



Universidade Federal do Rio Grande
Instituto de Ciências Biológicas
Pós-graduação em Biologia de
Ambientes Aquáticos Continentais



**Caracterização morfológica e molecular de espécies
de Gyrodactylidea (Monogenoidea) parasitas de
Hisonotus spp. (Loricariidae) das bacias
hidrográficas adjacentes à Lagoa dos Patos.**

Sabrina Dalmas Branchi

Orientador: Dr. Rogério Tubino Vianna
Co-orientadora: Dra. Lizandra Jaqueline Robe

Rio Grande
2021



Universidade Federal do Rio Grande
Instituto de Ciências Biológicas
Pós-graduação em Biologia de Ambientes
Aquáticos Continentais



**Caracterização morfológica e molecular de espécies de
Gyrodactylidea (Monogenoidea) parasitas de *Hisonotus* spp.
(Loricariidae) das bacias hidrográficas adjacentes à Lagoa dos Patos.**

Aluno: Sabrina Dalmas Branchi

Orientador: Dr. Rogério Tubino Vianna

Co-orientadora: Dra. Lizandra Jaqueline Robe

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais.

Rio Grande
2021

“Perhaps our greatest distinction as a species is our capacity, unique among animals, to make counter-evolutionary choices.” - Jared Diamond

Dedico esta dissertação a todos que acreditam no poder da educação.

AGRADECIMENTOS

Em 2014 conheci a pessoa que, de certa forma, permitiu com que esse momento chegasse. Em uma das primeiras aulas da graduação entra em sala o professor de Zoologia de Invertebrados I. Desde o primeiro segundo ele deixou bem claro que nossa jornada não seria fácil, nos assustamos, pois estávamos repletos de sonhos e expectativas. Obrigada por sempre nos deixar com os pés no chão, Rogério. No momento que sai desta primeira aula, soube que era como aquele professor que eu queria ser. No meio do semestre, prof. Rogério entra em sala e diz que está precisando de estagiários. Adivinhem que foi voando? E nesse momento ganhei uma nova família, a família LABIPOA.

Rogério, obrigada por ter confiado e acreditado em mim esse tempo todo. És um professor excepcional, um orientador maravilhoso, um amigo para todas as horas e um pai, sempre que preciso. Obrigada por absolutamente tudo!

O LABIPOA tem todo meu coração. Foi naquele espaço com cheiro de creosoto, que conheci as pessoas que estarão na minha vida para sempre. Compartilhamos dias felizes e tristes, comemoramos conquistas e choramos juntos. Somos uma família! Yu, Aline, Madalena, Tainã, Daniela, Jhoe e Robert. Essa dissertação tem um pouquinho de todos vocês! Mas preciso fazer um agradecimento especial a Tainã, afinal, chegamos juntas no mestrado e seguimos juntas por todo este percurso. Agradeço por toda ajuda, pelas “milhares” de coletas, risadas, por sempre abrir as portas da tua casa para nós e sempre oferecer teu ombro amigo. Você é uma mulher maravilhosa e sou muito grata pelo privilégio de te ter em minha vida.

Minha coorientadora Lizandra, me mostrou como a biologia molecular é linda. No início não acreditei muito, mas não precisou muito tempo para mudar completamente de ideia. Sou muito grata por ter tido a oportunidade de ser tua aluna e orientada, tens toda minha admiração. Obrigada por tanto! As técnicas do laboratório de genética Daiane, Loraine e Bruna, obrigada por toda ajuda, ensinamentos e conversas. Em especial a Bruna, que foi uma base muito importante nos primeiros passos desta caminhada.

Por último e não menos importante, minha família. Meus pais, Nilce e Juarez, por terem dado todo suporte e força que precisei. Saber que sempre tinha para onde correr nos momentos difíceis, foi muito importante durante esta jornada. Minha irmã Beatriz, que longe ou perto sempre esteve do meu lado. Você é incrível e tenho muito orgulho de ser tua irmã.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos. A Universidade Federal do Rio Grande, por unir forças para que

nós, alunos, possamos ter um ensino de qualidade apesar das adversidades. Ao PPGBAC pela oportunidade e atenção sempre prestada.

RESUMO

O Rio Grande do Sul é dividido em três grandes regiões hidrográficas, sendo uma delas a região Hidrográfica do Litoral. Esta bacia está subdividida em cinco bacias, das quais três possuem ligação com a Lagoa dos Patos. Apesar da diversa ictiofauna associada a estas bacias, nas quais predominamos peixes pertencentes à Siluriformes, entre eles os Loricariidae, a fauna de Gyrodactylidea associada, é ainda inexplorada. A presente dissertação descreve uma nova espécie de *Gyrodactylus* (Gyrodactylidae), descrito de *Hisonotus* sp. (Loricariidae) da bacia do Litoral Médio e na bacia da Lagoa Mirim e Canal São Gonçalo. *Gyrodactylus* sp. n. 1 se diferencia de outras espécies de *Gyrodactylus* de Siluriformes por possuir os ganchos menores, com dedo do pé do gancho triangular, o órgão copulatório masculino com um espinho com borda recortada e duas fileiras de espinéletes, a fileira externa com 4-5 e a linha interna com 3-4 espinetes. A morfologia dos ganchos de *Gyrodactylus* sp. n. 1 é similar às espécies congêneres parasitas de Cyprinodontiformes da região Neotropical. O status de nova espécie foi corroborado por dados moleculares de (ITS rDNA), os quais também indicam que *Gyrodactylus* sp. n. 1 agrupa com espécies parasitas de Cyprinodontiformes e não com parasitos de Siluriformes. Seis espécies (cinco novas) de monogenóideos pertencentes à família Oogydactylidae são reportada/descritas pela primeira vez para bacias hidrográficas do Rio Grande do Sul: *Aglaigyrodactylus* sp. n. 1, *Aglaigyrodactylus* sp. n. 2 e *Phanerothecioides* sp. n. 1 são descritas para a Bacia da Lagoa Mirim e Canal São Gonçalo, enquanto *Aglaigyrodactylus* sp. n. 3, *Aglaigyrodactylus pedeunculatus* e *Phanerothecioides* sp. n. 2 foram registradas para a bacia do Rio Camaquã. *Aglaigyrodactylus* sp. n. 1, *Aglaigyrodactylus* sp. n. 2 e *Aglaigyrodactylus* sp. n. 3 são descritas baseadas, principalmente, nas características do órgão copulatório masculino. *Aglaigyrodactylus* sp. n. 1 possui a peça acessório do OCM com duas ramificações, *Aglaigyrodactylus* sp. n. 2 possui quatro ramificações da peça acessória e *Aglaigyrodactylus* sp. n. 3 possui três ramificações. Todas espécies de *Aglaigyrodactylus* descritas possuem como característica, um dos ramos da peça acessória em forma de placas, o que se difere das demais espécies já conhecidas. *Phanerothecioides* sp. n. 1 e *Phanerothecioides* sp. n. 2 são propostas com base na características morfológicas da distribuição da vitelária, âncoras e ovo. Somente *Gyrodactylus* sp. n. 1 ocorreu em mais de uma bacia, sendo a única a ocorrer na bacia do Litoral Médio. Nas demais bacias, foram observadas coocorrências entre espécies de *Gyrodactylus*, *Aglaigyrodactylus* e *Phanerothecioides*. Esta diversificação pode estar associada à história evolutiva da relação parasita/hospedeiro ou ao tempo e formação da planície costeira.

Palavras-chave: Distribuição, Gyrodactylidae, Oogydactylidae, Região Neotropical, Taxonomia Integrativa.

ABSTRACT

Rio Grande do Sul is divided into three major hydrographic regions, one of them being the Coastal Hydrographic Region. This basin is subdivided into five basins, three of which are connected to Patos Lagoon. Despite the diverse ichthyofauna associated with these basins, in which we predominate fish belonging to Siluriformes, among them the Loricariidae, the associated fauna of Gyrodactylidea, is still unexplored. This dissertation describes a new species of *Gyrodactylus* (Gyrodactylidae), described by *Hisonotus* sp. (Loricariidae) of the Coastal Middle basin and the basin of Lagoa Mirim and Canal São Gonçalo. *Gyrodactylus* sp. n. 1 differs from other *Gyrodactylus* species of Siluriformes by possessing the smaller hooks, with the toe of the triangular hook, the male copulatory organ with a jagged edge and two rows of spinells, the outer row with 4-5 and the inner line with 3-4 thorns. The morphology of the hooks of *Gyrodactylus* sp. n. 1 is similar to the parasitic congeners of Cyprinodontiformes of the Neotropical region. The status of new species has been corroborated by molecular data from (ITS rDNA), which also indicate that *Gyrodactylus* sp. n. 1 group with parasitic species of Cyprinodontiformes and not with parasites of Siluriformes. Six species (five new) of monogenoids belonging to the Oogydactylidae family are reported / described for the first time for hydrographic basins in Rio Grande do Sul: *Aglaigyrodactylus* sp. n. 1, *Aglaigyrodactylus* sp. n. 2 and *Phanerothecioides* sp. n. 1 are described for the Lagoa Mirim Basin and São Gonçalo Canal, while *Aglaigyrodactylus* sp. n. 3, *Aglaigyrodactylus pedunculatus* and *Phanerothecioides* sp. n. 2 were recorded for the Camaquã River basin. *Aglaigyrodactylus* sp. n. 1, *Aglaigyrodactylus* sp. n. 2 and *Aglaigyrodactylus* sp. n. 3 are described based mainly on the characteristics of the male copulatory organ. *Aglaigyrodactylus* sp. n. 1 has the accessory part of the OCM with two branches, *Aglaigyrodactylus* sp. n. 2 has four branches of the accessory part and *Aglaigyrodactylus* sp. n. 3 has three branches. All species of *Aglaigyrodactylus* described have, as a characteristic, one of the branches of the accessory piece in the form of plates, which differs from the other species already known. *Phanerothecioides* sp. n. 1 and *Phanerothecioides* sp. n. 2 are proposed based on the morphological characteristics of the distribution of vitellaria, anchors and egg. Only *Gyrodactylus* sp. n. 1 occurred in more than one basin, being the only one to occur in the Middle Coast basin. In the other basins, co-occurrences between species of *Gyrodactylus*, *Aglaigyrodactylus* and *Phanerothecioides* were observed. This diversification may be associated with the evolutionary history of the parasite / host relationship or with the time and formation of the coastal plain.

Key-words: Distribution, Gyrodactylidae, Oogydactylidae, Neotropical Region, Integrative Taxonomy.

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação segue o modelo proposto pelo Programa de Pós-Graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais (PPGBAC) e está dividida em três seções. A primeira seção é composta pela Introdução Geral, onde são abordados os principais temas propostos nesta dissertação, seguido pelos objetivos, hipótese e referências utilizadas. A segunda seção é composta por três manuscritos: (1) “A new species of *Gyrodactylus* (Monogenoidea: Gyrodactylidae) from *Hisonotus laevis* (Siluriformes: Loricariidae) from southern Brazil: a new register of viviparous gyrodactylids in loricariids fish”. Neste manuscrito é descrita uma nova espécie de *Gyrodactylus* (Gyrodactylidae) da bacia do Litoral Médio e da Lagoa Mirim e Canal São Gonçalo. O manuscrito está redigido em língua inglesa, seguindo as normas da revista *Parasitology Research*. (2) “Monogenoideas (Gyrodactylidea, Oogyrrodactylidae) parasitas da superfície corporal de *Hisonotus* spp. (Siluriformes, Loricariidae) do extremo sul do Brasil”. Nesse manuscrito são descritas *Aglaiogyrodactylus* **sp. n.** 1, *Aglaiogyrodactylus* **sp. n.** 2 e *Aglaiogyrodactylus* **sp. n.** 3, e apresentado um novo registro de ocorrência para *A. pedunculatus* e são sugeridas duas possíveis novas espécies de *Phanerotehcioides*. Este manuscrito está redigido em língua portuguesa e segue as normas da revista *Parasitology Research*. (3) “Composição da fauna de Gyrodactylidea de espécies de *Hisonotus* Eigenmann & Eigenmann, 1889 das bacias hidrográficas adjacentes à Lagoa dos Patos, sul do Brasil”. Esta seção aborda a composição e distribuição das espécies de Gyrodactylidea encontradas na região Hidrográfica do Litoral. Este manuscrito está redigido em língua portuguesa e segue as normas da revista *Acta Parasitologica*. A terceira e última seção, compreende as considerações finais e perspectivas futuras do estudo.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	13
1. Lagoa dos Patos e sua Ictiofauna	13
1.1 Características gerais e formação da Lagoa dos Patos	13
1.2 Bacias Hidrográficas	13
1.3 Ictiofauna	14
1.3.1 <i>Hisonotus</i> Eigenmann & Eigenmann (1889)	15
2. Gyrodactylidea	15
2.1 Oogyrodactylidae	17
2.2 Gyrodactylidae	18
2.3 Uso de dados moleculares de Gyrodactylidea	19
GLOSSÁRIO PARA GYRODACTYLIDEA.....	21
HIPÓTESES.....	23
OBJETIVOS	23
Objetivos gerais	23
Objetivos específicos	23
REFERÊNCIAS	24
 CAPÍTULO 1 – A new species of <i>Gyrodactylus</i> (Monogenoidea: Gyrodactylidae) from <i>Hisonotus laevis</i> (Siluriformes: Loricariidae) from Southern Brazil: a new register of gyrodactylids in loricariids fish.	33
INTRODUCTION	34
MATERIAL AND METHODS	35
RESULTS	36
DISCUSSION	38
REFERENCES	42
 CAPÍTULO 2 – Monogenoideos (Gyrodactylidea, Oogyrodactylidae) parasitas da superfície corporal de <i>Hisonotus</i> spp. (Siluriformes, Loricariidae) do extremo sul do Brasil.	41
INTRODUÇÃO	42
MATERIAIS E MÉTODOS	43
RESULTADOS	44
DISCUSSÃO	51
REFERÊNCIAS	54
 CAPÍTULO 3 – Composição da fauna de Gyrodactylidea (Monogenoidea) parasitas de espécies de <i>Hisonotus</i> Eigenmann & Eigenmann, 1889 das bacias hidrográficas adjacentes à Lagoa dos Patos, sul do Brasil.	65
INTRODUÇÃO	66
MATERIAIS E MÉTODOS	68
RESULTADOS	69
DISCUSSÃO	70
REFERÊNCIAS	70
 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS	84
ANEXO	85

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO GERAL

Figura 1. A. Regiões Hidrográficas do Rio Grande do Sul. B. Bacias hidrográficas da Planície Costeira do Rio Grande do Sul.

CAPÍTULO I

Figure 1. A *Gyrodactylus* n. sp. (Monogenoidea: Gyrodactylidae) from body surface of *Hisonotus laevior* (Loricariidae). **A** – Holotype, ventral view. **B**- Hook. **C** – MCO. **D** – Superficial bar and shield of the superficial bar. **E** – Complex of anchor, superficial and deep bars, and shield of the superficial bar. **F** –Anchor. Bars scale: **2** = 100 μ m; **3 - 5** = 10 μ m; **6 – 7** = 50 μ m.

Figure 2. Comparison of hooklets among *Gyrodactylus* n. sp. (continuous line) and other Neotropical species of *Gyrodactylus* parasites of Siluriformes (dotted line; species names above of each comparison). Bar scale = 10 μ m.

Figure 3. Phylogenetic hypothesis for *Gyrodactylus* n. sp. from *Hisonotus* spp. using ITS data. Phylogenetic tree inferred by Maximum Likelihood (ML) and Bayesian Inference (BI). Numbers near internal nodes show the bootstrap and the posterior probabilities of each clade, respectively. Colors to the right represent the different hosts: orange tones represent Siluriformes, blue tones represent Cyprinodontiformes and purple represents Characiformes. Letters (a - r) relate each species to its hook. RG corresponds to Rio Grande and SJN to São José do Norte.

CAPÍTULO II

Figura 1. *Aglaiogyrodactylus* sp. n. 1. **A.** Adulto. **B.** Gancho. **C.** Complexo do OCM. **D.** OCM e peças acessórias extrovertidas. **E.** Órgão copulatório masculino. **F.** Ovo. **G.** Complexo de âncora e barras. **H.** Juvenil. Barra de escala: 1= 200 μ m; 3, 4 e 6 = 10 μ m; 2, 5 e 7 = 25 μ m; 8 = 50 μ m.

Figura 2. *Aglaiogyrodactylus* sp. n. 2. **A.** Adulto (composite). **B.** Órgão copulatório masculino. **C.** Complexo OCM e peças acessórias. **D.** Complexo de Âncoras e barras. **E.** Ovo. **F.** Gancho. **G.** Juvenil. Barra de escala: 1= 200 μ m; 2 = 10 μ m; 3 = 25 μ m; 4 = 25 μ m; 5 = 25 μ m; 6 = 10 μ m; 7 = 50 μ m.

Figura 3. *Aglaiogyrodactylus* sp. n. 3. **A.** Adulto. **B.** Ovo. **C.** Filamento do ovo. **D.** Complexo OCM e peças acessórias. **E.** Gancho. **F.** Complexo de Âncoras e barras. **G.** Juvenil. Barra de escala: 1. 200 um; 2, 4 e 7 = 10 um; 3 e 5 = 50 um; 6. 25 um.

Figura 4. Filograma de espécies de *Aglaiogyrodactylus*, baseado em ITS rDNA. Valores acima do ramo indicam suporte de bootstrap.

Figura 5. *Phanerothecioides* sp. n. 1: **A.** Âncora. **C.** Gancho. **E.** Ovo. *Phanerothecioides* sp. n. 2: **B.** Âncora. **D.** Gancho. **F.** Ovo. Barra de escala: **1** = 200 um. **2-3** = 10 um. **4** = 5 um. **5-6** = 25 um.

Figura 6. **A.** Jovem de *Phanerothecioides* sp. n. 1; **B.** Adulto de *Phanerothecioides* sp. n. 2. Barra de escala = 200 um.

CAPÍTULO III

Figura 1. **A.** Regiões Hidrográficas do Rio Grande do Sul. **B.** Bacias hidrográficas Região Hidrográfica do Litoral.

Figura 2. Mapa do Rio Grande do Sul (**A**). Detalhes dos pontos de coletas (**B**) realizadas na Bacia do Litoral Médio (BLM): SJN – São José do Norte, TAV – Tavares; Bacia da Lagoa Mirim e do Canal São Gonçalo (BLMSG): RG – Rio Grande; AG – Arroio Grande; PO – Pedro Osório; Bacia do Rio Camaquã (BRC): CR – Cristal.

Figura 3. Ocorrência de espécies de hospedeiro e composição da assembleia de Gyrodactylidea em cada Bacia Hidrográfica. Bacia Hidrográfica do Litoral Médio (BLM); Bacia da Lagoa Mirim e do Canal São Gonçalo (BLMSG); Bacia do Rio Camaquã (BRC). Quadrantes azuis, indicam presença das espécies.

Figura 4. Dendrograma gerado a partir da análise de clusters. BLMSG-Bacia da Lagoa Mirim e do Canal São Gonçalo; BLM-Bacia do Litoral Médio; BRC-Bacia do Rio Camaquã.

LISTA DE TABELAS

INTRODUÇÃO GERAL

Tabela 1. Ocorrência das espécies de *Hisonotus* das bacias hidrográficas da Região Hidrológica do Litoral que desaguam na Lagoa dos Patos.

CAPÍTULO I

Table 1. Species of Gyrodactylidae employed in the phylogenetic evaluations, with their respective origin and GenBank accession numbers.

Table 2: Measurements of *Gyrodactylus n. sp.* compared between populations of Rio Grande (RG) and São José do Norte (SJN). Values in micrometers. Average, with range and number of measurements in parentheses.

CAPÍTULO II

Tabela 1. Medidas morfológicas de *Aglaiogyrodactylus pedunculatus*. Valores dados em μm . Valores entre parênteses representam tamanho máximo e mínimo observado.

Tabela 2. Distâncias genéticas entre espécies de *Aglaiogyrodactylus*.

CAPÍTULO III

Tabela 1: Pontos de coletas realizadas na Bacia do Litoral Médio (BLM): SJN – São José do Norte, TAV – Tavares; Bacia da Lagoa Mirim e do Canal São Gonçalo (BLMSG): RG – Rio Grande; AG – Arroio Grande; PO – Pedro Osório; Bacia do Rio Camaquã (BRC): CR – Cristal.

Tabela 2: Índices parasitológicos e valores do teste de distribuição de Gyrodactylidae parasitas de espécies de *Hisonotus* das bacias hidrográficas adjacentes

INTRODUÇÃO GERAL

1. Lagoa dos Patos

1.1 Características gerais e formação da Lagoa dos Patos

Situada no estado no Rio Grande do Sul (RS), a Lagoa dos Patos possui cerca de 10.000 km² de área, 250 km de comprimento, 60 km de largura média e de 5 a 8 metros de profundidade. Esta lagoa está permanentemente ligada ao oceano Atlântico pelo canal de Rio Grande, onde forma um estuário, sendo considerada a maior lagoa estrangulada do mundo (Cordeiro & Lorscheitter, 1994; Villwock & Tomazelli, 2007).

A Lagoa dos Patos está situada na Planície Costeira do Rio Grande do Sul (PCRS). A PCRS é a mais ampla planície do Brasil, o que permitiu preservar o registro geológico e geomórfico do Cenozóico e, em especial, do período Quaternário (Tomazelli & Villwock, 2000). A PCRS iniciou sua formação durante o Quaternário, a partir do desenvolvimento de leques aluviais e da deposição de quatro sistemas deposicionais do tipo “Laguna-Barreira” (Villwock & Tomazelli, 2007).

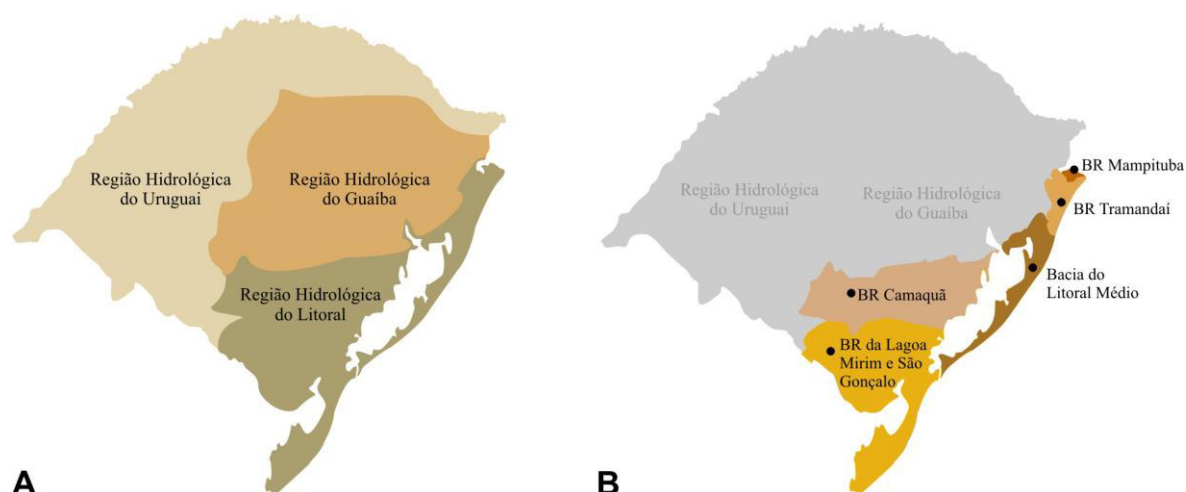
A barreira I é considerada a mais antiga, formou-se durante o Pleistoceno e de acordo com dados isotópicos de oxigênio, tem idade aproximada de 400 mil anos (ka) (Villwock & Tomazelli, 2007). A barreira II formou-se no Pleistoceno e possui idade aproximada de 325ka, correspondendo ao primeiro estágio da formação do Sistema Patos-Mirim. A barreira III é responsável pelo estabelecimento do Sistema Patos-Mirim e a idade desta barreira coincide com o último pico interglacial pleistocênico (120ka). Por último, a barreira IV é a mais recente, tendo se desenvolvido durante o Holoceno, como resultado da última grande transgressão pós-glacial. Esta barreira tem idade de 5ka (Tomazelli et al., 2006; Villwock & Tomazelli, 2007).

1.2 Bacias Hidrográficas

Conforme o Artigo 38 da Lei Estadual 10.350/1994 e do Decreto N°53.885/ 2018, PCRS tem nos seus limites partes de quatro bacias hidrográficas e abarca inteiramente uma delas: a Bacia do Litoral Médio (FEPAM). A Bacia do Litoral Médio abarca cinco bacias hidrográficas, entretanto, apenas três possuem alguma ligação com a Lagoa dos Patos: Bacia do Litoral Médio (BLM), Bacia da Lagoa Mirim e do Canal São Gonçalo (BLMSG) e a Bacia do Rio Camaquã (BRC) (Figura 1) (FEPAM, SEMA).

A Bacia do Litoral Médio situa-se na PCRS, entre as coordenadas de 29°50' a 32°11' Sul e 50°15' a 52°05' Oeste e possui uma área total de 6.108,03 km². Os principais

cursos de água desta bacia são provenientes da Lagoa dos Barros, do Rio Capivari, da Lagoa da Figueira, da Lagoa de São Simão e do Parque Nacional da Lagoa do Peixe. Já a Bacia da Lagoa Mirim e do Canal São Gonçalo situa-se na planície costeira e no Escudo Uruguaio-Sul-Rio-Grandense entre as coordenadas 31°30' a 34°35' de latitude Sul e 53°31' a 55°15' de longitude Oeste e possui área total de 25.961 km². Os principais cursos de água desta bacia são provenientes dos arroios Pelotas, Passo das Pedras, Basílio, Chasqueiro, Grande, Juncal, Chuí, do Vime, Seival, Minuano, Lageado, Taquara, Candiota, Butiá, Telho, do Quilombo e dos rios Piratini e Jaguarão, além do Canal São Gonçalo, que liga a Lagoa Mirim à Lagoa dos Patos. A Bacia do Rio Camaquã situa-se na planície costeira e no Escudo Sul-Rio-Grandense entre as coordenadas 28°50' a 30°00' de latitude Sul e 52°15' a 53°00' de longitude Oeste com área total de 21.259 km². Os principais corpos de água desta bacia são os arroios Sutil, da Sapata, Evaristo, dos Ladrões, Maria Santa, do Abrânio, Pantanoso, Boici, Torrinhas e do Rio Camaquã, com desembocadura a leste da Lagoa dos Patos (Figura 1) (FEPAM, SEMA).



A **B**
 Figura 1: A. Regiões Hidrográficas do Rio Grande do Sul. B. Bacias hidrográficas da Planície Costeira do Rio Grande do Sul.

1.3 Ictiofauna

A Lagoa dos Patos e seus rios e arroios, servem de habitat para inúmeras espécies de peixes. Estima-se que podem ser encontradas cerca de 200 espécies de peixes de água doce na Lagoa dos Patos, das quais 34% são pertencentes aos Siluriformes (Bertaco et al., 2016). Na Região Neotropical, Siluriformes representa a ordem mais diversa entre os Ostariophysi, com mais de 30 famílias, 412 gêneros e cerca de 1.650 espécies conhecidas

(Ferraris & Reis, 2005). Loricariidae é uma das maiores famílias de Siluriformes, é endêmica da Região Neotropical e inclui cerca de 1.000 espécies descritas (Fricke et al. 2021), distribuídas entre cerca de 70 gêneros (Ferraris & Reis, 2005). Somente na Lagoa dos Patos estima-se a ocorrência de 26 espécies pertencentes à Loricariidae, das quais 12 pertencem a *Hisonotus* (Bertaco et al., 2016)

1.3.1. *Hisonotus* Eigenmann & Eigenmann (1889)

Hisonotus é o gênero com o maior número de espécies descritas dentro da subfamília Hypoptopomatinae, com 31 espécies válidas (Casciotta et al., 2006; Carvalho et al., 2008; Carvalho & Reis, 2009; Carvalho & Reis, 2011). *Hisonotus* inclui pequenos peixes, geralmente encontrados associados a vegetações marginais de corpos de água e sua distribuição abrange as drenagens cis-andinas da América do Sul, da Venezuela e ao norte da Argentina (Schaefer, 2003; Reis & Carvalho, 2007; Pinto-Carvalho & Reis, 2011).

Na Lagoa dos Patos é registrada a ocorrência de *Hisonotus armatus* Carvalho, Lehmann A., Pereira & Reis, 2008, *H. brunneus* Carvalho & Reis, 2011, *H. carreiro* Carvalho & Reis, 2011, *H. charrua* Almirón, Azpelicueta, Casciotta & Litz, 2006, *H. heterogaster* Carvalho & Reis, 2011, *H. laevior* Cope, 1894, *H. leucofrenatus* Miranda Ribeiro, 1908, *H. nigricauda* Boulenger, 1891, *H. notopagos* Carvalho & Reis, 2011, *H. prata* Carvalho & Reis, 2011, *H. taimensis* Buckup, 1981 e *H. vireo* Carvalho & Reis, 2011 (Bertaco et al., 2016). Entretanto, destas 12 espécies de *Hisonotus*, somente sete ocorrem nas bacias da Região Hidrológica do Litoral com ligação à Lagoa dos Patos (Tabela 1) (Carvalho et al., 2008; Carvalho & Reis, 2011).

Tabela 1: Ocorrência de *Hisonotus* nas bacias hidrográficas da Região Hidrológica do Litoral que desaguam na Lagoa dos Patos. Células hachuradas representam a ocorrência da espécie na respectiva bacia.

Espécies de peixes hospedeiros	Bacias Hidrográficas		
	BLMSG	BRC	BLM
<i>Hisonotus armatus</i>			
<i>H. brunneus</i>			
<i>H. charrua</i>			
<i>H. laevior</i>			
<i>H. nigricauda</i>			
<i>H. notopagos</i>			
<i>H. taimensis</i>			

BRPSG: Bacia da Lagoa Mirim e do São Gonçalo; BRC: Bacia do Rio Camaquã; BML: Bacia do Litoral Médio.

2. Gyrodactylidea

Dentre os Gyrodactylidea existem famílias com espécies marinhas e ovíparas (Acanthocotylidae, Anoplodiscidae, Bothitrematidae, Tetraonchoididae e Udonellidae), de água-doce e ovíparas (Oogyrodactylidae) e de água doce, marinha e vivípara (Gyrodactylidae) (Harris, 1983; Boeger et al. 2020).

Harris (1983) propôs Oogyrodactylidae para alocar duas espécies ovíparas, *Oogyrodactylus farlowellae* Harris, 1983 e *Phanetothecium caballeroi* Kritsky e Thatcher, 1977, parasitas de Loricariidae e Pimelodidae, respectivamente. As espécies incluídas em Oogyrodactylidae são caracterizadas por possuírem um grande germário com oócitos e órgão copulatório masculino (OCM) tubular. Diferentes das espécies pertencentes a Gyrodactylidae, estas possuem um germário reduzido a poucas células, o OCM é bulboso e muscular, armado por espineletes (Harris, 1983).

Kritsky & Boeger (1991), sugeriram que os caracteres morfológicos utilizados por Harris (1983) para agrupar Oogyrodactylidae, representam uma simplesiomorfia de Gyrodactylidea e Dactylogyridea. Portanto, Oogyrodactylidae não seria suportada por caracteres sinapomórficos, sendo assim, um táxon parafilético e provisoriamente aceito, até que mais análises pudessem ser feitas. Posteriormente, Boeger & Kritsky (1993) consideraram Oogyrodactylidae como um sinônimo de Gyrodactylidae, devido à ausência de caracteres sinapomórficos.

Análises morfológicas demonstraram parafiletismo de Oogyrodactylidae, apoiando sua sinonímia com Gyrodactylidae. A reconstrução filogenética de Gyrodactylidae indica que a viviparidade foi desenvolvida secundariamente e que a oviparidade é considerada uma característica plesiomórfica (Boeger et al., 1994). Estudos posteriores sobre a filogenia das espécies ovíparas (Oogyrodactylidae) foram escassos, já que havia poucas sequências genéticas disponíveis, e muitos estudos não buscavam testar a monofilia do grupo (Bachmann et al., 2016; Patella et al., 2017; Vanhove et al., 2018; Zhang et al., 2019). Assim, espécies ovíparas eram consideradas basais dentro de Gyrodactylidae.

Entretanto, Vianna (2007) apresentou indícios de que espécies ovíparas formavam um clado, ao analisar dados de DNA ribossomal (ITS). De fato, Boeger et al. (2020) realizaram análises filogenéticas, baseadas em dados de 18S rDNA e MT-CO2, e suportaram espécies ovíparas e vivíparas como grupos irmãos, formando clados independentes e monofiléticos. Assim, Oogyrodactylidae e Gyrodactylidae seriam

consideradas famílias independentes e válidas, pertencentes a Gyrodactylidea. Além disso, estas análises ainda sugeriram que Oogyrodactylidae e Gyrodactylidae compartilham um ancestral comum com Udonellidae.

