# UFRRJ INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

# DISSERTAÇÃO

Taxonomia integrativa e aspectos histológicos de quatro espécies da superfamília Hemiuroidea Looss, 1899 (Platyhelminthes: Digenea: Hemiurata) parasitos de *Chaetodipterus faber* (Broussonet, 1782) (Acanthuriformes: Ephippidae) do litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil

**Arthur Bessi Machado** 



## UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

Taxonomia integrativa e aspectos histológicos de quatro espécies da superfamília Hemiuroidea Looss, 1899 (Platyhelminthes: Digenea: Hemiurata) parasitos de *Chaetodipterus faber* (Broussonet, 1782) (Acanthuriformes: Ephippidae) do litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil

## **ARTHUR BESSI MACHADO**

Sob a orientação do professor José Luis Fernando Luque Alejos

> Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Biologia** Animal, Mestre em no Pós-Graduação Programa de em **Biologia** Animal, Área de Biodiversidade Concentração em Animal.

Seropédica, RJ Fevereiro de 2024 Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Г

M149t	Machado, Arthur Bessi, 1998- Taxonomia integrativa e aspectos histológicos de quatro espécies da superfamília Hemiuroidea Looss, 1899 (Platyhelminthes: Digenea: Hemiurata) parasitos de Chaetodipterus faber (Broussonet, 1782) (Acanthuriformes: Ephippidae) do litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil / Arthur Bessi Machado Seropédica, 2024. 73 f.: il.
	Orientador: José Luis Fernando Luque Alejos. Dissertação(Mestrado) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, 2024.
	1. trematódeos digenéticos. 2. Chaetodipterus faber. 3. taxonomia integrativa. I. Alejos, José Luis Fernando Luque, 1962-, orient. II Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós graduação em Biologia Animal III. Título.

sipac.ufrrj.br/sipac/protocolo/documento/documento\_visualizacao.jsf?imprimir=true&idDoc=1539541



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL



TERMO Nº 117 / 2024 - PPGBA (12.28.01.00.00.00.42)

Nº do Protocolo: 23083.011548/2024-93

Seropédica-RJ, 05 de março de 2024.

## UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

## **ARTHUR BESSI MACHADO**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre(a) em Ciências**, no Curso de pós-graduação em **BIOLOGIA ANIMAL**, área de concentração em **BIODIVERSIDADE ANIMAL** 

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 21/02/2024

(Assinado digitalmente em 05/03/2024 14:58 ) JOSE LUIS FERNANDO LUQUE ALEJOS PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR PROPPG (12.28.01.18) Matrícula: 2242796 (Assinado digitalmente em 05/03/2024 14:46 ) RAQUEL DE OLIVEIRA SIMOES PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR DeptPA (12.28.01.00.00.00.055) Matrícula: 3092534

(Assinado digitalmente em 05/03/2024 15:02) FABIANO PASCHOAL DE OLIVEIRA ASSINANTE EXTERNO CPF: 059.343.167-70 (Assinado digitalmente em 05/03/2024 14:53 ) CAMILA SANTOS PANTOJA DE OLIVEIRA ASSINANTE EXTERNO CPF: 129.689.807-50

Visualize o documento original em https://sipac.ufrrj.br/public/documentos/index.jsp informando seu número: 117, ano: 2024, tipo: TERMO, data de emissão: 05/03/2024 e o código de verificação: 3c6c0f6cba

A vida é uma peça de teatro que não permite ensaios. Por isso, cante, chore, dance, ria e viva intensamente, antes que a cortina se feche e a peça termine sem aplausos. (Autoria Desconhecida)

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, a Deus e à minha fé, por sempre me guiarem e me iluminarem a trilhar a minha jornada no caminho certo e do respeito. Aos meus pais, Maria José e Carlos Alberto, por fazerem de tudo, o possível e o impossível, para que eu conquiste tudo o que eu quero. À minha família, pelo carinho e amor que sempre me deram e dão. Em especial, gostaria de destacar minha amada avó Lourdes e meu querido afilhado e sobrinho-primo Enzo. Aos meus amigos e amigas, por fazerem parte da minha jornada e sempre estarem comigo nos risos e choros, nominalmente: Helena, Luana, Giovanna, Gabriele, Danilo, Náthaly e Joana. Um agradecimento especial ao Gabriel.

Ao meu orientador, Prof. José Luis Fernando Luque Alejos, não só pelo aceite em me "guiar" nessa caminhada e por proporcionar que este trabalho ocorresse, mas também pela amizade, pelas ideias, pelos ensinamentos, pelos ouvidos e pelas palavras de apoio e incentivo. À Prof<sup>a</sup>. Camila Pantoja e ao Prof. Fabiano Paschoal, pela disponibilidade em estarem aqui presentes em minha banca de defesa e pela certeza das grandes contribuições que farão ao trabalho. Aos membros do Laboratório de Parasitologia de Peixes e Mamíferos Silvestres e Sinantrópicos da UFRRJ, pelo clima de harmonia, cumplicidade, ajuda e incentivo que mantemos nas relações pessoais no nosso laboratório. Em especial, gostaria de agradecer à Prof<sup>a</sup>. Raquel Simões pela ajuda nas etapas deste trabalho e pelas falas de otimismo, perseverança e alto astral. Também, em especial, à Taíssa e Débora, minhas amigas e companheiras de mestrado (e se Deus quiser de doutorado também).

Aos docentes e técnicos da Área de Histologia e Embriologia da UFRRJ pelo carinho, recepção e conversas de desde sempre. Em especial, ao Prof. Marcos Antonio, pela ajuda e incentivo para que a parte de histologia do presente trabalho fosse possível e se realizasse.

À Prof<sup>a</sup>. Rosa Maria e Prof. Ildemar Ferreira, por fazerem parte da minha história, não só como professores, mas também como grandes amigos. Obrigado por todo o carinho, conselhos, ensinamentos e conversas de sempre. Vocês são muito especiais para mim.

Aos pescadores, cujo trabalho e esforço proveram os peixes necessários para a realização dessa pesquisa. Ao Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios (IOC), à Plataforma de Microscopia Eletrônica Rudolf Barth (IOC) e à Biblioteca de Manguinhos (IOC), pela viabilidade da execução das análises molecular e de microscopia eletrônica de varredura e pela disponibilização de artigos e materiais científicos.

Ao Programa de Pós-graduação em Biologia Animal e à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela oportunidade de estar fazendo um curso de mestrado e poder, através do desenvolvimento e progresso científicos, dar um retorno benéfico à sociedade. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Ao Fidelis e Negão, meus dengos.

A todos aqueles que fizeram, fazem e farão parte da minha vida, o meu muito obrigado! É daqui para o futuro! ^^

#### **RESUMO**

MACHADO, Arthur Bessi. Taxonomia integrativa e aspectos histológicos de quatro espécies da superfamília Hemiuroidea Looss, 1899 (Platyhelminthes: Digenea: Hemiurata) parasitos de *Chaetodipterus faber* (Broussonet, 1782) (Acanthuriformes: Ephippidae) do litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil. 2024. 73p.. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal, Biodiversidade Animal). Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, 2024.

A superfamília Hemiuroidea Looss, 1899 é composta por espécies parasitos principalmente de teleósteos marinhos. Chaetodipterus faber (Broussonet, 1782), popularmente conhecido como enxada ou paru, é um teleósteo marinho, sendo o único representante da família Ephippidae que ocorre no Atlântico Ocidental. A taxonomia integrativa é caracterizada pelo uso de diferentes abordagens metodológicas no estudo das espécies. O objetivo do presente trabalho é caracterizar, através de análises em microscopias óptica e eletrônica de varredura, histológica e molecular, quatro hemiuróideos coletados de C. faber proveniente do litoral do estado do Rio de Janeiro: Aponurus laguncula, Lecithocladium excisum, L. chaetodipteri e Prosogonotrema bilabiatum. Além disso, é registrado um novo hospedeiro para L. excisum. Os espécimes foram corados em carmim clorídrico e hematoxilina e eosina e tricrômico de Gomori para, respectivamente, análise em microscopia óptica e histológica. Na análise molecular, o DNA extraído foi amplificado com o uso do primer para 28S parcial. As análises filogenéticas foram performadas através da máxima verossimilhança e inferência Bayesiana. No geral, os dados morfométricos e morfológicos observados variaram de acordo com as descrições prévias das espécies. Entretanto, para algumas características e estruturas foram observados maiores valores e/ou novas conformações que não haviam sido anteriormente reportadas. As análises de microscopia eletrônica de varredura e histologia corroboraram as observações feitas na microscopia óptica e também permitiram a descrição e discussão de novas características e estruturas. Os altos valores de suporte de nós observados nas topologias resultantes da análise filogenética endossaram a identificação das espécies coletadas. Desta forma, o presente trabalho contribui para o avanço no preenchimento da lacuna sobre a diversidade ictioparasitológica do litoral brasileiro, através de uma perspectiva integrativa do estudo das espécies.

Palavras-chave: trematódeos digenéticos; Chaetodipterus faber; taxonomia integrativa.

## ABSTRACT

MACHADO, Arthur Bessi. Integrative taxonomy and histological aspects of four species of the superfamily Hemiuroidea Looss, 1899 (Platyhelminthes: Digenea: Hemiurata) parasites of *Chaetodipterus faber* (Broussonet, 1782) (Acanthuriformes: Ephippidae) from the coast of the state of Rio de Janeiro, Brazil. 2024. 73p.. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal, Biodiversidade Animal). Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, 2024.

Superfamily Hemiuroidea Looss, 1899 is composed of parasitic species mainly of marine teleosts. Chaetodipterus faber (Broussonet, 1782), popularly known as Atlantic spadefish, is a marine teleost, being the only representative of the Ephippidae family in the Western Atlantic. Integrative taxonomy is characterized by the use of different methodological approaches in the study of species. The objective of the present work is to characterize, through optical and scanning electron microscopy, histological and molecular analyses, four hemiuroids collected from C. faber from the coast of the state of Rio de Janeiro: Aponurus laguncula, Lecithocladium excisum, L. chaetodipteri and Prosogonotrema bilabiatum. Furthermore, a new host for L. excisum is recorded. The specimens were stained with hydrochloric carmine and hematoxylin and eosin and Gomori trichrome for, respectively, optical microscopy and histological analysis. In molecular analysis, the extracted DNA was amplified using the 28S partial primer. Phylogenetic analyses were performed using maximum likelihood and Bayesian inference. In general, the morphometric and morphological data observed varied according to previous descriptions of the species. However, for some characteristics and structures, higher values and/or new conformations were observed that had not been previously reported. Scanning electron microscopy and histology analyses corroborated the observations made in optical microscopy and also allowed the description and discussion of new characteristics and structures. The high node support values observed in the topologies resulting from the phylogenetic analysis endorsed the identification of the collected species. In this way, the present work contributes to progress in filling the gap regarding the ichthyoparasitological diversity of the Brazilian coast, through an integrative perspective of the study of the species.

Keywords: digenetic trematodes; *Chatodipterus faber*; integrative taxonomy.

## LISTA DE FIGURAS

 **Figura 10.** Relações filogenéticas entre sequências de espécies selecionadas das famílias Lecithasteridae, Hemiuridae e Bunocotylidae, incluindo os espécimes de *L. excisum* e *L. chaetodipteri* aqui sequenciados, com base em análises do gene 28S parcial. A árvore foi inferida utilizando a máxima verossimilhança (ML) e inferência bayesiana (BI). O suporte nodal é descrito à esquerda pelos valores obtidos na ML e à direita pelos obtidos na BI. \* Indica que este valor de nó não foi calculado. - indica valores de suporte nodal inferior a 70 ou 0,7.....28

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Espécimes incluídos nas análises moleculares de A. laguncula e L. excisum e L.chaetodipteri, números de acesso no GenBank, hospedeiros, localidade e referências
<b>Tabela 2.</b> Espécimes incluídos nas análises moleculares de <i>P. bilabiatum</i> , números de acessono GenBank, hospedeiros, localidade e referências
Tabela 3. Dados morfométricos (variação e valor médio) de A. laguncula, hospedeiro e localidade
Tabela 4. Dados morfométricos (variação e valor médio) de L. excisum, hospedeiro e localidade
<b>Tabela 5.</b> Dados morfométricos (variação e valor médio) de <i>L. chaetodipteri</i> , hospedeiro e localidade
Tabela 6. Dados morfométricos (variação e valor médio) de P. bilabiatum, hospedeiro e localidade

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> 1
2 MATERIAIS E MÉTODOS
2.1 Coleta de Parasitos e Análise Morfológica4
2.2 Processamento Histológico
2.3 Análises Molecular e Filogenética5
<b>3 RESULTADOS</b>
3.1 Aponurus laguncula Looss, 190710
3.1.1 Descrição morfológica10
3.1.2 Análise filogenética
3.2.1 Lecithocladium excisum (Rudolphi, 1819) Lühe, 190118
3.2.1.1 Descrição morfológica
3.2.2 Lecithocladium chaetodipteri Amato, 198324
3.2.2.1 Descrição morfológica24
3.2 Análise filogenética
3.3 Prosogonotrema bilabiatum Vigueras, 194029
3.3.1 Descrição morfológica
3.3.2 Análise filogenética
4 DISCUSSÃO
4.1 Aponurus laguncula Looss, 1907
4.2 Lecithocladium excisum (Rudolphi, 1819) Lühe, 1901 e Lecithocladium chaetodipteri
Amato, 1983
4.3 Prosogonotrema bilabiatum Vigueras, 1940
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

## 1 INTRODUÇÃO

A superfamília Hemiuroidea Looss, 1899 compreende espécies que são predominantemente parasitos de peixes, em especial os teleósteos marinhos (GIBSON & BRAY, 1979; GIBSON et al., 2002). Existem várias características que estão presentes nas espécies pertencentes a essa superfamília, como por exemplo: poro genital localizado na região média da parte ventral da região anterior do corpo; ductos masculino e feminino que se fundem e formam um ducto hermafrodita que geralmente possui um órgão intromitente e um saco muscular circundante; ausência de pré-faringe; ausência de espinhos no tegumento; e vesícula excretora em forma de "Y" (GIBSON et al., 2002). Em 1899, Looss reconheceu Hemiuroidea como subfamília. A classificação como superfamília ocorreu em 1923, por Dolfus (GIBSON et al., 2002). Didymozooidea Poche, 1907, Azygioidea Lühe, 1909, Accacoelioidea Odhner, 1911 e Isoparorchioidea Travassos, 1922 são sinonímias de Hemiuroidea Looss, 1988 (GIBSON & BRAY, 1979; GIBSON et al., 2002). Gibson & Bray (1979) reconheceram 14 famílias em Hemiuroidea e, atualmente, a superfamília é constituída por 15 famílias (WORMS, 2023).

Apesar do litoral brasileiro abrigar uma alta diversidade ictiológica (REIS et al., 2016), com aproximadamente 1250 espécies registradas (FISHBASE, 2023), a literatura científica sobre a diversidade dos possíveis parasitos dessa diversidade de peixes ainda é defasada e apresenta lacunas (BRAY et al., 2016; PANTOJA & KUDLAI, 2022; PANTOJA et al., 2022). Essa defasagem se deve às discrepâncias nos esforços e cobertura geográfica abrangida nos estudos que têm como alvo essa temática (BRAY et al., 2016). E mesmo com essa subnotificação, existem indícios de que os trematódeos digenéticos são o grupo de parasitos que apresenta a maior biodiversidade no litoral do Brasil (LUQUE et al., 2017; KOHN et al., 2007).

*Chaetodipterus faber* (Broussonet, 1782) (Acanthuriformes: Ephippidae), popularmente conhecido como enxada ou paru, é um peixe marinho que ocorre em águas litorâneas do Atlântico Ocidental, de Nova Inglaterra (Estados Unidos) até o Rio Grande do Sul (Brasil). É o único representante da família Ephippidae que existe nessa região. Essa espécie habita profundidades de 1 a 40 metros e regiões de baías, estuários, manguezais, rios em localidades costeiras e em fundos de areia e cascalho. Podem formar cardumes e apresentam hábito pelágico ou semipelágico. Esse peixe possui um hábito alimentar generalista: algas; de pequenos a grandes invertebrados; ascídias; e peixes. Sua época reprodutiva ocorre no verão, em regiões de mar aberto. (BELL, 2005; CARVALHO FILHO, 1992; HAYSE, 1990; MANRIQUE et al.,

1990; MENEZES et al., 2003; MENEZES & FIGUEIREDO, 1985; NELSON, 2006). Embora possua uma carne apreciável para o consumo, sua presença em comércios pesqueiros é casual. Sua pesca esportiva e recreacional é muito praticada, facilitada pelos hábitos alimentares, reprodutivos e populacionais do peixe (BELL, 2005; CARVALHO FILHO, 1992; MANRIQUE et al., 1990; MENEZES & FIGUEIREDO, 1985; SOETH et al., 2019). A lista vermelha de espécies ameaçadas da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN) classifica o risco de extinção de *C. faber* como pouco preocupante (DOOLEY, 2015).

*Chaetodipterus faber* já foi alvo de estudos no Brasil sobre sua fauna parasitológica de trematódeos digenéticos por Kohn (1966), Amato (1982), Amato (1983), Fernandes et al. (1985), Wallet & Kohn (1987), Cezar & Luque (1999). Kohn et al. (2007), com base na literatura disponível, registraram as seguintes espécies como parasitos desse hospedeiro: *Aponurus laguncula* Looss, 1907, *Diplomonorchis catarinenses* Amato, 1982, *Lecithocladium chaetodipteri* Amato, 1983, *Multitestis inconstans* (Linton, 1905) Manter, 1931, *Multitestis rotundus* Sparks, 1954, *Multitestoides brasiliensis* Amato, 1983, *Neomegasolena chaetodipteri* Siddiqi & Cable, 1960, *Prosogonotrema bilabiatum* Vigueras, 1940 e *Vitellibaculum spinosum* (Siddiqi & Cable, 1960) Durio & Manter, 1968.

A taxonomia integrativa se caracteriza pelo uso de diferentes abordagens, morfológica, molecular, ecológica, histológica, entre outras, no estudo das espécies (PADIAL et al, 2010). Para Dayrat (2005), a biodiversidade, devido a sua natureza complexa, deve ser analisada através de abordagens variadas que se integrem. Ainda, a aplicação de métodos integrativos permite que cientistas que trabalham com diferentes perspectivas possam ter um diálogo mais facilitado e integrador. Um embate emerge entre cientistas "tradicionais" e aqueles que se usam dessas abordagens integrativas para realizar estudos sobre espécies e outros táxons: a redução da aceitabilidade de trabalhos com abordagens exclusivamente morfológicas, devido à crença de que tal prática limita a definição de espécies e demais táxons. Entretanto, deve-se enxergar o uso de diferentes abordagens no estudo taxonômico como fontes que se complementam para chegar a um resultado final (BUENO-SILVA, 2012).

