

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

TESE

Proteocefalídeos (Eucestoda: Onchoproteocephalidea)
parasitos de peixes na América do Sul: uma abordagem
taxonômica integrativa

Philippe Vieira Alves

2018



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

**PROTEOCEFALÍDEOS (EUCESTODA:
ONCHOPROTEOCEPHALIDEA) PARASITOS DE PEIXES NA
AMÉRICA DO SUL: UMA ABORDAGEM TAXONÔMICA
INTEGRATIVA**

PHILIPPE VIEIRA ALVES

Sob a Orientação do Professor
José Luis Fernando Luque Alejos

e Co-orientação do Professor
Tomáš Scholz

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de **Doutor em**
Ciências, no Programa de Pós-
Graduação em Biologia Animal.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2018

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

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

A474p Alves, Philippe Vieira, 1987-
Proteocefalídeos (Eucestoda: Onchoproteocephalidea)
parasitos de peixes na América do Sul: uma abordagem
taxonômica integrativa / Philippe Vieira Alves. - 2018.
118 f.: il.

Orientador: José Luis Fernando Luque Alejos.
Coorientador: Tomáš Scholz .
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Biologia
Animal, 2018.

1. Taxonomia. 2. Filogenia molecular. 3. Cestoda.
4. Peixes dulcícolas. 5. América do Sul. I. Alejos,
José Luis Fernando Luque , 1962-, orient. II. Scholz
, Tomáš , 1960-, coorient. III Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em
Biologia Animal. IV. Título.

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

PHILIPPE VIEIRA ALVES

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal.

TESE APROVADA EM 28/02/2018

José Luis Fernando Luque Alejos. Dr. UFRRJ
(Orientador)

Nathalia Jaquelina Arredondo. Dra. UBA

Cláudia Portes Santos Silva. Dra. FIOCRUZ

Sueli de Souza Lima. Dra. UFJF

Luiz Cláudio Muniz-Pereira. Dr. FIOCRUZ

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha família, em especial aos meus pais Luiz e Maria Thereza, que sempre foram o meu maior exemplo, além de principais apoiadores da minha luta contínua em busca do conhecimento. A vocês, o meu muito obrigado!!

*“To expect the world to receive a new truth,
or even an old truth, without challenging it,
is to look for one of those miracles which do not occur”*

Alfred Russel Wallace

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Dr. José Luis Fernando Luque Alejos, do Departamento de Parasitologia da UFRRJ, sempre serei grato pela orientação, apoio e oportunidade, fundamentais para a concretização deste projeto.

Ao meu co-orientador, Dr. Tomáš Scholz, do Centro de Biologia da Academia de Ciências da República Tcheca, České Budějovice, por ter acreditado no meu potencial, compartilhado sua vasta experiência nos estudos de cestoides parasitos de peixes, por ter cordialmente me recebido em várias oportunidades em seu laboratório, além de custear parte das análises morfológicas e moleculares por intermédio do Centro de Biologia.

Ao Dr. Alain de Chambrier, do Museu de História Natural de Genebra, Suíça, sou grato por toda paciência e diligência em me ensinar, de forma minuciosa, a trabalhar com a taxonomia de cestoides proteocefalídeos. Generosidade, hospitalidade e gentileza são adjetivos que facilmente cabem a este pesquisador.

À professora Dra. Sueli de Souza Lima, do Laboratório de Taxonomia e Ecologia de Helminthos Odile Bain, por ter me introduzido no mundo da helmintologia. Se hoje sou apaixonado pelo que faço, devo a você Sueli, o meu muito obrigado!

Aos colegas do Laboratório de Parasitologia de Peixes da UFRRJ, Aldenice Pereira (atualmente no IFAC), Camila Pantoja, Carla Juliete, Fabiano Matos (atualmente na Fiocruz), Fabiano Paschoal, Felipe Bisaggio (atualmente na UFMS), Íris Soares, Juliana Moreira, Letícia Vidal, Naraiana Taborda e Sara Coelho, pela amizade, convívio saudável e prontidão em ajudar sempre que necessário.

Aos colegas do Laboratório de Helmintologia, Centro de Biologia da Academia de Ciências da República Tcheca, České Budějovice e, especialmente, ao Roman Kuchta, Jan Brabec (Honza), Miroslava Soldánová (Mirka) e Simona Georgieva pela amizade e valiosos ensinamentos. A biologia molecular, até então “um bicho de 7 cabeças”, tornou-se mais compreensível após horas de discussão e altas gargalhadas com o nosso “molecular guy”. Muito obrigado, Honza!

Aos Dr. Marcelo Knoff e Dr. Jean Mariaux por cederem espécimes de proteocefalídeos depositados na Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC) e na Coleção de Platyhelminthes do Museu de História Natural de Genebra (MHNG-PLAT), respectivamente.

À Blanka Škoríková, Martina Borovková (ambas de České Budějovice), Janik Pralong e Gilles Roth (ambos de Genebra) pela amizade, apoio técnico e presteza, fundamentais na elaboração de cada um dos 4 capítulos desta tese.

A todos os professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, UFRRJ, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo.

RESUMO

ALVES, Philippe Vieira. **Proteocefalídeos (Eucestoda: Onchoproteocephalidea) parasitos de peixes na América do Sul: uma abordagem taxonômica integrativa.** 2018. 118p. Tese (Doutorado em Biologia Animal). Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

A América do Sul possui a maior diversidade de peixes dulcícolas (teleósteos) do mundo, estes por sua vez podem servir como hospedeiros definitivos de uma fauna igualmente diversa de cestoides proteocefalídeos (Eucestoda: Onchoproteocephalidea), embora estudos taxonômicos robustos e inequívocos sobre o grupo ainda sejam escassos neste continente. No presente estudo, uma abordagem taxonômica integrada de dados morfológicos e moleculares foi empregada, para melhor compreensão da diversidade de proteocefalídeos em peixes sulamericanos. Entre maio de 2013 e outubro de 2015, foram necropsiados 330 espécimes de peixes provenientes de bacias hidrográficas brasileiras, além de 7 espécimes de *Odonthestes bonariensis* de um lago argentino. Estes hospedeiros foram coletados por pescadores artesanais e imediatamente analisados (*in situ*) quanto a presença de parasitos. Os proteocefalídeos encontrados foram estudados por microscopia de luz e eletrônica de varredura, sendo que alguns espécimes foram utilizados para o sequenciamento molecular da subunidade maior do DNA ribossomal (28S rDNA, domínios D1–D3). Foram estudados também, exemplares (material tipo ou espécimes ainda não descritos) de proteocefalídeos neotropicais depositados em coleções helmintológicas. No capítulo I, o gênero *Frezella* foi proposto para acomodar *Frezella vaucheri* ex *Tocantinsia piresi* no rio Xingú, Estado do Pará. Análises filogenéticas confirmaram a validade de *F. vaucheri*. No capítulo II, o gênero *Chambriella* foi revisado a partir do estudo de indivíduos coletados nas bacias dos rios Amazonas e Paraná; como resultado, *Lenhataenia* tornou-se sinônimo júnior de *Chambriella*, sendo que a espécie tipo, *C. agostinhoi* ex *Zungaro jahu* (hospedeiro tipo) e *Z. zungaro*, tornou-se sinônimo júnior de *C. megacephala*. A segunda espécie de *Chambriella*, *C. paranaensis* ex *Hemisorubim platyrhynchos*, foi transferida para um novo gênero, *Riggenbachiella*, como *R. paranaense*. *Riggenbachiella amazonense* ex *Sorubimichthys planiceps* (hospedeiro tipo), *Phractocephalus hemioliopterus* e *Z. zungaro*, foi descrita e designada como espécie tipo do novo gênero. Todas as ações taxonômicas foram suportadas por análises moleculares. No capítulo III, o gênero *Goezeella* foi revisado a partir da redescrição da espécie tipo, *G. siluri* ex *Cetopsis coecutiens* (hospedeiro tipo) e *Pinirampus pirinampu*, confirmação da validade de *G. danbrooksi* ex *Ageneiosus pardalis*, e descrição de *G. mariae* ex *Pimelodella cristata* no baixo rio Amazonas, Estado do Amapá. Dados moleculares de duas das três espécies, além de uma chave de identificação, foram fornecidas. No capítulo IV, as diagnoses de dois gêneros monotípicos, *Ephedrocephalus* e *Zygobothrium*, foram emendadas e as espécies, *E. microcephalus* e *Z. megacephalum* ex *P. hemioliopterus* (hospedeiro de ambos os táxons), foram redescritas. Além disso, uma chave de identificação das espécies de proteocefalídeos parasitos de *P. hemioliopterus* foi fornecida. Este trabalho reitera a ideia de que o conhecimento da fauna de cestoides proteocefalídeos na América do Sul é incipiente e fragmentário, e que o uso do gene 28S rDNA pode ser importante para discriminação de táxons individuais, porém não auxilia, significativamente, na reconstrução da história evolutiva dos clados neotropicais.

Palavras-chave: morfologia, filogenia molecular, Proteocephalidae, peixes dulcícolas

ABSTRACT

ALVES, Philippe Vieira. **Proteocephalids (Eucestoda: Onchoproteocephalidea) parasites of fishes in South America: an integrated taxonomic approach.** 2018. 118p. Thesis (Ph.D. in Animal Biology). Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

South America has the highest diversity of freshwater fishes (teleosts) in the world, which in turn, may serve as definitive host for an also diverse fauna of proteocephalidean tapeworms (Eucestoda: Onchoproteocephalidea), even though robust and unequivocal studies on this group are scarce in this continent. In the present study, an integrated taxonomic approach of morphological and molecular data was used to better understand the diversity of proteocephalids in South American fishes. Between May 2013 and October 2015, a total of 330 specimens of fish were necropsied from Brazilian river systems as well as 7 specimens of *Odonthestes bonariensis* from an Argentinian lake. These hosts were collected by artisanal fishermen and immediately (*in situ*) scrutinized for parasites. The proteocephalids found were evaluated using light and scanning electron microscopy, some of them were further processed for sequencing of the large subunit nuclear ribosomal RNA gene (28S rDNA, D1–D3 domains). Neotropical proteocephalids deposited in helminthological collections (type material or not yet described specimens) were also evaluated. In the chapter I, the genus *Frezella* was proposed to accommodate *Frezella vaucheri* ex *Tocantinsia piresi* from Xingú River, State of Pará. Phylogenetic analyses confirmed the validity of *F. vaucheri*. In the chapter II, the genus *Chambriella* is revised based on specimens from the Amazon and Parana river basins; as a result, *Lenhataenia* became a junior synonym of *Chambriella* and its type species, *C. agostinhoi* ex *Zungaro jahu* (type host) e *Z. zungaro*, a junior synonym of *C. megacephala*. The second species of *Chambriella*, *C. paranaensis* ex *Hemisorubim platyrhynchos*, was transferred to a new genus, *Riggenbachiella*, as *R. paranaense*. *Riggenbachiella amazonense* ex *Sorubimichthys planiceps* (type host), *Phractocephalus hemioliopterus* and *Z. zungaro* was described and designated as the type-species of the new genus. All taxonomic actions were supported by molecular analyses. In the chapter III, the genus *Goezeella* was revised based on the redescription of its type species, *G. siluri* ex *Cetopsis coecutiens* (type host) and *Pinirampus pirinampu*, confirmation of the validity of *G. danbrooksi* ex *Ageneiosus pardalis*, and the description of *G. mariae* ex *Pimelodella cristata* from the lower Amazon River, State of Amapá. Molecular data on two of the three valid species and a key to their identification were provided. In the chapter IV, the diagnoses of two monotypic genera, *Ephedrocephalus* and *Zygobothrium*, were amended and their species, *E. microcephalus* and *Z. megacephalum* ex *P. hemioliopterus* (host for both taxa), were redescribed. Furthermore, a key for the identification of proteocephalid species that parasitize *P. hemioliopterus* was also provided. This work reinforces the idea that the knowledge on the fauna of proteocephalid cestodes in South America is incipient and fragmentary, and the use of the 28S rDNA gene may be important for discriminating individual taxa, but does not help, significantly, in the reconstruction of the evolutionary history of the Neotropical clades.

Key words: morfologia, molecular phylogeny, Proteocephalidae, freshwater fishes

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1. Códigos de identificação

- ARG** Argentina, lago Helvecia, Província de Córdoba
BR-AMP Brasil, Rio Amazonas, Estado do Amapá
BR-MS Brasil, Rio Miranda, Estado do Mato Grosso do Sul
BR-PR Brasil, Rio Paraná, Estado do Paraná
BR-RO Brasil, Rio Jamari ou Quatro Cachoeiras, Estado de Rondônia
BR-TO Brasil, Rio Araguaia, Estado do Tocantins
BR-X Brasil, Rio Xingú, Estado do Pará
PI Peru, Rio Amazonas, Iquitos, Região de Loreto
PY Paraguai, Rio Paraguai, Departamento Central
PBI Código de identificação único da Fundação Nacional de Ciências (Inventário Global sobre a Biodiversidade, ver http://www.tapewormdb.uconn.edu/index.php/parasites/molecular_search/)

2. Museus e Coleções parasitológicas

- BMNH** Museu de História Natural de Londres, Reino Unido
CHIOC Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil
IPCAS Coleção do Centro de Biologia da Academia de Ciências da República Tcheca, České Budějovice
MHNG-PLAT Coleção de Platyhelminthes do Museu de História Natural de Genebra, Suíça
USNM Museu Nacional de História Natural de Washington, D.C., EUA.

3. Marcadores (genes) e análises moleculares

- 5.8.S** gene localizado entre os espaçadores transcritos internos do DNA ribossomal
ITS2 2º espaçador transcrito interno do DNA ribossomal
16S rDNA subunidade ribossômica do DNA mitocondrial
28S rDNA subunidade maior do DNA ribossomal
18S rDNA subunidade menor do DNA ribossomal
cox1 citocromo c-oxidase, subunidade 1, do DNA mitocondrial
rDNA DNA ribossomal
pb pares de bases
MV Máxima Verossimilhança
IB Inferência Bayesiana
MCMC Monte Carlo via Cadeia de Markov
ESS tamanho efetivo de cada amostra
H hologenóforo *sensu* Pleijel et al. (2008)
OUT grupo externo

4. Caracteres morfológicos

- ac** cirro armado com espinitríquias
al lóculo anterior da ventosa
ao órgão apical
av cavidade vaginal assimétrica
ci cirro
ca canal osmorregulatório adicional
cc células cromofílicas
cm musculatura circular
cs bolsa do cirro
do canal osmorregulatório dorsal
dp projeção digitiforme
du divertículo uterino
ed ducto ejaculatório
em bicamada do embrióforo
ga átrio genital

gc células glandulares
idc câmaras do ducto espermático interno
la lacinações
lm musculatura longitudinal interna
ln cordão nervoso longitudinal
oc canais osmorregulatórios
oe envelope externo
on oncosfera
oo protuberâncias ovarianas no córtex
ov ovário
pl lóculo posterior da ventosa
pp projeções polares
st fibras musculares subtegumentares
su células subtegumentares
te testículos
tg tegumento
us tronco uterino
ut útero
v vacúolo
va vaso deferente
vc canal vaginal
vd ductos vitelínicos
vi folículos vitelínicos
vo canal osmorregulatório ventral
vs esfíncter vaginal

5. Descritores e análises taxonômicas

x média
n número absoluto de medidas
ML microscopia de luz
MEV microscopia eletrônica de varredura
ALD diâmetro do lóculo anterior
PLD diâmetro do lóculo posterior
CL/CSL comprimento do cirro/comprimento da bolsa do cirro
CSL/PW comprimento da bolsa do cirro/largura da proglótide
OL/PL comprimento do ovário/comprimento da proglótide
OW/PW largura do ovário/largura da proglótide
ROS tamanho relativo do ovário (ver DE CHAMBRIER et al., 2012)
GPD/PL distância do poro genital à margem anterior da proglótide/ comprimento da proglótide
UD divertículos uterinos
VLPS/PL comprimento da fileira lateral de folículos vitelínicos no lado poral/ comprimento da proglótide
VLAS/PL comprimento da fileira lateral de folículos vitelínicos no lado antiporal/ comprimento da proglótide

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Isolados de proteocefalídeos (Eucestoda: Proteocephalidae) utilizados na análise molecular do gene 28S rDNA	11
Tabela 2. Proteocefalídeos parasitos de peixes auchenipterídeos (Siluriformes: Auchenipteridae), segundo Alves et al. (2017a)	20

CAPÍTULO II

Tabela 1. Isolados de proteocefalídeos (Eucestoda: Proteocephalidae) utilizados na análise molecular do gene 28S rDNA	31
Tabela 2. Medidas comparativas e características morfológicas de <i>Chambriella megacephala</i> (Woodland, 1934)	40
Tabela 3. Medidas comparativas e características morfológicas de <i>Riggenbachiella amazonense</i> Alves et al., 2017	45

CAPÍTULO III

Tabela 1. Caracteres morfológicos dos gêneros de Monticelliinae (Eucestoda: Proteocephalidae), parasitos de peixes dulcícolas da região Neotropical	58
--	----

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figuras 1–8.** Micrografias (MEV) de *Frezella vaucheri* Alves et al., 2015 ex *Tocantinsia piresi*. 1. Escólex, vista dorsoventral (MHNG-PLAT-86718). 2, 3. Escólex, vista apical e lateral, respectivamente; a seta indica o órgão apical (IPCAS C-663). 4–7. Filitríquias capiliformes nas superfícies apical, das ventosas, porção anterior do metaescólex e zona proliferativa, respectivamente (IPCAS C-663). 8. Filitríquias aciculares na superfície das proglótides pré-grávidas (IPCAS C-663) 16
- Figuras 9–12.** Morfologia de *Frezella vaucheri* Alves et al., 2015 ex *Tocantinsia piresi*. 9. Escólex, vista dorsoventral (CHIOC 37979a); notar a divisão do metascólex em duas partes. 10. Escólex, secção sagital (MHNG-PLAT-86723); notar a concentração de musculatura circular nas extremidades da ventosa. 11. Proglótide pré-grávida, vista ventral (MHNG-PLAT-86723). 12. Genitália terminal, vista dorsal (MHNG-PLAT-86723) 17
- Figuras 13–18.** Morfologia de *Frezella vaucheri* Alves et al., 2015 ex *Tocantinsia piresi*. 13. Secção transversal da região entre a bolsa do cirro e ovário (MHNG-PLAT-86723). 14, 15. Secções transversais ao nível da bolsa do cirro e ovário, respectivamente (CHIOC 37979c, d). 16, 17. Secções transversais, detalhe da genitália terminal e da região antiporal da proglótide, respectivamente (CHIOC 37978c, e). 18. Ovos em água destilada (MHNG-PLAT-86722) 18
- Figura 19.** Filograma com base no critério da Inferência Bayesiana (IB) do gene 28S rDNA (domínios D1–D3) de espécies da família Proteocephalidae, incluindo *Frezella vaucheri* Alves et al., 2015. Probabilidade posterior Bayesiana/suporte nodal ‘bootstrap’ estão indicados acima dos nós. Nós com probabilidade posterior Bayesiana < 0.90 foram colapsados e valores de ‘bootstrap’ < 80 não são mostrados. A barra de escala indica o número de substituições nucleotídicas por local 22

CAPÍTULO II

- Figura 1.** Filograma com base no critério da Inferência Bayesiana (IB) do gene 28S rDNA (domínios D1–D3) de espécies da família Proteocephalidae, incluindo *Riggenbachiella amazonense* Alves et al., 2017 e *Chambriella megacephala* (Woodland, 1934), ambos em negrito. Probabilidade posterior Bayesiana/suporte nodal ‘bootstrap’ estão indicados acima dos nós. Nós com probabilidade posterior Bayesiana < 0.90 foram colapsados e valores de ‘bootstrap’ < 70 não são mostrados. A barra de escala indica o número de substituições nucleotídicas por local 37
- Figura 2.** Micrografias (MEV) de representantes de Proteocephalidae, parasitos de pimelodídeos neotropicais. *Chambriella megacephala* ex *Sorubimichthys planiceps* (MHNG-PLAT-54608): A, B. Escólex, vistas dorsoventral e apical, respectivamente. C, D, G. Microtríquias no ápice do escólex, próximo a margem superior das ventosas e entre ventosas, respectivamente. *Riggenbachiella amazonense* ex *S. planiceps* (MHNG-PLAT-54609): E, F. Escólex, vistas dorsoventral e apical, respectivamente. H, K, L. Microtríquias no ápice do escólex, próximo a margem superior das ventosas e entre ventosas, respectivamente. *Riggenbachiella paranaense* ex *Hemisorubim platyrhynchos* (MHNG-PLAT-36430): I, J. Escólex, vistas dorsoventral e apical, respectivamente. M–O. Microtríquias no ápice do escólex, próximo a margem superior das ventosas e entre ventosas, respectivamente. Barra de escala: A, B, E, F, I, J, 100 µm; C, D, G, H, K–O, 1 µm 38
- Figura 3.** Morfologia de *Chambriella megacephala* (Woodland, 1934) ex *Zungaro jahu*. A. Escólex, vista apical (parátipo de *C. agostinhoi*, CHIOC 32820c). B. Genitália terminal, vista ventral (holótipo de *C. agostinhoi*, CHIOC 32820a). C. Genitália terminal, vista dorsal (MHNH-PLAT-22025). D, E. Secções transversais da região entre a bolsa do cirro e ovário, e

ao nível da bolsa do cirro, respectivamente (MHNH-PLAT-19546). F. Ovos em água destilada (MHNH-PLAT-20768). Barra de escala: A, D, E, 200 µm; B, C, 100 µm; F, 20 µm

..... 39

Figura 4. Morfologia de *Riggenbachiella amazonense* Alves et al., 2017 ex *Phractocephalus hemioliopterus* (A, C, E, H, I), *Sorubimichthys planiceps* (hosp. tipo; B, D, F, J) e *Zungaro zungaro* (G). A. Escólex, vista dorsoventral (MHNG-PLAT-67054); B. Proglótide pré-grávida, vista ventral (IPCAS C-749). C. Proglótide madura, vista ventral (MHNG-PLAT-79199). D. Genitália terminal, vista ventral (IPCAS C-749). E, F. Secção transversal ao nível da bolsa do cirro, detalhado em F (MHNG-PLAT-22005, 94096); G. Secção transversal, detalhe da região posterior da proglótide (MHNG-PLAT-19544); H, I, detalhes ao nível do ovário e região posterior da proglótide, respectivamente (MHNG-PLAT-22005). J. Ovos em espécimes montados em lâmina (MHNH-PLAT-70835). Barra de escala: A, B, C, 500 µm; D, F, 100 µm; E, 250 µm; G, H, I, 50 µm, J, 20 µm

..... 44

Figura 5. Morfologia de *Riggenbachiella paranaense* (Pavanelli & Rego, 1989) ex *Hemisorubim platyrhynchos*. A. Escólex, vista dorsoventral (MHNG-PLAT-19514). B. Proglótide madura, vista ventral (MHNG-PLAT-19514). C. Proglótide pré-grávida, vista dorsal (MHNG-PLAT-19519). D. Genitália terminal, vista ventral (holótipo de *C. paranaensis*, CHIOC 32490). E. Secção transversal, detalhe da região posterior da proglótide (MHNG-PLAT-19514). F. Secção transversal ao nível do ovário (parátipo *C. paranaensis*, CHIOC 32492a). G. Ovos em espécimes montados em lâmina (MHNH-PLAT-19514). Barra de escala: A, 200 µm; B, C, 500 µm; D, F, 100 µm; E, 50 µm; G, 20 µm

..... 48

CAPÍTULO III

Figuras 1–10. Micrografias (MEV) de *Goezeella* spp. (1, 2, 5-9) *Goezeella mariae* Alves et al., 2017 ex *Pimelodella cristata* (IPCAS C-759). 1, 2. Escólex, vistas dorsoventral e apical, respectivamente. 5–9. Microtríquias no ápice do escólex, região central das ventosas, entre ventosas, base do metaescólex e zona proliferativa, respectivamente. (3, 4, 10) *Goezeella siluri* Fuhrmann, 1916 ex *Pinirampus pirinampu* (MHNG-PLAT-21908). 3, 4. Escólex, vistas dorsoventral e apical, respectivamente. 10. Microtríquias em uma proglótide pré-grávida

..... 61

Figuras 11–14. Morfologia de *Goezeella siluri* Fuhrmann, 1916 ex *Cetopsis coecutiens* (síntipo, MHNG-PLAT-36375). 11. Escólex, vista apical. 12. Genitália terminal, vista dorsal. 13. Secção transversal ao nível do ovário. 14. Ovo em água destilada

..... 62

Figura 15. Morfologia do escólex de *Goezeella siluri* Fuhrmann, 1916 ex *Pinirampus pirinampu*, vista dorsoventral (MHNG-PLAT-21845)

..... 62

Figuras 16–19. Morfologia de *Goezeella siluri* Fuhrmann, 1916 ex *Pinirampus pirinampu*. 16. Proglótide pré-grávida, vista ventral (MHNG-PLAT-21877). 17. Secção transversal ao nível do ovário (MHNG-PLAT-21879). 18. Genitália terminal, vista dorsal (voucher, MHNG-PLAT-21879). 19. Ovos em água destilada (MHNG-PLAT-19858)

..... 63

Figura 20, 21. Morfologia de *Goezeella danbrooksi* de Chambrier, Rego & Mariaux, 2004 ex *Ageneiosus pardalis* (holótipo, USNM 1370061). 20, 21. Secções transversais na região entre a bolsa do cirro e ovário e ao nível do ovário, respectivamente

..... 66

Figuras 22–27. Morfologia de *Goezeella mariae* Alves et al., 2017 ex *Pimelodella cristata*. 22. Escólex, vista dorsoventral (CHIOC 38860a). 23. Escólex, secção sagital (CHIOC 38861). 24. Proglótide pré-grávida, vista ventral (MHNG-PLAT-97016). 25. Proglótide grávida, vista dorsal (CHIOC 38860a). 26. Genitália terminal, vista dorsal (CHIOC 38860a). 27. Ovos em água destilada (IPCAS C-759)

..... 69

Figuras 28–30. Morfologia de *Goezeella mariae* Alves et al., 2017 ex *Pimelodella cristata*. 28. Secção transversal, detalhe ao nível da bolsa do cirro (CHIOC 38860d); 29, 30. Secções

transversais na região entre a bolsa do cirro e ovário e ao nível do ovário, respectivamente (CHIOC 38860d, MHNG-PLAT-86883)	70
Figura 31. Filograma com base no critério da Máxima Verossimilhança (MV) do gene 28S rDNA (domínios D1–D3) de espécies da família Proteocephalidae, incluindo <i>Goezeella siluri</i> Fuhrmann, 1916 e <i>G. mariae</i> Alves et al., 2017, ambos em negrito. Suporte nodal ‘bootstrap’/probabilidade posterior Bayesiana estão indicados acima dos nós. Nós com valores de ‘bootstrap’ < 70 foram colapsados e de probabilidade posterior Bayesiana < 0.90 não são mostrados. A barra de escala indica o número de substituições nucleotídicas por local	72

CAPÍTULO IV

Figuras 1–9. Micrografias (MEV) de <i>Ephedrocephalus microcephalus</i> Diesing, 1850 (MHNG-PLAT-28296) ex <i>Phractocephalus hemioliopterus</i> . 1. Escólex, vista lateral, evidenciando o metaescólex fortemente enrugado. 2. Detalhe das ventosas, vista apical. 3. Escólex, vista apical. 4–9. Microtríquias no ápice do escólex, bordas internas e externas das ventosas, entre ventosas, no metaescólex e estróbilo, respectivamente	82
Figuras 10–12. Morfologia de <i>Ephedrocephalus microcephalus</i> Diesing, 1850 ex <i>Phractocephalus hemioliopterus</i> . 10. Escólex, vista dorsoventral (MHNG-PLAT-22371). 11. Escólex, secção sagital (MHNG-PLAT-28296). 12. Proglótide grávida, vista ventral (MHNG-PLAT-22009); notar: os testículos foram omitidos	83
Figuras 13–18. Morfologia de <i>Ephedrocephalus microcephalus</i> Diesing, 1850 ex <i>Phractocephalus hemioliopterus</i> . 13. Proglótide pré-grávida, vista dorsal (MHNG-PLAT-22009); notar: apenas os folículos vitelínicos laterais nas regiões pós-poral e antiporal são representados, embora eles ocupem toda superfície ventral da proglótides. 14–16. Secções transversais da região entre a bolsa do cirro e ovário, aos níveis da bolsa do cirro e ovário, respectivamente (MHNG-PLAT-21910). 17. Genitália terminal, vista dorsal (MHNG-PLAT-22009). 18. Ovos em água destilada (MHNG-PLAT-21851)	84
Figuras 19–28. Micrografias (MEV) de <i>Zygobothrium megacephalum</i> Diesing, 1850 (MHNG-PLAT-85239) ex <i>Phractocephalus hemioliopterus</i> . 19. Escólex, vista anterodorsoventral. 20. Escólex, vista apical. 21. Escólex, vista lateral. 22. Detalhe da superfície de uma proglótide madura; notar: padrão craspedotado. 23–28. Microtríquias no ápice do escólex, septo das ventosas, margem das ventosas, entre ventosas, superfícies do estróbilo e lacinações, respectivamente	89
Figura 29. Morfologia do escólex de <i>Zygobothrium megacephalum</i> Diesing, 1850 ex <i>Phractocephalus hemioliopterus</i> . Corte sagital mostrando a musculatura circular desenvolvida, na parte anterior das ventosas, servindo como um esfíncter para o sistema de fixação ao intestino do hospedeiro	90
Figuras 30–33. Morfologia de <i>Zygobothrium megacephalum</i> Diesing, 1850 ex <i>Phractocephalus hemioliopterus</i> . 30. Proglótide pré-grávida, vista ventral (MHNG-PLAT-21854); notar: útero omitido. 31. Proglótide grávida, vista ventral (MHNG-PLAT-85239). 32, 33. Secções transversais nas regiões anterior e posterior da proglótide, respectivamente (MHNG-PLAT-18316)	91
Figuras 34–37. Morfologia de <i>Zygobothrium megacephalum</i> Diesing, 1850 ex <i>Phractocephalus hemioliopterus</i> . 34, 35. Secções transversais aos níveis anterior e posterior da genitália terminal, respectivamente. 36. Genitália terminal, vista ventral (MHNG-PLAT-18317); 37. Ovos em água destilada (MHNG-PLAT-85239)	92
Figuras 38, 39. Morfologia dos ovos de <i>Cangatiella</i> Pavanelli & Santos, 1991 em água destilada. 38. <i>Cangatiella arandasi</i> Pavanelli & Santos, 1991 (MHNG-PLAT-34751) ex <i>Trachelyopterus galeatus</i> . 39. <i>Cangatiella macdonaghi</i> (Szidat & Soria, 1951) (MHNG-PLAT-30269) ex <i>Odontesthes hatcheri</i>	92

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. Capítulo I. NOVO GÊNERO E ESPÉCIE DE CESTOIDE PROTEOCEFALÍDEO (CESTODA): PRIMEIRO PARASITO ENCONTRADO EM <i>Tocantinsia piresi</i> (SILURIFORMES: AUCHENIPTERIDAE) NO BRASIL.	
2.1. INTRODUÇÃO	08
2.2. MATERIAL E MÉTODOS	09
2.2.1 Procedência dos hospedeiros e coleta dos parasitos.....	09
2.2.2 Análises morfológicas.....	09
2.2.3 Análises moleculares.....	09
2.3. RESULTADOS	13
2.3.1 Diagnose de <i>Frezella</i> Alves, de Chambrier, Scholz & Luque, 2015.....	13
2.3.2. Descrição de <i>Frezella vaucheri</i> Alves, de Chambrier, Scholz & Luque, 2015.....	14
2.3.3 Relações filogenéticas e caracterização molecular de <i>Frezella vaucheri</i>	21
2.4. DISCUSSÃO	23
3. Capítulo II. ELUCIDAÇÃO DA TAXONOMIA DE <i>Chambriella</i> REGO, CHUBB & PAVANELLI, 1999 (CESTODA: PROTEOCEPHALIDAE), INCLUINDO A PROPOSIÇÃO DE UM GÊNERO NOVO E DESCRIÇÃO DE UMA ESPÉCIE NOVA EM PIMELODÍDEOS DA REGIÃO NEOTROPICAL	
3.1. INTRODUÇÃO	28
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	30
3.2.1 Procedência dos hospedeiros e coleta dos parasitos.....	30
3.2.2 Análises morfológicas.....	30
3.2.3 Análises moleculares.....	30
3.3. RESULTADOS	34
3.3.1 Emenda do gênero <i>Chambriella</i> Rego, Chubb & Pavanelli, 1999.....	34
3.3.2 Novos dados taxonômicos de <i>Chambriella megacephala</i> (Woodland, 1934)	35
3.3.3 Diagnose de <i>Riggenbachiella</i> Alves, de Chambrier, Luque & Scholz, 2017.....	41
3.3.4 Descrição de <i>Riggenbachiella amazonense</i> Alves, de Chambrier, Luque & Scholz, 2017.....	42
3.3.5 Redescrição de <i>Riggenbachiella paranaense</i> (Pavanelli & Rego, 1989)	46
3.3.6 Relações filogenéticas de <i>Chambriella megacephala</i> e <i>Riggenbachiella amazonense</i>	49
3.4. DISCUSSÃO	50
4. Capítulo III. REVISÃO DE <i>Goezeella</i> FURHMANN, 1916 (CESTODA: PROTEOCEPHALIDAE), PARASITOS DE PEIXES SILURIFORMES DOS RIOS AMAZONAS, MAGDALENA E ORINOCO, INCLUINDO A DESCRIÇÃO DE UMA ESPÉCIE NOVA EM <i>Pimelodella cristata</i> (HEPTAPTERIDAE).	
4.1. INTRODUÇÃO	55
4.2. MATERIAL E MÉTODOS	56
4.2.1 Procedência dos hospedeiros e coleta dos parasitos.....	56
4.2.2 Análises morfológicas e moleculares.....	56
4.3. RESULTADOS	57

4.3.1 Emenda do gênero <i>Goezeella</i> Furhmann, 1916.....	57
4.3.2 Redescricao de <i>Goezeella siluri</i> Furhmann, 1916.....	59
4.3.3 Novos dados morfológicos de <i>Goezeella danbrooski</i> de Chambrier, Rego & Mariaux, 2004.....	64
4.3.4 Descrição de <i>Goezeella mariae</i> Alves, de Chambrier, Luque & Scholz, 2017.....	66
4.3.5 Relações filogenéticas e caracterização molecular de <i>Goezeella siluri</i> e <i>G. mariae</i>	71
4.4. DISCUSSÃO	73
4.4.1 Chave de identificação para as espécies de <i>Goezeella</i> Furhmann, 1916	74
5. Capítulo IV. REVISÃO TAXONÔMICA DE DOIS GÊNEROS MONOTÍPICOS DE CESTOIDES (CESTODA: PROTEOCEPHALIDAE) PARASITOS DA PIRARARA, <i>Phractocephalus hemioliopterus</i>	
5.1. INTRODUÇÃO	78
5.2. MATERIAL E MÉTODOS	79
5.2.1 Procedência dos hospedeiros e coleta dos parasitos.....	79
5.2.2 Análises morfológicas e moleculares.....	79
5.3. RESULTADOS	80
5.3.1 Emenda do gênero <i>Ephedrocephalus</i> Diesing, 1850.....	80
5.3.2 Redescricao de <i>Ephedrocephalus microcephalus</i> Diesing, 1850.....	80
5.3.3 Emenda do gênero <i>Zygobothrium</i> Diesing, 1850.....	86
5.3.4 Redescricao de <i>Zygobothrium megacephalum</i> Diesing, 1850.....	86
5.4. DISCUSSÃO	95
5.4.1 Chave de identificação de proteocefalídeos parasitos de <i>Phractocephalus hemioliopterus</i>	96
6. CONCLUSÕES GERAIS	97
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98
8. ANEXO	111

1. INTRODUÇÃO GERAL

De acordo com a Convenção sobre Diversidade Biológica (CDB), elaborada na Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento, mais conhecida como Rio-92, o conceito de 'biodiversidade' pode ser amplamente definido como: diversidade de vida na Terra, englobando variações em todos os níveis, desde os genes em uma espécie até habitats criados biologicamente dentro dos vários ecossistemas (DUFFY et al., 2013; SANDIFER et al., 2015). Contudo, é a diversidade de espécies que desempenha um papel fundamental no estudo e na percepção da biodiversidade, considerando-as como a unidade fundamental dos ecossistemas (BROOKS; HOBERG, 2000).