Através de uma estimativa mundial sobre os possíveis hospedeiros de Gyrodactylidea, foi sugerido que sejam conhecidas cerca de 2% das possíveis 20.000 espécies de Oogyrodactylidae + Gyrodactylidae (Bakke et al., 2002; Boeger et al., 2020). Como a Região Neotropical possui uma das maiores ictiofaunas do planeta (cerca de 25%) (Vari & Malabarba, 2008), possivelmente também possui a maior e mais diversa fauna de Gyrodactylidea. Isto vem sendo evidenciado por estudos recentes, com descrições de novas espécies (Kritsky et al., 2007; Rubio-Godoy et al., 2010; Kritsky et al., 2013; García-Vásquez et al., 2015; Mendoza-Palmero et al., 2019). Apesar das abrangentes estimativas, até o momento, é conhecida apenas uma espécie de Gyrodactylidae para o Rio Grande do Sul, *Gyrodactylus lilianae* Razzolini, Murari, Baldisserotto e Boeger, 2019, encontrada em cultivo de *Rhamdia quelen* (Heptapteridae, Siluriformes) (Razzolini et al., 2019).

2.1 Oogyrodactylidae

Atualmente são conhecidas apenas 23 espécies pertencentes à Oogyrodactylidae. Estas são distribuídas em oito gêneros, dos quais quatro são monotípicos: *Atopogyrodactylus* Kritsky, Boeger & Patella, 2020; *Hyperopletes* Boeger, Kritsky e Belmont-Jégu, 1994; *Oogyrodactylus* Harris, 1983 e *Phanerothecioides* Kritsky, Vianna e Boeger, 2007. Em ordem de maior riqueza são conhecidos ainda os gêneros *Aglaioogyrodactylus* Kritsky, Vianna e Boeger, 2007 (8 espécies); *Phanerothecium* Kritsky e Thatcher, 1977 (7 espécies); *Nothogyrodactylus* Kritsky e Boeger, 1991 (3 espécies); e *Onychogyrodactylus* Kritsky, Vianna e Boeger, 2007 (2 espécies).

As espécies de Oogyrodactylidae (= Gyrodactylidae ovíparos) parasitam apenas hospedeiros Loricariidae e Pimelodidae da Região Neotropical (Kritsky et al., 2007). Boeger et al., (2003), baseados na premissa que Gyrodactylidae comportava espécies ovíparas e vivíparas, hipotetizam que Gyrodactylidae teve sua origem na América do Sul, quando seu ancestral ovíparo, de origem marinha, dispersou para um novo hospedeiro de água doce, sendo que este hospedeiro possivelmente pertencia à Loricariidae. Entretanto, Boeger et al., (2020) demonstram que Oogyrodactylidae e Gyrodactylidae divergiram muito antes que os Loricariidae, portanto os primeiros hospedeiros das espécies ovíparas podem ter sido os Placodermi, devido as características dérmicas semelhante aos Loricariidae.

Porém, Aconthodii e Chondrichthyes também possuem representantes com presença de placas dérmicas, assim estas classes podem ter participado do processo de diversificação dos Oogyrrodactylidae.

Quaisquer que tenham sido os hospedeiros envolvidos na origem dos Oogyrrodactylidae, as evidências são de que a diversificação da família ocorreu após a colonização de peixes lorícarídeos (Boeger et al., 2020). O sucesso da associação das espécies ovíparas em Loricariide, pode ser devido à característica de um ovo tipo adesivo (dotado de uma gota de cimento) e ausência de oncomiracídio livre-natante. Essas características são apontadas como limitantes para a troca de hospedeiro, e consequentemente, para a dispersão das espécies, já que a larva recém eclodida, em geral, se instala no hospedeiro sobre o qual houve a ovoposição. Possivelmente, esses aspectos limitantes tornaram as espécies de Oogyrrodactylidae endêmicas na Região Neotropical (América do Sul) (Boeger et al., 2003).

2.2 Gyrodactylidae

Gyrodactylidae são ectoparasitos de peixes marinhos, estuarinos ou de água-doce, crustáceos, anfíbios e lulas (Kritsky & Boeger, 2003). A família possui distribuição mundial e é representada por mais de 550 espécies, distribuídas em 25 gêneros válidos: *Acanthoplacatus* Ernst, Jones e Whittington, 2001; *Accessorius* Jara, An e Cone, 1991; *Afrogyrodactylus* Paperna, 1968; *Anacanthocotyle* Kritsky e Fritts, 1970; *Archigyrodactylus* Mizelle e Kritsky, 1967; *Citharodactylus* Přikrylová, Shinn e Paladini, 2017; *Diechodactylus* Vianna, Boeger e Silva-Souza, 2008; *Diplogyrodactylus* Přikrylová, Matejusova, Musilová, Gelnar e Harris, 2009; *Fundulotrema* Kritsky e Thatcher, 1977; *Gyrdicotylus* Vercamen e Grandjean, 1960; *Gyrodactyloides* Bychowsky e Polyanski, 1953; *Gyrocervicanseris* Cone, Abbott, Gilmore e Burt, 2010; *Gyrodactylus* Nordmann, 1832; *Ieredactylus* Schelkle, Paladini, Shinn, King, Johnson, Oosterhout, Mohammed e Cable, 2011; *Isancistrum* De Beauchamp, 1912; *Laminiscus* Pálsson e Beverly-Burton, 1983; *Macrogyrodactylus* Malmberg, 1956; *Micropolyclithrum* Skinner, 1975; *Mormyroggyrodactylus* Luus-Powell, Mashego e Khalil, 2003; *Metagyrodactylus* Yamaguti, 1963; *Paragyrodactylus* Szidat, 1973; *Polyclithrum* Rogers, 1967; *Scleroductus* Jara e Cone, 1989; *Scutalatus* Vianna, Boeger e Dove, 2007 e *Swingleus* Rogers, 1969.

De todos os gêneros, *Gyrodactylus* é o que apresenta maior riqueza de espécies, agrupando cerca de 470 espécies (Bakke et al., 2002; Boeger et al., 2003; Harris et al.,

2004; Shinn et al., 2011; Heglasová et al., 2018). Espécies de *Gyrodactylus* apresentam o maior sucesso adaptativo entre as espécies vivíparas, podendo ser encontradas em diversas partes do mundo, onde parasitam uma ampla diversidade de hospedeiros (Zietara & Lume 2002; Boger et al., 2003; Huyse et al., 2003). Recentemente, Vianna & Boeger (2019) fizeram o primeiro registro de uma espécie vivípara, denominada de *Gyrodactylus anaspidus* Vianna e Boeger, 2019, parasitando *Pareiorhaphis parmula* Pereira, 2005 (Loricariidae) no estado do Paraná. Tal parasitose demonstra que os loricariídeos também podem ser hospedeiros de espécies vivíparas e não apenas de espécies de Oogyrrodactylidae.

Apesar da riqueza de espécies de *Gyrodactylus* ser muito grande, são morfologicamente semelhantes (Zietara & Lumme, 2003). Espécies de *Gyrodactylus* apresentam o corpo fusiforme com háptor circular ou oval na região posterior, contendo 16 ganchos radialmente distribuídos, um par de âncoras ventrais, uma barra profunda (dorsal) e uma superficial (ventral), a qual possui associado um escudo em forma de placa. O órgão copulatório masculino (OCM) é muscular, bulboso e contém um espinho, e podendo possuir de uma a duas fileiras de espineletes (pequenos espinhos) (ver Vianna, 2007).

A diversidade das espécies vivíparas parece estar associada à sua capacidade de trocar de hospedeiro, facilitando a infecção de novos hospedeiros e por consequência, novos ambientes (Bakke et al., 2002; Boeger et al., 2003). Neste sentido, acredita-se que a distribuição mundial de Gyrodactylidae esteja associada aos hospedeiros marinhos, que seriam utilizados como elo para a invasão de novos ambientes (Boeger et al., 2003). Esta capacidade de especiação por radiação adaptativa, permitida pela troca de hospedeiros em gyrodactylídeos, está associada à presença de caracteres sinapomórficos como: 1) a perda da casca do ovo, devido à perda da glândula de Mehlis; e 2) hiperviviparidade. Tais sinapomorfias proporcionaram a permanência do embrião no útero, aumentando o cuidado parental até o embrião atingir um estágio jovem, o que consequentemente, aumentou a taxa de sobrevivência e infestação (Boeger et al., 2003).

2.3. Uso dos dados moleculares de Gyrodactylidea

Nos organismos eucariontes, os genes codificadores de RNA ribossômico (rRNA) estão organizados em unidades repetidas em *tandem*, agrupadas em uma ou mais regiões cromossômicas. Estas unidades possuem regiões muito conservadas e outras que variam entre e até mesmo dentro de populações (Long & Dawid, 1980; Elder & Turner, 1995). Em

geral, o rRNA eucarionte é composto de um espaçador externo, uma região codificadora para o 18S, um espaçador interno transcrito (ITS1), uma região codificadora para o 5.8S, um segundo espaçador interno (ITS2), uma região codificadora para o 28S e um espaçador externo que não é transcrito (Long & Dawid, 1980; Elder & Turner, 1995). Quando comparadas, as regiões dos espaçadores (ITS) possuem maiores taxas de substituição do que as regiões codificadoras (18S, 5.8S e 28S), que geralmente são mais conservadas (Cunningham, 1997; Matejusová et al., 2001).

Os fragmentos de rRNA se mostraram bons marcadores para estabelecer as relações filogenéticas de Platyhelminthes, que inclui Gyrodactylidae (Campos et al., 1998; Littlewood et al., 1999; Zietara et al., 2000). Cunningham (1997) e Cable et al., (1999) ao estudarem as sequências de espécies de *Gyrodactylus*, demonstraram que os fragmentos de 5.8S e ITS2 (rRNA) são os mais informativos para propostas de relações filogenéticas. Além disso, fragmentos de ITS vêm sendo amplamente utilizados para distinguir e auxiliar na delimitação de novas espécies, principalmente aquelas pertencentes à *Gyrodactylus* (Harris & Cable, 2000; Cunningham et al., 2001; Zietara & Lumme, 2003).

Os primeiros estudos moleculares com fragmentos de rDNA foram realizados com *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957, uma espécie capaz de causar grande mortandade em salmões europeus. Estes trabalhos possuíam metodologias de extração e amplificação de DNA ainda pouco robustas (Cunningham et al., 1995a; Cunningham et al., 1995b; Cunningham, 1997). Desde o início destes estudos até o ano de 2002 estimava-se que haviam cerca de 50 sequências de rDNA disponíveis para *Gyrodactylus* (Cunningham, 1997; Cable et al., 1999; Zietara et al., 2000; Cunningham et al., 2001; Matejusová et al., 2001; Huyse & Volckaert, 2002; Zietara & Lumme, 2002). Entretanto, hoje estão disponíveis mais de 4 mil sequências de Gyrodactylidae (entre genomas completos, rDNA e mtRNA), sendo a maioria de fragmentos de rDNA.

Fragmentos de ITS1-5.8S-ITS (rRNA) vem sendo integrados à morfologia, como suporte para propostas de novas espécies, principalmente aquelas pertencentes à *Gyrodactylus* (Prikrylová et al., 2009; García-Vásquez et al., 2015, 2018; Heglasová et al., 2018; Mendonza-Palmero et al., 2019). No entanto, por mais que os fragmentos de rDNA sejam fundamentais para as identificações intra e interespecíficas, nem sempre são suficientes. Espécies de *Gyrodactylus* parasitas de truta e salmão de uma ampla área geográfica, por exemplo, possuem seus fragmentos de ITS similares entre si, dificultando a identificação molecular por este gene (Zietara & Lumme, 2002; Sterud et al., 2002; Bakke

et al., 2002; Hansen et al., 2003). Para resolver tal problema, torna-se necessário o uso de um marcador de DNA mais sensível, que tornasse possível a visualização das variações populacionais (Meinilä *et al.*, 2002). Assim, iniciou-se o desenvolvimento e aplicação de primers para amplificações do gene mitocondrial citocromo oxidase (CO) em Gyrodactylidae (Meinilä et al., 2002).

A utilização concomitante dos fragmentos de rDNA e mtDNA, surgiu na necessidade de tentar esclarecer as relações filogenéticas e estruturação populacional de espécies de *Gyrodactylus* (Zietara et al., 2002; Huyse et al., 2004; Zietara et al., 2012; Bueno-Silva et al., 2011; Gilmore et al., 2012; Bueno-Silva & Boeger, 2014; García-Vásquez et al., 2015; Taglioretti et al., 2020). Os resultados destes estudos indicam que espécies de *Gyrodactylus* formam clados por região biogeográfica e, muitas vezes, por hospedeiro. No entanto, ainda não existe uma relação clara com os caracteres morfológicos.

GLOSSÁRIO PARA GYRODACTYLIDEA

Estruturas da região cefálica

Estrutura	Definição
Região cefálica	Região que se estende da extremidade anterior até o final da faringe
Órgãos da cabeça	Conjunto de células nervosas, com a extremidade de órgãos do sistema nervoso.
Faringe	Estrutura composta de dois bulbos; bulbo distal muscular podendo conter projeções digitiformes eversíveis, bulbo proximal glandular, geralmente maior.

Estruturas do tronco e pedúnculo

Estrutura	Definição
Tronco	Região entre a faringe e o início do pedúnculo, próximo ao final dos folículos da vitelária.
Pedúnculo	Região entendida entre o final dos folículos da vitelária até a conexão com o háptor.
Cecos intestinais	Com início no bulbo faringeal proximal (glandular) e estendendo-se bilateralmente ao útero, até próximo ou ultrapassar as gônadas. Em Gyrodactylidae podem ser confluentes ou não.
Testículo	Em Oogyrodactylidae ocorrem nos jovens, estrutura arredondada, bem volumosa. Em espécies Gyrodactylidae ocorre abaixo do útero, pode ser ovalado, arredondado e sempre próximo ao germário; desenvolve depois do aparelho reprodutor feminino.
Germário	Modificação do ovário primitivo, separado em duas porções: a vitelária e o germário que produz óvulos desprovidos de vitelo no citoplasma.
Vitelária	Especializada na produção de células vitelínicas (que apresentam ovócitos abortivos com vitelo), que irão nutrir o embrião durante o desenvolvimento dentro do ovo. Em Oogyrodactylidae ocorrem distribuídas em forma de “H”, “h” (sem ramo dextro-anterior), “U” invertido e em Gyrodactylidae é reduzida no tronco posterior.
Órgão copulatório	Em Oogyrodactylidae pode ser muscular ou esclerotizado, envolvido por

Estruturas do tronco e pedúnculo (continuação)

masculino (OCM)	uma bolsa muscular ou livre, armado com múltiplas fileiras de espinhos ou desarmado, eversível ou não (quando muscular). Na cópula de espécies ovíparas é inserido no poro uterino. Em Gyrodactylidae é bulboso, sempre armado com um grande espinho e uma, duas ou mais fileiras de espineletes. Participa da cópula, porém com cópula por impregnação dérmica (perfura a parede do corpo do parceiro). As denominações cirro e pênis não são mais utilizadas devido à dificuldade de estabelecer homologia entre as estruturas.
Espinho do (COM)	Em Gyrodactylidae, ocorre um espinho maior que os demais, único, geralmente com uma base grande.
Espineletes	Espinhas que ocorrem no OCM de Gyrodactylidae, menores que o espinho com base grande, podem ocorrer em uma ou duas fileiras. Apesar de menores que o espinho, possuem base arredondada ou truncada e são maiores que os espinhos das espécies ovíparas.
Bolsa do OCM	Estrutura muscular, com parede fina ou grossa, em forma de saco que contém o OCM ou em espécies de <i>Aglaioogyrodactylus</i> , com a peça acessória.
Peça acessória do COM	Estrutura que ocorre em Ooggyrodactylidae, tem função de guia do OCM, ou de manter as paredes do saco do OCM separadas (quando dentro da bolsa do OCM).
Cteno/cteniforme	Estruturas que ocorrem na peça acessória de Ooggyrodactylidae, definida quando a margem é dentada como um pente.
Digitiforme	Estruturas em forma de dedos que ocorrem na peça acessória de Ooggyrodactylidae.
Falciforme	Estrutura em forma de foice que ocorre na peça acessória de Ooggyrodactylidae.
Útero	Bolsa com parede muscular que em Ooggyrodactylidae contém o(s) ovo(s), e em Gyrodactylidae contém os embriões.
Gota de cimento	Em Ooggyrodactylidae é uma gotícula de cimento na extremidade do filamento do ovo que permite que o verme mãe deposite (fixe) o ovo em substrato rígido.

Estruturas do háptor

Estrutura	Definição
Háptor	Estrutura posterior associada à fixação, muscular, contém escleritos de fixação.
Âncora	Esclerito haptoral associado à fixação do parasito ao hospedeiro. Em Ooggyrodactylidae e Gyrodactylidae as âncoras ocorrem em um par ventral.
Raiz superficial	Extremidade oposta da ponta da âncora, pode ser alongada, curta, truncada, com dobra e pode conter escleritos acessórios associados.
Raiz profunda	Região da âncora entre a base e a ponta.
Barra superficial	Esclerito na face ventral da âncora e pode estar articulada com dobras existentes na âncora.
Barra profunda	Esclerito na face dorsal da âncora e está conectada a raiz profunda da âncora.
Escudo	Projeções nas extremidades anteriores e laterais da barra superficial, podem ser cilíndricas ou espatuladas.
Gancho	Escleritos articuláveis na junção das suas porções distal e proximal, encontrados em Ooggyrodactylidae e Gyrodactylidae.
Cabeça do gancho	Porção distal do gancho, articulada com a haste do gancho.
Ponta	Extremidade afilada da lâmina do gancho, que tem função associada à

Estruturas do háptor (continuação)

	fixação do parasito no hospedeiro.
Haste	Estrutura entre a base do gancho e a ponta, pode ser reta ou inclinada, larga ou estreita.
Dedo	Uma das estruturas que formam a base do gancho, extremidade quase sempre alinhada com a ponta do gancho, pode ser truncada, arredondada ou afilada.
Calcanhar	Outra parte que forma a base do gancho, oposta ao dedo. Pode ser truncada, convexa e com pequenas projeções.
Prateleira	Parte superior do bico. Geralmente é inclinada, mas pode ser côncava, convexa ou reta.
Haste do gancho	Haste que fixa o gancho na musculatura da projeção digitiforme onde o gancho é encontrado.
FH loop	Filamento conectado a ponta do gancho formando uma alça para fixação de músculo que movimenta o gancho. Muito delgada, de difícil observação.

HIPÓTESES

Populações de *Gyrodactylus* parasitas de *Hisonotus* spp., apesar da similaridade morfológica, apresentam divergência molecular sugestiva de separação por bacia hidrográfica.

OBJETIVOS

Objetivos gerais

Caracterizar a variação morfológica e molecular entre espécies de Gyrodactylidea parasitas de espécies de *Hisonotus*, que ocorrem nas diferentes bacias hidrográficas da planície costeira do RS que desaguam na Lagoa dos Patos.

Objetivos específicos

Identificar e descrever potenciais espécies de Ooggyrodactylidae e *Gyrodactylus*, parasitas de espécies de *Hisonotus* de arroios e rios adjacentes a Lagoa dos Patos;

Testar a posição filogenética das espécies de *Gyrodactylus* parasitas de *Hisonotus* spp., afim de verificar se existe uma estruturação por hospedeiro e/ou por bacia hidrográfica.

REFERÊNCIAS

- Bachman, L., Fromm, B., Azambuja, L.P., Boeger, W.A. (2016) The mitochondrial genome of the egg-laying flatworm *Aglaiogyrodactylus forficulatus* (Platyhelminthes: Monogenoidea). *Parasite & Vectors*, 9: 1-8.
- Bakke, T.A., Harris, P.D., Harris, P.D. (2002) Host specificity dynamics: observations on gyrodactylid monogeneans. *International Journal for Parasitology*, 32: 281-308.
- Bertaco, V.A., Ferrer, J., Carvalho, F.R., Malabarba, L.R. (2016) Inventory of the freshwater fishes from a densely collected area in South America —a case study of the current knowledge of Neotropical fish diversity. *Zootaxa*, 4138 (3): 401-440.
- Boeger, W.A. & Kritsky, D.C. (1993) Phylogeny and a revised classification of the Monogenoidea Bychowsky, 1937 (Platyhelminthes). *Systematic Parasitology*, 26, 1-32.
- Boeger, W.A., Kritsky, D.C., Belmont-Jegu, E. (1994) Neotropical Monogenoidea. 20. Two New Species of Oviparous Gyrodactylidae (Polyonchoinea) from Loricariid Catfishes (Siluriformes) in Brazil and the Phylogenetic Status of Ooegyrodactylidae Harris, 1983. *Journal of the Helminthological Society of Washington*, 6: 34-44.
- Boeger, W.A., Kritsky, D.C., Pie, M.R. (2003) Blackwell Publishing Ltd. Context of diversification of the viviparous Gyrodactylidae (Platyhelminthes, Monogenoidea). *Zoologica Scripta*, 32: 437-448.
- Boeger, W.A., Kritsky, D.C., Patella, P., Bueno-Silva, M. (2020) Phylogenetic status and historical origins of the oviparous and viviparous gyrodactylids (Monogenoidea, Gyrodactylidae). *Zoologia Scripta*, 00: 1-13.
- Bueno-Silva, M., Boeger, W.A., Pie, M.R. (2011) Choice matters: Incipient speciation in *Gyrodactylus corydori* (Monogenoidea: Gyrodactylidae). *International Journal for Parasitology*, 41: 657-667.
- Bueno-Silva, M. & Boeger, W.A. (2014) Neotropical Monogenoidea. 58. Three new species of *Gyrodactylus* (Gyrodactylidae) from *Scleromystax* spp. (Callichthyidae) and the

proposal of COII gene as an additional fragment for barcoding gyrodactylids. *Folia Parasitologica*, 61: 213-222.

Cable, J., Harris, P.D., Tinsley, R.C., Lazarus, C.M. (1999) Phylogenetic analysis of *Gyrodactylus* spp. (Platyhelminthes: Monogenea) using ribosomal DNA sequences. *Canadian Journal of Zoology*, 77: 1439-1449.

Campos, A., Cummings, M.P., Reyes, J.R., Laclette, J.P. (1998) Phylogenetic Relationships of Platyhelminthes Based on 18S Ribosomal Gene Sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 10: 1-10.

Carvalho, T.P., Lehmann, P., Lopes-Pereira, E.H., Reis, E.R. (2008) A New Species of *Hisonotus* (Siluriformes: Loricariidae: Hypoptopomatinae) from the Laguna dos Patos Basin, Southern Brazil. *Copeia*, 3: 510-516.

Carvalho, T.P. & Reis, R.E. (2009) Four new species of *Hisonotus* (Siluriformes: Loricariidae) from the upper rio Uruguay, southeastern South America, with a review of the genus in the rio Uruguay basin. *Zootaxa*, 2113: 1-40.

Carvalho, T.P. & Reis, R.E. (2011) Taxonomic review of *Hisonotus* Eigenmann & Eigenmann (Siluriformes: Loricariidae: Hypoptopomatinae) from the laguna dos Patos system, southern Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 9: 1-48.

Casciotta, J.R., Azpelicueta, M.M., Almiron, A.E., Litz, T. (2006) *Hisonotus candombe*, a new species from the rio Uruguay basin in the Republica Oriental del Uruguay. *Spixiana*, 29 (2): 147-152.

Cordeiro, S.H. & Lorscheitter, M.L. (1994) Palynology of Lagoa dos Patos sediments, Rio Grande do Sul, Brazil. *Journal of Paleolimnology*, 10: 35-42.

Cunningham, C.O., McGillivray, D.M., Mackenzie, K., Melvin, W.W.T. (1995^a) Discrimination between *Gyrodactylus salaris*, *G. derjavini* and *G. truttae* (Platyhelminthes: Monogenea) using restriction fragment length polymorphisms and an oligonucleotide probe within the small subunit ribosomal RNA gene. *Parasitology*, 111: 87-94.

Cunningham, C.O., McGillivray, D.M., Mackenzie, K. (1995b) Phylogenetic analysis of *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 based on the small subunit (18S) ribosomal RNA gene. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 71: 139-142.

Cunningham, C.O. (1997) Species variation within the Internal Transcribed Spacer (ITS) region of *Gyrodactylus* (Monogenea: Gyrodactylidae) ribosomal RNA genes. *The Journal of Parasitology*, 83: 215-219.

Cunningham, C.O., Mo, T.A., Collins, C.M., Buchmann, K., Thierys, R., Blanc, G., Lutraite, A. (2001) Redescription of *Gyrodactylus teuchis* Lutraite, Blanc, Thiery, Daniel & Vigneulle, 1999 (Monogenea: Gyrodactylidae); a species identified by ribosomal RNA sequence. *Systematic Parasitology*, 48: 141-150.

Elder, J.F.Jr & Turner B.J. (1995) Concerted evolution of repetitive DNA sequences in Eukaryotes. *The Quarterly Review of Biology*, 70: 297-320.

Ferraris, C.J. & Reis, R.E. (2005) Neotropical catfish diversity: an historical perspective. *Neotropical Ichthyology*, 3: 453-454.

Fricke, R., Eschmeyer, W.N., Van der Laan, R. (2021) Eschmeyer's catalog of fishes: genera, species, references. (<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>).

Versão eletrônica acessada em 20 de janeiro de 2021.

Fundação Estadual de Proteção Ambiental Henrique Luiz Roessler – RS (FEPAM). Regiões Hidrográficas do Estado do Rio Grande do Sul. Disponível em: http://www.fepam.rs.gov.br/qualidade/regioes_hidro.asp. Acesso em: 4 abr. 2019.

García-Vásquez, A., Razo-Mendivil, U., Rubio-Godoy, M. (2015) Morphological and molecular description of eight new species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 (Platyhelminthes: Monogenea) from poeciliid fishes, collected in their natural distribution range in the Gulf of Mexico slope, Mexico. *Parasitology Research*, 114: 3337-3355.

García-Vásquez, A., Guzmán-Valdivieso, I., Razo-Mendivil, U., Rubio-Godoy, M. (2018) Three new species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 described from *Goodea*

atripinnis (Pisces, Goodeidae), na endemic freshwater fish from the central highlands of Mexico. *Parasitology Research*, 117: 117-139.

Gilmore, S., Cone, D.K., Lowe, G., King, S.K., Jones, S. R. M., Abbott, C. L. (2012) Molecular phylogeny of *Gyrodactylus* (Monogenea) parasitizing fishes in fresh water, estuarine, and marine habitats in Canada. *Canadian Journal of Zoology*, 90: 776-786.

Hansen, H., Bachmann, L., Bakke, T.A. (2003) Mitochondrial DNA variation of *Gyrodactylus* spp. (Monogenea, Gyrodactylidae) populations infecting Atlantic salmon, grayling, and rainbow trout in Norway and Sweden. *International Journal for Parasitology*, 33: 1471-1478.

Harris, P.D. (1983) The morphology and life-cycle of the oviparous *Oogyrodactylus farlowellae* gen. et sp.nov. (Monogenea, Gyrodactylidea). *Parasitology*, 87: 405-420.

Harris, P.D. & Cable, J. (2000) *Gyrodactylus poeciliae* n. sp. and *G. milleri* n. sp. (Monogenea: Gyrodactylidae) from *Poecilia caucana* (Steindachner) in Venezuela. *Systematic Parasitology*, 4: 79-85.

Harris, P.D., Shinn, A.P., Cable, J., Bakke, T.A. (2004) Nominal species of the genus *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 (Monogenea: Gyrodactylidae), with a list of principal host species. *Systematic Parasitology*, 59: 1-27.

Heglasová, I., Nezhybová, V., Prikrylová, I. (2018) An amended description of two *Gyrodactylus* species (Platyhelminthes: Monogenea) parasitizing Antarctic Notothenioid fish. *Journal of Helminthology*, 1: 1-9.

Huyse, T. & Volckaert, F.A.M. (2002) Identification of a host-associated species complex using molecular and morphometric analyses, with the description of *Gyrodactylus rugiensoides*. *International Journal for Parasitology*, 32: 907-919.

Huyse, T., Audenaert, V., Volckaert, F.A.M. (2003) Speciation and host-parasite relationships in the parasite genus *Gyrodactylus* (Monogenea, Platyhelminthes) infecting gobies of the genus *Pomatoschistus* (Gobiidae, Teleostei). *International Journal for Parasitology*, 33: 1679-1689.

Huyse, T., Malmberg, G., Volckaert, F. (2004) Four new species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 (Monogenea, Gyrodactylidae) on gobiid fishes: combined DNA and morfológica analyses. *Systematic Parasitology*, 59: 103-120.

Institui o Sistema Estadual de Recursos Hídricos, regulamentando o Artigo 171 da Constituição do Estado do Rio Grande do Sul. Lei Nº 10.350, de 30 DE Dezembro de 1994. Disponível em: <http://www.al.rs.gov.br/filerepository/repLegis/arquivos/10.350.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2020.

Institui Subdivisão das Regiões Hidrográficas do Estado do Rio Grande do Sul em Bacias Hidrográficas. Decreto Nº 53.885, de 16 DE Janeiro de 2018. Disponível em: <https://www.sema.rs.gov.br/upload/arquivos/201803/08095109-decreto-53885-2017.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2020.

Kritsky, D.C. & Boeger, W.A. (1991) Neotropical Monogenea. 16. New Species of Oviparous Gyrodactylidea with Proposal of *Nothogyrodactylus* gen. n. (Oogyrodactylidae). *Journal of the Helminthological Society of Washington*, 58: 7-15.

Kritsky, D.C. & Boeger, W.A. (2003) Taxonomy, ecology and evolution of metazoan parasites. (Livre hommage à Louis Euzet): Phylogeny of the Gyrodactylidae and the phylogenetic status of *Gyrodactylus* Nordmann, 1832 (Platyhelminthes: Monogenoidea). Taxonomie, écologie et évolution es métazoaires para-sites. 2ª ed. França: Perpignan, 37-58.

Kritsky, D.C., Vianna, R.T., Boeger, W.A. (2007) Neotropical Monogenoidea. 50. Oviparous gyrodactylids from loricariid and pimelodid catfishes in Brazil, with the proposal of *Phanerothecioides* n. g., *Onychogyrodactylus* n. g. and *Aglaigyrodactylus* n. g. (Polyonchoinea: Gyrodactylidea). *Systematic Parasitology*, 66: 1-34.

Kritsky, D.C., Boeger, W.A., Mendonza-Franco, E., Vianna, R.T. (2013) Neotropical Monogenoidea. 57. Revision and phylogenetic position of *Scleroductus* Jara & Cone, 1989 (Gyrodactylidae), with descriptions of new species from the Guatemalan chulin *Rhamdia guatemalensis* (Günther) (Siluriformes: Heptapteridae) in Mexico and the barred sorubim *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus) (Siluriformes: Pimelodidae) in Brazil. *Systematic Parasitology*, 84: 1-15.

- Littlewood, D.T.J., Rohde, F.K., Clough, K.A. (1999) The interrelationships of all groups of Platyhelminthes: phylogenetic evidence from morphology and molecules. *Biological Journal of the Linnean Society*, 66: 75-114.
- Long, E.O. & Dawid, I.B. (1980) Repeated genes in eukaryotes. *Annual review of biochemistry*, 49: 727-764.
- Matejusová, I., Gernar, M., McBeath, A.J.A., Collins, C.M., Cunningham, C.O. (2001) Molecular markers for gyrodactylids (Gyrodactylidae: Monogenea) from five fish families (Teleostei). *International Journal for Parasitology*, 31: 738-745.
- Meinilä, M., Kuusela, J., Zietara, M., Lumme, J. (2002) Brief report Primers for amplifying 820 bp of highly polymorphic mitochondrial COI gene of *Gyrodactylus salaris*. *Hereditas*, 137: 72-74.
- Mendoza-Palmero, C.A., Blasco-Costa, I., León, G.P.D. (2019) Morphological and molecular characterisation of a new species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 (Monogeneoidea: Gyrodactylidae) of cichlid fishes (Perciformes) from Mexico. *Parasitology International*, 70: 102-111.
- Patella, L., Brooks, D.R., Boeger, W.A. (2017) Phylogeny and ecology illuminate the evolution of associations under the Stockholm paradigm: *Aglaiogyrodactylus* spp. (Platyhelminthes, Monogeneoidea, Gyrodactylidae) and species of Loricariidae (Actinopterygii, Siluriformes). *Vie et Milieu – Life and Environment*, 67 (2): 91-102.
- Pinto-Carvalho, T. & Reis, R.E. (2011) Taxonomic review of *Hisonotus* Eigenmann & Eigenmann (Siluriformes: Loricariidae: Hypoptopomatinae) from the laguna dos Patos system, Southern Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 9 (1): 1-48.
- Prikrylová, I., Matejusová, I., Musilová, N., Gelnar, M., Harris, P.D. (2009) A new gyrodactylid (Monogenea) genus on gray bichir, *Polypterus senegalus* (Polypteridae) from Senegal (West Africa). *Journal of Parasitology*, 95 (3): 555-560.
- Razzolini, E., Murari, A.L., Balsisserotto, B., Boeger, A.B. (2019) *Gyrodactylus lilianae* n. sp. (Polyonchoinea: Gyrodactylidae) from *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard)

(Siluriformes: Heptapteridae) from southern Brazil: a potential nuisance for aquaculture. *Systematic Parasitology*, 96: 407-415.