O uso de perspectivas moleculares no estudo taxonômico proporcionou uma variedade de dados para o estudo filogenético, com a proposição de caracteres que podem ser utilizados em comparações mais amplas (SEBERG et al, 2003). As regiões altamente conservadas de genes ribossomais e o seu número de cópias no genoma tornaram esses genes marcadores tradicionais para estudos moleculares em digenéticos (PERKINS et al., 2011; GRAÇA et al., 2016; TOLEDO & FRIED, 2016; CHAN et al., 2021). Marcadores ribossômicos permitem o

reconhecimento de espécies e de outros táxons (ALAMA-BERMEJO et al, 2011; GRAÇA et al, 2016; TOLEDO & FRIED, 2016). Segundo Hillis & Bull (1993) e Tandon et al. (2007), em análises filogenéticas, um valor de suporte de nós em árvores filogenéticas igual ou superior a 70 sugere um agrupamento de clados forte e robusto.

O objetivo do presente trabalho é realizar uma descrição com base na taxonomia integrativa das seguintes espécies de parasitos coletados de *C. faber*, proveniente do litoral do estado de Rio de Janeiro, Brasil: *Aponurus laguncula* Looss, 1907, *Lecithocladium excisum* (Rudolphi, 1819) Lühe, 1901, *L. chaetodipteri* Amato, 1983 e *Prosogonotrema bilabiatum* Vigueras, 1940. A abordagem integrativa foi realizada com o uso das microscopias óptica e eletrônica de varredura (MEV), histologia e análises moleculares e filogenéticas, com marcadores para 28S. Desta forma, contribuindo para a lacuna presente na literatura científica sobre o estudo da diversidade ictioparasitológica do litoral brasileiro. Além disso, é reportado um novo registro de hospedeiro para *L. excisum*.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Coleta de parasitos e análise morfológica

Trinta e sete espécimes de *C. faber* foram obtidos com pescadores locais de Cabo Frio, estado do Rio de Janeiro, Sudeste do Brasil, durante o mês de outubro de 2022. Os peixes foram identificados segundo Menezes & Figueiredo (1985). O lúmen intestinal dos peixes foi lavado com o uso de peneiras de malha com poros de 150µm de diâmetro e o conteúdo foi colocado em placa de Petri e examinado em microscópio estereoscópio para coleta de parasitos. Os espécimes de parasitos encontrados foram conservados em álcool 70°, formalina 10% e álcool absoluto para, respectivamente, análise em microscopia (óptica e eletrônica de varredura), histologia e molecular. A terminologia morfológica usada seguiu Gibson et al. (2002).

Para análise em microscopia óptica, os parasitos foram corados em carmim clorídrico segundo Amato et al. (1991) modificado. Os espécimes foram clarificados em Eugenol (óleo de cravo) e montados em lâminas permanentes com bálsamo do Canadá. As fotomicrografias e medidas foram obtidas com o microscópio óptico binocular Olympus<sup>™</sup> BX51 e o *software* Olympus cellSens Standard. As medidas estão em micrômetros (µm). A variação dos valores (menor e maior valor obtido) é seguida pela média dos valores, entre parênteses.

Na análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV), os espécimes dos parasitos foram preparados através do processo de desidratação em série alcoólica (etanol) crescente, secos em ponto crítico com dióxido de carbono e pulverizados com pó de ouro. As amostras foram examinadas através do microscópio JEOL<sup>™</sup> JSM-6390 (Tóquio, Japão) na Plataforma de Microscopia Eletrônica Rudolf Barth do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), Rio de Janeiro, Brasil.

## 2.2 Processamento histológico

O processamento histológico seguiu o protocolo estabelecido por Abrahamsohn (2016) modificado. Espécimes fixados em formalina 10% foram clivados, encaminhados para processamento histológico de rotina e mergulhados em parafina histológica. O material foi seriado em cortes de 5µm de espessura em seções transversal e longitudinal com o uso do micrótomo. As lâminas foram hidratadas em uma sequência crescente de concentração alcoólica (etanol). Espécimes de *Prosogonotrema bilabiatum* foram corados em hematoxilina

e eosina (HE) e tricrômico de Gomori (TG). Espécimes de *Aponurus laguncula*, *Lecithocladium excisum* e *L. chaetodipteri* foram corados em hematoxilina e eosina (HE). As lâminas coradas foram desidratadas em uma sequência decrescente de concentração alcoólica (etanol), clarificadas em xilol e montadas em lâminas permanentes com Entellan.

## 2.3 Análises molecular e filogenética

O QIAamp® DNA mini *kit* foi utilizado para extração do DNA dos parasitos, de acordo com o protocolo estabelecido pelo fabricante. O DNA foi amplificado com o *primer* 28S (subunidade ribossomal maior) parcial D1-D3, com três pares de reações: LSU5 (*forward*) e ECD2 (*reverse*); LSU5 (*forward*) e 1200R (*reverse*); e LSU5 (*forward*) e 1500R (*reverse*) (PANKOV et al., 2006). O PCR foi realizado em reações de volume de 25µL, cada uma contendo 12,5µL de PCR Master Mix da Promega Corporation (50 units/mL Taq DNA polimerase, 400 µM dATP, 400 µM dGTP, 400 µM dCTP, 400 µM dTTP e 3 mM MgCl<sub>2</sub>), 0,5µL do *primer forward*, 0,5µL do *primer reverse*, 8,5 µL de água ultrapura e 3µL do DNA extraído. O processo de ciclagem do PCR foi feito no termociclador Bio-Rad T100<sup>TM</sup>, sob o seguinte tempo de ciclagem: um ciclo de 95°C durante 2 minutos; 30 ciclos de 95°C durante 1 minuto, 56°C durante 1 minuto e 72°C durante 2 minutos; um ciclo de 95°C durante 1 minuto, 55°C durante 45 segundos e 72°C durante 4 minutos. Posteriormente, as amostras foram mantidas a uma temperatura de 4°C até serem retiradas do termociclador. As amostras resultantes do PCR foram purificadas com o *kit* de purificação de PCR da Qiagen QIAquick®, segundo as instruções do protocolo do fabricante.

O material amplificado foi sequenciado no *Big Dye Terminator* v3.1 *Cycle Sequencing Kit* (Applied Biosystems, cidade de Foster, California). As amostras foram sequenciadas através de um analisador de DNA ABI 3730 da subunidade RPT01A para sequenciamento de DNA da Plataforma de Serviço Tecnológico do IOC, Rio de Janeiro. Os fragmentos resultantes foram unidos em sequências *contigs*<sup>1</sup> e editados no software Geneious R9.1 (KEARSE et al., 2012) para eliminar qualquer ambiguidade e construir as sequências consenso. Essas sequências foram depositadas no banco de dados do GenBank.

O *software* Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) versão 11 (TAMURA et al., 2021) conduziu a reconstrução filogenética baseada na máxima verossimilhança (ML). Os modelos de substituição de nucleotídeo foram: Tempo Geral Reversível (GTR) e as taxas

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Contigs é uma sequência de DNA resultante da sobreposição de sequências menores do DNA sequenciado.

entre campos foram gama distribuídos para *A. laguncula*, *L. excisum* e *L. chaetodipteri*; e Kimura 2-parâmetros e as taxas entre os campos foram gama distribuídos para *P. bilabiatum*. Foi utilizado o método com mil replicações para o teste de filogenia. A inferência Bayesiana (BI) foi realizada com a ferramenta MrBayes versão 3.2.6 (RONQUIST et al., 2012) em XSEDE, através da plataforma CIPRES *Science Gateway* (MILLER et al., 2010).

Para a análise molecular foram utilizadas sequências de 28S com mil pares de bases (PB) ou mais de espécies da superfamília Hemiuroidea disponíveis no GenBank. A tabela 1 apresenta as sequências utilizadas na análise molecular de *Aponurus laguncula* e *Lecithocladium excisum* e *L. chaetodipteri*. A tabela 2 apresenta as sequências utilizadas na análise de *Prosogonotrema bilabiatum*.

**Tabela 1.** Espécimes incluídos nas análises moleculares de *A. laguncula* e *L. excisum* e *L. chaetodipteri*, números de acesso no GenBank, hospedeiros, localidade e referências.

		Número de			
Família	Espécie	Acesso no	Hospedeiro	Localidade	Referência
		GenBank			
	Aphanurus mugilus Tang, 1981	LT607809	Osteomugil engeli (Bleeker) (Mugilidae)	Vietnã	Atopkin et al. (2017)
	Brachyphallus crenatus (Rudolphi, 1802) Odhner, 1905	MH628299	Salvelinus leucomaenis (Pallas) (Salmonidae)	Oceano Pacífico Ocidental	Sokolov et al. (2019)
	Dinosoma synaphobranchi Yamaguti, 1938	3 MH628304	Antimora microlepis Bean (Moridae)	Oceano Pacífico Ocidental	Sokolov et al. (2019)
	Dinurus longisinus Looss, 1907	AY222202	Coryphaena hippurus Linnaeus (Coryphaenidae)	Jamaica	Olson et al. (2003)
	Ectenurus virgula Linton, 1910	OP918121	Decapterus punctatus (Cuvier) (Carangidae)	Brasil	Pantoja & Kudlai (2022)
	Hemiurus appendiculatus (Rudolphi, 1802) Looss, 1899	KR349121	Alosa fallax (Lacepède) (Alosidae)	Península Ibérica	Bao et al. (2015)
	Hemiurus luehei Odhner, 1905	MH628316	Ophidion rochei Müller (Ophidiidae)	Rússia	Sokolov et al. (2019)
	Lecithochirium caesionis Yamaguti, 1942	AY222200	Caesio cuning (Bloch) (Caesionidae)	Austrália	Olson et al. (2003)
	Lecithochirium floridense (Manter, 1934) Crowcroft, 1946	MK558793	Syacium papillosum (Linnaeus) (Paralichthyidae)	México	Vidal-Martínez et al. (2019)
Hemiuridae	<i>Lecithochirium microstomum</i> Chandler, 1935	KC985235	Trichiurus lepturus Linnaeus (Trichiuridae)	Estados Unidos	Calhoun et al. (2013)
	Lecithochirium muraenae Manter, 1940	OP918128	Gymnothorax vicinus (Castelnau) (Muraenidae)	Brasil	Pantoja & Kudlai (2022)
	Lecithochirium synodi Manter, 1931	OP918132	Pseudopercis numida Miranda Ribeiro, 1903 (Pinguipedidae)	Brasil	Pantoja & Kudlai (2022)
	Lecithocladium excisum (Rudolphi, 1819) Lühe, 1901	AY222203	Scomber scombrus Linnaeus (Scombridae)	Reino Unido	Olson et al. (2003)
	Myosaccium ecaude Montgomery, 1957	OP918123	Sardinella brasiliensis (Steindachner) (Dorosomatidae)	Brasil	Pantoja & Kudlai (2022)
	Parahemiurus merus (Linton, 1910) Manter, 1940	OP918125	Harengula clupeola (Cuvier) (Dorosomatidae)	Brasil	Pantoja & Kudlai (2022)
	Plerurus digitatus (Looss, 1899) Looss, 1907	AY222201	Scomberomorus commerson (Lacepède) (Scombridae)	Austrália	Olson et al. (2003)
	Pulmovermis cyanovitellosus Coil & Kuntz, 1960	MH628314	Laticauda semifasciata (Reinwardt) (Elapidae)	Japão	Sokolov et al. (2019)
	Tubulovesicula laticaudi Parukhin, 1969	OR209733	Hydrophis cyanocinctus Daudin (Elapidae)	Sri Lanka	Martin et al. (2023)

Família	Espécie	Número de Acesso no GenBank	Hospedeiro	Localidade	Referência
	Aponurus laguncula Looss, 1907	OQ676198	Trachinotus rhodopus Gill (Carangidae)	México	Martínez-Flores et al. (2023)
	Aponurus laguncula Looss, 1907	KU527430	Rhomboplites aurorubens (Cuvier) (Lutjanidae)	Estados Unidos	Claxton et al. (2017)
	Aponurus mulli Carreras-Aubets, Repulles-Albelda, Kostadinova & Carrasson, 2011	HQ713441	Mullus barbatus Linnaeus (Mullidae)	Espanha	Carreras-Aubets et al. (2011)
	Aponurus sp. Looss, 1907	DQ354368	Mullus surmuletus Linnaeus (Mullidae)	Espanha	Pankov et al. (2006)
	Lecithaster confusus Odhner, 1905	MH625976	Acanthogobius flavimanus (Temminck & Schlegel) (Gobiidae)	Rússia	Atopkin et al. (2018)
Lecisthasteridae	Lecithaster gibbosus (Rudolphi, 1802) Lühe, 1901	AY222199	<i>Merlangius merlangus</i> (Linnaeus) (Gadidae)	Reino Unido	Olson et al. (2003)
	Lecithaster micropsi Zdzitowiecki, 1992	MH628305	Dissostichus mawsoni Norman (Nototheniidae)	Oceano Antárctico	Sokolov et al. (2019)
	Lecithaster mugilis Yamaguti, 1970	LN865021	Valamugil seheli (Forsskål) (Mugilidae)	Vietnã	Besprozvannykh et al. (2017)
	Lecithaster salmonis Yamaguti, 1934	MH625981	Hypomesus japonicus (Brevoort) (Osmeridae)	Japão	Atopkin et al. (2018)
	Lecithaster sayori Yamaguti, 1938	MH625977	Hemirhamphus marginatus (Forsskål) (Hemiramphidae)	Vietnã	Atopkin et al. (2018)
	Lecithaster Lühe, 1901 sp.	MH625978	Siganus fuscescens (Houttuyn) (Siganidae)	Vietnã	Atopkin et al. (2018)
	Lecithaster sudzuhensis Besprozvannykh, Atopkin, Ngo, Ermolenko, Van Ha, Van Tang & Beloded, 2016	LN865024	Mugil cephalus Linnaeus (Mugilidae)	Rússia	Besprozvannykh et al. (2017)
	Lecithophyllum botryophorum (Olsson, 1868)	AY222205	Alepocephalus bairdii Goode & Bean (Alepocephalidae)	Nordeste do Oceano Atlântico	Olson et al. (2003)
Bunocotylidae	<i>Saturnius gibsoni</i> Marzoug, Rima, Boutiba, Georgieva, Kostadinova & Pérez-del-Olmo, 2014	KJ010542	Mugil cephalus Linnaeus (Mugilidae)	Argélia	Marzoug et al. (2014)
(Grupo externo)	Saturnius Manter, 1969 sp.	DQ354366	Mugil cephalus Linnaeus (Mugilidae)	Espanha	Pankov et al. (2006)

**Tabela 1.** Espécimes incluídos nas análises moleculares de *A. laguncula* e *L. excisum* e *L. chaetodipteri*, números de acesso no GenBank, hospedeiros, localidade e referências (continuação).

Família	Espécie	Número de Acess no GenBank	Hospedeiro	Localidade	Referência
	Allogenarchopsis problemática (Faust, 1924) Urabe & Shimazu, 2013	MH628313	Semisulcospira reiniana (Brot) (Semisulcospiridae)	Japão	Sokolov et al. (2019)
	Derogenes lacustris Tsuchida, Flores, Viozzi, Rauque & Urabe, 2021	LC586090	Galaxias maculatus (Jenyns) (Galaxiidae)	Argentina	Tsuchida et al. (2021)
	Derogenes varicus (Müller, 1784) Looss, 1901	AY222189	Hippoglossoides platessoides (Fabricius) (Pleuronectidae)	Reino Unido	Olson et al. (2003)
	Derogenidae sp. Chameleon Nicoll, 1910	KX759627	Chamaeleo dilepis Leach (Chamaeleonidae)	África Subsaariana	Collicutt et al. (2017)
Derogenidae	<i>Genarchella pichileufuensis</i> Tsuchida, Urabe, Viozzi, Rauque & Flores, 2021	LC630951	Hatcheria macraei (Girard) (Trichomycteridae) e Salmonidae Jarocki or Schinz spp.	Argentina	Tsuchida et al. (2021)
	Genarchopsis chubuensis Shimazu, 2015	MH628311	Rhinogobius flumineus (Mizuno) (Gobiidae)	Japão	Sokolov et al. (2019)
	Genarchopsis goppo Ozaki, 1925	KX344073	Channa punctatus (Bloch) (Channidae)	Índia	Chaudhary et al. (2016)
	Thometrema lotzi Curran, Overstreet & Font, 2002	KC985236	Lepomis microlophus (Günther) (Centrarchidae)	Estados Unidos	Calhoun et al. (2013)
	<i>Thometrema patagônica</i> (Szidat, 1956) Lunaschi & Drago, 2001	LC586091	Percichthys trucha (Valenciennes) (Percichthyidae)	Argentina	Tsuchida et al. (2021)
Salaradistamidaa	Prosogonotrema bilabiatum Vigueras, 1940	AY222191	Caesio cuning (Bloch) (Caesionidae)	Austrália	Olson et al. (2003)
Scierouistoinidae	Prosogonotrema bilabiatum Vigueras, 1940	KU527431	Rhomboplites aurorubens (Cuvier) (Lutjanidae)	Estados Unidos	Claxton et al. (2017)
	Didymozoídeo não identificado sp. 1	AY222193	<i>Epinephelus cyanopodus</i> (Richardson) (Serranidae)	Austrália	Olson et al. (2003)
Didymozoidae (Grupo externo)	Didymozoídeo não identificado sp. 2	AY222192	<i>Taeniura lymma</i> (Forsskål) (Dasyatidae)	Austrália	Olson et al. (2003)
	Didymozoídeo não identificado sp. 3	AY222194	Apogon cookii MacLeay (Apogonidae)	Austrália	Olson et al. (2003)

Tabela 2. Espécimes incluídos nas análises moleculares de P. bilabiatum, números de acesso no GenBank, hospedeiros, localidade e referências.