Atualmente, existe o consenso de que os parasitos compõem uma importante fração dos ecossistemas (LAFFERTY et al., 2006) e, conseqüentemente, da biodiversidade global (POULIN; MORAND, 2004; POULIN, 2014), superando em até 50% o número de seus hospedeiros (DOBSON et al., 2008). Além disso, os parasitos apresentam um papel chave na dinâmica das populações de hospedeiros e estruturação das comunidades (MARCOGLIESE, 2005), podendo afetar a biologia dos mesmos quanto ao comportamento, reprodução, fisiologia e morfologia (MARCOGLIESE, 2004). Parasitos com ciclos de vida complexos, envolvendo de 1 a 3 hospedeiros intermediários, desempenham um papel ainda mais importante nesta dinâmica (LAFFERTY et al., 2006). Assim, estudos de conservação da diversidade biológica devem incluir os parasitos como componentes fundamentais para o equilíbrio dos ecossistemas (POULIN; MORAND, 2000; THOMAS et al., 2000).

O conhecimento da diversidade parasitária, em pequena ou grande escala, está diretamente ligado ao trabalho dos taxonomistas e sistematas, responsáveis pelo correto reconhecimento, documentação e classificação de grupos monofiléticos (categorias taxonômicas superiores) bem como de linhagens independentes, as espécies (BROOKS; HOBERG, 2000; CAIRA, 2011; POULIN, 2014). Todavia, apenas uma pequena fração do número estimado de espécies viventes foram formalmente descritas (PEARSON et al., 2011) e o número de taxonomistas capazes de descrevê-las, embora haja controvérsias (COSTELO et al., 2012, 2013), tem se reduzido drasticamente desde as últimas décadas (BROOKS; HOBERG, 2000; PEARSON et al., 2011). Independentemente, o fato dos parasitologistas, em geral, alcançarem o ápice de suas produções científicas quando estão mais próximo à aposentadoria do que ao início de carreira, se configura como um empecilho adicional ao conhecimento e estimativas reais da diversidade parasitária global (BROOKS; HOBERG, 2000; POULIN, 2014; CRIBB, 2016).

A taxonomia morfológica vem sendo utilizada há mais de 250 anos, desde a introdução da nomenclatura binomial por Linnaeus em meados do século XVIII, para o reconhecimento e identificação de novas espécies (TAUTZ et al., 2003). No entanto, estudos taxonômicos baseados apenas em caracteres morfológicos possuem limitações, tais como: identificação equivocada de um táxon ocasionada por uma alta plasticidade fenotípica, existência de espécies crípticas (espécies morfológicamente similares, porém geneticamente distintas), caracteres homoplásticos (característica compartilhada por um grupo de espécies que não é compartilhada com seus ancestrais comuns), e a utilização de caracteres que são efetivos apenas para um estágio específico de seu ciclo de vida ou gênero sexual (VALENTINI et al., 2009).

Em vista a dificuldades enfrentadas pela taxonomia tradicional, concomitante aos avanços tecnológicos e a necessidade de se conhecer melhor a biodiversidade global, dois projetos foram iniciados em 2003, um denominado de "DNA Taxonomy" (TAUTZ et al., 2003) e o outro cunhado como "DNA barcoding" (HEBERT et al., 2003a, b), ambos criados com o intuito de se obter uma identificação rápida e precisa dos táxons por taxonomistas e não-taxonomistas através de técnicas moleculares (TELETCHEA, 2010). Alguns autores

veem diferenças marcantes entre as duas propostas, afirmando que a primeira tem como objetivo colocar a taxonomia molecular com um papel principal na identificação e descrição de novas espécies, enquanto a segunda tem como função fornecer um pequeno fragmento de DNA, o “barcode”, para a discriminação das espécies, utilizando-a apenas como uma ferramenta, que não procura substituir a taxonomia tradicional (GOLDSTEIN; DESALLE, 2010; TELETCHEA, 2010).

A técnica associada ao “DNA barcoding”, consiste na utilização de uma curta sequência de DNA (600-800 pb), a partir da terminação 5’ da subunidade 1 do *cox1* (gene mitocondrial), cuja função é denotar um “código de barras” específico para cada espécie, análogo ao utilizado nos produtos vendidos nos supermercados (STOCKLE; HEBERT, 2008), embora outros marcadores moleculares também sejam usados para o mesmo fim (TAUTZ et al., 2003). Em suma, esta metodologia permite a identificação de táxons preexistentes, delimitação de novas espécies, assim como a documentação da biodiversidade global através da utilização de um valor padronizado de distância genética entre a variação intra e interespecífica (HEBERT, 2003b). As novidades associadas a essa técnica referem-se aos seguintes fatores: padronização de um marcador específico, operação em larga escala, depósito obrigatório de espécimes representativos e criação de um banco de dados que permite uma análise comparativa entre as espécies (RATNASINGHAM; HEBERT, 2007; TELETCHEA, 2010).

Com o advento das técnicas moleculares para o uso na taxonomia, intensos debates na academia têm ocorrido em relação à forma em que estas ferramentas devem ser empregadas, como por exemplo as correspondências recentemente publicadas entre dois especialistas com opiniões conflitantes (ver EBACH, 2011; MITCHELL, 2011). Embora as vantagens da iniciativa “DNA barcoding” sejam evidentes, existem algumas limitações na utilização do *cox1* que devem ser consideradas visando otimizar sua aplicabilidade, principalmente relativas ao descobrimento de novas espécies (FREZAL; LEBLOIS, 2008; VALENTINI et al., 2009; DASMAHAPATRA et al., 2010). Tais limitações do gene *cox1* devem-se aos seguintes fatores: número reduzido de cópias nas células, possibilidade de introgressão, herança materna, taxas de recombinação e mutação inconsistentes, heteroplasmia e fatores genéticos que alteram os padrões de herança, como a herança bacteriana por *Wolbachia* Hertig, 1936 e *Rickettsia* (da Rocha-Lima, 1916) (RUBINOFF et al., 2006), além de ser uma identificação baseada em apenas um marcador molecular, onde os valores de divergência genética que definem os limites entre variações intra e interespecíficas são arbitrariamente definidos (RUBINOFF et al., 2006).

Em geral, os pesquisadores concordam que a iniciativa “DNA barcoding” é uma ferramenta útil, porém os mesmos defendem que este método deve ser associado a outras ferramentas igualmente úteis, tais como múltiplos marcadores moleculares, dados morfológicos, ecológicos e reprodutivos, com a finalidade de refletir a evolução biológica dos táxons e não a evolução de um único gene (WILL; RUBINOFF, 2004; GALTIER et al., 2009). Neste contexto, e de forma independente, Dayrat (2005) e Will et al. (2005) cunharam o termo “integrative taxonomy” ou taxonomia integrativa, com o objetivo de circunscrever e delimitar as espécies a partir de uma visão holística, abordando diferentes áreas do conhecimento (morfologia comparativa, biogeografia, genética de populações, ecologia, ciclos de vida, comportamento, etc.), superando assim os problemas e limitações inerentes a cada uma destas disciplinas isoladas (PADIAL et al., 2010).

A taxonomia integrativa encontra-se amplamente difundida nos estudos parasitológicos, através do uso combinado de dados morfológicos e moleculares (LITTLEWOOD, 2011; POULIN, 2014; POULIN; PRESSWELL, 2016). As principais vantagens do uso de marcadores moleculares para a identificação de parasitos foram assim resumidas por Criscione et al. (2005): realizar a conexão entre estágios de vida

morfologicamente indistinguíveis, como larvas e adultos de espécies conhecidas, facilitando o estabelecimento de diagnósticos clínicos e vias de transmissão de doenças; elucidar os ciclos de vida dos parasitos através do reconhecimento de hospedeiros paratênicos ou intermediários; facilitar o reconhecimento de espécies crípticas (ver NADLER; PÉREZ-PONCE DE LEÓN, 2011). Entretanto, em um contexto mais amplo, a elucidação de processos evolucionários que conduzem a diversificação das espécies em diferentes áreas geográficas, associadas a diferentes grupos de hospedeiros pode ser considerada como a principal aplicabilidade do uso simultâneo da taxonomia morfológica tradicional e de novas técnicas moleculares em uma abordagem taxonômica integrativa (LITTLEWOOD, 2011).

Objeto do estudo

Os cestoides (classe Cestoda Rudolphi, 1808) são um grupo monofilético de organismos pertencentes ao filo Platyhelminthes Gegenbaur, 1859 e parasitos obrigatórios de vertebrados. Membros do grupo carecem de um sistema digestório, sendo a nutrição realizada pela superfície corporal, através de estruturas especializadas que aumentam a superfície de absorção, denominadas microtríquias (BUSH et al., 2001). É o segundo grupo com o maior número de espécies dentro do filo, com mais de 5000 espécies descritas em 751 gêneros que se irradiaram por ambientes marinhos, dulcícolas e terrestres (WAESCHENBACH et al., 2012; CAIRA; LITTLEWOOD, 2013). Eles apresentam um ciclo de vida complexo, envolvendo um ou mais hospedeiros intermediários (comumente artrópodes) e são transmitidos exclusivamente através da cadeia alimentar (CAIRA; LITTLEWOOD, 2013; LITTLEWOOD et al., 2015). Em geral, membros do grupo são caracterizados, quando adultos, por apresentarem o corpo dividido em três partes: escólex (responsável pela fixação do helminto na mucosa intestinal de seu hospedeiro), zona proliferativa ou colo (região de formação das proglótides) e estróbilo (conjunto de proglótides onde estão localizadas as estruturas reprodutivas em diferentes estágios de maturação) (BUSH et al., 2001).

Cestoides parasitos de peixes elasmobrânquios e teleósteos, em pelo menos um estágio do ciclo de vida, estão entre as mais diversas linhagens deste grupo (CAIRA et al., 2014; CAIRA; JENSEN, 2014), apenas comparável em riqueza de espécies com os ciclofilídeos (Cyclophyllidea), parasitos de tetrápodes (CAIRA; LITTLEWOOD, 2013). Considerando que estes parasitos usualmente apresentam alta especificidade em relação ao número de hospedeiros, ou seja, possuem apenas uma ou poucas espécies de vertebrados associados, eles podem auxiliar na identificação dos mesmos, assim como serem considerados modelos adequados para estudos de coevolução parasito-hospedeiro (CAIRA; JENSEN, 2014, 2015).

A América do Sul é um continente megadiverso, que inclui ao menos cinco “hotspots” de biodiversidade, com mais de 30,000 km de região costeira e duas das 10 maiores bacias hidrográficas no mundo, isto é, bacias dos rios Amazonas e Paraná (MYERS et al. 2000; MILOSLAVICH et al. 2011). Toda essa diversidade também é refletida na ictiofauna dulcícola, considerada a mais diversa do mundo, com mais de 6000 espécies estimadas para o continente (REIS, 2013).

Cestoides proteocefalídeos (Onchoproteocephalidea Caira, Jensen, Waeschenbach, Olson e Littlewood, 2014; previamente Proteocephalidea Mola, 1928) são um dos grupos mais frequentemente encontrados parasitando peixes na América do Sul, embora também possam ser encontrados em répteis, anfíbios e, até o momento, em uma espécie de marsupial (mamífero), nas mais diversas regiões do globo (REGO, 1994; CAÑEDA-GUSMÁN et al., 2001). A ordem Proteocephalidea é considerada válida desde o seu estabelecimento por Mola (1928), porém Caira et al. (2014) propuseram a ordem Onchoproteocephalidea com o objetivo de unir todas as espécies de proteocefalídeos com alguns ‘tetrafilídeos’ da família Onchobothriidae Braun, 1900 parasitos de peixes cartilagosos, uma vez que as afinidades

filogenéticas entre os grupos são suportadas por análises moleculares (ver Cap. 1 para detalhes).

Freze (1965) forneceu uma lista com todas as espécies de proteocefalídeos do mundo, incluindo novos dados taxonômicos para alguns táxons. Posteriormente, Schmidt (1986) e Rego (1994) forneceram listas com chaves taxonômicas para identificação das espécies classificadas em duas famílias, i.e., Proteocephalidae La Rue, 1911 e Monticelliidae La Rue, 1911. Estas por sua vez foram divididas em 12 subfamílias, a saber, Acanthotaeniinae Freze, 1963, Corallobothriinae Freze, 1965, Ephedrocephalinae Mola, 1929, Gangesiinae Mola, 1929, Marsypocephalinae Woodland, 1933, Monticelliinae Mola, 1929, Nupeliinae Pavanelli & Rego, 1991, Peltidocotylinae Woodland, 1934, Proteocephalinae Mola, 1929, Rudolphiellinae Woodland, 1935, Sandonellinae Khalil, 1960, and Zygobothriinae Woodland, 1933, com base na classificação proposta por uma série de trabalhos de W.N.F. Woodland (e.g., 1925, 1933a,b, 1934a,b, 1935). Este autor considerou que a disposição dos órgãos em relação à musculatura longitudinal interna seria importante para a classificação sistemática do grupo, o que foi relativizado por Rego (1995), ao identificar posições intermediárias dos órgãos internos em táxons neotropicais. Assim, Rego (1995) considerou válida apenas a família Proteocephalidae e ressaltou a putativa importância da morfologia do escólex para a classificação. Atualmente, sabe-se que tanto a disposição dos órgãos internos, quanto a morfologia do escólex não são caracteres-chave na história evolutiva dos proteocefalídeos (DE CHAMBRIER et al., 2015a) e uma nova classificação deve ser proposta.

Em um levantamento recente sobre a diversidade de cestoides parasitos de peixes na América do Sul, Alves et al. (2017a) encontraram registros de 102 espécies em 38 gêneros de proteocefalídeos, representando *c.* 35% do número total de espécies reportadas no continente; este número sobe a *c.* 50% se considerado os demais membros da ordem parasitos de peixes cartilaginosos. Todavia, considerando que menos de 5% do número potencial destes hospedeiros foram investigados em estudos parasitológicos na região (CHOUDHURY et al., 2016) e que estudos combinando duas ou mais disciplinas são escassos (DE CHAMBRIER et al., 2017), o conhecimento da fauna de proteocefalídeos pode ser considerado incipiente.

A presente tese tem como objetivo principal o estudo da diversidade de proteocefalídeos parasitos de peixes na América do Sul, aplicando uma abordagem taxonômica integrada de dados morfológicos e moleculares. Portanto, para uma melhor compreensão desta diversidade, os seguintes objetivos específicos fizeram-se necessários: (i) realizar uma prospecção molecular (sequenciamento parcial da subunidade maior do DNA ribossomal – 28S rDNA) de proteocefalídeos provenientes, em sua grande maioria, de três bacias hidrográficas brasileiras (bacias do Rio Amazonas, Paraná e Tocantins-Araguaia – ver ANEXO I); (ii) observar possíveis padrões de distribuição geográfica e associação parasito-hospedeiro das espécies encontradas, com base na caracterização genética e morfológica dos indivíduos; (iii) examinar espécimes depositados em coleções helmintológicas e redescrever as espécies quando necessário; (iv) descrever espécies ainda não conhecidas pela ciência; (v) elucidar as relações filogenéticas dos cestoides estudados em cada capítulo da tese.

Com base a literatura presente sobre os proteocefalídeos neotropicais, as seguintes hipóteses foram formuladas: (i) as espécies apresentam alta especificidade parasitária (especificidade estrita); (ii) espécies provenientes de diferentes bacias hidrográficas não são coespecíficas; (iii) a obtenção de novas sequências do gene 28S rDNA podem fornecer novos *insights* na classificação do grupo ao preencher lacunas filogenéticas; (iv) múltiplos eventos de colonização tiveram um papel chave na história evolutiva dos proteocefalídeos neotropicais.

CAPÍTULO I

NOVO GÊNERO E ESPÉCIE DE CESTOIDE PROTEOCEFALÍDEO (CESTODA): PRIMEIRO PARASITO ENCONTRADO EM *Tocantinsia piresi* (SILURIFORMES: AUCHENIPTERIDAE) NO BRASIL¹

¹Artigo publicado: ALVES, P. V.; DE CHAMBRIER, A.; SCHOLZ, T.; LUQUE, J. L. A new genus and species of proteocephalidean tapeworm (Cestoda), first parasite found in the driftwood catfish *Tocantinsia piresi* (Siluriformes: Auchenipteridae) from Brazil. **Folia Parasitologica**, v. 62, p. 006, 2015, doi: 10.14411/fp.2015.006 (ANEXO II)

RESUMO

O gênero *Frezella* foi proposto para acomodar *Frezella vaucheri* encontrado em *Tocantinsia piresi*, hospedeiro auchenipterídeo (Auchenipteridae) coletado no Rio Xingú, um dos principais tributários do baixo Rio Amazonas, Brasil. Espécimes do novo gênero possuem testículos, ovário, folículos vitelínicos e útero medulares (ainda que alguns folículos ovarianos penetrem o córtex dorsal). Diferem de espécimes dos outros gêneros pela morfologia do escólex, que inclui um metaescólex composto por duas regiões distintas: uma anterior, fortemente enrugada e localizada abaixo das ventosas, e outra posterior, esparsamente enrugada. *Frezella* pode ser diferenciado também por apresentar a musculatura longitudinal interna hipertrofiada lateralmente, pela presença de folículos ovarianos no córtex dorsal e por apresentar um pequeno par de canal osmorregulatório, dorsomedial aos canais ventrais. Análises filogenéticas com base no gene nuclear 28S rDNA (domínios D1–D3) confirmam que *F. vaucheri* representa uma linhagem independente em relação aos demais proteocefalídeos. *Frezella vaucheri* é o primeiro helminto registrado em *T. piresi*, hospedeiro que se encontra distribuído nas bacias dos Rios Amazonas e Tocantins-Araguaia.

Palavras-chave: taxonomia, morfologia, filogenia molecular, Onchoproteocephalidea, metaescólex, bacia do Rio Amazonas, Rio Xingú, região Neotropical.

ABSTRACT

The genus *Frezella* was proposed to accommodate *Frezella vaucheri* found in *Tocantinsia piresi*, auchenipterid fish (Auchenipteridae) from the Xingú River, one of the principal tributaries of the lower Amazon River, Brazil. Specimens of the new genus possess a medullary position of the testes, ovary, vitelline follicles and uterus (yet some ovarian follicles penetrate to the cortex on the dorsal side). They differ from specimens of the other genera in the morphology of the scolex, which includes a metascolex composed of two distinct zones: anterior, strongly wrinkled part posterior to the suckers, and posterior, sparsely folded zone. *Frezella* can also be differentiated by having the internal longitudinal musculature hypertrophied laterally on both sides, the presence of some ovarian follicles in the cortex on the dorsal side and the presence of additional pair of tiny osmoregulatory canals situated slightly dorsomedial to ventral canals. Phylogenetic analysis based on the nuclear gene 28S rDNA (D1–D3 domains) confirms that *F. vaucheri* represents an independent lineage amongst the proteocephalids. *Frezella vaucheri* is the first helminth reported from *T. piresi*, which occurs in the Amazon and Tocantins-Araguaia River basins.

Key-words: taxonomy, morphology, molecular phylogeny, Onchoproteocephalidea, metascolex, Amazon River basin, Xingú River, Neotropical Region

2.1 INTRODUÇÃO

A região Neotropical possui a maior diversidade de peixes do planeta (REIS, 2013). Os Siluriformes (bagres) representam um dos grupos dominantes da fauna ictiológica desta região e podem servir como hospedeiros definitivos para cestoides proteocefalídeos (Cestoda: Onchoproteocephalidea) (DE CHAMBRIER et al., 2017). A maior diversidade de proteocefalídeos é encontrada em pimelodídeos (Pimelodidae) de grande porte, tais como *Brachyplatystoma* Bleeker, *Phractocephalus* Agassiz, *Pseudoplatystoma* Bleeker e *Zungaro* Bleeker nas bacias dos Rios Amazonas e Paraná. Algumas espécies destes gêneros podem hospedar de 7 a 9 espécies de cestoides (ALVES et al., 2017a – ANEXO III). Entretanto, proteocefalídeos também são reportados em outros grupos de peixes Siluriformes, tais como os auchenipterídeos (Auchenipteridae), em particular espécies do gênero *Ageneiosus* Lacépède (de DE CHAMBRIER; VAUCHER, 1999; GIL DE PERTIERRA, 2009).

Durante expedições visando o estudo da helmintofauna parasitária de peixes do Rio Xingú (tributário do Rio Amazonas, Brasil), proteocefalídeos foram encontrados no intestino de um bagre auchenipterídeo, *Tocantinsia piresi* (Miranda-Ribeiro), localmente conhecido como “pocomão”. Este peixe foi descrito como *Glanidium piresi* por Miranda-Ribeiro (1920) no Rio São Manuel, que junto com o Rio Juruena, formam o Rio Tapajós (um dos principais tributários do Rio Amazonas). Sua distribuição abrange duas bacias hidrográficas, i.e., dos rios Amazonas e Tocantins-Araguaia (BARROS, 2012). Este trabalho pode ser considerado o primeiro estudo sobre a fauna parasitária de *T. piresi*.

Estudos morfológicos e moleculares dos cestoides encontrados em *T. piresi* do Rio Xingú revelaram a presença de uma nova espécie, aqui descrita. A mesma não pôde ser alocada dentro de nenhum gênero conhecido dentre os proteocefalídeos, portanto um novo gênero é proposto para acomodá-la.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Procedência dos hospedeiros e coleta dos parasitos

Os peixes, coletados por pescadores artesanais no Rio Xingú (3°12'S, 52°12'O) em abril e setembro de 2013, foram mantidos vivos em recipientes com aeração adequada e transportados ao laboratório de Zoologia da Universidade Federal do Pará (UFPA), campus de Altamira, onde foram eutanaziados. Os cestóides coletados no lúmen intestinal do hospedeiro foram mantidos em placas de petri com solução salina (0.9%) para completa remoção de debris. Dos 9 espécimes encontrados, cinco foram fixados em formalina (4%) aquecida e subsequentemente armazenados em álcool 70° GL. A extremidade posterior dos quatro espécimes restantes foi armazenada em álcool 96° GL para o sequenciamento do gene 28S rDNA, enquanto a maior porção do corpo foi fixada em formalina aquecida para posterior identificação morfológica (hologenóforos, segundo PLEIJEL et al., 2008). Os peixes foram identificados com o auxílio de ictiólogos da UFPA, campus de Altamira.

2.2.2. Análises morfológicas

Para os estudos em ML, os espécimes foram corados com Carmalúmem de Mayer, desidratados em uma série crescente de concentrações etílicas, diafanizados em eugenol (óleo de cravo) e montados em bálsamo do Canadá (DE CHAMBRIER, 2001). Os desenhos foram feitos com o auxílio de um tubo de desenho (câmara clara) acoplado ao microscópio Leica™ DMLB. Os espécimes foram mensurados com o auxílio do software Quick Photo Camera™ 2.3 através do microscópio Olympus™ BX51; todas as medidas foram fornecidas em micrômetros (µm), salvo quando indicado.

Para os estudos em MEV, dois escólices e uma porção estrobilar foram desidratados em uma série crescente de concentrações etílicas, secos em hexametil-disilazano (HDMS), metalizados com ouro e examinados no microscópio eletrônico JEOL™ JSM-740 1F do Instituto de Parasitologia, Centro de Biologia da Academia de Ciências da República Tcheca, operando a 4 kV. Observações adicionais foram realizadas com o auxílio do microscópio ZEISS™ 940a no Museu de História Natural de Genebra, Suíça.

Para secções histológicas, porções estrobilares foram embebidas em parafina, seccionados transversalmente ou sagitalmente (espessura de 13 µm). Em seguida, a parafina foi dissolvida em tolueno e os cortes foram hidratados em uma série decrescente de concentrações etílicas. Hematoxilina de Weigert foi utilizado para coloração, seguido de uma breve diferenciação em álcool 70° GL acidificado. O material foi contra-corado em Eosina B (1%; Sigma™) e imerso em em uma série crescente de concentrações etílicas. Após a imersão em tolueno, o material foi montado em bálsamo do Canadá (DE CHAMBRIER, 2001). A descrição das microtríquias segue Chervy (2009).

Espécimes estudados no presente trabalho foram depositados nas seguintes coleções parasitológicas: CHIOC, IPCAS e MHNG-PLAT.

2.2.3 Análises moleculares

O DNA genômico de um único espécime (código de campo BR-X65A) foi isolado utilizando o kit de extração DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN™, Hilden, Germany), de acordo com as instruções do fabricante. A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi realizada para a amplificação parcial do gene 28S rDNA (domínios D1–D3), utilizando os iniciadores

LSU5 (5'-TAGGTCGACCCGCTGAAAYTTAAGCA-3') e 1500R (5'-GCTATCCTGAGGGGAACTTCG-3') (LITTLEWOOD et al., 2000; OLSON et al., 2003).

Os parâmetros de ciclagem da PCR para amplificação foram os seguintes: 94 °C por 3 min. (desnaturação inicial); 35 ciclos de 94 °C por 30 s (desnaturação), 55 °C por 30 s (anelamento), 72° por 2 min. (extensão); 72° por 10 min. (extensão final). Os produtos da PCR foram verificados em gel de agarose 1% e purificados por tratamento enzimático utilizando a exonuclease I e a fosfatase alcalina (WERLE et al., 1994).

O sequenciamento foi realizado na GATC Biotech (Konstanz, Germany) utilizando os iniciadores da PCR, além dos seguintes iniciadores internos: 400R (5'-GCAGCTTGACTACACCCG-3') e 900F (5'-CCGTCTTGAAACACGGACCAAG-3') (REYDA; OLSON, 2003).

Os contíguos das sequências foram alinhados por correspondência nucleotídica no programa Geneious™ versão 8.1.8 (KEARSE et al., 2012; disponível em <http://www.geneious.com>) e as regiões complementares aos iniciadores foram excluídas. A sequência gerada *de novo* foi alinhada com aquelas selecionadas do GenBank (Tabela 1) após uma análise filogenética prévia e que permitisse uma comparação com as demais linhagens neotropicais, usando o algoritmo E-INS-i do programa MAFFT (KATO et al., 2002). Lacunas nas extremidades das sequências, devido a dados não amplificados ou por variação natural do comprimento, foram substituídas por 'n'.

A reconstrução filogenética foi estimada usando os critérios MV e IB com base no modelo evolutivo GTR + I + Γ (tempo reversível generalizado com variação gamma e proporção de sítios invariáveis) selecionado pelo programa jModelTest 2 (DARRIBA et al., 2012), utilizando o Critério de Informação de Akaike corrigido para pequenas amostras (AICc). A melhor topologia da análise de MV foi gerada pelo programa RaxML 'BlackBox' (STAMATAKIS, 2006), permitindo a parada automática de réplicas não paramétricas de *bootstrap*. A análise de IB foi construída usando MrBayes versão 3.2. (RONQUIST et al., 2012) em duas buscas independentes de MCMC, executando 4 cadeias (uma 'fria' e três 'quentes') por 5 milhões de gerações (ngen = 10,000,000), amostradas a cada 1,000 (samplefreq = 1,000) com os primeiros 25% descartados como "burn-in" (burninfrac = 0.25). O programa Tracer 1.5 (RAMBAUT et al., 2014) foi utilizado para checar a convergência e a homogeneização de diferentes parâmetros e para confirmar que o ESS dos parâmetros foi adequado para fornecer estimativas razoáveis de variância, isto é, ESS > 200. As análises produzidas pelos programas MrBayes e RaxML 'BlackBox' foram geradas através da plataforma CIPRES (MILLER et al., 2010).

Tabela 1. Isolados de proteocefalídeos (Eucestoda: Proteocephalidae) utilizados na análise molecular do gene 28S rDNA.

Parasito	Hospedeiro	Voucher	No. de acesso	Referência
<i>Ageneiella brevifilis</i> de Chambrier & Vaucher, 1999	<i>Ageneiosus inermis</i> (Linnaeus)	MHNG-PLAT-21841	AJ388600	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Amphoteromorphus ninoi</i> Carfora, de Chambrier & Vaucher, 2003	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i> (Lichtenstein)	MHNG-PLAT-22239	AJ388624	de Chambrier et al. (2004a)
<i>Amphoteromorphus peniculus</i> Diesing, 1850	<i>Brachyplatystoma rousseauxii</i> (Castelnau)	MHNG-PLAT-60052	KP729410	de Chambrier et al. (2015a)
<i>Amphoteromorphus piraebra</i> Woodland, 1934	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	MHNG-PLAT-22227	KP729407	de Chambrier et al. (2015a)
<i>Amphoteromorphus piriformis</i> Carfora, de Chambrier & Vaucher, 2003	<i>Brachyplatystoma rousseauxii</i>	MHNG-PLAT-22211	AJ275231	de Chambrier et al. (2004a)
<i>Barsonella lafoni</i> de Chambrier et al. 2009	<i>Clarias gariepinus</i> (Burchell)	MHNG PLAT-49399	KC786015	Scholz et al. (2013)
<i>Brayela karuatayi</i> (Woodland, 1934)	<i>Platynemateichthys notatus</i> (Jardine)	MHNG-PLAT-63128	KP729406	de Chambrier et al. (2015a)
<i>Brooksiella praeputialis</i> (Rego, Santos & Silva, 1974)	<i>Cetopsis coecutiens</i> (Lichtenstein)	MHNG-PLAT-21996	AJ275229	de Chambrier et al. (2004a)
<i>Cangatiella arandasi</i> Pavanelli & Machado, 1991	<i>Trachelyopterus galeatus</i> (Linnaeus)	MHNG-PLAT-34736	KP729411	de Chambrier et al. (2015a)
<i>Choanoscolex abscisus</i> (Riggenbach, 1895)	<i>Pseudoplatystoma corruscans</i> (Agassiz)	MHNG-PLAT-17905	AJ388630	Zehnder & Mariaux (1999)
<i>Choanoscolex</i> sp.	<i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> (Linnaeus)	MHNG-PLAT-25102	AJ275064	de Chambrier et al. (2004)
<i>Corallobothrium solidum</i>	<i>Malapterurus electricus</i> (Gmelin)	MHNG-PLAT-31553	AJ583450	de Chambrier et al. (2004a)
<i>Corallobothrium</i> cf. <i>solidum</i>	<i>Malapterurus monsembeensis</i> Roberts	MHNG-PLAT-63117	JN005780	Scholz et al. (2011)
<i>Corallotaenia intermedia</i>	<i>Ictalurus punctatus</i> (Rafinesque)	MHNG-PLAT-25795	AJ275232	de Chambrier et al. (2004a)
<i>Crepidobothrium gerrardii</i> (Baird, 1860)	<i>Boa constrictor</i> Linnaeus	MHNG-PLAT-66546	KC786018	Scholz et al. (2013)
<i>Endorchis piraebra</i> Woodland, 1934	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	MHNG-PLAT-21738	AJ388603	Zehnder & Mariaux (1999)
<i>Ephedrocephalus microcephalus</i> Diesing, 1850	<i>Phractocephalus hemiolepis</i> (Bloch & Schneider)	MHNG-PLAT-21910	AJ388605	Zehnder & Mariaux (1999)
<i>Frezella vaucheri</i> Alves et al. 2015	<i>Tocantinsia piresi</i> (Miranda-Ribeiro)	CHIOC37979 a-d	KM387399	Alves et al. (2015)
<i>Gibsoniella mandube</i> (Woodland, 1935)	<i>Ageneiosus</i> sp.	MHNG-PLAT-63119	KP729412	de Chambrier et al. (2015a)
<i>Gibsoniella meursaulti</i> de Chambrier & Vaucher, 1999	<i>Ageneiosus inermis</i>	MHNG-PLAT-21839	AJ388631	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Goezeella siluri</i> Fuhrmann, 1916	<i>Pinirampus pinirampu</i> (Spix & Agassiz)	MHNG-PLAT-21877	AJ388612	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Macrobothriotaenia ficta</i> (Meggitt, 1931)	<i>Xenopeltis unicolor</i> Reinwardt (S)	MHNG-PLAT-75454	KC786020	Scholz et al. (2013)

Tabela 1 continuação

Parasito	Hospedeiro	Voucher	No. de acesso	Referência
<i>Manaosia bracodemoca</i> Woodland, 1935	<i>Sorubim lima</i> (Bloch & Schneider)	MHNG-PLAT-34186	KP729414	de Chambrier et al. (2015a)
<i>Megathylacus jandia</i> Woodland, 1934	<i>Zungaro zungaro</i> (Humboldt)	MHNG-PLAT-21874	AJ388596	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Nomimoscolex admonticellia</i> (Woodland, 1934)	<i>Pinirampus pirinampu</i>	MHNG-PLAT-21870	AJ388628	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Ophiotaenia bungari</i> de Chambrier, Binh & Scholz, 2012	<i>Bungarus fasciatus</i> (Schneider)	MHNG-PLAT-75442	KC786022	Scholz et al. (2013)
<i>Ophiotaenia gallardi</i> (Johnston, 1911)	<i>Pseudechis porphyriacus</i> (Shaw)	MHNG-PLAT-36550	KC786025	Scholz et al. (2013)
<i>Ophiotaenia grandis</i> La Rue, 1911	<i>Agkistrodon piscivorus</i> (Lacépède)	inexistente	AJ388632	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Ophiotaenia jarara</i> Fuhrmann, 1927	<i>Bothrops jararaca</i> (Wied-Neuwied)	MHNG-PLAT-12393	AJ388607	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Ophiotaenia lapata</i> Rambeloson, Rainavoson & de Chambrier, 2012	<i>Madagascarophis colubrinus</i> Schlegel	MHNG-PLAT-79567	KC786021	Scholz et al. (2013)
<i>Ophiotaenia ophioidex</i> Mettrick, 1960	<i>Causus maculatus</i> (Hallowell)	MHNG-PLAT-25962 (H)	AJ388620	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Ophiotaenia</i> sp.	<i>Antaresia maculosa</i> (Peters)	PBI-513	KC786024	Scholz et al. (2013)
<i>Ophiotaenia</i> sp.	<i>Compsophis</i> sp.	PBI-678	KC786023	Scholz et al. (2013)
<i>Peltidocotyle lenha</i> (Woodland, 1933)	<i>Zungaro zungaro</i>	MHNG-PLAT-22373	AJ238837	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Peltidocotyle rugosa</i> Diesing, 1850	<i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> Eigenmann & Eigenmann	MHNG-PLAT-22374	AJ238835	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Proteocephalus macrophallus</i> (Diesing, 1850)	<i>Cichla monoculus</i> Agassiz	MHNG-PLAT-36526	KP729394	de Chambrier et al. (2015a)
<i>Pseudocrepdobothrium eirasi</i> (Rego & de Chambrier, 1995)	<i>Phractocephalus hemioliopus</i>	MHNG-PLAT-27431	AJ388623	de Chambrier et al. (2004a)
<i>Pseudocrepdobothrium ludovici</i> Ruedi & de Chambrier, 2012	<i>Phractocephalus hemioliopus</i>	MHNG-PLAT-22108	AJ275063	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Rudolphiella piracatinga</i> (Woodland, 1935)	<i>Calophysus macropterus</i> (Lichtenstein)	MHNG-PLAT-19868	AJ388627	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Rudolphiella szidati</i> Gil de Perterra & de Chambrier, 2000	<i>Luciopimelodus pati</i> (Valenciennes)	MHNG-PLAT-24668	AJ388617	de Chambrier et al. (2004a)
<i>Rudolphiella</i> sp.	<i>Luciopimelodus pati</i>	MHNG-PLAT-24668	AF286938	
<i>Spatulifer maringaensis</i> Pavanelli & Rego, 1989	<i>Sorubim lima</i>	MHNG-PLAT-21986	AJ388634	de Chambrier et al. (2004a)
<i>Thaumasioscolex didelphis</i> Cañeda-Guzmán, de Chambrier & Scholz, 2001	<i>Didelphis marsupialis</i> Linnaeus	MHNG-PLAT-28993	AJ275065	de Chambrier et al. (2004a)
<i>TravassIELla jandia</i> (Woodland, 1934)	<i>Zungaro jahu</i> (Ihering)	MHNG-PLAT-31175	KP729400	de Chambrier et al. (2015a)

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Diagnose de *Frezella* Alves, de Chambrier, Scholz & Luque, 2015

Registro do gênero no ZooBank:

urn:lsid:zoobank.org:act:1396D02F-CD2A-4A24-9BC8-E01A37E33AA4

Diagnose: Onchoproteocephalidea, Proteocephalidae. Cestoides robustos, tamanho médio. Estróbilo acraspedotado, proglótides variáveis em tamanho e forma. Testículos, ovário, folículos vitelínicos e útero medulares. Ápice do escólex com órgão apical e metaescólex composto por duas zonas: parte anterior fortemente enrugada, parte posterior com rugas longitudinais esparsas. Ventosas uniloculadas. Musculatura longitudinal interna bem desenvolvida, com feixes de fibras concentrados lateralmente. Par de canais osmoregulatórios adicionais pequenos, paredes finas, situados dorsomedialmente aos canais ventrais. Testículos numerosos, em 3 campos e 1–3 camadas irregulares. Folículos vitelínicos em 2 fileiras laterais. Vagina posterior ou anterior a bolsa do cirro; esfíncter vaginal presente. Poros genitais pré-equatoriais, irregularmente alternados. Ovário ligeiramente foliculado, bilobado, com poucos folículos penetrando o córtex dorsal. Desenvolvimento uterino do tipo 1 *sensu* de Chambrier et al. (2004a, 2015a). Abertura uterina precoce. Parasitos de Siluriformes neotropicais (Auchenipteridae).