Reis, R.E. & Carvalho, T.P. (2007) Catálogo das espécies de água doce do Brasil: Família Loricariidae: Hypoptopomatinae. 23^a ed. Rio de Janeiro: Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro, 82-87.

Rubio-Godoy, M., Paladini, G., García-Vásquez, A., Shinn, A.P. (2010) *Gyrodactylus jarocho* sp. nov. and *Gyrodactylus xalapensis* sp. nov. (Platyhelminthes: Monogenea) from Mexican poeciliids (Teleostei: Cyprinodontiformes), with comments on the known gyrodactylid fauna infecting poeciliid fish. *Zootaxa*, 2509: 1-29.

Schaefer, S.A. (2003) Check list of the freshwater fishes of South and Central America: Subfamily Hypoptopomatinae. 1^a ed. Porto Alegre: Edipucrs, 321-329.

Secretaria do Meio Ambiente e Infraestrutura - SEMA. Bacias Hidrográficas do Rio Grande do Sul. Disponível em: <https://www.sema.rs.gov.br/bacias-hidrograficas>. Acesso em: 10 jan. 2020.

Shinn, A.P., Gibson, D.I., Sommerville, C. (2001) Morphometric discrimination of *Gyrodactylus salaris* Malmberg (Monogenea) from species of *Gyrodactylus* parasiting British salmonids using novel parameters. *Journal of Fish Diseases*, 24: 83-97.

Sterud, E., Mo, T.A., Collins, C.M., Cunningham, C.O. (2002) The use of host specificity, pathogenicity, and molecular markers to differentiate between *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 and *G. thymalli* Zitnan, 1960 (Monogenea: Gyrodactylidae). *Parasitology*, 124: 203-213.

Taglioretti, V., García-Vásquez, A., Rossin, M.A., Pinacho-Pinacho, C.D., Rubio-Godoy, M., Timi, J.T. (2020) Two new species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 parasitizing *Cnesterodon decemmaculatus* (Poeciliidae) from the souther limito of the Family in the Neotropical region. *Parasitology Research*, 119: 1713-1728.

Tomazelli, L.J., Dillenburg, S.R., Villwock, J.A. (2006) Geological Evolution of Rio Grande do Sul Coastal Plain, Southern Brazil. *Journal of Coastal Research*, 1: 275-278.

Vanhove, M.P., Briscoe, A.G., Jorissen, M.W.P., Littlewood, D.T.J., Huyse, T. (2018) The first next-generation sequencing approach to the mitochondrial phylogeny of African monogenean parasites (Platyhelminthes: Gyrodactylidae e Dactylogyridae). *BMC Genomics*, 19: 1-16.

Vari, R.P. & Malabarba, L.R. (2008) Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes: Neotropical Ichthyology: An Overview. 1ª ed. Porto Alegre: Edipucrs, 1998. 1-11.

Vianna, R.T. (2007) Filogenia e biogeografia de Gyrodactylidae (Monogenoidea): morfologia, moléculas e evidência total. Tese de Doutorado. Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Zoologia. Universidade Federal do Paraná. Curitiba.

Vianna, R.T. & Boeger, W.A. (2019) Neotropical Monogenoidea. 60. Two new species of *Gyrodactylus* (Monogenoidea: Gyrodactylidae) from the armored-catfish, *Pareiorhaphis parmula* Pereira (Loricariidae) and from the cascarudo, *Callichthys callichthys* (Linnaeus) (Callichthyidae) from Brazil. *Zootaxa*, 4551: 87-93.

Villwock, J.A. & Tomazelli, L.J. (2007) Regiões da Lagoa do Casamento e dos Butiazais de Tapes, Planície Costeira do Rio Grande do Sul. Planície Costeira do Rio Grande do Sul: gênese e paisagem atual. 1ª ed. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 20-33.

Zhang, D., Li, W.X., Zou, H., Wu, S.G., Li, M., Jakovlic, I., Zhang, J., Chen, R., Wang, G. (2019) Homoplasy or plesiomorphy? Reconstruction of the evolutionary history of mitochondrial gene order rearrangements in the Subphylum Neodermata. *International Journal for Parasitology*, 49: 819-829.

Zietara, M.S., Arndt, A., Geets, A., Hellemans, B., Volckaert, F.A.M. (2000) The nuclear rDNA region of *Gyrodactylus arcuatus* and *G. branchicus* (Monogenea: Gyrodactylidae). *Journal of Parasitology*, 86 (6): 1368–1373.

Zietara, M.S., Huyse, T., Volckaert, F.A. (2002) Deep divergence among subgenera of *Gyrodactylus* inferred from rDNA ITS region. *Parasitology*, 124: 39-52.

Zietara, M.S.Z. & Lumme, J. (2002) Speciation by host switch and adaptive radiation in a fish parasite genus *Gyrodactylus* (Monogenea, Gyrodactylidae). *Evolution*, 56: 2445-2458.

Zietara, M.S. & Lumme, J. (2003) The crossroads of molecular, typological and biological species concepts: two new species of *Gyrodactylus* Nordmann, 1832 (Monogenea: Gyrodactylidae). *Systematic Parasitology*, 55: 39-52.

Zietara, M.S., Labedeva, D., Muñoz, G., Lumme, J. (2012) A monogenean fish parasite, *Gyrodactylus chileani* n. sp., belonging to a novel marine species lineage found in the South-Eastern Pacific and the Mediterranean and North Seas. *Systematic Parasitology*, 83: 159-167.

CAPÍTULO 1

A new species of *Gyrodactylus* (Monogeneoidea: Gyrodactylidae) from *Hisonotus laevior* (Siluriformes: Loricariidae) from Southern Brazil: a new register of gyrodactylids in loricariids fish.¹

SABRINA D. BRANCHI^{1,4}, LIZANDRA J. ROBE^{2,4}, BRUNA NORNBORG³ & ROGÉRIO T. VIANNA^{1,4*}

¹. Laboratório de Biologia de Parasitos de Organismos Aquáticos, Universidade Federal do Rio Grande, Instituto de Ciências Biológicas, Rio Grande do Sul, Brazil; e-mail: rtvianna@furg.br

². Departamento de Ecologia e Evolução, Universidade Federal de Santa Maria, Brazil; e-mail: lizbiogen@gmail.com

³. Laboratório de Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande, Instituto de Ciências Biológicas, Rio Grande do Sul, Brazil; e-mail:

⁴. Programa de Pós-graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos, Universidade Federal do Rio Grande, Instituto de Ciências Biológicas, Rio Grande do Sul, Brazil

* Corresponding author: Universidade Federal do Rio Grande, Instituto de Ciências Biológicas, Laboratório de Biologia de Parasitos de Organismos Aquáticos, Av. Itália km 8, Rio Grande, RS 96203-900, Brazil. E-mail: sabri_branchi@yahoo.com.br

SUMMARY/ABSTRACT

In this study, we performed integrative taxonomy in order to describe *Gyrodactylus* **n. sp.** parasite of *Hisonotus laevior* Cope, 1984 and *Hisonotus* sp. of streams adjacent to the Patos Lagoon, Brazil. *Gyrodactylus* **n. sp.** is the second viviparous species found in Loricariidae hosts. Firstly, *Gyrodactylus* **n. sp.** was morphologically characterized and then ITS rDNA sequences were used to evaluate if reciprocal monophyly and genetic distances allowed distinguishing it from other Neotropical species of *Gyrodactylus*. The hooks of *Gyrodactylus* **n. sp.** are similar to the hooks of species of *Gyrodactylus* of Cyprinodontiformes, especially Poeciliidae. However, the tip and shank of the hook are similar to those presented by other species of *Gyrodactylus* of Siluriformes. *Gyrodactylus* **n. sp.** was found in two localities, separated by the Patos Lagoon estuary, whose individuals were recovered as a monophyletic unit. Genetic distances also support the status of *Gyrodactylus* **n. sp.** as a new species. Phylogenetic analysis with ITS sequences demonstrated that *Gyrodactylus* **n. sp.** does not share the most recent common ancestor with other species of *Gyrodactylus* of Siluriformes, but with species of *Gyrodactylus* of Characiformes + Cyprinodontiformes.

¹ Manuscrito preparado de acordo com o Guia de Autores da Parasitology Research

KEYWORDS: Internal Transcribed Spacers, Neotropical region, Patos Lagoon, Integrative Taxonomy.

INTRODUCTION

Gyrodactylidae (Platyhelminthes, Monogeneoidea) are ectoparasites of fish, amphibians and mollusks (Kritsky and Boeger 2003). The family has 25 valid genera, with more than 550 species able to parasitize different groups of hosts, in both marine and freshwater habitats (Boeger et al. 2003; Kritsky et al. 2007; Prikrylová et al. 2017). Gyrodactylidae has a worldwide distribution, with just *Gyrodactylus* grouping around 470 species (Harris et al. 2004; Kritsky et al. 2013; Heglasová et al. 2018).

About 60 species of Gyrodactylidae are described to the Neotropical region, 11 of which belong to *Gyrodactylus* and are found parasitizing callichthyids, heptapterids and pimelodids hosts (Siluriformes) (Popazoglo and Boeger 2000; Bueno-Silva and Boeger 2009, 2014; Razzollini et al. 2019). Nevertheless, recent descriptions of Gyrodactylidae species in the Neotropical region indicate that this may be one of the richest regions in Gyrodactylidae species in the world (Boeger et al. 2014; Bueno-Silva and Boeger 2014; García-Vásquez et al. 2015; Mendonza-Palmero et al. 2019; Razzollini et al. 2019; Taglioretti et al. 2020). One of the most recent reports of Gyrodactylidae species in this region was provided by Vianna and Boeger (2019), which described *Gyrodactylus anaspidus* Vianna & Boeger 2019, from *Pareioraphis parmula* Pereira. This was the first record of a viviparous species in a Loricariidae host (Vianna and Boeger 2019).

Species of *Gyrodactylus* are very similar morphologically, being difficult to identify based solely on morphological characters (Zietara and Lumme 2003; Bakke et al. 2007). Phylogenetic analysis using molecular data are commonly used to differentiate species of this genus. According to the analysis performed or ingroup used, these studies usually recover *Gyrodactylus* as a para or polyphyletic taxon (Boeger et al. 2003; Kritsky and Boeger 2003; Gilmore et al. 2012). In fact, only studies using small geographical scales, suggest that *Gyrodactylus* can form a monophyletic group (Boeger et al. 2003).

In this context, this study describes *Gyrodactylus* **n. sp.** of the body surface of *Hisonotus laevior* Cope, 1894 (Loricariidae) from southern Brazil, based on morphology and supported by molecular data (ITS rDNA). Molecular data were also used to access the phylogenetic position of the new species.

MATERIAL AND METHODS

Specimens of armored-catfish, *H. laevis* were captured during 2019 in coastal streams from the Patos Lagoon estuary, in the municipalities of Rio Grande (RG) and São José do Norte (SJN), Rio Grande do Sul State, Brazil. The fishes were collected with the aid of fishing sieves and euthanized with eugenol 400 ml/L⁻¹ (Fernandes et al. 2016). After, fishes were placed in warm water (60°C) before being fixed in 5% formalin or 95% ethanol (after Kritsky and Stockwell 2005).

Specimens of *Gyrodactylus* were collected under a dissecting microscope and mounted on a slide prepared with Hoyer's mounting medium. Different specimens were stained with Gomori's trichrome and mounted in Canada balsam (Humason 1979). Drawings were prepared with the aid of camera lucida on an Olympus BX40 microscope, equipped with phase contrast. Pictures were obtained with Olympus DP73 digital camera and measurements were taken by straight-line distances, in micrometers (µm), with ImageJ software (Schneider et al. 2012). The average of measurements values is followed by the range and sample size in parentheses (n).

Total DNA of the parasites was extracted with DNEasy Kit (Qiagen), following the protocol provided by the manufacturer. ITS rDNA fragments (ITS1, 5.8S, ITS2) were amplified using the primers ITS1-fm (5'- TAGAGGAAGTACAAGTCG-3') and ITS2- rm (5'- CGCTYGAATC GAGGTCAGGAC -3'), following the protocol detailed in García-Vásquez et al. (2015). The PCR products were electrophoresed on a 1% agarose gel and purified with ammonium acetate. Sequencing was performed on a Perking-Elmer ABI Prism 377 automatic sequencer (MACROGEN, Seoul, South Korea).

The sequences obtained were analyzed and edited using the STADEN package (Staden et al. 2005). The sequences produced in this study were aligned with sequences downloaded from GenBank (Table 1) with the algorithm ClustalW, as implemented by Bioedit 5.0.9 (Thompson et al. 1994). The downloaded sequences belong to other 31 Neotropical species of *Gyrodactylus* sampled in different Siluriformes, Characiformes and Cyprinodontiformes hosts. Sequences of *Agelaiogyrodactylus* were employed as outgroup in the phylogenetic inferences.

Phylogenetic analyzes of ITS sequences were run under Maximum Likelihood (ML), Bayesian Inference (BI) and Neighbor Joining (NJ). ML and NJ analyses employed the substitution model selected by the Akaike Information Criterion (Schwarz 1978), as implemented in jModelTest v.2.1.10 (Posada 2008). The ML analysis was performed in

MEGA v.10.1.5 (Tamura et al. 2011), with 1,000 replicates of bootstrap. BI trees were constructed using MrBayes v.3.2.7 (Ronquist and Heslsenbeck 2003), running two independent MCMC runs, each of which with four chains, for 10,000,000 generations, sampling every 1,000 generations and burn-in the first 2,500. The NJ analysis was performed in MEGA v.10.1.5, using the maximum composite likelihood model (Nei and Kumar 2004), with 1,000 bootstrap replicates. Intra and interspecific pairwise “p” distances were measured in MEGA v.10.1.5.

RESULTS

Class Monogenoidea Bychowsky, 1937

Subclass Polyonchoinea Bychowsky, 1937

Order Gyrodactylidea Bychowsky, 1937

Gyrodactylidae Van Beneden & Hesse, 1863

***Gyrodactylus* von Nordmann, 1832**

***Gyrodactylus* n. sp. (Fig. 1)**

Type host: *Hisonotus laevior* Cope, 1894 (Loricariidae)

Other host: *Hisonotus* sp. (Loricariidae).

Site of infection. Body surface.

Type–locality. Bolaxa stream (32°09.604’S - 52°11.311’W), Rio Grande, Rio Grande do Sul State, Brazil, January 2019.

Other localities. Vieira stream (32°05.517’S - 52°11.862’W), Senandes stream (32°08.998’S - 52°11.887’W), Cabeças stream (32°04’36.3”S - 52°15’08.9”W), Rio Grande, 2016 and a stream near Rodovia do Mercosul (32°02’19.1”S 52°01’19.9”W), São José do Norte, 2019, Rio Grande do Sul, Brazil.

Description. Morphological description based on 32 specimens, measurements based on one holotype and 31 paratypes (Table 2). Body enlogate. Pharyngeal proximal bulb glandular; pharyngeal distal bulb muscular (Fig. 1 – A). Male copulatory organ (MCO) armed with one spine, two rows of spinelets, external row with 4-5 spineletes; internal row with 3-4 smallest spinelets (Fig. 1 – C). Seminal vesicle oval, connected to MCO by duct. Testis circular, ventrolateral and partially overlapping to germarium. Germarium oval. Uterus with up to two generations of embryos (Fig. 1 – A). Ventral glandular follicles, at level of distal extremity of intestinal caeca. Haptor fan shaped. Anchor presenting as unique feature an enlargement between the shaft and the point of the

anchor (Fig. 1 – F). Superficial bar rectangular, with rounded corners. Shield of superficial bar triangular (Fig. 1 – D, E). Hooklet with sickle shape; shaft and point of hooklet continuous, slightly and evenly curved; straight shelf, slanted and rounded toe, concave and rounded heel (Fig. 1 – B).

Remarks. *Gyrodactylus n. sp.* can be distinguished from congeneric Neotropical species parasitic of siluriforms hosts by the morphology of anchor, presenting as unique feature an enlargement between the shaft and the point of the anchor. The populations of RG and SJN present several contrasting measurements (Table 2), with overlapping but larger values being generally encountered in the last population.

Comparative analysis of the hooklets of *Gyrodactylus n. sp.* with other species of *Gyrodactylus* parasitic of Siluriformes show that they are different in most of the traits (Fig. 2). With the exception of *G. pimelodellus* An, Jara and Cone, 1991, which has the smallest hook with a curved and fine point, the hooks of other species of *Gyrodactylus* parasitic on neotropical siluriforms are morphologically different and larger than those found in *Gyrodactylus n. sp.* The new species also differs from the other species compared above by having triangular toe facing down (rounded or uncinatate toe in other species). Similarly, the shelf of *Gyrodactylus n. sp.* is straight, while the hooklets of most of the other species present a convex shelf (An et al. 1991; Popazolo and Boeger 2000; Bueno-Silva and Boeger 2009, 2014).

The MCO of *Gyrodactylus n. sp.* differs from that of *G. anaspidus*, *G. pimelodellus* and *G. polyadenus* because these species present MCO with one row of spinelets, whereas the new species presents a spine with jagged edge and two rows of spinelets, the external row with 4-5 and the internal row with 3-4 spinelets. Other species presenting two rows of spinelets present different combinations for the number of spinelets in each row (An et al. 1991; Popazolo and Boeger 2000; Bueno-Silva and Boeger 2009, 2014; Vianna and Boeger 2019).

MOLECULAR DATA AND ANALYSIS

Twenty ITS sequences of 963 bp were obtained from *Gyrodactylus n. sp.*, nine from the population of RG and eleven from the population of SJN. Of the nine sequences obtained from the population of RG, a single polymorphic site was encountered in position 180 of ITS1. In this case, whereas the population of SJN has an “A” fixed in this position,

three individuals of RG are homozygous for the “A” allele, two are homozygous for the “T” allele, and four specimens present both alleles in heterozygosis.

The status of *Gyrodactylus n. sp.* as a new species was supported by genetic distance (Supplementary Material – Table 1S) and by the phylogenetic analyses (Fig. 3 and Supplementary Material – Fig. 1S). Most intraspecific genetic distances were equal to zero, except in the comparisons between specimens homozygous for “T” and “A” alleles, for which the intra-specific genetic distance was 0.001. Conversely, the lowest interspecific distances was 0.321, as obtained in the comparison between *Gyrodactylus n. sp.* and *G. carolinae* Boeger, Ferreira, Vianna and Patella, 2014, parasitic of species of characiform. Among the parasitic species of Siluriformes, the largest distance was found in the comparison with *G. bueni* (parasitic of *Scleromystax macropterus* Regan, 1913, Callichthyidae) ($p = 0.520$).

The new species parasitizing a siluriform host was recovered as reciprocally monophyletic lineage that encompasses the early offshoot of the clade composed by *Gyrodactylus* species from Cyprinodontiformes / Characiformes hosts, and outside the clade composed by other *Gyrodactylus* species from Siluriformes. In fact, when the morphology of the hook base of the neotropical species of *Gyrodactylus* is evaluated on this topology, it can be observed that *Gyrodactylus n. sp.* it is more similar with *Gyrodactylus* species from cyprinodontiforms / characiforms hosts, while the shaft and point of the hooks are more similar with *Gyrodactylus* species from siluriforms hosts (Fig. 3).

DISCUSSION

Gyrodactylus n. sp. is described based on the morphology of the MCO spines and hooks and supported by molecular data from the ITS fragment (rDNA) which allow us to differentiate the new species from other similar Neotropical species, parasites of Characiformes, Cyprinodontiformes and Siluriformes. Until the description of *Gyrodactylus n. sp.*, only one viviparous parasitic species of a Loricariidae host was known: *G. anaspides*. However, *Gyrodactylus n. sp.* and *G. anaspides* do not share similar diagnostic characteristics. *Gyrodactylus anaspides* has its MCO formed by a spine and a row with 9-11 spinelets of unequal sizes (Vianna and Boeger 2019), while *Gyrodactylus n. sp.* has the MCO with a spine and two rows of spinelets, the inner row with 4 spinelets and the outer row with 5.

Although molecular information of *Gyrodactylus* species has been increasing in recent years, making it possible to identify different species, morphological identification is still extremely important and effective, especially from the hooklets (Cunningham 1997; García-Vásquez et al. 2015; Taglioretti et al. 2020). Cunningham (1997) demonstrated that the differentiation of *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 from other species of *Gyrodactylus* from salmon in the United Kingdom can be done only with the characterization of hooklets. As the hooklet of *Gyrodactylus* **n. sp.** differs from the hooklets of other species, it is possible to differentiate the new species from other species of *Gyrodactylus* of Siluriformes based on this character (Figs. 2 and 3). However, the shaft and hook point of the hooklet of *Gyrodactylus* **n. sp.** is similar to that found in several other species of *Gyrodactylus* of Siluriformes, except of *G. pimelodellus*, *G. polyadenus* and *G. scleromistaci*, which have the hook point curved (Fig. 2) (An et al. 1991; Bueno-Silva and Boeger 2014; Vianna and Boeger 2019). Conversely, the base of the hooklets of *Gyrodactylus* **n. sp.** showed similarities with *Gyrodactylus* parasitic of Cyprinodontiformes, mainly with those of species parasitic of Poecillidae (Fig. 3).

Studies suggest that the haptor's sclerites of species of *Gyrodactylus* may be influenced by seasons, geography and availability of host species (Malmberg 1970; Mo 1991; Dmitrieva and Dimitrov 2002; Dávidová et al. 2005; Bueno-Silva et al. 2011). Therefore, the similarity among the hooklet's point of *Gyrodactylus* **n. sp.** and other species of *Gyrodactylus* parasitic of Siluriformes, mainly of Callichthyidae, can be related to the bone plates presented by fishes of these families (Britto 2003; Covain et al. 2015). This raises the possibility that the point of the hooklets of *Gyrodactylus* are adapted to this type of surface. The similarity of the hooklet's base of *Gyrodactylus* **n. sp.** with that of some of *Gyrodactylus* of Poecillidae allows suggesting it may be a character inherited from their common ancestor, as shown in the topology of the phylogenetic tree (Fig. 3).

Traditionally, the description of *Gyrodactylus* specimens was based on morphometric analysis, mainly of hooks. However, identification based only on the hook morphology can be difficult, due to the great similarity (Zietara and Lumme 2002). In virtue of this difficulty, molecular data have been used to add support to morphological delimitation. ITS sequences proved to be an important tool in species differentiation, as they present low intraspecific variations and high interspecific divergences. In fact, it is suggested that differences in ITS sequences above 1%, associated with morphological differences, justify the delimitation of new species (Zietara and Lumme 2002).

Gyrodactylus **n. sp.** has intraspecific differences below 0.1% and the smallest interspecific distance with another species is 32.1%, with *G. carolinae* and the largest is 52% with *G. bueni* Bueno-Silva and Boeger, 2014 (Supplementary Material – Table 1S). Therefore, as the interspecific difference presented by *Gyrodactylus* **n. sp.** in the comparisons involving other species of *Gyrodactylus* is larger than the limit proposed by Zietara and Lumme (2002), genetic distances support it as a new species.

In the phylogenetic tree (Fig 3), *Gyrodactylus* **n. sp.** is recovered as reciprocally monophyletic concerning the other Neotropical species of *Gyrodactylus*, which also supports it as an independent evolutionary lineage. Interestingly, this species clusters with the clade formed by species of *Gyrodactylus* of Cyprinodontiformes + Characiformes, to the exclusion of other species of *Gyrodactylus* of Siluriformes. Previous hypotheses about the cladogenesis of *Gyrodactylus* usually have grouped species according to the taxonomic levels of order or family of their host or even according to their biogeographic region (Zietara et al. 2002; Boeger et al. 2003; García-Vásquez et al. 2015; Taglioreti et al. 2020), which does not apply here. In fact, the topology recovered in this study did not present *Gyrodactylus* parasitic of Siluriformes as a clade, demonstrating that species of *Gyrodactylus* of Callichthyidae and Heptapteridae belong to a different lineage than *Gyrodactylus* **n. sp.** of Loricariidae. Mendonza-Palmero et al. (2019) has also demonstrated that Neotropical species of *Gyrodactylus* from Perciformes have distinct lineages. According to this study, *G. majorrae* Mendonza-Palmero, Blasco-Costa and Pérez-Ponce, 2019 and *G. sp. B*, which parasitize Neotropical Cichlid and Eleotridae, cluster with Neotropical Cyprinodontiformes and Afro-Tropical Perciformes, respectively.

The low intraspecific variation encountered for *Gyrodactylus* **n. sp.** agrees with the general pattern usually presented by different species of *Gyrodactylus*. In fact, Hayward et al. (2001) did not find genetic variations in *Gyrodactylus anguillae* Ergens, 1960 collected in the United States, Australia and Spain, and Cable et al. (1999) also did not find any variations in the ITS2 fragments of *Gyrodactylus kobayashii* Hukuda, 1940 from United Kingdom and Australia. Huyse et al. (2006) found no molecular variations in *Gyrodactylus ostendicus* Huyse and Malmberg, 2004 collected in Belgium and France, but in specimens collected in Italy, two substitutions were observed in the ITS1 and ITS2 regions. Zietara et al. (2000) found low intraspecific variations in the ITS rDNA of *Gyrodactylus arcuatus* Bychowsky, 1933 and *Gyrodactylus branchicus* Bychowsky, 1933, with the majority of the variations representing sites in heterozygosis. Here we found a single polymorphic site

along the evaluated ITS1, 5,8S rRNA and ITS2 sequences from 20 individuals of *Gyrodactylus* **n. sp.**, which was encountered in heterozygosity in some individuals of RG. Although the biological significance of this polymorphism is not clear, it is quite possible that rDNA regions are evolving under concerted evolution in different species of *Gyrodactylus*.

The municipalities of Rio Grande and São José do Norte, where specimens of *Hisonotus* spp. parasitized by *Gyrodactylus* **n. sp.** were collected, are included in the Patos Lagoon estuarine region. The Patos Lagoon was formed from events of marine transgressions and regressions that occurred during the Pleistocene, although the complete formation occurred during the Holocene, with the last depositional barrier (barrier IV), about 5,000 years ago (Tomazelli et al. 2006). Rio Grande and São José do Norte are located in this last barrier and are separated by the Patos Lagoon channel, which connects the lagoon to the sea. Species of *Hisonotus* are freshwater fishes that live in association with aquatic plants (Schaefer 2003; Reis and Carvalho 2007) and can be found in different regions of Patos Lagoon (Bertaco et al. 2016). Thus, as populations of *Hisonotus* from Rio Grande and São José do Norte may be isolated since the last depositional event, there may be little gene flow between the respective populations also for their parasites. The fact that the polymorphic site is restricted to the population of RG allows hypothesizing this as a putative ancestral population of *Gyrodactylus* **n. sp.**, at least concerning the population of SJN. The straightforward differences presented by these populations in the different body measurements also support these as independent populations, with ongoing morphological differentiation.

CONCLUSION

Gyrodactylus **n. sp.** is the second viviparous species described parasitic of Loricariidae. However, it clusters with the clade formed by species of *Gyrodactylus* of Cyprinodontiformes + Characiformes. The morphology of the hooks of the new species, described here, as well as its reciprocal monophyly and high genetic divergences regarding other species of *Gyrodactylus* reinforces the importance of integrative taxonomy and the singularities of the hooks of each species. Thus, this study adds to the pile of new descriptions of Neotropical species of *Gyrodactylus* (Boeger et al. 2014; García-Vásquez et al. 2015, 2018; Mendonza-Palmero et al. 2019; Razzolini et al. 2019), suggesting this region may encompass a hotspot to the diversity of this genus.

COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS

Sampling and scientific fishing were carried out with the license approved by the Chico Mendes Institute for Biodiversity Conservation (ICMBIO) through the Brazilian Biodiversity Information and Authorization System (SISBIO; nº 445582). All the procedures involving animals were in accordance with the ethical standards of the Research Ethics Committee for Animal Experimentation from Universidade Federal do Rio Grande (CEUA-FURG; nº Pq 016/019).

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank to Prof. Dr. Carlos Lucena of the Museu de Ciência e Tecnologia of PUC, for the identification and tipping of *Hisonotus* specimens.

FINANCIAL STATEMENT

Sabrina D. Branchi received a scholarship from Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Finance Code 001), Lizandra J. Robe was supported by fellow/ or grant from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, 308371/2018-6).

REFERENCES

- An, L., Jara, C., Cone, D.K.** (1991) Five species of *Gyrodactylus* Nordmann, 1832 (Monogenea) from freshwater fishes of Peru. *Canadian Journal of Zoology* **69**, 1199-1202.
- Bakke, T.A., Cable, J., Harris, P.D.** (2007) The biology of gyrodactylid monogeneans: the “Russian Doll-killers. *Advances in Parasitology* **64**, 161-376.
- Bertaco, V.A., Ferrer, J., Carvalho, F.R., Malabarba, L.R.** (2016) Inventory of the freshwater fishes from a densely collected area in South America – a case study of the current knowledge of Neotropical fish diversity. *Zootaxa*, **3**, 401-440.
- Boeger, W.A., Kritsky, D.C., Pie, M.R.** (2003) Context of diversification of the viviparous Gyrodactylidae (Platyhelminthes, Monogenoidea). *Zoologica Scripta* **32**, 437-448.

- Boeger, W.A., Ferreira, R.C., Vianna, R.T., Patella, L.** (2014) Neotropical Monogenoidea 59. Polyonchoineans from *Characidium* spp. (Characiformes: Crenuchidae) from southern Brazil. *Folia Parasitologica* **61**, 120-132.
- Britto, M.R.** (2003) Phylogeny of the subfamily Corydoradinae Hoedman, 1954 (Siluriformes: Callichthyidae), with a definition of its genera. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* **153**, 119-154.
- Bueno-Silva, M., Boeger, W.A.** (2009) Neotropical Monogenoidea. 53. *Gyrodactylus corydori* sp. n. and redescription of *Gyrodactylus anisopharynx* (Gyrodactylidea: Gyrodactylidae), parasites of *Corydoras* spp. (Siluriformes: Callichthyidae) from southern Brazil. *Folia Parasitologica* **56**, 13-20.
- Bueno-Silva, M., Boeger, W.A., Pie, M.R.** (2011) Choice matters: Incipient speciation in *Gyrodactylus corydori* (Monogenoidea: Gyrodactylidae). *International Journal for Parasitology* **41**, 657-667.
- Bueno-Silva M., Boeger, W.A.** (2014) Neotropical Monogenoidea. 58. Three new species of *Gyrodactylus* (Gyrodactylidae) from *Scleromystax* spp. (Callichthyidae) and the proposal of COII gene as an additional fragment for barcoding gyrodactylids. *Folia Parasitologica* **61**, 213-222.
- Cable, J., Harris, P.D., Tinsley, R.C., Lazarus, C.M.** (1999) Phylogenetic analysis of *Gyrodactylus* spp. (Platyhelminthes: Monogenea) using ribosomal DNA sequences. *Canadian Journal of Parasitology* **77**, 1439-1449.
- Covain, R., Fish-Muller, S., Oliveira, C., Mol, J.H., Montoya-Burgos, J.I., Dray, S.** (2015) Molecular phylogeny of the highly diversified catfish subfamily Loricariinae (Siluriformes, Loricariidae) reveals incongruences with morphological classification. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **94**, 492-517.
- Cunningham, C.O.** (1997) Species variation within the internal transcribed spacer (ITS) region of *Gyrodactylus* (Monogenea: Gyrodactylidae) ribosomal RNA genes. *Journal of Parasitology* **83**, 215-219.
- Dávidová, M., Jarkovsky, J., Matejusová, I., Gelnar, M.** (2005) Seasonal occurrence and metrical variability of *Gyrodactylus rhodei* Zitnan 1964 (Monogenea, Gyrodactylidae). *Parasitology Research* **95**, 398-405.
- Dmitrieva, E., Dimitrov, G.** (2002) Variability in the taxonomic characters of Black Sea gyrodactylids (Monogenea). *Systematic Parasitology* **51**, 199-206.