### **3 RESULTADOS**

3.1 Família Lecithasteridae Odhner, 1905 Subfamília Lecithasterinae Odhner, 1905 Gênero *Aponurus* Looss, 1907 *Aponurus laguncula* Looss, 1907

### 3.1.1 Descrição morfológica

Baseada em 15 espécimes maduros. Medidas estão na tabela 3. Figuras 1, 2 e 3. Corpo alongado; maior largura no nível da região posterior. Ecsoma ausente. Tegumento liso, revestido por uma fina cutícula. Lobo pré-oral pequeno ou ausente. Ventosas musculares, com bandas de musculatura estriada em orientação longitudinal. Ventosa oral subglobular, terminal, um pouco mais larga do que longa. Ventosa ventral simétrica, anterior à região média do corpo. Pré-faringe não observada. Faringe pequena e bulbosa, com fibras musculares orientadas transversalmente. Ramificação cecal imediatamente abaixo da faringe. Ramos cecais terminam em fundo cego, alcançando a extremidade posterior do corpo. Poro genital ventral, no nível da faringe. Saco do sinus elíptico ou piriforme, mais largo que longo, ao nível da faringe. Órgão do sinus temporário alongado, cilíndrico, formado pela protusão do ducto hermafrodita. Glândula prostática anterior à vesícula seminal, longa, composta por notáveis células acidófilas com grânulos citoplasmáticos. Vesícula seminal arredondada a elíptica, revestida por células musculares, dorsal à margem anterior da ventosa ventral; repleta de espermatozóides. Dois testículos, arredondados, margem lisa, lado a lado ou em *tandem*, posteriores à ventosa ventral; testículo anterior maior que o posterior. Ovário elíptico, pós-testicular. Três a seis folículos vitelogênicos, ao longo da extensão posterior do corpo. Útero ocupa praticamente toda a extensão posterior do corpo, sobrepondo-se aos testículos e ovário; repleto de ovos. Ovos elípticos ou pouco curvados, operculados e de casca grossa. Poro excretor na extremidade posterior, na superfície ventral.

Hospedeiro	Chaetodipterus faber (Broussonet)	*	Centropristis striata (Linnaeus), Lagocephalus laevigatus (Linnaeus) e Paralichthys albigutta Jordan & Gilbert	Trachinotus ovatus (Linnaeus)	<i>C. faber</i> (Broussonet), <i>Scomber japonicus</i> Houttuyn, <i>Trachurus lathami</i> Nichols e <i>Umbrina coroides</i> Cuvier
Característica / Localidade	Brasil	Itália	México	Gana	Brasil
Comprimento total (N=15)	795,87 - 2525,51 (1664,16)	1000	541 - 1275	550 - 645	1120 - 2330
Largura total (N=15)	106,70 - 357,09 (225,02)	250	138 - 335	138 - 185	280 - 600
Distância entre ventosas (N=15)	89,23 - 447,33 (232,94)	ND	ND	ND	ND
Comprimento da ventosa oral (N=15)	45,44 - 170,74 (99,81)	100	ND	62 - 68	90 -120
Largura da ventosa oral (N=15)	61,22 - 181,80 (115,84)	100	ND	61 - 73	90 - 150
Comprimento da faringe (N=15)	29,56 - 66,18 (43,59)	ND	ND	35 - 36	50 - 60
Largura da faringe (N=15)	31,27 - 81,04 (48,37)	ND	ND	37 - 41	50 - 70
Comprimento da ventosa ventral (N=15)	189,06 - 495,69 (320,81)	200	ND	115 - 127	180 - 380
Largura da ventosa ventral (N=15)	107,34 - 403,75 (244,02)		ND	ND 37 - 41   ND 115 - 127   ND ND   ND ND   ND ND	180 - 370
Comprimento da vesícula seminal (N=15)	79,51 - 198,72 (134,81)	ND	ND	ND	60 - 180
Largura da vesícula seminal (N=15)	56,64 - 166,51 (96,72)	ND	ND	ND	40 - 150
Comprimento do testículo anterior (N=2)	54,47 - 156,08 (105,27)	ND	ND	66 - 67	90 - 130
Comprimento do testículo posterior (N=2)	56,86 - 89,28 (73,07)	ND	ND	62 - 70	90 - 130
Largura do testículo anterior (N=2)	76,43 - 123,23 (99,83)	ND	ND	70 - 76	120 - 150
Largura do testículo posterior (N=2)	48,21 - 87,71 (67,96)	ND	ND	85 - 90	80 - 150
Comprimento do saco do sinus (N=5)	80,35 - 147,67 (114,35)	ND	ND	42 - 51	80 - 100
Largura do saco do sinus (N=5)	27,70 - 78,58 (51,40)	ND	ND	28 - 34	60 - 120
Comprimento do ovário (N=2)	63,38 - 104,44 (83,91)	ND	ND	50 - 83	80 - 130
Largura do ovário (N=2)	49,50 - 71,73 (60,61)	ND	ND	80 - 94	90 - 170
Comprimento do ovo (N=15)	16,94 - 36,24 (28,40)	27	26 - 32	27 - 33	28 - 38
Largura do ovo (N=15)	10,27 - 21,10 (15,62)	16	14 - 18	13 - 18	14 - 19
Referência	Presente estudo	Looss (1907) Looss (1908)	Nahhas & Short (1965)	Fischthal & Thomas (1971)	Fernandes et al. (1985)

**Tabela 3.** Dados morfométricos (variação e valor médio) de *A. laguncula*, hospedeiro e localidade. **Abreviação:** ND: não disponível. \* Looss (1907; 1908) não identificou o hospedeiro da espécie-tipo.

Hospedeiro	Clupea harengus Linnaeus	Pomacentrus moluccensis Bleeker, Callionymus limiceps Ogilby, Platycephalus endrachtensis Quoy & Gaimard e Platycephalus fuscus Cuvier	<i>Micropogonias</i> <i>furnieri</i> (Desmarest)	Rhomboplites aurorubens (Cuvier)
Característica / Localidade	Canal da Mancha	Austrália	Brasil	Brasil
Comprimento total (N=15)	500 - 705	710	570 - 1310	850 - 1070
Largura total (N=15)	167 - 242	192	140 - 290	170 - 250
Distância entre ventosas (N=15)	ND	ND	ND	ND
Comprimento da ventosa oral (N=15)	68 - 81	63	58 - 98	70 - 87
Largura da ventosa oral (N=15)	68 - 85	69	54 - 97	77 - 90
Comprimento da faringe (N=15)	32 - 45	35	25 - 51	25 - 45
Largura da faringe (N=15)	32 - 47	36	21 - 56	42 - 52
Comprimento da ventosa ventral (N=15)	123 - 151	120	86 - 191	147 - 192
Largura da ventosa ventral (N=15)	126 - 144	124	96 - 225	125 - 175
Comprimento da vesícula seminal (N=15)	45	80	65 - 84	62 - 97
Largura da vesícula seminal (N=15)	40	51	30 - 49	50 - 75
Comprimento do testículo anterior (N=2)	38 - 110	68	61 - 136	60 - 97
Comprimento do testículo posterior (N=2)	50 - 108	70	51 - 122	55 - 122
Largura do testículo anterior (N=2)	42 - 92	67	54 - 98	62 - 102
Largura do testículo posterior (N=2)	48 - 85	70	58 - 105	70 - 122
Comprimento do saco do sinus (N=5)	35	54	ND	ND
Largura do saco do sinus (N=5)	22	35	ND	ND
Comprimento do ovário (N=2)	54 - 95	61	82 - 112	60 - 87
Largura do ovário (N=2)	48 - 98	70	86 - 129	52 - 112
Comprimento do ovo (N=15)	32 - 42	23 – 24	23 - 32	27 - 35
Largura do ovo (N=15)	16 - 21	13 – 15	11 - 16	10 - 17
Referência	Bray & MacKenzie (1990)	Bray et al. (1993)	Pereira Jr et al. (2000)	Justo et al. (2003)

**Tabela 3.** Dados morfométricos (variação e valor médio) de *A. laguncula*, hospedeiro e localidade. **Abreviação:** ND: não disponível. \* Looss (1907; 1908) não identificou o hospedeiro da espécie-tipo (continuação).

Hospedeiro	Trachinus draco Linnaeus	Rastrelliger kanagurta (Cuvier)	R. aurorubens (Cuvier)	Paralichthys isósceles Jordan, Paralichthys patagonicus Jordan e Xystreurys rasilis (Jordan)
Característica / Localidade	Espanha	Iêmen	Estados Unidos	Brasil
Comprimento total (N=15)	642 - 812	2100 - 3500	854 - 966	500 - 2100
Largura total (N=15)	181 - 187	580 - 650	ND	100 - 450
Distância entre ventosas (N=15)	ND	ND	ND	ND
Comprimento da ventosa oral (N=15)	73 - 78	140 - 180	ND	60 - 170
Largura da ventosa oral (N=15)	76 - 83	200 - 250	ND	50 - 250
Comprimento da faringe (N=15)	33 - 52	ND	ND	20 - 80
Largura da faringe (N=15)	33 - 45	ND	ND	20 - 80
Comprimento da ventosa ventral (N=15)	136 - 167	440 - 480	ND	90 - 280
Largura da ventosa ventral (N=15)	133 - 170	410 - 470	ND	80 - 270
Comprimento da vesícula seminal (N=15)	45 - 70	ND	ND	60 - 210
Largura da vesícula seminal (N=15)	36 - 42	ND	ND	30 - 140
Comprimento do testículo anterior (N=2)	68 - 98	81 - 146	ND	50 - 140
Comprimento do testículo posterior (N=2)	67 - 98	79 - 122	ND	50 - 160
Largura do testículo anterior (N=2)	74 - 106	54 - 98	ND	50 - 150
Largura do testículo posterior (N=2)	58 - 92	58 - 105	ND	50 - 150
Comprimento do saco do sinus (N=5)	45 - 58	ND	ND	20 - 70
Largura do saco do sinus (N=5)	24 - 36	ND	ND	ND
Comprimento do ovário (N=2)	58 - 97	57 - 130	ND	60 - 150
Largura do ovário (N=2)	85 - 121	61 - 175	ND	60 - 140
Comprimento do ovo (N=15)	29 - 32	25 - 32	28 - 34	12,5 - 47,5
Largura do ovo (N=15)	14 - 19	15 - 19	12 - 15	7,5 - 30
Referência	Carreras-Aubets et al. (2011)	Al-Zubaidy & Mhaisen (2014)	Claxton et al. (2017)	Fonseca et al. (2022)

**Tabela 3.** Dados morfométricos (variação e valor médio) de *A. laguncula*, hospedeiro e localidade. **Abreviação:** ND: não disponível. \* Looss (1907; 1980) não identificou o hospedeiro da espécie-tipo (continuação).



**Figura 1.** Micrografias de *A. laguncula* através da microscopia eletrônica de varredura. a: visão láteroventral; b: extremidade anterior em visão ventral; c: visão ventral, exibindo detalhe da protusão do ducto hermafrodita, que forma o órgão do sinus temporário; d: extremidade posterior, exibindo detalhe do poro excretor. **Abreviações:** vv: ventosa ventral; vo: ventosa oral; seta indica o poro genital.



**Figura 2.** Micrografias de *A. laguncula* corado em carmim clorídrico. a: extremidade anterior em visão ventral; b: detalhe da ventosa ventral; c: região posterior; d: ovos. **Abreviações:** vo: ventosa oral; \*: faringe; vv: ventosa ventral; vs: vesícula seminal; fv: folículos vitelogênicos; seta indica a ramificação cecal.



**Figura 3.** Micrografias de *A. laguncula* em lâminas histológicas. Lâminas estão coradas em hematoxilina e eosina (HE). a: extremidade anterior, corte longitudinal; b: região média do corpo, corte longitudinal; c: detalhe das células que constituem a glândula prostática; d e e: estruturas reprodutivas, corte longitudinal. **Abreviações:** vo: ventosa oral; \*: faringe; vs: vesícula seminal; vv: ventosa ventral; ut: útero; te: testículo; ov: ovário; fv: folículo vitelogênico; seta contínua indica ducto ejaculatório; seta pontilhada indica glândula prostática.

## 3.1.2 Análise filogenética

A matriz foi constituída por 34 táxons e 1199 caracteres, dos quais 637 eram conservados e 487 eram variáveis parsimônio-informativas. A inferência Bayesiana calculou uma probabilidade marginal estimada média de -9117,3033, com um valor mediano de - 9116,963. O tamanho efetivo da amostra para todos os parâmetros foi 7111,3, demonstrando a robustez das amostras. As duas topologias construídas com diferentes critérios de otimalidade, ML e BI, foram similares, com pouca variação nos valores de suportes dos nós. O espécime de *Aponurus laguncula* aqui sequenciado agrupou com outro espécime de *A. laguncula* (figura 4) com um alto valor de repetição para ML (100%) e alto valor de probabilidade de suporte de nós na BI (BBP = 1).



**Figura 4.** Relações filogenéticas entre sequências de espécies selecionadas das famílias Lecithasteridae, Hemiuridae e Bunocotylidae, incluindo o espécime de *A. laguncula* aqui sequenciado, com base em análises do gene 28S parcial. A árvore foi inferida utilizando a máxima verossimilhança (ML) e inferência bayesiana (BI). O suporte nodal é descrito à esquerda pelos valores obtidos na ML e à direita pelos obtidos na BI. \* Indica que este valor de nó não foi calculado. - indica valores de suporte nodal inferior a 70 ou 0,7.

### 3.2.1 Família Hemiuridae Looss, 1899

Subfamília Elytrophallinae Skrjabin & Guschanskaja, 1955 Gênero *Lecithocladium* Lühe, 1901 *Lecithocladium excisum* (Rudolphi, 1819) Lühe, 1901

## 3.2.1.1 Descrição morfológica

Baseada em 14 espécimes maduros. Medidas estão na tabela 4. Figuras 5, 6 e 7. Corpo alongado, maior largura na região posterior do corpo, antes do ecsoma. Ecsoma alongado, com comprimento quase igual a metade do corpo. Tegumento do corpo plicado. Tegumento da região dorsal entre as duas ventosas com plicações mais largas. Tegumento do ecsoma plicado, mas com plicações menores que as do corpo. Ventosa oral subterminal, em forma de funil, com duas incisões laterais delimitando um lábio ventral. Faringe mais longa que larga. Região ventral do tegumento entre ventosas oral e ventral com concavidade profunda. Ventosa ventral antes da região média do corpo, simétrica. Ramificação cecal imediatamente abaixo da faringe, dorsal à ventosa ventral. Ceco não ondulado, alcançando quase o limite posterior do ecsoma. Dois testículos, margem lisa, em tandem, pós-acetabulares, na região anterior da porção média da parte posterior do corpo. Vesícula seminal mais longa que larga, pré-testicular ou sobreposta à margem anterior do testículo, com parede muscular espessa. Poro genital na superfície ventral da ventosa oral. Ovário pós-testicular, às vezes sua margem posterior atinge a margem anterior do ecsoma. Numerosos túbulos vitelínicos, enrolados, lateralmente ao nível do ovário ou pósovarianos, estendendo-se ao longo da porção anterior do ecsoma, alcançando o ovário. Útero ocupando a porção média da parte posterior do corpo e o ecsoma; repleto de ovos. Ovo elíptico, mais longo que largo. Ramos da vesícula excretora iniciam lateralmente à ventosa oral, unindose dorsalmente à ventosa ventral. Poro excretor na ponta da extremidade posterior.

Hospedeiro	Chaetodipterus faber (Broussonet)	Scomber scombrus Linnaeus	S. scombrus Linnaeus	Scomber japonicus Houttuyn	Parapercis colias (Forster)	S.scombrus Linnaeus
Característica / Localidade	Brasil	ND	Polônia	Japão	Nova Zelândia	França
Comprimento total (N=14)	1827,06 - 3533,88 (2505,37)	6000 - 8000	6000	4700 - 7500	1655	2920 - 4850
Largura total (N=14)	149,69 - 456,07 (231,98)	500 - 1000	ND	630 - 740	ND	520 - 810
Comprimento do ecsoma (N=14)	789,25 - 1440,54 (1099,98)	3000 - 4000	ND	ND	ND	640 - 1030
Largura do ecsoma (N=14)	105,79 - 282,80 (173,20)	ND	ND	ND	ND	360 - 570
Distância entre ventosas (N=11)	99,75 - 348,27 (206,54)	ND	ND	ND	ND	NA
Comprimento da ventosa oral (N=9)	151,54 - 326,59 (236,73)	650	225	400 - 450	ND	100 - 140
Largura da ventosa oral (N=10)	121,60 - 276,50 (176,83)	500	585	420 - 460	ND	310 - 360
Comprimento da faringe (N=5)	105,34 - 236,17 (144,19)	500	495	300 - 380	ND	260 - 360
Largura da faringe (N=5)	54,60 - 93,60 (66,96)	250	225	200	ND	120 - 220
Comprimento da ventosa ventral (N=12)	152,79 - 301,44 (216,99)	250 450	420	250 200	ND	230 - 340
Largura da ventosa ventral (N=8)	124.58 - 285.66 (207.83)	350 - 450	450	270 - 390	ND	260 - 350
Comprimento da vesícula seminal (N=10)	129,82 - 373,80 (216,39)	ND	ND	470 - 680	ND	ND
Largura da vesícula seminal (N=10)	41,98 - 81,35 (66,22)	ND	ND	190 - 260	ND	ND
Comprimento do testículo anterior (N=6)	53,69 - 107,60 (76,96)	ND	165	100 280	ND	260 270
Comprimento do testículo posterior (N=6)	57,48 - 119,08 (85,53)	ND	360	190 - 280	ND	200 - 270
Largura do testículo anterior (N=6)	36,78 - 103,17 (67,31)	ND	450	ND	ND	240 400
Largura do testículo posterior (N=6)	29,72 - 74,81 (54,66)	ND	480	ND	ND	340 - 400
Comprimento do ovário (N=4)	62,98 - 120 (89,18)	ND	245	210 - 240	ND	240 - 330
Largura do ovário (N=4)	61,54 - 129,06 (81,14)	ND	345	290 - 340	ND	170 - 260
Comprimento do ovo (N=11)	12,43 - 21,22 (16,61)	ND	19 - 27	18 - 23	ND	20 - 22
Largura do ovo (N=11)	8,77 - 11,03 (9,91)	ND	11	11 - 12	ND	10 - 12
Referência	Presente estudo (2023)	Looss (1907)	Markowski (1933)	Yamaguti (1934)	Manter (1954)	Mazza (1963)

Tabela 4. Dados morfométricos (variação e valor médio) de L. excisum, hospedeiro e localidade. Abreviação: ND: não disponível.