Espécie tipo e única conhecida: *Frezella vaucheri* Alves et al., 2015.

Etimologia: Este gênero foi nomeado em homenagem a Vadim I. Freze, Rússia, por sua excelente contribuição a sistemática e biologia dos cestoides proteocefalídeos. O nome deve ser tratado como gênero feminino.

Diagnose diferencial: O novo gênero pertence a subfamília Proteocephalinae (classificação não-natural, aqui utilizada por razões comparativas; ver DE CHAMBRIER et al., 2017) caracterizada pela posição medular dos testículos, ovário (embora alguns folículos penetrem o córtex dorsal), folículos vitelínicos e útero (SCHMIDT, 1986; REGO, 1994). Até à data, a subfamília inclui 16 gêneros parasitando vertebrados de vários grupos (gêneros em bagres neotropicais indicados por um asterisco), a saber, *Barsonella* de Chambrier, Scholz, Beletew & Mariaux, 2009; **Brayela* Rego, 1984; **Cangatiella* Pavanelli & Santos, 1991; **Euzetiella* de Chambrier, Rego & Vaucher, 1999; *Glanitaenia* de Chambrier, Zehnder, Vaucher & Mariaux, 2004; **Margaritaella* Arredondo & Gil de Pertierra, 2012; **Proteocephalus* Weinland, 1858; **Pseudocrepidobothrium* Rego & Ivanov, 2001; e **Scholzia* de Chambrier, Rego & Gil de Pertierra, 2005, todos parasitos de peixes; *Cairaella* Coquille & de Chambrier, 2008; *Crepidobothrium* Monticelli, 1900; *Deblocktaenia* Odening, 1963; *Macrobothriotaenia* Freze, 1965; *Ophiotaenia* La Rue, 1911; e *Tejidotaenia* Freze, 1965, todos parasitos de anfíbios e répteis; e *Thaumasioscolex* Cañeda-Guzmán, de Chambrier & Scholz, 2001, parasito de *Didelphis marsupilis* Linnaeus (Mammalia) (REGO, 1994; CAÑEDA-GUZMÁN et al., 2001; ARREDONDO; GIL DE PERTIERRA, 2012).

Frezella se diferencia destes gêneros e de todos os demais proteocefalídeos pela combinação dos seguintes caracteres: (i) escólex cônico com órgão apical, seguido por um metascólex dividido em duas zonas: uma anterior fortemente enrugada (abaixo das ventosas uniloculadas) e uma posterior com rugas longitudinais esparsas; (ii) musculatura longitudinal interna com feixes concentrados nas laterais das proglótides; (iii) poucos folículos ovarianos com penetração no córtex dorsal; (iv) presença de um pequeno par de canais osmorregulatórios adicionais, situados dorsomedialmente aos canais ventrais.

2.3.2. Descrição de *Frezella vaucheri* Alves, de Chambrier, Scholz & Luque, 2015

Registro da espécie no ZooBank:

urn:lsid:zoobank.org:act:8C9996CC-8CA2-42FF-B9F9-4912584125E7

Descrição (Figuras 1–18) baseada em 9 espécimes adultos.

Onchoproteocephalidea, Proteocephalidae. Testículos, folículos vitelínicos e útero medulares; ovário medular, com alguns folículos penetrando o córtex dorsal. Comprimento total do corpo 112–122 mm ($n = 3$), largura máxima 2,80 mm ($n = 3$). Estróbilo acraspedotado, anapolítico, consistindo em *c.* 325–375 proglótides: 252–280 imaturas (estágio precedido ao aparecimento de esperma no vaso deferente), 21–23 maduras (estágio precedido ao aparecimento de ovos), 52–72 pré-grávidas (estágio precedido ao aparecimento de ganchos na oncosfera); proglótides grávidas presente apenas em porções estrobilares isoladas. Proglótides imaturas mais largas que longas (razão comprimento: largura 0,13–0,22), proglótides maduras e pré-grávidas mais largas que longas (razão comprimento: largura 0,12–0,60).

Escólex 1110–1575 × 1040–1330 ($n = 3$), mais largo que a zona proliferativa (largura dos escólices estudados em MEV 700–850), com metascólex composto por duas partes e ápice cônico (Figs. 1–3, 9). Ápice curto, ligeiramente estriado, com um órgão apical subsférico, 55–90 × 65–90, pequenos grupos de células glandulares e redes de canais osmorregulatórios (Fig. 10). Porção mediana do escólex com 4 ventosas uniloculadas e metaescólex formado por numerosas (dezenas) rugas longitudinais posteriores as ventosas, 300–355 de comprimento (Figs. 1, 3, 9); usando MEV 210–290 de comprimento. Ventosas esféricas, 315–375 ($n = 12$) em diâmetro, com cavidades profundas e musculatura circular nas extremidades (Fig. 10). Porção posterior do escólex formada pelo metaescólex com esparsas rugas longitudinais (2–3 em cada lado), 645–1250 de comprimento (Figs. 1, 3, 9). Ápice do escólex, cavidade das ventosas, porção anterior do metaescólex e zona proliferativa cobertas por filitríquias capiliformes de aparência e densidade similares (Figs. 4–7). Proglótides cobertas por filitríquias aciculares (Fig. 8).

Musculatura longitudinal interna bem desenvolvida, formada por 1 fileira de feixes dorsais e ventrais, com conspícua concentração lateral (Figs. 13–17). Canais osmorregulatórios ventrais de paredes finas, largos, medianos às fileiras de folículos vitelínicos laterais, ligeiramente sinuosos (Fig. 11–17). Canais osmorregulatórios dorsais de paredes grossas, relativamente largos, cercados por folículos vitelínicos (Figs. 11–17). Par adicional de pequenos canais osmorregulatórios situados dorsomedialmente aos canais ventrais, de difícil observação, com formação de anastomoses (Fig. 12).

Testículos numerosos, esféricos, 50–70 em diâmetro, em 3 camadas irregulares (Figs. 13, 14), 279–420 em número ($x = 358$, $n = 9$). Testículos em 3 campos, ligeiramente separados pelo tronco uterino, bolsa do cirro e vaso deferente (Fig. 11); campo antiporal, pré-poral e pós-poral com 145–200, 55–85, 79–116 testículos, respectivamente. Testículos presentes em proglótides grávidas.

Vaso deferente altamente contorcido formando um campo alongado que alcança a linha mediana das proglótides (Figs. 11, 14). Bolsa do cirro alongada, paredes finas, ligeiramente expandida na porção distal (terminal) (Fig. 12), 395–505 × 100–160 ($n = 31$); comprimento representando 17–20% ($x = 18\%$, $n = 31$) da largura das proglótides. Ducto espermático (vaso deferente interno) convoluto (Fig. 12). Cirro muscular, ocupando o máximo de 60% ($n = 30$) do comprimento da bolsa do cirro. Átrio genital comum estreito,

profundo (Fig. 12). Poros genitais alternando irregularmente, marcadamente pré-equatoriais, situados a 23–41% (x = 31%, n = 31) da margem anterior das proglótides (Fig. 11).

Ovário medular, bilobado, folicular, com alguns folículos penetrando, através dos feixes musculares, o córtex dorsal (Figs. 11, 12, 15); comprimento do ovário representando 24–37% do comprimento das proglótides (x = 30%, n = 62), com largura representando 65–77% da largura das proglótides (x = 72%, n = 31; Fig. 11). Glândula de Mehlis *c.* 70–100 em diâmetro, representando 4–7% da largura das proglótides (n = 11). Tamanho relativo do ovário (ver DE CHAMBRIER et al., 2012) *c.* 15% do tamanho das proglótides maduras e pré-grávidas.

Canal vaginal ligeiramente sinuoso na parte proximal, praticamente reto em sua parte distal, frequentemente (68% de 40 proglótides observadas) apresentando uma cavidade assimétrica próximo ao poro genital (Figs. 11, 12); porção terminal do canal vaginal (*pars copulatrix vaginae*) cercado por células cromofílicas, com esfíncter vaginal pequeno (Fig. 12). Vagina anterior (37% das proglótides) ou posterior (63% das proglótides, n = 41) a bolsa do cirro. Folículos vitelínicos medulares, formando duas fileiras laterais ininterruptas, expandidas posteriormente ao nível do ovário (Figs. 11, 12). O comprimento das fileiras representa 84–97% (x = 92%) e 84–98% (x = 92%) do comprimento das proglótides nas regiões poral e antiporal, respectivamente (n = 31; Fig. 11).

Utero medular, com desenvolvimento do tipo 1. Ovos esféricos, envelope externo alcançando 65 em diâmetro; embrióforo com duas camadas 16–17 em diâmetro, oncosfera 9–10 em diâmetro, ganchos embrionários 6–7 de comprimento (Fig. 18).

Resenha Taxonômica.

Hospedeiro tipo: *Tocantinsia piresi* (Miranda-Ribeiro) (Siluriformes: Auchenipteridae), nome popular “pocomão”; o único exemplar infectado foi examinado no dia 20 de abril de 2013, medindo 39 cm de comprimento (31 cm de comprimento padrão).

Localidade tipo: Rio Xingú, próximo a Altamira, Estado do Pará, Brasil (3°12’S: 52°12’O).

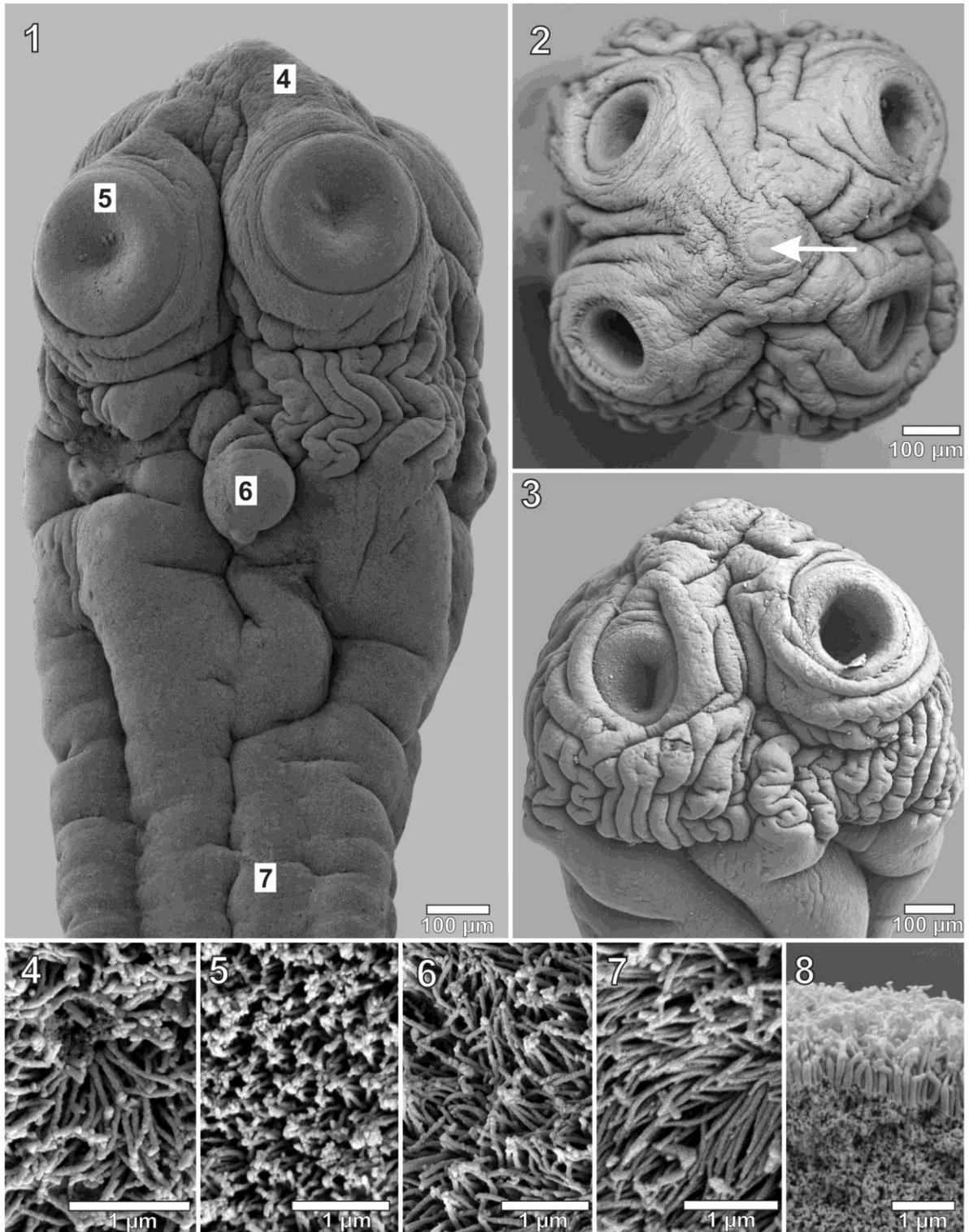
Material tipo: Holótipo (CHIOC 37978a-h – espécime completo, com 8 lâminas contendo cortes transversais seriados), 4 parátipos (incluindo o hologenóforo; CHIOC 37979a-d, 37980a-d, IPCAS C-663, MHNG-PLAT-86723).

Sítio de infecção: intestino (porção anterior)

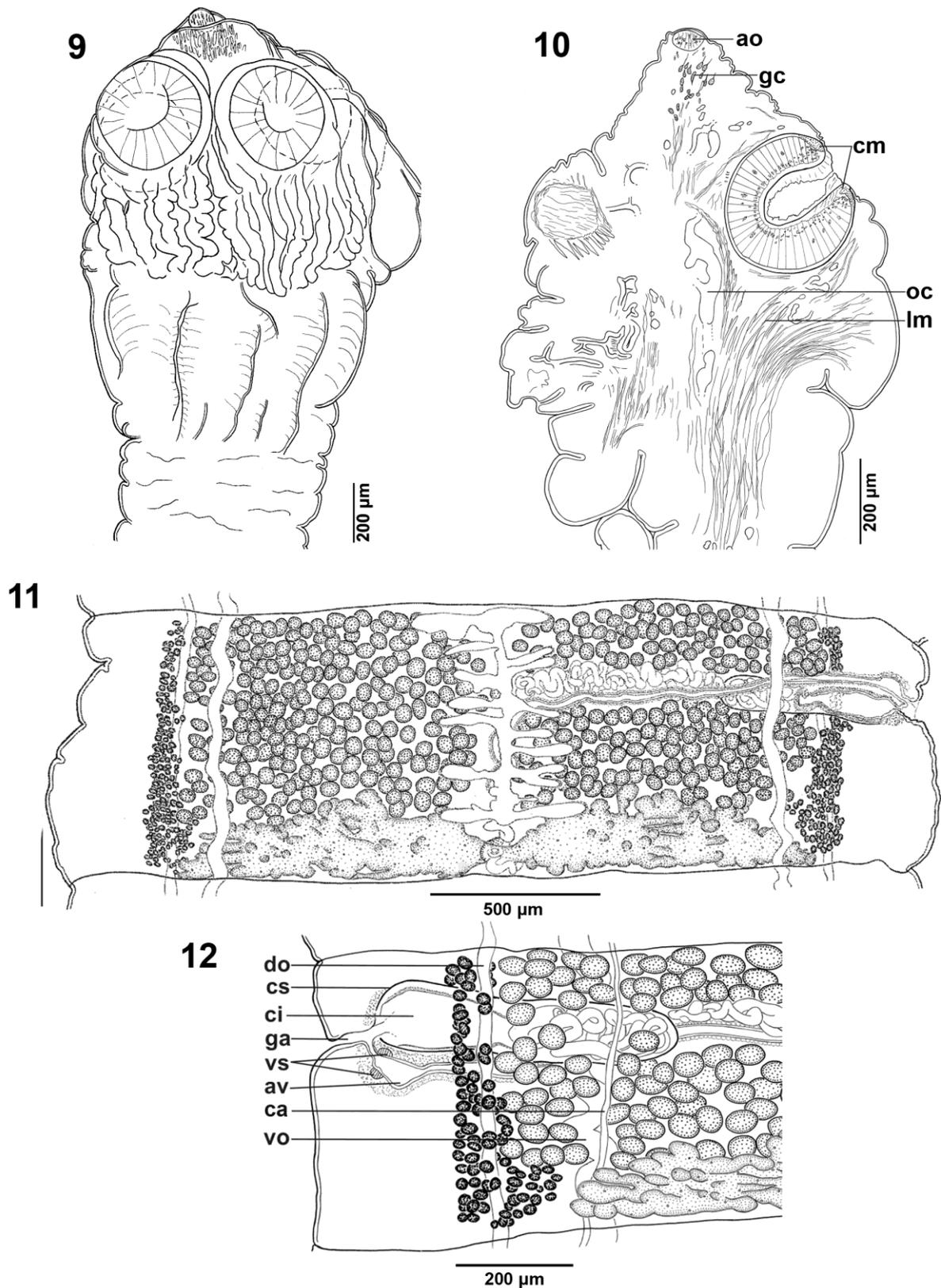
Prevalência: 1 exemplar, de 2 examinados em 20 de abril de 2013, estava infectado; em setembro de 2013, nenhum dos 6 exemplares examinados (comprimento 35–42 cm) estavam infectados.

Identificação molecular: Fragmento de 1563 bp do gene 28S rDNA foi amplificado. A sequência nucleotídica está disponível no GenBank (KM387399).

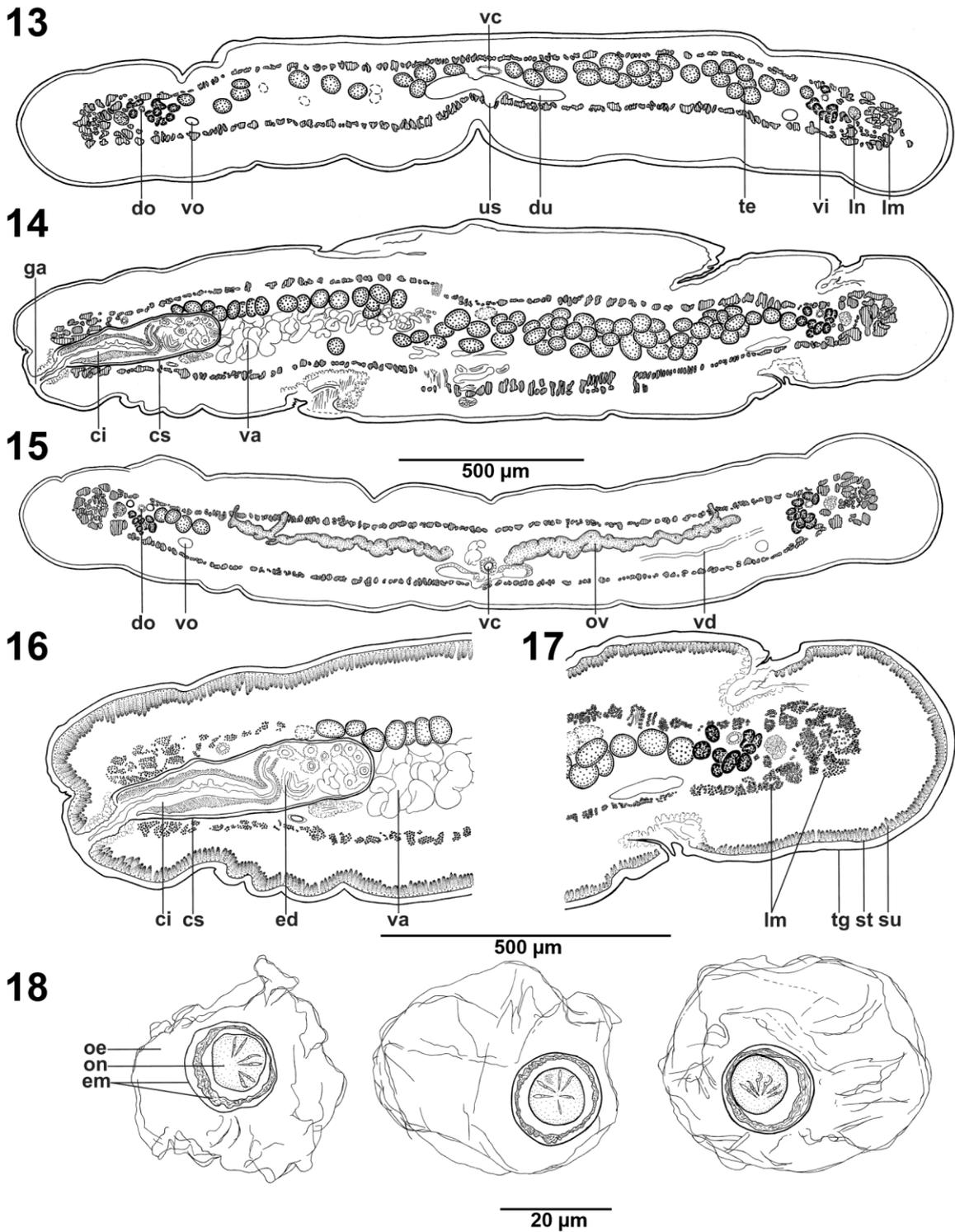
Etimologia: O epíteto específico refere-se à Claude Vaucher, pesquisador Suíço, pela sua importante contribuição à sistemática dos cestóides.



Figuras 1–8. Micrografias (MEV) de *Frezella vaucheri* Alves et al., 2015 ex *Tocantinsia piresi*. 1. Escólex, vista dorsoventral (MHNG-PLAT-86718). 2, 3. Escólex, vista apical e lateral, respectivamente; a seta indica o órgão apical (IPCAS C-663). 4–7. Filitríquias capiliformes nas superfícies apical, das ventosas, porção anterior do metaescólex e zona proliferativa, respectivamente (IPCAS C-663). 8. Filitríquias aciculares na superfície das proglótides pré-grávidas (IPCAS C-663).



Figuras 9–12. Morfologia de *Frezella vaucheri* Alves et al., 2015 ex *Tocantinsia piresi*. 9. Escólex, vista dorsoventral (CHIOC 37979a); notar a divisão do metascólex em duas partes. 10. Escólex, secção sagital (MHNG-PLAT-86723); notar a concentração de musculatura circular nas extremidades da ventosa. 11. Proglótide pré-grávida, vista ventral (MHNG-PLAT-86723). 12. Genitália terminal, vista dorsal (MHNG-PLAT-86723).



Figuras 13–18. Morfologia de *Frezella vaucheri* Alves et al., 2015 ex *Tocantinsia piresi*. 13. Secção transversal da região entre a bolsa do cirro e ovário (MHNG-PLAT-86723). 14, 15. Secções transversais ao nível da bolsa do cirro e ovário, respectivamente (CHIOC 37979c, d). 16, 17. Secções transversais, detalhe da genitália terminal e da região antipolar da proglótide, respectivamente (CHIOC 37978c, e). 18. Ovos em água destilada (MHNG-PLAT-86722).

Comentários: *Frezella vaucheri* é a única espécie do gênero *Frezella*, logo, distingue-se pelos mesmos caracteres já listados na diagnose diferencial. A característica mais importante da nova espécie é a presença de um metaescólex dividido em duas zonas marcadamente diferentes. Quanto a este caráter, *F. vaucheri* se assemelha a *Brooksiella praeputialis* (Rego, Santos & Silva, 1974) que também possui as ventosas uniloculadas e circundadas por um metaescólex, embora este não seja dividido como na nova espécie [ver Figs. 9, 10 em de Chambrier et al. (2004b)]. Além disso, *B. praeputialis* possui um menor comprimento total (12–22 mm vs 112–122), musculatura longitudinal interna pouco desenvolvida e ovos com projeções polares (DE CHAMBRIER et al., 2004b).

Peltidocotyle lenha (Woodland, 1933), *Spatulifer maringaensis* Pavanelli & Rego, 1989 e *Ephedrocephalus microcephalus* Diesing, 1855 também possuem o metaescólex dividido em zonas, de aparência similar a *F. vaucheri* [ver Fig. 104 em de Chambrier e Vaucher (1999), Fig. 3A em Arredondo e Gil de Pertierra (2008) e Figs. 1, 10 do Cap. IV, presente estudo]. Entretanto, dentre várias características, estas espécies se diferem da nova espécie por apresentarem: ventosas biloculadas (em *P. lenha*), todos os órgãos internos medulares (em *S. maringaensis*) e folículos vitelínicos distribuídos em toda a superfície ventral das proglótides (em *E. microcephalus*).

Dentre os proteocefalídeos parasitos de bagres achenipterídeos (Tabela 2), *Nupelia tomasi* de Chambrier & Vaucher, 1999 ex *Trachelyopterus galeatus* (Linnaeus) e *T. cf. striatulus* (Steindachner), se assemelha a *F. vaucheri* pela presença de uma conspícua concentração de feixes musculares nas laterais das proglótides e folículos ovarianos que penetram no córtex dorsal [ver Figs. 83, 84 em de Chambrier e Vaucher (1999)]. Contudo, *N. tomasi* diferencia-se da nova espécie em muitas características, tais como: ausência de metaescólex e órgão apical, menor número de testículos (144–180 vs 279–420 in *F. vaucheri*) e menor tamanho corporal (comprimento total 42–72 mm vs 112–122 mm; largura máxima c. 1,5 mm vs 2,8 mm em *F. vaucheri*).

Alguns membros das subfamílias Endorchiinae Woodland, 1934 e Peltidocotylineae Woodland, 1934, tais como *Endorchis piraeaba* Woodland, 1934 ex *Brachyplatystoma filamentosum* (Lichtenstein) e *Luciaella ivanovae* Gil de Pertierra, 2009 ex *Ageneiosus inermis* (Linnaeus), respectivamente, também possuem folículos ovarianos que penetram o córtex dorsal (DE CHAMBRIER; VAUCHER, 1997; GIL DE PERTIERRA, 2009). Dentre outras características, estas espécies podem ser facilmente distinguidas de *F. vaucheri* pela posição cortical dos folículos vitelínicos (REGO, 1994).

Tabela 2. Proteocefalídeos parasitos de peixes auchenipterídeos (Siluriformes: Auchenipteridae), segundo Alves et al. (2017a).

Parasito	Hospedeiro	Bacia hidrográfica
<i>Corallotaenia</i> sp.	<i>Ageneiosus pardalis</i> (Linnaeus)	Rio Magdalena
<i>Endorchis auchenipteri</i> de Chambrier & Vaucher, 1999	<i>Auchenipterus osteomystax</i> (Miranda Ribeiro)	Rio Paraná
<i>Endorchis</i> sp.	<i>Trachelyopterus striatulus</i> (Steindachner)	Rio Paraná
<i>Ageneiella brevifilis</i> de Chambrier & Vaucher, 1999	<i>Ageneiosus inermis</i> (Linnaeus), <i>A. militaris</i> Valenciennes	Rio Paraná
<i>Ageneiella</i> sp.	<i>Ageneiosus inermis</i>	Rio Amazonas
<i>Goezella danbrooksi</i> de Chambrier, Rego & Mariaux, 2004	<i>Ageneiosus pardalis</i> (Linnaeus)	Rio Magdalena
<i>Nupelia tomasi</i> de Chambrier & Vaucher, 1999	<i>Trachelyopterus galeatus</i> (Linnaeus), <i>T. cf. striatulus</i> (Steindachner)	Rio Paraná
<i>Luciaella ivanovae</i> Gil de Pertierra, 2009	<i>Ageneiosus inermis</i>	Rio Paraná
<i>Cangatiella arandasi</i> Pavanelli & Santos, 1991	<i>Trachelyopterus galeatus</i>	Rio Paraná
<i>Frezella vaucheri</i> Alves et al. 2015	<i>Tocantinsia piresi</i> (Miranda-Ribeiro)	Rio Amazonas
<i>Gibsoniella mandube</i> (Woodland, 1935)	<i>Ageneiosus inermis</i> , <i>Ageneiosus</i> sp.	Rio Amazonas
<i>Gibsoniella meursaulti</i> de Chambrier & Vaucher, 1999	<i>Ageneiosus inermis</i> , <i>A. militaris</i>	Rio Amazonas e Paraná

A presença de uma câmara na porção distal do canal vaginal, observada em 2/3 das proglótides de *F. vaucheri*, é rara entre cestoides proteocefalídeos. A porção terminal da vagina de *Mariauxiella pimelodi* de Chambrier & Rego, 1995 ex *Pimelodus ornatus* Kner e *Pimelodus* sp., também possui uma expansão distal, porém de forma simétrica [ver Fig. 4 em de Chambrier e Rego (1995)] ao contrário de *F. vaucheri*, que normalmente possui forma assimétrica (Figs. 11, 12).

A abertura precoce do útero, presente em *F. vaucheri*, tem sido relatada em proteocefalídeos que parasitam répteis, e.g., *Crepidobothrium* Monticelli, 1899 e *Testudotaenia* Freze, 1965, nos quais os ovos imaturos são liberados para o ambiente através de uma abertura longitudinal em proglótides pré-grávidas (ver DE CHAMBRIER 1988, 1989a, b, DE CHAMBRIER et al., 2009a). As vantagens evolutivas deste mecanismo de dispersão dos ovos permanecem desconhecidas, porém evidências moleculares sugerem que o surgimento do mesmo se deu de forma independente nas diferentes espécies (DE CHAMBRIER et al., 2015a).

O alto número de testículos é um carácter discriminante para a nova espécie. Apenas *Thaumasioscolex didelphidis* Cañeda-Guzmán, de Chambrier & Scholz, 2001 possui mais testículos que *F. vaucheri* (432–548 vs 279–420) dentro de Proteocephalidae (CAÑEDA-GUZMÁN et al., 2001). Poucas espécies possuem um número de testículos similar, e.g., *Proteocephalus paraguayensis* (Rudin, 1917) (238–344), *Monticellia ventrei* de Chambrier & Vaucher, 1999 (222–325), *Nomimoscolex admonticellia* Woodland, 1934 (323–372) e *Rudolphiella szidati* Gil de Pertierra & de Chambrier, 2000 (289–365) (WOODLAND 1934a; DE CHAMBRIER 1990; DE CHAMBRIER; VAUCHER, 1999; GIL DE PERTIERRA; DE CHAMBRIER, 2000).

A presença de musculatura circular nas ventosas é comum em táxons não relacionados filogeneticamente de proteocefalídeos, e podem ser distinguidos em 4 tipos básicos (DE CHAMBRIER et al., 2009a). *Frezella vaucheri* assemelha-se principalmente a aquelas espécies com musculatura circular pouco desenvolvida, como *B. praeputialis* ex *Cetopsis caecutiens* Spix & Agassiz (Cetopsidae) and *R. szidati* ex *Luciopimelodus pati* (Valenciennes) (Pimelodidae) da região Neotropical (REGO et al., 1999; GIL DE PERTIERRA; DE CHAMBRIER, 2000; DE CHAMBRIER et al., 2004b).

2.3.3 Relações filogenéticas e caracterização molecular de *Frezella vaucheri*

O alinhamento do gene 28S rDNA foi composto de 1759 posições (comprimento das sequências variando de 992–1632 bp) das quais 22 foram excluídas. As reconstruções filogenéticas usando os critérios da MV e IB produziram topologias semelhantes (Fig. 19), ambas suportando *Frezella vaucheri* como uma linhagem independente, apesar de apresentar uma posição incerta em relação aos demais proteocefalídeos neotropicais. Esta análise também reitera que a subfamília Proteocephalinae é artificial, já que diversos isolados classificados neste grupo se distribuem de forma independente na árvore filogenética (ver Fig. 19).