- Fernandes, I.M., Bastos, Y.F., Barreto, D.S., Lourenço, L.S., Penha, J.M.** (2016) The efficacy of clove oil as an anaesthetic and in eutanasia procedure for small-sized fishes. *Brazilian Journal of Biology*, **77**: 444-450.
- García-Vásquez, A., Razo-Mendivil, U., Rubio-Godoy, M.** (2015) Morphological and molecular description of eight new species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 (Platyhelminthes: Monogenea) from poeciliid fishes, collected in their natural distribution range in the Gulf of Mexico slope, Mexico. *Parasitology Research* **114**, 3337-3355.
- García-Vásquez, A., Pinacho-Pinacho, C.D., Martínez-Ramírez, E., Rubio-Godoy, M.** (2018) Two new species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 from *Profundulus oaxacae* (Pisces: Profundulidae) from Oaxaca, Mexico, studied by morphology and molecular analyses. *Parasitology International* **67**, 517-527.
- Gilmore, S.R., Cone, D.K., Lowe, G., King, S.K., Jones, S.R.M., Abbott, C.L.** (2012) Molecular phylogeny of *Gyrodactylus* (Monogenea) parasitizing fishes in fresh water, estuarine, and marine habitats in Canada. *Canadian Journal of Parasitology* **90**, 776-786.
- Harris, P.D., Shinn, A.P., Cable, J., Bakke, T.A.** (2004) Nominal species of the genus *Gyrodactylus* von Nordmann 1832 (Monogenea: Gyrodactylidae), with a list of principal host species. *Systematic Parasitological* **59**, 1-27.
- Hayward, C.J., Iwashita, M., Ogawa, K., Ernst, I.** (2001) Global spread of the eel parasite *Gyrodactylus anguillae* (Monogenea). *Biological Invasions* **3**, 417-424.
- Heglasová, I., Nezhybová, V., Prikrylová, I.** (2018) An amended description of two *Gyrodactylus* (Platyhelminthes: Monogenea) parasitizing Antarctic Notothenioid fish. *Journal of Helminthology* **94**, 1-9.
- Humason, G.L.** (1979) *Animal Tissue Techniques*. 4^a Ed. Freeman and Company, San Francisco, 661 pp.
- Huyse, T., Pampoulie, C., Audenaert, V., Volckaert, F.A.M.** (2006) First report of *Gyrodactylus* spp. (Platyhelminthes: Monogenea) in the western Mediterranean Sea: molecular and morphological descriptions. *Journal of Parasitology* **92**, 682-690.
- Kritsky, D.C., Boeger, W.A.** (2003) Phylogeny of the Gyrodactylidae and the phylogenetic status of *Gyrodactylus* Nordmann, 1832 (Platyhelminthes: Monogenea). *Taxonomy, ecology and evolution of metazoan parasites*. Combes & Jourdan J. (eds). *Perpignan France*. France. pp. 37-45.

- Kritsky, D.C., Stockwell, C.A.** (2005) New species of *Gyrodactylus* (Monogenoidea, Gyrodactylidae) from the white sands pupfish, *Cyprinodon tularosa*, in New Mexico. *The Southwestern Naturalist* **50**, 312-317.
- Kritsky, D.C., Vianna, R.T., Boeger, W.A.** (2007) Neotropical Monogenoidea. 50. Oviparous Gyrodactylids from loricariid and pimelodid catfishes in Brazil, with proposal of *Phanerothecioides* n. g., *Onychogyrodactylus* n. g. and *Aglaigyrodactylus* n. g. (Polyonchoinea, Gyrodactylidea). *Systematic Parasitology* **66**, 1-34.
- Kritsky, D.C., Boeger, W.A., Mendonza-Franco, E.F., Vianna, R.T.** (2013) Neotropical Monogenoidea. 57. Revision and phylogenetic position of *Scleroductus* Jara & Cone, 1989 (Gyrodactylidae), with descriptions of new species from the Guatemalan chulin *Rhamdia guatemalensis* (Günther) (Siluriformes: Heptapteridae) in Mexico and the barred sorubim *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus) (Siluriformes: Pimelodidae) in Brazil. *Systematic Parasitology* **84**, 1-15.
- Malmberg, G.** (1970) The excretory systems and themarginal hooks as a basis for the systematics of *Gyrodactylus* (Trematoda, Monogenea). *Arkiv for Zoology* **23**, 1-235.
- Mendonza-Palmero, C.A., Blasco-Costa, I., Perez-Ponce de Leon, G.** (2019) Morphological and molecular characterisation of a new species of **Gyrodactylus** von Nordmann, 1832 (Monogenoidea: Gyrodactylidae) of cichlid fishes (Perciformes) from Mexico. *Parasitology International* **70**, 102-111.
- Mo, T.A.** (1991) Seasonal variations of opisthaptor hard parts of *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 (Monogenea: Gyrodactylidae) on parr of Atlantic salmon *Salmo salar* L. in the River Batnfjordselva, Norway. *Systematic Parasitology* **19**, 231-240.
- Nei, M., Kumar, S.** (2004) Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **101**, 11030-11035.
- Popazoglo, F., Boeger, W.A.** (2000) Neotropical Monogenoidea. 37. Redescription of *Gyrodactylus superbus* (Szidat, 1973) comb. n. and description of two new species of *Gyrodactylus* (Gyrodactylidea: Gyrodactylidae) from *Corydoras paleatus* and *C. ehrhardti* (Teleostei: Siluriformes: Callichthyidae) of Southern Brazil. *Folia Parasitologica* **47**, 105-110.
- Posada, D.** (2008) jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution* **25**, 1253-1256.

- Prikrylová, I., Shinn, A.P., Paladini, G.** (2017) Description of *Citharodactylus gagei* n. gen. et n. sp. (Monogenea: Gyrodactylidae) from the moon fish, *Citharinus citharus* (Geoffroy Saint-Hilaire), from Lake Turkana. *Parasitology Research* **116**, 281-292.
- Razzolini, E., Murari, A.L., Baldisserotto, B., Boeger, W.A.** (2019) *Gyrodactylus lilianae* n. sp. (Polynchoinea: Gyrodactylidae) from *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) (Siluriformes: Heptapteridae) from southern Brazil: a potential nuisance from aquaculture. *Systematic Parasitology* **96**, 407-415.
- Reis, R.E., Carvalho, T.P.** (2007) Catálogo das espécies de água doce do Brasil: Família Loricariidae: Hypoptopomatinae. 23rd Edn. Rio de Janeiro: Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro, 82-87.
- Ronquist, F., Huelsenbeck, J.P.** (2003) MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatic Applications Note* **19**, 1572-1574.
- Schaefer, S.A.** (2003) Check list of the freshwater fishes of South and Central America: Subfamily Hypoptopomatinae. 1rd Edn. Porto Alegre: Edipucrs, 321-329.
- Schneider, C.A., Rasband, W.S., Eliceiri, K.W.** (2012) NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature methods* **9**, 671-675.
- Schwarz, G.** (1978) Estimating the dimension of a model. *Annals of Statistics* **6**, 461-464.
- Staden, R., Beal, K.F., Bonfield, J.K.** (2005) Staden Package. <http://staden.sourceforge.net/> (accessed 15 April 2020).
- Taglioretti, V., García-Vásquez, A., Rossin, M.A., Pinacho-Pinacho, C.D., Rubio-Godoy, M., Timi, J.T.** (2020) Two new species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 parasitizing *Cnesterodon decemmaculatus* (Poeciliidae) from the southern limit of the family in the Neotropical region. *Parasitology Research* **119**, 1713-1728.
- Tamura, K., Peterso, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S.** (2011) MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* **28**, 2731-2739.
- Thompson, J.D., Higgins, D.G., Gibson, T.J.** (1994) CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* **22**, 4673-4680.

- Tomazelli, L.J., Dillenburg, S.R., Vilwock, J.A.** (2006) Geological Evolution of Rio Grande do Sul Coastal Plain, Southern Brazil. *Journal of Coastal Research* **39**, 275-278.
- Vianna, R.T., Boeger, W.A.** (2019) Neotropical Monogeneoidea. 60. Two new species of *Gyrodactylus* (Monogeneoidea: Gyrodactylidae) from the armored-catfish, *Pareiorhaphis parmula* Pereira (Loricariidae) and from the cascarudo, *Callichthys callichthys* (Linnaeus) (Callichthyidae) from Brazil. *Zootaxa* **4551**, 87-93.
- Zietara, M.S., Arndt, A., Geets, A., Hellemans, B., Volckaert, F.A.M.** (2000) The nuclear rDNA region of *Gyrodactylus arcuatus* and *G. branchicus* (Monogenea: Gyrodactylidae). *Journal of Parasitology* **86**, 1368-1373.
- Zietara, M.S., Huyse, T., Lumme, J., Volckaert, F.A.** (2002) Deep divergence among subgenera of *Gyrodactylus* inferred from rDNA ITS region. *Parasitology* **124**, 39-52.
- Zietara, M.S., Lumme, J.** (2002) Speciation by host switch and adaptive radiation in a fish parasite genus *Gyrodactylus* (Monogenea, Gyrodactylidae). *The Society for the Study of Evolution* **56**, 2445-2458.
- Zietara, M.S., Lumme, J.** (2003) The crossroads of molecular, typological and biological species concepts: two new species of *Gyrodactylus* Nordmann, 1832 (Monogenea: Gyrodactylidae). *Systematic Parasitology* **55**, 39-52.

Table 1. Species of Gyrodactylidae employed in the phylogenetic evaluations, with their respective origin and GenBank accession numbers.

Espécie	Sequências	Hospedeiro	Região	Autor
<i>Aglaiogyrodactylus ctenistus</i>	KF767471	Siluriformes: Loricariidae	Brazil	Kritsky <i>et al.</i> , 2007
<i>Aglaiogyrodactylus</i> sp.1	-	Siluriformes: Loricariidae	Brazil	Unpublished
<i>Aglaiogyrodactylus</i> sp.2	-	Siluriformes: Loricariidae	Brazil	Unpublished
<i>Aglaiogyrodactylus</i> sp. 2	-	Siluriformes: Loricariidae	Brazil	Unpublished
<i>Gyrodactylus actzu</i>	KM514476	Cyprinodontiformes: Poeciliidae	Mexico	García-Vásquez <i>et al.</i> , 2015
<i>Gyrodactylus anisopharynx</i>	MH035872	Siluriformes: Callichthyidae	Brazil	Razzolini <i>et al.</i> , 2019
<i>Gyrodactylus apazapanensis</i>	KM514468	Cyprinodontiformes: Poeciliidae	Mexico	García-Vásquez <i>et al.</i> , 2015
<i>Gyrodactylus breviradix</i>	MK312262	Cyprinodontiformes: Poeciliidae	Argentina	Vega <i>et al.</i> , 2019
<i>Gyrodactylus buenii</i>	KF767477	Siluriformes: Callichthyidae	Brazil	Bueno-Silva & Boeger 2014
<i>Gyrodactylus bullatarudis</i>	AJ011410	Cyprinodontiformes: Poeciliidae	Mexico	Rubio-Godoy <i>et al.</i> , 2010
<i>Gyrodactylus carolinae</i>	KF673403	Characiformes: Crenuchidae	Brazil	Boeger <i>et al.</i> , 2014
<i>Gyrodactylus corydori</i>	HQ636622	Siluriformes: Callichthyidae	Brazil	Bueno-Silva & Boeger 2009
<i>Gyrodactylus decemmaculati</i>	MK299423	Cyprinodontiformes: Poeciliidae	Argentina	Vega <i>et al.</i> , 2019
<i>Gyrodactylus iunuri</i>	KR815853	Cyprinodontiformes: Goodeidae	Mexico	García-Vásquez <i>et al.</i> , 2018
<i>Gyrodactylus jarocho</i>	KJ621984	Cyprinodontiformes: Poeciliidae	Mexico	Rubio-Godoy <i>et al.</i> , 2010
<i>Gyrodactylus katamba</i>	KR815854	Cyprinodontiformes: Goodeidae	Mexico	García-Vásquez <i>et al.</i> , 2018
<i>Gyrodactylus lilianae</i>	MH035870	Siluriformes: Heptapteridae	Brazil	Razzolini <i>et al.</i> , 2019
<i>Gyrodactylus lhkahuili</i>	KM514478	Cyprinodontiformes: Poeciliidae	Mexico	García-Vásquez <i>et al.</i> , 2015
<i>Gyrodactylus major</i>	KF767480	Siluriformes: Callichthyidae	Brazil	Bueno-Silva & Boeger 2014
<i>Gyrodactylus microdactylus</i>	KM514474	Cyprinodontiformes: Poeciliidae	Mexico	García-Vásquez <i>et al.</i> , 2015
<i>Gyrodactylus montealbani</i>	MG883696	Cyprinodontiformes: Profundulidae	Mexico	García-Vásquez <i>et al.</i> , 2018
<i>Gyrodactylus pakan</i>	KR733206	Characiformes: Characidae	Mexico	Razo-Mendivil <i>et al.</i> , 2016
<i>Gyrodactylus pictae</i>	AY692023	Cyprinodontiformes: Poeciliidae	Venezuela	Rubio-Godoy <i>et al.</i> , 2010
<i>Gyrodactylus poeciliae</i>	AJ001844	Cyprinodontiformes: Poeciliidae	Mexico	Rubio-Godoy <i>et al.</i> , 2010
<i>Gyrodactylus pseudobullatarudis</i>	KM514441	Cyprinodontiformes: Poeciliidae	Mexico	García-Vásquez <i>et al.</i> , 2015
<i>Gyrodactylus scleromystaci</i>	KF767474	Siluriformes: Callichthyidae	Brazil	Bueno-Silva & Boeger 2014
<i>Gyrodactylus superbus</i>	MH035869	Siluriformes: Callichthyidae	Brazil	Razzolini <i>et al.</i> , 2019
<i>Gyrodactylus takoke</i>	KM514473	Cyprinodontiformes: Poeciliidae	Mexico	García-Vásquez <i>et al.</i> , 2015
<i>Gyrodactylus teken</i>	KR733210	Characiformes: Characidae	Mexico	Razo-Mendivil <i>et al.</i> , 2016
<i>Gyrodactylus tepari</i>	KR815856	Cyprinodontiformes: Goodeidae	Mexico	García-Vásquez <i>et al.</i> , 2018
<i>Gyrodactylus turnbulli</i>	EF445942	Cyprinodontiformes: Poeciliidae	Venezuela	Rubio-Godoy <i>et al.</i> , 2010
<i>Gyrodactylus unami</i>	KM514473	Cyprinodontiformes: Poeciliidae	Mexico	García-Vásquez <i>et al.</i> , 2015
<i>Gyrodactylus xalapensis</i>	KJ621985	Cyprinodontiformes: Poeciliidae	Mexico	Rubio-Godoy <i>et al.</i> , 2010
<i>Gyrodactylus xtachuna</i>	KM514446	Cyprinodontiformes: Poeciliidae	Mexico	García-Vásquez <i>et al.</i> , 2015
<i>Gyrodactylus zapoteco</i>	MG883704	Cyprinodontiformes: Profundulidae	Mexico	García-Vásquez <i>et al.</i> , 2018

Table 2: Measurements of *Gyrodactylus n. sp.* compared between populations of Rio Grande (RG) and São José do Norte (SJN). Values in micrometers. Average, with range and number of measurements in parentheses.

	Population RG	Population SJN
Body Length	252 (218-280; n=10)	441 (366-564; n=6)
Body Wide	62 (51-88; n=10)	90 (56-126; n=6)
Prox glandular Bulb	22 (18-27; n=5)	35 (25-41; n=6)
Distal muscular Bulb	21 (17-35; n=11)	26 (22-28; n=4)
MCO wide	7 (5-11; n=12)	12 (9-14; n=3)
Germarium wide	11 (8-13; n=10)	14 (11-19; n=3)
Germarium Long	13 (11-19; n=10)	14 (12-18; n=3)
Anchor wide	10 (8-13; n=9)	5 (5-6; n=6)
Anchos long	57 (55-61; n=9)	52 (51-54; n=8)
Superficial bar width	6 (5-8; n=9)	5 (4-5; n=4)
Superficial bar length	15 (12-18; n=9)	14 (12-15; n=4)
Shield Length	8 (7-9; n=5)	9 (n=1)
Hook Length	24 (23-26; n=4)	24 (23-25; n=6)
Hooklet	6 (5-7; n=4)	5 (4-6; n=6)

MCO = Male copulatory organ

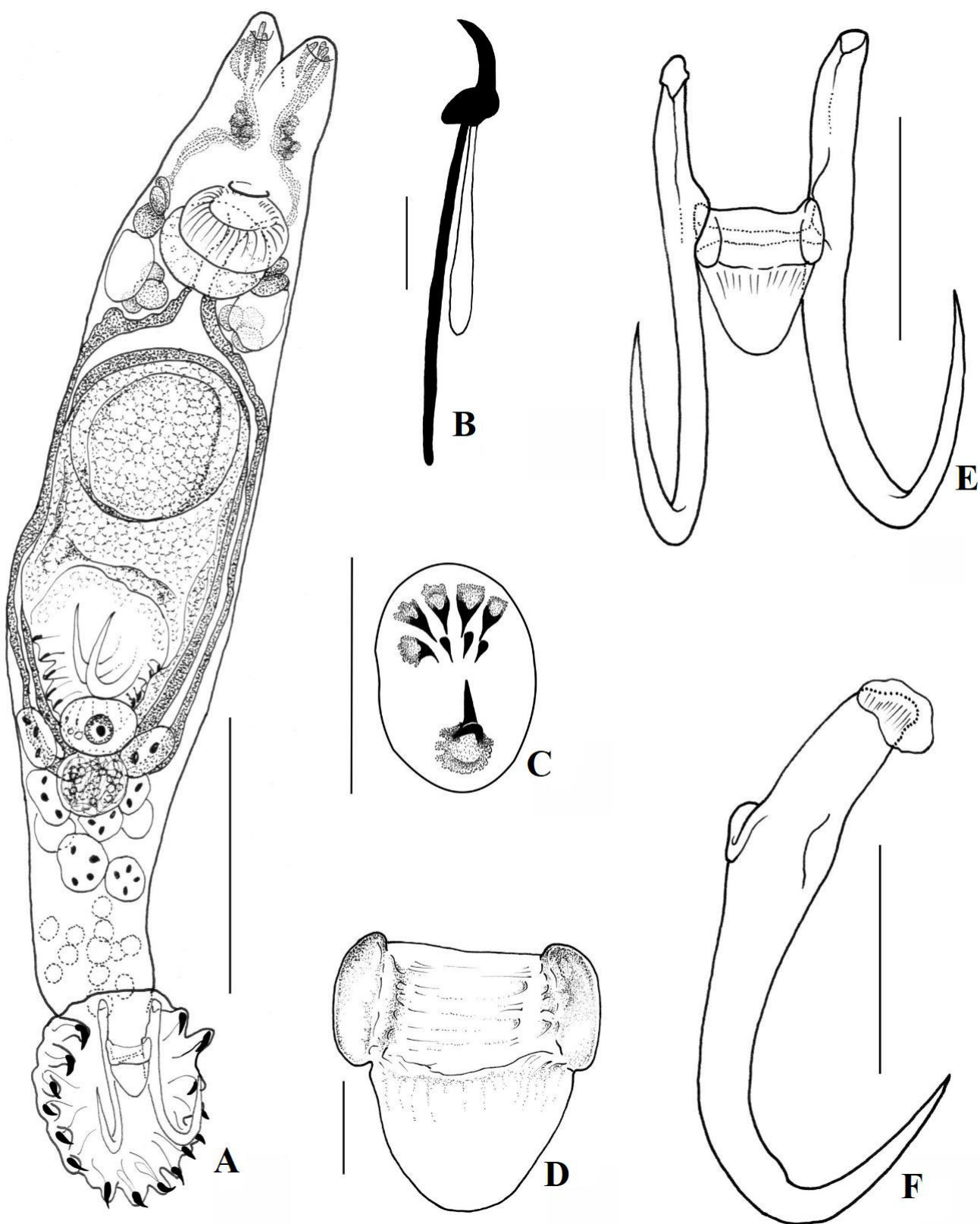


Figure 1. *A* *Gyrodactylus* n. sp. (Monogenoidea: Gyrodactylidae) from body surface of *Hisonotus laevior* (Loricariidae). *A* – Holotype, ventral view. *B*- Hook. *C* – MCO. *D* – Superficial bar and shield of the superficial bar. *E* – Complex of anchor, superficial and deep bars, and shield of the superficial bar. *F* – Anchor. Bars scale: *2* = 100 μ m; *3* - *5* = 10 μ m; *6* – *7* = 50 μ m.

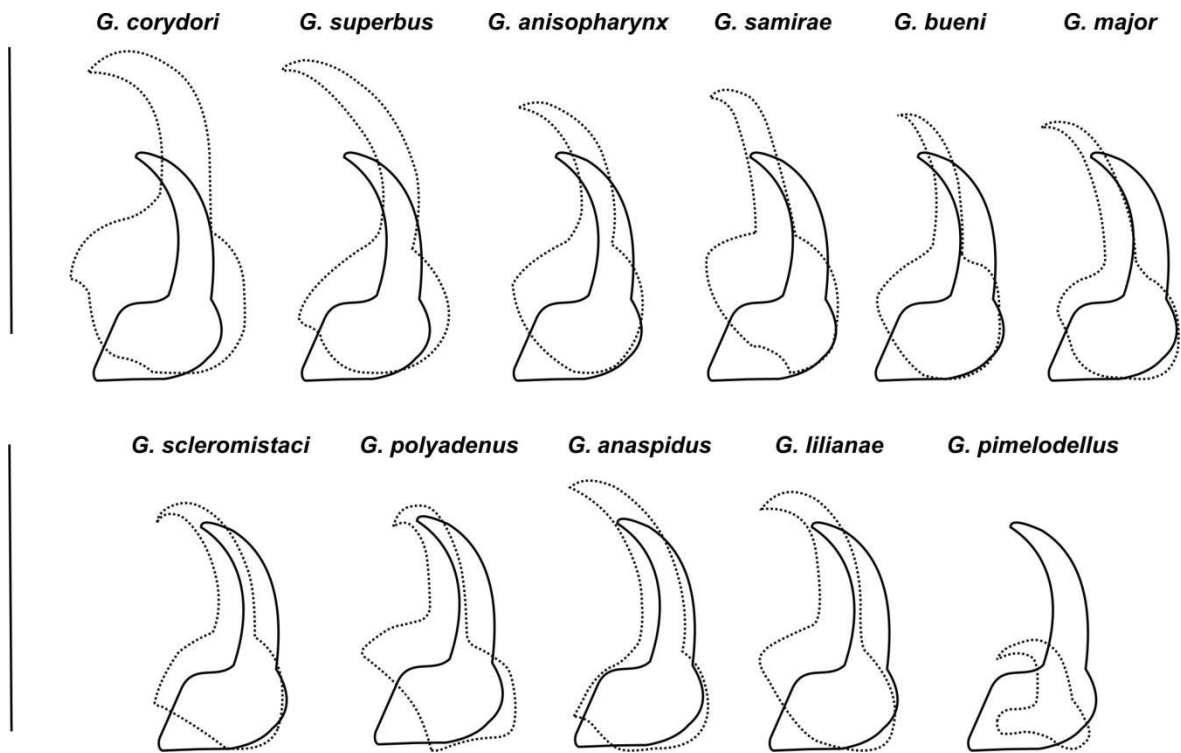


Figure 2. Comparison of hooklets among *Gyrodactylus* n. sp. (continuous line) and other Neotropical species of *Gyrodactylus* parasites of Siluriformes (dotted line; species names above of each comparison). Bar scale = 10 μm .

Supplementary Material

Table 1S: Pairwise genetic distances between different specimens of *Gyrodactylus n. sp.* and other species of *Gyrodactylus*. Light grey regions indicate the intraspecific genetic distances estimated for *G. drakarysi*. Dark grey region indicates the lowest genetic distance value between *Gyrodactylus n. sp.* and any other species of *Gyrodactylus* (*G. carolinae* from Crenuchidae, Characiformes).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
<i>Gyrodactylus</i> sp. n. (RG) (1)																			
<i>Gyrodactylus</i> sp. n. (RG) (2)	0,000																		
<i>Gyrodactylus</i> sp. n. (RG) (3)	0,000	0,000																	
<i>Gyrodactylus</i> sp. n. (RG) (4)	0,000	0,000	0,000																
<i>Gyrodactylus</i> sp. n. (RG) (5)	0,001	0,001	0,000	0,000															
<i>Gyrodactylus</i> sp. n. (RG) (6)	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000														
<i>Gyrodactylus</i> sp. n. (RG) (7)	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000													
<i>Gyrodactylus</i> sp. n. (RG) (8)	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000												
<i>Gyrodactylus</i> sp. n. (RG) (9)	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000											
<i>Gyrodactylus</i> sp. n. (SJM) (10)	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000										
<i>Gyrodactylus</i> sp. n. (SJM) (11)	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000									
<i>Gyrodactylus</i> sp. n. (SJM) (12)	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000								
<i>Gyrodactylus</i> sp. n. (SJM) (13)	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000							
<i>Gyrodactylus</i> sp. n. (SJM) (14)	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000						
<i>Gyrodactylus</i> sp. n. (SJM) (15)	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000					
<i>Gyrodactylus</i> sp. n. (SJM) (16)	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000				
<i>Gyrodactylus</i> sp. n. (SJM) (17)	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000			
<i>Gyrodactylus</i> sp. n. (SJM) (18)	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000		
<i>Gyrodactylus</i> sp. n. (SJM) (19)	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
<i>Gyrodactylus</i> sp. n. (SJM) (20)	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>G. actzu</i>	0,424	0,424	0,424	0,424	0,424	0,424	0,424	0,424	0,424	0,424	0,424	0,424	0,424	0,424	0,424	0,424	0,424	0,424	0,424
<i>G. anisopharynx</i>	0,516	0,516	0,515	0,515	0,516	0,516	0,515	0,515	0,516	0,516	0,516	0,516	0,516	0,516	0,516	0,516	0,516	0,516	0,516
<i>G. apazapanensis</i>	0,378	0,378	0,377	0,377	0,378	0,378	0,377	0,377	0,378	0,378	0,378	0,378	0,378	0,378	0,378	0,378	0,378	0,378	0,378
<i>G. breviradix</i>	0,395	0,395	0,395	0,395	0,396	0,396	0,395	0,395	0,396	0,396	0,396	0,396	0,396	0,396	0,396	0,396	0,396	0,396	0,396
<i>G. bueni</i>	0,520	0,520	0,520	0,520	0,520	0,520	0,520	0,520	0,520	0,520	0,520	0,520	0,520	0,520	0,520	0,520	0,520	0,520	0,520
<i>G. bullatarudis</i>	0,372	0,372	0,372	0,372	0,373	0,373	0,372	0,372	0,373	0,373	0,373	0,373	0,373	0,373	0,373	0,373	0,373	0,373	0,373
<i>G. carolinae</i>	0,321	0,321	0,321	0,321	0,321	0,321	0,321	0,321	0,321	0,321	0,321	0,321	0,321	0,321	0,321	0,321	0,321	0,321	0,321
<i>G. corydori</i>	0,508	0,508	0,507	0,507	0,508	0,508	0,507	0,507	0,508	0,508	0,508	0,508	0,508	0,508	0,508	0,508	0,508	0,508	0,508
<i>G. decemmaculati</i>	0,338	0,338	0,338	0,338	0,338	0,338	0,338	0,338	0,338	0,338	0,338	0,338	0,338	0,338	0,338	0,338	0,338	0,338	0,338
<i>G. iunuri</i>	0,379	0,379	0,379	0,379	0,380	0,380	0,379	0,379	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380
<i>G. jarocho</i>	0,427	0,427	0,427	0,427	0,427	0,427	0,427	0,427	0,427	0,427	0,427	0,427	0,427	0,427	0,427	0,427	0,427	0,427	0,427
<i>G. katamba</i>	0,380	0,380	0,380	0,380	0,381	0,381	0,380	0,380	0,381	0,381	0,381	0,381	0,381	0,381	0,381	0,381	0,381	0,381	0,381
<i>G. ilhkahuili</i>	0,412	0,412	0,412	0,412	0,412	0,412	0,412	0,412	0,412	0,412	0,412	0,412	0,412	0,412	0,412	0,412	0,412	0,412	0,412
<i>G. lilianae</i>	0,515	0,515	0,515	0,515	0,515	0,515	0,515	0,515	0,515	0,515	0,515	0,515	0,515	0,515	0,515	0,515	0,515	0,515	0,515

Table 3. Continued	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
<i>G. major</i>	0,503	0,503	0,502	0,502	0,503	0,503	0,502	0,502	0,503	0,503	0,503	0,503	0,503	0,503	0,503	0,503	0,503	0,503	0,503
<i>G. microdactylus</i>	0,422	0,422	0,421	0,421	0,422	0,422	0,421	0,421	0,422	0,422	0,422	0,422	0,422	0,422	0,422	0,422	0,422	0,422	0,422
<i>G. montealbani</i>	0,383	0,383	0,383	0,383	0,384	0,384	0,383	0,383	0,384	0,384	0,384	0,384	0,384	0,384	0,384	0,384	0,384	0,384	0,384
<i>G. pakan</i>	0,401	0,401	0,402	0,402	0,402	0,402	0,402	0,402	0,402	0,402	0,402	0,402	0,402	0,402	0,402	0,402	0,402	0,402	0,402
<i>G. pictae</i>	0,397	0,397	0,396	0,396	0,397	0,397	0,396	0,396	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397
<i>G. poeciliae</i>	0,380	0,380	0,379	0,379	0,380	0,380	0,379	0,379	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380
<i>G. pseudobullatarudis</i>	0,355	0,355	0,355	0,355	0,356	0,356	0,355	0,355	0,356	0,356	0,356	0,356	0,356	0,356	0,356	0,356	0,356	0,356	0,356
<i>G. scleromystaci</i>	0,509	0,509	0,508	0,508	0,509	0,509	0,508	0,508	0,509	0,509	0,509	0,509	0,509	0,509	0,509	0,509	0,509	0,509	0,509
<i>G. superbus</i>	0,506	0,506	0,505	0,505	0,506	0,506	0,505	0,505	0,506	0,506	0,506	0,506	0,506	0,506	0,506	0,506	0,506	0,506	0,506
<i>G. takoke</i>	0,396	0,396	0,396	0,396	0,397	0,397	0,396	0,396	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397
<i>G. teken</i>	0,396	0,396	0,396	0,396	0,397	0,397	0,396	0,396	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397	0,397
<i>G. tepari</i>	0,396	0,396	0,397	0,397	0,398	0,398	0,397	0,397	0,398	0,398	0,398	0,398	0,398	0,398	0,398	0,398	0,398	0,398	0,398
<i>G. turnbuli</i>	0,406	0,406	0,406	0,406	0,406	0,406	0,406	0,406	0,406	0,406	0,406	0,406	0,406	0,406	0,406	0,406	0,406	0,406	0,406
<i>G. unami</i>	0,397	0,397	0,398	0,398	0,398	0,398	0,398	0,398	0,398	0,398	0,398	0,398	0,398	0,398	0,398	0,398	0,398	0,398	0,398
<i>G. xalapensis</i>	0,411	0,411	0,411	0,411	0,412	0,412	0,411	0,411	0,412	0,412	0,412	0,412	0,412	0,412	0,412	0,412	0,412	0,412	0,412
<i>G. xtachuna</i>	0,362	0,362	0,362	0,362	0,363	0,363	0,362	0,362	0,363	0,363	0,363	0,363	0,363	0,363	0,363	0,363	0,363	0,363	0,363
<i>G. zapoteco</i>	0,356	0,356	0,356	0,356	0,357	0,357	0,356	0,356	0,357	0,357	0,357	0,357	0,357	0,357	0,357	0,357	0,357	0,357	0,357

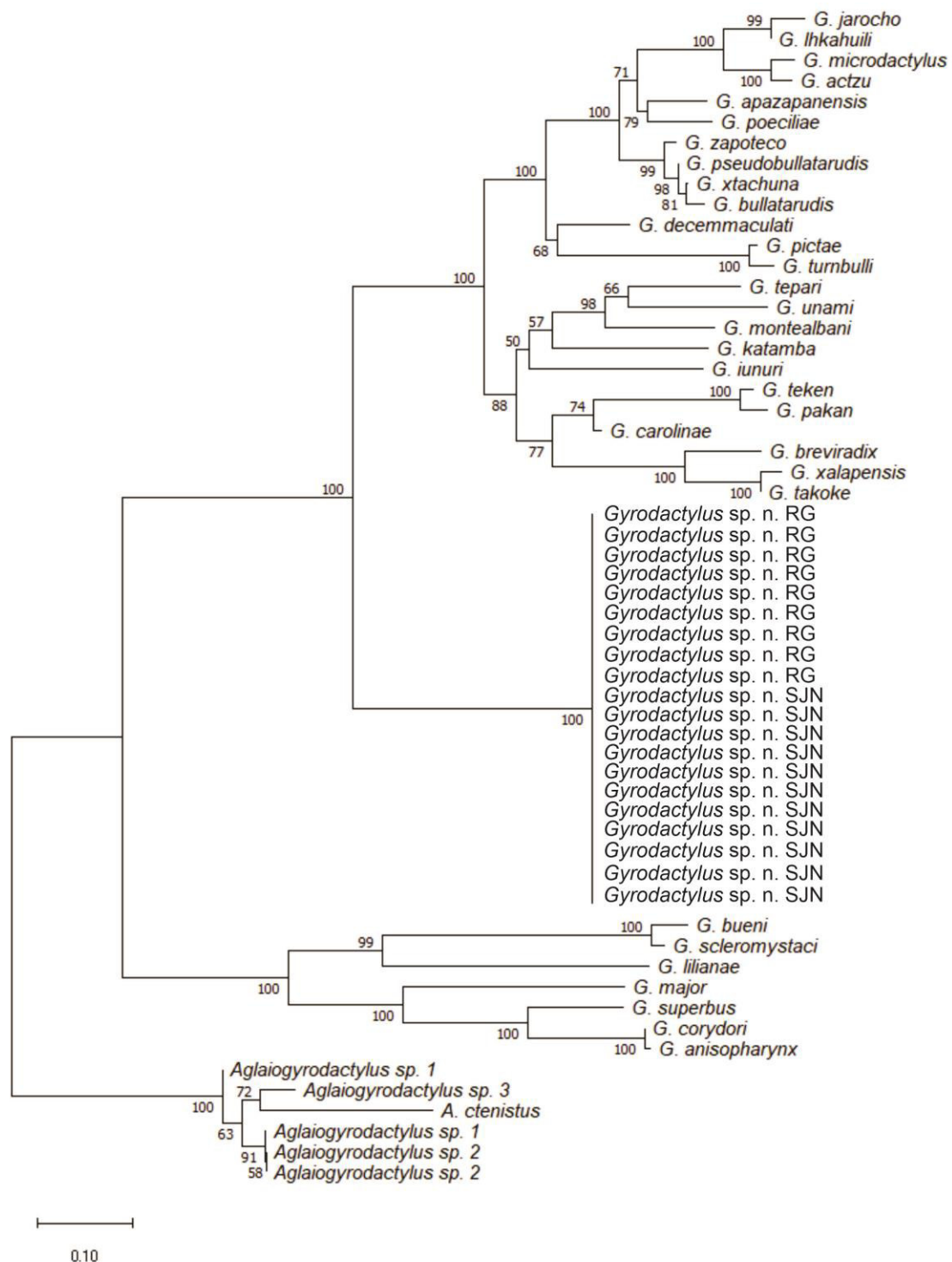


Figure 1S. Neighbor-joining phylogram of Neotropical species of *Gyrodactylus* based on Maximum Composite Likelihood model using ITS1-5.8 S-ITS2 rDNA sequences. Bootstrap values (n = 1,000) are presented below each internal branch.