Hospedeiro	S. japonicus Houttuyn	S. scombrus Linnaeus	Peprilus paru (Linnaeus)	Rachycentron canadum (Linnaeus) e Pampus argenteus (Euphrasen)	Mugil cephalus Linnaeus	S. <i>japonicus</i> Houttuyn
Característica / Localidade	Japão	Ilhas Faroé	Brasil	Índia	Líbia	Turquia
Comprimento total (N=14)	2000 - 3700	3500 - 7200	3320 - 4810	4880 - 8410	1870 - 1970	1400 - 2300
Largura total (N=14)	340 - 750	600 - 1200	640 - 660	560 - 900	340 - 370	300 - 400
Comprimento do ecsoma (N=14)	750 - 4900	150 - 400	ND	ND	ND	ND
Largura do ecsoma (N=14)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Distância entre ventosas (N=11)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Comprimento da ventosa oral (N=9)	310 - 540	350 - 650	280 - 370	ND	63 - 64	ND
Largura da ventosa oral (N=10)	410 - 690	380 - 600	320 - 400	ND	98 - 99	ND
Comprimento da faringe (N=5)	ND	ND	270 - 370	ND	120 - 160	ND
Largura da faringe (N=5)	ND	ND	130 - 180	ND	180 - 190	ND
Comprimento da ventosa ventral (N=12)	230 - 400	300 - 470	290 - 400	ND	88 - 85	ND
Largura da ventosa ventral (N=8)	220 - 490	350 - 500	280 - 410	ND	62 - 84	ND
Comprimento da vesícula seminal (N=10)	270 - 700	ND	280 - 400	ND	ND	ND
Largura da vesícula seminal (N=10)	160 - 270	ND	150 - 160	ND	ND	ND
Comprimento do testículo anterior (N=6)	120 240	220 420	200	ND	22 24	ND
Comprimento do testículo posterior (N=6)	120 - 340	230-420	210 - 260	ND	33 - 34	ND
Largura do testículo anterior (N=6)	200 440	220 420	240	ND	20 22	ND
Largura do testículo posterior (N=6)	200 - 440	230-430	230 - 250	ND	30 - 32	ND
Comprimento do ovário (N=4)	90 - 340	150 - 300	180 - 210	ND	55 - 58	ND
Largura do ovário (N=4)	100 - 400	280 - 390	240	ND	57 - 59	ND
Comprimento do ovo (N=11)	20 - 23	21 - 24	17 - 19	18 - 20	24 - 25	ND
Largura do ovo (N=11)	10 - 12.5	11 - 14	9-12	11 – 12	12 - 13	ND
Referência	Ichihara et al. (1968)	Gibson & Bray (1986)	Fabio (1988)	Hafeezullah & Dutta (1998)	Al-Bassel & Hussein (2012)	Akmirza (2013)

Tabela 4. Dados morfométricos (variação e valor médio) de *L. excisum*, hospedeiro e localidade. Abreviação: ND: não disponível (continuação).



**Figura 5.** Micrografias de *L. excisum* através da microscopia eletrônica de varredura. a: visão ventral; b: visão dorsal; c: extremidade anterior em visão ventral; d: transição entre tegumento do soma e ecsoma; e: tegumento do ecsoma; f: extremidade posterior, exibindo detalhe do poro excretor. **Abreviações:** vo: ventosa oral; vv: ventosa ventral; vo: ventosa oral; \*: concavidade do tegumento entre as ventosa; seta contínua indica as plicações mais largas do tegumento na região dorsal entre as ventosa; seta pontilhada indica as incisões laterais da ventosa ventral, que delimitam um lábio ventral.



**Figura 6.** Micrografias de *L. excisum* corado em carmim clorídrico. a: visão látero-ventral; b: extremidade anterior em visão lateral; c: estruturas reprodutivas em visão ventral. **Abreviações:** vo: ventosa oral; \*: poro genital; fa: faringe; vv: ventosa ventral; vs: vesícula seminal; te: testículo; ov: ovário; seta preta indica o ducto hermafrodita; seta branca indica a incisão lateral na ventosa oral.



**Figura 7.** Micrografia da região posterior do ecsoma de *L. excisum* em lâmina histológica. Lâmina está corada em hematoxilina e eosina (HE). Observe o padrão plicado do tegumento do ecsoma (seta).
# 3.2.2 Família Hemiuridae Looss, 1899 Subfamília Elytrophallinae Skrjabin & Guschanskaja, 1955 Gênero *Lecithocladium* Lühe, 1901 *Lecithocladium chaetodipteri* Amato, 1983

## 3.2.2.1 Descrição morfológica

Baseada em 15 espécimes maduros. Medidas estão na tabela 5. Figuras 8 e 9. Corpo alongado, maior largura na região posterior do corpo, antes do ecsoma. Parte do ecsoma está inserido em uma cavidade na extremidade posterior do corpo. Tegumento do corpo plicado. Tegumento do ecsoma liso. Lobo pré-oral pequeno ou ausente. Ventosa oral subterminal, em forma de funil, com duas incisões laterais delimitando um lábio ventral. Faringe mais longa que larga. Ventosa ventral antes da região média do corpo, simétrica. Ramificação cecal imediatamente abaixo da faringe, antes da ventosa ventral. Ceco não ondulado, alcançando quase o limite posterior do ecsoma. Dois testículos, margem lisa, em posição oblíqua ou em tandem, pós-acetabulares, na região anterior da porção média da parte posterior do corpo. Vesícula seminal mais longa que larga, pré-testicular ou sobreposta à margem anterior do testículo, com parede muscular espessa. Poro genital na superfície ventral da ventosa oral. Ovário pós-testicular. Numerosos túbulos vitelínicos, enrolados, lateralmente ao nível do ovário ou pós-ovarianos, alcançando o ovário. Útero ocupando a porção média da parte posterior do corpo, atingindo a porção anterior do ecsoma; repleto de ovos. Ovo elíptico, mais longo que largo. Ramos da vesícula excretora iniciam lateralmente à ventosa oral, unindo-se dorsalmente à ventosa ventral. Poro excretor na ponta da extremidade posterior.

Hospedeiro	Chaetodipterus faber (Broussonet)	Chaetodipterus faber (Broussonet)
Característica / Localidade	Brasil	Brasil
Comprimento total (N=15)	1317,33 – 3994,47 (2279)	1590 - 2090
Largura total (N=15)	182,74 - 628,66 (340,38)	540 - 675
Comprimento do ecsoma (N=15)	185,64 - 1211,88 (488.29)	910 - 1490
Largura do ecsoma (N=15)	163,53 - 438,62 (256,65)	ND
Distância entre ventosas (N=15)	164,67 – 579,89 (284,20)	ND
Comprimento da ventosa oral (N=10)	120,13 – 356,97 (224,16)	220 - 350
Largura da ventosa oral (N=15)	116,50 - 380,33 (225,87)	285 - 326
Comprimento da faringe (N=10)	154,23 - 253,46 (201,82)	204 - 269
Largura da faringe (N=10)	51,03 - 128,90 (86,50)	122 - 163
Comprimento da ventosa ventral (N=15)	146,93 - 373,40 (261,32)	244 - 261
Largura da ventosa ventral (N=15)	129,36 - 280,19 (225,89)	301 - 326
Comprimento da vesícula seminal (N=15)	116,94 - 489 (269,04)	285 - 457
Largura da vesícula seminal (N=15)	53,61 - 145,08 (80,35)	ND
Comprimento da glândula prostática (N=2)	425,52 - 698,08 (561,80)	693
Comprimento do testículo anterior (N=15)	66,01 - 175,48 (110,75)	106 - 122
Comprimento do testículo posterior (N=15)	75,75 - 157,56 (110,43)	89 - 114
Largura do testículo anterior (N=15)	53,74 - 142,49 (83,54)	122 -138
Largura do testículo posterior (N=15)	51,17 - 136,89 (87,14)	97 -122
Comprimento do saco hermafrodita (N=2)	144,04 - 201,19 (172,61)	318
Largura do saco hermafrodita (N=3)	63,97 - 116,49 (94,97)	ND
Comprimento do ovário (N=15)	60,62 - 146,98 (97,21)	106 - 122
Largura do ovário (N=15)	55,57 - 167,61 (108,31)	163 - 195
Comprimento do ovo (N=15)	5,90 - 21,29 (15,99)	18 - 20
Largura do ovo (N=15)	3,93 - 12,59 (10,12)	10
Referência	Presente estudo (2023)	Amato (1983)

**Tabela 5.** Dados morfométricos (variação e valor médio) de *L. chaetodipteri*, hospedeiro e localidade.

 **Abreviação:** ND: não disponível.



**Figura 8.** Micrografias de *L. chaetodipteri* através da microscopia eletrônica de varredura. a: visão látero-ventral; b: tegumento do soma; c: tegumento do ecsoma; d: extremidade posterior, exibindo detalhe do poro excretor. **Abreviações:** vv: ventosa ventral; vo: ventosa oral.



**Figura 9.** Micrografias de *L. chaetodipteri* corado em carmim clorídrico. a: visão latero-ventral; b: extremidade anterior em visão lateral; c: estruturas reprodutivas em visão ventral; d: extremidade posterior, em visão lateral. **Abreviações:** vo: ventosa oral; \*: poro genital; fa: faringe; vs: vesícula seminal; te: testículo; ov: ovário; seta preta indica o ducto hermafrodita; seta branca indica a incisão lateral na ventosa oral.

## 3.2 Análise filogenética

A matriz foi constituída por 35 táxons e 1228 caracteres, dos quais 654 eram conservados e 484 eram variáveis parsimônio-informativas. A inferência Bayesiana calculou uma probabilidade marginal estimada média de -9156,7453, com um valor mediano de - 9156.412. O tamanho efetivo da amostra para todos os parâmetros foi 7414,4, demonstrando a robustez das amostras. As duas topologias construídas com diferentes critérios de otimalidade, ML e BI, foram similares, com pouca variação nos valores de suportes dos nós. O espécime de *Lecithocladium excisum* e *L. chaetodipteri* aqui sequenciados agruparam com outro espécime de *L. excisum* (figura 10) com um alto valor de repetição para ML (100%) e alto valor de probabilidade de suporte de nós na BI (BBP = 1).



**Figura 10.** Relações filogenéticas entre sequências de espécies selecionadas das famílias Lecithasteridae, Hemiuridae e Bunocotylidae, incluindo os espécimes de *L. excisum* e *L. chaetodipteri* aqui sequenciados, com base em análises do gene 28S parcial. A árvore foi inferida utilizando a máxima verossimilhança (ML) e inferência bayesiana (BI). O suporte nodal é descrito à esquerda pelos valores obtidos na ML e à direita pelos obtidos na BI. \* Indica que este valor de nó não foi calculado. - indica valores de suporte nodal inferior a 70 ou 0,7.

3.3 Família Sclerodistomidae Odhner, 1927 Subfamília Prosogonotrematinae Vigueras, 1940 Gênero *Prosogonotrema* Vigueras, 1940 *Prosogonotrema bilabiatum* Vigueras, 1940

### 3.3.1 Descrição morfológica

Baseada em 41 espécimes maduros. Medidas estão na tabela 6. Figuras 11, 12 e 13. Corpo fusiforme a cilíndrico, alongado, um pouco achatado, com bandas de fibras musculares estriadas ao longo do eixo longitudinal, maior largura no nível da ventosa ventral. Tegumento plicado, com fina camada cuticular, revestido por camada sincicial com glândulas mucosas. Dois lábios pré-orais, semicirculares, na extremidade anterior, cobrindo parcialmente a superfície anterior da ventosa oral. Ventosas bem desenvolvidas, fortemente musculares, com bandas de musculatura estriada em orientação transversal e longitudinal. Ventosa oral na extremidade anterior, subterminal, simétrica ou um pouco mais larga do que comprida; ocorrem pequenos grupos de estruturas vacuolares. Ventosa ventral simétrica, na porção média ou médio-posterior do corpo. Pré-faringe não observada. Faringe curta, imediatamente abaixo da ventosa oral, fortemente muscular. Esôfago curto, imediatamente abaixo da faringe. Gânglio cerebral em ambos os lados da faringe, lateralmente; composto de fibras nervosas. Ramificação cecal imediatamente abaixo do esôfago. Ceco longo, dorsal, término em fundo cego, se estendendo até a extremidade posterior, passando externamente ou quase sobrepondo os testículos; ondulado, principalmente no segmento terminal; gastroderme com microvilos ao longo do revestimento interno do ceco, na extremidade posterior com projeções piramidais. Dois testículos, redondos ou elípticos, simétricos ou um maior que o outro, lado a lado ou em posição oblíqua. Saco do sinus alongado, abrigando toda extensão do órgão do sinus. Órgão do sinus bem desenvolvido, alongado, cilíndrico, liso, associado na base ao saco do sinus; composto por epitélio de revestimento, tecido conjuntivo, feixes de músculo e longo metratermo e ducto ejaculatório na porção posterior; abertura do ducto hermafrodita na ponta do órgão do sinus. Poro genital na extremidade anterior, numa invaginação do tegumento na superfície ventral da ventosa oral. Vesícula seminal parcialmente intertesticular e parcialmente pré-testicular, longa, larga, tubular, contorcida, sobrepondo-a; delimitada por uma fina camada de epitélio, contendo espermatozoide no lúmen. Glândula prostática longa, sinuosa, composta por um ducto interno e células serosas com citoplasma basofílico; anterior à vesícula seminal e dorsal ao órgão do sinus; envolto por uma cápsula de tecido conjuntivo denso, da qual partem septos. Ovário redondo ou elíptico, pós-testicular, dorsal, antero-dorsal ou latero-dorsal à ventosa ventral; circundado por uma camada de tecido conjuntivo. Glândula de Mehlis lateral ou posterior ao ovário, com ducto principal central e parênquima com estruturas glandulares compostas por células de natureza serosa com citoplasma basofílico e grânulos citoplasmáticos. Útero tubular, enrolado, pré-acetabular ou sobrepondo parcialmente a margem anterior da ventosa ventral, intercecal ou passando externamente aos cecos, alcançando a base do órgão do sinus; revestido por epitélio cúbico; repleto de ovos. Receptáculo seminal lateral ao ovário; circundado por uma camada de tecido conjuntivo, contendo espermatozoide. Um, dois ou mais tubos vitelínicos, delgados, longos, convolutos, em ambos os lados ou só em um, dorsal, extracecal ou equatorial, e às vezes sobrepõem ceco, testículos, útero, ovário e margem anterior da ventosa ventral, alcançando a glândula de Mehlis; revestido por epitélio de pavimentoso a cúbico, composto por células poliédricas com núcleo central e citoplasma basofílico. Ovos redondos a ovais, casca espessa. Vesícula excretora em forma de Y, formando uma estrutura sacular estreita e sinuosa na porção anterior e dilatada na posterior, inicia dorsalmente a ventosa oral e se une na região pós-acetabular, revestida por fina membrana e projeções em direção ao lúmen, com grânulos; ramos da vesícula excretora revestidos por células cuboides nas quais ocorrem pequenos grânulos. Vesícula excretora acessória dorsal a vesícula excretora; revestida por epitélio cilíndrico com grânulos citoplasmático, superfície apical fragmentada e com pequenas dobras; revestimento delimita uma cavidade interna. Poro excretor na ponta da extremidade posterior.

Hospedeiro	Chaetodipterus faber (Broussonet)	Ocyurus chrysurus (Bloch)	Lutjanus adetii (Castelnau) e Platax pinnatus (Linnaeus)	Lutjanus griseus (Linnaeus)	<i>C. faber</i> (Broussonet)	Lutjanus synagris (Linnaeus)
Característica / Localidade	Brasil	Cuba	Austrália	Venezuela	Brazil	Colômbia
Comprimento total (N=41)	1620,54 - 11778,30 (6047,87)	3200 - 6000	4275 - 6878	5580 - 8244	4270 - 5830	3960 - 4070
Largura total (N=40)	755,32 - 4015,55 (2386.25)	2200 - 3000	2090 - 2565	2566 - 2880	1950 - 2410	1220 - 1980
Distância entre ventosas (N=41)	356,76 - 4689,92 (2283,31)	ND	ND	ND	ND	ND
Comprimento da ventosa oral (N=41)	213 - 1093,88 (613,02)	460	494 - 589	540 - 720	432 - 526	540 - 576
Largura da ventosa oral (N=41)	215,08 - 1218,07 (710,57)	540	494 - 589	540 - 720	486 - 688	480 - 492
Comprimento da faringe (N=41)	135,63 - 573,38 (341,37)	200	234 - 268	270 - 378	256 - 337	576
Largura da faringe (N=41)	139,04 - 550,60 (332,20)	250	234 - 308	270 - 378	256 - 337	516
Comprimento da ventosa ventral (N=41)	676,24 - 2926,12 (1880,62)	1860	1273 - 1786	1548 - 2196	1400 - 1740	1584 - 1776
Largura da ventosa ventral (N=39)	676,24 - 2926,12 (1796,37)	1860	1273 - 1786	1548 - 2196	1400 - 1740	1481 - 1730
Comprimento do testículo esquerdo (N=39)	206,75 - 872,34 (469,82)	250	ND	324 - 756	391 - 405	360
Comprimento do testículo direito (N=38)	204,11 - 809,29 (471,62)		ND		405 - 486	360
Largura do testículo esquerdo (N=39)	159,72 - 840,01 (466,22)	350	ND		391 - 607	240
Largura do testículo direito (N=39)	135,51 - 738,92 (454,23)	550	ND		283 - 432	180
Comprimento do órgão do sinus (N=16)	293,40 - 1727,91 (1005,45)	500*	335 - 502	ND	310 - 472	ND
Largura do órgão do sinus (N=17)	128,05 - 535,70 (286,43)	410*	ND	ND	ND	ND
Comprimento do ovário (N=21)	198,50 - 734,19 (466,70)	290	ND	360 - 405	283 - 513	ND
Largura do ovário (N=20)	172,18 - 865,49 (510,74)	350	ND	468 - 630	378 - 634	ND
Comprimento do ovo (N=35)	12,75 - 32,08 (23,77)	21 - 25.2	24 - 27	ND	22 - 26	24
Largura do ovo (N=35)	9,03 - 17,57 (13,61)	10,8 - 11,3	13 - 16	ND	12 - 16	12
Referência	Presente estudo	Vigueras (1940) *Vigueras (1956)	Manter (1969)	Nasir (1973)	Amato (1983)	Vélez (1987)

Tabela 6. Dados morfométricos (variação e valor médio) de *P. bilabiatum*, hospedeiro e localidade. Abreviação: ND: não disponível.

