCATTACATGACACTTATTATGTTGTTGCCAGGCTTGATGTGGCATTACATGACACTTATTATGTTGTTGCCAGGAGTTGTTCTCTCTC$
RU-F-3	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTTTCACTATTGGGGGGGCTGACAGGAGTTGTTCTCTCTAATGCCAGGCTTGATGTGGCATTACATGACACTTATTATGTTGTTGCCAGGCTTGATGTGGCATTACATGACACTTATTATGTTGTTGCCAGGCTTGATGTGGCATTACATGACACTTATTATGTTGTTGCCAGGCTTGATGTGGCATTACATGACACTTATTATGTTGTTGCCAGGAGTTGTTCTCTCTC$
RU-F-4	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTTCACTATTGGGGGGGCTGACAGGAGTTGTTCTCTCTAATGCCAGGCTTGATGTGGCATTACATGACACTTATTATGTTGTTGCCAGGCTTGATGTCGCCATGACGCATTACATGACACTTATTATGTTGTTGCCAGGCTTGATGTCGCATGTGGCATTACATGACACTTATTATGTTGTTGCCAGGAGTTGTTCTCTCTC$
RU-F-2	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTTTCACTATTGGGGGGGCTGACAGGAGTTGTCCTCTCTAATGCCAGGCTTGATGTGGCACTGCATGATACTTATTATGTTGTTGCCAGGAGTTGTTGCCAGGCTTGATGTGGCACTGCATGATACTTATTTTTTTT$
RU-F-5	${\tt GTTTTGGGTTAAAGGTTTTATTTTTTTTTTTTTTCACTATTGGGGGGGCTGACAGGAGTTGTCCTCTCTAATGCCAGGCTTGATGTGGCACTGCATGATACTTATTATGTTGTTGCCAGGAGTTGTTCACTATTATGTTGTTGCCAGGCTTGATGTGGCACTGCATGATACTTATTTTTTTT$
RU-P-1	${\tt GTTTTGGGTTAACGGTTTTATTTTTTTTTTTTCACTATTGGTGGGCTGACAGGAGTTGTTCTCTCTAATGCTAGGCTTGATGTGGCATTGCACGATACTTATTATGTTGTTGCCCCCCCC$
RU-P-3	${\tt GTTTTGGGTTAACGGTTTTATTTTTTTTTTTTCACTATTGGTGGGCTGACAGGAGTTGTTCTCTCTAATGCTAGGCTTGATGTGGCATTGCACGATACTTATTATGTTGTTGCG$
RU-P-4	${\tt GTTTTGGGTTAACGGTTTTATTTTTTTTTTTTCACTATTGGTGGGCTGACAGGAGTTGTTCTCTCTAATGCTAGGCTTGATGTGGCATTGCACGATACTTATTATGTTGTTGCG$
RU-P-2	GTTTTGGGTTAACGGTTTTATTTTTTTTTTTTCACTATTGGTGGGTTGACAGGAGTTGTTCTCTCTAATGCTA
RUT-1	${\tt GTTTTGGGTCAAAGGTTTTATTTTTTGTTTACTATTGGTGGGCTGGACAGGGGTTGTACTCTCTAAAGCTAGGCTTGATGTGGCATTGCATGATACTTATTATGTTGTTGCG}$
CB-1	${\tt ATTTTGGGTTAATGGTTTTATTTTTTTTTTTTTTTTTT$
CB-3	${\tt ATTTTGGGTTAATGGTTTTATTTTTTTTTTTTTTTTTT$
CB-2	${\tt ATTTTGGGTTAATGCTTTTATTTTTTTTTTTTTTTTTTT$

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1	KX095350.1		16,3	16,7	16,3	16,7	17,6	17,6	17,7	17,4	16,1	15,9	16,1	16,1	16,3	19,2	19,2	19,2	19,2	19,2	19,2	19,2
2	RME-1	18,4		0,3	0,3	0,5	4,5	4,5	4,6	4,5	4,5	7,7	8,0	8,0	8,2	17,3	17,3	17,3	17,3	17,3	17,3	17,3
3	RME-2	18,9	0,3		0,3	0,5	4,5	4,5	4,6	4,5	4,5	8,0	8,3	8,3	8,5	17,6	17,6	17,6	17,6	17,6	17,6	17,6
4	RME-3	18,4	0,3	0,3		0,5	4,8	4,8	4,9	4,8	4,5	7,7	8,0	8,0	8,2	17,3	17,3	17,3	17,3	17,3	17,3	17,3
5	RME-4	18,9	0,5	0,5	0,5		4,5	4,5	4,6	4,5	4,8	7,9	8,2	8,2	8,3	17,6	17,6	17,6	17,6	17,6	17,6	17,6
6	RD-1	20,0	4,6	4,6	5,0	4,6		0,0	0,2	1,1	3,5	7,6	7,9	7,9	8,0	17,4	17,4	17,4	17,4	17,4	17,4	17,4
7	RD-4	20,0	4,6	4,6	5,0	4,6	0,0		0,2	1,1	3,5	7,6	7,9	7,9	8,0	17,4	17,4	17,4	17,4	17,4	17,4	17,4
8	RD-5	20,3	4,8	4,8	5,1	4,8	0,2	0,2		1,2	3,7	7,4	7,7	7,7	7,9	17,3	17,3	17,3	17,3	17,3	17,3	17,3
9	RD-2	19,8	4,6	4,6	5,0	4,6	1,1	1,1	1,2		3,7	8,0	8,3	8,3	8,5	17,9	17,9	17,9	17,9	17,9	17,9	17,9
10	RD-3	18,2	4,6	4,6	4,6	5,0	3,7	3,7	3,8	3,8		7,9	8,2	8,2	8,3	17,3	17,3	17,3	17,3	17,3	17,3	17,3
11	RG-3	17,9	8,2	8,5	8,2	8,4	8,0	8,0	7,8	8,5	8,4		0,3	0,3	0,5	17,7	17,7	17,7	17,7	17,7	17,7	17,7
12	RG-4	18,2	8,5	8,9	8,5	8,7	8,4	8,4	8,2	8,9	8,7	0,3		0,3	0,5	17,9	17,9	17,9	17,9	17,9	17,9	17,9
13	RG-8	18,2	8,5	8,9	8,5	8,7	8,4	8,4	8,2	8,9	8,7	0,3	0,3		0,5	17,7	17,7	17,7	17,7	17,7	17,7	17,7
14	RG-6	18,4	8,7	9,1	8,7	8,9	8,5	8,5	8,4	9,1	8,9	0,5	0,5	0,5		17,7	17,7	17,7	17,7	17,7	17,7	17,7
15	RMP-1	22,3	19,6	20,0	19,6	20,0	19,8	19,8	19,6	20,5	19,6	20,3	20,5	20,3	20,3		0,0	0,0	0,2	0,2	0,2	0,2
16	RMP-2	22,3	19,6	20,0	19,6	20,0	19,8	19,8	19,6	20,5	19,6	20,3	20,5	20,3	20,3	0,0		0,0	0,2	0,2	0,2	0,2
17	RMP-4	22,3	19,6	20,0	19,6	20,0	19,8	19,8	19,6	20,5	19,6	20,3	20,5	20,3	20,3	0,0	0,0		0,2	0,2	0,2	0,2
18	RMB-3	22,3	19,6	20,0	19,6	20,0	19,8	19,8	19,6	20,5	19,6	20,3	20,5	20,3	20,3	0,2	0,2	0,2		0,3	0,3	0,3
19	RG-1	22,3	19,6	20,0	19,6	20,0	19,8	19,8	19,6	20,4	19,6	20,2	20,5	20,2	20,2	0,2	0,2	0,2	0,3		0,0	0,0
20	RG-2	22,3	19,6	20,0	19,6	20,0	19,8	19,8	19,6	20,4	19,6	20,2	20,5	20,2	20,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,0		0,0
21	RMB-2	22,3	19,6	20,0	19,6	20,0	19,8	19,8	19,6	20,4	19,6	20,2	20,5	20,2	20,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,0	0,0	
22	RMB-1	22,3	19,6	20,1	19,6	20,1	19,8	19,8	19,6	20,5	19,6	20,3	20,5	20,3	20,3	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3
23	RG-5	22,3	20,0	20,5	20,0	20,5	20,2	20,2	20,0	20,9	20,0	20,7	20,9	20,7	20,7	0,6	0,6	0,6	0,8	0,8	0,8	0,8
24	RG-7	22,3	20,0	20,5	20,0	20,5	20,2	20,2	20,0	20,9	20,0	20,7	20,9	20,7	20,7	0,6	0,6	0,6	0,8	0,8	0,8	0,8

**Tabla 2.** Distancias genéticas pareadas obtenidas. Margen superior derecho: *p*-distance; Margen inferior izquierdo: K80. Se resaltan los ejemplares de especies asociadas a moluscos (verde: *Temnocephala iheringi*; amarillo: *Temnocephala* sp.; celeste: *Temnocephala lamothei*).