CAPÍTULO 2

Monogenoideos (Gyrodactylidea, Ooggyrodactylidae) parasitas da superfície corporal de *Hisonotus* spp. (Siluriformes, Loricariidae) do extremo sul do Brasil.²

SABRINA DALMAS-BRANCHI^{1,2}, TAINÃ G. DA SILVA^{1,2}, LIZANDRA J. ROBE^{2,3} & ROGÉRIO T. VIANNA^{1,2}

¹. Laboratório de Biologia de Parasitos de Organismos Aquáticos, Universidade Federal do Rio Grande, Instituto de Ciências Biológicas, Rio Grande do Sul, Brazil;

². Programa de Pós-graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos, Universidade Federal do Rio Grande, Instituto de Ciências Biológicas, Rio Grande do Sul, Brazil;

³. Departamento de Ecologia e Evolução, Universidade Federal de Santa Maria, Brazil.

Resumo

Cinco novas espécies de ooggyrodactylídeos são descritas da superfície corporal de *Hisonotus* spp. do extremo sul do Brasil. Um novo registro de ocorrência é feito para *Aglaiogyrodactylus pedunculatus* Kristky, Vianna e Boeger, 2007. Espécies novas de *Aglaiogyrodactylus* são suportadas pelas características morfológicas e por dados moleculares de fragmentos de ITS (rDNA). *Aglaiogyrodactylus* **sp. n. 1** é caracterizada por apresentar a peça acessória do órgão copulatório masculino (OCM) composta por dois ramos originados em uma base tubular; ramo dextral com projeções cteniformes subterminal e projeções digitiformes distais, o ramo sinistral em forma de finas lâminas, que formam um capuz. *Aglaiogyrodactylus* **sp. n. 2** é caracterizada pela presença de OCM com a peça acessória em quatro ramos, originados em uma estrutura anelar. Ramo dextral bifurcado, contendo uma haste uncinada distalmente e um ramo laminar, circular com margem cteniforme. Os ramos sinistros são laminares, a lâmina ventral tem a extremidade distal semi-circular cerrilhada e a lâmina dorsal é triangular. *Aglaiogyrodactylus* **sp. n. 3** possui a peça acessória composta por três ramos; ramo sinistral em forma de J, composto por uma placa com extremidade distal semi-circular; dois ramos dextrais, em forma de bastão, com extremidades distais com projeções digitiformes inconspícuas. *Phanerothecioides* **sp. 1** apresenta vitelária estendendo-se da região pós faríngea até o final dos cecos intestinais, diferenciando-a de *P. agostinhoi* Kritsky, Vianna e Boeger, 2007. *Phanerothecioides* **sp. 2** apresenta vitelária distribuída desde a faringe até o início do pedúnculo, também diferente de *P. agostinhoi*.

Palavras-chave: Bagre de água doce, Cascudo, Lagoa dos Patos, Ovíparo, Taxonomia Integrativa.

² Manuscrito preparado de acordo com o Guia de Autores da Parasitology Research

INTRODUÇÃO

Hospedeiros Loricariidae podem ser parasitados por espécies pertencentes à Gyrodactylidae e Oogydactylidae (Harris 1983; Vianna e Boeger 2019; Boeger et al. 2020; ver Cap. 1). No entanto, a riqueza de espécies de Oogydactylidae é menor, quando comparada a riqueza de Gyrodactylidae: enquanto Gyrodactylidae agrupa cerca de 550 espécies, Oogydactylidae é representada por 24 espécies. Estas últimas encontram-se distribuídas entre oito gêneros: *Aglaiogyrodactylus* Kritsky, Vianna e Boeger, 2007 (8 espécies); *Atopogyrodactylus* Kristky, Boeger e Patella, 2020 (gênero monotípico), *Hyperopletes* Boeger, Kritsky e Belmont-Jégu, 1994 (gênero monotípico); *Nothogyrodactylus* Kritsky e Boeger, 1991 (3 espécies); *Onychogyrodactylus* Kritsky, Vianna e Boeger, 2007 (2 espécies); *Oogydactylus* Harris, 1983 (gênero monotípico); *Phanerothecioides* Kritsky, Vianna e Boeger, 2007 (gênero monotípico) e *Phanerothecium* Kritsky e Thatcher, 1977 (7 espécies).

As espécies de Oogydactylidae são restritas a região Neotropical e parasitam bagres de água doce, principalmente os pertencentes à Loricariidae (Siluriformes) (Bachman et al. 2016). No entanto, sua ocorrência já foi registrada em hospedeiros Pimelodidae, a qual foi considerada acidental (Kritsky et al. 2007).

Das 24 espécies de Oogydactylidae conhecidas, 21 foram descritas no Brasil, duas na Colômbia e uma no Peru. No Brasil, oito espécies foram descritas na região Norte (Amazonas, Tocantins e Rondônia), duas na região Sudeste (Rio de Janeiro e São Paulo) e 11 são encontradas na região Sul (Paraná) (Kristky e Thatcher 1977; Harris 1983; Kritsky e Boeger 1991; Boeger et al. 1994; Kritsky et al. 2007; Bachman et al. 2016; Patella et al. 2017; Kritsky et al. 2020). Enquanto *Phanerothecioides* foi descrito no estado do Tocantins (Kritsky et al. 2007), todas espécies conhecidas de *Aglaiogyrodactylus* foram descritas e registradas no estado do Paraná (Kritsky et al. 2007; Patella et al. 2017). Entretanto, nos demais estados da região Sul do Brasil, não há registro de ocorrência de Oogydactylidae.

Aglaiogyrodactylus constitui o gênero mais rico em espécies, contendo oito espécies, todas descritas de hospedeiros Loricariidae (Kristky et al. 2007). Espécies de *Aglaiogyrodactylus* são diagnosticadas por possuir dois cecos intestinais, sem divertículo, não confluentes e com terminação próxima ao limite posterior dos folículos vitelínicos; duas vesículas seminais; saco copulatório pouco desenvolvido, contendo órgão copulatório e peça acessória; útero com apenas um ovo; dutos vitelínicos em forma de H (Kritsky et al. 2007).

Phanerothecioides é diagnosticado por possuir dois cecos intestinais, sem divertículo, com terminação cega na região do tronco posterior; duas vesículas seminais; saco copulatório reduzido; com órgão copulatório enrolado de forma variável, órgão copulatório com espinhos e eversível; útero com um único ovo; dutos vitelínicos em forma de U invertido (Kritsky et al. 2007). Já *Phanerothecioides agostinhoi* Kristky, Vianna e Boeger, 2007 é a única espécie conhecida deste gênero, foi descrita parasitando *Hypostomus* sp. 7, *Hypostomus* sp. 5 e *Hypostomus* sp. 8 (Loricariidae) e *Pseudoplatystoma fasciatus* Linnaeus (Pimelodidae), entretanto a ocorrência em Pimelodidae é considerada accidental.

Este trabalho descreve três novas espécies de *Aglaiogyrodactylus*, apresenta um novo registro de ocorrência para *A. pecundulatus* Kritsky, Vianna e Boeger, 2007 e o registro de duas possíveis novas espécies de *Phanerothecioides*, todas encontradas em hospedeiros *Hisonotus* spp. do extremo Sul do Brasil.

MATERIAIS E MÉTODOS

Espécimes de *Hisonotus* spp. foram coletados em arroios com ligação com a Lagoa dos Patos, Rio Grande do Sul, Brasil. Os peixes foram coletados com peneira e puçá, anestesiados com solução alcoólica de Eugenol (110mg L⁻¹) (Braz et al. 2017) posteriormente eutanasiados com Eugenol (400mg L). Os hospedeiros foram acondicionados individualmente em recipientes com água quente (70°C) e vigorosamente agitados, aos quais foi adicionado etanol 96% para fixação dos parasitos (Kritsky e Stockwell 2005).

Os oogirodactilídeos foram separados em microscópio estereoscópico, montados em meio Hoyer (HY) ou em Gray e Wess (GW), ou corados com tricrômico de Gomori (TG) e montados em Bálsamo do Canadá (Humason 1979), para posterior caracterização morfológica. Os desenhos foram preparados em microscópio óptico com câmara clara acoplada e as fotos foram obtidas em microscópio com contraste de fase. As medidas foram feitas com o pacote ImageJ a partir de fotos, e dadas em micrômetros com a média seguida dos limites mínimo e máximo, e do número de medidas realizadas (n), entre parênteses.

O DNA dos parasitos foi extraído com Kit DNEasy (Qiagen), seguindo protocolo fornecido pelo fabricante. Fragmentos de ITS rDNA (ITS1, 5.8S, ITS2) foram amplificados utilizando iniciadores ITS1 (5'-TTTCCGTAGGTGAACCT-3') e ITS2 (5'-GGTAATCACGCTTGAATC-3') (Cunningham 1977). A PCR foi realizada com 4' a

94°C, seguindo de 35 ciclos de 45'' a 94°C, 1' a 50°C, 1'30'' a 72°C e 5'a 72°C. Cada reação de amplificação continha 3,5µl de DNA molde, 2,5 mM de MgCl₂, Buffer 1x, 3,2 pmol de iniciadores ITS1 e ITS2, 0,25 mM de dNTP e 1U de Taq Platinum (Kit Platinum Taq DNA Polymerase High Fidelity – Invitrogen ®) num volume total de 12µl. Os produtos da PCR foram submetidos a eletroforese em gel de agarose 1% e purificados com acetato de amônia. O sequenciamento foi realizado em um sequenciador automático Perking-Elmer ABI Prism 377 (MACROGEN, Seul, Coreia do Sul).

As sequências, de ITS1, 5.8S e ITS2, obtidas foram editadas utilizando o pacote STADEN (Staden et al. 2005) e alinhadas no programa ClustalW, implementado no programa Bioedit versão 5.0.9 (Thompson et al. 2005). As sequências disponíveis no GenBank para *Aglaiogyrodactylus ctenistus* - KF767471 (única sequência de ITS para oogyrodactílideos disponível do GenBank) e *Dactylogyrus arcuatus* – KX369222 foram, então adicionadas a esta matriz prévia. A análise de distância - Neighbor-Joining (NJ) foi realizada no software MEGA v.10.1.5 (Tamura et al. 2011) usando o modelo de distância p e suporte de bootstrap com 1.000 réplicas. Por fim, distâncias genéticas entre clados ou espécies foram calculados no programa MEGA, utilizando o modelo de distância p.

RESULTADOS

Classe Monogenoidea Bychowsky, 1937

Sub classe Polyonchoinea Bychowsky, 1937

Ordem Gyrodactylidea Bychowsky, 1937

Oogyrodactylidae Harris, 1983

***Aglaiogyrodactylus* Kritsky, Vianna e Boeger, 2007**

***Aglaiogyrodactylus* sp. n. 1**

Hospedeiro tipo: *Hisonotus* sp. (Loricariidae)

Sítio de infestação. Superfície corporal.

Localidade tipo. Arroio das Cabeças, Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil, (32°04'36.4"S 52°15'08.9"W), Janeiro de 2019.

Medidas. (baseada em 5 espécimes montados em HY e 6 corados com TG). Corpo 1.035 (897-1,201; n=4) comprimento, 205 (189-219; n=4) largura; bulbo faríngeo posterior 44 (42-48; n=5) largura, bulbo faríngeo anterior 31 (23-34; n=5) largura. Germário 39 (36-42; n=4) largura, 44 (35-49; n=4) comprimento. Vesícula

seminal 43 (41-47; n=4) largura, 43 (42-46; n=4) comprimento. Ovo 136 (n=2) comprimento. Háptor 64 (55-68; n=5) largura, 65 (58-75; n=5) comprimento. Âncora 61 (59-62; n=5) comprimento; barra superficial 6 (5-7; n=3) largura, 16 (14-19; n=3) comprimento. Gancho 22 (21-24; n=4) comprimento, cabeça do gancho 5 (4-5; n=4) comprimento.

Descrição (Fig. 1). Maior largura corporal na região média do tronco; pedúnculo alongado e afilado. Lóbulos cefálicos e órgãos da cabeça bem desenvolvidos (Fig. 1 – A). Testículo não observado; vesículas seminais esféricas; vesícula seminal posterior com parede celular espessa; vesícula seminal em pré-adultos cheia de espermatozóides e quantidade reduzida em adultos (Fig. 1 – C). OCM muscular não-armado, saco do OCM com parede fina, vesícula delicada associada ao ramo sinistral da peça acessória; a peça acessória do OCM é composta por dois ramos originados em uma base tubular; ramo dextral em forma de capuz, composto por duas finas lâminas contendo bordas subterminais com projeções cteniformes, estas lâminas formam um tubo que direciona o OCM; ramo sinistral com projeções cteniformes subterminais e região distal com projeções digitiformes. O ramo dextral é utilizado na condução do OCM, o ramo sinistral é articulado e serve como alavanca para a extroversão do com (Fig. 1 - C-E). Germário subesférico; poro uterino próximo ao bulbo glandular da faringe. Um único ovo alongado; filamento com $\frac{1}{4}$ do comprimento do ovo; região proximal alongada em forma de cálice; porção proximal do filamento bilobado; gota de cemento amorfa, proeminente (Fig. 1 – F). Háptor circular. Âncora com raiz superficial alongada, raiz profunda curta, eixo cônico levemente curvado. Barra superficial retangular com cantos arredondados (Fig. 1 – G). Ganchos com haste ponta ligeiramente recurvada, calcanhar arredondado e dedo do pé truncado; Comprimento do FH loop $\frac{1}{3}$ do comprimento da haste (Fig. 1 – B).

Comentários. *Agelaiogyrodactylus* **sp. n.** 1 difere das demais espécies congêneres por possuir peça acessória com dois ramos, sendo o ramo dextral em forma de capuz, formado por finas lâminas com projeções cteniformes; e o ramo sinistral com projeções cteniformes subterminais e projeções digitiformes na região distal. A visualização do OCM *Agelaiogyrodactylus* **sp. n.** se dá de forma clara, devido ao seu proeminente tamanho e a peça dextral estar em formato de cone invertido.

Agelaiogyrodactylus **sp. n.** 2

Hospedeiro-tipo. *Hisonotus* sp. (Loricariidae)

Sítio de infestação. Superfície corporal.

Localidade tipo. Riacho às margens da BR 116, Arroio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil, (31°58'40.2"S 52°47'30.0"W), Novembro de 2019.

Outras localidades. Margens da BR 116, Arroio Grande (32°08'25.1"S 52°57'28.6"W); Arroio próximo ao Corredor das Tropas, Pedro Osório (31°52'30.7"S 52°49'06.4"W), Rio Grande do Sul, Brasil, Novembro de 2019.

Medidas. (baseadas em 6 espécimes montados em HY e 5 corados com TG). Corpo 671 (533-795; n=5) comprimento, 174 (114-215; n=5) largura; bulbo faringeal posterior 54 (46-69; n=3) diâmetro, bulbo faringeal anterior 32 9 (23-40; n=3) diâmetro. Germário 47 (42-51; n=5) largura, 55 (50-62; n=5) comprimento. Ovo 142 (128-155; n=4) comprimento. Háptor 72 (69-75; n=2) largura, 61 (56-66; n=2) comprimento. Âncora 56 (54-58; n=7) comprimento. Barra superficial 6 (n=1) largura, 16 (n=1) comprimento. Ganchos 23 (21-25; n=4) comprimento, cabeça do gancho 4 (4-5; n=4) comprimento.

Descrição (Fig. 2). Maior largura corporal ao nível do germário; pedúnculo alongado e com diâmetro contínuo; pedúnculo alongado em espécimes adultos e curto em pré-adultos, mantendo a proporção conforme a maturação sexual (Fig. 2 – A-G). Lóbulos cefálicos e órgãos da cabeça bem desenvolvidos. Testículo não observado em adultos, somente em juvenis; vesícula seminal anterior oval e parede fina; vesícula seminal posterior esférica, com parede espessa (Fig. 2 – A-G). OCM muscular; peça acessória composta por quatro ramos: ramos sinistros com origem a partir da metade do ramo: ramo dorsal circular, com bordas com projeções cteniformes; ramo ventral com extremidade distal uncinada. Pequena projeção na origem da bifurcação que da origem aos dois ramos sinistrais. Dois ramos dextrais em forma de placa; ramo dorsal triangular, com ramificação, ramo ventral com extremidade distal circular, borda apresentando projeções serrilhadas. Ramos dextrais têm a função de guia para o órgão copulatório masculino (Fig. 2 – B-C); Germário subesférico; Glândula de Mehlis bem desenvolvida, lobada. Um único ovo alongado; filamento curto; região proximal alongada em forma de cálice; gota de cimento amorfa reduzida (Fig.2 E). Háptor circular; âncora com raiz superficial alongada, raiz profunda curta, ambas com extremidades retas, eixo cônico com curvatura branda. Barra superficial em forma de trapézio invertido, com leve constrição central (Fig. 2 – D). Ganchos com haste ponta ligeiramente recurvada, calcanhar e ponta do pé arredondada, truncados; haste com

afilamento na região distal ao gancho; Comprimento do FH loop $\frac{1}{4}$ do comprimento da haste (Fig. 2 – F).

Comentários. *Aglaiogyrodactylus* **sp. n. 2** difere das demais espécies congêneres pelas características do OCM. *Aglaiogyrodactylus* **sp. n. 1** possui seu ramo dextral semelhante a um capuz, entretanto esse é formado por apenas um ramo, enquanto *Aglaiogyrodactylus* **sp. n. 2** possui dois ramos dextrais em forma de capuz. Além disso, é a única espécie que tem o ramo sinistral subdividido em dois ramos, sendo que um apresenta projeções cteniformes e o outro possui a região distal uncinada.

Aglaiogyrodactylus **sp. n. 3**

Hospedeiro tipo: *Hisonotus* sp. (Loricariidae).

Sítio de infestação. Superfície corporal.

Localidade tipo. Riacho às margens da BR 116, Cristal, Rio Grande do Sul, Brasil, (31°08'54.5"S 52°01'51.1"W), Outubro de 2019.

Outras localidades. Margens da BR 116, Cristal, Rio Grande do Sul, Brasil, (31°10'48.5"S 52°01'32.8"W), Outubro de 2019.

Medidas. (baseadas em 12 espécimes adultos). Corpo 761 (572-1,001; n=10) comprimento, 159 (108-230; n=9) largura; bulbo faringeal posterior 46 (36-56; n=4) diâmetro, bulbo faringeal anterior 31 (27-35; n=5) diâmetro. Germário 47 (32-67; n=5) largura, 44 (34-56; n=5) comprimento. Ovo 140 (124-165; n=4) comprimento. Háptor 70 (60-87; n=6) largura, 65 (55-78; n=8) comprimento. Âncora 59 (55-63; n=10) comprimento. Barra superficial 6 (5-7; n=6) largura, 17 (16-1; n=6) comprimento. Ganchos 22 (20-23; n=4) comprimento, cabeça do gancho 5 (4-5; n=4) comprimento.

Descrição (Fig. 3). Maior largura corporal na região média do tronco; região cefálica curta; pedúnculo moderadamente alongado. Lóbulos cefálicos e órgãos da cabeça bem desenvolvidos (Fig. 3 – A). Testículo não observado em adultos, jovem apresentam testículo sobreposto a vesícula seminal proximal; vesícula seminal distal semi-circular, com parede fina; vesícula seminal proximal subesférica, com parede espessa. OCM muscular; peça acessória composta por três ramos com origem tubular, ramo sinistral e um dos ramos dextrais têm origem em uma ramificação; ramo sinistral em forma de J, composto por uma placa com extremidade distal semi-circular; dois ramos dextrais, em forma de bastão, com extremidades distais com projeções digitiformes inconspícuas (Fig. 3 – D). Germário subesférico. Ovo alongado; casca do ovo com mais de uma camada; filamento curto, região proximal larga em forma de

cálice; gota de cimento amorfa, proeminente, comprimida antero-posteriormente, formando uma concavidade na face anterior (Fig. 3 – B-C). Háptor circular/ ou cordiforme. Âncora com raiz superficial alongada, raiz profunda curta e com extremidade reta, eixo cônico ligeiramente curvado e com curvatura branda. Barra superficial em forma de trapézio invertido, com extremidades laterais arredondadas e com espessamento; barra profunda em forma de bastão (Fig. 3 – F). Ganchos com haste ponta ligeiramente recurvada, calcanhar e dedo do pé arredondado e truncado; haste com afilamento na região distal ao gancho; Comprimento do FH loop $\frac{1}{4}$ do comprimento da haste (Fig. 3 – E).

Comentários. *Agelaiogyrodactylus* sp. n. 3 coocorre com *A. pedunculatus*. Ambas espécies possuem peças acessórias do OCM em forma de placas. Entretanto, por mais que *Agelaiogyrodactylus* sp. n. 1 possui o OCM com dois ramos de peças acessórias, *Agelaiogyrodactylus* sp. n. 2 possui o OCM com quatro ramos de peças acessórias, *Agelaiogyrodactylus* sp. n. 3 possui OCM com três ramos de peças acessórias e *A. pedunculatus* possui o COM com quatro ramos de peças acessórias, todas são claramente diferenciáveis.

***Agelaiogyrodactylus pedunculatus* Kritsky, Vianna & Boeger, 2007**

Hospedeiro: *Hisonotus* sp. (Loricariidae).

Sítio de infestação. Superfície corporal.

Localidade. Riacho às margens da BR 116, Cristal, Rio Grande do Sul, Brasil, (31°10'48.5"S 52°01'32.8"W), Outubro de 2019.

Medidas. (baseadas em 6 espécimes montados em HY e 2 corados com TG). Corpo 748 (572-1,001; n=6) comprimento, 151 (108-181; n=5) largura; bulbo faringeal posterior 46 (36-56; n=3) diâmetro, bulbo faringeal anterior 31 (31-32; n=3) diâmetro. Germário 50 (44-56; n=3) largura, 54 (42-67; n=5) comprimento. Ovo 140 (124-165; n=3) comprimento. Háptor 72 (60-87; n=4) largura, 68 (58-78; n=5) comprimento. Âncora 59 (55-63; n=6) comprimento, 7 (6-8; n=6). Barra superficial 6 (5-7; n=5) largura, 17 (16-18; n=5) comprimento. Ganchos 22 (20-23; n=4) comprimento, cabeça do gancho 6 (5-7; n=4) comprimento.

Comentários. As características diagnósticas descritas por Kritsky et al. (2007) para *A. pedunculatus*, foram as mesmas observadas nos espécimes encontrados neste estudo. Entretanto, algumas estruturas apresentam medidas distintas. Estruturas moles apresentaram tamanhos similares. Já as estruturas esclerotizadas do háptor são maiores

na descrição de Kritsky et al. (2007) do que as obtidas neste trabalho, exceto a cabeça do gancho que apresentou valores iguais (Tab. 1).

Análise filogenética

Foram obtidas duas sequências de ITS rDNA para *Aglaiogyrodactylus* **sp. n. 1** com 560 pares de bases (pb) cada, duas sequências para *Aglaiogyrodactylus* **sp. n. 2** com 590pb e uma sequência para *Aglaiogyrodactylus* **sp. n. 3** com 570pb. O alinhamento das novas sequências com *A. ctenistus* e *D. arcuatus*, gerou um alinhamento de sete sequências. O filograma recuperado com NJ agrupou as espécies de *Aglaiogyrodactylus* registradas neste estudo em um ramo monofilético (Figura). No entanto, *Aglaiogyrodactylus* **sp. n. 1** se revelou parafilética com relação a *Aglaiogyrodactylus* **sp. n. 2**. Neste sentido, embora *Aglaiogyrodactylus* **sp. n. 3** apresente os valores de distância genética de pelo menos 8,9% com relação às outras espécies do gênero, a divergência entre *Aglaiogyrodactylus* **sp. n. 1** e *Aglaiogyrodactylus* **sp. n. 2** foi de apenas 0,2% (Tabela 2).

Phanerothecioides **sp. n. 1**

Hospedeiro tipo: *Hisonotus* sp. (Loricariidae).

Sítio de infestação. Superfície corporal.

Localidade tipo. Riacho às margens da BR 116, Arroio Grande (32°08'25.1"S 52°57'28.6"W), Rio Grande do Sul, Brasil, Novembro de 2019.

Medidas. (baseadas em 5 espécimes montados em HY). Corpo 883 (841-940; n=3) comprimento, 175 (140-212; n=3) largura; bulbo faringeal posterior 39 (n=1) diâmetro, bulbo faringeal anterior 28 (n=1) diâmetro. Ovo 122 (121-124; n=2) comprimento. Âncora 5 (n=1) comprimento. Ganchos 16 (16-17; n=2) comprimento, cabeça do gancho 3 (n=3) comprimento.

Descrição (Figuras 5 e 6). Maior largura do corpo na região média; pedúnculo curto. Vitelária distribuída desde a faringe até ultrapassar os cecos intestinais. Útero com, no máximo, um ovo; filamento do ovo curto e sem espaço interno; extremidade proximal do filamento em forma de taça; gota de cimento amorfa, conspícua e central em relação ao filamento. Háptor circular; ganchos formam distribuídos radialmente no háptor; âncoras centrais em relação ao háptor. Âncoras robustas; eixo cônico curvado; ponta afilada que ultrapassa a raiz superficial; raiz superficial conspícua e raiz profunda inconspícua, parecendo ser fundida com a raiz superficial. Gancho com ponta fechada e

curta; haste inclinada ventralmente; calcanhar arredondado; dedo do pé curto e arredondado; haste espessa.

Comentários. *Phanerothecioides* **sp. n. 1** apresenta sua vitelaria distribuída desde a faringe até ultrapassar os cecos intestinais, no início do pedúnculo, enquanto que em *P. agostinhoi* a vitelária tem início pós uterino, até o início do pedúnculo. As âncoras de *Phanerothecioides* **sp. n. 1** possuem sua ponta fina e alongada, ultrapassando o limite da raiz superficial, diferente de *P. agostinhoi* que possui âncoras com pontas afiladas e não ultrapassam o limite da raiz superficial. Além disso, as âncoras de *Phanerothecioides* **sp. n. 1** não possuem raiz profunda conspícua como *P. agostinhoi* (Kritsky et al. 2007).

***Phanerothecioides* sp. n. 2**

Hospedeiro tipo: *Hisonotus* sp. (Loricariidae).

Sítio de infestação. Superfície corporal.

Localidade tipo. Riacho às margens da BR 116, Cristal, Rio Grande do Sul, Brasil, (31°08'54.5"S 52°01'51.1"W), Outubro de 2019.

Outras localidades. Margens da BR 116, Cristal, Rio Grande do Sul, Brasil, (31°10'48.5"S 52°01'32.8"W), Outubro de 2019.

Medidas. (baseado em 3 espécimes montados em HY). Corpo 729 (609-839; n=3) comprimento, 195 (217-238; n=3) largura; bulbo faringeal posterior 40 (n=1) diâmetro, bulbo faringeal anterior 26 (n=1) diâmetro. Ovo 114 (112-115; n=2) comprimento. Âncora 5 (n=1) comprimento. Ganchos 16 (17-18; n=3) comprimento, cabeça do gancho 3 (2-3; n=3) comprimento.

Descrição (Figuras 5 e 6). Corpo alongado, fusiforme, mais largo na região do útero; pedúnculo longo. Vitelária distribuída desde a faringe até o pedúnculo. Glando de Mehlis proeminente, lobada. Útero contendo um ovo; filamento do ovo curto e delgado; gota de cimento amorfa proeminente arredondada, mostrando uma porção mais densa próximo ao filamento, a qual é coberta por uma porção menos densa. Háptor com ganchos distribuídos radialmente, localizados em projeções digitiformes conspícuas. Âncoras robustas; eixo cônico moderadamente curvado, ponta afilada, não ultrapassando a linha da raiz superficial, raiz profunda inconspícua, parecendo ser fundida com a raiz superficial. Gancho com ponta fechada e curta; haste inclinada ventralmente; calcanhar globoso; dedo do pé truncado, erguido em direção a ponta do gancho; haste espessa com afilamento na região posterior.

Comentários. Enquanto *Phanerothecioides* **sp. n. 1** e *P. agostinhoi* possuem o háptor circular com ganchos distribuídos radialmente, *Phanerothecioides* **sp. n. 2** tem seus ganchos ultrapassando o limite do háptor, localizados em projeções digitiformes. A forma da gota de cimento de *Phanerothecioides* **sp. n. 2** difere-se das demais espécies por ser composta de duas regiões, uma mais densa (interna) e outra menos densa (externa), enquanto que *Phanerothecioides* **sp. n. 1** e *P. agostinhoi* possuem a gota de cimento com textura homogênea. O dedo do pé de *Phanerothecioides* **sp. n. 2** é truncado e direcionado para a ponta do gancho, como em *P. agostinhoi* (Kritsky et al. 2007), enquanto que nas demais espécies é arredondado.