Hospedeiro	Naso hexacanthus (Bleeker)	Rhomboplites aurorubens (Cuvier)	<i>Epinephelus</i> areolatus (Forsskål)	
Característica / Localidade	Japão	Brasil	Kuwait	
Comprimento total (N=41)	6200 - 17300	6190 - 9160	4675	
Largura total (N=40)	2600 - 5500	3380 - 4460	2375	
Distância entre ventosas (N=41)	ND	ND	ND	
Comprimento da ventosa oral (N=41)	900 - 1500	460 - 800	400	
Largura da ventosa oral (N=41)	1100 - 1600 690 - 1050		500	
Comprimento da faringe (N=41)	460 210 - 380		220	
Largura da faringe (N=41)	350	300 - 450	280	
Comprimento da ventosa ventral (N=41)	1700 - 3600	2070 - 2870	1250	
Largura da ventosa ventral (N=39)	1800 - 4100	2100 - 2920	1375	
Comprimento do testículo esquerdo (N=39)	710 1190	440 - 630	250	
Comprimento do testículo direito (N=38)	/10 - 1180	470 - 740	250	
Largura do testículo esquerdo (N=39)	700 1280	540 - 780	255	
Largura do testículo direito (N=39)	790 - 1380	520 - 800	300	
Comprimento do órgão do sinus (N=16)	ND	ND	410	
Largura do órgão do sinus (N=17)	ND	ND	160	
Comprimento do ovário (N=21)	370 - 680	420 - 650	250	
Largura do ovário (N=20)	390 - 710	400 - 790	350	
Comprimento do ovo (N=35)	24 - 29	20 - 30	25 - 28	
Largura do ovo (N=35)	16 - 21	10 - 17	10 - 13	
Referência	Machida & Uchida (1990)	Justo et al. (2003)	Sey et al. (2003)	

**Tabela 6.** Dados morfométricos (variação e valor médio) de *P. bilabiatum*, hospedeiro e localidade. **Abreviação:** ND: não disponível (continuação).



**Figura 11.** Micrografias de *P. bilabiatum* através da microscopia eletrônica de varredura. a: visão ventral; b: extremidade anterior em visão ventral; c: visão ventral, exibindo detalhe do órgão do sinus e ponta do ducto hermafrodita; d: ventosa ventral; e: extremidade posterior; f: extremidade posterior, exibindo detalhe do poro excretor. **Abreviações:** lp: lábios pré-orais; os: órgão do sinus; vv: ventosa ventral; pe: poro excretor; seta indica a ventosa oral.



**Figura 12.** Micrografias de *P. bilabiatum* corado em carmim clorídrico. a: extremidade anterior em visão lateral; b e c: estruturas reprodutivas em visão ventral; d: extremidade posterior em visão ventral. **Abreviações:** lp: lábios pré-orais; vo: ventosa oral; os: órgão do sinus; fa: faringe; ce: ceco; te: testículo; gp: glândula prostática; vs: vesícula seminal; ut: útero; tv: tubos vitelínicos; gm: glândula de Mehlis; ov: ovário; vv: ventosa ventral; ve: vesícula excretora; seta indica ponta do órgão do sinus e ducto hermafrodita.



**Figura 13.** Micrografias de *P. bilabiatum* em lâminas histológicas. Lâminas a e c-f estão coradas em hematoxilina e eosina (HE) e b em tricrômico de Gomori (TG). a: extremidade anterior, corte transversal; b-d: estruturas reprodutivas, corte longitudinal; e: extremidade posterior, corte longitudinal; f: detalhe das projeções cecais na extremidade posterior do ceco, corte longitudinal. **Abreviações:** re: ramos da vesícula excretora; vo: ventosa oral; fa: faringe; \*: gânglio cerebral; rc: ramificação cecal; os: órgão do sinus; gp: glândula prostática; vs: vesícula seminal; tg: tegumento; ut: útero; tv: tubos vitelínicos; rs: receptáculo seminal; ov: ovário; gm: glândula de Mehlis; vv: ventosa ventral; ce: ceco; ve: vesícula excretora; va: vesícula excretora acessória; seta indica metratermo e ducto ejaculatório.

## 3.3.2 Análise filogenética

A matriz foi constituída por 15 táxons e 1196 caracteres, dos quais 698 eram conservados e 210 eram variáveis parsimônio-informativas. A inferência Bayesiana calculou uma probabilidade marginal estimada média de -3972,8624, com um valor mediano de - 3972,51. O tamanho efetivo da amostra para todos os parâmetros foi 14102, demonstrando a robustez das amostras. As duas topologias construídas com diferentes critérios de otimalidade, ML e BI, foram similares, com pouca variação nos valores de suportes dos nós. O espécime de *Prosogonotrema bilabiatum* aqui sequenciado agrupou com outros dois espécimes de *P. bilabiatum* (figura 14) com um alto valor de repetição para ML (100%) e alto valor de probabilidade de suporte de nós na BI (BBP = 1).



**Figura 14.** Relações filogenéticas entre sequências de espécies selecionadas das famílias Sclerodistomidae, Derogenidae e Didymozoidae, incluindo o espécime de *P. bilabiatum* aqui sequenciado, com base em análises do gene 28S parcial. A árvore foi inferida utilizando a máxima verossimilhança (ML) e inferência bayesiana (BI). O suporte nodal é descrito à esquerda pelos valores obtidos na ML e à direita pelos obtidos na BI. \* Indica que este valor de nó não foi calculado. - indica valores de suporte nodal inferior a 70 ou 0,7.

## 4 DISCUSSÃO

#### 4.1 Aponurus laguncula Looss, 1907

*Aponurus* Looss, 1907 (Lecithasteridae: Lecithasterinae) é um gênero caracterizado por espécies que possuem um saco do sinus piriforme, que se localiza dorsalmente ao poro genital, e material vitelogênico organizado em folículos (LOOSS, 1907). Gibson e Bray (2002) apresentam como características na chave de identificação deste gênero a ausência de átrio genital ou ocorrência de um pequeno, ovário oval a globular, lobos vitelogênicos em forma globular e dois testículos. Esses autores também consideraram *Bilqeesotrema* Gupta e Jain, 1991 como sinonímia de *Aponurus*.

Aponurus laguncula Looss, 1907, espécie-tipo do gênero (WORMS, 2023), foi originalmente descrito por Looss, em 1907, em Trieste, na Itália. Na ocasião, o autor não especificou a espécie-tipo do hospedeiro, mas citou os seguintes peixes como seus hospedeiros: *Belone belone* (Linnaeus), *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus), *Mullus barbatus* Linnaeus, *Merlangius merlangus* (Linnaeus), *Trachinus draco* Linnaeus e *Merluccius merluccius* (Linnaeus) (LOOSS, 1907; 1908). Esta espécie é caracterizada principalmente por gônadas redondas e de margem lisa, reserva vitelogênica organizadas em folículos arredondados, glândula prostática tão longa quanto o saco do sinus e vesícula seminal localizada anteriormente à ventosa ventral, não ultrapassando a sua margem anterior (LOOSS, 1907; 1908). *Aponurus elongatus* Siddiqi & Cable, 1960, *Aponurus trachinoti* Manter, 1940, *Aponurus waltairensis* Hussain, Rao & Shyamasundari, 1984 e *Lecithophyllum trachinoti* (Manter, 1940) Yamaguti, 1971 são considerados sinonímias de *A. laguncula* (BRAY & MACKENZIE, 1990).

Este parasito já foi reportado em: *Centropristis striata* (Linnaeus), *Lagocephalus laevigatus* (Linnaeus) e *Paralichthys albigutta* Jordan & Gilbert no Golfo do México (NAHHAS & SHORT, 1965); *Trachinotus ovatus* (Linnaeus) em Gana (FISCHTHAL & THOMAS, 1971); *Platycephalus bassensis* Cuvier, *Platycephalus grandispinis* Cuvier e *Platycephalus richardsoni* Castelnau na Austrália (HOOPER, 1983); *Clupea harengus* Linnaeus no Canal da Mancha (BRAY & MACKENZIE, 1990); *Pomacentrus moluccensis* Bleeker, *Callionymus limiceps* Ogilby, *Platycephalus endrachtensis* Quoy & Gaimard e *Platycephalus fuscus* Cuvier na Austrália (BRAY et al., 1993); *Mullus surmuletus* Linnaeus na Argélia (BRAHIM et al., 2009); *Percophis brasiliensis* Quoy & Gaimard nos litorais argentino e uruguaio (BRAICOVICH et al., 2009); *Aluterus monoceros* (Linnaeus) no Pacífico Sul (QUILICHINI et al., 2010); *Odontesthes smitti* (Lahille) na Patagônia Argentina (CARBALLO

et al., 2011); *Trachinus draco* Linnaeus na costa espanhola do Mar Mediterrâneo (CARRERAS-AUBETS et al., 2011); *Porichthys porosissimus* (Cuvier) na Argentina (ACEBAL et al., 2011); *Rastrelliger kanagurta* (Cuvier) no Iêmen (AL-ZUBAIDY & MHAISEN, 2014); *Rhomboplites aurorubens* (Cuvier) nos Estados Unidos (CLAXTON et al., 2017); e *Trachinotus rhodopus* Gill na costa mexicana do Pacífico (MARTÍNEZ-FLORES et al., 2023). *Aponurus laguncula* também foi registrado no mar europeu por Costello et al., 2001. No Brasil, *A. laguncula* foi reportado pela primeira vez em *C. faber* em 1985 (FERNANDES et al., 1985). Outros hospedeiros deste parasito nas costas brasileiras são: *Scomber japonicus* Houttuyn, *Trachurus lathami* Nichols, *Umbrina coroides* Cuvier, *Pseudopercis numida* Miranda Ribeiro, *Paralichthys isosceles* Jordan, *Paralichthys patagonicus* Jordan, *Xystreurys rasilis* (Jordan), *Rhomboplites aurorubens* (Cuvier) e *Micropogonias furnieri* (Desmarest) (FERNANDES et al., 1985; FERNANDES et al., 2009; FONSECA et al., 2022; JUSTO et al., 2003; PEREIRA JR. et al., 2000).

Nos espécimes aqui analisados, foram observados valores de comprimento total, comprimento e largura da ventosa oral, comprimento e largura da ventosa ventral, comprimento e largura da vesícula seminal, comprimento do testículo anterior e comprimento do saco do sinus maiores que aqueles já relatados na literatura. Os dados morfométricos e morfológicos dos espécimes aqui observados estão de acordo com descrições prévias da espécie (tabela 3). A maior semelhança nas características morfológicas e nas posições de estruturas e órgãos se observa nas descrições da espécie feitas por Bray & MacKenzie (1990), Bray et al. (1993), Carrera-Aubets et al. (2011), Fernandes et al. (1985), Acebal et al. (2011) e Fonseca et al. (2022).

Este é o primeiro estudo de *A. laguncula* através de MEV. A partir desta análise, foi possível observar o órgão do sinus temporário, que se forma quando o ducto hermafrodita se projeta externamente (GIBSON et al., 2002), bem como a saída do poro genital ventralmente à faringe, além da caracterização lisa do tegumento dessa espécie. Esse também é a primeira análise de *A. laguncula* sob abordagem histológica. Através do emprego dessa análise foi possível observar e confirmar a natureza muscular das ventosas e faringe, além da posição de estruturas como: ducto hermafrodita, glândula prostática, vesícula seminal, testículos e ovário. Foi possível observar as propriedades bioquímicas das células que constituem a glândula prostática, sendo estas acidófilas e constituídas por grânulos citoplasmáticos, caracterizando a natureza secretora dessas células. O uso de uma outra metodologia para estudo morfológico da espécie permitiu a melhor observação e confirmação da localização das gônadas, que em

lâminas coradas em carmim clorídrico eram difíceis de observar devido a sobreposição de grande quantidade de ovos no útero.

O presente estudo forneceu a primeira sequência de 28S de *A. laguncula* obtido de *C. faber* no Brasil. Essa sequência se agrupou com outra sequência de *A. laguncula* (OQ676198), cujo espécime foi coletado de *Trachinotus rhodopus* Gill na costa mexicana do Oceano Pacífico (MARTÍNEZ-FLORES et al., 2023). Entre essas duas sequências, haviam 45 pares de bases diferentes. Esta diferença pode ser um reflexo destes espécimes terem sido coletados de diferentes hospedeiros de diferentes regiões geográficas: os espécimes do presente estudo são do Atlântico enquanto os de Martínez-Flores et al. (2023) são do Pacífico. O gênero *Aponurus* Looss, 1907 agrupou com o gênero *Lecithophyllum* Odhner, 1905 nas árvores filogenéticas resultantes, com alto valor de replicações para ML (97%) e alto valor de probabilidade de suporte de nós para BI (BBP = 0,99). Essa configuração filogenética dos gêneros da família Lecithasteridae Odhner, 1905 foi observada também por Sokolov et al. (2019).

Interessante comentar que Claxton et al. (2017) identificaram seus espécimes como A. *laguncula* (KU527430), coletado de *Rhomboplites aurorubens* (Cuvier) do norte do Golfo do México, oeste do Oceano Atlântico. Porém, em nossa análise filogenética, esta sequência agrupou-se com outras duas sequências: *Aponurus* Looss, 1907 sp. (DQ354368 e HQ713441), o primeiro obtido de *Mullus surmuletus* e o segundo de *Mullus barbatus* Linnaeus e *Mullus surmuletus* e o segundo de *Mullus barbatus* Linnaeus e *Mullus surmuletus* Linnaeus de Besos, Espanha. Carreras-Aubets et al. (2011) identificaram sua sequência, HQ713441, como pertencente a uma nova espécie críptica do gênero: *Aponurus mulli* Carreras-Aubets, Repulles-Albelda, Kostadinova & Carrasson, 2011. Pankov et al. (2006) identificaram sua sequência não mostrou nenhuma diferença com a de Pankov et al. (2006). É provável que o espécime sequenciado por Claxton et al. (2017), na verdade, seja um exemplar de *A. mulli*; ou não é nem *A. mulli* nem *A. laguncula*, sendo então outra espécie do gênero *Aponurus*.

## 4.2 Lecithocladium excisum (Rudolphi, 1819) Lühe, 1901 e Lecithocladium chaetodipteri Amato, 1983

*Lecithocladium* Lühe, 1901 (Hemiuridae: Elytrophallinae) é um gênero caracterizado por espécies com corpo de tamanho médio a longo; apêndice caudal (ecsoma) relativamente longo, mas que pode estar completamente retraído; glândulas vitelogênicas organizadas em tubos longos e contorcidos; útero estendendo-se até o apêndice caudal; e um saco do sinus bem

alongado, mas que não atinge o nível da vesícula seminal (GIBSON et al, 2002; LÜHE, 1901; YAMAGUTI, 1958). Além disso, o tegumento é plicado, a ventosa oral geralmente apresenta formato de funil e a faringe é alongada (GIBSON et al., 2002; LOOSS, 1907). Os seguintes gêneros são considerados sinonímias de *Lecithocladium: Bengalotrema* Malhotra, Nanda, Mukherjee, Ghosh, Sukul & Capoor, 1989, *Cleftocolleta* Sahai & Srivastava, 1978, *Colletostomum* Sahai & Srivastava, 1978 e *Magnapharyngium* Bilqees, 1971 (WORMS, 2023).

Lecithocladium excisum (Rudolphi, 1819) Lühe, 1901, a espécie-tipo do gênero e originalmente denominada Distoma excisum, foi descrita de Scomber scombrus Linnaeus e de Scomber colias Gmelin, respectivamente, de Rimini e Nápoles, na zona costeira italiana (RUDOLPHI, 1819; WORMS, 2023). Looss (1907) registrou Spicara maena (Linnaeus), Gaidropsarus vulgaris (Cloquet), Trachurus trachurus (Linnaeus), Boops boops (Linnaeus), Lophius piscatorius Linnaeus, Spondyliosoma cantharus (Linnaeus) e Cepola macrophthalma (Linnaeus) como hospedeiros de estágios juvenis deste parasito. Além disso, L. excisum foi relatado em S. scombrus Linnaeus na Polônia (MARKOWSKI, 1933); Scomber japonicus Houttuyn no Japão (YAMAGUTI, 1934; ICHIHARA et al, 1968); Caesioperca lepidoptera (Forster) e Parapercis colias (Forster) na Nova Zelândia (MANTER, 1954); S. scombrus Linnaeus na França (MAZZA, 1963); Peprilus burti Fowler no México (NAHHAS & POWELL, 1971); B. boops (Linnaeus), Dentex gibbosus (Rafinesque), Alectis alexandrina (Geoffroy Saint-Hilaire), Caranx rhonchus Geoffroy Saint-Hilaire, Alepes djedaba (Forsskål) e Mullus surmuletus Linnaeus em Israel (FISCHTHAL, 1980); S. scombrus Linnaeus nas Ilhas Faroé, no Atlântico (GIBSON & BRAY, 1986); Trachurus trachurus (Linnaeus) e S. scombrus Linnaeus na Dinamarca (KOIE, 1991); Rachycentron canadum (Linnaeus) e Pampus argenteus (Euphrasen) na Índia (HAFEEZULLAH & DUTTA, 1998); S. scombrus Linnaeus na Turquia (KESER et al, 2007); M. surmuletus Linnaeus na Argélia (BRAHIM et al, 2009); Mugil cephalus Linnaeus na Líbia (AL-BASSEL & HUSSEIN, 2012); S. japonicus Houttuyn e C. rhonchus Geoffroy Saint-Hilaire no Senegal (NDIAYE et al, 2012); S. japonicus Houttuyn na Turquia (AKMIRZA, 2013); Tenualosa ilisha (Hamilton) na Índia (GHOSH et al, 2017). No Brasil, foi registrado em Peprilus paru (Linnaeus) no estado do Rio de Janeiro, região Sudeste (FABIO, 1988). O presente trabalho representa o primeiro registro de L. excisum em C. faber.

Os espécimes aqui analisados apresentaram semelhança morfológica com as descrições de *L. excisum* fornecidas por Markowski (1933), Ichihara et al. (1968) e Hafeezullah & Dutta (1998). Os dados morfométricos e morfológicos dos espécimes aqui estudados estão de acordo com descrições prévias da espécie disponíveis na literatura (tabela 4). Ichihara et al. (1968),

Hafeezullah & Dutta (1998) e Ghosh et al. (2017) registraram a possibilidade de localização do ovário na região de transição entre o corpo propriamente dito (soma) e o ecsoma em *L. excisum*, o que também foi observado em alguns dos espécimes aqui estudados.

Koie (1991), em estudo sobre os estágios de desenvolvimento de L. excisum, observou através do emprego da microscopia eletrônica de varredura, a natureza plicada do tegumento dessa espécie. A mesma caracterização do tegumento foi descrita por Akmirza (2013); Gibson & Bray (1986); Hafeezullah & Dutta (1998); Ichihara et al. (1968); Looss (1907); Markwoski (1933); e Rudolphi (1819). No presente estudo, a utilização da MEV também possibilitou a observação dessa característica. Além disso, foi observado que o tegumento do ecsoma também apresenta plicações, porém menores do que as presentes no corpo, contrariando a descrição de um tegumento do ecsoma liso feita por Gibson & Bray (1986). A natureza plicada do ecsoma de L. excisum também foi possível de ser observada através da lâmina histológica. Gibson & Bray (1986) relatam a ocorrência de plicações mais esparsas e com margens crenadas no tegumento da superfície dorsal do corpo da espécie, localizadas entre as regiões das ventosas oral e ventral, sendo essa característica marcante para L. excisum. Looss (1908) descreve a presença de "ondulações" (tradução de kräuselung, termo empregado por Looss na descrição) no tegumento dessa mesma região. Markowski (1993) relata a mesma característica em seu estudo. Nos espécimes aqui analisados foi possível observar, através da MEV, a presença de plicações mais largas na região indicada por esses autores para a ocorrência da característica.