144
Tabla 2. Continuación.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
25	RMP-3	22,5	20,0	20,5	20,0	20,5	20,2	20,2	20,0	20,9	20,0	20,7	20,9	20,7	20,7	0,8	0,8	0,8	0,9	0,9	0,9	0,9
26	AC-1	22,7	21,3	21,7	21,7	21,3	20,3	20,3	20,5	20,7	21,9	21,3	21,7	21,7	21,7	16,4	16,4	16,4	16,6	16,4	16,4	16,4
27	AC-2	22,7	21,3	21,7	21,7	21,3	20,3	20,3	20,5	20,7	21,9	21,3	21,7	21,7	21,7	16,4	16,4	16,4	16,6	16,4	16,4	16,4
28	AC-3	22,7	21,3	21,7	21,7	21,3	20,3	20,3	20,5	20,7	21,9	21,3	21,7	21,7	21,7	16,4	16,4	16,4	16,6	16,4	16,4	16,4
29	AC-4	22,7	21,3	21,7	21,7	21,3	20,3	20,3	20,5	20,7	21,9	21,3	21,7	21,7	21,7	16,4	16,4	16,4	16,6	16,4	16,4	16,4
30	RN14-1	23,9	22,7	23,2	23,2	22,7	23,0	23,0	23,2	23,2	22,9	21,5	21,5	21,7	21,5	22,4	22,4	22,4	22,4	22,4	22,4	22,4
31	RN14-4	23,7	21,9	22,4	22,4	21,9	22,1	22,1	22,4	22,1	22,1	20,8	20,8	21,0	20,8	21,9	21,9	21,9	21,9	21,9	21,9	21,9
32	LB-1	22,4	20,2	20,7	20,7	20,7	20,6	20,6	20,9	20,9	20,2	21,1	21,3	21,6	21,3	22,8	22,8	22,8	22,8	22,8	22,8	22,8
33	LB-2	22,2	20,0	20,4	20,4	20,4	20,4	20,4	20,6	20,6	20,0	20,9	21,1	21,3	21,1	22,6	22,6	22,6	22,6	22,6	22,6	22,6
34	RP-3	22,2	20,0	20,4	20,4	20,4	20,4	20,4	20,6	20,6	20,0	20,9	21,1	21,3	21,1	22,6	22,6	22,6	22,6	22,6	22,6	22,6
35	LB-4	22,2	20,0	20,4	20,4	20,4	20,4	20,4	20,6	20,6	20,0	20,9	21,1	21,3	21,1	22,6	22,6	22,6	22,6	22,6	22,6	22,6
36	RN14-5	21,9	20,0	20,4	20,4	20,4	20,4	20,4	20,6	20,6	20,0	20,9	21,1	21,3	21,1	22,8	22,8	22,8	22,8	22,8	22,8	22,8
37	AZ-1	21,5	19,9	20,4	20,4	20,4	20,8	20,8	21,0	20,8	19,9	21,1	21,3	21,6	21,3	23,4	23,4	23,4	23,4	23,4	23,4	23,4
38	AZ-2	22,2	20,0	20,4	20,4	20,4	20,9	20,9	21,1	20,6	20,0	21,3	21,6	21,8	21,6	23,2	23,2	23,2	23,2	23,2	23,2	23,2
39	LB-6	22,2	20,2	20,6	20,6	20,6	20,9	20,9	21,1	20,9	20,0	21,3	21,5	21,8	21,5	23,2	23,2	23,2	23,2	23,2	23,2	23,2
40	AZ-3	22,2	20,2	20,7	20,7	20,7	20,6	20,6	20,9	20,9	19,8	21,1	21,3	21,6	21,3	23,0	23,0	23,0	23,0	23,0	23,0	23,0
41	LB-3	22,2	20,2	20,7	20,7	20,7	20,6	20,6	20,9	20,9	19,8	21,1	21,3	21,6	21,3	23,0	23,0	23,0	23,0	23,0	23,0	23,0
42	PS-3	22,2	20,8	21,2	21,2	21,2	21,0	21,0	21,2	21,0	20,3	21,5	21,8	21,8	21,8	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2
43	PS-2	22,2	20,8	21,2	21,2	21,2	21,0	21,0	21,2	21,0	20,3	21,5	21,8	21,8	21,8	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2
44	PS-5	22,2	20,8	21,2	21,2	21,2	21,0	21,0	21,2	21,0	20,3	21,5	21,8	21,8	21,8	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2
45	PS-4	22,2	20,8	21,2	21,2	21,2	21,0	21,0	21,2	21,0	20,3	21,5	21,8	21,8	21,8	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2
46	PS-1	22,2	20,8	21,2	21,2	21,2	21,0	21,0	21,2	21,0	20,3	21,5	21,8	21,8	21,8	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2
47	RP-1	22,2	20,6	21,1	21,1	21,1	21,1	21,1	21,3	21,3	20,2	21,5	21,7	22,0	21,7	23,4	23,4	23,4	23,4	23,4	23,4	23,4
48	LB-5	22,2	20,2	20,7	20,7	20,7	21,1	21,1	21,3	20,9	20,2	21,6	21,8	22,0	21,8	23,4	23,4	23,4	23,4	23,4	23,4	23,4
49	AT-1	22,2	20,4	20,9	20,9	20,9	20,9	20,9	21,1	21,1	20,0	21,3	21,6	21,8	21,6	23,2	23,2	23,2	23,2	23,2	23,2	23,2

Tabla 2. Continuación.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
50	RP-5	22,2	21,0	21,5	21,5	21,5	21,2	21,2	21,5	21,2	20,6	21,8	22,0	22,0	22,0	22,4	22,4	22,4	22,4	22,4	22,4	22,4
51	RP-6	22,2	21,0	21,5	21,5	21,5	21,2	21,2	21,5	21,2	20,6	21,8	22,0	22,0	22,0	22,4	22,4	22,4	22,4	22,4	22,4	22,4
52	<b>RP-</b> 7	22,2	21,0	21,5	21,5	21,5	21,2	21,2	21,5	21,2	20,6	21,8	22,0	22,0	22,0	22,4	22,4	22,4	22,4	22,4	22,4	22,4
53	RP-4	22,4	20,8	21,2	21,2	21,2	21,0	21,0	21,2	21,0	20,3	22,0	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2
54	AZ-4	21,9	20,9	21,3	21,3	21,3	21,3	21,3	21,5	21,5	20,4	21,8	22,0	22,2	22,0	23,2	23,2	23,2	23,2	23,2	23,2	23,2
55	AZ-5	22,4	20,4	20,9	20,9	20,9	20,9	20,9	21,1	21,1	20,0	21,3	21,6	21,8	21,6	23,2	23,2	23,2	23,2	23,2	23,2	23,2
56	RN14-2	21,9	20,0	20,4	20,4	20,4	20,4	20,4	20,6	20,6	19,8	20,9	21,1	21,3	21,1	22,6	22,6	22,6	22,6	22,6	22,6	22,6
57	RP-2	21,4	20,2	20,7	20,7	20,7	21,1	21,1	21,4	21,1	20,7	21,4	21,7	21,9	21,7	23,3	23,3	23,3	23,3	23,2	23,2	23,2
58	RNO-1	21,7	20,4	20,9	20,9	20,9	20,8	20,8	21,1	21,1	20,4	21,3	21,5	21,7	21,5	22,8	22,8	22,8	22,8	22,8	22,8	22,8
59	RNO-3	21,7	20,4	20,9	20,9	20,9	20,8	20,8	21,1	21,1	20,4	21,3	21,5	21,7	21,5	22,8	22,8	22,8	22,8	22,8	22,8	22,8
60	RNO-4	22,0	20,2	20,6	20,6	20,6	21,1	21,1	21,3	21,3	20,6	21,5	21,7	22,0	21,7	22,8	22,8	22,8	22,8	22,8	22,8	22,8
61	RNO-2	22,4	20,6	21,1	21,1	20,9	20,9	20,9	21,1	20,9	19,8	21,3	21,6	21,8	21,6	23,4	23,4	23,4	23,4	23,4	23,4	23,4
62	RN14-3	22,2	20,2	20,7	20,7	20,7	21,3	21,3	21,5	21,3	20,9	20,9	21,2	21,4	21,2	23,4	23,4	23,4	23,4	23,4	23,4	23,4
63	LC-1	26,1	21,9	22,3	22,3	22,1	23,2	23,2	23,4	23,2	23,2	22,8	22,8	22,8	22,6	25,4	25,4	25,4	25,4	25,4	25,4	25,4
64	LC-2	26,4	21,7	22,1	22,1	21,9	23,2	23,2	23,4	23,2	23,4	22,8	22,8	22,8	22,6	25,2	25,2	25,2	25,2	25,1	25,1	25,1
65	LC-3	26,2	21,5	21,9	21,9	21,7	22,7	22,7	23,0	22,7	23,2	22,4	22,4	22,4	22,2	25,4	25,4	25,4	25,4	25,4	25,4	25,4
66	LC-4	25,9	21,9	22,3	22,3	22,1	23,0	23,0	23,2	23,0	23,4	23,3	23,3	23,3	23,0	25,6	25,6	25,6	25,6	25,6	25,6	25,6
67	RA-1	22,6	20,8	21,3	21,3	20,8	21,5	21,5	21,7	21,7	21,1	20,9	21,1	21,3	21,1	23,0	23,0	23,0	23,0	23,0	23,0	23,0
68	RA-6	22,6	20,8	21,3	21,3	20,8	21,5	21,5	21,7	21,7	21,1	20,9	21,1	21,3	21,1	23,0	23,0	23,0	23,0	23,0	23,0	23,0
69	RA-2	22,9	20,8	21,3	21,3	20,8	21,3	21,3	21,5	21,5	21,3	21,1	21,3	21,5	21,3	23,0	23,0	23,0	23,0	23,0	23,0	23,0
70	RA-7	22,9	20,8	21,3	21,3	20,8	21,3	21,3	21,5	21,5	21,3	21,1	21,3	21,5	21,3	23,0	23,0	23,0	23,0	23,0	23,0	23,0
71	RA-3	23,4	21,7	22,1	22,1	21,7	21,3	21,3	21,5	21,9	21,7	21,5	21,7	22,0	21,7	23,0	23,0	23,0	23,0	23,0	23,0	23,0
72	RV-1	21,5	21,7	22,1	22,1	21,5	21,5	21,5	21,7	21,3	21,9	20,4	20,6	20,6	20,6	24,5	24,5	24,5	24,5	24,4	24,4	24,4
73	RV-2	21,5	21,7	22,1	22,1	21,9	21,9	21,9	22,1	21,7	21,9	20,6	20,8	20,8	20,8	24,2	24,2	24,2	24,2	24,2	24,2	24,2
74	RV-3	21,5	21,7	22,1	22,1	21,9	21,9	21,9	22,1	21,7	21,9	20,6	20,8	20,8	20,8	24,9	24,9	24,9	24,9	24,9	24,9	24,9