DISCUSSÃO

Harris (1983) propôs Oogyrodactylidae para alocar duas espécies ovíparas, *Oogyrodactylus farlowellae* Harris, 1983 e *Phanerothecium caballeroi* Kritsky e Thatcher, 1977, parasitas de Loricariidae e Pimelodidae, respectivamente. Enquanto as espécies vivíparas permaneciam em Gyrodactylidae. Entretanto, Boeger e Kritsky (1993) consideraram Oogyrodactylidae como um sinônimo de Gyrodactylidae, devido a ausência de caracteres sinapomórficos. Estudos posteriores sobre a filogenia das espécies ovíparas foram escassos, já que haviam poucas sequências genéticas disponíveis e os estudos não buscavam testar a monofilia do grupo (Bachmann et al. 2016; Patella et al. 2017; Vanhove et al. 2018; Zhang et al. 2019). Assim, espécies ovíparas eram consideradas basais dentro de Gyrodactylidae, entretanto, Vianna (2007) apresentou indícios de que espécies ovíparas formavam um clado, quando analisados dados de rDNA (ITS). Boeger et al. (2020) apresentam análises filogenéticas, baseados em dados de 18S rDNA e MT-CO2, suportando espécies ovíparas e vivíparas como grupos irmãos, formando clados independentes e monofiléticos. Assim, Oogyrodactylidae foi revalidada e foi considerada uma família independente de Gyrodactylidae, tornando ambas válidas e pertencentes a Gyrodactylidea (Boeger et al. 2020).

Patella et al. (2017) apresentaram uma filogenia de *Aglaioogyrodactylus* baseada em sequências de 18S rDNA. De acordo com essa filogenia, este gênero constitui um agrupamento parafilético, subdividido em três clados de espécies do gênero foram mostrados: um (a) formado por *A. pedunculatus*, *A. calamus* Kritsky, Vianna & Boeger, 2007, e *Onychogyrodactylus hydaticus* Kritsky, Vianna e Boeger, 2007, outro (b) por *A. ctenistus*, *A. coneii* Kritsky, Vianna e Boeger, 2007 e *A. salebrosus* Kritsky, Vianna e

Boeger, 2007 e outro (c) formado por *A. guttus* Kritsky, Vianna e Boeger, 2007, *A. forficulatus* e *A. forficuloides*. Ao observar cada clado, tomando como base suas características morfológicas, percebem-se alguns padrões, principalmente relacionados ao OCM. As espécies do clado (a) possuem as peças acessórias do OCM sem características semelhantes, mas com o órgão copulatório tubular e esclerotizado (Kritsky et al. 2007; Patella et al. 2017). Além disso, agrupa com *O. hydaticus* o que refuta a hipótese de monofilia de *Aglaioogyrodactylus*. Já no clado (b), *A. ctenistus* e *A. salebrosus* possuem as peças acessórias do OCM em ramos com terminações digitiformes e cteniformes, enquanto *A. coneii* se difere de todas as outras espécies por possui o conjunto de peças acessórias com terminações falciformes. Entretanto, todas espécies do clado (b) possuem os ramos distais da peça acessória do OCM com terminações em forma de cteno, projeções digitiformes ou em forma de foice (Kritsky et al. 2007; Patella et al. 2017). O clado (c) é formado por espécies que possuem o OCM em forma de J e composto por peças acessórias em forma de finos tubos com terminações agudas (Kritsky et al. 2007; Patella et al. 2017). Assim, de acordo com esses padrões, é possível que cada linhagem de *Aglaioogyrodactylus* possua características compartilhadas na composição do OCM.

As espécies descritas neste estudo possuem peças acessórias do OCM contendo ramos em forma de placas, que podem ou não conter projeções cteniformes e/ou digitiformes. Além disso, o filograma gerado (Figura 4) indica que as novas espécies de *Aglaioogyrodactylus* são proximamente relacionadas, o que também é suportado pelos baixos valores de distância genética entre elas (Tabela 2). Portanto, *Aglaioogyrodactylus* **sp. n. 1**, *Aglaioogyrodactylus* **sp. n. 2** e *Aglaioogyrodactylus* **sp. n. 3** possivelmente formam uma nova linhagem dentro do gênero.

No entanto, é interessante observar que *Aglaioogyrodactylus* **sp. n. 1** e *Aglaioogyrodactylus* **sp. n. 2** não são reciprocamente monofiléticas, e apresentam distâncias genéticas inferiores a 1% entre si. Isto ocorre à despeito do fato de que ambas apresentam diferenças consideráveis nas características do OCM: enquanto *Aglaioogyrodactylus* **sp. n. 1** possui uma peça acessória em forma de capuz com projeções cteniformes, *Aglaioogyrodactylus* **sp. n. 2** apresenta um dos ramos da peça acessória subdividido em dois, com uma ponta em forma de foice e outra com projeções cteniformes. Como as características morfológicas são compatíveis com o status de espécies diferentes, é possível que situações de compartilhamento de polimorfismo

ancestral, ou mesmo eventos de introgressão entre espécies recentemente separadas estejam interferindo no sinal recuperado pelos marcadores utilizados.

Com relação *A. pedunculatus*, é interessante notar a existência de diferenças significativas no tamanho das estruturas esclerotizadas do haptor observados nos esopécimes descritos no Paraná (Kritsky et al. 2007) e aquelas registradas neste estudo. No entanto, estudos demonstram que as estruturas esclerotizadas de *Gyrodactylus* (Gyrodactylidae) podem variar de tamanho de acordo com a temperatura da água (Malmberg 1970; Mo 1991, 1993), entre diferentes populações (Malmberg 1970; Ergens 1975, 1976), em diferentes hospedeiros (Ergens 1981; Mo 1991) ou ainda em diferentes localizações geográficas (Ergens 1981; Mo 1991). Estes padrões são compatíveis com a presença de adaptações locais ou plasticidade fenotípica.

Para o gênero *Phanerothecioides*, *P. agostinhoi* é a única espécie descrita até o momento, sendo encontrada em hospedeiros Loricariidae e Pimelodidae (Kritsky et al. 2007). Entretanto, a ocorrência em Pimelodidae é dada como accidental, pois não foram encontrados espécimes adultos de *P. agostinhoi* em *Pseudoplatystoma fasciatum*. Neste estudo, ampliamos a diversidade conhecida para o gênero, e demonstramos novos padrões de coocorrência para estes parasitos. De fato, assim como *P. agostinhoi* foi descrita coocorrendo com *A. spinatoides* (Kritsky et al. 2007), *Phanerothecioides* **sp. n. 1** foi encontrada em coocorrência com *Aglaiogyrodactylus* **sp. n. 2** e *Phanerothecioides* **sp. n. 2** em coocorrência com *Aglaiogyrodactylus* **sp. n. 3**. Isto sugere que o compartilhamento de hospedeiros pode ser um padrão comum para espécies de *Phanerothecioides*.

A maioria das espécies de Ooggyrodactylidae foi descrita em hospedeiros Loricariidae (Kristky e Thatcher 1977; Harris 1983; Kritsky e Boeger 1991; Boeger et al. 1994; Kritsky et al. 2007; Bachman et al. 2016; Patella et al. 2017; Kritsky et al. 2020). Peixes desta família são encontrados na Região Neotropical e compõem a família mais rica dentre os Siluriformes, com cerca de 1.000 espécies descritas (Fricke et al. 2021). Apesar da grande riqueza de espécies de Loricariidae, até o presente momento são conhecidos apenas 19 hospedeiros loricarídeos (entre espécimes identificados em nível de gênero e outros em nível de espécie) para Ooggyrodactylidae (Kristky e Thatcher 1977; Harris 1983; Kritsky e Boeger 1991; Boeger et al. 1994; Kritsky et al. 2007; Bachman et al. 2016; Patella et al. 2017; Kritsky et al. 2020). Portanto, apesar da rica fauna de loricarídeos no Brasil, estudos que investiguem a fauna de Ooggyrodactylidae são

escassos, sendo possível que a diversidade desta família seja profundamente desconhecida.

APROVAÇÃO ÉTICA

A amostragem, captura e transporte dos espécimes foram realizadas com licença aprovada pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBIO) por meio do Sistema Brasileiro de Informação e Autorização sobre Biodiversidade (SISBIO; nº 445582). Todos os procedimentos envolvendo animais seguiram as normas éticas do Comitê de Ética em Pesquisa em Experimentação Animal da Universidade Federal do Rio Grande (CEUA-FURG; nº Pq 016/019).

AGRADECIMENTOS

Somos gratos a Aline A. Fonseca, Daniela J. Binow e Letícia M. Linder pelo auxílio em coletas de campo e processamentos. À Universidade Federal do Rio Grande por subsidiar as saídas de campos. A Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos à Sabrina D. Branchi.

REFERÊNCIAS

- Bachmann, L., Fromm, B., Azambuja, L.P., Boeger, W.A.** (2016) The mitochondrial genome of the egg-laying flatworm *Aglaiogyrodactylus forficulatus* (Platyhelminthes: Monogenoidea). *Parasites & Vectors* **9**, 285.
- Boeger, W.A., Kritsky, D.C.** (1993). Phylogeny and a revised classification of the Monogenoidea Bychowsky, 1937 (Platyhelminthes). *Systematic Parasitology* **26**, 1-32.
- Boeger, W.A., Kritsky, D.C., Belmont-Jegu, E.** (1994) Neotropical Monogenoidea. 20. Two New Species of Oviparous Gyrodactylidea (Polyonchoinea) from Loricariid Catfishes (Siluriformes) in Brazil and the Phylogenetic Status of Ooegyrodactylidae Harris, 1983. *Journal of Helminthology Society Washington* **6**, 34-44.
- Boeger, W.A., Kritsky, D.C., Patella, L., Bueno-Silva, M.** (2020) Phylogeny status and historical origins of the oviparous and viviparous gyrodactylids (Monogenoidea, Gyrodactylidea). *Zoologia Scripta* **00**, 1-13.

- Braz, R.S., Silva, I.O., Tesser, M.B., Sampaio, L.A., Rodrigues, R.V.** (2017) Benzocaína, ms-222, eugenol e mentol como anestésicos para juvenis de tainha *Mugil liza*. *Boletim do Instituto da Pesca* **43**, 605-613.
- Cunningham, C.O.** (1997) Species variation within the internal transcribed spacer (ITS) region of *Gyrodactylus* (Monogenea: Gyrodactylidae) ribosomal RNA genes. *Journal of Parasitology* **83**, 215-219.
- Ergens, R.** (1975) Contribution to the knowledge of the species *Gyrodactylus aphyae* Malmberg, 1957 and *G. pannonicus* Molnar, 1968 (Monogeneoidea, Gyrodactylidae). *Vestnik Československe Spolecnosti Zoologicke* **39**, 1–8.
- Ergens, R.** (1976) Variability of hard parts of haptor of two species of *Gyrodactylus* Nordmann, 1832 (Monogeneoidea) from *Phoxinus phoxinus* (L.). *Folia Parasitologica* **23**, 111–126.
- Ergens, R.** (1981) Variability of hard parts of haptor in *Gyrodactylus truttae* Glaser, 1974 (Gyrodactylidae: Monogenea). *Folia Parasitologica* **28**, 37–42.
- Fricke, R., Eschmeyer, W.N., Van der Laan, R.** (2021) ESCHMEYER'S CATALOG OF FISHES: GENERA, SPECIES, REFERENCES. (<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>). Versão eletrônica acessada em 20 de janeiro de 2021.
- Harris, P.D.** (1983) The morphology and life-cycle of the oviparous *Ooggyrodactylus farowellae* gen. et sp. nov. (Monogenea, Gyrodactylidae). *Parasitology* **87**, 405-420.
- Humason, G.L.** (1979) Animal Tissue Technics. 4^a Ed. Freeman and Company, San Francisco, 661 pp.
- Kritsky, D.C., Thatcher, V.E.** (1977) *Phanerothecium* gen. nov. and *Fundulotrema* gen. nov. Two new genera of viviparous Monogeneoidea (Gyrodactylidae), with a description of *P. caballeroi* sp. nov. and a key to the subfamilies and genera of the family. *Excerta Parasitológica em memória Del doctor Eduardo Caballero y Caballero, Instituto de Biología, Publicaciones Especiales* **4**, 53 – 60.
- Kritsky, D.C., Boeger W.A.** (1991) Neotropical Monogenea. 16. New species of Oviparous Gyrodactylidae with proposal of *Nothogyrodactylus* gen. n. (Ooggyrodactylidae). *Journal of Helminthological Society of Washington* **58** (1), 7-15.

- Kritsky, D.C., Stockwell, C.A.** (2005) New species of *Gyrodactylus* (Monogenoidea, Gyrodactylidae) from the white sands pupfish, *Cyprinodon tularosa*, in New Mexico. *The Southwestern Naturalist* **50**, 312-317.
- Kritsky, D.C., Vianna, R.T., Boeger, W.A.** (2007) Neotropical Monogenoidea. 50. Oviparous Gyrodactylids from loricariid and pimelodid catfishes in Brazil, with proposal of *Phanerothecioides* n. g., *Onychogyrodactylus* n. g. and *Aglaiogyrodactylus* n. g. (Polyonchoinea, Gyrodactylidea). *Systematic Parasitology* **66**, 1-34.
- Kritsky, D.C., Boeger, W.A., Patella, L.** (2020) Neotropical Monogenoidea. 63. *Atopogyrodactylus praecipus* gen. et. Sp. n. (Gyrodactylidae), an oviparous gyrodactylid from the external surface of a bristlenose catfish *Ancistrus* sp. (Siluriformes: Loricariidae) from the Rondônia Amazon, Brazil. *Zootaxa* **4732** (1), 169-176.
- Malmberg, G.** (1970) The excretory systems and themarginal hooks as a basis for the systematics of *Gyrodactylus* (Trematoda, Monogenea). *Arkiv for Zoology* **23**, 1-235.
- Mo, T.A.** (1991) Seasonal variations of haptoral hard parts of *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 (Monogenea: Gyrodactylidae) on parr of Atlantic salmon *Salmo salar* L. in the River Batnjordselva, Norway. *Systematic Parasitology* **19**, 231–240.
- Patella, L., Brooks, D.R., Boeger, W.A.** (2017) Phylogeny and ecology illuminate the evolution of associations under the Stockholm paradigm: *Aglaiogyrodactylus* spp. (Plathyhelminthes, Monogenoidea, Gyrodactylidae) and species of Loricariidae (Actinopterygii, Siluriformes). *Vie et Milieu – Life and Environment* **67** (2), 91-102.
- Staden, R., Beal, K.F., Bonfield, J.K.** (2005) Staden Package. <http://staden.sourceforge.net/> (accessed 15 April 2020).
- Tamura, K., Peterso, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S.** (2011) MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* **28**, 2731-2739.
- Thompson, J.D., Higgins, D.G., Gibson, T.J.** (1994) CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* **22**, 4673-4680.

- Vanhove, M.P., Briscoe, A.G., Jorissen, M.W.P., Littlewood, D.T.J., Huyse, T.** (2018) The first next-generation sequencing approach to the mitochondrial phylogeny of African monogenean parasites (Platyhelminthes: Gyrodactylidae e Dactylogyridae). *BMC Genomics* **19**, 1-16.
- Vianna, R.T.** (2007) Filogenia e biogeografia de Gyrodactylidae (Monogenoidea): morfologia, moléculas e evidência total. Tese de Doutorado. Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Zoologia. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2007.
- Vianna, R.T., Boeger, W.A.** (2019) Neotropical Monogenoidea. 60. Two new species of *Gyrodactylus* (Monogenoidea: Gyrodactylidae) from the armored-catfish, *Pareiorhaphis parmula* Pereira (Loricariidae) and from the cascarudo, *Callichthys callichthys* (Linnaeus) (Callichthyidae) from Brazil. *Zootaxa* **4551**, 87-93.
- Zhang, D., Li, W.X., Zou, H., Wu, S.G., Li, M., Jakovlic, I., Zhang, J., Chen, R., Wang, G.** (2019) Homoplasy or plesiomorphy? Recontruction of the evolutionary history of mitochondrial gene order rearrangements in the Subphylum Neodermata. *International Journal for Parasitology* **49**, 819-829.

Tabela 1. Medidas morfológicas de *Aglaiogyrodactylus pedunculatus*. Valores dados em µm. Valores entre parênteses representam tamanho máximo e mínimo observado.

		<i>A. pedunculatus</i> ¹	<i>A. pedunculatus</i> ²
Corpo	Largura	151 (108-181) n=5	140 (100-209) n=31
	Comprimento	748 (572-1.001) n= 6	1.006 (615-1.455) n=32
Faringe	Bulbo posterior	46 (36-56) n= 3	55 (44-69) n=30
	Bulbo anterior	31 (31-32) n= 3	37 (32-42) n=30
Ovo	Comprimento	140 (124-165) n= 3	162 (150-172) n=16
Háptor	Largura	72 (60-87) n=4	95 (71-147) n=29
	Comprimento	68 (58-78) n=5	103 (81-121) n=19
Âncora	Largura	7 (6-8) n=6	-
	Comprimento	59 (55-63) n= 6	69 (62-78) n=25
Barra superficial	Largura	6 (5-7) n=5	-
	Comprimento	17 (16-18) n=5	24 (20-29) n=14
Gancho	Comprimento	22 (20-23) n=4	44 (41-47) n=27
	Cabeça do gancho	6 (5-7) n=4	6 (6-7) n=15

*A. pedunculatus*¹ - medidas referentes aos espécimes encontrados neste estudo; *A. pedunculatus*² - medidas referentes aos espécimes encontrados por Kritsky *et al.* (2007).

Tabela 2. Distâncias genéticas entre espécies de *Aglaiogyrodactylus* com fragmentos de ITS rDNA disponíveis.

	<i>Aglaiogyrodactylus</i> sp. n. 1 (1)	<i>Aglaiogyrodactylus</i> sp. n. 1 (2)	<i>Aglaiogyrodactylus</i> sp. n. 2 (1)	<i>Aglaiogyrodactylus</i> sp. n. 2 (2)	<i>Aglaiogyrodactylus</i> sp. n. 3	<i>Aglaiogyrodactylus</i> <i>ctenistus</i>
<i>Aglaiogyrodactylus</i> sp. n. 1 (1)	-					
<i>Aglaiogyrodactylus</i> sp. n. 1 (2)	0,000	-				
<i>Aglaiogyrodactylus</i> sp. n. 2 (1)	0,001	0,001	-			
<i>Aglaiogyrodactylus</i> sp. n. 2 (2)	0,001	0,001	0,000	-		
<i>Aglaiogyrodactylus</i> sp. n. 3	0,081	0,080	0,082	0,081	-	
<i>Aglaiogyrodactylus</i> <i>ctenistus</i>	0,162	0,161	0,162	0,164	0,174	-

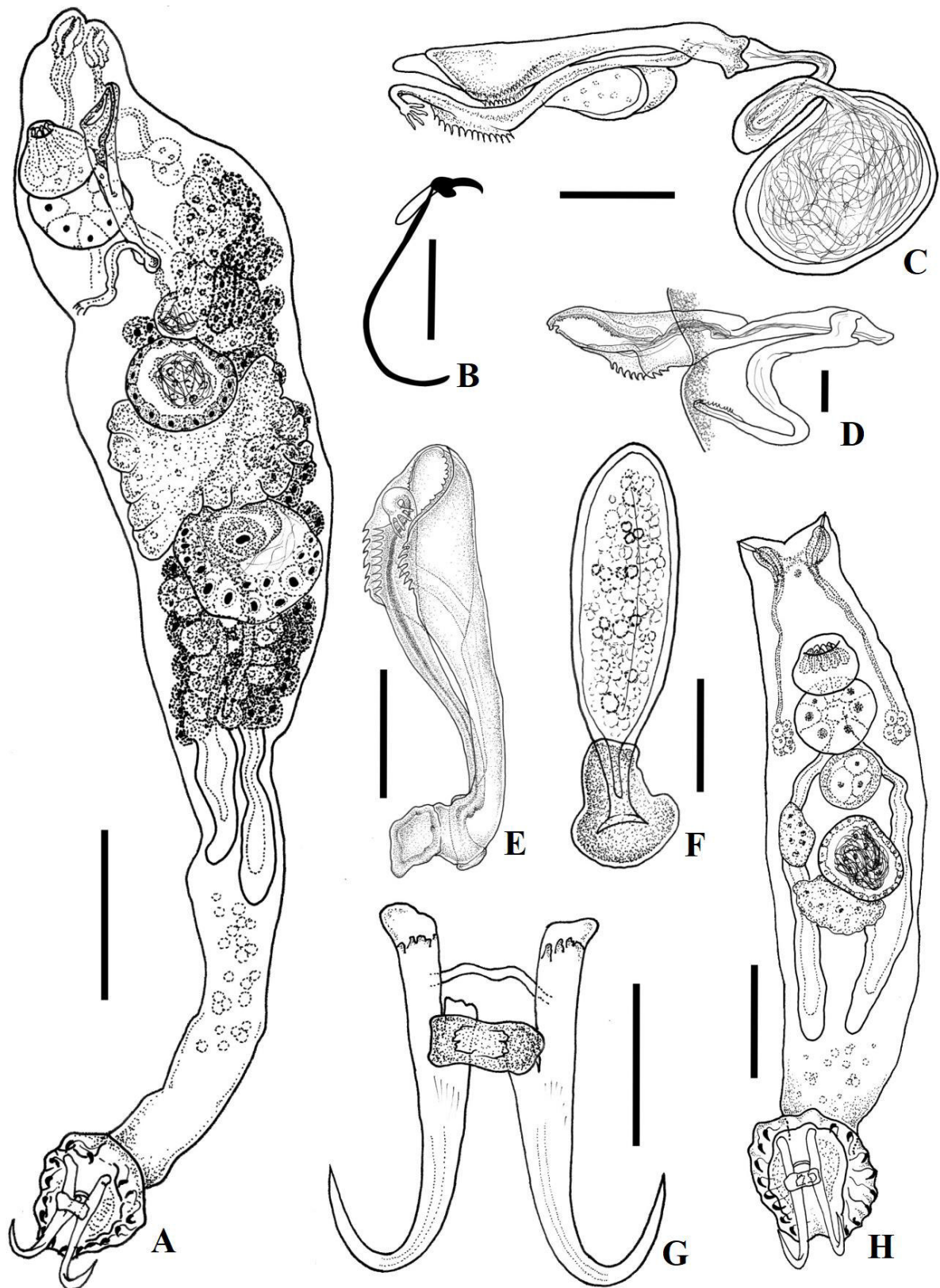


Figura 1. *Aglaiogyrodactylus* sp. n. 1. **A.** Adulto. **B.** Gancho. **C.** Complexo do OCM. **D.** OCM e peças acessórias extrovertidas. **E.** Órgão copulatório masculino. **F.** Ovo. **G.** Complexo de âncora e barras. **H.** Juvenil. Barra de escala: 1= 200 um; 3, 4 e 6 = 10 um; 2, 5 e 7 = 25 um; 8 = 50 um.

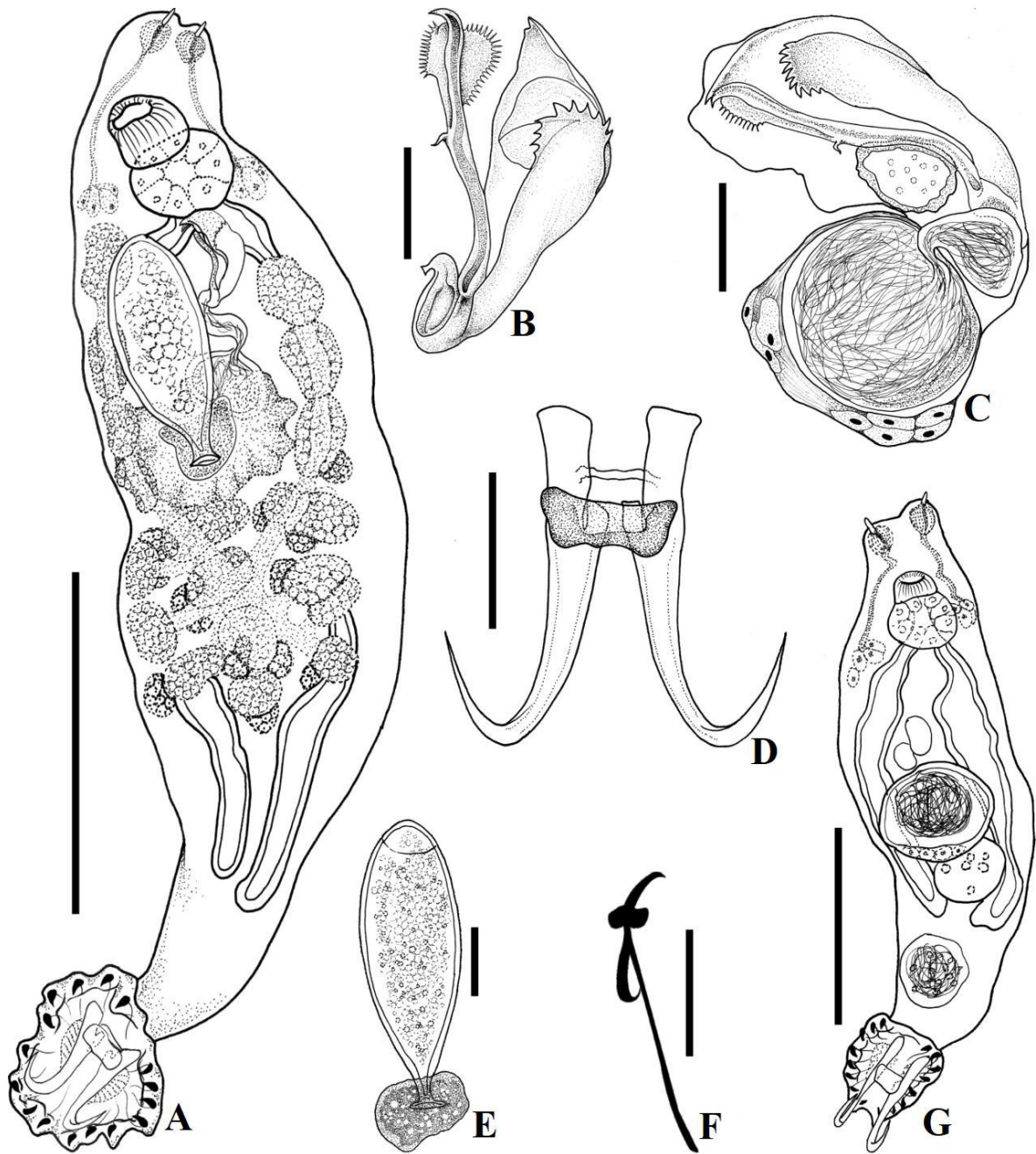


Figura 2. *Aglaiogyrodactylus* sp. n. 2. **A.** Adulto (composite). **B.** Órgão copulatório masculino. **C.** Complexo OCM e peças acessórias. **D.** Complexo de Âncoras e barras. **E.** Ovo. **F.** Gancho. **G.** Juvenil. Barra de escala: 1= 200 um; 2 = 10 um; 3 = 25 um; 4 = 25 um; 5 = 25 um; 6 = 10 um; 7 = 50 um.

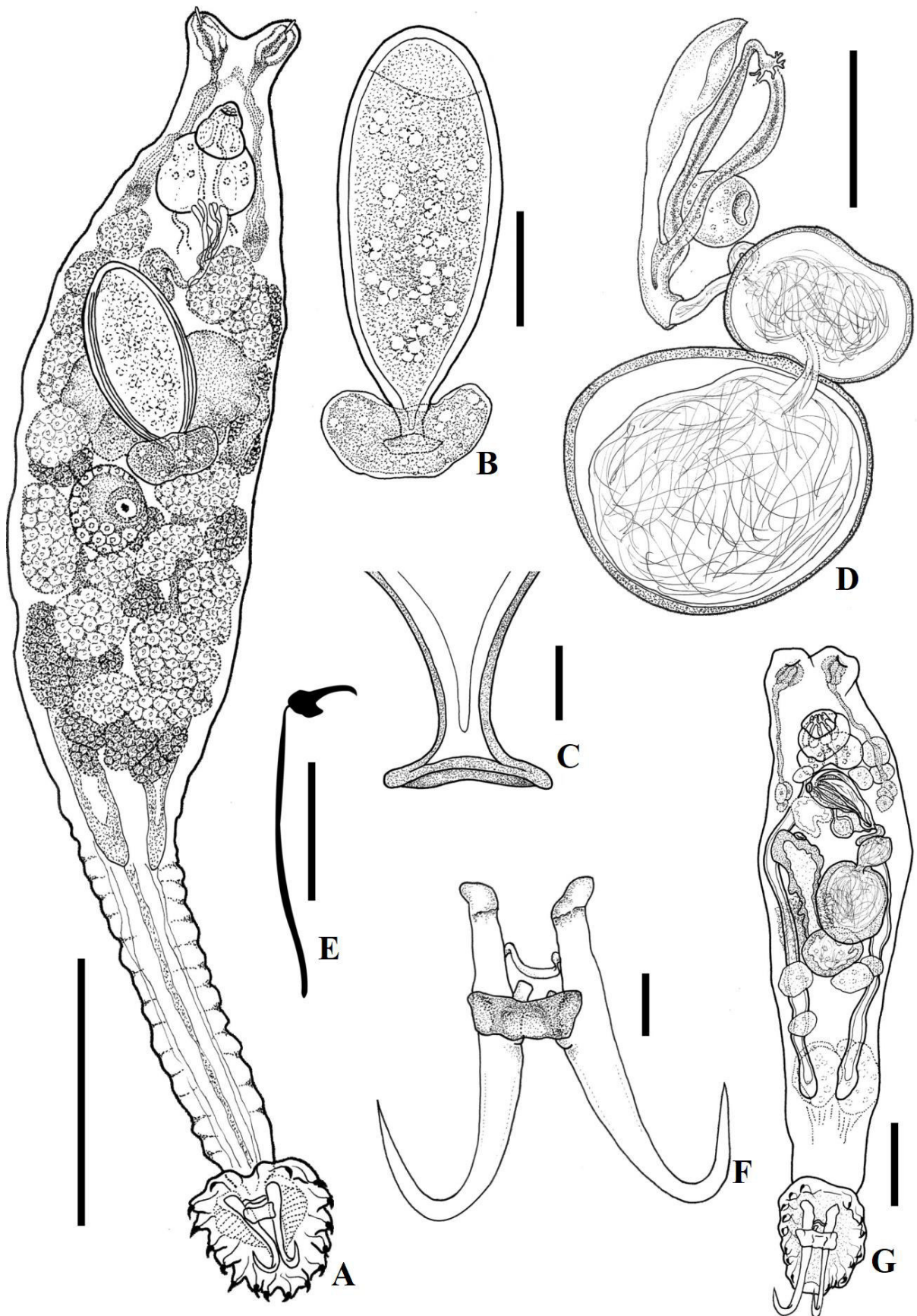


Figura 3. *Aglaiogyrodactylus* sp. n. 3. A. Adulto. B. Ovo. C. Filamento do ovo. D. Complexo OCM e peças acessórias. E. Gancho. F. Complexo de Âncoras e barras. G. Juvenil. Barra de escala: 1. 200 um; 2, 4 e 7 = 10 um; 3 e 5 = 50 um; 6. 25 um.

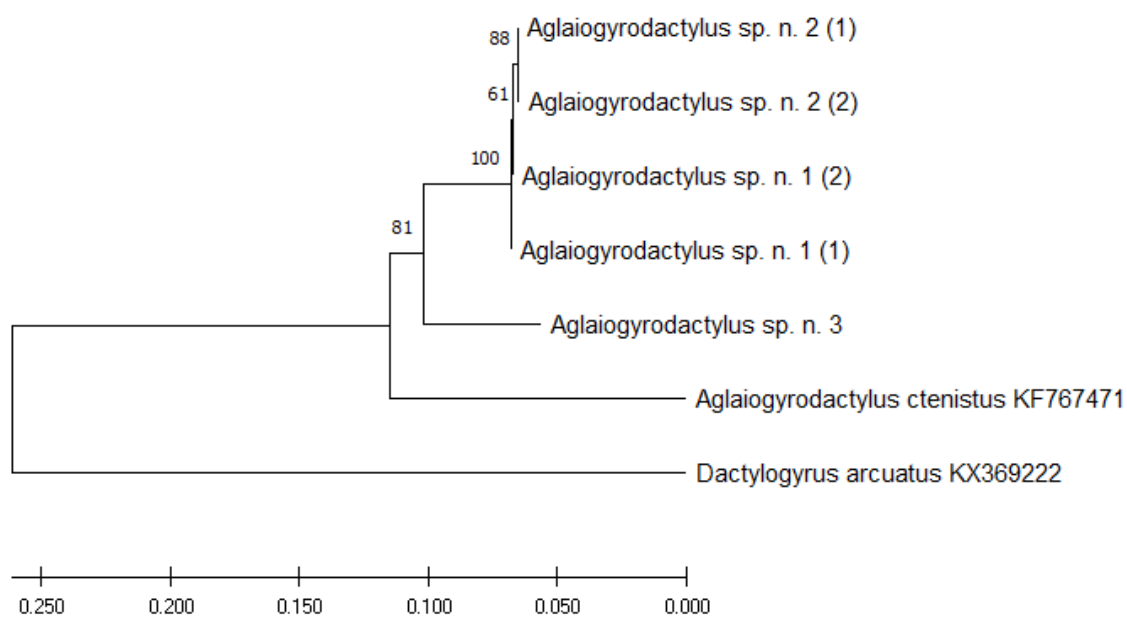


Figura 4. Filograma de NJ de espécies de *Aglaiogyrodactylus*, baseado em ITS rDNA. Valores acima do ramo indicam suporte de bootstrap (n = 1.000).