Lühe (1901), Ichihara et al. (1968), Gibson & Bray (1986) e Hafeezullah & Dutta (1998) descreveram a presença de um lábio ventral delimitado por duas incisões laterais na ventosa oral de *L. excisum*. Rudolphi (1819) descreve a presença de uma concavidade na superfície ventral da região entre as duas ventosas da espécie. Ambas as características foram possíveis de serem observadas através de análises de microscopia óptica e MEV no presente estudo.

Amato (1983) descreveu *L. chaetodipteri* Amato, 1983 de *C. faber* (Broussonet) proveniente do estado de Santa Catarina, sul do Brasil, enquanto Cezar & Luque (1999) coletaram este parasito do mesmo hospedeiro no estado do Rio de Janeiro, sudeste brasileiro. No presente estudo, foram relatados espécimes com valores de comprimento total, comprimento e largura da ventosa oral, comprimento da ventosa ventral, comprimento da vesícula seminal, comprimento da glândula prostática, comprimento e largura dos testículos, comprimento do ovário e comprimento e largura do ovo maiores do que aqueles observados por Amato (1983) (tabela 5). De maneira geral, a morfologia aqui observada estava de acordo com a descrita por Amato (1983). Comparado com a descrição original, observou-se o possível

arranjo dos testículos em *tandem*, o que não havia sido relatado anteriormente. Além disso, os testículos posteriores parecem ser menores que os anteriores na descrição original (AMATO, 1983), enquanto que no presente estudo os testículos anteriores e posteriores são simétricos.

Este é o primeiro estudo de *L. chaetodipteri* através da MEV, o que permitiu confirmar a caracterização do tegumento do corpo e do ecsoma como, respectivamente, plicado e liso, conforme descrito por Amato (1983). Além disso, embora Amato (1983) tenha descrito uma projeção circular circundando a ventosa oral, com uma protuberância ventral, nos espécimes aqui estudados foi possível observar, através das microscopias óptica e eletrônica, incisuras laterais (as mesmas observadas na ventosa oral de *L. excisum*) e isso não foi relatado na descrição original. Não foi possível processar histologicamente os espécimes de *L. chaetodipteri*.

Amato (1983) utilizou a proporção do tamanho da ventosa como característica para distinguir *L. excisum* de *L. chaetodipteri*. No presente estudo, foi observado que, em média, a distância entre a ventosa oral e a ventosa ventral em *L. chaetodipteri* é maior. Além disso, o ecsoma é mais longo e fino em *L. excisum* e menor e mais largo em *L. chaetodipteri*. O tegumento do ecsoma é liso em *L. chaetodipteri*, enquanto que em *L. excisum* ele apresenta plicações. Outra diferença entre essas espécies é a presença de um tegumento côncavo na superfície ventral da região entre as ventosas e de plicações mais largas na superfície dorsal desta mesma região em *L. excisum*. Comparando os espécimes de ambas as espécies do gênero *Lecithocladium* coletadas de *C. faber* no presente estudo, *L. chaetodipteri* apresentou uma ventosa oral, faringe, vesícula seminal, ovário e ovos maiores do que os de *L. excisum*.

Lecithocladium excisum e L. chaetodipteri aqui sequenciados agruparam com uma sequência de L. excisum disponível no GenBank (AY222203), obtido de S. scombrus Linnaeus no Mar do Norte, Reino Unido (OLSON et al., 2003). Lecithocladium excisum aqui sequenciado e L. excisum previamente sequenciado não tinham bases diferentes em suas sequências, enquanto que L. chaetodipteri tinha 194 pares de bases a menos que L. excisum anteriormente sequenciado. A subfamília Elytrophallinae Skrjabin & Guschanskaja, 1955, representada na análise filogenética por essas três sequências de Lecithocladium, agrupou com a subfamília Dinurinae Looss, 1907, representada pelas espécies Ectenurus virgula Linton, 1910 e Dinurus longisinus Looss, 1907 na presente análise, com alto valor de replicações para ML (95%) e alto valor de probabilidade de suporte de nós para BI (BBP=1). Este agrupamento de subfamílias também foi observado em estudo prévio sobre análise filogenética de Hemiuroidea baseada em 28S parcial (SOKOLOV et al, 2019). O presente estudo forneceu a

primeira sequência de 28S de *L. chaetodipteri*. Além disso, é a primeira sequência de 28S de *L. excisum*, cujo espécime foi obtido de *C. faber* no litoral brasileiro. A confirmação da espécie *L. excisum* através de estudos moleculares reforça a identificação desta espécie de parasito, endossando assim um novo registro de espécie de parasito para *C. faber*.

#### 4.3 Prosogonotrema bilabiatum Vigueras, 1940

Prosogonotrema bilabiatum Vigueras, 1940 foi descrito em 1940 por Vigueras, a partir de espécimes coletados de Ocyurus chrysurus (Bloch) na costa norte de Havana, Cuba. Esta espécie é caracterizada principalmente pela localização de estruturas reprodutivas na região préacetabular e por possuir dois lábios semicirculares na região pré-oral (VIGUERAS, 1940; 1956). Nesse estudo, Vigueras estabeleceu o gênero Prosogonotrema Vigueras, 1940, a subfamília Prosogonotrematinae Vigueras, 1940 e a família Prosogonotrematidae Vigueras, 1940 para acomodar a nova espécie. Segundo Vigueras (1940), Prosogonotrema não poderia ser incluído na família Hemiuridae Looss, 1899 devido à presença de um cirro bem definido e de um saco do cirro, estruturas reprodutivas em localização pré-acetabular e dois lábios préorais na extremidade anterior. Gibson & Bray (1979) apontaram a família Prosogonotrematidae como sinonímia de Sclerodistomidae Odhner, 1927, devido à presença de uma vesícula excretora acessória, que ocorre de forma única em Prosogonotrema. Consequentemente, o gênero passou a ser incluído na superfamília Hemiuroidea Looss, 1899. Gibson & Bray (1979) consideraram Bhaleraoia Srivastava, 1948 como uma sinonímia duvidosa de Prosogonotrema. Apesar de ambos possuírem morfologias correlacionadas, Bhaleraoia teve uma descrição escassa e apresenta um suposto uroprocto que provavelmente é uma interpretação errada da vesícula excretora acessória (GIBSON et al., 2002).

Prosogonotrema bilabiatum já foi registrado em Ocyurus chrysurus (Bloch) no Caribe (SOGANDARES-BERNAL, 1959); Lutjanus adetii (Castelnau) e Platax pinnatus (Linnaeus) na Austrália (MANTER, 1969); Lutjanus griséus na Venezuela (NASIR, 1973); Lutjanus synagris (Linnaeus) no Caribe (VÉLEZ, 1987); Naso hexacanthus (Bleeker) no Japão (MACHIDA & UCHIDA, 1990); Platax orbicularis (Forsskål) na costa da Índia (HAFEEZULLAH & DUTTA, 1998); e Epinephelus areolatus (Forsskål) no Kuwait (SEY et al., 2003). No Brasil, a espécie foi relatada pela primeira vez em C. faber (Broussonet) no estado de Santa Catarina (AMATO, 1983) e novamente coletada no mesmo hospedeiro por Cezar & Luque (1999) no estado do Rio de Janeiro. Outro registro de hospedeiro é em Rhomboplites aurorubens (Cuvier) no Rio de Janeiro e Espírito Santo (JUSTO et al., 2003).

Os espécimes de *P. bilabiatum* aqui estudados apresentaram uma ampla variação morfométrica. Curiosamente, foram observados espécimes com comprimento do órgão do sinus de 1005,45µm, aproximadamente duas vezes maior que o comprimento registrado em descrições prévias (502µm) (MANTER, 1969). Além disso, a posição das estruturas reprodutivas (como útero e tubos vitelínicos) e do ceco também variou. Em alguns espécimes, os tubos vitelínicos e o ceco se sobrepuseram, respectivamente, ao ceco e ao útero. Além disso, os testículos, a vesícula seminal e a glândula prostática se sobrepuseram ao útero. No entanto, não houve variações na forma e tamanho do corpo, ventosas orais e ventrais, faringe, testículos e ovários em comparação com os espécimes já descritos. No geral, as medidas e variações dos espécimes do presente estudo estão de acordo com as descrições anteriores (tabela 6), exceto o comprimento do ovo que apresentou um valor maior do que já foi registrado na literatura.

Nasir (1973), Yadav (1980) e Sey et al. (2003) consideraram Prosogonotrema abalisti Parukhin, 1964, Prosogonotrema carangi Velasquez, 1961, Prosogonotrema clupeae Yamaguti, 1952, Prosogonotrema pritchardae Hafeezullah, 1971, Prosogonotrema subequilatum Pritchard, 1963, Prosogonotrema symmetricum Oshmarin, 1965 e Prosogonotrema zygaenae Ali & Bagwan, 1971 como sinonímias de P. bilabiatum. Madhavi & Bray (2018) incluíram, com exceção de P. symmetricum, as mesmas espécies como sinonímias de P. bilabiatum. Hafeezullah & Dutta (1998) sugeriram que Prosogonotrema plataxum Gu e Shen, 1979 e Prosogonotrema caesionis Gu e Shen, 1979 deveriam ser incluídos na lista de sinonímias estabelecida por Nasir. Segundo esses autores, as diferenças no tamanho do corpo, formato e localização de estruturas, número de tubos vitelínicos e hospedeiro foram utilizados como critério para distinguir essas espécies. Portanto, para eles, essas características parecem ser somente variações morfológicas, mas não suficientes para definir as espécies como diferentes. No entanto, Dronen et al. (2022) afirmaram que todas as espécies sinonímias consideradas por Nasir, Yadav e Sey et al. são espécies válidas e usaram todas as características citadas acima para justificar esta validade. Dronen et al. (2022) propõem ainda uma chave para identificar as espécies do gênero Prosogonotrema Vigueras, 1940. No presente estudo, a morfometria e as estruturas morfológicas dos exemplares variaram conforme as daquelas espécies consideradas sinonímias. Dronen et al. (2022) sugerem que estudos moleculares dessas espécies devem ser realizados para se chegar a um resultado mais conclusivo sobre as espécies válidas e sinonímias de Prosogonotrema e sobre as relações filogenéticas neste gênero.

O estudo de *P. bilabiatum* através de microscopia eletrônica de varredura corroborou as descrições de estruturas reportadas anteriormente em análises de microscopia óptica: um corpo

cilíndrico, alongado e em forma de fuso, um pouco achatado, com a maior largura ao nível da ventosa ventral (HAFEEZULLAH & DUTTA, 1998; VIGUERAS, 1940; VIGUERAS, 1956); dois lábios pré-orais semicirculares que cobrem parcialmente a superfície anterior da ventosa oral (AMATO, 1983; HAFEEZULLAH & DUTTA, 1998; MADHAVI & BRAY, 2018; MANTER, 1969; NASIR, 1973; SEY et al., 2003; VIGUERAS, 1940; VIGUERAS, 1956); ventosas oral e ventral com uma estrutura robusta, bem definida e delimitada, mostrando uma estrutura desenvolvida de ambas as ventosas (AMATO, 1983; HAFEEZULLAH & DUTTA, 1998; MANTER, 1969; NASIR, 1973; VÉLEZ, 1987; VIGUERAS, 1940; VIGUERAS, 1956); e a localização do poro excretor no topo da extremidade posterior do parasito (AMATO, 1983; MANTER, 1969; SEY et al., 2003). Além disso, foi possível observar a localização detalhada do poro genital dessa espécie, que já foi descrita previamente (AMATO, 1983; HAFEEZULLAH & DUTTA, 1998; MADHAVI & BRAY, 2018; MANTER, 1969; NASIR, 1973; VIGUERAS, 1940; VIGUERAS, 1956). Essa estrutura está localizada em uma invaginação do tegumento da superfície ventral da ventosa oral, ao nível da faringe. A MEV permitiu também a observação da saída do ducto hermafrodita no topo da extremidade anterior de um órgão do sinus cônico. Essa é a primeira vez que essa característica é reportada em P. bilabiatum.

A análise de MEV possibilitou uma clara descrição do tegumento da espécie que nunca foi relatada anteriormente. Foi possível observar um padrão plicado do tegumento de *P. bilabiatum*. Esse padrão pode ser visto como pequenas dobras que ocorrem transversalmente ao longo de toda superfície do corpo do parasito, como um ornamento anular do tegumento. Amato (1983), Sey et al. (2003), Vigueras (1940) e Vigueras (1956) descreveram um tegumento liso nessa espécie. Provavelmente esses autores não conseguiram observar o tegumento plicado porque essa característica não pode ser observada através da microscopia óptica. A respeito da possibilidade de ocorrência de um tegumento não liso em Hemiuroidea Looss, 1899, Gibson & Bray (2002) afirmam a possibilidade de um tegumento enrugado na família Sclerodistomidae e enrugado ou plicado na superfamília Hemiuroidea Looss, 1899. Os autores sugerem que as plicações podem desempenhar um papel de defesa no parasito, em condições de pH ácido ou alta osmolaridade, e também facilitar a mobilidade do organismo (GIBSON & BRAY, 1979). Filippi et al. (2012) também afirmam que um tegumento plicado pode atuar no aumento da superfície contato para absorção de nutrientes.

O estudo histológico confirmou a posição e a disposição dos órgãos conforme observado na microscopia óptica: ventosas musculares bem desenvolvidas, compostas de feixes

musculares em orientação transversal e longitudinal delimitados por uma fina camada de tecido conjuntivo; uma faringe muscular imediatamente abaixo da ventosa oral; a ramificação cecal imediatamente abaixo do esôfago; longos cecos terminados em fundo cego; estruturas reprodutivas localizadas na região pré-acetabular; um órgão do sinus alongado e cônico; um receptáculo seminal lateral ao ovário; uma vesícula excretora em formato de "Y"; e a presença de uma vesícula excretora acessória. De maneira geral, a natureza histológica das estruturas reprodutivas de *P. bilabiatum* se assemelham àquelas observadas em estudos histológicos de outros digenéticos (HANNA, 2015; PANYARACHUN et al., 2013; SILVA et al., 2005; SWARNAKAR, 2012). Essas estruturas estão circundadas por uma fina camada de epitélio e/ou uma fina camada de tecido conjuntivo e, além disso, a glândula de Mehlis, as estruturas vitelínicas e a glândula prostática são compostas de células com um núcleo evidente e citoplasma basofílico, apresentando uma natureza secretora.

A respeito da estrutura do tegumento, através das lâminas histológicas foi possível observar também o padrão plicado. A presença de glândulas mucosas na camada subcutânea do tegumento provavelmente está relacionada à produção de secreção que auxilia a adesão do parasito na parede do trato digestivo do hospedeiro, proporciona digestão extracorpórea e/ou protege o parasito contra enzimas do hospedeiro (HALTON & DERMOTT, 1967). Nasir (1973) descreve um corpo glandular em *P. bilabiatum*. Essa afirmação provavelmente pode ser uma referência às glândulas mucosas que foram observadas no presente estudo. Madhavi & Bray (2018) descreveram um tegumento muscular e nas análises histológicas aqui feitas, isso foi corroborado: feixes de músculo estriado foram observados ao longo do eixo longitudinal do corpo do parasito, próximo ao revestimento tegumentar. A presença desses músculos pode estar associada a um alto grau de mobilidade.

Cordões nervosos longitudinais compostos de fibras nervosas foram observados em cortes histológicos transversais, em ambos os lados e lateralmente à faringe. Esta observação está de acordo com a descrição do sistema nervoso em Platyhelminthes, no qual existem dois gânglios cerebrais na região da faringe (QUIROGA et al., 2015). O epitélio do revestimento do ceco se assemelha ao descrito no cestoide *Echinostoma revolutum* (Fröhlich, 1802) Looss, 1899 e no trematódeo *Paramphistomum cervi* (Zeder, 1790) Fischoeder, 1901 por Lakshmi & Rao (1978). A gastroderme observada em *P. bilabiatum* apresenta microvilosidades ao longo do revestimento interno do ceco; a extremidade posterior possui estruturas semelhantes às projeções piramidais descritas por esses autores. Essa caracterização da gastroderme, com a

presença dessas especializações no revestimento interno, pode estar associada a um aumento da superfície de contato para garantir uma maior absorção de nutrientes.

Yamaguti (1952) contradisse a terminologia "bolsa do cirro" usada por Vigueras (1940) na descrição original de P. bilabiatum. Segundo ele, o nome correto seria cone genital, já que essa estrutura contém o metratermo, e não o cirro. Curiosamente, Vigueras (1956) utilizou a terminologia sugerida por Yamaguti, incluindo a medida da estrutura e localização do metratermo paralelamente à porção final do ducto ejaculatório nos espécimes. Estudos anteriores (AMATO, 1983; MACHIDA & UCHIDA, 1990; MANTER, 1969; NASIR, 1973; SEY et al., 2003) mencionaram essa estrutura usando o termo cone genital para se referir a ela. Gibson et al. (2002) referem-se a esta estrutura hermafrodita bem desenvolvida como órgão do sinus. No presente estudo foi observada uma estrutura semelhante à descrita para P. clupea por Yamaguti (1952) e para P. carangi por Hussain & Rao (1980), principalmente pela localização do metratermo e do ducto ejaculatório lado a lado e a abertura do ducto hermafrodita na ponta do órgão do sinus. Além disso, a localização do poro genital corroborou com a observada por Vigueras (1940), Yamaguti (1952), Vigueras (1956), Pritchard (1963), Amato (1983), Sey et al. (2003) e Manter (1969); este último especialmente por mencionar que o poro genital está localizado em uma dobra na superfície ventral da ventosa ventral. De fato, os cortes histológicos mostraram que o metratermo e o ducto ejaculatório se estendem paralelamente até quase a extremidade anterior do órgão do sinus e, portanto, a junção dessas estruturas para formar o ducto hermafrodita é mais anterior do que a relatada por Amato (1983) e Sey et al. (2003).