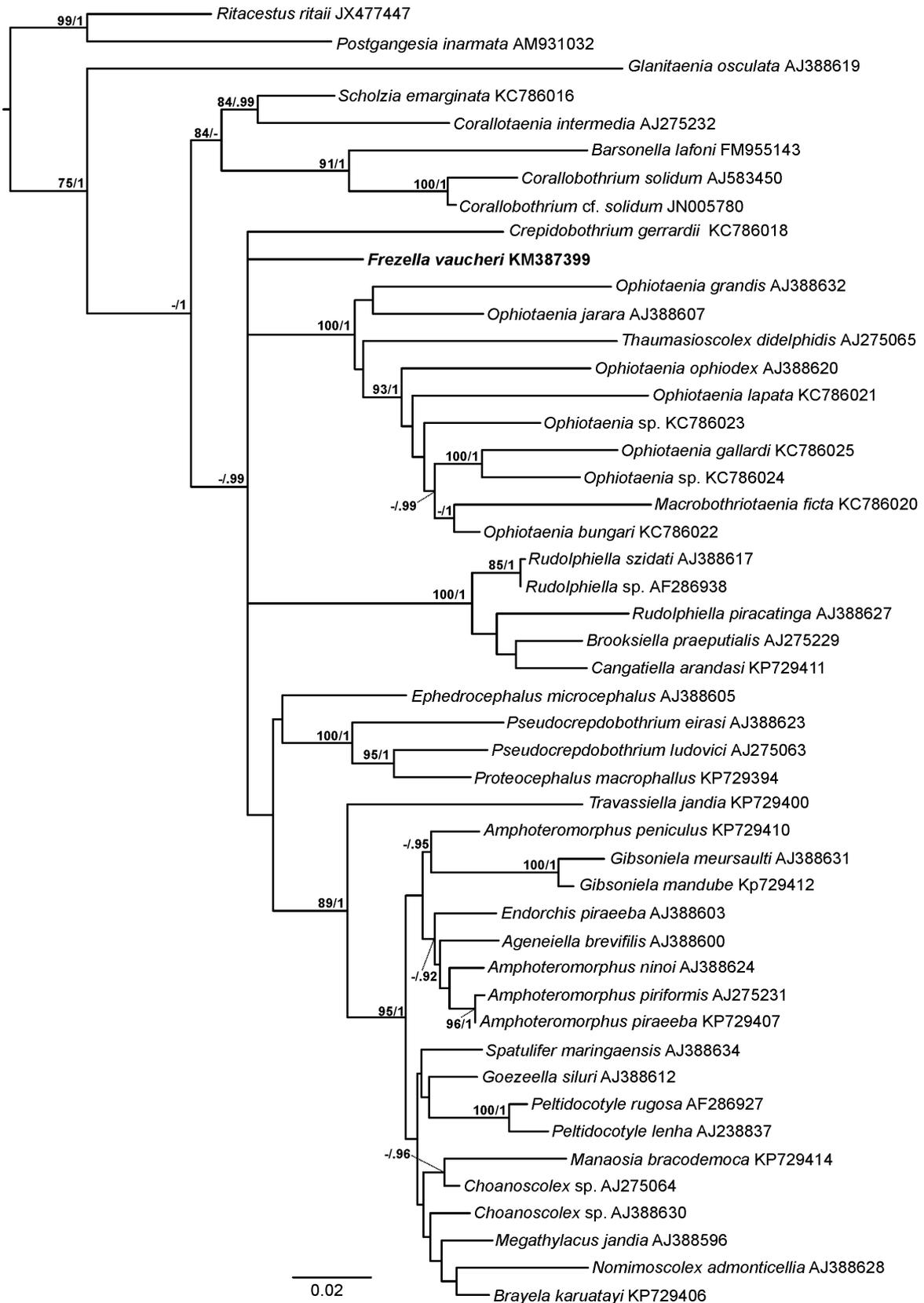


Figura 19. Filograma com base no critério da Máxima Verossimilhança (MV) do gene 28S rDNA (domínios D1–D3) de espécies da família Proteocephalidae, incluindo *Frezella vaucheri* Alves et al., 2015 (em negrito). Suporte nodal ‘bootstrap’/probabilidade posterior estão indicados acima dos nós. Nós com valores de ‘bootstrap’ < 85 e probabilidade posterior Bayesiana < 0.95 não são mostrados. A barra de escala indica o número de substituições nucleotídicas por local.

2.4. DISCUSSÃO

A morfologia do escólex sempre teve um papel fundamental na circunscrição de gêneros ou mesmo de subfamílias de cestoides proteocefalídeos, como por exemplo: Acanthotaeniinae Freze, 1963, Corallobothriinae Freze, 1965 e Gangesiinae Mola, 1929 (FREZE, 1965; REGO 1994; DE CHAMBRIER et al., 2003). Muitos destes grupos foram caracterizados pela presença ou ausência de metascólex, o que elevou este carácter a uma posição importante na classificação dos proteocefalídeos. Embora estudos filogenéticos (DE CHAMBRIER et al., 2004a, 2015; HYPŠA et al., 2005; SCHOLZ et al., 2013) demonstrem o carácter homoplástico desta estrutura, a presença, forma e estrutura do metascólex são importantes para taxonomia, pelo menos ao nível genérico ou específico (ver DE CHAMBRIER; VAUCHER, 1999; COQUILLE; DE CHAMBRIER, 2008; SCHOLZ et al., 2011).

Brooks e Rasmussen (1984) distinguiram três tipos de metascólex dentro de Proteocephalidea: (1) formado pela expansão da zona proliferativa, e.g., *Choanoscolex abscisus* (Riggenbach, 1896); (2) formado pela proliferação de tecido ao redor de cada ventosa, e.g., *Brooksiella praeputialis*; e (3) formado pela proliferação do tecido do escólex ao redor da base das ventosas, e.g., *Amphoteromorphus piraeeba* Woodland, 1934, ainda que estudos mais específicos, e.g., bioquímicos e proteômicos, sobre a formação do metascólex devam ser realizados. Independentemente da classificação proposta por estes autores, a morfologia deste carácter é importante para identificação de *Frezella vaucheri*, uma vez que a divisão do metascólex em duas zonas marcadamente distintas é algo raro entre os proteocefalídeos.

Reconstruções filogenéticas de *F. vaucheri*, utilizando o marcador nuclear 28S rDNA (domínios D1–D3), confirmam a validade da nova espécie, pois a mesma não se agrupa com nenhum outro táxon conhecido. Sua posição dentro de Proteocephalidae, contudo, continua desconhecida.

Este é o primeiro trabalho sobre a helmintofauna de *Tocantisia piresi*, bagre que se encontra distribuído em duas bacias hidrográficas, i.e., dos rios Amazonas e Tocantins-Araguaia (BARROS, 2012; FROESE; PAULY, 2017). Este peixe possui hábitos noturnos e comportamento onívoro, sendo que sua alimentação é diretamente afetada pelo ciclo hidrológico, isto é, estações húmidas e secas (CARVALHO; RESENDE, 1984), o que pode influenciar a sazonalidade na ocorrência e maturação dos seus parasitos. *Frezella vaucheri* representa, portanto, o primeiro parasito reportado em *T. piresi* e o 11º proteocefalídeo descrito em peixes Auchenipteridae (Tabela 2).

No presente estudo, assim como nos demais capítulos da tese, foi seguido a classificação recentemente sugerida por Caira et al. (2014) baseada em análises moleculares, na qual foi proposta a ordem Onchoproteocephalidea para acomodar vários táxons parasitos de elasmobrânquios, previamente classificados em “Tetraphyllidea” (família Onchobothriidae Braun, 1900), e todos os membros da ordem Proteocephalidea Mola, 1928. Entretanto, esta ordem não foi circunscrita de forma satisfatória, já que não foram encontradas sinapomorfias morfológicas consistentes que unissem ambos os grupos. Além disso, o diagnóstico da nova ordem contém erros, como por exemplo a afirmação da presença de cirro espinhoso, "cirrus armed with spinitriches", na verdade, o cirro em Proteocephalidae não possui nenhuma ornamentação, exceto em *Euzetiella tetraphylliformis* de Chambrier, Rego & Vaucher, 1999 e *Zygobothrium megacephalum* Diesing, 1850 (DE CHAMBRIER et al., 1999; Fig. 36, Cap. VI). A presença de espinitríquias gladiadas na zona proliferativa, também é questionável e deve ser verificada em larga escala, pois dados detalhados sobre a ultraestrutura superficial estão disponíveis apenas para cerca de 30 espécies de proteocefalídeos (ARREDONDO et al., 2014), além do mais, *F. vaucheri* e outras espécies não possuem tal característica. Apesar do

uso desta classificação no presente trabalho, novos estudos sistemáticos devem focar no uso da taxonomia integrativa a fim de se encontrar, além do suporte molecular, sinapomorfias morfológicas que possam circunscrever de forma sólida e coerente a ordem Onchoproteocephalidea.

CAPÍTULO II

ELUCIDAÇÃO DA TAXONOMIA DE *Chambriella* REGO, CHUBB & PAVANELLI, 1999 (CESTODA: PROTEOCEPHALIDAE), INCLUINDO A PROPOSIÇÃO DE UM GÊNERO NOVO E DESCRIÇÃO DE UMA ESPÉCIE NOVA EM PIMELODÍDEOS DA REGIÃO NEOTROPICAL²

²Artigo publicado: ALVES, P. V.; DE CHAMBRIER, A.; LUQUE, J. L.; SCHOLZ, T. Untangling convoluted taxonomy of *Chambriella* Rego, Chubb, & Pavanelli, 1999 (Cestoda: Proteocephalidae), with erection of *Riggenbachiella* n. g. and the description of a new species from pimelodid catfishes in the Neotropical Region. **Systematic Parasitology**, v. 94, p. 367–389, 2017, doi: 10.1007/s11230-017-9700-1 (ANEXO IV)

RESUMO

Como parte de uma revisão complexa dos cestoides proteocefalídeos parasitos de peixes dulcícolas da Região Neotropical, *Chambriella* Rego, Chubb & Pavanelli, 1999 foi redefinido com base em um exame detalhado da série tipo e material recém coletado de ambas as espécies nominais do gênero. Este estudo revelou que a espécie tipo, *C. agostinhoi* (Pavanelli & Santos, 1992) ex *Zungaro jahu* (Ihering) (hospedeiro tipo) e *Z. zungaro* (Humboldt), é indistinguível de *Lenhataenia megacephala* (Woodland, 1934) ex *Sorubimichthys planiceps* (Spix & Agassiz) (todos hospedeiros Siluriformes, Pimelodidae), única espécie do gênero. Dados moleculares (sequências do gene 28S rDNA) suportam a coespecificidade destes táxons. Como resultado, *Lenhataenia* de Chambrier & Scholz, 2008 tornou-se sinônimo júnior de *Chambriella* e a espécie-tipo, *C. agostinhoi*, sinônimo júnior de *C. megacephala* (Woodland, 1934). A segunda espécie de *Chambriella*, *C. paranaensis* (Pavanelli & Rego, 1989) ex *Hemisorubim platyrhynchos* (Valenciennes), foi transferida para um novo gênero, *Riggenbachiella*, como *R. paranaense* (Pavanelli & Rego, 1989). *Riggenbachiella amazonense* encontrada em *S. planiceps* (hospedeiro tipo), *Phractocephalus hemioliopterus* (Bloch & Schneider) e *Z. zungaro* foi descrita e designada como espécie-tipo do novo gênero. *Riggenbachiella* é caracterizado principalmente pela bolsa do cirro sigmóide, vesícula seminal interna dividida em câmaras e ventosas biloculadas.

Palavras-chave: taxonomia, sistemática, especificidade parasitária, filogenia molecular, bacia do Rio Amazonas, região Neotropical, Pimelodidae.

ABSTRACT

As part of a complex revision of proteocephalid cestodes parasitic in freshwater fishes of the Neotropical Region, the genus *Chambriella* Rego, Chubb & Pavanelli, 1999 was redefined based on detailed examination of type-specimens and newly collected material of both nominal species of the genus. This examination revealed that the type-species *C. agostinhoi* (Pavanelli & Santos, 1992) ex *Zungaro jahu* (Ihering) (type-host) and *Z. zungaro* (Humboldt) is indistinguishable from *Lenhataenia megacephala* (Woodland, 1934) ex *Sorubimichthys planiceps* (Spix & Agassiz) (all hosts Siluriformes: Pimelodidae), the type- and only species of the genus. Molecular data (28S rDNA) supports the conspecificity of these taxa. As a result, *Lenhataenia* de Chambrier & Scholz, 2008 became a junior synonym of *Chambriella* and its type-species, *C. agostinhoi*, a junior synonym of *C. megacephala* (Woodland, 1934). The second species of *Chambriella*, *C. paranaensis* (Pavanelli & Rego, 1989) ex *Hemisorubim platyrhynchus* (Valenciennes), was transferred to a new genus, *Riggenbachiella*, as *R. paranaense* (Pavanelli & Rego, 1989). *Riggenbachiella amazonense* from *S. planiceps* (type-host), *Phractocephalus hemioliopus* (Bloch & Schneider) and *Z. zungaro* was described and designated as the type-species of the new genus. *Riggenbachiella* is mainly characterised by the possession of a sigmoid cirrus-sac with voluminous, chambered internal seminal vesicle, and bi-loculate suckers.

Key-words: taxonomy, systematics, host specificity, molecular phylogeny, Amazon River basin, Neotropical Region, Pimelodidae

3.1. INTRODUÇÃO

Peixes dulcícolas neotropicais albergam uma extraordinária diversidade de helmintos parasitos. Um dos mais comuns e diversos em peixes Pimelodidae (Siluriformes) são os cestoides da ordem Onchoproteocephalidea Caira, Jensen, Waeschenbach, Olson & Littlewood, 2014. Apesar das pesquisas terem avançado nas últimas décadas, importantes lacunas no nosso conhecimento sobre a diversidade, relações de parentesco e especificidade parasitária, limitam a compreensão de aspectos importantes destas associações (DE CHAMBRIER et al., 2017).

O emprego de métodos moleculares, especialmente o uso de marcadores moleculares, têm elucidado problemas taxonômicos e filogenéticos de cestoides parasitos de peixes neotropicais (REYDA; MARQUES, 2011). Entretanto, estudos semelhantes têm revelado incongruências entre a taxonomia morfológica tradicional e estudos moleculares sobre a classificação dos proteocefalídeos, especialmente a polifilia da maioria das subfamílias e gêneros ricos em espécies (DE CHAMBRIER et al., 2015a). Desta forma, o uso de uma abordagem integrativa na sistemática e taxonomia de proteocefalídeos, é extremamente importante a fim de se propor uma classificação natural, utilizando categorias taxonômicas monofiléticas (naturais).

Um dos gêneros recentemente propostos, *Chambriella* Rego, Chubb & Pavanelli, 1999, originalmente incluído na subfamília Monticelliinae Mola, 1929, i.e., espécies com testículos, ovário, folículos vitelínicos e útero corticais, foi caracterizado pela presença de ventosas biloculadas (REGO et al., 1999). O gênero foi proposto por Rego et al. (1999) para acomodar *Goezeella agostinhoi* Pavanelli & Santos, 1992 (espécie tipo) ex *Paulicea luetkeni* [na verdade, *Zungaro jahu* (Ihering)] e *G. paranaensis* Pavanelli & Rego, 1989 ex *Hemisorubim platyrhynchos* (Valenciennes) (Siluriformes: Pimelodidae), provenientes do Rio Paraná (PAVANELLI; REGO, 1989; PAVANELLI; SANTOS, 1992).

As descrições originais foram baseadas em espécimes parcialmente decompostos como evidenciado pelas ilustrações e no exame do material tipo (ver abaixo). A diagnose genérica de *Chambriella* está incompleta e a diferenciação dos demais gêneros não foi fornecida pelos autores; o gênero foi incluído apenas numa chave de cestoides proteocefalídeos da América do Sul. (ver REGO et al., 1999). Apesar destas deficiências, ambas espécies de *Chambriella* foram reconhecidas como válidas por de Chambrier et al. (2006), que registrou *C. agostinhoi* e *C. paranaensis* em *Zungaro zungaro* (Humboldt) e *H. platyrhynchos*, respectivamente, coletados no Rio Amazonas, Iquitos, Peru.

Os mesmos autores, de Chambrier e Scholz (2008), estudaram extensivo material de proteocefalídeos coletados em *Sorubimichthys planiceps* (Spix & Agassiz) da Amazônia peruana. Os mesmos reconheceram duas espécies em Monticelliinae com ventosas biloculadas. A primeira espécie foi preliminarmente identificada como *Monticellia megacephala* Woodland, 1934, originalmente descrita em ‘peixe lenha’ [na verdade, *S. planiceps* (FROESE; PAULY, 2017)] proveniente da Amazônia brasileira (WOODLAND, 1934b). Considerando que as espécies de *Monticellia* não possuem ventosas biloculadas (REGO, 1994), o gênero *Lenhataenia* de Chambrier & Scholz, 2008 foi proposto para acomodar estes exemplares. Logo, de Chambrier e Scholz (2008) criaram o nome *Lenhataenia megacephala* (Woodland, 1934).

A segunda espécie identificada por de Chambrier e Scholz (2008) em *S. planiceps* difere marcadamente de *L. megacephala* na morfologia da bolsa do cirro, que contém uma vesícula seminal interna volumosa e dividida em câmaras. Já que os espécimes identificados por de Chambrier et al. (2006) como *C. agostinhoi* e *C. paranaensis* possuíam tal característica, estes exemplares, que também possuem ventosas biloculadas, foram considerados como pertencentes a um novo táxon de *Chambriella* e designados como

Chambriella sp. por Chambrier e Scholz (2008) and *Chambriella* sp. 4 por de Chambrier et al. (2015b). Entretanto, em ambos trabalhos, os autores não observaram o material tipo de *Chambriella* spp. Para o presente estudo, os exemplares tipo foram observados, incluindo o holótipo da espécie tipo, *C. agostinhoi*. Este exame, suplementado pelo estudo morfológico e molecular de espécimes recém coletados no Brasil e Peru, permitiram que o status taxonômico destes gêneros (*Chambriella* e *Lenhataenia*) fosse elucidado, além da proposição do gênero *Riggenbachiella* para acomodar duas espécies com peculiar morfologia da bolsa do cirro, uma delas descritas no presente trabalho.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Procedência dos hospedeiros e coleta dos parasitos

Os peixes foram coletados por pescadores artesanais em três localidades: Rio Amazonas, próximo a Itacoatiara (Estado do Amazonas, Brasil; 3°09'S, 58°26'O) e próximo a Iquitos (Região de Loreto, Peru; 3°47'S, 73°20'O), e Rio Paraguai (San Antonio), próximo a Assunção (Departamento Central, Paraguai 25°23', 57°34'O). As coletas foram realizadas em diferentes expedições nos anos de 1989, 1992, 1993 e 1995, e em 2004, 2006, 2009 pelos Dr. Alain de Chambrier e Dr. Amilcar Rego, e pelos Dr. Tomáš Scholz e Dr. Roman Kutcha, respectivamente. Os parasitos coletados *in situ* foram fixados e armazenados conforme a metodologia descrita no Cap. I.

3.2.2. Análises morfológicas

A presente revisão teve como base o exame do material tipo de ambas espécies de *Chambriella*, i.e., *C. agostinhoi* e *C. paranaensis*, depositadas na CHIOC, e material recém coletado nas bacias dos Rios Amazonas e Paraná do Brasil e Peru. Os espécimes foram processados para os estudos morfológicos conforme o Cap. I. A descrição das microtríquias segue Chervy (2009); todas as medidas foram fornecidas em micrômetros (µm), salvo quando indicado. Espécimes estudados no presente trabalho foram depositados nas seguintes coleções parasitológicas: BMNH, CHIOC, IPCAS e MHNG-PLAT.

3.2.3 Análises moleculares

O DNA genômico de 14 exemplares foi isolado utilizando o kit de extração DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN™, Hilden, Germany), de acordo com as instruções do fabricante. A amplificação e o sequenciamento do gene 28S rDNA foram realizadas conforme o Cap. I. Os contíguos das sequências foram alinhados por correspondência nucleotídica no programa Geneious™ versão 8.1.8 (KEARSE et al., 2012; disponível em <http://www.geneious.com>) e as regiões complementares aos iniciadores foram excluídas. As sequências geradas *de novo* foram alinhadas com outras 43 disponíveis no GenBank [representando o clado D em de Chambrier et al. (2015a)], sendo que a maioria das linhagens são representadas por cestoides neotropicais (Tabela 1) através do algoritmo E-INS-i no programa MAFFT (KATO et al., 2002). O alinhamento foi cortado a fim de coincidir com a sequência mais curta; posições alinhadas ambigualmente foram excluídas manualmente das análises subsequentes.

As reconstruções filogenéticas foram produzidas utilizando os mesmos critérios de MV e IB do Cap. I.

Tabela 1. Isolados de proteocefalídeos (Eucestoda: Proteocephalidae) utilizados na análise molecular do gene 28S rDNA.

Parasito	Hospedeiro	Voucher	No. de acesso	Referência
<i>Ageneiella brevifilis</i> de Chambrier & Vaucher, 1999	<i>Ageneiosus inermis</i> (Linnaeus)	MHNG-PLAT 21841 (H)	AJ388600	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Amphoteromorphus ninoi</i> Carfora, de Chambrier & Vaucher, 2003	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i> (Lichtenstein)	MHNG-PLAT 22239 (H)	AJ388624	de Chambrier et al. (2004a)
<i>Amphoteromorphus peniculus</i> Diesing, 1850	<i>Brachyplatystoma rousseauxii</i> (Castelnau)	MHNG-PLAT 60052 (H)	KP729410	de Chambrier et al. (2015a)
<i>Amphoteromorphus piraeeba</i> Woodland, 1934	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	MHNG-PLAT 22227	KP729407	de Chambrier et al. (2015a)
<i>Amphoteromorphus piriformis</i> Carfora, de Chambrier & Vaucher, 2003	<i>Brachyplatystoma rousseauxii</i>	MHNG-PLAT 22211 (H)	AJ275231	de Chambrier et al. (2004a)
<i>Brayela karuatayi</i> (Woodland, 1934)	<i>Platynematchthys notatus</i> (Jardine)	MHNG-PLAT 63128 (H)	KP729406	de Chambrier et al. (2015a)
<i>Chambriella megacephala</i> (Woodland, 1934)	<i>Zungaru jahu</i> (Ihering)	MHNG-PLAT 34745 (H)	KY207447	Alves et al. (2017b)
<i>Chambriella megacephala</i> (Woodland, 1934)	<i>Zungaro zungaro</i> (Humboldt)	CHIOC 38484 (H)	KY207448	Alves et al. (2017b)
<i>Chambriella megacephala</i> (Woodland, 1934)	<i>Sorubimichthys planiceps</i> (Spix & Agassiz)	MHNG-PLAT 91863-65, 67-68, 72973 (H)	KY207449 (7 réplicas)	Alves et al. (2017b)
<i>Choanoscolex abscisus</i> (Riggenbach, 1895)	<i>Pseudoplatystoma corruscans</i> (Agassiz)	MHNG-PLAT 17905 (H)	AJ388630	Zehnder & Mariaux (1999)
<i>Choanoscolex</i> sp.	<i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> (Linnaeus)	MHNG-PLAT 25102 (H)	AJ275064	de Chambrier et al. (2004)
<i>Endorchis piraeeba</i> Woodland, 1934	<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	MHNG-PLAT 21738 (H)	AJ388603	Zehnder & Mariaux (1999)
<i>Gibsoniella mandube</i> (Woodland, 1935)	<i>Ageneiosus</i> sp.	MHNG-PLAT 63119 (H)	KP729412	de Chambrier et al. (2015a)
<i>Gibsoniella meursaulti</i> de Chambrier & Vaucher, 1999	<i>Ageneiosus inermis</i>	MHNG-PLAT 21839 (H)	AJ388631	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Goezeella siluri</i> Fuhrmann, 1916	<i>Pinirampus pirinampu</i> (Spix & Agassiz)	MHNG-PLAT 21877 (H)	AJ388612	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Harriscolex kaparari</i> (Woodland, 1935)	<i>Pseudoplatystoma tigrinum</i> (Valenciennes)	MHNG-PLAT 22018 (H)	AJ275227	Zehnder et al. (2000)
<i>Manaosia bracodemoca</i> Woodland, 1935	<i>Sorubim lima</i> (Bloch & Schneider)	MHNG-PLAT 34186 (H)	KP729414	de Chambrier et al. (2015a)

Tabela 1. Continuação

Parasito	Hospedeiro	Voucher	No. de acesso	Referência
<i>Megathylacus jandia</i> Woodland, 1934	<i>Zungaro zungaro</i>	MHNG-PLAT 21874 (H)	AJ388596	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Monticellia coryphicephala</i> (Monticelli, 1891)	<i>Salminus brasiliensis</i> (Cuvier)	MHNG-PLAT 17984 (H)	AJ238832	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Nomimoscolex admonticellia</i> (Woodland, 1934)	<i>Pinirampus pirinampu</i>	MHNG-PLAT 21870 (H)	AJ388628	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Nomimoscolex chubbi</i> (Pavanelli & Takemoto, 1995)	<i>Gymnotus carapo</i> Linnaeus	MHNG-PLAT 20351 (H)	AJ388625	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Nomimoscolex lenha</i> (Woodland, 1933)	<i>Sorubimichthys planiceps</i>	MHNG-PLAT 21740 (H)	AJ388611	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Nomimoscolex lopesi</i> Rego, 1989	<i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	MHNG-PLAT 21963 (H)	AJ388618	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Nomimoscolex matogrossensis</i> Rego & Pavanelli, 1990	<i>Hoplias malabaricus</i> (Bloch)	MHNG-PLAT 17913 (H)	AJ388614	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Nomimoscolex sudobim</i> Woodland, 1935	<i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	MHNG-PLAT 21969 (H)	AJ388597	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Nupelia portoriquensis</i> Pavanelli & Rego, 1991	<i>Sorubim lima</i>	MHNG-PLAT 34185 (H)	KP729401	de Chambrier et al. (2015a)
<i>Ophiotaenia europaea</i> Odening, 1963	<i>Natrix maura</i> (Linnaeus)	MHNG-PLAT 18407 (H)	AJ388598	Zehnder & Mariaux (1999)
<i>Ophiotaenia filaroides</i> (La Rue, 1909)	<i>Ambystoma tigrinum</i> (Green)	MHNG-PLAT 63372 (H)	KP729416	de Chambrier et al. (2015a)
<i>Ophiotaenia paraguayensis</i> (Rudin, 1917)	<i>Hydrodynastes gigas</i> (Duméril, Bibron & Duméril)	MHNG-PLAT 16927 (H)	AJ388629	Zehnder & Mariaux (1999)
<i>Ophiotaenia</i> cf. <i>perspicua</i> La Rue, 1911	<i>Nerodia rhombifer</i> (Hallowell)	MHNG-PLAT 35370 (H)	KP729415	de Chambrier et al. (2015a)
<i>Ophiotaenia sanbernardinensis</i> Rudin, 1917	<i>Helicops leopardinus</i> (Schlegel)	MHNG-PLAT 18251 (H)	AJ388637	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Ophiotaenia saphena</i> Osler, 1931	<i>Lithobates pipiens</i> (Schreber)	MHNG-PLAT 32851 (H)	KP729402	de Chambrier et al. (2015a)
<i>Peltdocotyle lenha</i> (Woodland, 1933)	<i>Zungaro zungaro</i>	MHNG-PLAT 22373 (H)	AJ238837	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Peltdocotyle rugosa</i> Diesing, 1850	<i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> Eigenmann	MHNG-PLAT 22374 (H)	AJ238835	Zehnder e Mariaux (1999)

Tabela 1. Continuação

Parasito	Hospedeiro	Voucher	No. de acesso	Referência
Proteocephalidae gen. sp.	<i>Amia calva</i> Linnaeus	MHNG-PLAT 35548 (H)	FM956088	de Chambrier et al. (2009)
<i>Proteocephalus perplexus</i> La Rue, 1911	<i>Amia calva</i>	MHNG-PLAT 35366 (H)	FM956089	de Chambrier et al. (2009)
<i>Proteocephalus</i> sp.	<i>Ictalurus punctatus</i> (Rafinesque)	MHNG-PLAT 36278 (H)	FM956085	de Chambrier et al. (2009)
<i>Regoella brevis</i> Arredondo, Gil de Pertierra & de Chambrier, 2013	<i>Pseudoplatystoma reticulatum</i>	MHNG-PLAT 79184 (H)	KP729389	de Chambrier et al. (2015a)
<i>Riggenbachiella amazonense</i> Alves et al. 2017	<i>Phractocephalus hemioliopus</i> (Schneider)	MHNG-PLAT 67054, 67060 (H)	KY207450 (2 réplicas)	Alves et al. (2017b)
<i>Riggenbachiella amazonense</i> Alves et al. 2017	<i>Sorubimichthys planiceps</i>	MHNG-PLAT 60046, 60048, 91866 (h)	KY207451 (3 réplicas)	Alves et al. (2017b)
<i>Spasskyellina lenha</i> (Woodland, 1933)	<i>Sorubimichthys planiceps</i>	MHNG-PLAT 69600 (h)	KP729413	de Chambrier et al. (2015a)
<i>Spasskyellina spinulifera</i> (Woodland, 1935)	<i>Pseudoplatystoma corruscans</i>	MHNG-PLAT 34216 (h)	KP729417	de Chambrier et al. (2015a)
<i>Spatulifer maringaensis</i> Pavanelli & Rego, 1989	<i>Sorubim lima</i>	MHNG-PLAT 21986 (h)	AJ388634	de Chambrier et al. (2004a)
<i>Testudotaenia testudo</i> (Magath, 1924)	<i>Apalone spinifera</i> (Le Sueur)	MHNG-PLAT 35320 (h)	FM956082	de Chambrier et al. (2009)
<i>Jauella glandicephalus</i> Rego & Pavanelli, 1985 (OUT)	<i>Zungaro jahu</i>	MHNG-PLAT 31179 (h)	KP729399	de Chambrier et al. (2015a)
<i>Nomimoscolex dorad</i> (Woodland, 1935) (OUT)	<i>Brachyplatystoma rousseauxii</i>	MHNG-PLAT 22269 (h)	AJ388613	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Nomimoscolex piraeeba</i> Woodland, 1934 (OUT)	<i>Brachyplatystoma capapretum</i> Lundberg & Akama	MHNG-PLAT 22284 (h)	AJ388608	Zehnder e Mariaux (1999)
<i>Nomimoscolex suspectus</i> Zehnder et al. 2000 (OUT)	<i>Brachyplatystoma vaillanti</i> (Valenciennes)	MHNG-PLAT 22298 (h)	AJ388602	de Chambrier et al. (2004a)

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Emenda do gênero *Chambriella* Rego, Chubb & Pavanelli, 1999

Sin. *Lenhataenia* de Chambrier & Scholz, 2008; *Robertiella* Rego, 1999 (*nomen nudum*)

Registro do gênero no ZooBank:

urn:lsid:zoobank.org:act:0CAB85F8-65CC-4D8D-B28E-8FAE7E567001

Diagnose: Onchoproteocephalidea, Proteocephalidae. Cestoides pequenos em comprimento. Estróbilo acraspedotado, com proglótides variáveis em tamanho e forma. Testículos, ovário, folículos vitelínicos e útero corticais. Escólex quadrilobado, aproximadamente retangular em vista apical, com ápice arredondado ou ligeiramente cônico; metaescólex ausente. Ventosas conspicuas, biloculadas, piriformes, com margem posterior sobreposta a zona proliferativa. Musculatura longitudinal interna formada por pequenos feixes de fibras, variável em número. Testículos em 1 campo. Bolsa do cirro suboval, de paredes grossas; ducto espermático interno de paredes grossas, altamente contorcido na metade proximal da bolsa do cirro. Poros genitais pré-equatoriais, irregularmente alternados. Átrio genital presente. Ovário bilobado, ligeiramente folicular. Vagina anterior ou posterior a bolsa do cirro, com esfíncter vaginal. Folículos vitelínicos distribuídos em 2 fileiras, alcançando a margem anterior das proglótides. Desenvolvimento uterino do tipo 2 *sensu* de Chambrier et al. (2004a, 2015a). Parasitos de Siluriformes neotropicais (Pimelodidae).

Espécie tipo e única conhecida: *Chambriella megacephala* (Woodland, 1934)

Comentários: A história taxonômica de *Chambriella* é problemática devido a uma sucessão de equívocos quanto a interpretação de algumas características importantes para o táxon (PAVANELLI; SANTOS, 1992; REGO et al., 1999; DE CHAMBRIER; SCHOLZ, 2008), somando-se a uma descrição original em que a morfologia da bolsa do cirro, dentre outros caracteres, não foi claramente apresentada [ver Figs. 2–6 em Pavanelli e Santos (1992)].

Uma avaliação recente do material tipo de *Chambriella agostinhoi* (espécie tipo) e *C. paranaensis* depositadas na CHIOC, revelou que estas espécies diferem marcadamente quanto a estrutura da bolsa do cirro. Em *C. agostinhoi*, esta estrutura é suboval, contendo um ducto espermático interno (vaso deferente) convoluto e um cirro com ducto ejaculatório simples, ou seja, idêntico ao de *L. megacephala*, descrita por de Chambrier e Scholz (2008) (ver Fig. 42 daquele trabalho). Estas espécies também se assemelham nas demais características morfológicas tidas como discriminantes, apesar de parasitarem diferentes espécies de pimelodídeos. Por outro lado, a bolsa do cirro de *C. paranaensis* é sigmóide e composta de três partes: vesícula seminal interna dividida em câmaras, parte muscular mediana com ducto ejaculatório sinuoso, seguido por um cirro curto, com um ducto ejaculatório em forma de ‘T’ invertido em sua parte proximal, ou seja, marcadamente diferente das espécies acima citadas.

Essas descobertas foram importantes para a sinonimização de *Lenhataenia* e *C. agostinhoi* (sinônimos juniores) com *Chambriella* e *C. megacephala*, respectivamente, respeitando o princípio da prioridade do código Internacional de Nomenclatura Zoológica (ICZN, 1999), além da transferência de *C. paranaensis* para *Riggenbachiella*, como *R. paranaense*.

Rego (1999) transferiu ambas espécies de *Chambriella* para *Robertiella* Rego, 1999, como *R. agostinhoi* e *R. paranaensis*, apesar de não ter fornecido uma descrição formal para esta ação taxonômica. Logo, *Robertiella* pode ser considerado como *nomen nudum* (ICZN, 1999).