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
75	ESG-1	25,1	23,8	24,2	23,8	23,8	24,6	24,6	24,9	25,3	23,1	24,0	24,2	24,5	24,2	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0
76	ESG-2	25,1	23,8	24,2	23,8	23,8	24,6	24,6	24,9	25,3	23,1	24,0	24,2	24,5	24,2	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0
77	ESG-4	25,1	23,8	24,2	23,8	23,8	24,6	24,6	24,9	25,3	23,1	24,0	24,2	24,5	24,2	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0
78	ESG-6	25,1	23,8	24,2	23,8	23,8	24,6	24,6	24,9	25,3	23,1	24,0	24,2	24,5	24,2	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0
79	BLP-1	25,1	23,8	24,2	23,8	23,8	24,6	24,6	24,9	25,3	23,1	24,0	24,2	24,5	24,2	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0
80	BLP-2	25,1	23,8	24,2	23,8	23,8	24,6	24,6	24,9	25,3	23,1	24,0	24,2	24,5	24,2	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0
81	BLP-3	25,1	23,8	24,2	23,8	23,8	24,6	24,6	24,9	25,3	23,1	24,0	24,2	24,5	24,2	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0
82	ESG-3	24,9	23,8	24,2	23,8	23,8	25,1	25,1	25,3	25,3	23,1	24,0	24,2	24,5	24,2	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0
83	ESG-5	27,2	24,2	24,6	24,2	24,2	24,0	24,0	24,2	24,6	24,0	23,8	23,8	24,0	23,8	25,7	25,7	25,7	25,7	25,7	25,7	25,7
84	RA-4	20,7	20,4	20,8	20,4	20,6	21,3	21,3	21,5	21,5	21,7	22,4	22,4	22,4	22,1	21,1	21,1	21,1	21,3	21,1	21,1	21,1
85	RA-5	23,2	21,1	21,5	21,1	21,3	21,9	21,9	22,1	22,1	22,1	23,0	23,0	23,0	23,0	21,1	21,1	21,1	21,3	21,0	21,0	21,0
86	AYG-F-1	25,5	24,3	24,3	23,8	24,1	24,7	24,7	25,0	24,5	23,0	24,1	24,3	24,1	24,3	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5
87	AYG-F-4	25,5	24,2	24,2	23,7	24,0	24,7	24,7	24,9	24,2	22,8	24,2	24,5	24,5	24,5	24,4	24,4	24,4	24,4	24,4	24,4	24,4
88	AYG-F-3	25,5	24,5	24,5	24,1	24,3	25,0	25,0	25,2	24,7	23,2	24,1	24,3	24,1	24,3	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5
89	AYG-F-5	25,7	24,0	24,0	23,5	23,7	24,5	24,5	24,7	24,0	22,6	24,0	24,3	24,3	24,3	24,4	24,4	24,4	24,4	24,4	24,4	24,4
90	AYG-F-2	25,5	24,3	24,3	23,8	24,1	25,0	25,0	25,2	24,5	23,2	24,3	24,6	24,3	24,6	25,8	25,8	25,8	25,8	25,7	25,7	25,7
91	AYG-P-1	26,2	24,5	24,5	24,0	23,8	24,3	24,3	24,5	24,1	23,4	23,9	24,1	23,9	24,1	25,3	25,3	25,3	25,3	25,3	25,3	25,3
92	AYG-P-5	26,2	24,4	24,4	23,9	23,7	24,2	24,2	24,4	23,7	23,2	24,0	24,2	24,2	24,2	24,1	24,1	24,1	24,1	24,1	24,1	24,1
93	AYG-P-3	26,2	24,3	24,3	23,8	23,6	24,3	24,3	24,5	23,8	23,4	23,9	24,1	23,9	24,1	25,3	25,3	25,3	25,3	25,3	25,3	25,3
94	AYG-P-4	27,0	24,4	24,4	24,0	23,7	24,4	24,4	24,7	24,0	23,3	24,2	24,5	24,5	24,5	24,4	24,4	24,4	24,4	24,4	24,4	24,4
95	AYG-P-2	27,3	25,4	25,4	24,9	24,7	25,0	25,0	25,2	24,7	23,6	24,3	24,1	23,9	24,1	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5
96	RU-F-1	26,8	25,0	24,5	24,5	24,7	24,1	24,1	24,3	24,1	24,1	25,0	25,2	25,0	25,2	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5
<b>9</b> 7	RU-F-3	26,8	25,0	24,5	24,5	24,7	24,1	24,1	24,3	24,1	24,1	25,0	25,2	25,0	25,2	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5
98	RU-F-4	27,1	24,7	24,3	24,3	24,5	23,9	23,9	24,1	23,9	23,9	25,2	25,4	25,2	25,4	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5
99	RU-F-2	26,3	23,9	23,9	23,4	23,2	23,4	23,4	23,6	23,4	23,0	23,6	23,9	23,6	23,9	25,3	25,3	25,3	25,3	25,3	25,3	25,3

147

Tabla 2. Continuación.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
100	RU-F-5	27,1	24,1	24,1	23,6	23,4	23,6	23,6	23,9	23,6	23,7	23,9	24,1	23,9	24,1	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5
101	RUP-1	24,5	23,4	23,9	23,4	23,4	23,7	23,7	23,9	23,3	22,2	23,2	23,5	23,2	23,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5
102	RUP-3	24,5	23,6	24,1	23,6	23,6	23,7	23,7	23,9	23,5	22,2	23,2	23,5	23,2	23,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5
103	RUP-4	24,5	23,6	24,1	23,6	23,6	23,7	23,7	23,9	23,5	22,2	23,2	23,5	23,2	23,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5
104	RUP-2	24,7	23,4	23,9	23,4	23,4	23,7	23,7	23,9	23,5	21,9	23,3	23,5	23,3	23,5	25,2	25,2	25,2	25,2	25,2	25,2	25,2
105	RUT-1	24,7	23,2	23,6	23,2	23,6	23,4	23,4	23,6	23,4	21,3	23,2	23,4	23,4	23,4	23,3	23,3	23,3	23,3	23,3	23,3	23,3
106	CB-1	21,0	21,2	21,6	21,6	21,2	21,4	21,4	21,6	21,9	21,6	21,9	22,1	22,1	22,5	24,0	24,0	24,0	24,2	24,0	24,0	24,0
107	CB-3	21,0	21,2	21,6	21,6	21,2	21,4	21,4	21,6	21,9	21,6	21,9	22,1	22,1	22,5	24,0	24,0	24,0	24,2	24,0	24,0	24,0
108	CB-2	21,7	21,8	22,3	22,3	21,8	22,5	22,5	22,7	22,5	22,7	22,9	23,1	23,1	23,5	25,1	25,1	25,1	25,3	25,0	25,0	25,0

Tabla 2. Continuación.

	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
1	19,2	19,2	19,2	19,4	19,5	19,5	19,5	19,5	20,4	20,3	19,4	19,2	19,2	19,2	19,0	18,7	19,2	19,2	19,2	19,2	19,2
2	17,3	17,6	17,6	17,6	18,5	18,5	18,5	18,5	19,6	19,0	17,7	17,6	17,6	17,6	17,6	17,5	17,6	17,7	17,7	17,7	18,1
3	17,6	17,9	17,9	17,9	18,8	18,8	18,8	18,8	19,9	19,3	18,0	17,9	17,9	17,9	17,9	17,8	17,9	18,0	18,0	18,0	18,5
4	17,3	17,6	17,6	17,6	18,8	18,8	18,8	18,8	19,9	19,3	18,0	17,9	17,9	17,9	17,9	17,8	17,9	18,0	18,0	18,0	18,5
5	17,6	17,9	17,9	17,9	18,5	18,5	18,5	18,5	19,6	19,0	18,0	17,9	17,9	17,9	17,9	17,8	17,9	18,0	18,0	18,0	18,5
6	17,4	17,7	17,7	17,7	17,7	17,7	17,7	17,7	19,7	19,1	18,0	17,9	17,9	17,9	17,9	18,2	18,2	18,2	18,0	18,0	18,3
7	17,4	17,7	17,7	17,7	17,7	17,7	17,7	17,7	19,7	19,1	18,0	17,9	17,9	17,9	17,9	18,2	18,2	18,2	18,0	18,0	18,3
8	17,3	17,6	17,6	17,6	17,9	17,9	17,9	17,9	19,9	19,3	18,2	18,0	18,0	18,0	18,0	18,3	18,3	18,3	18,2	18,2	18,5
9	17,9	18,2	18,2	18,2	18,0	18,0	18,0	18,0	19,9	19,1	18,2	18,0	18,0	18,0	18,0	18,2	18,0	18,2	18,2	18,2	18,3
10	17,3	17,6	17,6	17,6	19,0	19,0	19,0	19,0	19,7	19,1	17,7	17,6	17,6	17,6	17,6	17,5	17,6	17,6	17,4	17,4	17,8
11	17,7	18,0	18,0	18,0	18,5	18,5	18,5	18,5	18,6	18,1	18,3	18,2	18,2	18,2	18,2	18,3	18,5	18,5	18,3	18,3	18,6
12	17,9	18,2	18,2	18,2	18,8	18,8	18,8	18,8	18,6	18,1	18,5	18,3	18,3	18,3	18,3	18,5	18,6	18,6	18,5	18,5	18,8
13	17,7	18,0	18,0	18,0	18,8	18,8	18,8	18,8	18,8	18,3	18,6	18,5	18,5	18,5	18,5	18,7	18,8	18,8	18,6	18,6	18,8
14	17,7	18,0	18,0	18,0	18,8	18,8	18,8	18,8	18,6	18,1	18,5	18,3	18,3	18,3	18,3	18,5	18,6	18,6	18,5	18,5	18,8
15	0,2	0,6	0,6	0,8	14,6	14,6	14,6	14,6	19,3	19,0	19,6	19,4	19,4	19,4	19,6	20,0	19,9	19,9	19,7	19,7	19,1
16	0,2	0,6	0,6	0,8	14,6	14,6	14,6	14,6	19,3	19,0	19,6	19,4	19,4	19,4	19,6	20,0	19,9	19,9	19,7	19,7	19,1
17	0,2	0,6	0,6	0,8	14,6	14,6	14,6	14,6	19,3	19,0	19,6	19,4	19,4	19,4	19,6	20,0	19,9	19,9	19,7	19,7	19,1
18	0,3	0,8	0,8	0,9	14,8	14,8	14,8	14,8	19,3	19,0	19,6	19,4	19,4	19,4	19,6	20,0	19,9	19,9	19,7	19,7	19,1
19	0,3	0,8	0,8	0,9	14,6	14,6	14,6	14,6	19,3	19,0	19,6	19,4	19,4	19,4	19,6	20,0	19,9	19,9	19,7	19,7	19,1
20	0,3	0,8	0,8	0,9	14,6	14,6	14,6	14,6	19,3	19,0	19,6	19,4	19,4	19,4	19,6	20,0	19,9	19,9	19,7	19,7	19,1
21	0,3	0,8	0,8	0,9	14,6	14,6	14,6	14,6	19,3	19,0	19,6	19,4	19,4	19,4	19,6	20,0	19,9	19,9	19,7	19,7	19,1
22		0,8	0,8	0,8	14,8	14,8	14,8	14,8	19,4	19,1	19,7	19,6	19,6	19,6	19,7	20,2	20,0	20,0	19,9	19,9	19,1
23	0,8		0,0	1,4	14,8	14,8	14,8	14,8	19,3	19,0	19,3	19,1	19,1	19,1	19,3	19,7	19,6	19,6	19,4	19,4	18,8
24	0,8	0,0		1,4	14,8	14,8	14,8	14,8	19,3	19,0	19,3	19,1	19,1	19,1	19,3	19,7	19,6	19,6	19,4	19,4	18,8

Tabla 2. Continuación.