Em Sclerodistomidae Odhner, 1927, a presença de uma vesícula excretora acessória, também conhecida como órgão de Manter, é uma característica do grupo (GIBSON et al., 2002). Na subfamília Prosogonotrematinae Vigueras, 1940 esta vesícula é única (MADHAVI & BRAY, 2018). Manter (1969) descreveu histologicamente essa estrutura com células altas e próximas, nas quais ocorrem dois ou mais núcleos e com muitos grânulos citoplasmáticos. No presente estudo, uma estrutura circular foi observada em corte longitudinal, revestida internamente por um epitélio cilíndrico cuja superfície apical apresenta um certo grau de fragmentação, além da presença de grânulos citoplasmáticos e pequenas dobras do epitélio. Além disso, esse revestimento interno delimita uma cavidade que apresenta algum conteúdo. Essa descrição da vesícula excretora acessória está de acordo com a feita por Manter (1969). Segundo esse autor, o revestimento interno dessa estrutura se assemelha mais ao revestimento cecal do que ao da vesícula excretora; então, possivelmente, a vesícula excretora acessória pode estar mais associada a uma função digestiva do que uma excretora. Sugerimos estudos

histoquímicos futuros dessa estrutura, para estabelecer a natureza bioquímica das células que a compõem bem como a dos grânulos citoplasmáticos presentes nas células e, consequentemente, entender a função dessa estrutura.

Esta é a primeira vez que um espécime de P. bilabiatum coletado de C. faber no Brasil é sequenciado. A sequência obtida agrupou com outras duas sequências de P. bilabiatum disponíveis no GenBank. A sequência aqui obtida não apresentou pares de bases diferentes com P. bilabiatum (código de acesso KU527431) de Claxton et al. (2017). Comparando estas duas sequências com P. bilabiatum (código de acesso AY222191), sequenciado por Olson et al. (2003), existem dois pares de bases diferentes. Claxton et al. (2017) comparou sua sequência com a de Olson et al. (2003) e também observaram dois pares de bases diferentes, provavelmente as mesmas observadas no presente estudo. Claxton et al. (2017) obtiveram P. bilabiatum de Rhomboplites aurorubens (Cuvier) nos Estados Unidos, oceano Atlântico, e Olson et al. (2003) coletaram as espécies de Caesio cuning (Bloch) na Austrália, no Oceano Pacífico. A semelhança entre a sequência obtida no presente estudo com a de Claxton et al. (2017) pode ser potencialmente justificada pela origem de ambos os espécimes, uma vez que foram obtidos na mesma região, o oceano Atlântico Ocidental. Tanto na análise de ML quanto na de BI, a família Sclerodistomidae Odhner, 1927 agrupou-se com a família Derogenidae, apresentando um alto valor de suporte de nós para a BI (BBP=1). Este agrupamento corrobora com estudo anterior sobre relações filogenéticas em Digenea Nicoll, 1910 (OLSON et al, 2003).

## **5 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

No presente estudo foram descritas, em uma abordagem integrativa, através de ferramentas de microscopias óptica e eletrônica de varredura, histologia e molecular, quatro espécies de hemiuróideos parasitos de C. faber, coletado na região costeira do Rio de Janeiro, sudeste do Brasil: Aponurus laguncula, Lecithocladium excisum, L. chaetodipteri e Prosogonotrema bilabiatum. Chaetodipterus faber é registrado como um novo hospedeiro para L. excisum. Foram obtidas variações morfométricas e caracterizações morfológicas para as quatro espécies estudadas, que, de forma geral, variaram de acordo com descrições prévias disponíveis na literatura. Entretanto, existem medidas que representaram um novo maior valor para estruturas e órgãos, além da possibilidade de novas conformações e organização que não foram reportadas previamente de algumas estruturas e órgãos. A aplicação de análises de microscopia eletrônica de varredura e histologia permitiram a corroboração de aspectos morfológicos já observados e descritos; mas além disso, permitiram a descrição e discussão de estruturas e órgãos que geralmente não são passíveis de serem observados, ou dificilmente são, somente com o uso da microscopia óptica. Isso reforça a aplicação de variadas ferramentas para diagnóstico e descrição das espécies, endossando a importância da taxonomia integrativa. Esse é o primeiro estudo de abordagem em MEV para A. laguncula, L. chaetodipteri e P. bilabiatum; é o primeiro estudo sob a perspectiva histológica para A. laguncula, L. excisum e P. bilabiatum. Foram providos os primeiros sequenciamentos de 28S para as quatro espécies a partir de espécimes obtidos tanto de C. faber quanto do litoral brasileiro; no caso de L. chaetodipteri, é a primeira sequência disponível na literatura. As análises filogenéticas confirmaram a identificação das espécies, através dos agrupamentos formados com espécimes previamente sequenciados e dos altos valores de suporte de nós calculados na máxima verossimilhança e inferência Bayesiana. Com exceção de L. chaetodipteri, que tem registro somente para uma espécie de hospedeiro até o momento, as outras três espécies têm uma ampla distribuição geográfica e gama de possíveis hospedeiros; mesmo assim, há pouco material sequenciado dessas três espécies disponíveis na literatura. Futuros estudos baseados em análises molecular e filogenética de espécimes provenientes de mais localidades e hospedeiros podem ajudar a resolver questões inerentes aos seus congêneres e às relações filogenéticas dos grupos aos quais pertencem; em especial, para A. laguncula e P. bilabiatum, permitir a elucidação de conclusões mais definitivas sobre as discussões, respectivamente, em relação às espécies crípticas e a validade ou não de possíveis sinonímias. O presente trabalho, com suas contribuições e

resultados alcançados, ajuda a suprir a lacuna existente na literatura acerca dos estudos sobre a diversidade de parasitos de peixes do litoral brasileiro, através de uma perspectiva taxonômica integrativa.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abrahamsohn, P.. Histologia, 1ª edição. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2016.

- Acebal, M. F.; Guagliardo, S. E.; Schwerdt, C. B.; Galeano, N. A.; Paolillo, M. A.; Mas, J. D.; Sartuqui, J.; Uibrig, R. A.; Tanzola, R. D.. Digeneos parásitos de *Porichthys porosissimus* (Teleostei: Batrachoididae) en el estuario de Bahía Blanca. BioScriba, v. 4, p. 26-37, 2011.
- Akmirza, A.. Digenean trematodes of fish in the waters off Gökçeada, the Aegean Sea, Turkey. Journal of Black Sea/Mediterranean Environment, v. 19, n. 3, p. 283-298, 2013.
- Alama-Bermejo, G.; Montero, F. E.; Raga, J. A.; Holzer, A. S.. Skoulekia meningialis n. gen., n. sp. (Digenea: Aporocotylidae Odhner, 1912), a parasite surrounding the brain of the Mediterranean common two-banded seabream *Diplodus vulgaris* (Geoffroy Saint-Hilaire, 1817) (Teleostei: Sparidae): description, molecular phylogeny, habitat and pathology. Parasitology International, v. 60, p. 34-44, 2011.
- Al-Bassel, D. A. H.; Hussein, A. N. A. A survey on parasites infecting mullets from Egypt and Libya. Egyptian Academic Journal of Biological Sciences B Zoology, v. 4, n. 1, p. 9–19, 2012.
- Al-Zubaidy, A. B.; Mhaisen, F. T.. Four New Records of Trematodes from the Indian Mackerel *Rastrelliger kanagurta* (Cuvier, 1816) from the Yemeni Coastal Waters of the Red Sea. American Journal of Biology and Life Sciences, v. 2, n. 6, p. 141-145, 2014.
- Amato, J. F. R.. Digenetic trematodes of percoid fishes of Florianopolis, Southern Brazil -Monorchiidae, with the description of two new species. Revista Brasileira de Biologia, v. 42, p. 701-719, 1982.
- Amato, J. F. R.. Digenetic trematodes of percoid fishes of Florianopolis, Southern Brazil -Hornalometridae, Lepocreadiidae and Opecoelidae, with the description of seven new species. Revista Brasileira de Biologia, v. 43: p. 73-98, 1983.
- Amato, J. F. R.. Digenetic trematodes of percoid fishes of Florianopolis, Southern Brazil -Pleorchiidae, Didymozoidae and Hemiuridae, with the description of three new species. Revista Brasileira de Biologia, v. 43, p. 99-124, 1983.
- Amato, J. F. R.; Boeger, W. A.; Suzana, B. A.. Protocolo para laboratório: coleta e processamento de parasitas do pescado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1991.
- Atopkin, D. M.; Besprozvannykh, V. V.; Yu Beloded, A.; Ngo, H. D.; Ha, N. V.; Tang, N. V.. Phylogenetic relationships of Hemiuridae (Digenea: Hemiuroidea) with new morphometric and molecular data of *Aphanurus mugilis* Tang, 1981 (Aphanurinae) from mullet fish of Vietnam. Parasitology International, v. 66, n. 6, p. 824-830, 2017.
- Atopkin, D. M.; Nakao, M.; Besprozvannykh, V. V.; Ha, N. D.; Nguyen, H. V.; Sasaki, M.. Morphological and molecular data for species of *Lecithaster* Lühe, 1901 and *Hysterolecithoides* Yamaguti, 1934 (Digenea: Lecithasteridae) from fish of East Asia and

phylogenetic relationships within the Hemiuroidea Looss, 1899. Journal of Helminthology, 94, e14, 2018.

- Bao, M.; Roura, A.; Mota, M.; Nachón, D. J.; Antunes, C.; Cobo, F.; Mackenzie, K.; Pascual, S.. Macroparasites of allis shad (*Alosa alosa*) and twaite shad (*Alosa fallax*) of the Western Iberian Peninsula Rivers: ecological, phylogenetic and zoonotic insights. Parasitology Research, v. 114, n. 10, p. 3721-3739, 2015.
- Bell, M. Atlantic spadefish. In: Comprehensive Wildlife Conservation Strategy. Columbia, S.C., S.C. Department of Natural Resources, 2005.
- Besprozvannykh, V. V.; Atopkin, D. M.; Ngo, H. D.; Ermolenko, A. V.; Van Ha, N.; Van Tang, N.; Beloded, A. Y.. Morphometric and molecular analyses of two digenean species in mugilid fish: *Lecithaster mugilis* Yamaguti, 1970 from Vietnam and *L. sudzuhensis* n. sp. from southern Russian Far East. Journal of Helminthology, v. 91, n. 3, p. 326-331, 2017.
- Brahim, T. N. A.; Meddour, A.; Bayssade-Dufour, C.; Boutiba, Z.. Investigation sur les parasites Digena de *Mullus Surmuletus* Linné, 1758 dans le littoral Algérien. European Journal of Scientific Research, v. 25, p. 448-462, 2009.
- Braicovich, P. E.; Etchegoin, J. A.; Timi, J. T.. Digenetic trematodes of the Brazilian flathead, *Percophis brasiliensis* Quoy et Gaimard, 1825 (Percophidae, Perciformes), from Argentinean and Uruguayan waters. Acta Parasitologica, v. 54, p. 368–373, 2009.
- Bray, R. A.; Mackenzie, K.. Aponurus laguncula Looss, 1907 (Digenea: Lecithasteridae): a report from herring, *Clupea harengus* L., in the eastern English channel and a review of its biology. Systematic Parasitology, v. 17, p. 115–124, 1990.
- Bray, R. A.; Cribb, T. H.; Barker, S. C.. The Hemiuroidea (Digenea) of pomacentrid fishes (Perciformes) from Heron Island, Queensland, Australia. Systematic Parasitology, v. 24, p. 159–184, 1993.
- Bray, R. A.; Diaz, P. E.; Cribb, T. H.. Knowledge of marine fish trematodes of Atlantic and Eastern Pacific Oceans. Systematic Parasitology, v. 93, n. 3, p. 223-235, 2016.
- Bueno-Silva, M.. Genética molecular e sistemática animal: Um breve histórico, contribuições e desafios. Estudos de Biologia, Ambiente e Diversidade, v. 34, p. 157-163, 2012.
- Calhoun, D. M.; Curran, S. S.; Pulis, E. E.; Provaznik, J. M.; Franks, J. S.. *Hirudinella ventricosa* (Pallas, 1774) Baird, 1853 represents a species complex based on ribosomal DNA. Systematic Parasitology, v. 86, n. 2, p. 197-208, 2013.
- Carballo, M. C.; Navone, G. T.; Cremonte, F.. Parasites of the Silversides Odontesthes smitti and Odontesthes nigricans (Pisces: Atherinopsidae) from Argentinean Patagonia. Comparative Parasitology, v. 78, p. 95-103, 2011.
- Carreras-Aubets, M.; Repullés-Albelda, A.; Kostadinova, A.; Carrassón, M.. A new cryptic species of *Aponurus* Looss, 1907 (Digenea: Lecithasteridae) from Mediterranean goatfish (Teleostei: Mullidae). Systematic Parasitology, v. 79, n. 2, p. 145-59, 2011.
- Carvalho-Filho, Alfredo. Peixes: costa brasileira. São Paulo, Melro, 1999.

- Cezar, A. D.; Luque, J. L.. Metazoan parasites of the Atlantic spadefish *Chaetodipterus faber* (Teleostei: Ephippidae) from the Coastal Zone of the State of Rio de Janeiro, Brazil. Journal of the Helminthological Society of Washington, v. 66, p. 14-20, 1999.
- Chan, A. H. E.; Chaisiri, K.; Saralamba, S.; Morand, S.; Thaenkham, U.. Assessing the suitability of mitochondrial and nuclear DNA genetic markers for molecular systematics and species identification of helminths. Parasites & Vectors, 14, 233, 2021.
- Chaudhary, A.; Mukut, S.; Singh, H.. Molecular characterization of three species belongs to the Allocreadioidea, Hemiuroidea and Plagiorchioidea (Platyhelminthes: Trematoda) infecting freshwater fishes in India. Helminthologia, v. 53, n. 4, p. 378–384, 2016.
- Claxton, A.T.; Fuehring, A. D.; Andres, M. J.; Moncrief, T. D.; Curran, S. S.. Parasites of the Vermilion Snapper, *Rhomboplites aurorubens* (Cuvier), from the Western Atlantic Ocean. Comparative Parasitology, v. 84, n. 1, p. 1-14, 2017.
- Collicutt, N. B.; Stacy, N. I.; Walden, H. S.; Childress, A.; Dill, J.; Anderson, M.; Wellehan, J. F. X. Jr.. Infection with a novel derogenid trematode in a Flap-necked chameleon (*Chamaeleo dilepis*). Veterinary Clinical Pathology, v. 46, n. 4, p. 629-634, 2017.
- Costello, M. J.; Emblow, C.; White, R. J. (eds). European Register of Marine Species: A checklist of the marine species in Europe and a bibliography of guides to their identification. Muséum national d'Histoire naturelle, Paris, 2001.
- Dayrat, B.. Towards integrative taxonomy. Biological Journal of the Linnean Society, v. 85 n. 3, p. 407–415, 2005.
- Dooley, J.; Collette, B.; Aiken, K. A.; Marechal, J.; Pina Amargos, F.; Robertson, R.; Kishore, R.; Singh-Renton, S.. *Chaetodipterus faber*. The IUCN Red List of Threatened Species 2015. Disponível em: https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-4.RLTS.T16435530A16509752.en. Acesso em: 23 de fevereiro de 2023.
- Dronen, N. O.; Blend, C. K.; Mohammad, E. T.; Bannai, M.; Simonds, B. L.; Sheffield, R. L.. A new species of *Prosogonotrema* (Sclerodistomidae: Prosogonotrematinae) from the Flathead Grey Mullet, *Mugil cephalus* Linnaeus (Mugiliformes: Mugilidae), from the Arabian Gulf Off Iraq. Journal of Parasitology, v. 108, n. 6, p. 613-626, 2022.
- Fabio, S. P.. Sobre três Hemiuridae parasitos de peixes do litoral do Estado do Rio de Janeiro (Trematoda, Digenea). Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, v. 11, p. 45-49, 1988.
- Fernandes, B. M. M.; Kohn, A.; Pinto, R. M.: Aspidogastrid and digenetic trematodes parasites of marine fishes of the coast of Rio de Janeiro State, Brazil. Revista Brasileira de Biologia, v. 45, p. 109-116, 1985.
- Fernandes, B. M. M.; Arci, A. D.; Cohen, S. C.. New data on some species of Monogenea and Digenea parasites of marine fish from the coast of the State of Rio de Janeiro, Brazil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 18, n. 2, p. 13-18, 2009.

- Fillipi, J. J.; Quilichini, Y.; Foata, J.; Marchand, B.. Topography and ultrastructure of the tegument of *Lecithochirium musculus* (Digenea: Hemiuridae), a parasite of the European eel *Anguilla anguilla* (Osteichthyes: Anguillidae). Journal of Morphology, v. 273, p. 361-370, 2012.
- Fischthal, J. H.. Some Digenetic Trematodes of Marine Fishes from Israel's Mediterranean Coast and their Zoogeography, Especially those from Red Sea Immigrant Fishes. Zoologica Scripta, v. 9, p. 11-23, 1980.
- Fischthal, J. H.; Thomas, J. D.. Some Hemiurid Trematodes of Marine Fishes from Ghana. Proceedings of the Helminthological Society of Washington, v. 38, n. 2, p. 181-189, 1971.
- Fishbase. List of Marine Fishes reported from Brazil. Disponível em: https://www.fishbase.se/country/CountryChecklist.php?c\_code=076&vhabitat=saltwate r&csub\_code=. Acesso em 16 de novembro de 2023.
- Fonseca, M. C. G. D.; Felizardo, N. N.; Torres, E. J. L.; Gomes, D. C.; Knoff, M.. Hemiurid and lecithasterid digenean trematodes and camallanid and cucullanid nematodes parasitizing flounders collected off the coast of Rio de Janeiro State, Brazil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 31, p. 1-18, 2022.
- Ghosh, A.; Chakrabarti, S.; Purushothaman, J.. Platyhelminthes Parasites of Fish of Economic Importance from Diamond Harbour, West Bengal. Records of the Zoological Survey of India, v. 117, n. 3, p. 242–263, 2017.
- Gibson D. I.; Bray, R. A.. The Hemiuroidea: terminology, systematics and evolution. Bulletin of the British Museum of Natural History, v. 36, p. 35-146, 1979.
- Gibson, D. I.; Bray, R. A.. The Hemiuridae (Digenea) of fishes from the northeast Atlantic. Bulletin of the British Museum (Natural History) Zoology Series, v. 51, p. 1-125, 1986.
- Gibson D. I.; Jones, A.; Bray, R. A. (eds). Keys to the Trematoda Volume I. CABI Publishing, Wallingford & The Natural History Museum, Londres, 2002.
- Graça, R.J.; Fabrin, T. M. C.; Gasques, L.S.; Prioli, S. M. A. P.; Prioli, A. J.; Takemoto, R. M.. Molecular markers in studies on fish parasites (Platyhelminthes): Review. Acta Scientiarum Biological Sciences, v. 38, n. 4, p. 495-500, 2016.
- Hafeezullah, M.; Dutta, I. B.. Digenetic trematodes of fishes. Zoological Survey of India. State Fauna Series: Fauna of West Bengal Part 11, 1998.
- Halton, D. W.; Dermott, E.. Electron Microscopy of Certain Gland Cells in Two Digenetic Trematodes. The Journal of Parasitology, v. 53, n. 6, p. 1186-1191, 1967.
- Hanna, R.. *Fasciola hepatica*: Histology of the Reproductive Organs and Differential Effects of Triclabendazole on Drug-Sensitive and Drug-Resistant Fluke Isolates and on Flukes from Selected Field Cases. Pathogens, v. 4, n. 3, p. 431–456, 2015.