3.3.2 Novos dados taxonômicos de *Chambriella megacephala* (Woodland, 1934)

Sin. *Monticellia megacephala* Woodland, 1934; *Goezeella agostinhoi* Pavanelli & Santos, 1992; *Chambriella agostinhoi* (Pavanelli & Santos, 1992); *Lenhataenia megacephala* de Chambrier & Scholz, 2008

Registro da espécie no ZooBank:

urn:lsid:zoobank.org:act:4CF657CE-EE28-4B1F-8F0E-0CF55DB481CC

Comentários: A comparação dos espécimes representativos de *Lenhataenia megacephala* ex *S. planiceps* com os de *Goezeella agostinhoi* ex *Z. jahu* (material tipo e recém coletado, Figs. 2A-D, G, 3) revelaram que estes morfótipos são indistinguíveis, exceto pela posição da vagina em relação a bolsa do cirro (apenas anterior ou posterior; Tabela 2). Esta característica tem sido amplamente utilizada para distinguir espécies congêneras (DE CHAMBRIER; VAUCHER, 1999; REGO et al., 1999; ARREDONDO; GIL DE PERTIERRA, 2010; GIL DE PERTIERRA; DE CHAMBRIER, 2013), mas seu valor taxonômico parece ser questionável para as espécies acima mencionadas pois a coespecificidade de ambas foi confirmada também por dados moleculares (sequências de ambos os táxons são idênticas, Fig. 1). Uma vez que não foram encontradas diferenças morfológicas entre os espécimes estudados, a descrição de Chambrier e Scholz (2008) não será repetida.

À vista disso, esses resultados mostram que *C. megacephala* possui a vagina com posição tanto anterior quanto posterior à bolsa do cirro, além de estar amplamente distribuída na América do Sul, com registros em duas bacias hidrográficas, i.e., dos Rios Amazonas e Paraná. Este cestóide pode ser encontrado em espécies de três gêneros de pimelodídeos de grande porte (*Pseudoplatystoma* Bleeker, *Sorubimichthys* Bleeker e *Zungaro* Bleeker), algo incomum entre os proteocefalídeos neotropicais conhecidos por uma estrita especificidade parasitária (REGO et al., 1999; DE CHAMBRIER et al., 2015b).

Resenha taxonômica.

Hospedeiro tipo: *Sorubimichthys planiceps* (Spix & Agassiz) (Siluriformes: Pimelodidae), originalmente reportado como *Platystomatichthys sturio* (Kner) por Woodland (1934b) (ver DE CHAMBRIER; SCHOLZ, 2008).

Outros hospedeiros: *Zungaro jahu* (Ihering), *Zungaro zungaro* (Humboldt) e *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus) (todos Siluriformes: Pimelodidae).

Localidade tipo: baixo Rio Amazonas, 50 “miles” de Santarém, Estado do Pará, Brasil.

Outras localidades: alto Rio Paraná, próximo a Porto Rico (Estado do Paraná, Brasil; 22°43’S, 53°10’O), Rio Amazonas, próximo a Itacoatiara (Estado do Amazonas, Brasil; 3°09’S, 58°26’O) e Iquitos (Região de Loreto, Peru; 3°47’S, 73°20’O).

Sítio de infecção: intestino (porção anterior)

Prevalência: 38% (6/16) e 50% (11/22) em *Z. jahu* (sin. *Paulicea luetkeni*) do Rio Paraná (Brasil) e em *S. planiceps* do Rio Amazonas (Peru), respectivamente (PAVANELLI; SANTOS, 1991; DE CHAMBRIER et al., 2015b).

Material estudado: (i) *Goezeella agostinhoi* ex *Paulicea luetkeni* (= *Zungaro jahu*): holótipo (espécime completo, CHIOC 32.820a); 3 parátipos (espécimes completos, CHIOC 32.820b-d); (ii) *Chambriella agostinhoi* ex *Z. jahu*: vouchers (2 espécimes completos, 1 fragmento e 1 lâmina com cortes seriados), Rio Cuiabá, Cuiabá, Estado do Mato Grosso (bacia do Rio Paraguai, Brasil), coletado por A. A. Rego em 31/06/1993 (MHNG-PLAT-19546, 22497, código de campo BR 407, 408); ex *Z. zungaro*: vouchers (4 espécimes completos e 3 fragmentos mesclado com *Riggenbachiella amazonense*), Rio Amazonas, Itacoatiara, Estado do Amazonas (Brasil), coletado por A. A. Rego e A. de Chambrier em 8/10/1995, e 1

espécime completo do Rio Amazonas, Iquitos (Peru) coletado por T. Scholz e R. Kuchta em 16/09/2006 (MHNG-PLAT- 27990, CHIOC 38484, código de campo BR 634, PI 445a); (iii) *Lenhataenia megacephala* ex *Sorubimichthys planiceps*: vouchers (2 espécimes completos, 1 mesclado com *R. amazonense*), Rio Amazonas, Itacoatiara, Estado do Amazonas (Brasil), coletado por A. A. Rego e A. de Chambrier em 2/10/1995 (MHNG-PLAT 20768, código de campo BR 467); (iv) *Chambriella* sp. ex *Pseudoplatystoma fasciatum*: vouchers (2 espécimes completos e fragmentos), Rio Amazonas, Iquitos, Região de Loreto (Peru) coletado por T. Scholz e R. Kuchta em 5/09/2006 (MHNG-PLAT 60026, código de campo PI 304a).

Identificação molecular: Fragmentos de 1491 pb do gene 28S rDNA (domínios D1-D3) foram amplificados de 7 isolados de '*L. megacephala*' em *S. planiceps* do Rio Amazonas (7 réplicas idênticas; GenBank KY207449). Fragmentos de mesmo tamanho foram amplificados de 2 isolados de '*C. agostinhoi*' ex *Z. jahu* do Rio Paraná e *Z. zungaro* do Rio Amazonas (sequências idênticas aos isolados de '*L. megacephala*'; GenBank KY207447, KY207448).

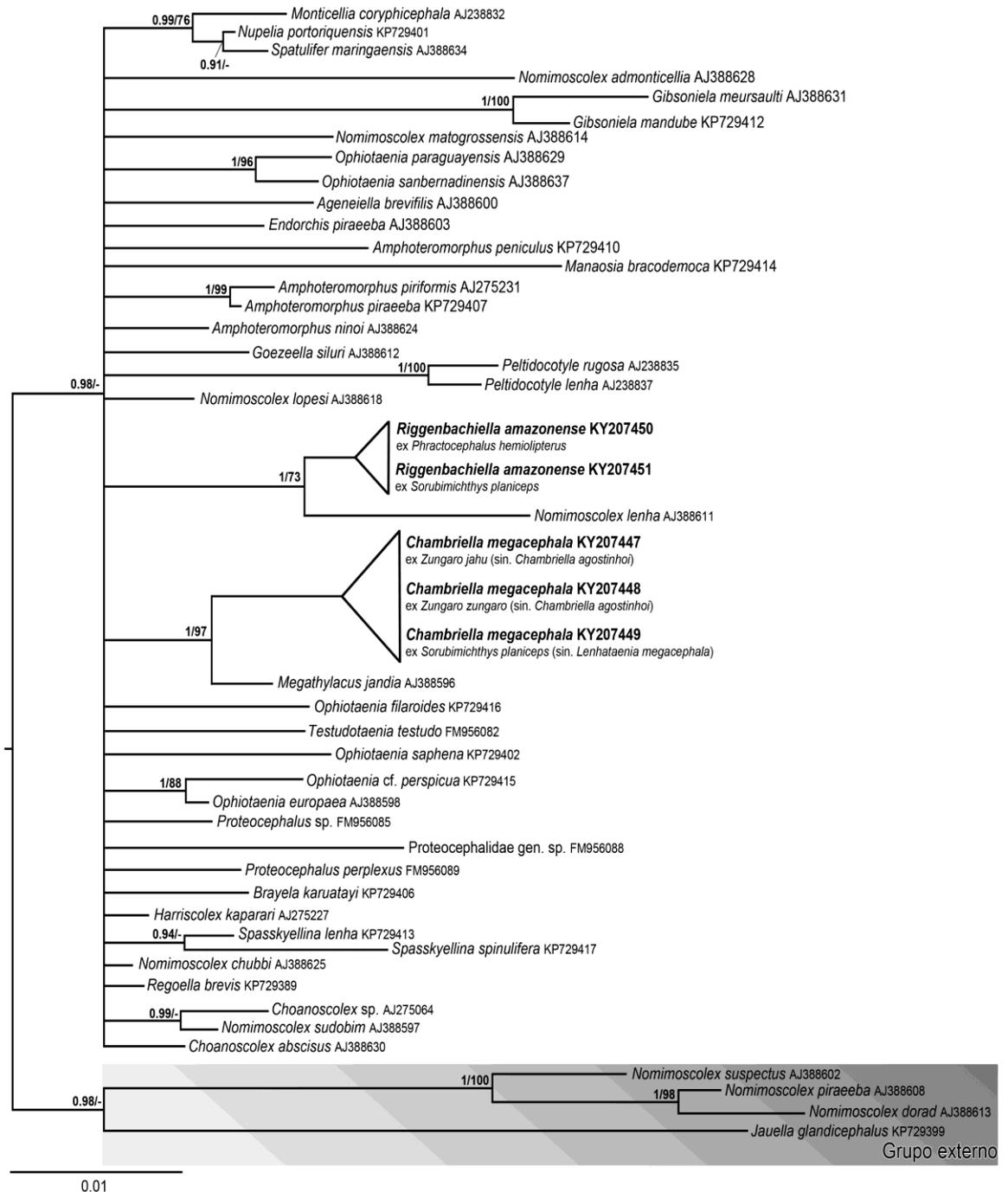


Figura 1. Filograma com base no critério da Inferência Bayesiana (IB) do gene 28S rDNA (domínios D1–D3) de espécies da família Proteocephalidae, incluindo *Riggenbachiella amazonense* Alves et al., 2017 e *Chambriella megacephala* (Woodland, 1934), ambos em negrito. Probabilidade posterior Bayesiana/suporte nodal ‘bootstrap’ estão indicados acima dos nós. Nós com probabilidade posterior Bayesiana < 0.90 foram colapsados e valores de ‘bootstrap’ < 70 não são mostrados. A barra de escala indica o número de substituições nucleotídicas por local.

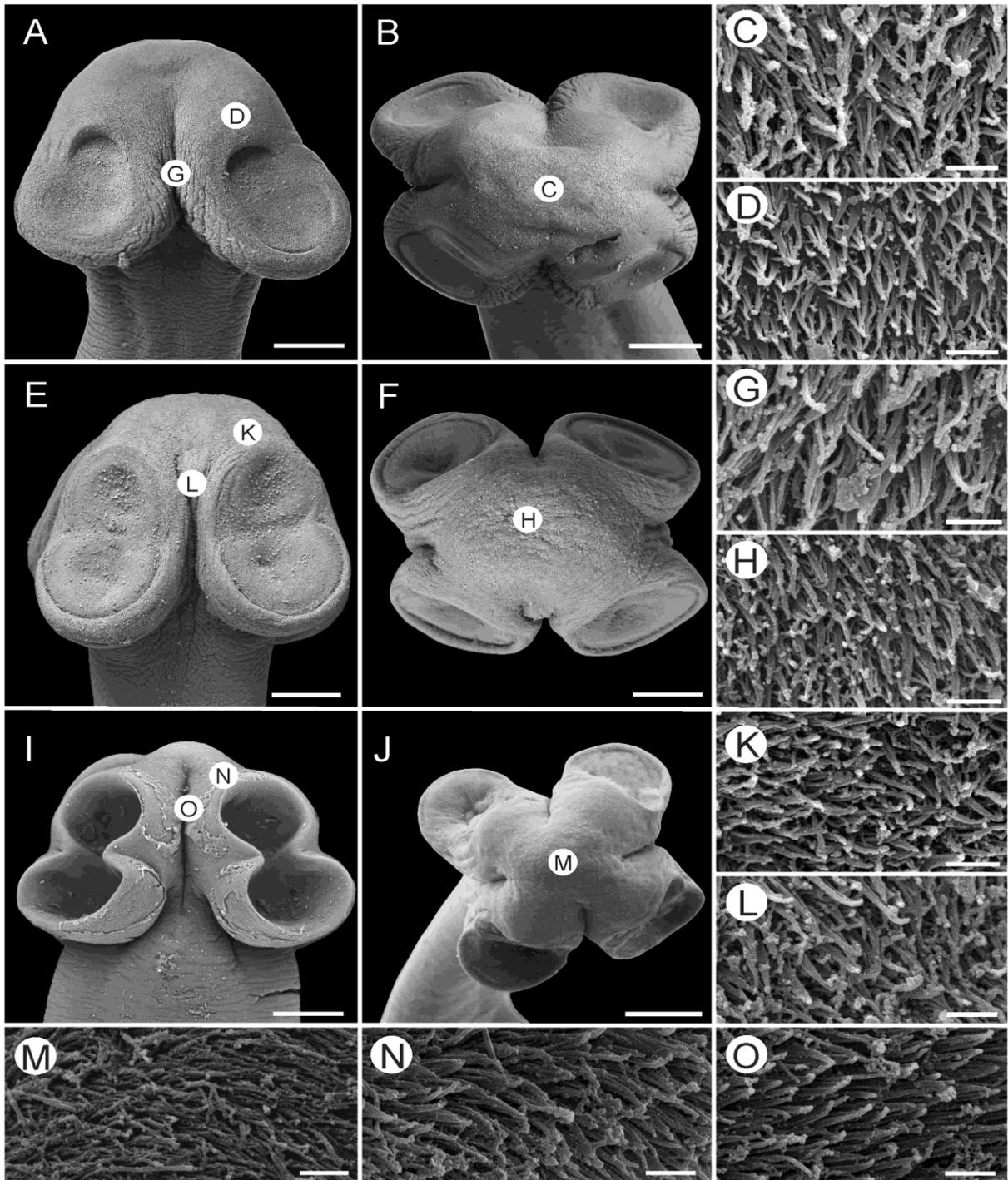


Figura 2. Micrografias (MEV) de representantes de Proteocephalidae, parasitos de pimelodídeos neotrópicos. *Chambriella megacephala* ex *Sorubimichthys planiceps* (MHNG-PLAT-54608): A, B. Escólex, vistas dorsoventral e apical, respectivamente. C, D, G. Microtríquias no ápice do escólex, próximo a margem superior das ventosas e entre ventosas, respectivamente. *Riggenbachiella amazonense* ex *S. planiceps* (MHNG-PLAT-54609): E, F. Escólex, vistas dorsoventral e apical, respectivamente. H, K, L. Microtríquias no ápice do escólex, próximo a margem superior das ventosas e entre ventosas, respectivamente. *Riggenbachiella paranaense* ex *Hemisorubim platyrhynchos* (MHNG-PLAT-36430): I, J. Escólex, vistas dorsoventral e apical, respectivamente. M–O. Microtríquias no ápice do escólex, próximo a margem superior das ventosas e entre ventosas, respectivamente. Barra de escala: A, B, E, F, I, J, 100 μ m; C, D, G, H, K–O, 1 μ m.

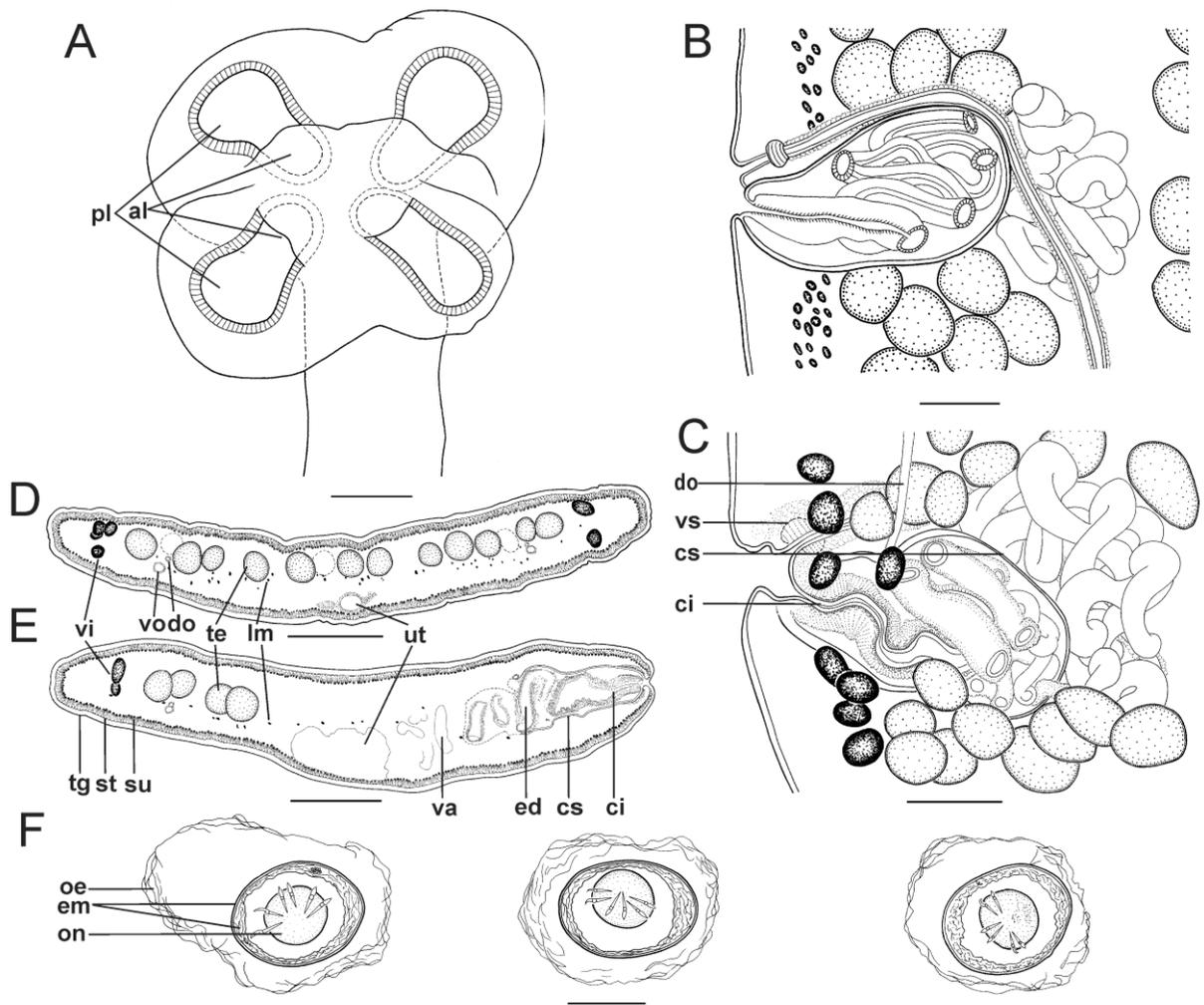


Figura 3. Morfologia de *Chambriella megacephala* (Woodland, 1934) ex *Zungaro jahu*. A. Escólex, vista apical (parátipo de *C. agostinhoi*, CHIOC 32820c). B. Genitália terminal, vista ventral (holótipo de *C. agostinhoi*, CHIOC 32820a). C. Genitália terminal, vista dorsal (MHNH-PLAT-22025). D, E. Secções transversais da região entre a bolsa do cirro e ovário, e ao nível da bolsa do cirro, respectivamente (MHNH-PLAT-19546). F. Ovos em água destilada (MHNH-PLAT-20768). Barra de escala: A, D, E, 200 µm; B, C, 100 µm; F, 20 µm.

Tabela 2. Medidas comparativas e características morfológicas de *Chambriella megacephala* (Woodland, 1934)

Fonte	Pavanelli e Santos (1992)	de Chambrier e Scholz (2008)	Alves et al. (2017b)
Atribuição original	<i>Goezeella agostinhoi</i>	<i>Lenhataenia megacephala</i>	<i>Chambriella megacephala</i>
Hospedeiro	<i>Zungaro jahu</i>	<i>Sorubimichthys planiceps</i>	<i>Zungaro jahu</i>
Localidade	Rio Paraná	Rio Amazonas	Rio Cuiabá
Tamanho amostral	3 espécimes ^a	11 espécimes	2 espécimes
Comprimento do corpo (mm)	11–30	21–25	21–34
Largura	máximo 800	máximo 705	máximo 1075
Comprimento do escólex	625–830	645–770	715
largura	1,020–1,250 (achatado)	820–1,190 (diâmetro)	820
ALD	215–250	210–265	205
PLD	240–275	260–390 (largura)	230
Comprimento da zona proliferativa	735–855	840–895	785–800
largura	355–365	240–320	355–490
Comprimento do cirro	190–275 (n = 4)	175–240 (n = 10)	75–190 (n = 9)
Comprimento da bolsa do cirro	215–575 (n = 10)	190–260 (n = 17)	215–470 (n = 13)
largura	84–200 (n = 10)	130–150 (n = 17)	106–180 (n = 13)
CL/CSL (%)	c. 76 (n = 5)	c. 80	c. 72 (n = 5)
CSL/PW nível da bolsa do cirro (%)	32–41 (n = 11)	31–41 (n = 17)	28–38 (n = 13)
OL/PL (%)	20–32 (n = 11)	18–23 (n = 16)	14–23 (n = 13)
OW/PW nível do ovário (%)	65–78 (n = 11)	62–70 (n = 16)	55–77 (n = 13)
Número de testículos	96–155 (n = 5)	119–175 (n = 2)	83–134 (n = 13)
diâmetro	51–77 (n = 5)	40–80 (n = 2)	48–80 (n = 13)
ROS (%)	10–11 (n = 3)	12–13 (n = 2)	7–11 (n = 13)
GPD/PL (%)	26–35 (n = 10)	25–41 (n = 16)	28–38 (n = 13)
Posição da vagina em relação à bolsa do cirro	somente anterior ou posterior	posterior 65%; anterior 35%.	somente anterior ou posterior
Número de UD	–	17–21 em cada lado	18–20 em cada lado (n = 5)
VLPS/PL (%)	92–97 (n = 8)	95–99 (n = 7)	92–97 (n = 13)
VLAS/PL (%)	91–97 (n = 8)	95–99 (n = 7)	92–97 (n = 13)
Formato dos ovos	esférico	esférico	Esférico
tamanho do embriófito	–	20–23 (diâmetro)	24–26 × 31–33
tamanho da oncosfera	–	12–15 (diâmetro)	13–15 × 13–16
ganchos embrionários	–	–	6–7 de comprimento

^amedidas tomadas do holótipo e 2 parátipos, no presente trabalho

3.3.3 Diagnose de *Riggenbachiella* Alves, de Chambrier, Luque & Scholz, 2017

Sin. *Chambriella* Rego, Chubb & Pavanelli, 1999 (*pro parte*)

Registro do gênero no ZooBank:

urn:lsid:zoobank.org:act:A6D4B7F4-A6BF-49C2-BD88-864EBCD346AE

Diagnose: Onchoproteocephalidea, Proteocephalidae. Cestoides pequenos em comprimento. Estróbilo acraspedotado, com proglótides variáveis em tamanho e forma. Testículos, ovário, folículos vitelínicos e útero corticais. Escólex quadrilobado, aproximadamente retangular em vista apical, com ápice arredondado ou ligeiramente cônico; metaescólex ausente. Ventosas conspicuas, biloculadas, piriformes, com margem posterior sobreposta a zona proliferativa; lóculos variando em forma e tamanho. Musculatura longitudinal interna formada por pequenos feixes de fibras, esparsamente distribuídos. Testículos em 1 campo. Bolsa do cirro sigmóide, composta por 3 partes: vesícula seminal interna volumosa, dividida em câmaras, parte muscular mediana com ducto ejaculatório sinuoso, ducto ejaculatório em forma de ‘T’ invertido na parte proximal. Poros genitais pré-equatoriais, irregularmente alternados. Átrio genital presente. Ovário bilobado, ligeiramente folicular. Vagina anterior, excepcionalmente posterior a bolsa do cirro, com esfíncter vaginal. Folículos vitelínicos distribuídos em 2 fileiras. Desenvolvimento uterino do tipo 2 *sensu* de Chambrier et al. (2004a, 2015a). Parasitos de Siluriformes neotropicais (Pimelodidae).

Espécie tipo: *Riggenbachiella amazonense* Alves et al., 2017

Espécie adicional: *Riggenbachiella paranaense* (Pavanelli & Rego, 1989)

Etimologia: Este gênero foi nomeado em homenagem a Emil E. Riggenbach, Universidade de Basel, Suíça, por sua contribuição a sistemática de cestoides proteocefalídeos no século XIX. O nome deve ser tratado como gênero feminino.

Diagnose diferencial: O novo gênero pertence a subfamília Monticelliinae (classificação não-natural, aqui utilizada por razões comparativas; ver DE CHAMBRIER et al., 2017) caracterizada pela posição cortical dos testículos, ovário, folículos vitelínicos e útero (REGO, 1994). Até à data, a subfamília inclui 10 gêneros parasitos de peixes dulcícolas da região Neotropical, a saber, *Ageneiella* de Chambrier & Vaucher, 1999; *Chambriella* Rego, Chubb & Pavanelli, 1999; *Choanoscolex* La Rue, 1911; *Goezeella* Fuhrmann, 1916; *Manaosia* Woodland, 1935; *Monticellia* La Rue, 1911; *Regoella* Arredondo, de Chambrier & Gil de Pertierra, 2013; *Spasskyellina* Freze, 1965; *Spatulifer* Woodland, 1934; e *Synbranchiella* Arredondo, Alves & Gil de Pertierra, 2017 (ALVES et al., 2017a; ARREDONDO et al., 2017).

Riggenbachiella pode ser facilmente distinguido de todos os táxons supracitados, assim como de todos os demais proteocefalídeos, pela morfologia da bolsa do cirro, i.e., sigmóide e composta de três partes: vesícula seminal interna volumosa, dividida em câmaras, parte muscular mediana com ducto ejaculatório sinuoso em forma de ‘T’ invertido na parte proximal (ver Figs. 4B–F, 5B–D).

Dados moleculares do gene 28S rDNA (domínios D1–D3) confirmaram que as espécies dos gêneros mais próximos morfologicamente a *Riggenbachiella*, i.e., *Chambriella* e *Synbranchiella*, apresentam linhagens independentes ao táxon aqui discutido (ARREDONDO et al., 2017).

3.3.4 Descrição de *Riggenbachiella amazonense* Alves, de Chambrier, Luque & Scholz, 2017

Sin. *Chambriella* sp. em de Chambrier et al. (2006), de Chambrier e Scholz (2008), Ruedi e de Chambrier (2012); *Chambriella* sp. 2 and *Chambriella* sp. 4 em de Chambrier et al. (2015b)

Registro da espécie no Zoobank:

urn:lsid:zoobank.org:act:629315D9-65EF-4363-99BD-917A90CFA58A

Descrição (Figuras 2E, F, H, K, L, 4, Tabela 3) baseada em 10 espécimes adultos.

Onchoproteocephalidea, Proteocephalidae. Testículos, folículos vitelínicos, ovário e útero corticais. Estróbilo acraspedotado, anapolítico, consistindo em *c.* 51–70 proglótides: 31–56 imaturas (estágio precedido ao aparecimento de esperma no vaso deferente), 3–5 maduras (estágio precedido ao aparecimento de ovos), 12–15 pré-grávidas (estágio precedido ao aparecimento de ganchos na oncosfera); e 5–7 grávidas. Proglótides imaturas mais largas que longas (razão comprimento: largura 0,15–0,83), proglótides maduras mais largas que longas ou longas que largas (razão comprimento: largura 0,63–1,27), proglótides pré-grávidas e grávidas mais longas que largas (razão comprimento: largura 1,48–2,56). Escólex mais largo que a zona proliferativa, com 4 ventosas biloculadas; ápice em forma de domo, órgão apical ausente. Ventosas piriformes, grandes, correspondendo *c.* 70% do comprimento do escólex; moderado desenvolvimento muscular nas margens e lóculo posterior ligeiramente maior que o anterior; septo interocular pouco ou ligeiramente desenvolvido (Figs. 2E, F, 4A). Ápice do escólex, margem superior das ventosas e entre ventosas cobertas por filitríquias aciculares intercaladas por espinitríquias gladiadas de similar aparência e densidade (Fig. 2H, K, L).

Musculatura longitudinal interna pouco desenvolvida, esparsamente distribuída, formada por pequenos feixes de fibras (Fig. 4E; ver também Fig. 45 em DE CHAMBRIER; SCHOLZ, 2008). Canais osmorregulatórios situados ao mesmo nível, medianos as fileiras laterais de folículos vitelínicos e médioventrais aos testículos nas extremidades (Fig. 4G–I). Canal ventral de paredes finas, largo; canal dorsal de paredes grossas (Fig. 4G–I).

Testículos esféricos, em 1 camada (Fig. 4E, G), menos numerosos na linha média das proglótides (tronco uterino) e ao nível da bolsa do cirro (Fig. 4B, C); presente em proglótides grávidas. Vaso deferente altamente contorcido formando um campo alongado que alcança ou cruza a linha mediana das proglótides (Fig. 4B). Bolsa do cirro sigmóide, volumosa, ducto espermático expandido, com vesícula seminal interna dividida em câmaras (Fig. 4B–D); parte mediana muscular. Cirro curto, com ducto ejaculatório sinuoso em forma de ‘T’ invertido na parte proximal (Fig. 4D–F). Poros genitais alternando irregularmente, marcadamente pré-equatoriais (Fig. 4B, C).

Ovário bilobado, ligeiramente folicular (Fig. 4B). Glândula de Mehlis 40–95 em diâmetro, representando 8–10% da largura das proglótides (*n* = 13). Canal vaginal reto, porção terminal (*pars copulatrix vaginae*) cercado por células cromofílicas, com esfíncter vaginal bem desenvolvido (Fig. 4B–D). Vagina anterior (88% das proglótides) ou raramente posterior a bolsa do cirro. Desenvolvimento uterino do tipo 2. Abertura uterina por uma fenda mediana alongada; tronco uterino com surgimento em proglótides maduras, ocupando 81–88% (*n* = 5) do comprimento de proglótides pré-grávidas. Ovos intrauterinos esféricos, embrióforo com duas camadas.

Resenha taxonômica.

Hospedeiro tipo: *Sorubimichthys planiceps* (Spix & Agassiz) (Siluriformes: Pimelodidae).

Outros hospedeiros: *Phractocephalus hemioliopterus* (Bloch & Schneider), *Zungaro zungaro* (Humboldt) (todos Siluriformes: Pimelodidae).

Localidade tipo: Rio Amazonas, próximo a Iquitos (Região de Loreto, Peru; 3°34'S, 72°50'O).

Outras localidades: Rio Amazonas, próximo a Itacoatiara (Estado do Amazonas, Brasil; 3°09'S, 58°26'O).

Sítio de infecção: intestino (porção anterior).

Prevalência: 27% (6/22) e 50% (5/10) em *S. planiceps* e *P. hemioliopterus*, respectivamente, do Rio Amazonas (Peru).

Material tipo: Holótipo (espécime completo, MHNG-PLAT-70835); 6 parátipos (CHIOC 38481a-c); 3 parátipos (BMNH 2016.11.25.24), 2 parátipos, com três lâminas de cortes seriados (IPCAS C-749, MHNG-PLAT-94096).

Espécimes representativos: 4 espécimes completos em *P. hemioliopterus*, Iquitos, Peru, coletados por A. de Chambrier e R. Kuchta em 20/10/2009; 4 espécimes completos e 2 lâminas com cortes seriados, Itacoatiara, Brasil, coletados por A. A. Rego e A. de Chambrier em 17/09/1992 (MHNG-PLAT-67054, CHIOC 38482a, b, MHNG-PLAT 22005, códigos de campo PI 727, PI 613, BR 330); 5 espécimes completos e 13 lâminas com cortes seriados, Itacoatiara, Brasil, coletados por A. A. Rego e A. de Chambrier em 17/09/1992 e 6/10/1995 (MHNG-PLAT-19544, CHIOC 38483a-h, códigos de campo BR 385, BR 634y).

Identificação molecular: Fragmentos de 1491 pb do gene 28S rDNA (domínios D1-D3) foram amplificados de 2 isolados em *P. hemioliopterus* e 3 isolados em *S. planiceps* (5 réplicas idênticas; GenBank KY207450, KY207451).

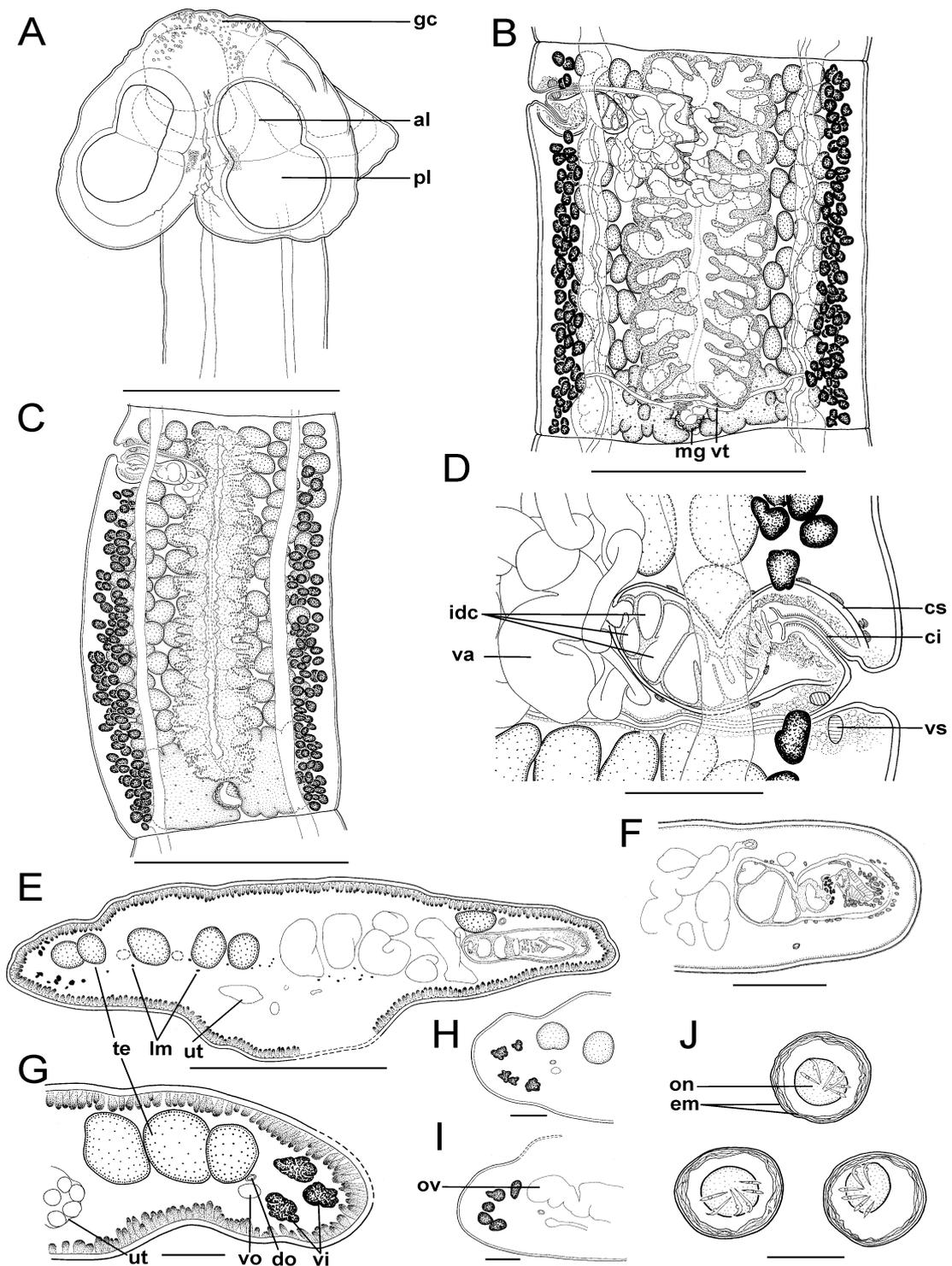


Figura 4. Morfologia de *Riggenbachiella amazonense* Alves et al., 2017 ex *Phractocephalus hemioliopteris* (A, C, E, H, I), *Sorubimichthys planiceps* (hosp. tipo; B, D, F, J) e *Zungaro zungaro* (G). A, Escólex, vista dorsoventral (MHNG-PLAT-67054); B, Proglótide pré-grávida, vista ventral (IPCAS C-749); C, Proglótide madura, vista ventral (MHNG-PLAT-79199); D, Genitália terminal, vista ventral (IPCAS C-749); E, F, Secção transversal ao nível da bolsa do cirro, detalhado em F (MHNG-PLAT-22005, 94096); G, Secção transversal, detalhe da região posterior da proglótide (MHNG-PLAT-19544); H, I, detalhes ao nível do ovário e parte posterior da proglótides, respectivamente (MHNG-PLAT-22005); J, Ovos visualizados em espécimes montados em lâmina (MHNH-PLAT-70835). Barra de escala: A, B, C, 500 μ m; D, F, 100 μ m; E, 250 μ m; G, H, I, 50 μ m, J, 20 μ m.