	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
25	0,8	1,4	1,4		15,1	15,1	15,1	15,1	19,7	19,5	19,7	19,6	19,6	19,6	19,7	20,2	20,0	20,0	19,9	19,9	19,1
26	16,6	16,6	16,6	17,0		0,2	0,2	0,2	18,0	18,1	17,7	17,6	17,6	17,6	17,4	17,3	17,7	17,7	17,6	17,6	17,6
27	16,6	16,6	16,6	17,0	0,2		0,0	0,0	18,0	18,1	17,7	17,6	17,6	17,6	17,4	17,3	17,7	17,7	17,6	17,6	17,6
28	16,6	16,6	16,6	17,0	0,2	0,0		0,0	18,0	18,1	17,7	17,6	17,6	17,6	17,4	17,3	17,7	17,7	17,6	17,6	17,6
29	16,6	16,6	16,6	17,0	0,2	0,0	0,0		18,0	18,1	17,7	17,6	17,6	17,6	17,4	17,3	17,7	17,7	17,6	17,6	17,6
30	22,6	22,4	22,4	23,0	20,7	20,7	20,7	20,7		0,3	4,8	4,6	4,6	4,6	4,8	4,9	5,1	5,1	4,9	4,9	5,1
31	22,2	22,0	22,0	22,6	20,8	20,8	20,8	20,8	0,3		4,3	4,2	4,2	4,2	4,3	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,7
32	23,0	22,4	22,4	23,0	20,3	20,3	20,3	20,3	5,0	4,5		0,2	0,2	0,2	0,3	0,5	0,6	0,6	0,5	0,5	0,5
33	22,8	22,2	22,2	22,8	20,1	20,1	20,1	20,1	4,8	4,3	0,2		0,0	0,0	0,2	0,3	0,5	0,5	0,3	0,3	0,3
34	22,8	22,2	22,2	22,8	20,1	20,1	20,1	20,1	4,8	4,3	0,2	0,0		0,0	0,2	0,3	0,5	0,5	0,3	0,3	0,3
35	22,8	22,2	22,2	22,8	20,1	20,1	20,1	20,1	4,8	4,3	0,2	0,0	0,0		0,2	0,3	0,5	0,5	0,3	0,3	0,3
36	23,0	22,4	22,4	23,0	19,9	19,9	19,9	19,9	5,0	4,5	0,3	0,2	0,2	0,2		0,2	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2
37	23,6	22,9	22,9	23,6	19,7	19,7	19,7	19,7	5,1	4,7	0,5	0,3	0,3	0,3	0,2		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
38	23,4	22,8	22,8	23,4	20,3	20,3	20,3	20,3	5,3	4,7	0,6	0,5	0,5	0,5	0,3	0,0		0,2	0,2	0,2	0,2
39	23,4	22,8	22,8	23,4	20,3	20,3	20,3	20,3	5,3	4,7	0,6	0,5	0,5	0,5	0,3	0,0	0,2		0,2	0,2	0,2
40	23,2	22,6	22,6	23,2	20,1	20,1	20,1	20,1	5,1	4,7	0,5	0,3	0,3	0,3	0,2	0,0	0,2	0,2		0,0	0,0
41	23,2	22,6	22,6	23,2	20,1	20,1	20,1	20,1	5,1	4,7	0,5	0,3	0,3	0,3	0,2	0,0	0,2	0,2	0,0		0,0
42	22,2	21,8	21,8	22,2	20,1	20,1	20,1	20,1	5,3	4,8	0,5	0,3	0,3	0,3	0,2	0,0	0,2	0,2	0,0	0,0	
43	22,2	21,8	21,8	22,2	20,1	20,1	20,1	20,1	5,3	4,8	0,5	0,3	0,3	0,3	0,2	0,0	0,2	0,2	0,0	0,0	0,0
44	22,2	21,8	21,8	22,2	20,1	20,1	20,1	20,1	5,3	4,8	0,5	0,3	0,3	0,3	0,2	0,0	0,2	0,2	0,0	0,0	0,0
45	22,2	21,8	21,8	22,2	20,1	20,1	20,1	20,1	5,3	4,8	0,5	0,3	0,3	0,3	0,2	0,0	0,2	0,2	0,0	0,0	0,0
46	22,2	21,8	21,8	22,2	20,1	20,1	20,1	20,1	5,3	4,8	0,5	0,3	0,3	0,3	0,2	0,0	0,2	0,2	0,0	0,0	0,0
47	23,6	23,0	23,0	23,6	20,5	20,5	20,5	20,5	5,5	5,0	0,8	0,6	0,6	0,6	0,5	0,3	0,5	0,5	0,3	0,3	0,0
48	23,6	23,0	23,0	23,7	20,5	20,5	20,5	20,5	5,5	4,8	0,8	0,6	0,6	0,6	0,5	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3
49	23,4	22,8	22,8	23,4	20,3	20,3	20,3	20,3	5,3	4,8	0,6	0,5	0,5	0,5	0,3	0,2	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2

Tabla 2. Continuación.

	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
50	22,4	22,0	22,0	22,4	20,4	20,4	20,4	20,4	5,5	5,0	0,7	0,5	0,5	0,5	0,3	0,2	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2
51	22,4	22,0	22,0	22,4	20,4	20,4	20,4	20,4	5,5	5,0	0,7	0,5	0,5	0,5	0,3	0,2	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2
52	22,4	22,0	22,0	22,4	20,4	20,4	20,4	20,4	5,7	5,2	0,8	0,7	0,7	0,7	0,5	0,4	0,5	0,5	0,3	0,3	0,3
53	22,2	21,8	21,8	22,2	20,1	20,1	20,1	20,1	5,7	5,2	0,8	0,7	0,7	0,7	0,5	0,4	0,5	0,5	0,3	0,3	0,3
54	23,4	22,8	22,8	23,4	20,7	20,7	20,7	20,7	5,3	5,2	0,9	0,8	0,8	0,8	0,6	0,5	0,6	0,6	0,5	0,5	0,3
55	23,4	22,8	22,8	23,4	20,3	20,3	20,3	20,3	5,3	4,8	0,6	0,5	0,5	0,5	0,3	0,2	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2
56	22,8	22,2	22,2	22,8	19,9	19,9	19,9	19,9	5,3	4,8	0,6	0,5	0,5	0,5	0,3	0,5	0,6	0,6	0,5	0,5	0,5
57	23,5	22,8	22,8	23,3	20,1	20,1	20,1	20,1	5,2	4,9	0,7	0,5	0,5	0,5	0,3	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
58	23,0	22,4	22,4	23,0	20,3	20,3	20,3	20,3	5,3	4,8	0,6	0,5	0,5	0,5	0,3	0,5	0,6	0,6	0,5	0,5	0,3
59	23,0	22,4	22,4	23,0	20,3	20,3	20,3	20,3	5,3	4,8	0,6	0,5	0,5	0,5	0,3	0,5	0,6	0,6	0,5	0,5	0,3
60	23,0	22,4	22,4	23,0	20,3	20,3	20,3	20,3	5,1	5,0	0,8	0,6	0,6	0,6	0,5	0,7	0,8	0,8	0,6	0,6	0,5
61	23,6	23,0	23,0	23,6	20,3	20,3	20,3	20,3	5,3	4,7	0,8	0,6	0,6	0,6	0,5	0,2	0,5	0,5	0,3	0,3	0,3
62	23,6	22,9	22,9	23,6	20,3	20,3	20,3	20,3	5,8	5,4	1,2	1,0	1,0	1,0	0,8	0,8	1,0	1,0	1,0	1,0	0,9
63	25,4	25,4	25,4	24,9	23,2	23,4	23,4	23,4	11,6	11,8	10,7	10,5	10,5	10,5	10,3	9,9	9,9	10,1	10,1	10,1	10,5
64	25,1	25,2	25,2	24,7	23,2	23,4	23,4	23,4	11,9	12,2	11,0	10,8	10,8	10,8	10,7	10,3	10,3	10,5	10,5	10,5	10,9
65	25,4	25,4	25,4	24,9	22,6	22,8	22,8	22,8	12,0	11,8	10,9	10,7	10,7	10,7	10,5	10,1	10,1	10,3	10,3	10,3	10,7
66	25,6	25,6	25,6	25,2	23,2	23,4	23,4	23,4	12,3	12,4	11,1	10,9	10,9	10,9	10,7	10,1	10,3	10,5	10,5	10,5	10,7
67	23,2	22,5	22,5	23,4	20,7	20,5	20,5	20,5	9,0	8,7	8,2	8,0	8,0	8,0	8,2	8,4	8,5	8,5	8,3	8,3	8,6
68	23,2	22,5	22,5	23,4	20,7	20,5	20,5	20,5	9,0	8,7	8,2	8,0	8,0	8,0	8,2	8,4	8,5	8,5	8,3	8,3	8,6
69	23,2	22,5	22,5	23,4	20,9	20,7	20,7	20,7	9,0	8,7	8,3	8,2	8,2	8,2	8,3	8,6	8,7	8,7	8,5	8,5	8,8
70	23,2	22,5	22,5	23,4	20,9	20,7	20,7	20,7	9,0	8,7	8,3	8,2	8,2	8,2	8,3	8,6	8,7	8,7	8,5	8,5	8,8
71	23,2	22,5	22,5	23,4	20,7	20,5	20,5	20,5	8,9	8,5	8,7	8,5	8,5	8,5	8,7	9,0	9,1	9,0	8,9	8,9	9,2
72	24,7	24,5	24,5	24,7	21,9	21,7	21,7	21,7	12,1	11,6	11,2	11,0	11,0	11,0	11,2	10,9	11,2	11,4	11,4	11,4	11,5
73	24,4	24,2	24,2	24,5	22,1	21,9	21,9	21,9	12,3	11,8	11,4	11,2	11,2	11,2	11,4	11,1	11,4	11,6	11,6	11,6	11,5
74	25,1	24,9	24,9	25,2	21,9	21,7	21,7	21,7	12,5	12,0	11,6	11,4	11,4	11,4	11,6	11,3	11,6	11,7	11,8	11,8	11,9