- Hayse, J. W.. Feeding habits, age, growth and reproduction of Atlantic spadefish, *Chaetodipterus faber* (Pisces: Ephippidae), in South Carolina. Fishery Bulletin, 88, 67– 83, 1990.
- Hillis, D. M.; Bull, J. J.. An Empirical Test of Bootstrapping as a Method for Assessing Confidence in Phylogenetic Analysis. Systematic Biology, v. 42, n. 2, p. 182-192, 1993.
- Hooper, J. N. A. Parasites of estuarine and oceanic flathead fishes (Family Platycephalidae) from Northern New South Wales. Australian Journal of Zoology, v. 90, p. 1-69, 1983.
- Hussain, S. A.; Rao, H. K.. On the occurrence of *Prosogonotrema carangi* Velasquez 1961 in the teleost *Monacanthus monoceros* (Day) of Waltair Coast with a note on the family Prosogonotrematidae. Proceedings of the Indian Academy of Sciences (Animal Sciences), v. 89, n. 3, p. 297-301, 1980.
- Ichihara, A.; Kato, K.; Kamegai, S. H.; Machida, M.. On the parasites of fishes and shell-fishes in Sagami Bay (n. 4) parasitic helminths of mackerel, *Pneumatophorus japonicus* (Houttuuyn). Research Bulletin of the Meguro Parasitological Museum, v. 2, p. 45–60, 1968.
- Justo, M. C. N.; Fernandes, B. M. M.; Kohn, A.. New host records for Digenea parasites of Brazilian marine fishes. Arquivos de Ciências do Mar, v. 36, p. 101–104, 2003.
- Kearse, M.; Moir, R.; Wilson, A.; Stones-Havas, S.; Cheung, M.; Sturrock, S.; Buxton, S.; Cooper, A.; Markowitz, S.; Duran, C.; Thierer, T.; Ashton, B.; Meintjes, P.; Drummond, A.. Geneious basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. Bioinformatics, v. 28, n. 12, p. 1647-1649, 2012.
- Keser, R.; Bray, R. A.; Oguz, M. C.; Çelen, S.; Ergogan, S.; Doguturk, S.; Aklanoglu, G.; Marti, B.. Helminth parasites of digestive tract of some teleost fish caught in the Dardanelles at Çanakkale, Turkey. Helminthologia, v. 44, n. 4, p. 217-221, 2007.
- Kohn, A.. Ocorrência de *Multitestis inconstans* (Linton, 1905) Manter, 1931 (Trematoda, Lepocreadiidae) no litoral brasileiro. Atas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro, p. 75-77, 1966.
- Kohn, A.; Fernandes, B. M. M.; Cohen, S. C.. South American trematodes parasites of fishes. Fiocruz, Instituto Oswaldo Cruz/Imprinta Express Ltd, Rio de Janeiro, 2007.
- Koie, M.. Aspects of the morphology and life cycle of *Lecithocladium excisum* (Digenea, Hemiuridae), a parasite of *Scomber* spp.. International Journal for Parasitology, v. 21, n. 5, p. 597-602, 1991.
- Lakshmi, V. V.; Rao, K. H.. Observations on the structure and histology of the gut in some digenetic trematodes. Zeitschrift für Parasitenkunde, v. 56, p. 55-61, 1978.
- Looss, A.. Zur Kenntnis der Distomenfamilie Hemiuridae. Zoologischer Anzeiger, v. 31, 1907.

- Looss, A.. Beitrage zur Systematik der Distomen. Zur Kenntnis der Familie Hemiuridae. Zoologische Jahrbücher (Systematik), v. 26, 1908.
- Lühe, M. Ueber Hemiuriden. (Ein Beitrag zur Systematik der digenetischen Trematoden). Zoologischer Anzeiger, v. 24, 1901.
- Luque, J. L.; Pereira, F. B.; Alves, P. V.; Oliva, M. E.; Timi, J. T.. Helminth parasites of South American fishes: current status and characterization as a model for studies of biodiversity. Journal of Helminthology, v. 91, p. 150–164, 2017.
- Machida, M.; Uchida, A.. Trematodes from unicornfishes of Japanese and adjacent waters. Memoirs of the National Science Museum, v. 23, p. 69–81, 1990.
- Madhavi, R.; Bray, R. A.. Digenetic Trematodes of Indian Marine Fishes. Springer, Dordrecht, 2018.
- Manrique, R.. Cultivo Integral de la Paguara Chaetodipterus faber. Contribuciones Científicas nº 7, Estación de Investigaciones Marinas, Bahía de Mochima. Fundaciencia, Caracas, 1990.
- Manter, H. W.. Some digenetic trematodes from fishes of New Zealand. Transactions of the Royal Society of New Zealand, v. 82, p. 475-568, 1954.
- Manter, H. W.. The occurrence of an accessory excretory vesicle in *Prosogonotrema* Pérez Vigueras, 1940 (Trematoda: Hemiuroidea). Parazitologicheskii Sbornik, v. 24, p. 173-177, 1969.
- Markowski, S.. Die Eingweidewürmer der Fische des polnischen Balticums (Trematoda, Cestoda, Nematoda, Acanthocephala). Archiwum Hydrobiologji i Rybactwa, v. 7, p. 1-58, 1933.
- Martin, S. B.; De Silva, M. L. I.; Pathirana, E.; Rajapakse, R. P. V. J.. Polyphyly of the Dinurinae Looss, 1907 (Digenea: Hemiuridae) and resurrection of the Mecoderinae Skrjabin & Guschanskaja, 1954 based on novel collection of *Tubulovesicula laticaudi* Parukhin, 1969 from marine elapid snakes in Sri Lanka. Parasitology International, 97, 102776, 2023.
- Martínez-Flores, G.; García-Prieto, L.; Bastida-Zavala, J. R.; Oceguera-Figueroa, A.. Temporal variation in helminth infracommunities of the Gafftopsail pompano, *Trachinotus rhodopus* (Pisces: Carangidae) off the Pacific coast of Mexico. Parasitology International, 95, 102755, 2023.
- Marzoug, D.; Rima, M.; Boutiba, Z.; Georgieva, S.; Kostadinova, A.; Pérez-Del-Olmo, A.: A new species of *Saturnius* Manter, 1969 (Digenea: Hemiuridae) from Mediterranean mullet (Teleostei: Mugilidae). Systematic Parasitology, v. 87, n. 2, p. 127-34, 2014.
- Mazza, J.. Quelques trématodes de poissons de l'Étang de Berre. Revue des Travaux de l'Institut des Peches Maritimes, v. 27, p. 441-448, 1963.

- Menezes, N. A.; Figueiredo, J. L.. Manual de peixes marinhos do Sudeste do Brasil V Teleostei (4). São Paulo: Museu de Zoologia USP, 1985.
- Menezes, N. A.; Buckup, P. A.; Figueiredo, J. L.; Moura, R. L.. Catálogo das espécies de peixes marinhos do Brasil. São Paulo: Museu de Zoologia USP, 2003.
- Miller, M. A.; Pfeiffer, W.; Schwartz, T.. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE), Los Angeles, p. 1-8, 2010.
- Nahhas, F. M.; Short, R. B.. Digenetic trematodes of marine fishes from Apalachee Bay, Gulf of Mexico. Tulane studies in zoology, v. 12, p. 39–50, 1965.
- Nahhas, F. M.; Powell, E. C.. Digenetic trematodes of marine fishes from the Floridian northern Gulf of Mexico. Tulane Studies in Zoology and Botany, v. 17, p. 1-9, 1971.
- Nasir, P.. Monotypic status of *Prosogonotrema* Perez Vigueras, 1940 (Trematoda: Digenea). Rivista di Parassitologia, v. 34, n. 4, p. 271–276, 1973.
- Ndiaye, P. I.; Diagne, P. M.; Sène, A.; Bakhoum, A. J. S.; Miquel, J.. Ultrastructure of the spermatozoon of the digenean *Lecithocladium excisum* (Rudolphi, 1819) (Hemiuroidea: Hemiuridae), a parasite of marine teleosts in Senegal. Folia Parasitologica, v. 59, n. 3, p. 173–178, 2012.
- Nelson, J. S. Fishes of the World, 4th Edition. John Wiley & Sons, Hoboken, 2006.
- Olson, P. D.; Cribb, T. H.; Tkach, V. V.; Bray, R. A.; Littlewood, D. T. J.. Phylogeny and classification of the Digenea (Platyhelminthes: Trematoda). International Journal for Parasitology, v. 33, n. 7, p. 733-755, 2003.
- Padial J. M.; Miralles A.; De La Riva, I.; Vences, M.. The integrative future of taxonomy. Frontiers in Zoology, 7, 16, 2010.
- Pankov, P.; Webster, B. L.; Blasco-Costa, I.; Gibson, D. I.; Littlewood, D. T.; Balbuena, J. A.; Kostadinova, A.. *Robinia aurata* n. g., n. sp. (Digenea: Hemiuridae) from the mugilid *Liza aurata* with a molecular confirmation of its position within the Hemiuroidea. Parasitology, v. 133(pt 2), p. 217-227, 2006.
- Pantoja, C.; Kudlai, O.. Hemiurid Trematodes (Digenea: Hemiuridae) from Marine Fishes off the Coast of Rio de Janeiro, Brazil, with Novel Molecular Data. Animals, 12, 3355, 2022.
- Pantoja, C.; Telles, B.; Paschoal, F.; Luque, J. L.; Kudlai, O.. Digenean trematodes infecting the frigate tuna *Auxis thazard* (Scombriformes, Scombridae) off the Rio de Janeiro coast, Brazil, including molecular data. Parasite, 29, 44, 2022.
- Panyarachun, B.; Ngamniyom, A.; Sobhon, P.; Anuracpreeda, P.. Morphology and histology of the adult *Paramphistomum gracile* Fischoeder, 1901. Journal of Veterinary Science, v. 14, n. 4, p. 425–432, 2013.

- Pereira Jr, J.; Fernandes, B. M. M.; Robaldo, R. B.. Digenea (Trematoda) of *Micropogonias furnieri* (Desmarest) (Perciformes, Sciaenidae) from Rio Grande do Sul, Brazil. Revista Brasileira de Zoologia, v. 17, n. 3, p. 681–686, 2000.
- Perkins, S. L.; Martinsen, E. S.; Falk, B. G.. Do molecules matter more than morphology? Promises and pitfalls in parasites. Parasitology, v. 138, n. 13, p. 1664-1674, 2011.
- Pritchard, M. H.. Studies on Digenetic Trematodes of Hawaiian Fishes, Primarily Families Lepocreadiidae and Zoogonidae. The Journal of Parasitology, v. 49, n. 4, p. 578-587, 1963.
- Quilichini, Y.; Foata, J.; Justine, J. L.; Bray, R. A.; Marchand, B.. Spermatozoon ultrastructure of *Aponurus laguncula* (Digenea: Lecithasteridae), a parasite of *Aluterus monoceros* (Pisces: Teleostei). Parasitology International, v. 59, p. 22-28, 2010.
- Quiroga, S. Y.; Carolina Bonilla, E.; Marcela Bolaños, D.; Carbayo, F.; Litvaitis, M. K.; Brown, F. D.: Evolution of flatworm central nervous systems: Insights from polyclads. Genetics and Molecular Biology, v. 38, n. 3, p. 233–248, 2015.
- Reis, R. E.; Albert, J. S.; Di Dario, F.; Mincarone, M. M.; Petry, P.; Rocha, L. A. Fish biodiversity and conservation in South America. Journal of Fish Biology, v. 89, p. 12– 47, 2016.
- Ronquist, F.; Teslenko, M.; Van Der Mark, P.; Ayres, D. L.; Darling, A.; Höhna, S.; Larget, B.; Liu, L.; Suchard, M. A.; Huelsenbeck, J. P.. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. Systematic Biology, v. 61, n. 3, p. 539-542, 2012.
- Rudolphi, K. A.. Entozoorum synopsis cui accedunt mantissa duplex et indices locupletissimi. Berolini, Germany, 1819.
- Seberg, O.; Humphries, C. J.; Knapp, S.; Stevenson, D. W.; Petersen, G.; Scharff, N.; Andersen, N. M. Shortcuts in systematics? A commentary on DNA-based taxonomy. Trends in Ecology and Evolution, v. 18, p. 63-65, 2003.
- Sey, O.; Nahhas, F. M.; Uch, S.; Vang, C.. Digenetic trematodes from marine fishes off the coast of Kuwait, Arabian Gulf: Fellodistomidae and some smaller families, new host and geographic records. Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae, v. 49, n. 3, p. 179-200, 2003.
- Silva, T.; Rossellini, M.; Dal Pai Silva, M.; Silva, R.. Histological characterization of *Sticholecitha serpentis* Prudhoe, 1949 (Digenea, Bieriidae, Sticholecithinae), parasite of *Bothrops moojeni* Hoge, 1966 (Serpentes, Viperidae). Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases, v. 11, n. 4, p. 510–531, 2005.
- Soeth, M.; Fávaro, L. F.; Spach, H. L.; Daros, F. A.; Woltrich, A. E.; Correia, A. T.. Age, growth, and reproductive biology of the Atlantic spadefish *Chaetodipterus faber* in southern Brazil. Ichthyological Research, v. 66, p. 140-154, 2019.

- Sogandares-Bernal, F.. Digenetic trematodes of marine fishes from the Gulf of Panama and Bimini, British West Indies. Tulane Studies in Zoology, v. 7, n. 3, p. 70-117, 1959.
- Sokolov, S.; Atopkin, D.; Urabe, M.; Gordeev, I.. Phylogenetic analysis of the superfamily Hemiuroidea (Platyhelminthes, Neodermata: Trematoda) based on partial 28S rDNA sequences. Parasitology, v. 146, n. 5, p. 596-603, 2019.
- Swarnakar, G. Histology of Seminal Vesicle and Pars Musculosa of Orthocoelium scoliocoelium (Trematoda: Digenea). International Journal of Scientific Research, v. 2, p. 15-16, 2012.
- Tamura, K.; Stecher, G.; Kumar, S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. Molecular Biology and Evolution, v. 38, n. 7, p. 3022-3027, 2021.
- Tandon, V.; Prasad, P. K.; Chatterjee, A.; Bhutia, P. T.. Surface fine topography and PCRbased determination of metacercaria of Paragonimus sp. from edible crabs in Arunachal Pradesh, Northeast India. Parasitology Research, v. 102, p. 21-28, 2007.
- Toledo, R.; Fried, B.. Digenetic Trematodes. Springer, Cham, 2014.
- Tsuchida, K.; Flores, V.; Viozzi, G.; Rauque, C.; Urabe, M.. Hemiuroidean trematodes from freshwater Patagonian fishes: description of a new species, distribution and molecular phylogeny. Parasitology Research, v. 120, n. 4, p. 1219-1232, 2021.
- Vélez, E. I.. Sobre la fauna de trematodos en peces marinos de la familia Lutjanidae en el mar Caribe. Actualidades Biológicas, v. 16, p. 70-84, 1987.
- Vidal-Martínez, V. M.; Velázquez-Abunader, I.; Centeno-Chalé, O. A.; May-Tec, A. L.; Soler-Jiménez, L. C.; Pech, D.; Mariño-Tapia, I.; Enriquez, C.; Zapata-Pérez, O.; Herrera-Silveira, J.; Hernández-Mena, D. I.; Herzka, S. Z.; Ordoñez-López, U.; Leopoldina Aguirre-Macedo, M.. Metazoan parasite infracommunities of the dusky flounder (*Syacium papillosum*) as bioindicators of environmental conditions in the continental shelf of the Yucatan Peninsula, Mexico. Parasites & Vectors, v. 12, n. 1, p. 277, 2019.
- Vigueras, I. P.. Prosogonotremidae n. fam. y *Prosogonotrema bilabiatum* n. gen., n. sp. (Trematoda, Distomata) parasito de *Ocyurus chrysurus* (Bloch) (Pisces). Memorias de la Sociedad Cubana de Historia Natural, v. 14, p. 249-252, 1940.
- Vigueras, I. P.. Contribution al conocimiento de la fauna helminthologica cubana. (Continuacion). Memorias de la Sociedad Cubana de Historia Natural, v. 23, p. 1-36, 1956.
- Wallet, M.; Kohn, A.. Trematodes parasites de poissons marins du littoral de Rio de Janeiro, Brasil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 82, p. 21-27, 1987.
- World Register Of Marine Species. *Aponurus* Looss, 1907. Disponível em: https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=108769. Acesso em 16 de novembro de 2023.
- World Register Of Marine Species. Hemiuroidea Looss, 1899. Disponível em: https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=108418. Acesso em 16 de novembro de 2023.
- World Register Of Marine Species. *Lecithocladium* Lühe, 1901. Disponível em: https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=108759. Acesso em 10 de novembro de 2023.
- World Register Of Marine Species. *Lecithocladium excisum* (Rudolphi, 1819) Lühe, 1901. Disponível em: https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=109347. Acesso em 10 de novembro de 2023.
- Yadav, B. B.. Studies on digenetic trematodes of fishes from the west coast of India 2. Two new species of the genus *Prosogonotrema* Perez Vigueras, 1940. Rivista di Parassitologia, v. 41, n. 2, p. 241-247, 1980.
- Yamaguti, S.. Studies on the helminth fauna of Japan Part 2: Trematodes of fishes I. Japanese Journal of Zoology, v. 5, p. 249-541, 1934.
- Yamaguti, S.. Parasitic worms mainly from Celebes Part 1. New digenetic trematodes of fishes. Acta Medica Okayama, v. 8, p. 146-256, 1952.
- Yamaguti, S.. Systema Helminthum Volume 1 Part I: The Digenetic Trematodes of Vertebrates. Interscience Publishers, New York, 1958.