Tabela 3. Medidas comparativas e características morfológicas de *Riggenbachiella amazonense* Alves et al., 2017

Hospedeiro	<i>Sorubimichthys planiceps</i> (hosp. tipo)	<i>Phractocephalus hemioliopterus</i>	<i>Zungaro zungaro</i>
Localidade	Rio Amazonas	Rio Amazonas	Rio Amazonas
Tamanho amostral	7 espécimes	3 espécimes	2 espécimes
Comprimento do corpo (mm)	33–48	25–33	23–30
largura	máximo 1,055	máximo 1,000	máximo 845
Comprimento do escólex	560–590	445–565	405–440
largura	675–795	505–810	595–610
ALD	165–220	155–195	185–205
PLD	180–230	165–220	235–260
Comprimento da zona proliferativa	325–680	475–595	390–540
largura	230–285	250–375	325–355
Comprimento do cirro	40–90 (n = 37)	50–120 (n = 25)	40–70 (n = 20)
Comprimento da bolsa do cirro	155–235 (n = 38)	140–265 (n = 26)	150–250 (n = 20)
largura	45–85 (n = 38)	60–105 (n = 26)	55–90 (n = 20)
CL/CSL (%)	c. 33 (n = 37)	c. 39 (n = 25)	c. 25 (n = 20)
CSL/PW nível da bolsa do cirro (%)	19–32 (n = 38)	17–39 (n = 26)	21–31 (n = 20)
OL/PL (%)	13–23 (n = 38)	16–33 (n = 26)	20–30 (n = 20)
OW/PW nível do ovário (%)	56–77 (n = 37)	64–78 (n = 26)	58–74 (n = 20)
Número de testículos	90–144 (n = 38)	81–170 (n = 26)	70–100 (n = 20)
diâmetro	41–76 (n = 38)	54–78 (n = 26)	54–81 (n = 20)
ROS (%)	9–14 (n = 27)	10–15 (n = 17)	12–14 (n = 10)
GPD/PL (%)	11–21 (n = 38)	9–19 (n = 26)	16–23 (n = 20)
Posição da vagina em relação à bolsa do cirro	anterior 88%; posterior 12%	apenas anterior	apenas anterior
Número de UD	15–28 em cada lado (n = 20)	18–24 em cada lado (n = 9)	13–18 em cada lado (n = 15)
VLPS/PL (%)	67–78 (n = 38)	68–84 (n = 26)	62–77 (n = 20)
VLAS/PL (%)	86–98 (n = 38)	82–95 (n = 26)	80–92 (n = 20)
Formato dos ovos	esféricos	Esféricos	esféricos
tamanho do embriófito	20–23 × 22–24	18–21 × 20–22	18–22 × 20–23
tamanho da oncosfera	12–13 × 11–12	10–12 × 11–13	11–13 × 12–14
ganchos embrionários	6–7 de comprimento	6–7 de comprimento	6–7 de comprimento

Comentários: *Riggenbachiella amazonense* foi designada como tipo do gênero, já que o número e qualidade de conservação dos indivíduos desta espécie eram superiores em comparação a *Riggenbachiella paranaense* (Pavanelli & Rego, 1989). Além disso, dados moleculares não estão disponíveis para a última espécie. Considerando ainda que, os espécimes de *R. amazonense* em *S. planiceps* e *P. hemioliopterus* apresentaram sequências idênticas para o gene 28S rDNA (Fig. 1) e diferenças morfológicas não foram observadas (exceto a posição da vagina em relação a bolsa do cirro, ver Tabela 3), todos cestoides destes hospedeiros foram considerados coespecíficos. *Sorubimichthys planiceps* foi tratado como hospedeiro tipo porque dados sobre a morfologia destes parasitos, neste hospedeiro, já haviam sido publicados por de Chambrier e Scholz (2008; como *Chambriella* sp.), além de um maior tamanho amostral quanto ao número de proteocefalídeos.

de Chambrier et al. (2015b) distinguiram quatro morfótipos de ‘*Chambriella*’ provenientes de quatro gêneros de pimelodídeos de grande porte (*Brachyplatystoma* Bleeker, *Phractocephalus* Agassiz, *Pseudoplatystoma* e *Sorubimichthys*), tratando-os como quatro putativas novas espécies. O presente estudo, que também incluiu dados moleculares, revelou que dois destes quatro morfótipos (*Chambriella* sp. 2 e *Chambriella* sp. 4) são coespecíficos de *R. amazonense*.

3.3.5 Redescrição de *Riggenbachiella paranaense* (Pavanelli & Rego, 1989)

Sin. *Goezeella paranaensis* Pavanelli & Rego, 1989; *Chambriella paranaensis* (Pavanelli & Rego, 1989)

Registro da espécie no Zoobank:

urn:lsid:zoobank.org:act:17931491-3CB2-4EC9-BBA2-3B77F44E39BA

Descrição (Figuras 2I, J, M–O, 5,) baseada em 6 espécimes adultos.

Onchoproteocephalidea, Proteocephalidae. Testículos, folículos vitelínicos, ovário e útero corticais. Comprimento total do corpo 19–32 mm (n = 3), largura máxima 1,20 mm (n = 4). Estróbilo acraspedotado, anapolítico, consistindo em c. 59–76 proglótides: 40–46 imaturas (estágio precedido ao aparecimento de esperma no vaso deferente), 5–6 maduras (estágio precedido ao aparecimento de ovos), 6–14 pré-grávidas (estágio precedido ao aparecimento de ganchos na oncosfera); e 8–10 grávidas. Proglótides imaturas mais largas que longas (razão comprimento: largura 0,13–0,43), proglótides maduras mais largas que longas (razão comprimento: largura 0,35–0,86), proglótides pré-grávidas mais largas que longas ou longas que largas (razão comprimento: largura 0,50–1,32) e proglótides grávidas mais largas que largas (razão comprimento: largura 1,12–2,01).

Escólex 495–630 × 485–720 (n = 4), mais largo que a zona proliferativa 325–685 × 175–380, com 4 ventosas biloculadas; ápice cônico, órgão apical ausente. Ventosas em forma de ‘8’, grandes, correspondendo c. 78% do comprimento do escólex. Lóculo anterior 130–220 de largura (n = 5) e lóculo posterior 130–205 de largura (n = 5); margem das ventosas e septo interocular bem desenvolvidos (Figs. 2I, J, 5A). Ápice do escólex coberto por filitríquias aciculares, margem superior das ventosas e entre ventosas cobertas por filitríquias aciculares intercaladas por espinitríquias gladiadas de similar aparência e densidade (Fig. 2M–O).

Musculatura longitudinal interna inconspícua (Fig. 5F). Canais osmorregulatórios situados em níveis diferentes (Fig. 5E, F). Canal ventral de paredes finas, largo, mediodorsal as fileiras ventrais de folículos vitelínicos e medioventral aos testículos nas extremidades (Fig. 5E, F); canal dorsal de paredes grossas, dorsal as fileiras ventrais de folículos vitelínicos e aproximadamente lateral aos testículos nas extremidades (Fig. 5E, F).

Testículos esféricos, 40–70 em diâmetro, em 1 camada irregular, 100–174 em número (Fig. 5B, C), alcançando a fileira ventral de folículos vitelínicos (Fig. 5E). Testículos em 1 campo, menos numerosos na linha média das proglótides (tronco uterino) e ao nível da bolsa do cirro (Fig. 5B, C). Vaso deferente altamente contorcido formando um campo alongado que cruza a linha mediana das proglótides (Fig. 5B, C). Bolsa do cirro sigmóide, 180–305 × 45–110 (n = 28), com vesícula seminal interna dividida em câmaras (Fig. 5 B–D); comprimento representando 18–31% (n = 28) da largura das proglótides; parte mediana muscular. Cirro curto, com ducto ejaculatório sinuoso em forma de ‘T’ invertido na parte proximal (Fig. 5D), ocupando o máximo de 38% (n = 28) do comprimento da bolsa do cirro. Poros genitais alternando irregularmente, marcadamente pré-equatoriais, situados a 14–26% (n = 28) da margem anterior das proglótides (Fig. 5B, C).

Ovário bilobado, ligeiramente folicular (Fig. 5B, C); comprimento do ovário representando 19–29% do comprimento das proglótides (n = 28), com largura representando 69–84% da largura das proglótides (n = 28). Glândula de Mehlis *c.* de 60–96 em diâmetro, representando 6–7% da largura das proglótides (n = 15). Tamanho relativo do ovário (ver DE CHAMBRIER et al., 2012) *c.* 12% do tamanho das proglótides maduras e pré-grávidas. Canal vaginal reto, porção terminal (*pars copulatrix vaginae*) cercado por células cromofílicas, com esfíncter vaginal bem desenvolvido (Fig. 5C, D). Vagina anterior (89%) ou posterior (11%) a bolsa do cirro. Folículos vitelínicos ventralmente mais numerosos ao nível do ovário, formando duas fileiras laterais amplas (comumente de 7 a 10 folículos no mesmo nível) ininterruptos dorsalmente, alcançando a margem anterior (Fig. 5B–D). O comprimento das bandas representa 93–98% e 92–99% do comprimento das proglótides nas regiões poral e antiporal, respectivamente (n = 28) (Fig. 5B, C). Desenvolvimento uterino do tipo 2. Abertura uterina por uma fenda mediana alongada; tronco uterino com surgimento em proglótides maduras, ocupando 85–88% (n = 7) do comprimento de proglótides pré-grávidas. Ovos intrauterinos subesféricos, embrióforo com duas camadas, 17–19 × 16–18; oncosfera subesférica, 10–13 × 7–13, ganchos embrionários 6–7 de comprimento.

Resenha taxonômica.

Hospedeiro tipo: *Hemisorubim platyrhynchos* (Valenciennes) (Siluriformes: Pimelodidae).

Localidade tipo: alto Rio Paraná, próximo a Porto Rico (Estado do Paraná, Brasil; 22°43’S, 53°10’W).

Outras localidades: Rio Paraguai, próximo a San Antonio (Departamento Central, Paraguai; 25°25’S, 57°34’O); Rio Amazonas, Iquitos (Região de Loreto, Peru; 3°47’S, 73°20’O).

Sítio de infecção: intestino (porção anterior).

Prevalência: 37% (29/79) e 8% (1/12) em *H. platyrhynchos* dos Rios Paraná e Amazonas, respectivamente (PAVANELLI; SANTOS, 1991; DE CHAMBRIER et al., 2015b).

Material estudado: (i) *Goezeella paranaensis* em *Hemisorubim platyrhynchos*: holótipo (espécime incompleto, CHIOC 32490), 4 parátipos (2 espécimes inteiros e 2 lâminas com cortes seriados, CHIOC 32491a, b, 32492a, b); (ii) *Goezeella paranaensis* em *H. platyrhynchos*: vouchers (6 espécimes inteiros e 2 lâminas com cortes seriados), Rio Paraguai San Antonio, coletado por C. Vaucher, S. Fisch-Muller and A. de Chambrier em 28/10/1989 and 27/11/1993 (MHNG-PLAT-19514, 19519, códigos de campo PY 6922/1, PY 8467); (iii) *Chambriella paranaensis* em *H. platyrhynchos*: vouchers (3 fragmentos imaturos e pré-grávidos), Rio Amazonas, Iquitos, Loreto, Peru) coletado por T. Scholz em 22/04/2004 (MHNG-PLAT-36430, 36431, códigos de campo PI 95a, PI 95c).

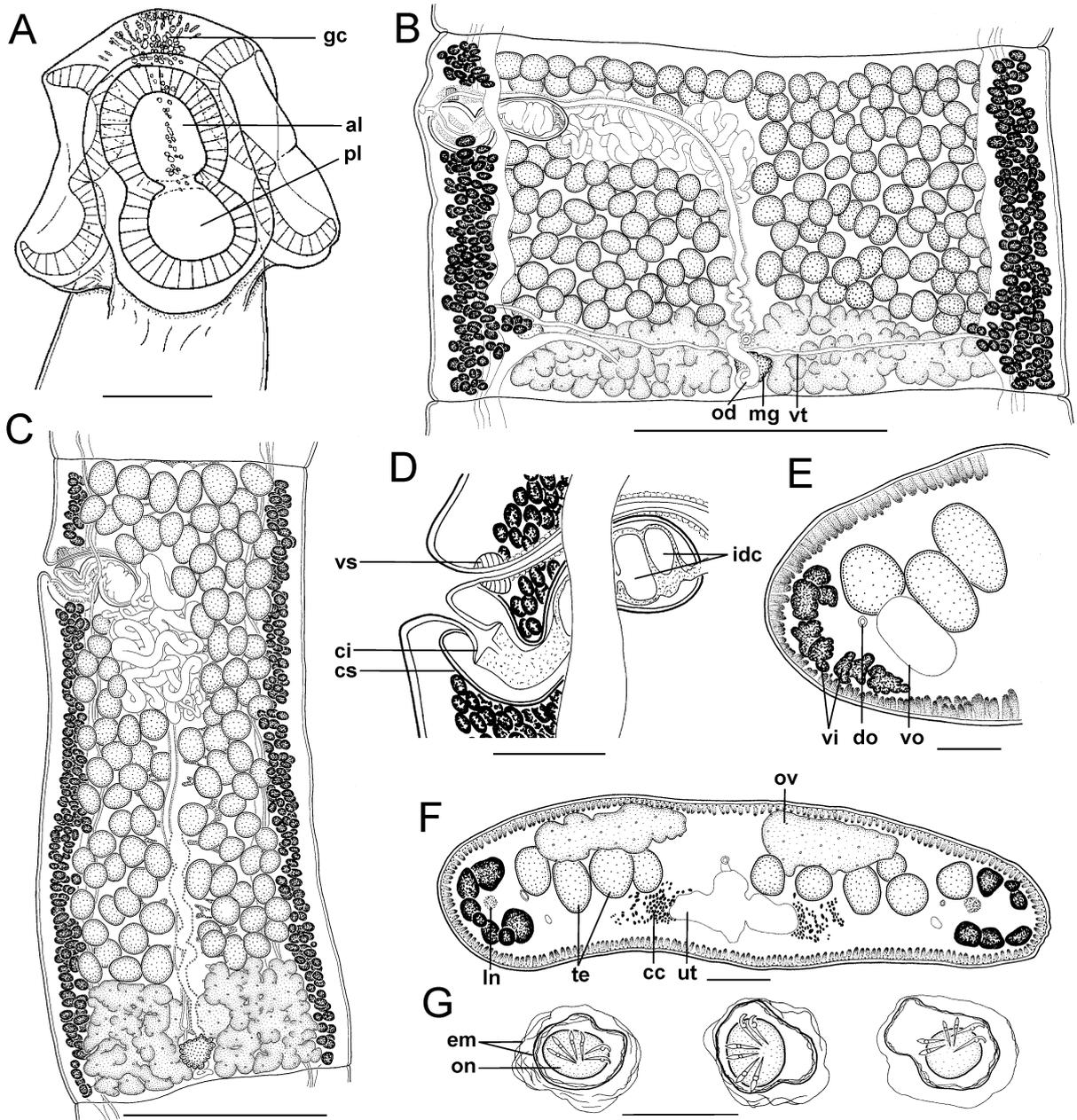


Figura 5. Morfologia de *Riggenbachiella paranaense* (Pavanelli & Rego, 1989) ex *Hemisorubim platyrhynchos*. A, Escólex, vista dorsoventral (MHNG-PLAT-19514); B, Proglótide madura, vista ventral (MHNG-PLAT-19514); C, Proglótide pré-grávida, vista dorsal (MHNG-PLAT-19519); D, Genitália terminal, vista ventral (holótipo, CHIOC 32490); E, Secção transversal, detalhe da região ao nível posterior da proglótide (MHNG-PLAT-19514); F, Secção transversal ao nível do ovário (parátipo, CHIOC 32492a); G, Ovos visualizados em espécimes montados em lâmina (MHNH-PLAT-19514). Barra de escala: A, 200 μ m; B, C, 500 μ m; D, F, 100 μ m; E, 50 μ m; G, 20 μ m.

Comentários: Esta espécie foi descrita por Pavanelli e Rego (1989) como *Goezeella paranaensis* com base em espécimes parcialmente decompostos, como evidenciado pelas ilustrações originais e pelo exame do material tipo [ver Figs. 6–11 em Pavanelli e Rego (1989)]. No entanto, as características mais importantes do gênero, i.e., a presença de uma bolsa do cirro sigmóide com três regiões marcadamente diferentes, incluindo uma vesícula seminal interna dividida em câmaras e ventosas biloculadas, puderam ser observadas no holótipo, bem como em dois parátipos estudados (Fig. 5D).

Riggenbachiella paranaense difere de *R. amazonense* nas seguintes características morfológicas: (i) composição e extensão das fileiras laterais de folículos vitelínicos, que são estreitas e compostas por um menor número de folículos em *R. amazonense* (comparar Fig. 4B e Fig. 5B), quase sempre ausente na área pré-poral (excepcionalmente, 2-4 folículos anteriores a bolsa do cirro podem ser observadas em *R. amazonense* vs fileiras de folículos amplas, sempre presentes na região pré-poral em *R. paranaense*; comparar Fig. 4B, C e Fig. 5B, C); (ii) posição mútua dos canais osmorregulatórios, com os dois pares de canais no mesmo nível em *R. amazonense* vs par dorsal, lateral aos par ventral, em *R. paranaense* (comparar Fig. 4G–I e Fig. 5E, F); (iii) extensão do campo testicular, quase alcançando a margem lateral das proglótides, tanto na região poral quanto antiporal em *R. amazonense* vs testículos que alcançam, no máximo, a área ao nível dos canais osmorregulatórios dorsais em *R. paranaense* (comparar Fig. 4B, C e Fig. 5B, C); e (iv) musculatura pouco desenvolvida nas margens das ventosas em *R. amazonense*, com o lóculo posterior maior que o anterior vs ventosas com musculatura marginal proeminente, septo interocular conspícuo e lóculos de dimensões similares em *R. paranaense* (compare as Fig. 2E, 4A e Fig. 2I, 5A).

Apesar de sucessivas tentativas de se encontrar novos espécimes de *R. paranaense* na localidade tipo (Rio Paraná, Porto Rico, Estado do Paraná), nenhum indivíduo foi encontrado. Portanto, não existem dados moleculares disponíveis para esta espécie. Brooks (1995) transferiu *G. paranaensis* para *Spatulifer* Woodland, 1934 como *S. paranensis* [sic!] com base em uma análise cladística, mas essa nova combinação não foi aceita pelos autores subsequentes.

3.3.6 Relações filogenéticas de *Chambriella megacephala* e *Riggenbachiella amazonense*

As sequências do gene 28S rDNA foram obtidas com sucesso de 14 isolados de proteocefalídeos com ventosas biloculadas: 1 em *Z. jahu*, 1 em *Z. zungaro* e 7 em *S. planiceps* que morfológicamente correspondem a *C. megacephala* (9 réplicas idênticas); 2 em *P. hemioliopterus* e 3 em *S. planiceps* que correspondem a *R. amazonense* (5 réplicas idênticas). O alinhamento cortado de todas as 57 sequências (ver Tabela 1) foi de 957 pb e incluiu 120 caracteres parcimoniosos-informativos.

Os filogramas resultantes das análises de MV e IB foram congruentes em topologia quanto às relações filogenéticas de *C. megacephala* e *R. amazonense* (ver a árvore de IB, Fig. 1), embora com menor suporte nodal na análise de MV. Todas as réplicas de *C. megacephala* agruparam-se dentro de um clado, possuindo como grupo-irmão, *Megathylacus jandia* Woodland, 1934 ex *Z. zungaro* (IB = 1; MV = 97), enquanto todas as réplicas de *R. amazonense* formaram uma linhagem intimamente relacionada com *Nomimoscolex lenha* (Woodland, 1933) ex *S. planiceps* (IB = 1; MV = 73). Apesar de serem claras as afinidades filogenéticas de *C. megacephala* e *R. amazonense* com *M. jandia* e *N. lenha*, respectivamente, suas relações de parentesco com os demais membros de proteocefalídeos neotropicais permanecem incertas.

3.4. DISCUSSÃO

No presente capítulo, um novo gênero foi proposto para acomodar duas espécies de proteocefalídeos em pimelodídeos neotropicais, uma previamente conhecida e uma nova para ciência, assim como uma revisão do gênero monotípico *Chambriella*. A existência de espécies desconhecidas de cestoides parasitos em peixes na América do Sul não é um fato surpreendente, porque a real diversidade desses parasitos ainda é pouco conhecida na região, (DE CHAMBRIER et al., 2017) e o ritmo de descrição de novos táxons na região Neotropical continua elevado. Nos últimos 20 anos, 15 gêneros foram propostos e 40 novas espécies descritas nos neotrópicos (ver CAIRA et al., 2012; ARREDONDO et al., 2014; DE CHAMBRIER et al., 2017).

É importante salientar que *Riggenbachiella* foi proposto devido a observação dos espécimes tipo das duas espécies de *Chambriella*, revelando assim o erro na diagnose genérica. Esta revisão taxonômica, que foi complementada por um estudo molecular de um conjunto representativo de espécimes (ver Tabela 1), documenta a importância do depósito do material tipo e sua acessibilidade. O estudo de espécimes depositados em coleções tem sido crucial em numerosas revisões de proteocefalídeos descritos por W. N. F. Woodland no início da década de 1930, provenientes do Rio Amazonas, Brasil (e.g., REGO, 1984a, 1992; de CHAMBRIER; VAUCHER, 1997; DE CHAMBRIER et al., 2014). Igualmente, é necessária a preservação de espécimes representativos das análises moleculares [hologenóforos, ver Pleijel et al. (2008)] para confirmar a identificação das amostras sequenciadas.

Membros de ambos os gêneros aqui tratados compartilham um escólex semelhante, com ventosas biloculadas, mas essa semelhança morfológica não parece refletir a história evolutiva do grupo, e sim o resultado de uma evolução convergente. Estudos recentes sobre cestoides proteocefalídeos (SCHOLZ et al., 2013), cariofilídeos (OROS et al., 2016), bothriocefalídeos (BRABEC et al., 2015) e lecanicefalídeos (JENSEN et al., 2016) indicam que traços morfológicos do escólex são, provalmente, homoplásticos, ao contrário das estruturas relacionadas ao sistema genital, como a morfologia da bolsa do cirro. Independentemente, estudos adicionais que utilizam uma abordagem integrativa são necessários para avaliar a importância de cada característica individualmente. A posição relativa da vagina em relação a bolsa do cirro, por exemplo, tem sido amplamente utilizada para diferenciar espécies de proteocefalídeos (DE CHAMBRIER; VAUCHER, 1999; REGO et al., 1999; ARREDONDO; GIL DE PERTIERRA, 2010; GIL DE PERTIERRA; DE CHAMBRIER, 2013), porém uma comparação entre os resultados de Chambrier e Scholz (2008) com aqueles obtidos no presente estudo revelou que indivíduos coespecíficos (para as espécies *C. megacephala* e *R. amazonense*) apresentam a vagina com três padrões de distribuição possíveis em relação a bolsa do cirro: (i) vagina anterior, (ii) vagina posterior, (iii) vagina anterior ou posterior.

Um dos resultados mais importantes deste estudo, que pode ter consequências para trabalhos sobre a especificidade parasitária, é o fato de que duas das três espécies estudadas apresentam uma especificidade relativamente ampla, sendo encontradas em hospedeiros de três gêneros de pimelodídeos (*C. megacephala* ocorre em ambas as espécies de *Zungaro*, *S. planiceps* e *P. fasciatum*, enquanto *R. amazonense* ocorre em *Z. zungaro*, *S. planiceps* e *P. hemioliopterus*). Anteriormente, proteocefalídeos neotropicais eram, em geral, categorizados como oioxenos, ou seja, encontrados em apenas uma espécie de hospedeiro. de Chambrier e Vaucher (1999) observaram uma estrita especificidade parasitária em todas, exceto uma, das 53 espécies encontradas em um estudo de proteocefalídeos de peixes dulcícolas no Paraguai. De fato, apenas alguns proteocefalídeos parasitos de peixes da região Neotropical ocorrem em mais de um gênero de hospedeiro (GIL DE PERTIERRA, 2004; ARREDONDO; GIL DE PERTIERRA, 2008). O presente estudo demonstra, assim, a necessidade de uma avaliação

cuidadosa da variabilidade morfológica intraespecífica, antes de se considerar diferenças tênues entre espécimes, coletados em diferentes espécies de hospedeiros, como justificáveis para a proposição de um novo táxon.

A existência de certo grau de variabilidade morfológica intraespecífica em proteocefalídeos neotropicais pode dificultar a circunscrição de espécies putativas no futuro, especialmente quando dados moleculares não estão disponíveis aos pesquisadores. Outro obstáculo que limita a compreensão das interrelações de cestoides proteocefalídeos e impede a proposta de sua classificação mais natural, é a má qualidade de muitos espécimes depositados em coleções helmintológicas e museus. Portanto, o processamento adequado dos exemplares tipo é de fundamental importância para permitir uma avaliação mais criteriosa, utilizando múltiplas abordagens taxonômicas.

CAPÍTULO III

**REVISÃO DE *Goezeella* FURHMANN, 1916 (CESTODA: PROTEOCEPHALIDAE),
PARASITOS DE PEIXES SILURIFORMES DOS RIOS AMAZONAS, MAGDALENA
E ORINOCO, INCLUINDO A DESCRIÇÃO DE UMA ESPÉCIE NOVA EM
Pimelodella CRISTATA (HEPTAPTERIDAE).³**

³Artigo publicado: ALVES, P. V.; DE CHAMBRIER, A.; LUQUE, J. L.; SCHOLZ, T. Reappraisal of *Goezeella* Fuhrmann, 1916 (Cestoda: Proteocephalidae), parasites of Neotropical catfishes (Siluriformes), with description of a new species from *Pimelodella cristata* (Heptapteridae). **Revue suisse de Zoologie**, v. 124, p. 335–350, 2017, doi: 10.5281/zenodo.893547 (ANEXO V)

RESUMO

O gênero *Goezeella* Fuhrmann, 1916 (Cestoda) foi revisado com base na avaliação taxonômica do material tipo e de espécimes recém coletados em peixes pimelodídeos e heptapterídeos (Siluriformes) da bacia do rio Amazonas, América do Sul, e seu diagnóstico genérico foi emendado. O gênero é tipificado pela posição exclusivamente ventral dos folículos vitelínicos corticais, musculatura longitudinal interna formada por fibras musculares individuais densas ao invés de feixes musculares, metascolex bem desenvolvido e ventosas biloculadas. A espécie tipo, *G. siluri* Fuhrmann, 1916, foi redescrita com base no exame dos sítipos coletados em *Cetopsis coecutiens* (hospedeiro tipo) (Cetopsidae) e espécimes adicionais em *Pinirampus pirinampu* (Pimelodidae). A validade de *G. danbrooksi* de Chambrier, Rego & Mariaux, 2004 em *Ageneiosus pardalis* (Auchenipteridae) foi confirmada e alguns traços morfológicos de descrição dúbia foram observados no holótipo. Uma nova espécie, *Goezeella mariae*, foi descrita a partir do bagre heptapterídeo *Pimelodella cristata* (Heptapteridae). O novo táxon difere de seus congêneres pelo tamanho corporal (muito menor, comparado a *G. siluri*), morfologia do escólex (metaescólex fortemente enrugado, com septo interlocular pouco desenvolvido) e número de testículos. Este é o terceiro cestode proteocefalídeo descrito em um bagre heptapterídeo na América do Sul e o primeiro helminto parasito encontrado em *P. cristata*. *Goezeella* é incomum dentre os demais proteocefalídeos neotropicais por parasitar bagres de 4 famílias. As espécies do gênero são conhecidas apenas nas bacias dos rios Amazonas, Magdalena e Orinoco. Dados moleculares de duas das três espécies válidas e uma chave de identificação são fornecidas.

Palavras-chave: morfologia, taxonomia, filogenia molecular, cestoides, proteocefalídeos, associação parasito-hospedeiro, Região Neotropical, América do Sul.

ABSTRACT

The genus *Goezeella* Fuhrmann, 1916 (Cestoda) was reviewed on the basis of taxonomic evaluation of type and newly collected material from pimelodid and heptapterid catfishes (Siluriformes) in the Amazon River basin, South America, and its generic diagnosis was amended. The genus is typified by the exclusively ventral position of the cortical vitelline follicles, the inner longitudinal musculature formed by dense individual muscle fibres, rather than forming bundles as in other proteocephalids, a well-developed metascolex and biloculate suckers. The type species, *G. siluri* Fuhrmann, 1916, was redescribed based on its syntype from *Cetopsis coecutiens* (type-host) (Cetopsidae) and specimens from *Pinirampus pirinampu* (Pimelodidae). The validity of *G. danbrooksi* de Chambrier, Rego & Mariaux, 2004 from *Ageneiosus pardalis* (Auchenipteridae) was confirmed and some erroneous morphological traits are corrected based on examination of its holotype. A new species, *Goezeella mariae*, was described from the heptapterid catfish *Pimelodella cristata* (Heptapteridae). The new species differs from congeners by its overall size (much smaller compared to *G. siluri*), morphology of the scolex (strongly wrinkled metascolex and weakly developed interocular septum of suckers) and number of the testes. This is the third proteocephalid cestode described from a heptapterid catfish in South America and the first helminth parasite reported from *P. cristata*. *Goezeella* is unusual among other Neotropical proteocephalids by its occurrence in catfishes of as many as four families. All species of the genus are known only from the Amazon, Magdalena and Orinoco River basins. Molecular data on two of the three valid species and a key to their identification are provided.

Key-words: morphology, taxonomy, molecular phylogeny, tapeworms, proteocephalids, host-parasite associations, Neotropical Region, South America.

4.1 INTRODUÇÃO

Cestoides proteocefalídeos (Eucestoda: Onchoproteocephalidea) parasitam uma vasta diversidade de peixes Siluriformes (bagres) da região Neotropical (ver ALVES et al., 2017a; SCHOLZ; KUCHTA, 2017). Um total de 87 espécies em 36 gêneros desse grupo foram reportados em bagres provenientes da América do Sul (ALVES et al., 2017a; DE CHAMBRIER et al., 2017) e mesmo com estes números consideráveis, novas espécies têm sido descritas e novos gêneros propostos (e.g., ALVES et al., 2015, 2017b; ARREDONDO et al., 2017). Da mesma forma, a avaliação de espécimes tipo e recém coletados tem sido importante para elucidação do status taxonômico de gêneros até então insuficientemente conhecidos, tais como, *Brayela* Rego, 1984, *Megathylacus* Woodland, 1934 and *Chambriella* Rego, Chubb & Pavanelli, 1999 (DE CHAMBRIER et al., 2014; ALVES et al., 2017b).

Goezeella Fuhrmann, 1916 foi proposto para acomodar *Goezeella siluri* Fuhrmann, 1916 em *Cetopsis coecutiens* (Lichtenstein) (Siluriformes: Cetopsidae) da bacia do Rio Amazonas (FUHRMANN, 1916). Este autor distinguiu *Goezeella* em relação à *Monticellia*, que também possui testículos, ovário, folículos vitelínicos e útero corticais, pela presença de um metaescólex desenvolvido, formado por uma expansão da zona proliferativa e parte posterior do escólex (FUHRMANN, 1916).

Woodland (1933a) identificou cestoides coletados em *Brachyplatystoma vaillantii* (Valenciennes) (Pimelodidae) da Amazônia brasileira como *G. siluri*, apesar dos ovos destes espécimes apresentarem projeções polares, enquanto *G. siluri sensu* Fuhrmann (1916) possui ovos sem tais projeções. Provavelmente, Woodland (1933a) estudou hospedeiros coinfectados por *G. siluri* e *Amphoteromorphus praeputialis* Rego, Santos & Silva, 1974 [atualmente *Brooksiella praeputialis* (Rego, Santos & Silva, 1974)]. Para aqueles espécimes em *B. vaillantii* desprovidos de projeções polares, este autor propôs *Goezeella piramutab* Woodland, 1933 que, posteriormente, foi sinonimizado com *G. siluri* por de Chambrier et al. (2004b).

Brooks e Deardorff (1980) reportaram *G. siluri* em *Ageneiosus caucanus* Steindachner (= sin. de *A. pardalis* Lütken) na Colômbia, mas estes espécimes diferem de *G. siluri* em vários caracteres morfológicos, tais como, arranjo dos folículos vitelínicos, número de testículos e posição relativa do esfíncter vaginal (DE CHAMBRIER et al., 2004b). Assim, de Chambrier et al. (2004b) propuseram um novo nome, *G. danbrooksi* de Chambrier, Rego & Mariaux, 2004, para acomodar proteocefalídeos de *A. pardalis*, adicionando, desta forma, a segunda espécie conhecida do gênero.

Como parte de estudos sobre a diversidade, associação parasito-hospedeiro, e interrelações de cestoides proteocefalídeos da região Neotropical (e.g., DE CHAMBRIER; VAUCHER, 1999; ALVES et al., 2015; DE CHAMBRIER et al., 2015b), material recém coletado de *Goezeella* spp. em *Pinirampus pirinampu* (Spix & Agassiz) (Pimelodidae) e *Pimelodella cristata* (Müller & Troschel) (Heptapteridae) foi observado. O estudo deste material, suplementado pelo exame do material tipo de *G. siluri* e *G. danbrooksi*, possibilitou a revisão do gênero (incluindo a emenda do mesmo), a redescrição da espécie tipo e a descrição de uma espécie nova em *P. cristata*. Além disso, uma chave de identificação para as três espécies de *Goezeella* é fornecida.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Procedência dos hospedeiros e coleta dos parasitos

Os peixes foram coletados por pescadores artesanais em três localidades do Rio Amazonas: alto Amazonas, próximo a Iquitos (Região de Loreto, Peru; 3°47'S, 73°20'O), médio Amazonas, próximo a Itacoatiara (Estado do Amazonas, Brasil; 3°09'S, 58°26'O) e baixo Amazonas, próximo a Macapá (Estado do Amapá, Brasil; 00°01'N, 50°59'O). As coletas foram realizadas em diferentes expedições nos anos de 1992, 1995 e 2011 pelos Dr. Alain de Chambrier e Dr. Amilcar Rego, Dr. Tomáš Scholz e Dr. Roman Kutcha. O material proveniente do baixo Amazonas foi coletado durante as expedições para o presente estudo em 2013. Os parasitos coletados *in situ* foram fixados e armazenados conforme a metodologia descrita no Cap. I.