	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
75	24,0	24,0	24,0	23,6	23,2	23,4	23,4	23,4	13,3	12,8	13,4	13,2	13,2	13,2	13,4	13,1	13,4	13,4	13,2	13,2	14,0
76	24,0	24,0	24,0	23,6	23,2	23,4	23,4	23,4	13,3	12,8	13,4	13,2	13,2	13,2	13,4	13,1	13,4	13,4	13,2	13,2	14,0
77	24,0	24,0	24,0	23,6	23,2	23,4	23,4	23,4	13,3	12,8	13,4	13,2	13,2	13,2	13,4	13,1	13,4	13,4	13,2	13,2	14,0
78	24,0	24,0	24,0	23,6	23,2	23,4	23,4	23,4	13,3	12,8	13,4	13,2	13,2	13,2	13,4	13,1	13,4	13,4	13,2	13,2	14,0
79	24,0	24,0	24,0	23,6	23,2	23,4	23,4	23,4	13,3	12,8	13,4	13,2	13,2	13,2	13,4	13,1	13,4	13,4	13,2	13,2	14,0
80	24,0	24,0	24,0	23,6	23,2	23,4	23,4	23,4	13,3	12,8	13,4	13,2	13,2	13,2	13,4	13,1	13,4	13,4	13,2	13,2	14,0
81	24,0	24,0	24,0	23,6	23,2	23,4	23,4	23,4	13,3	12,8	13,4	13,2	13,2	13,2	13,4	13,1	13,4	13,4	13,2	13,2	14,0
82	24,0	24,0	24,0	23,6	22,8	23,0	23,0	23,0	12,9	12,6	13,0	12,8	12,8	12,8	13,0	12,9	13,0	13,0	12,8	12,8	13,6
83	25,7	26,4	26,4	25,3	23,8	24,0	24,0	24,0	13,4	13,1	13,8	13,6	13,6	13,6	13,6	13,1	13,6	13,6	13,4	13,4	14,0
84	21,1	21,1	21,1	21,3	22,3	22,5	22,5	22,5	17,4	17,2	15,2	15,0	15,0	15,0	15,2	15,1	15,6	15,6	15,4	15,4	15,3
85	21,1	21,1	21,1	21,5	23,2	23,4	23,4	23,4	17,4	17,2	16,0	15,8	15,8	15,8	16,0	16,1	16,4	16,4	16,2	16,2	16,0
86	25,5	25,3	25,3	25,3	28,0	28,0	28,0	28,0	23,9	23,8	23,0	22,8	22,8	22,8	22,6	22,7	22,8	22,8	22,8	22,8	22,0
87	24,4	24,2	24,2	24,1	27,4	27,4	27,4	27,4	23,3	23,2	22,2	22,0	22,0	22,0	21,8	21,8	22,0	22,0	22,0	22,0	22,0
88	25,5	25,3	25,3	25,3	28,0	28,0	28,0	28,0	24,1	24,1	23,3	23,0	23,0	23,0	22,8	23,0	23,0	23,1	23,0	23,0	22,2
89	24,4	24,2	24,2	24,1	27,2	27,2	27,2	27,2	23,1	23,0	22,0	21,8	21,8	21,8	21,5	21,6	21,8	21,8	21,8	21,8	21,8
90	25,8	25,6	25,6	25,5	28,2	28,2	28,2	28,2	24,1	23,8	23,3	23,0	23,0	23,0	22,8	22,7	22,8	23,0	23,0	23,0	22,2
91	25,3	25,3	25,3	25,1	26,6	26,6	26,6	26,6	22,8	22,9	21,8	21,5	21,5	21,5	21,3	21,6	21,5	21,6	21,5	21,5	20,6
92	24,1	24,1	24,1	23,9	26,0	26,0	26,0	26,0	22,2	22,2	20,9	20,6	20,6	20,6	20,4	20,6	20,6	20,6	20,6	20,6	20,6
93	25,3	25,3	25,3	25,1	26,6	26,6	26,6	26,6	22,8	22,9	21,8	21,6	21,6	21,6	21,3	21,6	21,3	21,5	21,6	21,6	20,6
94	24,4	24,4	24,4	24,1	26,7	26,7	26,7	26,7	21,7	21,8	20,9	20,6	20,6	20,6	20,4	20,6	20,6	20,7	20,6	20,6	20,6
95	25,5	25,5	25,5	25,3	27,5	27,5	27,5	27,5	23,0	23,1	22,6	22,4	22,4	22,4	22,2	22,5	22,4	22,4	22,4	22,4	21,6
96	25,5	25,3	25,3	25,3	28,2	28,2	28,2	28,2	23,9	24,1	22,8	22,6	22,6	22,6	22,4	22,7	22,4	22,6	22,6	22,6	21,8
97	25,5	25,3	25,3	25,3	28,2	28,2	28,2	28,2	23,9	24,1	22,8	22,6	22,6	22,6	22,4	22,7	22,4	22,6	22,6	22,6	21,8
98	25,5	25,3	25,3	25,3	28,2	28,2	28,2	28,2	23,7	23,9	22,6	22,4	22,4	22,4	22,2	22,5	22,2	22,4	22,4	22,4	21,5
99	25,3	25,1	25,1	25,1	28,0	28,0	28,0	28,0	23,3	23,4	22,6	22,4	22,4	22,4	22,2	22,5	22,2	22,4	22,4	22,4	21,5

	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
100	25,5	25,3	25,3	25,3	27,7	27,7	27,7	27,7	23,3	23,4	23,0	22,8	22,8	22,8	22,6	23,0	22,6	22,8	22,8	22,8	22,0
101	25,5	25,1	25,1	25,1	25,3	25,3	25,3	25,3	22,9	22,2	20,9	20,7	20,7	20,7	20,5	20,4	20,5	20,7	20,7	20,7	20,0
102	25,5	25,1	25,1	25,1	25,3	25,3	25,3	25,3	22,9	22,2	20,9	20,7	20,7	20,7	20,5	20,4	20,7	20,7	20,7	20,7	20,0
103	25,5	25,1	25,1	25,1	25,3	25,3	25,3	25,3	22,9	22,2	20,9	20,7	20,7	20,7	20,5	20,4	20,7	20,7	20,7	20,7	20,0
104	25,2	24,8	24,8	24,8	25,0	25,0	25,0	25,0	22,6	22,5	20,6	20,3	20,3	20,3	20,1	20,6	20,3	20,3	20,3	20,3	19,5
105	23,3	23,6	23,6	23,1	26,6	26,6	26,6	26,6	21,9	21,3	21,1	20,9	20,9	20,9	21,1	21,1	21,3	21,3	21,3	21,3	20,6
106	24,0	24,4	24,4	24,0	22,5	22,5	22,5	22,5	20,4	20,3	19,8	19,6	19,6	19,6	19,8	20,6	20,2	20,2	20,0	20,0	19,7
107	24,0	24,4	24,4	24,0	22,5	22,5	22,5	22,5	20,4	20,3	19,8	19,6	19,6	19,6	19,8	20,6	20,2	20,2	20,0	20,0	19,7
108	25,1	25,5	25,5	25,1	23,5	23,5	23,5	23,5	21,4	21,0	20,8	20,6	20,6	20,6	20,8	21,2	20,8	21,0	21,0	21,0	20,8

Tabla 2. Continuación.

	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63
1	19,2	19,2	19,2	19,2	19,2	19,2	19,2	19,2	19,2	19,2	19,4	19,0	19,4	19,0	18,6	18,8	18,8	19,0	19,4	0,2	0,2
2	18,1	18,1	18,1	18,1	18,0	17,7	17,9	18,3	18,3	18,3	18,1	18,2	17,9	17,6	17,7	17,9	17,9	17,7	18,0	0,2	0,2
3	18,5	18,5	18,5	18,5	18,3	18,0	18,2	18,6	18,6	18,6	18,5	18,5	18,2	17,9	18,1	18,2	18,2	18,0	18,3	0,2	0,2
4	18,5	18,5	18,5	18,5	18,3	18,0	18,2	18,6	18,6	18,6	18,5	18,5	18,2	17,9	18,1	18,2	18,2	18,0	18,3	0,2	0,2
5	18,5	18,5	18,5	18,5	18,3	18,0	18,2	18,6	18,6	18,6	18,5	18,5	18,2	17,9	18,1	18,2	18,2	18,0	18,2	0,2	0,2
6	18,3	18,3	18,3	18,3	18,3	18,3	18,2	18,5	18,5	18,5	18,3	18,5	18,2	17,9	18,4	18,2	18,2	18,3	18,2	0,2	0,2
7	18,3	18,3	18,3	18,3	18,3	18,3	18,2	18,5	18,5	18,5	18,3	18,5	18,2	17,9	18,4	18,2	18,2	18,3	18,2	0,2	0,2
8	18,5	18,5	18,5	18,5	18,5	18,5	18,3	18,6	18,6	18,6	18,5	18,6	18,3	18,0	18,6	18,3	18,3	18,5	18,3	0,2	0,2
9	18,3	18,3	18,3	18,3	18,5	18,2	18,3	18,5	18,5	18,5	18,3	18,6	18,3	18,0	18,4	18,3	18,3	18,5	18,2	0,2	0,2
10	17,8	17,8	17,8	17,8	17,7	17,7	17,6	18,0	18,0	18,0	17,8	17,9	17,6	17,4	18,1	17,9	17,9	18,0	17,4	0,2	0,2
11	18,6	18,6	18,6	18,6	18,6	18,6	18,5	18,8	18,8	18,8	18,9	18,8	18,5	18,2	18,6	18,5	18,5	18,6	18,5	0,2	0,2
12	18,8	18,8	18,8	18,8	18,8	18,8	18,6	18,9	18,9	18,9	19,1	19,0	18,6	18,3	18,7	18,6	18,6	18,8	18,6	0,2	0,2
13	18,8	18,8	18,8	18,8	19,0	19,0	18,8	18,9	18,9	18,9	19,1	19,1	18,8	18,5	18,9	18,8	18,8	19,0	18,8	0,2	0,2
14	18,8	18,8	18,8	18,8	18,8	18,8	18,6	18,9	18,9	18,9	19,1	19,0	18,6	18,3	18,7	18,6	18,6	18,8	18,6	0,2	0,2
15	19,1	19,1	19,1	19,1	20,0	20,0	19,9	19,3	19,3	19,3	19,1	19,9	19,9	19,4	19,9	19,6	19,6	19,6	20,0	0,2	0,2
16	19,1	19,1	19,1	19,1	20,0	20,0	19,9	19,3	19,3	19,3	19,1	19,9	19,9	19,4	19,9	19,6	19,6	19,6	20,0	0,2	0,2
17	19,1	19,1	19,1	19,1	20,0	20,0	19,9	19,3	19,3	19,3	19,1	19,9	19,9	19,4	19,9	19,6	19,6	19,6	20,0	0,2	0,2
18	19,1	19,1	19,1	19,1	20,0	20,0	19,9	19,3	19,3	19,3	19,1	19,9	19,9	19,4	19,9	19,6	19,6	19,6	20,0	0,2	0,2
19	19,1	19,1	19,1	19,1	20,0	20,0	19,9	19,3	19,3	19,3	19,1	19,9	19,9	19,4	19,9	19,6	19,6	19,6	20,0	0,2	0,2
20	19,1	19,1	19,1	19,1	20,0	20,0	19,9	19,3	19,3	19,3	19,1	19,9	19,9	19,4	19,9	19,6	19,6	19,6	20,0	0,2	0,2
21	19,1	19,1	19,1	19,1	20,0	20,0	19,9	19,3	19,3	19,3	19,1	19,9	19,9	19,4	19,9	19,6	19,6	19,6	20,0	0,2	0,2
22	19,1	19,1	19,1	19,1	20,2	20,2	20,0	19,3	19,3	19,3	19,1	20,0	20,0	19,6	20,1	19,7	19,7	19,7	20,2	0,2	0,2
23	18,8	18,8	18,8	18,8	19,7	19,7	19,6	18,9	18,9	18,9	18,8	19,6	19,6	19,1	19,6	19,3	19,3	19,3	19,7	0,2	0,2
24	18,8	18,8	18,8	18,8	19,7	19,7	19,6	18,9	18,9	18,9	18,8	19,6	19,6	19,1	19,6	19,3	19,3	19,3	19,7	0,2	0,2