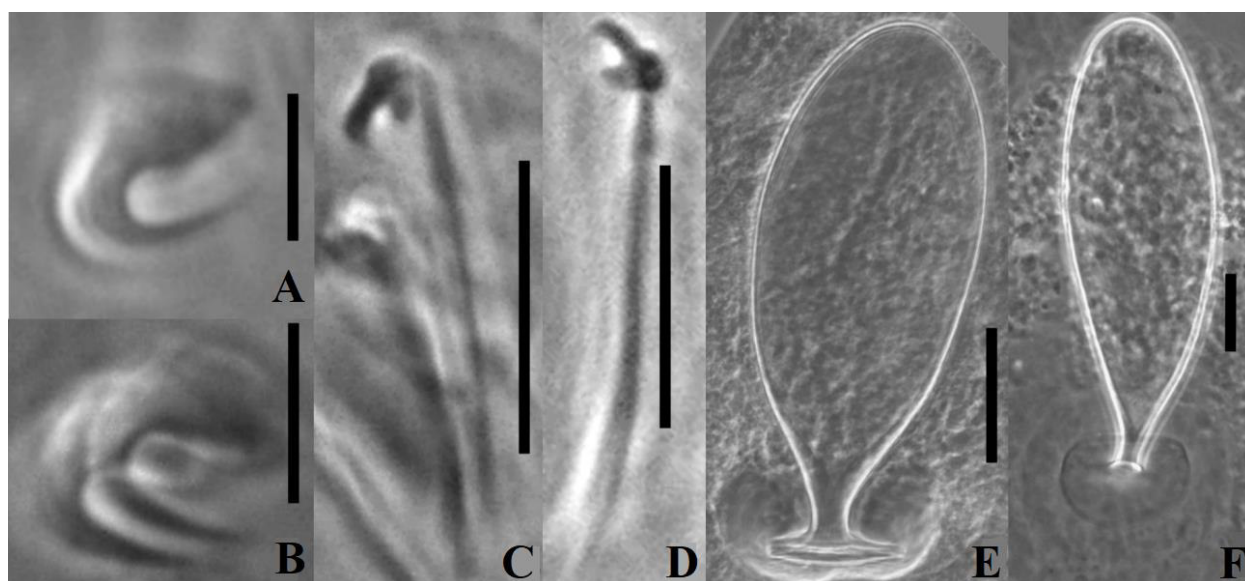


Figura 5. *Phanerothecioides* sp. n. 1: A. Âncora. C. Gancho. E. Ovo. *Phanerothecioides* sp. n. 2: B. Âncora. D. Gancho. F. Ovo. Barra de escala: 1 = 200 um. 2-3 = 10 um. 4 = 5 um. 5-6 = 25 um.

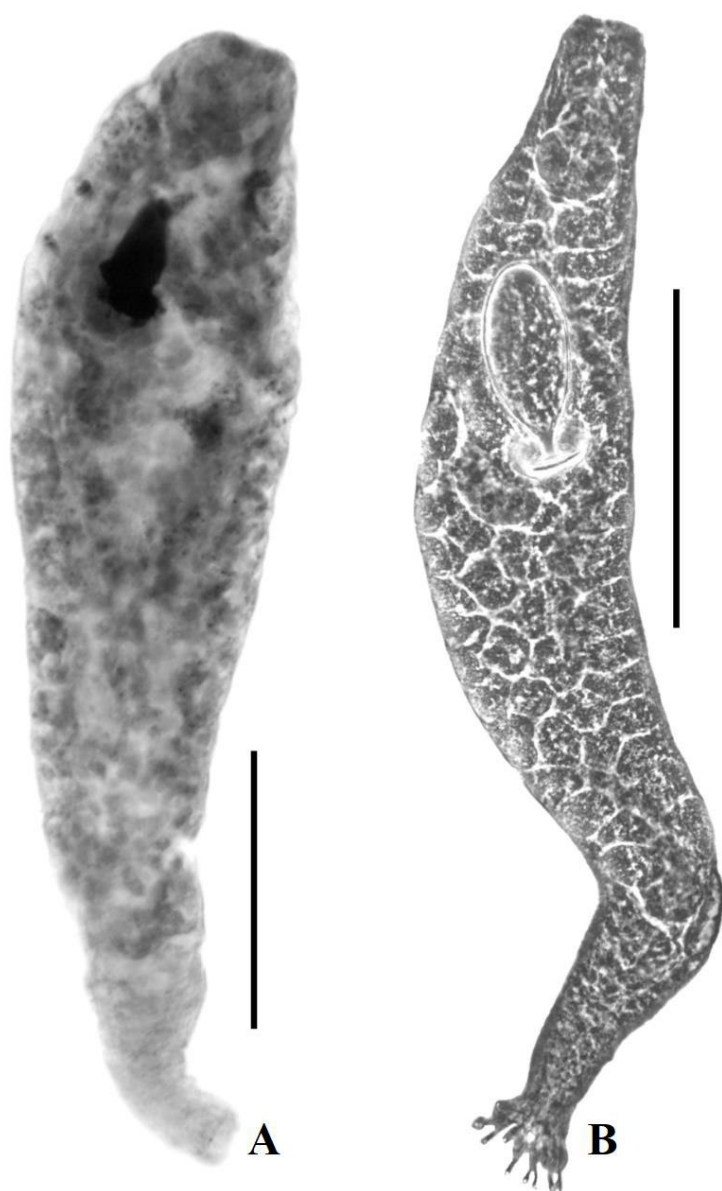


Figura 6. **A.** Jovem de *Phanerothecioides* sp. n. 1; **B.** Adulto de *Phanerothecioides* sp. n. 2. Barra de escala = 200 μ m.

CAPÍTULO 3

Composição da fauna de Gyrodactylidea (Monogenoidea) parasitas de espécies de *Hisonotus* Eigenmann & Eigenmann, 1889 das bacias hidrográficas adjacentes à Lagoa dos Patos, sul do Brasil.³

SABRINA D. BRANCHI^{1,3}, TAINÃ S. GUIMARÃES^{1,3}, LIZANDRA J. ROBE^{2,3} & ROGÉRIO T. VIANNA^{1,3}

¹. *Laboratório de Biologia de Parasitos de Organismos Aquáticos, Universidade Federal do Rio Grande, Instituto de Ciências Biológicas, Rio Grande do Sul, Brasil;*

². *Departamento de Ecologia e Evolução, Universidade Federal de Santa Maria, Brasil*

³. *Programa de Pós-graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos, Universidade Federal do Rio Grande, Instituto de Ciências Biológicas, Rio Grande do Sul, Brasil*

Autor (a) correspondente: sabri_branchi@yahoo.com.br

Resumo

Introdução Gyrodactylidea agrupa Oogyrodactylidae e Gyrodactylidae, entre outras famílias de monogenóideos. À Oogyrodactylidae pertencem espécies ovíparas, parasitas de Siluriformes e com distribuição restrita à Região Neotropical. Já Gyrodactylidae agrupa espécies vivíparas que ocorrem em uma ampla diversidade de hospedeiros, com distribuição mundial. No extremo sul do Brasil, é conhecida apenas uma espécie pertencente à Gyrodactylidae. Assim, devido ao escasso registro de parasitos em uma ictiofauna abundante, é de relevante importância conhecer a fauna de Gyrodactylidae de bacias hidrográficas do extremo sul do Brasil.

Metodologia Espécimes de *Hisonotus* spp. foram coletadas durante 2019 em três bacias hidrográficas adjacentes à Lagoa dos Patos. As espécies de Gyrodactylidae e Oogyrodactylidae foram identificadas a partir de desenhos e fotos, obtidas a partir da confecção de lâminas. As mesmas foram, então, comparadas por análise de cluster baseada em índices parasitológicos de Gyrodactylidea.

Resultados Nas bacias hidrográficas estudadas pertencentes à Região Hidrográfica do Litoral do Rio Grande do Sul, foram encontradas seis espécies de Oogyrodactylidae (quatro de *Aglaiogyrodactylus* e duas espécies de *Phanerothecioides*) e uma de Gyrodactylidae (pertencente

³ Manuscrito preparado de acordo com o Guia de Autores da Acta Parasitologica

a *Gyrodactylus*). Somente espécimes de *Gyrodactylus* **sp. n. 1** foram encontradas em mais de uma bacia. Cada espécie de *Aglaiogyrodactylus* ocorrem em bacias distintas. No entanto, *Aglaiogyrodactylus* **sp. n. 3** e *Aglaiogyrodactylus pedunculatus* coocorrem na bacia do Rio Camaquã. Todas as espécies de *Aglaiogyrodactylus* possuem distribuição uniforme nos hospedeiros. A análise de cluster demonstra semelhança da fauna parasitária entre duas bacias das três bacias.

Conclusões Mesmo que próximas, as bacias avaliadas possuem faunas de Gyrodactylidea distintas. Esta diversificação pode estar associada ao histórico das relações parasita/hospedeiro ou à própria história de formação da Planície Costeira. Estima-se que milhares de espécies pertencentes à Gyrodactylidea ainda são desconhecidas. A diversidade de Gyrodactylidea encontrada neste estudo, somada aos registros da literatura, indicam que a ampliação da área de estudo possibilitará o conhecimento de potenciais novas espécies pertencentes a Gyrodactylidea, tanto em hospedeiros Siluriformes, como em outras ordens.

Palavras-chave: *Aglaiogyrodactylus*, Região Hidrográfica do Litoral, *Gyrodactylus*, *Phanerothecioides*

Aprovação ética: A amostragem, captura e transporte dos espécimes foram realizadas com licença aprovada pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBIO) por meio do Sistema Brasileiro de Informação e Autorização sobre Biodiversidade (SISBIO; nº 445582). Todos os procedimentos envolvendo animais seguiram as normas éticas do Comitê de Ética em Pesquisa em Experimentação Animal da Universidade Federal do Rio Grande (CEUA-FURG; nº Pq 016/019).

INTRODUÇÃO

Os parasitas vêm sendo reconhecidos como um importante componente da biodiversidade global, sendo que entre 30 e 50% da biodiversidade conhecida pode ser classificada dentro destes grupos [1-4]. Estes organismos são importantes agentes para a compreensão das relações ecológicas, taxonômicas, filogenéticas e evolutivas em diferentes táxons [5]. Devido a estes fatores, é de relevante importância identificar pontos de alta ou baixa ocorrência de parasitas nos ecossistemas naturais [5,6].

Dentre os Gyrodactylidea existem famílias com espécies marinhas e ovíparas (Acanthocotylidae, Anoplodiscidae, Bothitrematidae, Tetraonchoididae e Udonellidae), de água doce e ovíparas (Ooggyrodactylidae) e de água doce, estuarina, marinha e vivípara

(Gyrodactylidae) [7-9]. Dentro deste contexto, existem mais de 580 espécies de Gyrodactylidea, dentre as quais, Gyrodactylidae constitui a família mais diversa, com mais de 550 espécies, distribuídas em 25 gêneros (citação). Em outro extremo, Oogyrodactylidae se destaca como uma família pequena, contendo apenas 23 espécies válidas, distribuídas em oito gêneros (citação).

Gyrodactylidae tem distribuição mundial e parasitam uma ampla diversidade de hospedeiros, entre anfíbios, moluscos, e, principalmente, peixes. No entanto, primeiros registros da família em loricarídeos ocorreram recentemente. *Gyrodactylus anaspidus* Vianna e Boeger, 2019 foi descrita parasitando *Pareioraphis parmula* Pereira (Loricariidae) [10] e *Gyrodactylus* sp. n. está sendo descrita para *Hisonotus laevior* Cope (Loricariidae) (ver Capítulo 1- nesse estudo). *Gyrodactylus* é o gênero mais diverso da família, com cerca de 500 espécies válidas [11-15] que ocorrem em principalmente em hospedeiros Characiformes, Cyprinodontiformes, Perciformes, Salmoniformes e Siluriformes [10,12,13].

Oogyrodactylidae tem distribuição restrita à região Neotropical e parasitam, principalmente, hospedeiros Loricariidae (Siluriformes) [9]. De fato, registros em Pimelodidae e Trycomycteridae foram considerados acidentais [11,16,29]. *Aglaiogyrodactylus* Kritsky, Vianna e Boeger, 2007 é o gênero mais rico em espécies entre os Oogyrodactylidae, com oito espécies conhecidas [16]. Os registros de Oogyrodactylidae indicam que pode existir especificidade relativa às subfamílias de Loricariidae [7,16,26-29]. De fato, espécies de *Atopogyrodactylus*, *Nothogyrodactylus*, *Onychogyrodactylus*, *Phanerothecium* e *Phanerothecioides* parasitam hospedeiros Hypostominae [16, 26-28], enquanto espécies de *Oogyrodactylus* e *Hyperopletes* parasitam espécies de Loricariinae [7, 27]. As espécies de *Aglaiogyrodactylus* são as únicas que ocorrem em mais de uma subfamília, ocorrendo em Neoplecostominae e Hypoptopomatinae [16, 29].

Através de uma estimativa mundial sobre os possíveis hospedeiros de Gyrodactylidae + Oogyrodactylidae, é sugerido que sejam conhecidas apenas 2% das possíveis 20 mil espécies de Gyrodactylidea[11]. Neste âmbito, o registro de novas espécies de Gyrodactylidea na região Neotropical, indica que esta possa ser a região mais rica e diversa do mundo para estes parasitoas [16-20]. Entretanto, no Brasil são registradas apenas 14 espécies de *Gyrodactylus*, descritas em hospedeiros Characiformes, Perciformes e Siluriformes [10, 21-25]. No estado do Rio Grande do Sul, é conhecida uma única espécie de Gyrodactylidae, *Gyrodactylus lilianae* Razzolini, Murari, Baldisserotto e Boeger, 2019 em cultivo de *Rhamdia quelen* (Heptapteridae, Siluriformes) [25].

Entre os gêneros de Hypoptopomatinae, *Hisonotus* é o mais rico em espécies [30-33]. *Hisonotus* inclui pequenos peixes, encontrados associados a vegetações marginais de corpos de água doce e sua distribuição se dá nas drenagens cis-andinas da América do Sul, Venezuela e ao

norte da Argentina [31,34]. Na Lagoa dos Patos é registrada a ocorrência de 12 espécies de *Hisonotus*, entretanto apenas sete (*Hisonotus armatus*, *H. brunneus*, *H. charrua*, *H. laevior*, *H. nigricauda*, *H. notopagos* e *H. taimensis*) ocorrem nas bacias da Região Hidrológica do Litoral que possuem ligação com a Lagoa dos Patos [30, 36].

Conforme o Artigo 38 da Lei Estadual 10.350/1994 e do decreto N°53.885 de 2018, a planície costeira do Rio Grande do Sul, abarca cinco bacias hidrográficas que formam a Região Hidrográfica do Litoral. Porém, destas cinco bacias, apenas três possuem ligação com a Lagoa dos Patos: Bacia do Litoral Médio, Bacia da Lagoa Mirim e do Canal São Gonçalo e a Bacia do Rio Camaquã (Figura 1) [36, 37]. Assim, este estudo visa contribuir para a compreensão da diversidade e dos padrões de distribuição de espécies de Gyrodactylidae e Oogydactylidae parasitas de *Hisonotus* spp. (Loricariidae, Siluriformes) ao longo de três bacias hidrográficas adjacentes à Lagoa dos Patos, pertencentes à Região Hidrográfica do Litoral, no extremo sul do Brasil.

MATERIAIS E MÉTODOS

Em 2019 foram realizadas coletas em diferentes pontos da região Hidrográfica do Litoral, no Rio Grande do Sul, compreendendo rios e riachos pertencentes à Bacia do Litoral Médio (BLM), à Bacia da Lagoa Mirim e do Canal São Gonçalo (BLMSG) e à Bacia do Rio Camaquã (BRC) (Tabela 1, Figura 2). Espécimes de *Hisonotus* foram coletadas com auxílio de puçá e peneira, anestesiados com solução alcoólica de Eugenol (110mg L⁻¹) [38], com posterior eutanásia com Eugenol (400mg L⁻¹). Os hospedeiros foram acondicionados individualmente em recipientes com água quente (70°C) e vigorosamente agitados, para que os parasitas soltassem do corpo do hospedeiro. Após, foi acrescido etanol 96% para caracterização morfológica dos parasitos. Mapas foram confeccionados utilizando o programa QGIS v 3.16.0 [42].

A superfície corporal e as brânquias dos hospedeiros foram investigadas, os parasitos encontrados foram separados sob lupa, montados em meio de Hoyer ou em Gray e Wess, ou corados com tricrômico de Gomori e montados em Bálsamo do Canadá [39], para posterior caracterização morfológica. A identificação dos espécimes foi realizada a partir de desenhos e fotos, obtidas em microscópio Olympus CX41 com contraste de fase e câmera Olympus DP73.

Os índices de Intensidade Média de Infecção (IMI), Abundância Média (AM) e Prevalência (P%) foram calculados para cada espécie parasita [40]. Para definir os padrões de distribuição das espécies de Gyrodactylidae parasitas de *Hisonotus* spp, foi feito o teste de distribuição ($S^2/\bar{X}$), onde S^2 é a variância da amostra e $\bar{X}$ a média dos valores amostrados. Quando o valor de $S^2/\bar{X}$ é maior do que 1, diz-se que a distribuição é agregada; quando $S^2/\bar{X}$ é

próximo a 1, diz-se que a distribuição é aleatória; quando $S^2/\bar{X}$ é menor do que 1, diz-se que a distribuição é uniforme [41].

A análise de cluster foi realizada a partir do valor total de parasitos de uma espécie em cada bacia, a fim de visualizar quais bacias hidrográficas são similares, em relação a comunidade de Gyrodactylidae. A análise foi executada no software R, a partir de dados padronizados, onde o valor padrão foi obtido através da subtração da média e divisão pelo desvio padrão, assim, cada variável tem média zero e desvio padrão igual a um, do total de parasitos de cada espécie encontrados em cada bacia hidrográfica e do cálculo da distância euclidiana. A fim de visualizar quais bacias hidrográficas são similares, em relação à comunidade de Gyrodactylidae.

RESULTADOS

Na BLM foram realizadas coletas em São José do Norte (5 pontos) e Tavares (1 ponto). No entanto, apenas em São José do Norte foram encontrados espécimes de *Hisonotus* sp. (n= 15). Na BLMSG as coletas foram realizadas em Arroio Grande (3 pontos), Pedro Osório (2 pontos) e Rio Grande (4 pontos). Na cidade de Arroio Grande foram coletados 32 espécimes de *Hisonotus* sp., em Pedro Osório 6 espécimes e em Rio Grande 119 espécimes. Na BRM foram realizadas coletas na cidade de Cristal (2 pontos), onde foram coletados 25 espécimes de *Hisonotus* sp. (Tabela 1, Figura 2).

Na superfície corporal dos hospedeiros foram encontradas seis espécies de Oogryodactylidae (quatro de *Aglaioogyrodactylus* e duas de *Phanerothecioides* - ver Capítulo 2) e uma de Gyrodactylidae (*Gyrodactylus* sp. n. 1 - ver capítulo 1).

A composição da fauna de Gyrodactylidae na BLM ficou restrita à presença de *Gyrodactylus* sp. n. 1, enquanto na BLMSG a fauna foi composta por *Gyrodactylus* sp. n. 1, *Aglaioogyrodactylus* sp. n. 1, *Aglaioogyrodactylus* sp. n. 2 e *Phanerothecioides* sp. n. 1 (Figura 3). A fauna de parasitos da BRC foi composta por *Aglaioogyrodactylus* sp. n. 3, *Aglaioogyrodactylus pedunculatus* e *Phanerothecioides* sp. n. 2 (Figura 3). Coocorrências foram encontradas entre *Gyrodactylus* sp. n. 1 e *Aglaioogyrodactylus* sp. n. 1 (BLMSG), *Aglaioogyrodactylus* sp. n. 2 e *Phanerothecioides* sp. n. 1 (BLMSG), *Aglaioogyrodactylus* sp. n. 3, *A. pedunculatus* e *Phanerothecioides* sp. n. 2 (BRC) (Figura 3).

Gyrodactylus sp. n. 1 da BLM, *Aglaioogyrodactylus* sp. n. 2 da BLMSG e *Aglaioogyrodactylus* sp. n. 3 da BRC apresentaram prevalência de 100%. Por outro lado, *A. pedunculatus*, *Aglaioogyrodactylus* sp. n. 1, *Phanerothecioides* sp. n. 1 e *Phanerothecioides* sp. n. 2, apresentaram valores menores de prevalência (entre 75 e 18%) (Tabela 2). No ponto em que houve coocorrência de *Aglaioogyrodactylus* sp. n. 3 e *A. pedunculatus*, a prevalência de

Aglaiogyrodactylus **sp. n. 3** foi menor em comparação com o ponto de amostragem em que somente esta espécie foi encontrada (Tabela 2). *Gyrodactylus* **sp. n. 1** da BLM apresentou o maior valor de IMI (26,4), onde em apenas cinco hospedeiros foram coletados 132 espécimes de parasitas. Já *Gyrodactylus* **sp. n. 1** da BLMSG apresentou um IMI de 2,23, onde 85 espécimes de parasitas estavam distribuídos em 38 hospedeiros.

Para o cálculo da distribuição dos parasitas em *Hisonotus* spp., a variância foi menor que a média ($S^2 < \bar{X}$) somente para as espécies de *Phanerothecioides*, tendo assim, distribuição aleatória. Entre as espécies de *Aglaiogyrodactylus* e *Gyrodactylus* **sp. n. 1** a variância foi maior que a média ($S^2 > \bar{X}$), indicando que as espécies destes gêneros, possuem distribuição agregada.

O dendrograma gerado a partir na análise de clusters, demonstra que a fauna de Gyrodactylidea da BLMSG e da BLM possui maior similaridade, quando comparado à BRC (Figura 4).

DISCUSSÃO

As regiões hidrológicas do Rio Grande do Sul foram instituídas com o objetivo de buscar soluções para a crise da água, a partir do estabelecimento de comitês de gerenciamento. O estado do Rio Grande do Sul foi subdividido em três regiões hidrológicas: do Guaíba, Litorânea e Uruguai. Cada região hidrológica desagua num corpo de água único, as águas da região do Guaíba desaguam no Lago Guaíba, as águas da região Litorânea desaguam na Lagoa dos Patos e as águas da região do Uruguai desaguam no Rio Uruguai [37, 43, 44].

A região Hidrográfica do Litoral abrange 13% do estado do Rio Grande do Sul, sendo a menor região hidrográfica [37]. Entretanto, esta é a única região hidrográfica do estado onde há registro de Gyrodactylidae [25]. Agora, a diversidade de Gyrodactylidea da região Hidrológica do Litoral é acrescida de uma espécie de Gyrodactylidae (*Gyrodactylus* **sp. n. 1**), e seis espécies pertencentes a Oogyrodactylidae (*Aglaiogyrodactylus* **sp. n. 1**, *Aglaiogyrodactylus* **sp. n. 2**, *Aglaiogyrodactylus* **sp. n. 3**, *A. pedunculatus*, *Phanerothecioides* sp. 1 e *Phanerothecioides* sp. 2) (ver Capítulos 1 e 2). Este número é extremamente significativo, uma vez que, até 2020, apenas uma espécie de Gyrodactylidae era conhecida para o estado [25].

O aumento do número de descrições de espécies a região sul do Brasil possa acrescer o conhecimento de Oogyrodactylidae + Gyrodactylidae na região Neotropical. Além disso, as espécies descritas nesta região foram encontradas, em sua maioria, em regiões litorâneas [16-20]. Os registros de Oogyrodactylidae + Gyrodactylidae em regiões litorâneas indicam que a hipótese de que espécies de Gyrodactylidea colonizaram ambientes de água doce a partir de um ancestral marinho, que invadiu águas continentais pode ser corroborada [12]. Assim, é possível que as

espécies de Gyrodactylidea ainda estejam em processo de colonização das águas continentais [12,17,19,28]. Portanto, é provável que no Rio Grande do Sul ainda exista uma grande diversidade de Gyrodactylidea desconhecida. Ainda, e não menos importante a ser considerado, é que a maior ocorrência de espécies em regiões litorâneas, pode ser consequência da maior concentração de pesquisadores nestas regiões. Marques & Lamas (2006) [46] afirmam que o Brasil sofre do que é chamado de “impedimento taxonômico”. Este impedimento é dado, devido a escasses de sistematas e somado a intensa destruição de ambientes, resulta em impedimento do conhecimento da diversidade.

As espécies de *Aglaiogyrodactylus* conhecidas até o momento (*A. calamus*, *A. coneii*, *A. ctenistus*, *A. forficulatus*, *A. forficuloides*, *A. guttus*, *A. pedunculatus* e *A. salebrosus*) ocorrem no estado do Paraná [16] e foram descritas em duas bacias hidrográficas distintas. *Aglaiogyrodactylus forficulatus*, *A. pedunculatus*, *A. guttus* e *A. forficuloides* foram descritas na Bacia Litorânea, enquanto *A. salebrosus*, *A. coneii* e *A. ctenistus* foram descritas na Bacia do Rio Iguaçu [16]. Espécies da Bacia litorânea foram descritas parasitando diferentes espécies de Loricariidae, no entanto, aquelas da Bacia do Rio Iguaçu foram registradas no mesmo hospedeiro e em simpatria [16].

Entretanto, Patella et al. (2017) [29] encontraram todas as espécies de *Aglaiogyrodactylus*, exceto *A. salebrosus* e *A. coneii*, no Rio Marumbi, que está situado na Bacia Litorânea. Ainda, os autores citam que as espécies de *Aglaiogyrodactylus* eram compartilhadas entre 2-5 espécies de diferentes gêneros de Ancistrinae, Hypoptopomatinae, Neoplecostominae e Loricariinae (Loricariidae). As espécies de *Aglaiogyrodactylus* encontradas nas bacias da região Litorânea do Rio Grande do Sul seguem o padrão de coocorrência observado por Patella et al. (2017) [29], pois *Aglaiogyrodactylus* **sp. n. 3**, *A. pedunculatus* e *Phanerothecioides* **sp.** coocorrem na BRC, mesmas relações são observadas entre *Aglaiogyrodactylus* **sp. n. 1** e *Gyrodactylus* **sp. n. 1**, *Aglaiogyrodactylus* **sp. n. 2** e *Phanerothecioides* **sp. 1** na BLMSG.

Phanerothecioides é um gênero monotípico, contendo apenas *Phanerothecioides agostinhoi* Kritsky, Vianna e Boeger, 2007 que pode ser encontrada em hospedeiros Loricariidae e Pimelodidae [16]. Os hospedeiros Pimelodidae, no entanto, são considerados acidentais, pois não foram encontrados espécimes adultos neste peixe. De acordo com Kritsky et al. (2007) [16], isso sugere uma possível troca de hospedeiro por esta espécie entre os hospedeiros, já que ambos compartilham o mesmo ambiente [16]. Ainda, *P. agostinhoi* foi registrado em *Hypostomum* spp. em coocorrência com *Phanerothecium spinatoides* Kritsky, Vianna e Boeger, 2007 em *Hypostomum* **sp. 7** [16]. No presente estudo, espécimes de *Phanerothecioides* foram encontrados em duas diferentes bacias, na BLMSG e na BRC, e em ambas, em coocorrência com

espécies de *Aglaigyrodactylus*, em espécimes de *Hisonotus* spp. Esse registro caracteriza um novo hospedeiro para espécies de *Phanerothecioides*, e expande o número de espécies deste gênero.

Diferente das espécies de Oogyroductylidae que ocorrem quase exclusivamente em hospedeiros Loricariidae, as espécies de Gyrodactylidae ocorrem em uma ampla diversidade de hospedeiros [9,12]. Entretanto, em hospedeiros Loricariidae é conhecida apenas *G. anaspidus* descrita formalmente no estado do Paraná, e agora nesse estudo, a descrição de *Gyrodactylus* **sp. n. 1**. No Rio Grande do Sul, foram registradas apenas *Gyrodactylus* **sp. n. 1** (ver Capítulo 1) e *G. lilianae* [25] em Siluriformes, ambas com ocorrência na BLMSG. No entanto, existem evidências de que mais espécies de *Gyrodactylus* ocorram neste estado. Mentz *et al.* (2016) [47] encontraram espécimes de *Gyrodactylus* em *Mugil liza* Valenciennes, 1836 do estuário de Tramandaí; porém, estes não foram identificados em nível específico. O estuário de Tramandaí também é localizado na Bacia do Litoral Médio (BLM), mas não possui ligação com a Lagoa dos Patos. Isso indica que registros de ocorrência de espécies de *Gyrodactylus* são subestimados e que novos registros podem ocorrer no Rio Grande do Sul.

Distribuição da diversidade

Patella *et al.* (2017) [29] identificaram que os índices parasitológicos observados entre as associações de hospedeiros Loricariidae e espécies de *Aglaigyrodactylus*, representam um possível processo recente de adaptação parasita/hospedeiro. Devido ao fato de que os valores de abundância obtidos para cada espécie de *Aglaigyrodactylus* não estavam distribuídos de forma uniforme entre as espécies hospedeiras. As espécies de *Aglaigyrodactylus* encontradas neste estudo, também não apresentam distribuição uniforme e sim, distribuição agregada. A Planície Costeira do Rio Grande do Sul, onde está situada a região Hidrográfica do Litoral, teve sua última formação durante o Holoceno, há cerca de 5ka, como resultado da última transgressão pós-glacial [45]. A recente formação da região litorânea, associado ao modelo de distribuição das espécies de *Aglaigyrodactylus*, indica um possível processo recente de adaptação parasita/hospedeiro, assim como o observado por Patella *et al.* (2017) [29].

A análise de clusters demonstra que a BLMSG e a BLM são mais similares em relação à diversidade de Gyrodactylidea, do que nas comparações com BRC (Figura 4). Entretanto, a BLMSG e a BLM compartilham apenas *Gyrodactylus* **sp. n. 1**. Tal diferenciação da assembleia de Gyrodactylidea entre as bacias indica uma possível diversificação desses parasitos ao longo da formação da Planície Costeira e, consequentemente, da Lagoa dos Patos. Testes realizados com *Gyrodactylus gastorostei* Gläser, 1974 de *Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, 1758 (Gasterosteiformes), sugerem que a espécie parasita é mais adaptada às populações hospedeiras

locais do que a genótipos específicos de outras localidades [48]. Este fator pode auxiliar na compreensão de que cada bacia hidrográfica possua sua própria fauna de Gyrodactylidea. Esta diferenciação de assembleias também pode ser explicada pelo fato de que as espécies de Oogyrrodactylidae possuem uma dispersão limitada, devido à presença de ovos tipo adesivo [12]. Que precisam de características morfológicas e biológicas específicas dos hospedeiros para se instalarem. Dentre deste contexto, é interessante notar que a única espécie compartilhada entre bacias pertence a Gyrodactylidae, cujas espécies apresentam maiores habilidades de dispersão [12].

Por fim, como Siluriformes representam a ordem mais rica em espécies do Rio Grande do Sul, com cerca de 42% da ictiofauna [48], é bastante razoável que outras novas espécies de Gyrodactylidea ainda possam ser encontrados nos hospedeiros desta ordem. De fato, a Região Hidrográfica do Litoral, e demais regiões ainda inexploradas, possuem grande potencial de registro de novas espécies de Gyrodactylidea. A adição de estudos que buscam identificar a diversidade de espécies de Gyrodactylidea, só tendem a contribuir com o conhecimento global da diversidade parasitária. Isso é particularmente relevante porque apenas a ampliação dos registros em diferentes bacias hidrográficas podem lançar uma visão mais robusta acerca dos padrões de distribuição e da diversidade de parasitas. Por hora, o padrão que emerge é que diferentes bacias, mesmo que próximas, podem apresentar diferentes faunas de Gyrodactylidea.

CONFORMIDADE COM AS NORMAS ÉTICAS

A amostragem e a pesca científica foram realizadas com a licença aprovada pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBIO) por meio do Sistema Brasileiro de Informação e Autorização sobre Biodiversidade (SISBIO; nº 445582). Todos os procedimentos envolvendo animais seguiram as normas éticas do Comitê de Ética em Pesquisa em Experimentação Animal da Universidade Federal do Rio Grande (CEUA-FURG; nº Pq008/2019).

AGRADECIMENTOS

Somos gratos a Aline A. Fonseca, Daniela J. Binow e Letícia M. Linder pelo auxílio em coletas de campo e processamentos. À Universidade Federal do Rio Grande por subsidiar as saídas de campos. A Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos à Sabrina D. Branchi.