4.2.2. Análises morfológicas e moleculares

A revisão de *Goezeella* teve como base o exame do material tipo de ambas espécies do gênero, i.e., *G. siluri* e *G. danbrooksi*, depositadas no MHNG-PLAT e USNM, respectivamente, além do material recém coletado em três localidades do Rio Amazonas no Brasil e Peru. Os espécimes foram processados para os estudos morfológicos conforme o procedimento descrito no capítulo I. A descrição das microtríquias segue Chervy (2009); todas as medidas foram fornecidas em micrômetros (μm), salvo quando indicado. Espécimes estudados no presente trabalho foram depositados nas seguintes coleções parasitológicas: CHIOC, IPCAS e MHNG-PLAT.

O DNA genômico de 1 exemplar de *G. siluri* ex *Pinirampus pirinampu* e 1 exemplar da espécie nova ex *Pimelodella cristata* (códigos de campo PI 819a e BR AMP 106b, respectivamente) foi isolado utilizando o kit de extração DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN™, Hilden, Germany), de acordo com as instruções do fabricante. A amplificação, o sequenciamento do gene 28S rDNA e a formação dos contíguos foram realizados conforme o Cap. I. As sequências geradas *de novo* foram alinhadas com aquelas do Cap. II (ver Tabela 1 daquele capítulo), com adição de *Synbranchiella mabelae* Arredondo, Alves & Gil de Pertierra, 2017, através do algoritmo E-INS-i no programa MAFFT (KATO et al., 2002). Lacunas nas extremidades das sequências devido a dados não amplificados ou por variação natural do comprimento, foram substituídas por “N”. As reconstruções filogenéticas foram produzidas utilizando os mesmos critérios de MV e IB do Cap. I.

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Emenda do gênero *Goezeella* Fuhrmann, 1916

Diagnose: Onchoproteocephalidea, Proteocephalidae. Cestoides de tamanho variável. Estróbilo acraspedotado, com sulcos longitudinais e transversais; proglótides variáveis em tamanho e forma. Testículos, ovário, folículos vitelínicos e útero corticais. Escólex cônico, com ápice arredondado ou quadrangular, sem órgão apical, mais largo que a zona proliferativa; metascolex bem desenvolvido, enrugado, formado pela expansão da zona proliferativa. Ventosas robustas, biloculadas; lóculos variáveis em forma e tamanho, septo interocular conspícuo ou não. Musculatura longitudinal interna bem desenvolvida, formada por numerosas fibras individuais, sem formar feixes; fibras mais abundantes lateralmente. Testículos em 1 campo irregular, em 1 ou 2 camadas sobrepondo-se dorsalmente a bolsa do cirro e aos folículos vitelínicos. Bolsa do cirro alongada ou piriforme, ducto espermático interno de paredes grossas, altamente contorcido na metade proximal da bolsa do cirro. Poros genitais marcadamente pré-equatoriais, irregularmente alternados. Átrio genital presente, profundo. Ovário com istmo medular e 2 lóbulos foliculares (formato de cacho de uva) penetrando a musculatura longitudinal interna ao córtex dorsal; lobos com protuberâncias dorsais. Vagina anterior a bolsa do cirro, esfíncter vaginal presente. Folículos vitelínicos apenas no lado ventral ou ventrolateral do córtex, dispostos em duas fileiras ininterruptas, expandidas ao nível do ovário. Desenvolvimento uterino do tipo 2 *sensu* de Chambrier et al. (2004a, 2015a). Parasitos de bagres (Siluriformes) da região Neotropical.

Espécie tipo: *Goezeella siluri* Fuhrmann, 1916

Espécies adicionais: *Goezeella danbrooksi* de Chambrier, Rego & Mariaux, 2004; *Goezeella mariae* Alves et al., 2017.

Comentários: a validade de *Goezeella* tem sido questionada desde o seu estabelecimento, principalmente devido a diferentes pressupostos sobre a utilidade taxonômica de dois traços morfológicos, isto é, a presença ou ausência de metaescólex e a distribuição dos órgãos internos em relação a musculatura longitudinal interna. Woodland (1925) sinonimizou *Goezeella* com *Monticellia* por ambos possuírem órgãos internos localizados em posição cortical, enquanto Harwood (1933) sinonimizou-o com *Corallobothrium* Fritsch, 1886 pois ambos possuem metaescólex (ver SCHOLZ et al., 2011 para dados sobre *Corallobothrium*). Com base em uma análise cladística, inferida a partir de caracteres morfológicos, Brooks (1995) sinonimizou *Choanoscolex* La Rue, 1911, *Goezeella*, *Jauella* Rego & Pavanelli, 1985 e *Peltdocotyle* Diesing, 1850 com *Spatulifer* Woodland, 1934, questionando também a validade de *Peltdocotyle* que deveria ter prioridade segundo as normas da ICZN (1999), devido à suposta semelhança no desenvolvimento do metaescólex compartilhado por esses gêneros (ver BROOKS; RASMUSSEN, 1984). No entanto, essas modificações propostas por Brooks (1995) nunca foram aceitas pela maioria dos autores, incluindo Rego et al. (1999), de Chambrier e Vaucher (1999) e de Chambrier et al. (2004b), que reconheceram a validade de *Goezeella*. Embora a classificação sistemática proposta por W.N.F Woodland seja artificial (DE CHAMBRIER et al., 2017), por razões práticas, *Goezeella* foi comparado com outros 11 gêneros classificados em Monticelliinae (Tabela 1) e caracterizados pela posição cortical dos testículos, ovário, folículos vitelínicos e útero (REGO, 1994).

Goezeella pode ser diferenciado de todos os gêneros proteocefalídeos pela presença de folículos vitelínicos apenas no córtex ventral, ou seja, completamente ausente na região dorsal, com bandas laterais expandidas ao nível do ovário e por possuir uma musculatura longitudinal interna formada por fibras musculares individuais ao invés de feixes musculares compactos.

Tabela 1. Caracteres morfológicos dos gêneros de Monticelliinae (Eucestoda: Proteocephalidae), parasitos de peixes dulcícolas da região Neotropical.

Gênero (número de espécies)	Escólex (forma)/ metaescólex	Ventosa (forma)/ número de lóculos	Musculatura (arranjo)/ Desenvolvimento	Bolsa do cirro (forma)	Vagina em relação a bolsa do cirro	Arranjo ovariano	Arranjo folículos vitelínicos	Referência
<i>Ageneiella</i> de Chambrier & Vaucher, 1999 (1 sp.)	globoso/ausente	alongada/ bilocolada	feixes musculares/bem desenvolvida	alongada	apenas anterior	istmo medular; folículos dorsais	2 fileiras laterais	de Chambrier e Vaucher (1999)
<i>Chambriella</i> Rego, Chubb & Pavanelli, 1999 (1 sp.)	cônico/ausente	larga/ bilocolada	feixes musculares/ pouco desenvolvida	suboval	anterior ou posterior	apenas cortical	2 fileiras laterais	Alves et al. (2017b)
<i>Choanoscolex</i> La Rue, 1911 (1 sp.)	cônico/presente (pouco desenvolvido)	larga, alongada/ uniloculada	feixes musculares/ pouco desenvolvida	piriforme	anterior or posterior	apenas cortical	2 fileiras laterais	de Chambrier e Vaucher (1999); Rego et al. (1999)
<i>Goezeella</i> Fuhrmann, 1916 (3 spp.)	cônico/presente (bem desenvolvido)	robusta, alongada/ bilocolada	feixes individuais/ bem desenvolvida	alongada ou piriforme	apenas anterior	istmo medular; folículos dorsais	2 fileiras ventrais	presente estudo
<i>Manasia</i> Woodland, 1935 (1 sp.)	globoso/ausente	músculos em forma de ferradura/ uniloculada	feixes musculares /bem desenvolvida	piriforme	apenas anterior	istmo medular; folículos dorsais	2 fileiras laterais	de Chambrier (2003)
<i>Monticellia</i> La Rue, 1911 (8 spp.)	globoso/ausente	redonda/ uniloculada	feixes musculares /variável	piriforme (maioria)	variável	comumente cortical	2 fileiras laterais	Rego (1994); Arredondo e Gil de Pertierra (2010)
<i>Regoella</i> Arredondo, de Chambrier & Gil de Pertierra, 2013 (1 sp.)	quadrangular/ ausente	triângulo invertido/ uniloculada	feixes musculares /pouco desenvolvida	piriforme	comumente posterior	apenas cortical	2 fileiras laterais	Arredondo et al. (2013)
<i>Riggenbachiella</i> Alves et al., 2017 (2 spp.)	quadrilobado/ ausente	larga/ bilocolada	feixes musculares /pouco desenvolvida	sigmóide, com câmaras	anterior, raramente posterior	apenas cortical	2 fileiras laterais	Alves et al. (2017b)
<i>Spasskyellina</i> Freze, 1965 (3 spp.)	globoso/ausente	redonda, com espinitríquias gladiadas /uniloculada	feixes musculares /pouco desenvolvida	claviforme	apenas posterior	apenas cortical	2 fileiras laterais ou ligeiramente ventrais	Pavanelli e Takemoto (1996); de Chambrier et al. (2015b)
<i>Spatulifer</i> Woodland, 1934 (3 spp.)	usualmente cônico/presente (bem desenvolvido)	oval/ uniloculada	feixes musculares /variável	alongada	apenas anterior ou posterior	apenas cortical	2 fileiras laterais ou ventrais	Woodland (1933b, 1935); Arredondo e Gil de Pertierra (2008)
<i>Synbranchiella</i> Arredondo, Alves & Gil de Pertierra, 2017 (1 sp.)	subesférico a quadrangular/ ausente	robusta, alongada/ bilocolada	feixes musculares /pouco desenvolvida	alongada ou piriforme	apenas anterior	apenas cortical	2 fileiras laterais	Arredondo et al. (2017)

4.3.2 Redescrição de *Goezeella siluri* Furhmann, 1916

Sin. *Monticellia siluri* Woodland, 1925; *Corallobothrium siluri* Harwood, 1933; *Goezeella piramutab* Woodland, 1933; *Monticellia piramutab* Woodland, 1935; *Spatulifer piramutab* Brooks & Deardorff, 1980; *Spatulifer siluri* Brooks, 1995

Descrição (Figuras 3, 4, 10–19) baseada em 6 espécimes adultos, 1 escólex (MEV); medidas do holótipo entre colchetes.

Onchoproteocephalidea, Proteocephalidae. Testículos, folículos vitelínicos, ovário e útero corticais. Comprimento total do corpo 90–230 mm (n = 3), largura máxima 3 mm (n = 3). Estróbilo acraspedotado, anapolítico, com sulcos longitudinais e transversais, consistindo em c. 335–360 proglótides: 195–200 imaturas (estágio precedido ao aparecimento de esperma no vaso deferente), 45–55 maduras (estágio precedido ao aparecimento de ovos), 50–55 pré-grávidas (estágio precedido ao aparecimento de ganchos na oncosfera); e 40–50 grávidas. Proglótides imaturas e maduras mais largas que longas (razão comprimento: largura 0,10–0,20), proglótides pré-grávidas mais largas que longas (razão comprimento: largura 0,45–0,55) e proglótides grávidas mais largas que longas ou mais longas que largas (razão comprimento: largura 0,80–1,93).

Escólex 1,18–1,60 × 1,45–1,94 mm (n = 5), mais largo que a zona proliferativa, 1,77–1,80 × 1,40–1,45 mm, com 4 ventosas robustas, biloculadas, com lóculos variáveis em forma e tamanho; lóculo anterior 210–295 (x = 255; n = 5) e posterior 205–255 (x = 217; n = 5) em diâmetro; septo interocular bem desenvolvido (Figs. 11, 15). Metaescólex presente, uniformemente enrugado. Ápice cônico, sem órgão apical, com células glandulares numerosas (Figs. 3, 4, 11, 15). Ápice do escólex e superfície das ventosas cobertos por filitríquias aciculares; superfícies entre ventosas, base do metaescólex e zona proliferativa, cobertas por filitríquias capiliformes; proglótides pré-grávidas cobertas por filitríquias aciculares (Fig. 10).

Musculatura longitudinal desenvolvida, composta por numerosas fibras individuais, concentradas lateralmente (Figs. 13, 17). Canais osmorregulatórios situados em mesmo nível, medianos aos testículos e folículos vitelínicos laterais; canal ventral mais largo que o dorsal (Figs. 16, 17).

Testículos esféricos, 55–80 em diâmetro, em 1 ou 2 camadas irregulares, 282–366 (x = 314; n = 13) [380–430] em número por proglótide madura (Figs. 12, 16, 18). Testículos em 1 campo irregular, dorsal, menos numerosos na linha média das proglótides (tronco uterino), usualmente ultrapassando os canais osmorregulatórios, sobrepondo-se a bolsa do cirro, folículos vitelínicos e ovário (Figs. 12, 13, 16, 18); também presentes em proglótides grávidas. Vaso deferente contorcido formando um campo alongado sem cruzar a linha mediana das proglótides (Figs. 12, 16, 18). Bolsa do cirro piriforme, de paredes finas, expandida em sua parte distal (terminal) (Figs. 12, 13, 16, 18), 220–340 × 95–145 (n = 13) [250–300 × 80–110]; comprimento representando 10–21% (x = 15; n = 13) [14–25%] da largura das proglótides. Ducto espermático (vaso deferente interno) sinuoso. Cirro muscular, ocupando o máximo de 82% (n = 13) [50%] do comprimento da bolsa do cirro. Poros genitais alternando irregularmente, marcadamente pré-equatoriais, situados a 3–10% (x = 6; n = 13) [5–14%] da margem anterior das proglótides (Figs 12, 16, 18).

Ovário com istmo medular e 2 lobos foliculares (forma de cacho de uva) penetrando a musculatura longitudinal ao córtex dorsal; numerosas protuberâncias presentes (Figs 13, 17). Comprimento do ovário representando 27–37% (x = 30%; n = 13) [33–45%] do comprimento das proglótides, sua largura representando 57–76% (x = 68%; n = 13) [74–86%] da largura das proglótides (Figs. 16, 17). Glândula de Mehlis c. 110–165 em diâmetro, representando 7–20% da largura das proglótides (n = 13). Tamanho relativo do ovário (ver DE CHAMBRIER et al., 2012) 11–16% (x = 13%; n = 10). Canal vaginal ligeiramente sinuoso, porção terminal

(*pars copulatrix vaginae*) cercado por células cromofílicas, com esfíncter vaginal (terminal) bem desenvolvido (Figs. 12, 16, 17). Vagina anterior a bolsa do cirro (n = 35).

Folículos vitelínicos corticais, ventrais, formando duas fileiras ininterruptas, ocupando um campo triangular, expandido e conflúente ao nível ovariano (Figs. 13, 16, 17). O comprimento das fileiras representa 77–94% (x = 86%) [94–98%] e 84–98% (x = 90%; n = 13) [91–98%] do comprimento das proglótides nas regiões poral e antiporal, respectivamente (Figs. 12, 16). Desenvolvimento uterino do tipo 2. Útero com 20–26 [17–22] divertículos laterais (Fig. 16). Ovos ovais, envelope externo 22–23 × 19–20, embrióforo com duas camadas 17–18 × 12–14 [21–22 × 14–22], oncosfera 11–12 × 9–10 [10–11 × 7–8], ganchos embrionários 6–7 de comprimento (Fig. 19); ovos em diferentes estágios de maturação presentes concomitantemente.

Resenha taxonômica.

Hospedeiro tipo: *Cetopsis coecutiens* (Lichtenstein, 1819) (Siluriformes: Cetopsidae).

Outros hospedeiros: *Cetopsis othonops* (Eigenmann) e *Brachyplatystoma vaillantii* (Valenciennes) (Siluriformes: Pimelodidae) (hospedeiro duvidoso – ver comentários abaixo); *Pirinampus pirinampu* (Spix & Agassiz) (Siluriformes: Pimelodidae).

Localidade tipo: Rio Amazonas (localidade específica desconhecida).

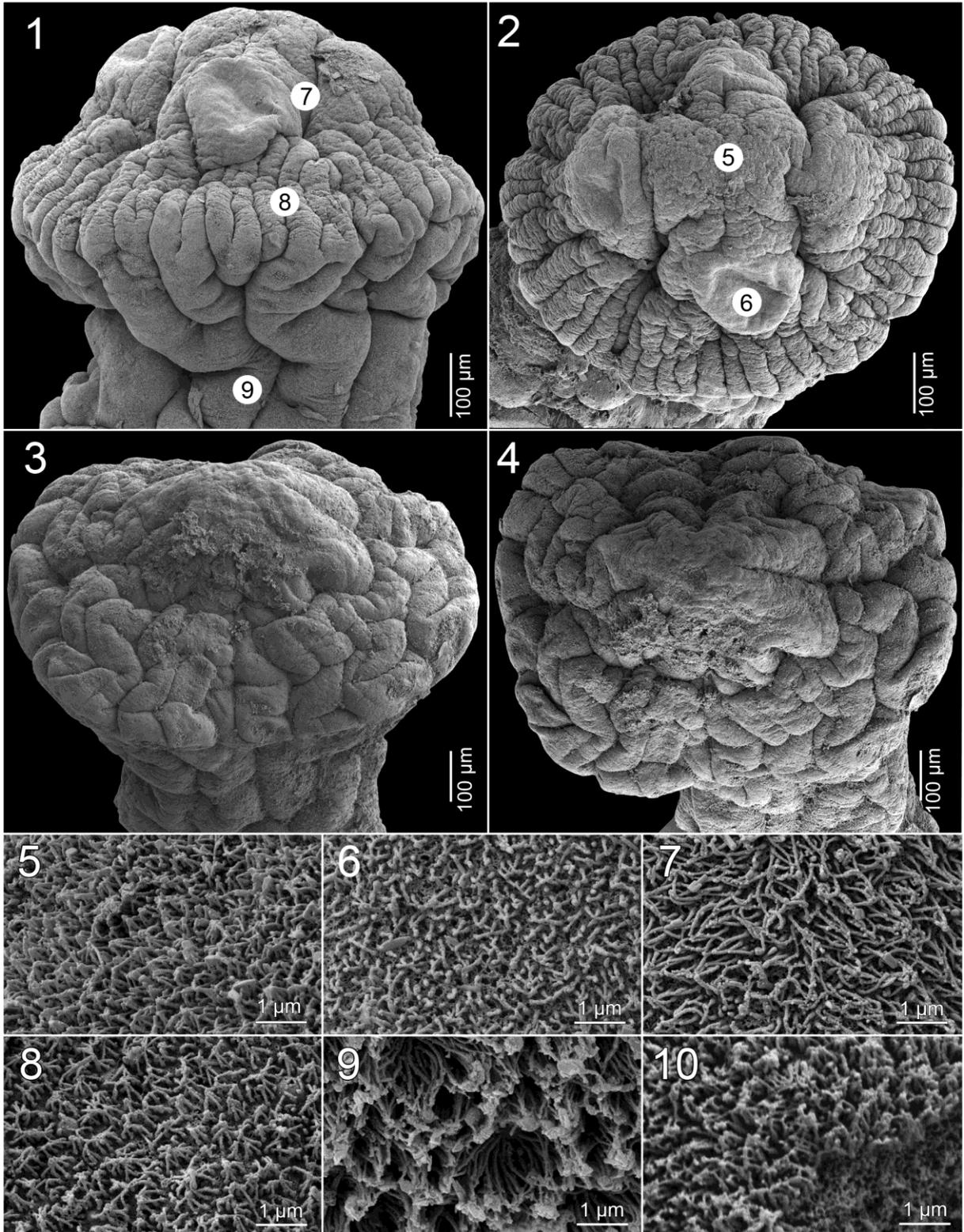
Outras localidades: Rio Amazonas, Iquitos (Região de Loreto, Peru; 3°47'S, 73°20'O); delta do Rio Orinoco, Los Castillos (ilha Tres Caños, Venezuela).

Sítio de infecção: intestino (porção anterior).

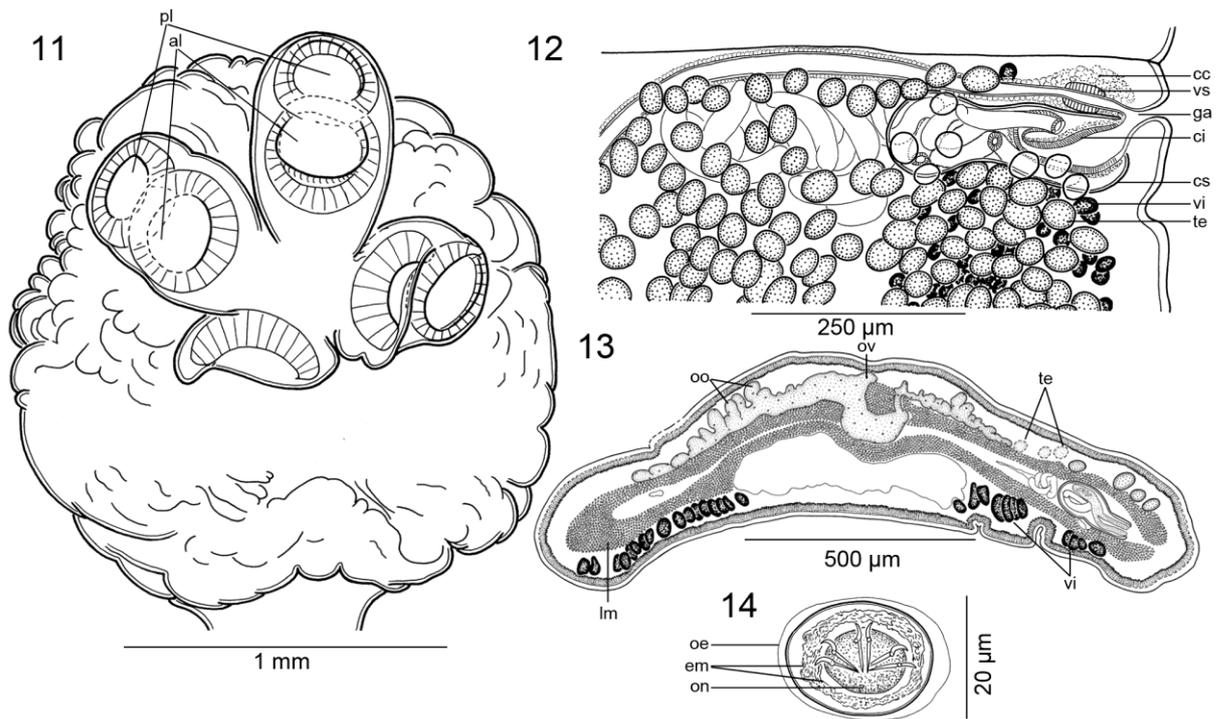
Prevalência: Fuhrmann (1916) encontrou 4 espécimes em 1 *C. coecutiens*, mas não forneceu o número total de peixes examinados; 19% (8/43) em *P. pirinampu* coletados em Itacoatiara, Brasil.

Identificação molecular: Fragmento de 1491 bp do gene 28S rDNA foi amplificado. A sequência nucleotídica está disponível no GenBank (MF370207). Esta sequência gerada *de novo* é 483 bp maior que aquela disponível no GenBank (AJ388612).

Material estudado: espécime inteiro e cortes transversais seriados (sintipo, MHNG-PLAT-36375); espécime inteiro e cortes transversais seriados, coletado em 13/04/1992, código de campo BR 237a (voucher, MHNG-PLAT-19858); 1 espécime inteiro, coletado em 30/09/1995, código de campo BR 436 (voucher, CHIOC 38858); 2 espécimes incompletos e cortes transversais seriados, coletados em 02/09/1995, código de campo BR 472 (vouchers, MHNG-PLAT-21845, 21877); espécime inteiro e cortes seriados, coletado em 19/10/1995, código de campo BR 811 (vouchers MHNG-PLAT-21879, CHIOC 38859); todos exemplares foram coletados em *P. pirinampu*, em Itacoatiara, Estado do Amazonas, Brasil (3°09'S, 58°26'O), por A. A. Rego e A. de Chambrier; hologenóforo (MHNG-PLAT-85161), coletado em 07/10/2011, código de campo PI 819a, em *P. pirinampu*, Iquitos, Região de Loreto, Peru.



Figuras 1–10. Micrografias (MEV) de *Goezeella* spp. (1, 2, 5-9) *Goezeella mariae* Alves et al., 2017 ex *Pimelodella cristata* (IPCAS C-759). 1, 2. Escólex, vistas dorsoventral e apical, respectivamente. 5–9. Microtríquias no ápice do escólex, região central das ventosas, entre ventosas, base do metaescólex e zona proliferativa, respectivamente. (3, 4, 10) *Goezeella siluri* Fuhrmann, 1916 ex *Pinirampus pirinampu* (MHNG-PLAT-21908). 3, 4. Escólex, vistas dorsoventral e apical, respectivamente. 10. Microtríquias em uma proglótide pré-grávida.



Figuras 11–14. Morfologia de *Goezeella siluri* Fuhmann, 1916 ex *Cetopsis coecutiens* (síntipo, MHNG-PLAT-36375). 11. Escólex, vista apical. 12. Genitália terminal, vista dorsal. 13. Secção transversal ao nível do ovário. 14. Ovo em água destilada.

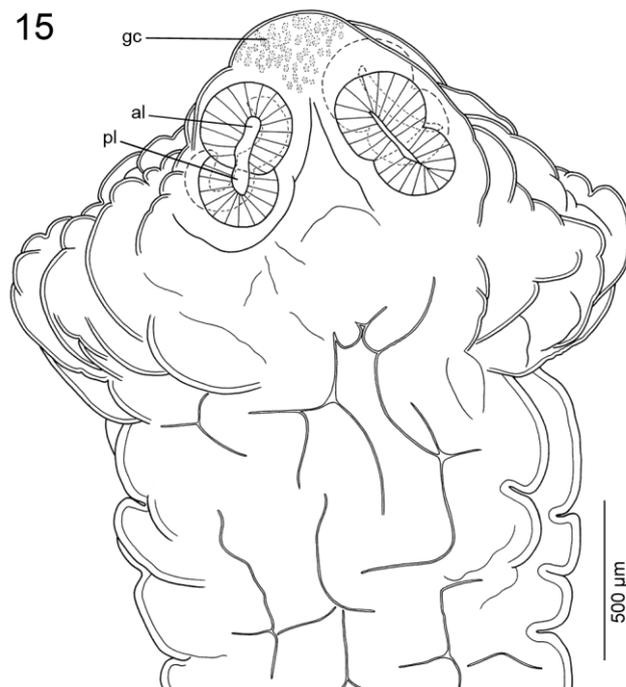
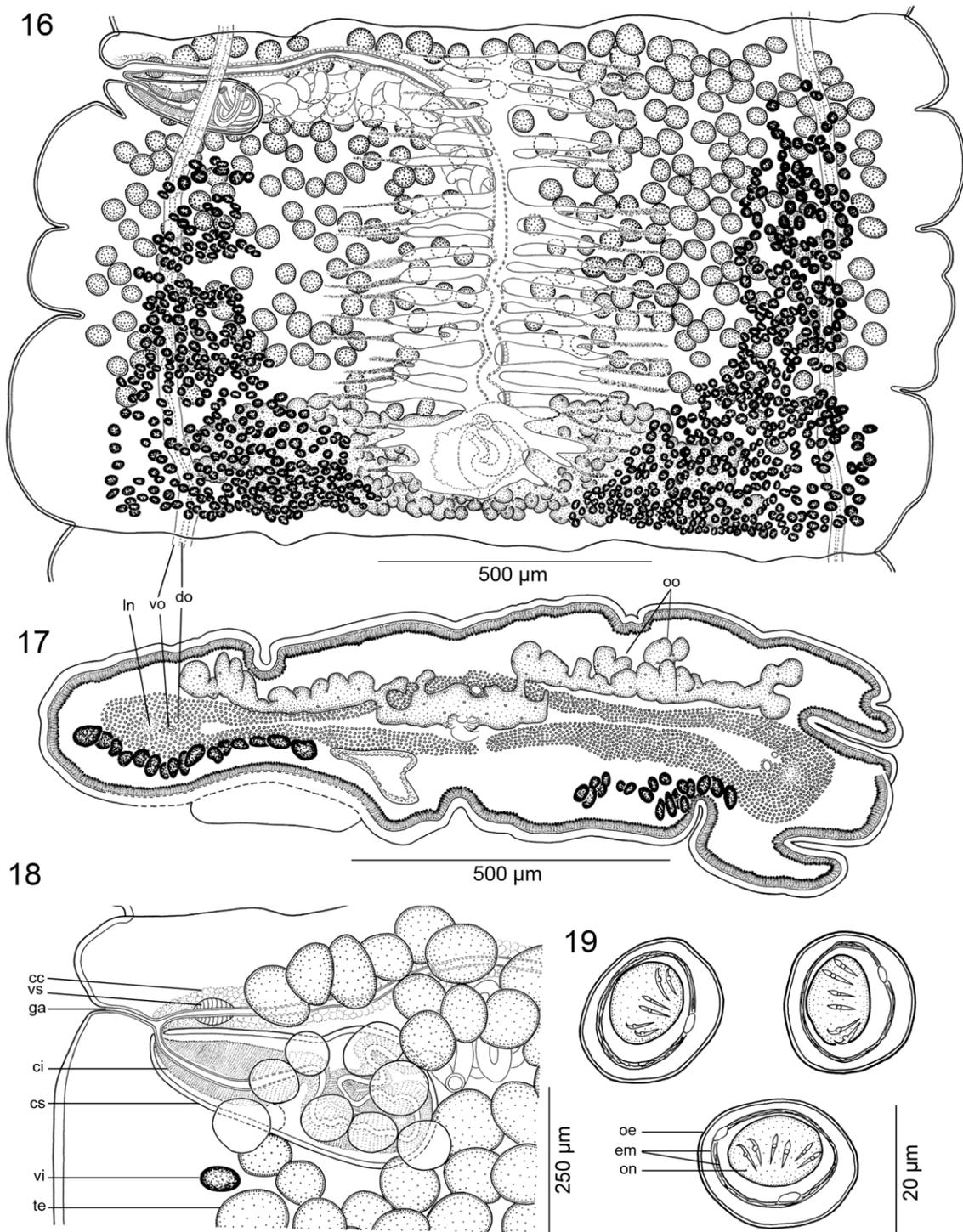


Figura 15. Morfologia do escólex de *Goezeella siluri* Fuhmann, 1916 ex *Pinirampus pirinampu*, vista dorsoventral (MHNG-PLAT-21845).



Figuras 16–19. Morfologia de *Goezeella siluri* Furhmann, 1916 ex *Pinirampus pirinampu*. 16. Proglótide pré-grávida, vista ventral (MHNG-PLAT-21877). 17. Secção transversal ao nível do ovário (MHNG-PLAT-21879). 18. Genitália terminal, vista dorsal (voucher, MHNG-PLAT-21879). 19. Ovos em água destilada (MHNG-PLAT-19858).

Comentários: a descrição original de *Goezeella siluri* contém dados morfométricos e ilustrações básicas (ver FUHRMANN, 1916). Entretanto, o único espécime completo depositado por Fuhmann (1916), está ligeiramente decomposto, contraído e contorcido sobre a lâmina. Além disso, este autor interpretou erroneamente uma característica importante da morfologia do escólex, i.e., a presença de ventosas biloculadas, ao invés de uniloculadas (comparar o mesmo escólex desenhado na descrição original Fig. 2 e Fig. 11 do presente capítulo). Este carácter foi reportado primeiramente por Rego (1975; ver a Fig. 8 daquele trabalho), não por Woodland (1933a) como afirmado por Brooks e Deardorff (1980). De fato, a real morfologia do escólex pode ser difícil de ser observada, especialmente quando as ventosas estiverem cobertas pelos sulcos do metaescólex quando contraído (Fig. 3).

Os espécimes coletados em *P. pirinampu* foram considerados coespecíficos de *G. siluri*, embora os mesmos difiram daqueles coletados em *C. coecutiens*, descritos por Fuhrmann (1916), nos seguintes caracteres: menor número de testículos (282–366 vs 380–430), maior dimensão do cirro (alcançando o máximo de 82% do comprimento da bolsa do cirro vs alcançando o máximo de 50%) e menor comprimento da fileira de folículos vitelínicos na região poral, (representando 77–94% vs 94–98% do comprimento das proglótides). Essas diferenças foram consideradas como variações intraespecíficas, já que a qualidade do material tipo de *G. siluri* (parcialmente decomposto) deve ser considerado. Assim, um novo material de *G. siluri* a partir de *C. coecutiens* (hospedeiro tipo) é necessário para confirmar os dados morfométricos aqui apresentados, antes que qualquer proposta taxonômica seja realizada.

Espécimes em *Pseudocetopsis othonops* (sin. de *Cetopsis othonops*) coletados no Rio Orinoco, Venezuela e reportados por Brooks e Rasmussen (1984) como *G. siluri*, possuem a vagina tanto anterior quanto posterior a bolsa do cirro, ao contrário da posição exclusivamente anterior em todas as espécies de *Goezeella*, inclusive *G. siluri*, e o material descrito neste estudo. A posição da vagina em relação a bolsa do cirro tem sido usada constantemente para diferenciação de espécies de proteocefalídeos (DE CHAMBRIER; VAUCHER, 1999; REGO et al., 1999; ARREDONDO; GIL DE PERTIERRA, 2010; GIL DE PERTIERRA; DE CHAMBRIER, 2013), entretanto Alves et al. (2017b) descreveram cestoides coespecíficos (geneticamente idênticos com base no gene 28S rDNA) que possuem a vagina em ambas posições. Desta forma, esta característica deve ser usada com cautela para a discriminação de espécies dentro do grupo. Todos os espécimes em *P. othonops* foram fixados em AFA (álcool, formalina e ácido acético) inviabilizando, deste modo, o material para sequenciamento do DNA.

Brooks e Rasmussen (1984) coletaram exemplares imaturos de *G. siluri* em *B. vaillantii*, mas a identificação confiável de espécimes nesse estágio de maturação é improvável, já que traços morfológicos importantes para taxonomia estão presentes apenas em indivíduos adultos. Considerando ainda que, de Chambrier et al. (2015b) necropsiaram 25 espécimes de *B. vaillantii* e não encontraram exemplares de *G. siluri*, o registro de *G. siluri* em *B. vaillantii* requer futura verificação.