Tabla 2. Continuación.

	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63
25	19,1	19,1	19,1	19,1	20,2	20,2	20,0	19,3	19,3	19,3	19,1	20,0	20,0	19,6	19,9	19,7	19,7	19,7	20,2	0,2	0,2
26	17,6	17,6	17,6	17,6	17,9	17,9	17,7	17,8	17,8	17,8	17,6	18,0	17,7	17,4	17,6	17,7	17,7	17,7	17,7	0,2	0,2
27	17,6	17,6	17,6	17,6	17,9	17,9	17,7	17,8	17,8	17,8	17,6	18,0	17,7	17,4	17,6	17,7	17,7	17,7	17,7	0,2	0,2
28	17,6	17,6	17,6	17,6	17,9	17,9	17,7	17,8	17,8	17,8	17,6	18,0	17,7	17,4	17,6	17,7	17,7	17,7	17,7	0,2	0,2
29	17,6	17,6	17,6	17,6	17,9	17,9	17,7	17,8	17,8	17,8	17,6	18,0	17,7	17,4	17,6	17,7	17,7	17,7	17,7	0,2	0,2
30	5,1	5,1	5,1	5,1	5,2	5,2	5,1	5,3	5,3	5,4	5,4	5,1	5,1	5,1	5,0	5,1	5,1	4,9	5,1	0,1	0,1
31	4,7	4,7	4,7	4,7	4,8	4,7	4,7	4,8	4,8	5,0	5,0	5,0	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,8	4,5	0,1	0,1
32	0,5	0,5	0,5	0,5	0,8	0,8	0,6	0,7	0,7	0,8	0,8	0,9	0,6	0,6	0,7	0,6	0,6	0,8	0,8	0,0	0,1
33	0,3	0,3	0,3	0,3	0,6	0,6	0,5	0,5	0,5	0,7	0,7	0,8	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,6	0,0	0,1
34	0,3	0,3	0,3	0,3	0,6	0,6	0,5	0,5	0,5	0,7	0,7	0,8	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,6	0,0	0,1
35	0,3	0,3	0,3	0,3	0,6	0,6	0,5	0,5	0,5	0,7	0,7	0,8	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,6	0,0	0,1
36	0,2	0,2	0,2	0,2	0,5	0,5	0,3	0,3	0,3	0,5	0,5	0,6	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,5	0,5	0,0	0,1
37	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,5	0,2	0,5	0,5	0,5	0,5	0,7	0,2	0,0	0,1
38	0,2	0,2	0,2	0,2	0,5	0,2	0,3	0,3	0,3	0,5	0,5	0,6	0,3	0,6	0,5	0,6	0,6	0,8	0,5	0,0	0,1
39	0,2	0,2	0,2	0,2	0,5	0,3	0,3	0,3	0,3	0,5	0,5	0,6	0,3	0,6	0,5	0,6	0,6	0,8	0,5	0,0	0,1
40	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,5	0,2	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,3	0,0	0,1
41	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,5	0,2	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,3	0,0	0,1
42	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2	0,5	0,5	0,3	0,3	0,5	0,3	0,0	0,1
43		0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2	0,5	0,5	0,3	0,3	0,5	0,3	0,0	0,1
44	0,0		0,0	0,0	0,0	0,3	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2	0,5	0,5	0,3	0,3	0,5	0,3	0,0	0,1
45	0,0	0,0		0,0	0,0	0,3	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2	0,5	0,5	0,3	0,3	0,5	0,3	0,0	0,1
46	0,0	0,0	0,0		0,0	0,3	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2	0,5	0,5	0,3	0,3	0,5	0,3	0,0	0,1
47	0,0	0,0	0,0	0,0		0,6	0,5	0,2	0,2	0,3	0,3	0,8	0,5	0,8	0,8	0,8	0,8	0,9	0,6	0,0	0,1
48	0,3	0,3	0,3	0,3	0,6		0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,5	0,5	0,8	0,7	0,8	0,8	0,9	0,6	0,0	0,1
49	0,2	0,2	0,2	0,2	0,5	0,2		0,0	0,0	0,2	0,2	0,3	0,3	0,6	0,7	0,6	0,6	0,8	0,5	0,0	0,1

Tabla 2. Continuación.

	43	44	45	46	47	<b>48</b>	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63
50	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,0		0,0	0,2	0,2	0,2	0,3	0,7	0,7	0,5	0,5	0,7	0,5	0,0	0,1
51	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,0	0,0		0,2	0,2	0,2	0,3	0,7	0,7	0,5	0,5	0,7	0,5	0,0	0,1
52	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2		0,3	0,3	0,5	0,8	0,9	0,7	0,7	0,8	0,7	0,0	0,1
53	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,3		0,3	0,5	0,8	0,9	0,7	0,7	0,8	0,7	0,0	0,1
54	0,3	0,3	0,3	0,3	0,8	0,5	0,3	0,2	0,2	0,3	0,3		0,6	0,9	1,0	0,9	0,9	1,1	0,8	0,0	0,1
55	0,2	0,2	0,2	0,2	0,5	0,5	0,3	0,3	0,3	0,5	0,5	0,6		0,6	0,7	0,6	0,6	0,8	0,5	0,0	0,1
56	0,5	0,5	0,5	0,5	0,8	0,8	0,6	0,7	0,7	0,8	0,8	0,9	0,6		0,7	0,6	0,6	0,8	0,8	0,0	0,1
57	0,5	0,5	0,5	0,5	0,8	0,7	0,7	0,7	0,7	0,9	0,9	1,0	0,7	0,7		0,3	0,3	0,5	0,7	0,0	0,1
58	0,3	0,3	0,3	0,3	0,8	0,8	0,6	0,5	0,5	0,7	0,7	0,9	0,6	0,6	0,3		0,0	0,2	0,8	0,0	0,1
59	0,3	0,3	0,3	0,3	0,8	0,8	0,6	0,5	0,5	0,7	0,7	0,9	0,6	0,6	0,3	0,0		0,2	0,8	0,0	0,1
60	0,5	0,5	0,5	0,5	0,9	0,9	0,8	0,7	0,7	0,8	0,8	1,1	0,8	0,8	0,5	0,2	0,2		0,9	0,0	0,1
61	0,3	0,3	0,3	0,3	0,6	0,6	0,5	0,5	0,5	0,7	0,7	0,8	0,5	0,8	0,7	0,8	0,8	0,9		0,0	0,1
62	0,9	0,9	0,9	0,9	1,0	1,2	1,2	1,1	1,1	1,2	1,2	1,5	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,3	1,2		0,1
63	10,5	10,5	10,5	10,5	10,5	10,1	10,3	10,7	10,7	10,9	10,5	9,9	10,3	10,3	10,5	10,7	10,7	10,5	10,3	0,1	
64	10,9	10,9	10,9	10,9	10,8	10,5	10,7	11,1	11,1	11,3	10,9	10,3	10,7	10,7	10,9	11,0	11,0	10,8	10,7	0,1	0,0
65	10,7	10,7	10,7	10,7	10,7	10,3	10,5	10,9	10,9	11,1	10,7	10,5	10,5	10,5	10,7	10,9	10,9	10,7	10,5	0,1	0,0
66	10,7	10,7	10,7	10,7	10,9	10,5	10,7	10,9	10,9	11,1	10,7	10,3	10,7	10,7	10,7	11,0	11,0	10,9	10,7	0,1	0,0
67	8,6	8,6	8,6	8,6	8,7	8,7	8,5	8,8	8,8	9,0	8,6	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,7	8,5	0,1	0,1
68	8,6	8,6	8,6	8,6	8,7	8,7	8,5	8,8	8,8	9,0	8,6	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,7	8,5	0,1	0,1
69	8,8	8,8	8,8	8,8	8,9	8,9	8,7	9,0	9,0	9,2	8,8	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7	8,9	8,7	0,1	0,1
7 <b>0</b>	8,8	8,8	8,8	8,8	8,9	8,9	8,7	9,0	9,0	9,2	8,8	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7	8,9	8,7	0,1	0,1
71	9,2	9,2	9,2	9,2	9,2	9,2	9,1	9,4	9,4	9,5	9,2	9,1	9,1	9,1	9,1	9,0	9,0	9,2	9,0	0,1	0,1
72	11,5	11,5	11,5	11,5	11,7	11,4	11,6	11,7	11,7	11,9	11,9	11,9	11,6	11,2	11,0	11,6	11,6	11,7	11,6	0,1	0,1
73	11,5	11,5	11,5	11,5	11,9	11,6	11,8	11,7	11,7	11,9	11,9	11,8	11,8	11,4	11,2	11,7	11,7	11,9	11,7	0,1	0,1
74	11,9	11,9	11,9	11,9	12,1	11,8	11,9	12,1	12,1	12,3	12,3	12,3	11,9	11,6	11,4	11,9	11,9	12,1	11,9	0,1	0,1

Tabla 2. Continuación.