REFERÊNCIAS

1. Price PW (1980) Evolutionary Biology of Parasites. Princeton, New Jersey.
2. Windsor DA (1998) Most of the species on Earth are parasites. Int J Parasitol 28:1939-1941.
3. de Meeûs T, Renaud F (2002) Parasites within the new phylogeny of eukaryotes. Trends Parasitol 18: 247-251.
4. Poulin R, Morand S (2004) Parasite Biodiversity. Aitkens F (ed) The Diversity of Parasites, 1rd. Smithsonian, Washington, pp 1-17.
5. Brooks DR, Hoberg EP (2001) Parasite systematics in the 21st century: opportunities and obstacles. Trends in Parasitol 17: 273-275. [https://doi.org/10.1016/S1471-4922\(01\)01894-3](https://doi.org/10.1016/S1471-4922(01)01894-3)
6. Brooks DR, Hoberg EP (2000) Triage for the biosphere: The need and rationale for taxonomic inventories and phylogenetic studies of parasites. Comp Parasitol 68:1-25.
7. Harris PD (1983) The morphology and life-cycle of the oviparous *Oogyrodactylus farlowellae* gen. et sp.nov. (Monogenea, Gyrodactylidae). Parasitology 87:405-420. <https://doi.org/10.1017/S0031182000082937>
8. Kristky DC, Boeger WA (2003) Taxonomy, ecology and evolution of metazoan parasites. In: Combes C, Jourdan J (ed). Phylogeny of the Gyrodactylidae and the phylogenetic status of *Gyrodactylus* Nordmann, 1832 (Platyhelminthes: Monogeneoidea). Tome II. Combes C. and Jourdan J. (eds). Perpignan, France. pp 37-58.
9. Boeger AB, Kritsky DC, Patella L, Bueno-Silva M (2020) Phylogenetic status and historical origins of the oviparous and viviparous gyrodactylids (Monogeneoidea, Gyrodactylidae). Zool Scr 00:1-13. <https://doi.org/10.1111/zsc.12455>
10. Vianna RT, Boeger WA (2019) Neotropical Monogeneoidea. 60. Two new species of *Gyrodactylus* (Monogeneoidea: Gyrodactylidae) from the armored-catfish, *Pareiorhaphis parmula* Pereira (Loricariidae) and from the cascarudo, *Callichthys callichthys* (Linnaeus) (Callichthyidae) from Brazil. Zootaxa 4551 (1):87-93. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4551.1.6>
11. Bakke TA, Harris PD, Cable J (2002) Host specificity dynamics: observations on gyrodactylid monogeneans. Int J Parasitol 32:281-308. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(01\)00331-9](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(01)00331-9)
12. Boeger WA, Kritsky DC, Pie MR (2003) Contexto f diversification of the viviparous Gyrodactylidae (Platyhelminthes, Monogeneoidea). Zool Scr 32:437-448. <https://doi.org/10.1046/j.1463-6409.2003.00130.x>

13. Harris PD, Shinn AP, Cable J, Bakke TA (2004) Nominal species of the genus *Gyrodactylus* von Nordmann 1832 (Monogenea: Gyrodactylidae), with a list of principal host species. *Syst Parasitol* 59:1-27. [https://doi.org/ 10.1023/B:SYPA.0000038447.52015.e4](https://doi.org/10.1023/B:SYPA.0000038447.52015.e4)
14. Shinn AP, Harris PD, Bakke TA, Paladini G, Bron JE (2011) GyroDb. World Wide Web electronic publication. (<http://www.gyrodb.net>)
15. Heglasová I, Nezhybová V, Prikrylová I (2018) Na amended description of two *Gyrodactylus* species (Platyhelminthes: Monogenea) parasitizing Antarctic Notothenioid fish. *J Helminthol* 94:1-9. <https://doi.org/10.1017/S0022149X18001098>
16. Kritsky DC, Vianna RT, Boeger WA (2007) Neotropical Monogenoidea. 50. Oviparous gyrodactylids from loricariid and pimelodid catfishes in Brazil, with the proposal of *Phanerothecioides* n. g., *Onychogyrodactylus* n. g. and *Aglaigyrodactylus* n. g. (Polyonchoinea: Gyrodactylidea). *Syst Parasitol* 66:1-34. [http://doi.org/ 10.1007/s11230-006-9053-7](http://doi.org/10.1007/s11230-006-9053-7).
17. Rubio-Godoy M, Paladini G, García-Vásquez A, Shinn AP (2010) *Gyrodactylus jarocho* sp. nov. and *Gyrodactylus xalapensis* sp. nov. (Platyhelminthes: Monogenea) from Mexican poeciliids (Teleostei: Cyprinodontiformes), with comments on the known gyrodactylid fauna infecting poeciliid fish. *Zootaxa* 2509:1-29. <http://doi.org/10.5281/zenodo.196033>
18. Kritsky DC, Boeger WA, Mendonza-Franco E, Vianna RT (2013) Neotropical Monogenoidea. 57. Revision and phylogenetic position of *Scleroductus* Jara & Cone, 1989 (Gyrodactylidae), with descriptions of new species from the Guatemalan chulin *Rhamdia guatemalensis* (Günther) (Siluriformes: Heptapteridae) in Mexico and barred sorubim *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus) (Siluriformes: Pimelodidae) in Brazil. *Syst Parasitol* 84:1-15. <http://doi.org/10.1007/s11230-012-9387-2>
19. García-Vásquez A, Razo-Mendivil U, Rubio-Godoy M (2015) Morphological and molecular description of eight new species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 (Platyhelminthes: Monogenea) from poeciliid fishes, collected in their natural distribution range in the Gulf of Mexico slope, Mexico. *Parasitol Res* 114:3337-3355. <http://doi.org/10.1007/s00436-015-4559-z>
20. Mendoza-Palmero CA, Blasco-Costa I, Pérez-Ponce GL (2019) Morphological and molecular characterisation of a new species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 (Monogenoidea: Gyrodactylidae) of cichlid fishes (Perciformes) from Mexico. *Parasitol Int* 70:102-111. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2019.02.009>
21. Boeger WA, Popazoglo F (1995) Neotropical Monogenoidea. 23. Two new species of *Gyrodactylus* (Gyrodactylidae) from a Cichlid and an Erythrinid fish of southeastern Brazil.

22. Bueno-Silva M, Boeger WA (2009) Neotropical Monogenoidea. 53. *Gyrodactylus corydori* sp. n. and redescription of *Gyrodactylus anisopharynx* (Gyrodactylidae: Gyrodactylidae), parasites of *Corydoras* spp. (Siluriformes: Callichthyidae) from Southern Brazil. *Folia Parasitol* 56(1): 12-20. <http://doi.org/10.14411/fp.2009.003>
23. Bueno-Silva M, boeger WA (2014) Neotropical Monogenoidea. 58. Three new species of *Gyrodactylus* (Gyrodactylidae) from *Scleromystax* spp. (Callichthyidae) and the proposal of COII gene as an additional fragmente for barcoding gyrodactylids. *Folia Parasitol* 61(3):213-222. <http://doi.org/10.14411/fp.2014.028>
24. Boeger WA, Ferreira RC, Vianna RT, Patella L (2014) Neotropical Monogenoidea 59. Polynchoineans from *Characidium* spp. (Characiformes: Crenuchidae) from Southern Brazil. *Folia Parasitol* 61(2), 120-132. <http://doi.org/10.14411/FP.2014.010>
25. Razzolini E, Murari AL, Baldisserotto B, Boeger WA (2019) *Gyrodactylus lilianae* n. sp. (Polynchoinea: Gyrodactylidae) from *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) (Siluriformes: Heptapteridae) from Southern Brazil: a potential nuisance for aquaculture. *Syst Parasitol* 96: 407-415. <https://doi.org/10.1007/s11230-019-09858-8>
26. Kritsky DC, Boeger WA (1991) Neotropical Monogenoidea. 16. New species of oviparous Gyrodactylidae with proposal of *Nothogyrodactylus* gen. n. (Oogyrodactylidae). *J Helminthol Soc Wash* 58(1): 7-15.
27. Boeger WA, Kritsky DC, Belmont-Jégu E (1994) Neotropical Monogenoidea. 20. Two species of oviparous Gyrodactylidae (Polynchoinea) from Loricariid catfishes (Siluriformes) in Brazil and the phylogenetic status of Oogyrodactylidae Harris, 1983. *J Helminthol Soc Wash* 61(1), 34-44.
28. Kritsky DC, Boeger WA, Patella L (2020) Neotropical Monogenoidea. 63. *Atopogyrodactylus praecipuus* gen. et sp. n. (Gyrodactylidae), an oviparous gyrodactylid from the external surface of a bristlenose catfish *Ancistrus* sp. (Siluriformes: Loricariidae) from the Ronônian Amazon, Brazil. *Zootaxa* 4732(1): 169-176. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4732.1.8>
29. Patella L, Brooks DR, Boeger WA (2017) Phylogeny and ecology illuminate the evolution of associations under the Stockholm paradigm: *Aglaiogyrodactylus* spp. (Platyhelminthes, Monogenoidea, Gyrodactylidae) and species of Loricariidae (Actinopterygii, Siluriformes). *Vie et Milieu* 67(2), 91-102.

30. Carvalho TP, Lehmann P, Pereira EHL, Reis RE (2008) A new species of *Hisonotus* (Siluriformes: Loricariidae: Hypoptopomatinae) from Laguna dos Patos Basin, Southern Brazil. *Copeia* 3:510-516. <https://doi.org/10.1643/CI-07-130>
31. Carvalho TP, Reis RE (2011) Taxonomic review of *Hisonotus* Eigenmann & Eigenmann (Siluriformes: Loricariidae: Hypoptopomatinae) from the laguna dos Patos system, southern Brazil. *Neotrop Ichthyol* 9: 1-48. <http://dx.doi.org/10.1590/S1679-62252011000100001>
32. Casciotta JR, Azpelicueta DM, Almirón AE, Litz T (2006) *Hisonotus candombe*, a new species from the rio Uruguay basin in the República Oriental del Uruguay. *Spixiana* 29(2): 147-152.
33. Carvalho TP, Reis RE (2009) Four new species of *Hisonotus* (Siluriformes: Loricariidae) from the upper rio Uruguay, southeastern South America, with a review of the genus in the rio Uruguay basin. *Zootaxa* 2112: 1-40.
34. Schaefer SA (2003) Loricariidae - Hypoptopomatinae (Armored catfishes). In: Reis, RE, Kullander SO, Ferraris CJ Jr. (eds). *Checklist of Freshwater Fishes of the South and Central America*. Porto Alegre, pp. 321-329.
35. Reis RE, Carvalho TP (2007) Hypoptopomatinae. In: Buckup, PA, Menezes NA, Ghazzi MS (eds). *Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil*. Museu Nacional (Série Livros), Rio de Janeiro, pp. 83- 84.
36. FEPAM (2020) Fundação Estadual de Proteção Ambiental Henrique Luiz Roessler. http://www.fepam.rs.gov.br/qualidade/regioes_hidro.asp. Acesso: 02 outubro 2020.
37. SEMA (2020) Secretária Estadual do Meio Ambiente. Bacias Hidrográficas do Rio Grande do Sul. <https://www.sema.rs.gov.br/bacias-hidrograficas>. Acesso: 02 outubro 2020.
38. Braz RS, Silva IO, Tesser MB, Sampaio LA, Rodrigues RV (2017) Benzocaína, ms-222, eugenol e mentol como anestésicos para juvenis de tainha *Mugil liza*. *Bol Inst* 43, 605-613.
39. Humason GL (1979) *Animal Tissue Techniques*. 4a ed. Freeman and Company, San Francisco, pp. 661.
40. Bush AO, Lafferty KD, Lotz JM, Shostak AW (1997) Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. Revisited*. *J Parasitol* 83(4): 575-583. <https://doi.org/10.2307/3284227>
41. Bush AO, Fernández JC, Gerald EW, Seed JR (2001) *Parasitism: The diversity and ecology of animal parasites. Factors influencing parasite populations* Cambridge, pp. 331-356.
42. Vieira EF (1984) *Rio Grande do Sul: geografia física e vegetação*. Porto Alegre, pp. 184.
43. Porto MFA, Porto RLL (2008) *Gestão de Bacias Hidrográficas*. *Estud Av*, 22: 43-60. <https://doi.org/10.1590/S0103-40142008000200004>

44. Tomazelli LJ, Dillenburg SR, Villwock JA (2006) Geological evolution of Rio Grande do Sul coastal plain, Southern Brazil. J Coast Res 39: 275-278.
45. Villwock, JA, Tomazelli LJ. (2007) Planície Costeira do Rio Grande do Sul: gênese e paisagem atual. Biodiversidade. Regiões da Lagoa do Casamento e dos Butiazais de Tapes, planície cos-teira do Rio Grande do Sul. 1ed. Brasília, pp. 20-33.
46. Marques AC, Lamas CJE (2006) Taxonomia zoológica no Brasil: estado da arte, expectativas e sugestões de ações futuras. Pap. Avulsos Zoo 46 (13):139-174.
47. Mentz MB, Lanner M, Fagundes N, Sauter IP, Marques LS (2016) Ectoparasites on *Mugiliza* (Osteichthyes: Mugilidae) from the Tramandaí-Armazém lagoon system, Southern Brazil. Pan-Am J Aquat Sci 11(2): 130-134.
48. Bertaco VA, Ferrer J, Carvalho FR, Malabarba LR (2016) Inventory of the freshwater fishes from a densely collected área in South America – a case study of the current knowledge of Neotropical fish diversity. Zootaxa 4138(3): 401:440. <http://doi.org/10.11646/zootaxa.4138.3.1>

Tabela 1: Pontos de coletas realizadas na Bacia do Litoral Médio (BLM): SJN – São José do Norte, TAV – Tavares; Bacia da Lagoa Mirim e do Canal São Gonçalo (BLMSG): RG – Rio Grande; AG – Arroio Grande; PO – Pedro Osório; Bacia do Rio Camaquã (BRC): CR – Cristal.

Bacia	Ponto de Coleta	Coordenadas
BLM	SJN_P1	31°49'13.2"S 52°02'58.6"W
	SJN_P2	32°02'19.1"S 52°01'19.9"W
	SJN_P3	32°01'26.8"S 52°02'05.2"W
	SJN_P4	32°03'29.2"S 51°59'54.8"W
	SJN_P5	31°37'01.4"S 51°25'33.6"W
	TAV_P1	31°17'37.0"S 51°04'39.0"W
BLMSG	RG_P1	32°05'30.6"S 52°11'50.5"W
	RG_P2	32°04'35.8"S 52°15'07.9"W
	RG_P3	32°08'60.0"S 52°11'52.5"W
	RG_P4	32°09'37.7"S 52°11'19.3"W
	AG_P1	32°14'21.7"S 53°05'25.2"W
	AG_P2	32°08'25.1"S 52°57'28.6"W
	AG_P3	31°58'40.2"S 52°47'30.0"W
	PO_P1	31°52'30.7"S 52°49'06.4"W
	PO_P2	31°52'30.7"S 52°49'06.4"W
BRC	CR_P1	31°08'54.5"S 52°01'51.1"W
	CR_P2	31°10'48.5"S 52°01'32.8"W

Tabela 2: Índices parasitológicos e valores do teste de distribuição de Gyrodactylidae parasitas de espécies de *Hisonotus* das bacias hidrográficas adjacentes à Lagoa dos Patos.

Bacia	Ponto de coleta	Parasitos	PP/PE	P (%)	TP	IMI	AM	$S^2/\bar{X}$
BLM	SJN_P2	<i>Gyrodactylus</i> sp. n. 1	05/05	100	132	26,4	26,4	3,2
BLMSG	RG_P2	<i>Gyrodactylus</i> sp. n. 1	38/119	31,93	85	2,23	0,71	1,5
		<i>Aglaiogyrodactylus</i> sp. n. 1	36/119	30,25	311	8,63	2,61	10,5
	AG_P2	<i>Aglaiogyrodactylus</i> sp. n. 2	19/32	59,37	97	5,1	3,03	3,1
		<i>Phanerothecioides</i> sp. 1	06/32	18,75	8	1,33	0,25	0,1
	AG_P3	<i>Aglaiogyrodactylus</i> sp. n. 2	06/06	100	33	5,5	5,5	9,98
	PO_P1	<i>Aglaiogyrodactylus</i> sp. n. 2	06/06	100	33	5,5	5,5	9,98
BRC	CR_P1	<i>Aglaiogyrodactylus</i> sp. n. 3	13/13	100	177	13,61	13,61	6,61
		<i>Phanerothecioides</i> sp. 2	04/13	30,76	8	2	0,61	0,25
	CR_P2	<i>Aglaiogyrodactylus</i> sp. n.3	3/12	50	13	4,33	1,08	1,42
		<i>Aglaiogyrodactylus pedunculatus</i>	9/12	75	16	1,77	1,33	1,5
		<i>Phanerothecioides</i> sp. 2	03/12	25	3	1	0,25	0

PP/PE: peixes parasitados/peixes examinados; P: Prevalência; TP: total de parasitos; IMI: Intensidade Média de Infecção; AM: Abundância Média; BLM: Bacia do Litoral Médio; BLMSL: Bacia da Lagoa Mirim e do Canal São Gonçalo; BRC: Bacia do Rio Camaquã; $S^2/\bar{X}$: variância/média; $S^2/\bar{X} > 1$ = distribuição agregada; $S^2/\bar{X} \approx 1$ = distribuição aleatória; $S^2/\bar{X} < 1$ = distribuição uniforme.

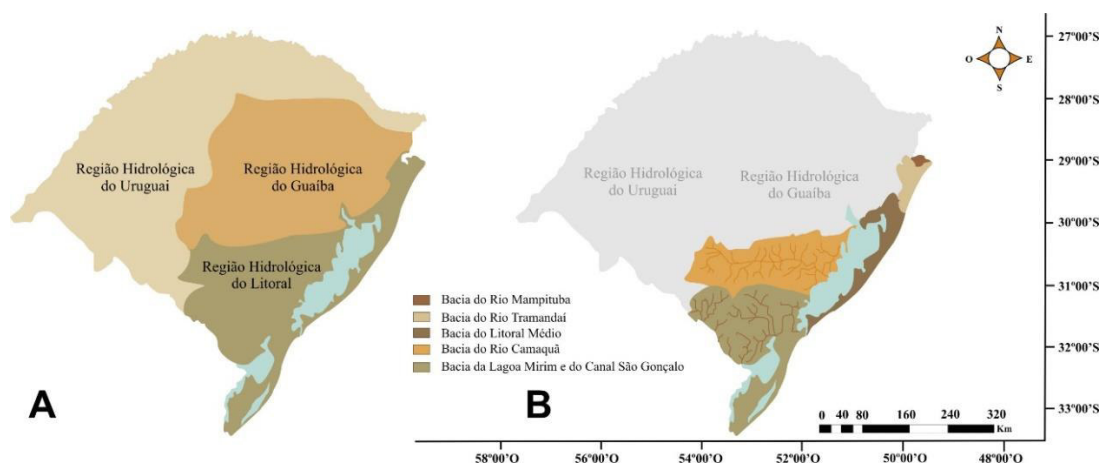


Figura 1: A. Regiões Hidrológicas do Rio Grande do Sul. B. Bacias hidrográficas da Região Hidrológica do Litoral.

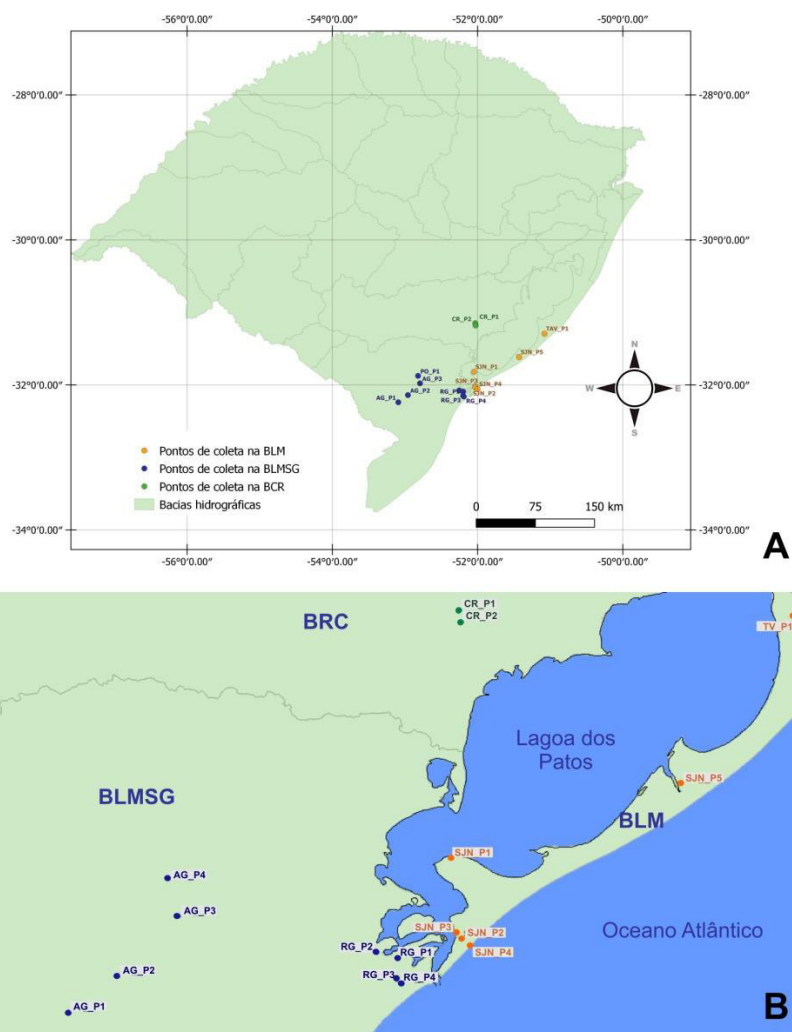


Figura 2: Mapa do Rio Grande do Sul A. Detalhes dos pontos de coletas; B. realizadas na Bacia do Litoral Médio (BLM): SJN – São José do Norte, TAV – Tavares; Bacia da Lagoa

Mirim e do Canal São Gonçalo (BLMSG): RG – Rio Grande; AG – Arroio Grande; PO – Pedro Osório; Bacia do Rio Camaquã (BRC): CR – Cristal.

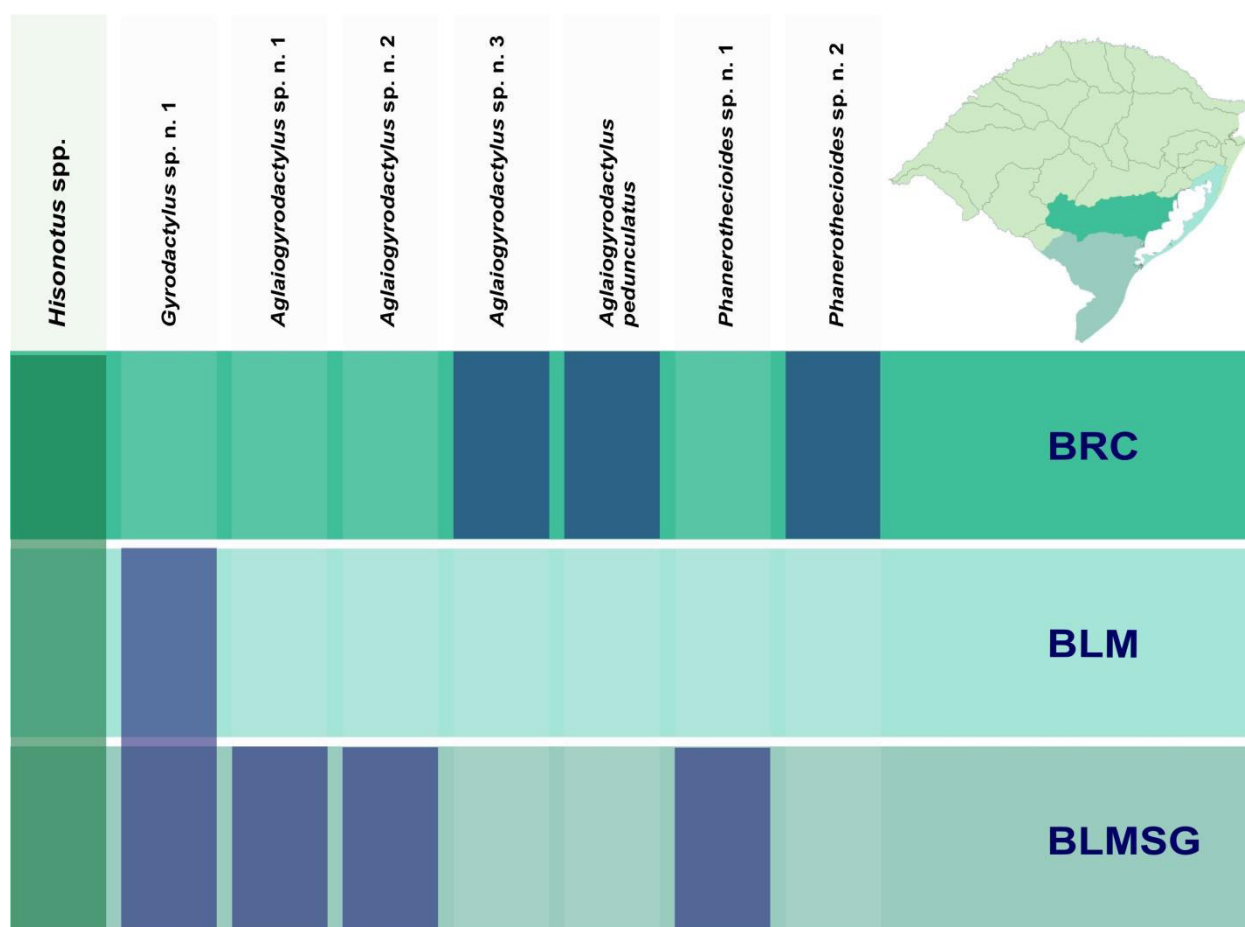


Figura 3: Ocorrência de espécies de hospedeiro e composição da assembleia de Gyrodactylidea em cada Bacia Hidrográfica. Bacia Hidrográfica do Litoral Médio (BLM); Bacia da Lagoa Mirim e do Canal São Gonçalo (BLMSG); Bacia do Rio Camaquã (BRC). Quadrantes azuis indicam presença das espécies de parasitos e quadrantes verdes escuro indicam presença das espécies de hospedeiros.

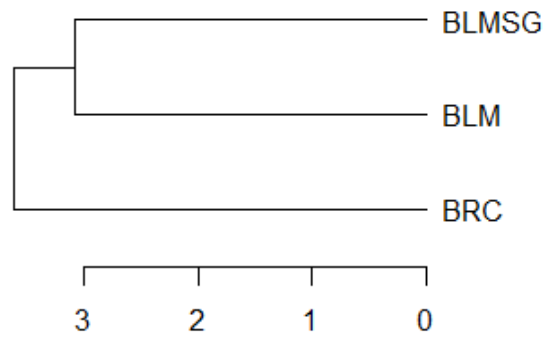


Figura 4: Dendrograma gerado a partir da análise de clusters a partir dos valores totais de parasitos de cada espécie para cada bacia. BLMSG-Bacia da Lagoa Mirim e do Canal São Gonçalo; BLM-Bacia do Litoral Médio; BRC-Bacia do Rio Camaquã.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Só é possível conservar o que é conhecido, assim se dá a importância de trabalhos que buscam conhecer, descrever e mapear a diversidade, para que assim a biodiversidade seja conservada. O Rio Grande do Sul (RS) ainda pode ser considerado um ambiente inexplorado para Gyrodactylidea. Pois há, somente, o registro de *Gyrodactylus lilianae* encontrado na superfície corporal de *Rhamdia quelen* (Pimelodidae) em cultivo. Neste trabalho foram exploradas três bacias hidrográficas do RS onde foram registradas uma nova espécie de *Gyrodactylus* (Gyrodactylidae), quatro espécies (três novas) de *Aglaiogyrodactylus* e duas novas espécies de *Phanerothecioides* (Oogyrodactylide). Neste cenário, se mais regiões hidrográficas do RS forem exploradas, pode-se encontrar uma grande riqueza e diversidade de espécies de Gyrodactylidea.

A descrição de *Gyrodactylus* **sp. n.** possibilitou que novas perspectivas a cerca do relacionamento entre parasitas e hospedeiros pudessem ser realizadas. A nova espécie demonstra um padrão de agrupamento mais intimamente relacionado com características morfológicas, do que com região biogeográfica ou hospedeiro.

Oogyrodactylidae é representado por apenas 24 espécies, encontradas principalmente na região amazônica e no estado do Paraná. Entretanto, somente neste trabalho e em uma pequena região geográfica, foram encontradas cinco novas espécies. Assim, é possível que o estado do RS tenha muito a contribuir com o conhecimento desta família. Além disso, acredita-se que as espécies de *Aglaiogyrodactylus* descritas, possam compor uma nova linhagem dentro do gênero, devido as características do órgão copulatório masculino. Com a descrição das espécies de *Phanerothecioides*, este gênero deixa de ser monotípico.

A distribuição de Gyrodactylidea nas bacias da Região do Litoral demonstra um padrão de distribuição limitado. Já que uma mesma espécie não foi encontrada em regiões diferentes, exceto para *Gyrodactylus* **sp. n.** que foi encontrada em duas bacias diferentes.

Quanto as perspectivas futuras, é importante resaltar que ainda há muito a ser conhecido na região Sul do Brasil, principalmente nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Pesquisas que envolvam as ordens Characiformes, Cyprinodontiformes e Siluriformes tem um grande potencial no conhecimento da fauna de Gyrodactylidea. Para que este conhecimento seja enriquecido de informações, é importante que além de DNA ribossômico, sejam desenvolvidos protocolos para obtenção de fragmentos de DNA mitocondrial. Assim, é possível que mais hipóteses acerca de relacionamento filogenético e divergência possam ser realizadas.

ANEXO 1. Comissão de ética em uso animal: Certificado N° P044/2019

COMISSÃO DE ÉTICA EM USO ANIMAL
 Universidade Federal do Rio Grande
 Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação - PROPESP
 ceua@furg.br http://www.proesp.furg.br



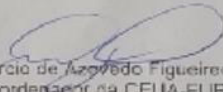

CERTIFICADO N° P044/2019

Certificamos que o projeto intitulado "Caracterização morfológica e molecular de espécies de *Gyrodactylus* (Gyrodactylidae) parasitos de *Hisonotus* spp. (Loricariidae) das bacias hidrográficas adjacente à Lagoa dos Patos", protocolo nº 23116,004915/2019-19, sob a responsabilidade de Rogério Tubino Vianna - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.896, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi APROVADO pela COMISSÃO DE ÉTICA EM USO ANIMAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE (CEUA-FURG), em reunião de 25 de setembro de 2019 (Ata 005/2019).

A CEUA lembra aos pesquisadores que qualquer alteração no protocolo experimental ou na equipe deve ser encaminhada à comissão para avaliação e aprovação. Um relatório final deve ser enviado à CEUA no término da vigência do seu projeto.

CEUA N°	Pq006/2019
COLABORADORES AUTORIZADOS A MANIPULAR OS ANIMAIS	
VIGÊNCIA DO PROJETO	28/02/2020
ESPÉCIE / GRUPOS TAXONÔMICOS	<i>Hisonotus</i> spp / Loricariidae
NUMERO DE ANIMAIS	<i>Hisonotus armatus</i> - 300; <i>H. charrua</i> - 200; <i>H. laevis</i> - 300; <i>H. nigricauda</i> - 300; <i>H. talmensis</i> - 100; <i>H. notopagus</i> - 100; <i>H. brunneus</i> - 100 = Total 1.400
N° SOLICITAÇÃO / AUTORIZAÇÃO SISBIO	44582-9
ATIVIDADE(S)	(X) CAPTURA (X) COLETA DE ESPÉCIMES () MARCAÇÃO () OUTRAS:
LOCAL(ES) REALIZAÇÃO ATIVIDADES	Arroio das Cabeças, Arroio Bolaxa, Arroio Senandes e Arroio Vieira (Rio Grande); Passinho, Várzea e Bujuru (São José do Norte); BR 116 e Laranjal (Pelotas); Arroio Chasqueiro e Arroio Grande (Arroio Grande); Arroio Inhunquipa e BR 116 (São Lourenço do Sul)
ENVIO DO RELATÓRIO FINAL	Março de 2020

Rio Grande, 25 de setembro de 2019.


 Med. Vet. Márcio de Aguiar Figueiredo
 Coordenador da CEUA-FURG

Controle da CEUA - Parecer(es) prévio(s) relacionado(s) ao processo: P032/2019.

Página 1/1