	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63
75	14,0	14,0	14,0	14,0	13,6	13,6	13,4	14,2	14,2	14,4	14,4	13,8	13,4	13,4	13,4	13,8	13,8	13,6	13,4	0,1	0,1
76	14,0	14,0	14,0	14,0	13,6	13,6	13,4	14,2	14,2	14,4	14,4	13,8	13,4	13,4	13,4	13,8	13,8	13,6	13,4	0,1	0,1
77	14,0	14,0	14,0	14,0	13,6	13,6	13,4	14,2	14,2	14,4	14,4	13,8	13,4	13,4	13,4	13,8	13,8	13,6	13,4	0,1	0,1
78	14,0	14,0	14,0	14,0	13,6	13,6	13,4	14,2	14,2	14,4	14,4	13,8	13,4	13,4	13,4	13,8	13,8	13,6	13,4	0,1	0,1
79	14,0	14,0	14,0	14,0	13,6	13,6	13,4	14,2	14,2	14,4	14,4	13,8	13,4	13,4	13,4	13,8	13,8	13,6	13,4	0,1	0,1
80	14,0	14,0	14,0	14,0	13,6	13,6	13,4	14,2	14,2	14,4	14,4	13,8	13,4	13,4	13,4	13,8	13,8	13,6	13,4	0,1	0,1
81	14,0	14,0	14,0	14,0	13,6	13,6	13,4	14,2	14,2	14,4	14,4	13,8	13,4	13,4	13,4	13,8	13,8	13,6	13,4	0,1	0,1
82	13,6	13,6	13,6	13,6	13,2	13,2	13,0	13,8	13,8	14,0	14,0	13,4	13,0	13,0	13,2	13,4	13,4	13,2	13,0	0,1	0,1
83	14,0	14,0	14,0	14,0	13,8	13,8	13,6	14,2	14,2	14,4	14,4	14,0	13,6	13,6	13,6	13,9	13,9	13,8	13,6	0,1	0,1
84	15,3	15,3	15,3	15,3	15,8	15,6	15,4	15,3	15,3	15,3	15,6	15,6	15,6	15,2	15,6	15,6	15,6	15,8	15,8	0,2	0,2
85	16,0	16,0	16,0	16,0	16,5	16,4	16,2	16,0	16,0	16,0	16,2	16,4	16,4	15,6	16,4	16,3	16,3	16,5	16,5	0,2	0,2
86	22,0	22,0	22,0	22,0	23,2	22,8	22,8	22,0	22,0	22,0	21,8	23,0	23,0	22,6	22,8	23,0	23,0	22,8	23,0	0,2	0,2
87	22,0	22,0	22,0	22,0	22,0	22,0	22,0	22,0	22,0	22,0	21,8	22,2	22,2	21,8	21,9	22,0	22,0	21,7	22,2	0,2	0,2
88	22,2	22,2	22,2	22,2	23,5	23,0	23,0	22,2	22,2	22,2	22,0	23,3	23,3	22,8	23,0	23,2	23,2	23,0	23,2	0,2	0,2
89	21,8	21,8	21,8	21,8	21,8	21,8	21,8	21,8	21,8	21,8	21,5	22,0	22,0	21,5	21,7	21,8	21,8	21,5	22,0	0,2	0,2
90	22,2	22,2	22,2	22,2	23,5	22,8	23,0	22,2	22,2	22,2	22,0	23,3	23,3	22,8	22,8	23,2	23,2	23,0	22,8	0,2	0,2
91	20,6	20,6	20,6	20,6	21,9	21,5	21,5	20,6	20,6	20,6	20,4	21,8	21,8	21,5	21,6	21,7	21,7	21,5	21,7	0,2	0,2
92	20,6	20,6	20,6	20,6	20,6	20,6	20,6	20,6	20,6	20,6	20,4	20,9	20,9	20,6	20,7	20,6	20,6	20,4	20,8	0,2	0,2
93	20,6	20,6	20,6	20,6	22,0	21,3	21,6	20,6	20,6	20,6	20,4	21,8	21,8	21,6	21,6	21,7	21,7	21,5	21,7	0,2	0,2
94	20,6	20,6	20,6	20,6	20,6	20,6	20,6	20,6	20,6	20,6	20,4	20,9	20,9	20,2	20,7	20,6	20,6	20,4	20,8	0,2	0,2
95	21,6	21,6	21,6	21,6	22,8	22,4	22,4	21,6	21,6	21,6	21,3	22,6	22,6	22,2	22,6	22,6	22,6	22,4	22,6	0,2	0,2
96	21,8	21,8	21,8	21,8	23,0	22,4	22,6	21,8	21,8	21,8	21,5	22,8	22,8	22,4	22,8	22,8	22,8	22,6	23,0	0,2	0,3
97	21,8	21,8	21,8	21,8	23,0	22,4	22,6	21,8	21,8	21,8	21,5	22,8	22,8	22,4	22,8	22,8	22,8	22,6	23,0	0,2	0,3
98	21,5	21,5	21,5	21,5	22,8	22,2	22,4	21,5	21,5	21,5	21,3	22,6	22,6	22,2	22,6	22,6	22,6	22,4	22,8	0,2	0,3
99	21,5	21,5	21,5	21,5	22,8	22,2	22,4	21,5	21,5	21,5	21,3	22,6	22,6	22,2	22,6	22,6	22,6	22,4	22,6	0,2	0,2

	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63
100	22,0	22,0	22,0	22,0	23,2	22,6	22,8	22,0	22,0	22,0	21,8	23,0	23,0	22,6	23,0	23,0	23,0	22,8	23,0	0,2	0,2
101	20,0	20,0	20,0	20,0	21,1	20,5	20,7	20,0	20,0	20,0	19,8	20,9	20,9	20,7	20,5	20,9	20,9	21,1	20,9	0,2	0,2
102	20,0	20,0	20,0	20,0	21,1	20,7	20,7	20,0	20,0	20,0	19,7	20,9	20,9	20,7	20,5	20,9	20,9	21,1	20,9	0,2	0,2
103	20,0	20,0	20,0	20,0	21,1	20,7	20,7	20,0	20,0	20,0	19,7	20,9	20,9	20,7	20,5	20,9	20,9	21,1	20,9	0,2	0,2
104	19,5	19,5	19,5	19,5	20,8	20,3	20,3	19,5	19,5	19,3	19,3	20,6	20,6	20,1	20,7	20,5	20,5	20,8	20,3	0,2	0,2
105	20,6	20,6	20,6	20,6	21,7	21,3	21,3	20,6	20,6	20,6	20,4	21,5	21,5	21,1	21,2	21,5	21,5	21,7	21,5	0,2	0,2
106	19,7	19,7	19,7	19,7	20,4	20,2	20,0	19,7	19,7	19,5	19,9	20,4	20,2	19,6	20,9	20,2	20,2	20,4	20,2	0,2	0,2
107	19,7	19,7	19,7	19,7	20,4	20,2	20,0	19,7	19,7	19,5	19,9	20,4	20,2	19,6	20,9	20,2	20,2	20,4	20,2	0,2	0,2
108	20,8	20,8	20,8	20,8	21,4	20,8	21,0	20,8	20,8	20,5	21,0	21,4	21,2	20,6	21,6	21,2	21,2	21,4	21,2	0,2	0,2

Tabla 2. Continuación.

	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84
1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
4	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
5	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
6	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
7	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
8	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
9	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
10	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
11	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
12	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
13	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
14	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
15	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
16	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
17	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
18	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
19	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
20	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
21	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
22	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
23	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
24	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

Tabla 2. Continuación.

	64	65	66	67	68	69	<b>70</b>	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84
25	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
26	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
27	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
28	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
29	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
30	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
31	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
32	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
33	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
34	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
35	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
36	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
37	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
38	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
39	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
40	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
41	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
42	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
43	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
44	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
45	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
46	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
47	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
48	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
49	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

Tabla 2. Continuación.

	64	65	66	67	68	69	<b>70</b>	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84
50	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
51	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
52	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
53	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
54	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
55	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
56	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
57	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
58	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
59	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
60	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
61	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
62	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
63	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
64		0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
65	0,0		0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
66	0,0	0,0		0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
67	0,1	0,1	0,1		0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
68	0,1	0,1	0,1	0,0		0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
69	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0		0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
70	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0		0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
71	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0		0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
72	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1		0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
73	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0		0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
74	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0		0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2

Tabla 2. Continuación.

	64	65	66	67	68	69	<b>70</b>	71	72	73	74	75	76	77	7 <b>8</b>	79	80	81	82	83	84
75	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,2
76	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,2
77	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,2
78	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,2
79	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,1	0,2
80	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,1	0,2
81	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,1	0,2
82	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,1	0,2
83	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1		0,2
84	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	
85	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,0
86	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2
87	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2
88	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2
89	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2
90	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2
91	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2
92	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,3	0,2
93	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2
94	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2
95	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2
96	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2
97	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2
98	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2
99	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2

Tabla 2. Continuación.

	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84
100	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2
101	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2
102	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2
103	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2
104	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2
105	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2
106	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
107	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
108	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

Tabla 2. Continuación.

	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
4	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
5	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
6	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
7	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
8	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
9	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
10	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
11	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
12	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
13	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
14	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
15	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
16	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
17	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
18	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
19	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
20	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
21	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
22	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
23	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
24	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

Tabla 2. Continuación.

	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
25	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
26	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
27	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
28	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
29	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
30	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
31	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
32	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
33	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
34	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
35	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
36	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
37	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
38	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
39	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
40	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
41	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
42	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
43	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
44	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
45	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
46	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
47	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
48	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
49	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

Tabla 2. Continuación.

	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
50	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
51	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
52	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
53	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
54	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
55	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
56	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
57	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
58	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
59	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
60	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
61	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
62	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
63	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
64	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
65	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
66	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
67	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
68	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
69	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
70	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
71	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
72	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
73	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
74	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

Tabla 2. Continuación.

	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
75	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
76	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
77	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
78	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
79	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
80	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
81	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
82	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
83	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
84	0,0	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
85		0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
86	0,2		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
87	0,2	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
88	0,2	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
89	0,2	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
90	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
91	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
92	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
93	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
94	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
95	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
96	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
97	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
98	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0		0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
99	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

Tabla 2. Continuación.

	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
100	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
101	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1		0,0	0,0	0,0	0,1
102	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0		0,0	0,0	0,1
103	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0		0,0	0,1
104	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0		0,1
105	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	
106	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
107	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
108	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

Tabla 2. Continuación.

	106	107	108		106	107	108		106	107	108		106	107	108		106	107	108
1	0,2	0,2	0,2	24	0,2	0,2	0,2	47	0,2	0,2	0,2	7 <b>0</b>	0,2	0,2	0,2	93	0,2	0,2	0,2
2	0,2	0,2	0,2	25	0,2	0,2	0,2	48	0,2	0,2	0,2	71	0,2	0,2	0,2	94	0,2	0,2	0,2
3	0,2	0,2	0,2	26	0,2	0,2	0,2	49	0,2	0,2	0,2	72	0,2	0,2	0,2	95	0,2	0,2	0,2
4	0,2	0,2	0,2	27	0,2	0,2	0,2	50	0,2	0,2	0,2	73	0,2	0,2	0,2	96	0,2	0,2	0,2
5	0,2	0,2	0,2	28	0,2	0,2	0,2	51	0,2	0,2	0,2	74	0,2	0,2	0,2	97	0,2	0,2	0,2
6	0,2	0,2	0,2	29	0,2	0,2	0,2	52	0,2	0,2	0,2	75	0,2	0,2	0,2	98	0,2	0,2	0,2
7	0,2	0,2	0,2	30	0,2	0,2	0,2	53	0,2	0,2	0,2	76	0,2	0,2	0,2	99	0,2	0,2	0,2
8	0,2	0,2	0,2	31	0,2	0,2	0,2	54	0,2	0,2	0,2	77	0,2	0,2	0,2	100	0,2	0,2	0,2
9	0,2	0,2	0,2	32	0,2	0,2	0,2	55	0,2	0,2	0,2	78	0,2	0,2	0,2	101	0,2	0,2	0,2
10	0,2	0,2	0,2	33	0,2	0,2	0,2	56	0,2	0,2	0,2	79	0,2	0,2	0,2	102	0,2	0,2	0,2
11	0,2	0,2	0,2	34	0,2	0,2	0,2	57	0,2	0,2	0,2	80	0,2	0,2	0,2	103	0,2	0,2	0,2
12	0,2	0,2	0,2	35	0,2	0,2	0,2	58	0,2	0,2	0,2	81	0,2	0,2	0,2	104	0,2	0,2	0,2
13	0,2	0,2	0,2	36	0,2	0,2	0,2	59	0,2	0,2	0,2	82	0,2	0,2	0,2	105	0,2	0,2	0,2
14	0,2	0,2	0,2	37	0,2	0,2	0,2	60	0,2	0,2	0,2	83	0,2	0,2	0,2	106		0,0	0,0
15	0,2	0,2	0,2	38	0,2	0,2	0,2	61	0,2	0,2	0,2	84	0,2	0,2	0,2	107	0,0		0,0
16	0,2	0,2	0,2	39	0,2	0,2	0,2	62	0,2	0,2	0,2	85	0,2	0,2	0,2	108	0,0	0,0	
17	0,2	0,2	0,2	40	0,2	0,2	0,2	63	0,2	0,2	0,2	86	0,2	0,2	0,2				
18	0,2	0,2	0,2	41	0,2	0,2	0,2	64	0,2	0,2	0,2	87	0,2	0,2	0,2				
19	0,2	0,2	0,2	42	0,2	0,2	0,2	65	0,2	0,2	0,2	88	0,2	0,2	0,2				
20	0,2	0,2	0,2	43	0,2	0,2	0,2	66	0,2	0,2	0,2	89	0,2	0,2	0,2				
21	0,2	0,2	0,2	44	0,2	0,2	0,2	67	0,2	0,2	0,2	90	0,2	0,2	0,2				
22	0,2	0,2	0,2	45	0,2	0,2	0,2	68	0,2	0,2	0,2	91	0,2	0,2	0,2				
23	0,2	0,2	0,2	46	0,2	0,2	0,2	69	0,2	0,2	0,2	92	0,2	0,2	0,2				

## Anexo III

**Referencias de Tablas 1-3: A.** Longitud del Cuerpo sin tentáculos. **B.** Longitud de la Faringe. **C.** Longitud del Esfínter Posterior. **D.** Ancho del Esfínter Posterior. **E.** Diámetro de la Ventosa. **F.** Ancho del Pedúnculo de la Ventosa. **G.** Longitud del Cuerpo / Longitud de la Faringe. **H.** Longitud del Cuerpo / Longitud del Esfínter Posterior. **I.** Longitud de la Faringe / Longitud del Esfínter Posterior. **J.** Ancho/Longitud del Esfínter Posterior. **K.** Longitud del Cuerpo / Diámetro de la Ventosa.

Tabla 1. Medidas tomadas sobre ejemplares de *Temnocephala iheringi*.

	Ejemplares																				
													MLP	MLP	MLP	MLP	MLP	MLP			
													-He	-He	-He	-He	-He	-He			
Medidas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	5915	5916	5917	5918	5919	5920	Media	ds	Rango
Α	1,58	1,62	1,88	1,38	1,68	1,8	1,9	1,86	2,4	2,56	2,12	2,64	2,72	2,6	2,2	2,36	2,8	2,1	2,12	0,43	1,38- 2,8
В	0,24	0,25	0,3	0,34	0,33	0,23	0,36	0,41	0,37	0,34	0,35	0,22	0,41	0,38	0,32	0,46	0,45	0,3	0,33	0,07	0,21- 0,45 0.15-
С	0,16	0,17	0,20	0,24	0,17	0,15	0,24	0,28	0,21	-	0,27	0,15	0,24	0,24	0,19	0,26	0,29	0,18	0,21	0,07	0,28 0,25-
D	0,34	0,26	0,36	0,36	0,31	0,35	0,36	0,41	-	0,51	0,32	0,27	0,33	0,26	0,36	0,41	0,3	0,29	0,34	0,11	0,51 0,51-
Е	0,52	0,58	0,6	0,55	0,66	0,58	0,59	0,59	0,65	0,77	0,61	0,80	0,74	0,73	0,61	0,72	0,74	0,52	0,64	0,09	0,79 0,23-
F	0,23	-	0,30	-	0,23	-	-	-	0,32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,27	0,05	0,32
G	6,58	6,61	6,27	4,12	5,17	7,83	5,28	4,59	6,49	7,64	6,06	12,28	6,72	6,84	6,98	5,19	6,29	7	6,36		
н	10,19	9,82	9,64	5,75	9,88	12,00	8,09	6,64	11,43	-	7,85	17,60	11,57	10,83	11,58	9,08	9,82	12	10,01		
Ι	1,55	1,48	1,54	1,40	1,91	1,53	1,53	1,45	1,76	-	1,30	1,43	1,72	1,58	1,66	1,75	1,56	1,71	1,57		
J	2,16	1,58	1,82	1,48	1,82	2,33	1,51	1,45	-	-	1,19	1,77	1,38	1,06	1,87	1,58	1,05	1,63	1,60		
К	3,07	2,79	3,13	2,51	2,56	3,13	3,25	3,18	3,72	3,35	3,50	3,32	3,70	3,56	3,61	3,30	3,78	4,04	3,32		

Medidas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Media	ds	Rango
Α	3,36	2,36	2,06	2,58	4,62	3	3,02	2,64	-	-	2,96	0,79	2,06-4,62
В	0,50	0,3	0,58	0,37	0,37	0,49	0,53	0,53	-	-	0,46	0,10	0,3-0,57
С	0,28	0,39	0,31	0,26	0,22	0,27	0,34	0,38	-	-	0,30	0,06	0,22-0,38
D	0,67	0,84	0,60	0,58	0,56	0,60	0,84	0,95	-	-	0,70	0,15	0,55-0,94
Е	1,11	0,74	0,65	0,87	1,23	1,1	1,12	0,70	-	-	0,94	0,22	0,65-1,22
F	-	-	-	-	-	-	-	0,79	0,41	0,57	0,59	0,19	0,57-0,79
G	6,79	7,87	3,58	7,07	12,66	6,19	5,75	4,98	-	-	6,49		
н	12	6,13	6,75	9,92	21	11,32	8,88	6,95	-	-	9,71		
Ι	1,77	0,78	1,89	1,40	1,66	1,83	1,54	1,39	-	-	1,49		
J	2,38	2,18	1,95	2,23	2,52	2,25	2,47	2,49	-	-	2,31		
К	3,04	3,19	3,17	2,97	3,77	2,73	2,71	3,80	_	_	3,15		

 Tabla 2. Medidas tomadas sobre ejemplares de Temnocephala lamothei.

		Ejemj	plares				
	MLP-He 7215-1	MLP-He 7215-2	MLP-He 7215-3	MLP-He 7215-4	Media	ds	Rango
Α	2,44	3,24	2,82	2,38	2,72	0,40	2,38-3,24
В	0,46	0,37	0,4	0,38	0,4	0,04	0,36-0,45
С	0,32	0,26	0,24	0,25	0,27	0,03	0,24-0,31
D	0,41	0,33	0,28	0,31	0,33	0,06	0,27-0,41
Ε	0,32	0,31	0,3	0,27	0,30	0,02	0,26-0,32
F	0,24	0,29	0,24	0,25	0,25	0,02	0,24-0,29
G	5,36	8,88	7,05	6,35	6,82		
н	7,75	12,71	11,8	9,52	10,26		
Ι	1,44	1,43	1,67	1,5	1,50		
J	1,30	1,29	1,15	1,22	1,25		
К	7,63	10,45	9,4	8,98	9,10		

 Tabla 3. Medidas tomadas sobre ejemplares de Temnocephala digitata.