4.3.3 Novos dados morfológicos de *Goezeella danbrooski* de Chambrier, Rego & Mariaux, 2004

Sin. *Goezeella siluri* de Brooks e Deardorff (1980), não *G. siluri* de Fuhmann (1916)

Comentários: A descrição desta espécie, originalmente identificada como *G. siluri* por Brooks e Deardorff (1980), foi baseada em apenas um espécime, parcialmente decomposto. Entretanto, de Chambrier et al. (2004b) observaram importantes diferenças morfológicas entre estes espécimes e *G. siluri*, tais como a posição dos folículos vitelínicos, que são ventrolaterais em *G. danbrooski* (vs apenas ventral em *G. siluri*), menor número de testículos

(183–310 vs 380–430) e a posição do esfíncter vaginal (a certa distância do átrio genital em *G. danbrooksi* vs terminal, i.e., próximo ao átrio genital, em *G. siluri*). Com base nessas diferenças, de Chambrier et al. (2004b) propuseram um novo nome, *G. danbrooksi*, para os cestoides em *A. pardalis*. Brooks e Deardorff (1980) descreveram os folículos vitelínicos nos córtex dorsal e ventral, porém o estudo do holótipo, incluindo os cortes histológicos, revelaram que os folículos estão presentes apenas no córtex ventral, alcançando apenas a margem lateral das proglótides (Figs. 20, 21).

O estudo do material tipo de *G. danbrooksi* revelou ainda que algumas fibras da musculatura longitudinal interna são mais próximas, assemelhando-se a feixes musculares (ver Figs. 20, 21). Entretanto, o tecido visualizado nos cortes histológicos está parcialmente decomposto, o que reclama futuros estudos, utilizando-se para tal, espécimes corretamente fixados, a fim de se revelar o real arranjo da musculatura em *G. danbrooksi*.

Resenha taxonômica.

Hospedeiro tipo e único conhecido: Ageneiosus pardalis Lütken (= *A. caucanus* Steindachner) (Siluriformes: Auchenipteridae).

Localidade tipo: Rio Magdalena, próximo a San Cristóbal, Província de Bolívar, Colômbia.

Sítio de infecção: intestino (porção anterior).

Prevalência: desconhecida.

Material estudado: 1 espécime inteiro e cortes seriados [holótipo, USNM 1370061 (USNPC 74498) e USNM 1370107 (USNPC 74544)]

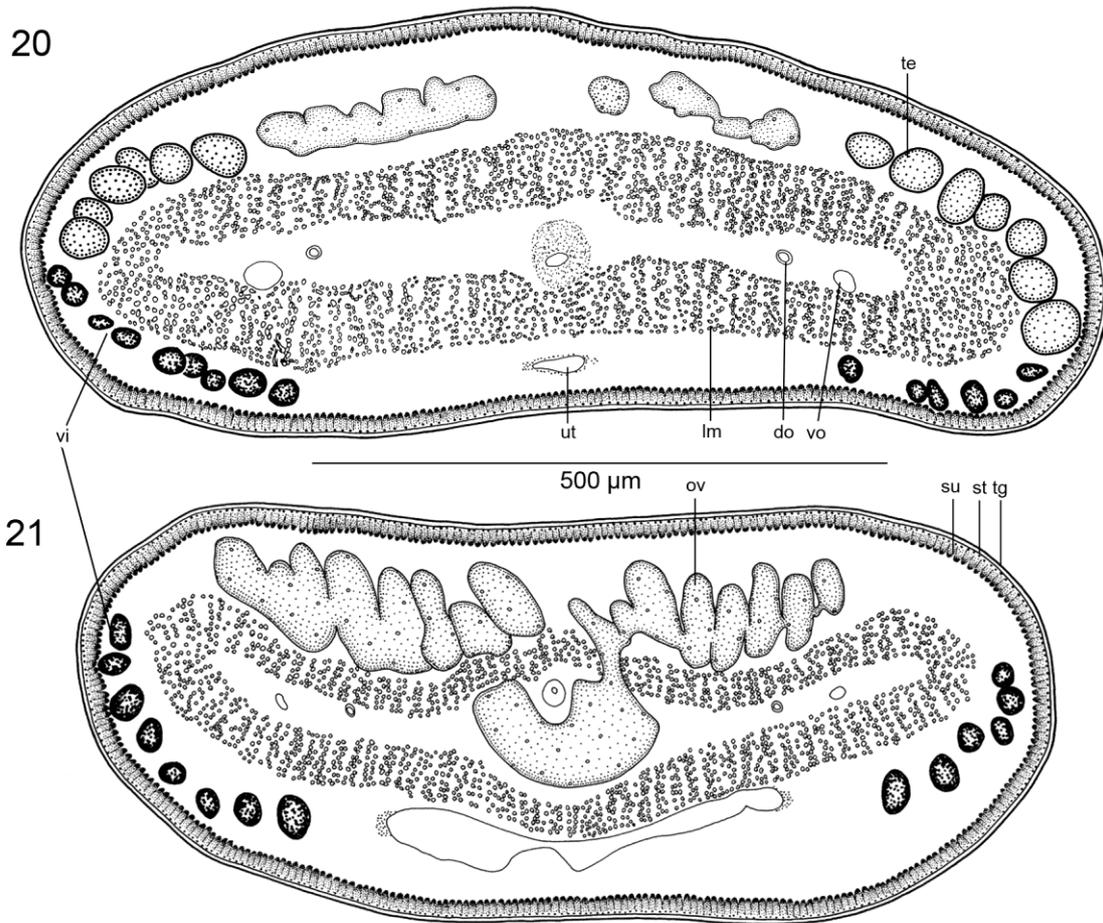


Figura 20, 21. Morfologia de *Goezeella danbrooksi* de Chambrier, Rego & Mariaux, 2004 ex *Ageneiosus pardalis* (holótipo, USNM 1370061). 20, 21. Secções transversais na região entre a bolsa do cirro e ovário e ao nível do ovário, respectivamente.

4.3.4 Descrição de *Goezeella mariae* Alves, de Chambrier, Luque & Scholz, 2017

Registro da espécie no Zoobank:

urn:lsid:zoobank.org:act:ED30D287-891F-4143-BEEC-508AE3D7D051

Descrição (Figuras 1, 2, 5–9, 22–30) baseada em 6 espécimes adultos, 1 escólex (MEV).

Onchoproteocephalidea, Proteocephalidae. Testículos, folículos vitelínicos, ovário e útero corticais. Comprimento total do corpo 14–38 mm ($n = 3$), largura máxima 1,3 mm ($n = 3$). Estróbilo acraspedotado, anapolítico, com sulcos longitudinais e transversais, consistindo em *c.* 40–90 proglótides: 27–32 imaturas, 4–8 maduras, 10–15 pré-grávidas e 23–39 grávidas. Proglótides imaturas e maduras mais largas que longas (razão comprimento: largura 0,17–0,35), proglótides pré-grávidas mais largas que longas (razão comprimento: largura 0,40–0,76) e proglótides grávidas mais largas que longas ou mais longas que largas (razão comprimento: largura 0,80–2,60).

Escólex 0,68–0,83 × 0,91–1,15 mm ($n = 3$), mais largo que a zona proliferativa, 0,83–1,20 × 0,75–0,81 mm, com 4 ventosas robustas, biloculadas, com lóculos desiguais em tamanho; lóculo anterior 158–161 ($x = 160$; $n = 3$) e posterior 123–126 ($x = 125$; $n = 3$) em

diâmetro; septo interocular inconspícuo (Figs. 1, 2, 22, 23). Metaescólex presente, mais enrugado que zona proliferativa (Figs. 1, 2, 22). Ápice arredondado, sem órgão apical, com poucas células glandulares (Figs. 1, 2, 22, 23). Ápice do escólex, superfície das ventosas, entre ventosas e base do metaescólex cobertos por filitríquias aciculares (Figs. 5–8); zona proliferativa coberta por filitríquias capiliformes (Fig. 9).

Musculatura longitudinal desenvolvida, composta por numerosas fibras individuais, concentradas lateralmente (Figs. 28, 30). Canais osmorregulatórios medianos aos folículos vitelínicos laterais; canal ventral mais largo que o dorsal (Figs. 30).

Testículos esféricos, 34–46 em diâmetro, em 1 camada irregular, 103–167 ($x = 134$; $n = 13$) em número por proglótide madura (Figs. 24, 25). Testículos em 1 campo irregular dorsal, usualmente ultrapassando os canais osmorregulatórios, sobrepondo-se a bolsa do cirro, folículos vitelínicos e, raramente, ao ovário (Figs. 24–26, 28–30); presentes em proglótides grávidas. Vaso deferente contorcido formando um campo alongado, sem cruzar a linha mediana das proglótides (Figs. 24–26). Bolsa do cirro alongada a piriforme, de paredes finas (Figs. 24–26, 28), $130\text{--}213 \times 59\text{--}85$ ($n = 13$); comprimento representando 11–24% ($x = 17$; $n = 13$) da largura das proglótides. Ducto espermático (vaso deferente interno) sinuoso (Figs. 24–26, 28). Cirro muscular, ocupando o máximo de 64% ($n = 13$) do comprimento da bolsa do cirro. Poros genitais alternando irregularmente, marcadamente pré-equatoriais, situados a 7–17% ($x = 11$; $n = 13$) da margem anterior das proglótides (Figs. 24–26).

Ovário com istmo medular e 2 lobos foliculares (forma de cacho de uva) penetrando a musculatura longitudinal ao córtex dorsal; numerosas protuberâncias presentes (Figs. 24, 25, 30). Comprimento do ovário representando 21–31% ($x = 26\%$; $n = 13$) do comprimento das proglótides, sua largura representando 57–77% ($x = 66\%$; $n = 13$) da largura das proglótides (Figs. 24, 25). Glândula de Mehlis *c.* 60–138 em diâmetro, representando 8–11% da largura das proglótides ($n = 13$). Tamanho relativo do ovário (ver DE CHAMBRIER et al., 2012) 10–15% ($x = 12\%$; $n = 13$). Canal vaginal ligeiramente sinuoso, porção terminal (*pars copulatrix vaginae*) cercado por células cromofílicas, com esfíncter vaginal (terminal) (Figs. 24, 26). Vagina anterior a bolsa do cirro ($n = 32$).

Folículos vitelínicos corticais, ventrais, formando duas fileiras ininterruptas, ocupando um campo triangular, expandido e confluyente ao nível ovariano; lateral aos testículos nas extremidades (Figs. 24–26, 29). O comprimento das fileiras representa 73–91% ($x = 83\%$) e 72–91% ($x = 83\%$) do comprimento das proglótides nas regiões poral e antiporal, respectivamente ($n = 13$) (Figs. 24, 25). Desenvolvimento uterino do tipo 2. Útero com 14–25 divertículos laterais (Fig. 24, 25). Ovos ovais, envelope externo $21\text{--}25 \times 18\text{--}19$, embrióforo com duas camadas $19\text{--}20 \times 13\text{--}15$, oncosfera $9\text{--}10 \times 11\text{--}12$, ganchos embrionários 5–6 de comprimento (Fig. 27); ovos em diferentes estágios de maturação presentes concomitantemente.

Resenha taxonômica.

Hospedeiro tipo e único conhecido: *Pimelodella cristata* (Müller & Troschel) (Siluriformes: Heptapteridae).

Localidade tipo: Baixo Rio Amazonas, próximo a Macapá, Estado do Amapá, Brasil ($00^{\circ}01'N$; $50^{\circ}59'O$).

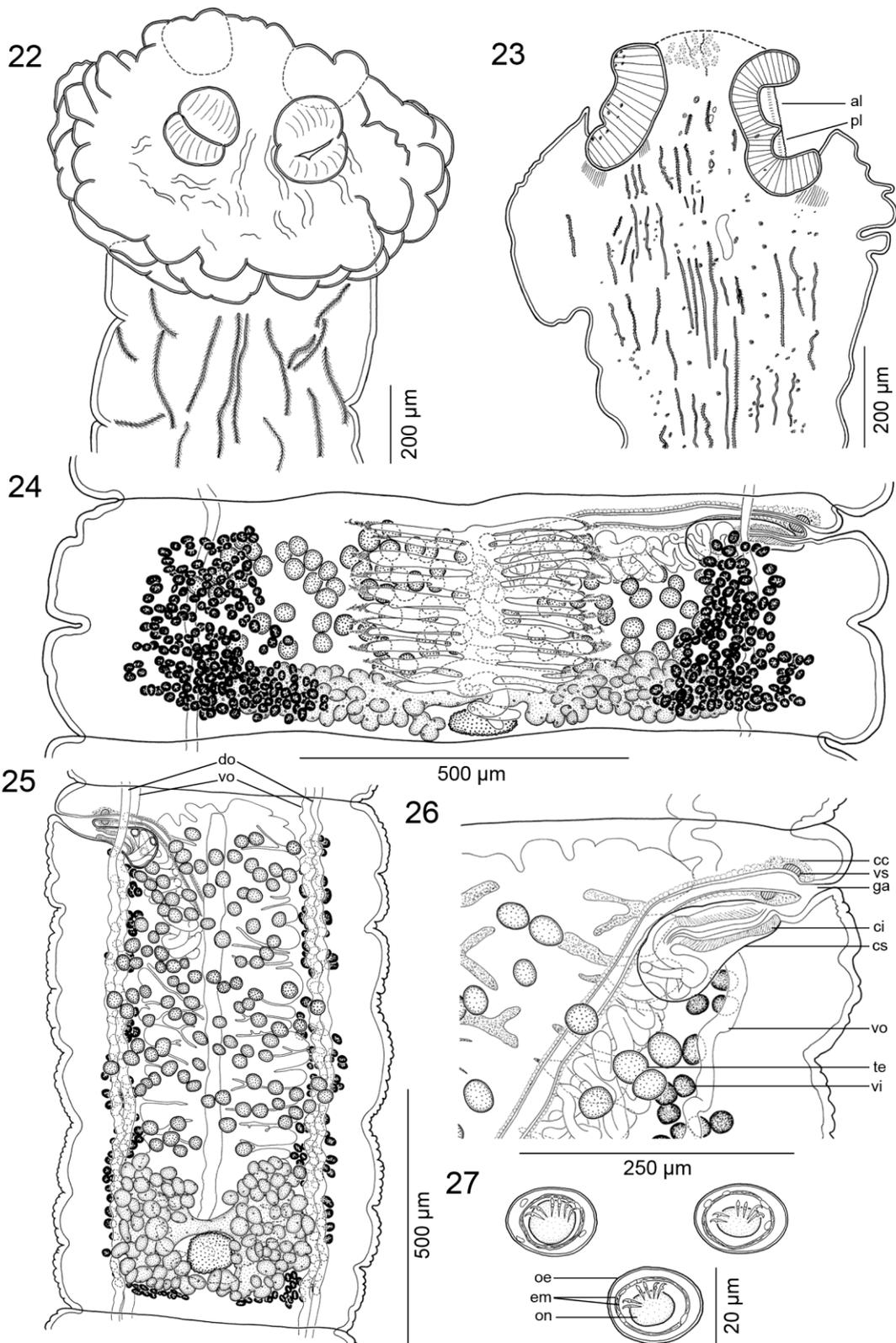
Material tipo: Holótipo (CHIOC 38860a-f, MHNG-PLAT-97017 – espécime completo com 7 lâminas contendo cortes transversais seriados, código de campo BR-AMP 46a). Parátipos (IPCAS C-759 – espécime completo, hologenóforo, código de campo BR-AMP 106b; CHIOC 38861, IPCAS C-759, MHNG-PLAT-86883 – espécime completo com 6 e 2 lâminas contendo cortes transversais das proglótides e sagitais do escólex, respectivamente, código de campo BR-AMP 109a; MHNG-PLAT-97016 – espécime completo, voucher da MEV, código de campo BR-AMP 111b), todos espécimes coletados em 25/05/2013.

Sítio de infecção: intestino (porção anterior).

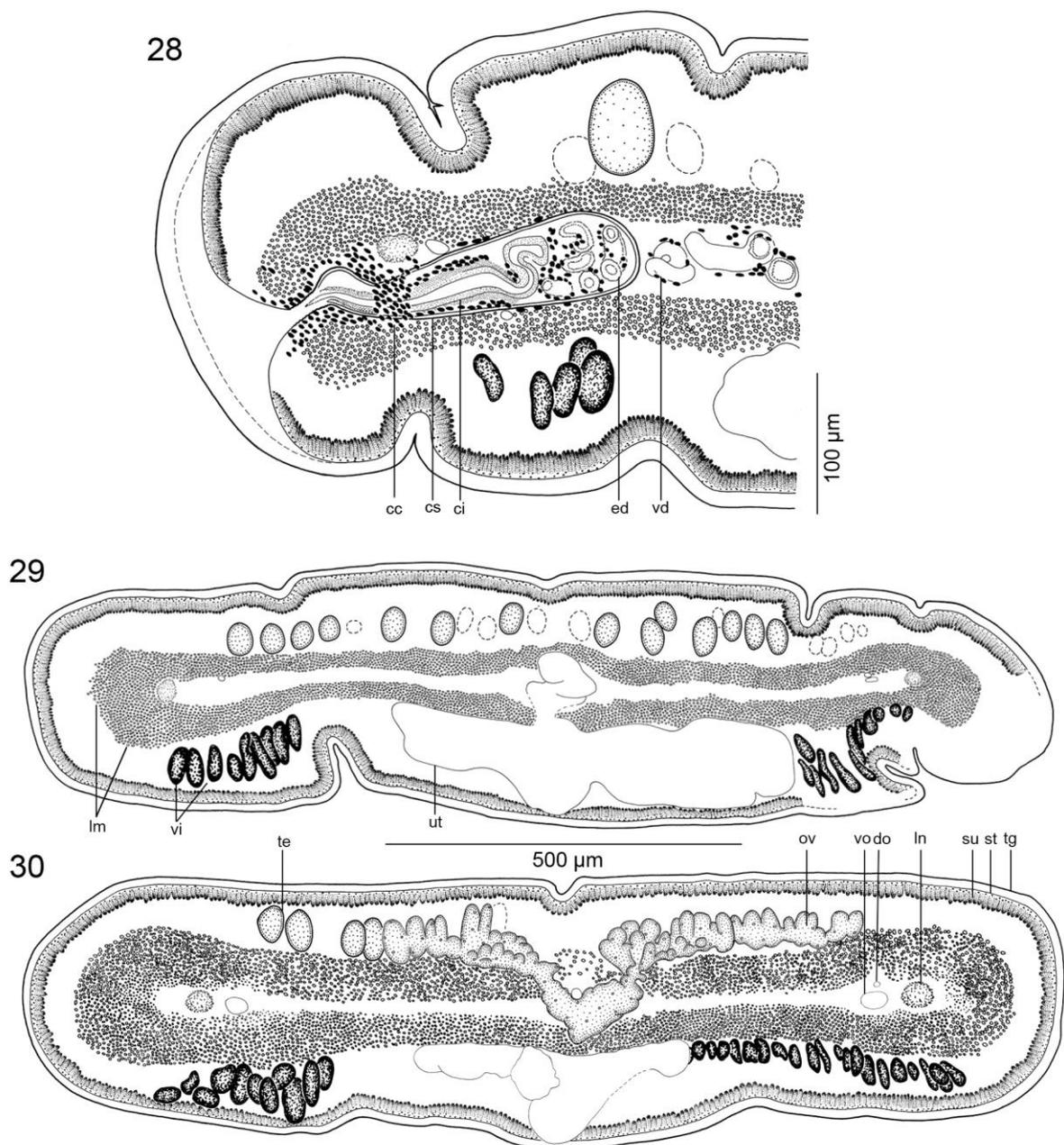
Prevalência: 7 peixes examinados/4 infectados (57%).

Identificação molecular: Fragmento de 1491 bp do gene 28S rDNA foi amplificado. A sequência nucleotídica está disponível no GenBank (MF370208).

Etimologia: O epíteto específico refere-se à mãe do discente, Maria Thereza Vieira Pinto Alves, pelo apoio contínuo aos seus estudos.



Figuras 22–27. Morfologia de *Goezeella mariae* Alves et al., 2017 ex *Pimelodella cristata*. 22. Escólex, vista dorsoventral (CHIOC 38860a). 23. Escólex, secção sagital (CHIOC 38861). 24. Proglótide pré-grávida, vista ventral (MHNG-PLAT-97016). 25. Proglótide grávida, vista dorsal (CHIOC 38860a). 26. Genitália terminal, vista dorsal (CHIOC 38860a). 27. Ovos em água destilada (IPCAS C-759).



Figuras 28–30. Morfologia de *Goezeella mariae* Alves et al., 2017 ex *Pimelodella cristata*. 28. Secção transversal, detalhe ao nível da bolsa do cirro (CHIOC 38860d); 29, 30. Secções transversais na região entre a bolsa do cirro e ovário e ao nível do ovário, respectivamente (CHIOC 38860d, MHNG-PLAT-86883).

Comentários: *Goezeella mariae* difere de *G. siluri* e *G. danbrooksi* por possuir menor número de testículos (103–167 vs 183–310 e 282–366 em *G. danbrooksi* e *G. siluri*, respectivamente) e septo interlocular discreto (inconspícuo nas micrografias; ver Figs, 1 e 2), característica evidente nas outras espécies. O novo táxon pode ser diferenciado, adicionalmente de *G. siluri*, por possuir menores dimensões, tais como: comprimento total do corpo (14–38 mm vs 90–230 mm), largura do escólex (0,91–1,15 mm vs 1,45–1,94 mm), comprimento da bolsa do cirro (130–213 vs 220–340), bem como pela aparência do metaescólex, que se encontra mais enrugado em *G. mariae* (compare as Figs. 1, 2 com as Figs. 3, 4). Além disso, *G. mariae*

possui um esfíncter vaginal em posição terminal, enquanto em *G. danbrooksi* o mesmo se encontra em posição subterminal.

Este é o primeiro parasito encontrado em *Pimelodella cristata*, peixe heptapterídeo descrito de um tributário do Rio Branco, Guiana (BOCKMANN; GUAZZELLI, 2003). Existem registros deste bagre em toda a bacia do Rio Amazonas, habitando o fundo arenoso de riachos e rios (REIS; LIMA, 2009). *Proteocephalus bagri* Holcman-Spector & Mañé-Garzón, 1988 e *P. rhamdiae* Holcman-Spector & Mañé-Garzón, 1988, ambos parasitos de *Rhamdia sapo* (Valenciennes) [sin. de *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard)] no Uruguai, são os únicos proteocefalídeos reportados em heptapterídeos na América do Sul (HOLCMAN-SPECTOR; MAÑÉ-GARZÓN, 1988). Adicionalmente, uma única espécie é conhecida em peixes desta família, i.e., *Proteocephalus brooksi* García-Prieto, Rodríguez & Pérez-Ponce de León, 1996 descrito em *Rhamdia guatemalensis* (Günther) no México (GARCÍA-PRIETO et al., 1996).

4.3.5 Relações filogenéticas e caracterização molecular de *Goezeella siluri* e *G. mariae*

O sequenciamento parcial do gene 28S rDNA (domínios D1–D3) produziu sequências de mesmo tamanho para *G. siluri* e *G. mariae* (1491 bp) que divergem entre si em 14 nucleotídeos, i.e., divergência genética de 0,9%.

O alinhamento foi composto de 1557 posições (comprimento das sequências variando de 978–1536 bp) das quais 60 foram excluídas. As análises filogenéticas incluíram 1525 caracteres com os seguintes atributos: 1262 constantes, 146 parcimoniosos-informativos e 117 variáveis (não-informativos).

As reconstruções filogenéticas usando os critérios de MV (Fig. 1) e IB produziram topologias diferentes quanto as afinidades de *G. siluri* e *G. mariae*, embora ambos não suportem a monofilia de *Goezeella* e revelem uma grande politomia representada, principalmente, por táxons neotropicais. Na análise de IB, *Goezeella mariae* formou um clado bem suportado (BI = 0.98) com as espécies de *Gibsoniela*, i.e., *G. mandube* (Woodland, 1935) e *G. meursaulti* de Chambrier & Vaucher, 1999, ambos em *Ageneiosus inermis* (Linnaeus) (Auchenipteridae), enquanto as 3 em conjunto formaram um clado fracamente suportado (BI = 0.51) com *G. siluri*, revelando assim a putativa parafilia do gênero *Goezeella*. Em contrapartida, na análise de MV as espécies de *Goezeella* não apresentaram afinidades filogenéticas aparentes, tanto entre elas, quanto com as demais espécies analisadas (Fig. 1).

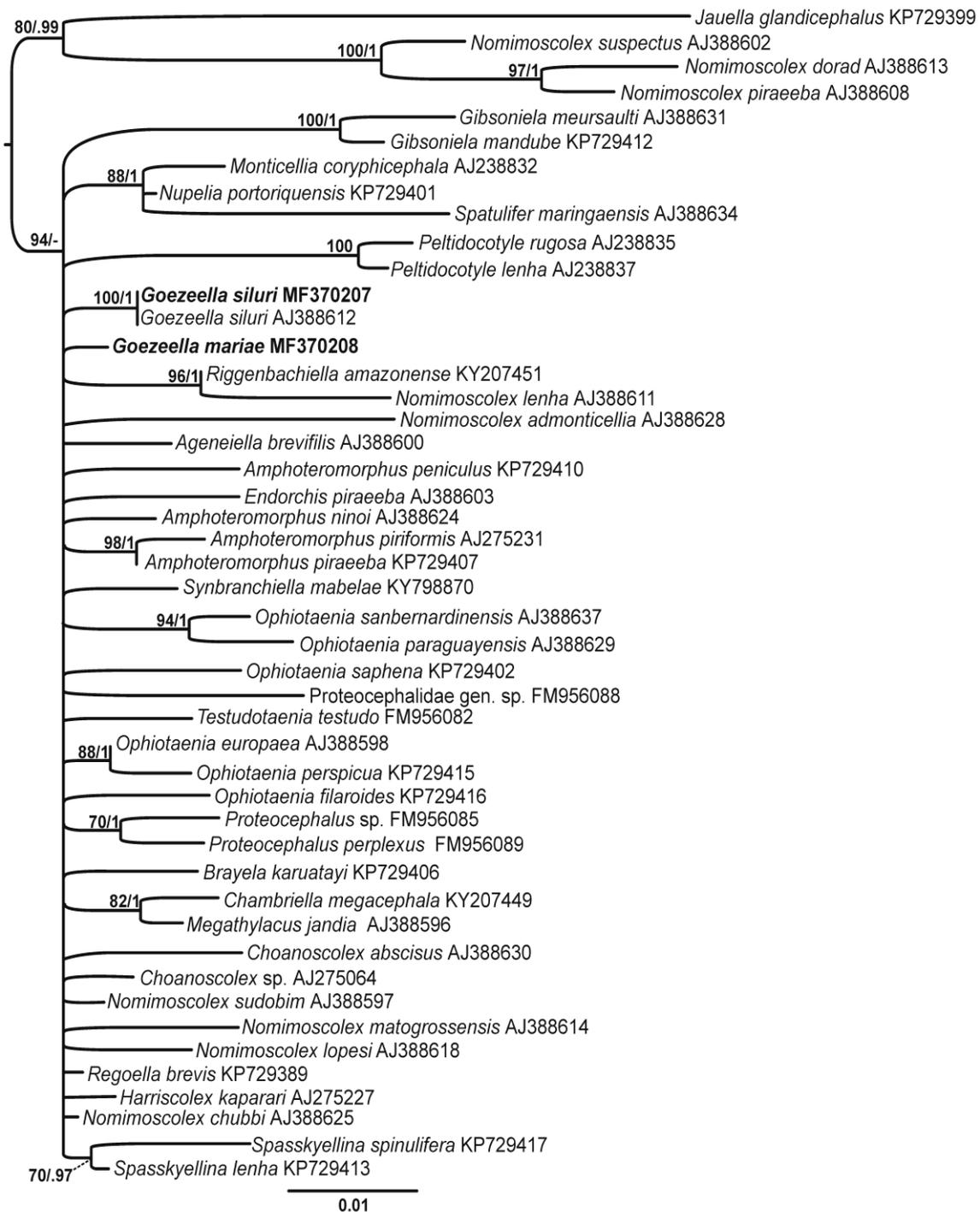


Figura 31. Filograma com base no critério da Máxima Verossimilhança (MV) do gene 28S rDNA (domínios D1–D3) de espécies da família Proteocephalidae, incluindo *Goezeella siluri* Fuhrmann, 1916 e *G. mariae* Alves et al., 2017, ambos em negrito. Suporte nodal ‘bootstrap’/probabilidade posterior Bayesiana estão indicados acima dos nós. Nós com valores de ‘bootstrap’ < 70 foram colapsados e de probabilidade posterior Bayesiana < 0.90 não são mostrados. A barra de escala indica o número de substituições nucleotídicas por local.

4.4 DISCUSSÃO

O presente estudo fornece novos dados sobre a taxonomia, composição de espécies e associações parasito-hospedeiro das espécies de *Goezeella*. O arranjo da musculatura longitudinal interna, o qual não forma feixes musculares como comumente encontrado em proteocefálideos, é uma característica importante que foi incluída na diagnose genérica. Ao contrário, a musculatura das espécies de *Goezeella* é formada por numerosas fibras individuais. Outras características típicas do gênero são: a posição exclusivamente ventral ou ventrolateral dos folículos vitelínicos, a presença de um metaescólex com numerosos sulcos ou rugas e ventosas biloculadas.

Espécies de *Rudolphiella* Fuhrmann, 1916 e *Ephedrocephalus* Diesing, 1850 também possuem folículos vitelínicos restritos ao córtex ventral [e não em um campo dorsal como mencionado nas chaves de identificação de de Chambrier et al. (2009a)] (ver REGO et al., 1999; GIL DE PERTIERRA; DE CHAMBRIER, 2000). Entretanto, elas diferem das espécies de *Goezeella* na disposição dos órgãos internos em relação a musculatura longitudinal interna (REGO, 1994), além de possuírem ventosas uniloculadas (MOLA, 1906; ALVES et al., 2018; GIL DE PERTIERRA; DE CHAMBRIER, 2000). *Spatulifer maringaensis* Pavanelli & Rego, 1989 se assemelha as espécies de *Goezeella* por possuir todos os órgãos internos corticais (ambos foram classificados dentro de Monticelliinae), metaescólex e folículos vitelínicos limitados ao córtex ventral (ARREDONDO; GIL DE PERTIERRA, 2008), porém esta espécie apresenta ventosas uniloculadas ao invés dos 2 lóculos encontrados nas espécies de *Goezeella*.

Todas as espécies de *Goezeella*, incluindo *G. mariae*, foram reportadas nas bacias dos rios Amazonas, Magdalena e Orinoco, sem nenhum registro em outras bacias importantes da América do Sul, como a do Rio Paraná. Vale notar também o amplo espectro de hospedeiros definitivos para o gênero, i.e., peixes de 4 famílias de Siluriformes (Auchenipteridae, Cetopsidae, Heptapteridae e Pimelodidae), que é substancialmente maior em relação aos demais gêneros ricos em espécies de proteocefalídeos neotropicais. Usualmente, eles são específicos para uma única família de hospedeiros (REGO et al., 1999; DE CHAMBRIER et al., 2015b).

Diversas tentativas foram realizadas para elucidar as relações filogenéticas da fauna de proteocefalídeos neotropicais, mas a história evolutiva do grupo permanece desconhecida (ZEHNDER; MARIAUX, 1999; DE CHAMBRIER et al., 2004b; HYPŠA et al., 2005; DE CHAMBRIER et al., 2015a). Tanto a adição de táxons terminais, como o uso de novos marcadores moleculares, tem se mostrado ineficaz para uma melhora no sinal filogenético da grande politomia formada pelo ‘super clado Neotropical’, em que *G. siluri* ex *P. pirinampu* aparece junto com 37 taxa (29 neotropicais) (DE CHAMBRIER et al., 2015a). Esta ausência de resolução filogenética também foi observada em publicações recentes (ALVES et al., 2017b; ARREDONDO et al., 2017). A adição de *G. mariae*, igualmente, não modificou este cenário (Fig. 1), mas revelou que este novo táxon forma um clado composto por *G. siluri* e ambas espécies de *Gibsoniela*, ao menos sob os critérios da IB.

Morfologicamente, a íntima associação das espécies de *Goezeella* e *Gibsoniela* não é evidente, já que elas diferem na posição dos órgãos internos em relação a musculatura longitudinal (inclusive foram anteriormente classificadas em diferentes subfamílias), na morfologia do escólex (metaescólex ausente em *Gibsoniela*) e no número de lóculos nas ventosas (triloculado em *Gibsoniela* vs biloculado em *Goezeella*). Apesar das análises filogenéticas revelarem a parafilia de *Goezeella*, o novo táxon foi classificado neste gênero por vários motivos, dentre eles: a presença de traços morfológicos peculiares encontrados exclusivamente nestas espécies (quando combinados), a ausência de uma análise molecular multi-loci, a alta taxa de substituição nucleotídica das linhagens de *Gibsoniela* (‘long-branch

attraction artifacts'; BERGSTEN, 2005) encontrada na análise de IB, além da ausência de sequências provenientes de espécimes coletados do hospedeiro tipo de *G. siluri* (espécie tipo do gênero) e *G. danbrooski*. A proposição de novos gêneros, a fim de eliminar esta suposta parafilia de *Goezeella*, deve ser suportada por dados morfológicos e moleculares (múltiplos marcadores), que incluam, fundamentalmente, espécimes de *G. siluri* coletados em *Cetopsis coecutiens* (hospedeiro tipo) provenientes da bacia amazônica.

4.4.1 Chave de identificação para as espécies de *Goezeella* Furhmann, 1916

- 1A Esfíncter vaginal a certa distância do átrio genital (subterminal); folículos vitelínicos ventrolaterais. Em auchenipterídeos (*Ageneiosus pardalis*) *G. danbrooski*
- 1B Esfíncter vaginal próximo ao átrio genital (terminal); folículos vitelínicos exclusivamente no córtex ventral, ausentes lateralmente 2
- 2A Mais de 280 testículos por proglótide. Em cetopsídeos (*Cetopsis*) e pimelodídeos (*Pinirampus*) *G. siluri*
- 2B Menos de 170 testículos por proglótide. Em heptapterídeos (*Pimelodella cristata*) *G. mariae*

CAPÍTULO IV

REVISÃO TAXONÔMICA DE DOIS GÊNEROS MONOTÍPICOS DE CESTOIDES (CESTODA: PROTEOCEPHALIDAE) PARASITOS DA PIRARARA, *Phractocephalus hemiolepis*.⁴

⁴Artigo publicado: ALVES, P. V.; DE CHAMBRIER, A.; LUQUE, J. L.; SCHOLZ, T. Towards a robust systematic baseline of Neotropical fish tapeworms (Cestoda: Proteocephalidae): amended diagnoses of two genera from the redbtail catfish, *Phractocephalus hemiolepis*. **Zootaxa**, v. 4370, p. 363–380, 2017. doi: 10.11646/zootaxa.4370.4.3 (ANEXO VI)

RESUMO

Espécies de dois gêneros monotípicos, *Ephedrocephalus* Diesing, 1850 e *Zygobothrium* Diesing, 1850 (Cestoda: Proteocephalidae), parasitos de um dos membros mais basais da família Pimelodidae, o bagre *Phractocephalus hemioliopus*, conhecido como ‘pirarara’ e endêmico da Região Neotropical, são redescritas com base na avaliação de espécimes tipo e material recém coletado. As diagnoses genéricas são alteradas a fim de fornecer uma base robusta para a futura reorganização da classificação de cestoides proteocefalídeos. *Ephedrocephalus* é tipificado pela posição medular do ovário e útero, distribuição cortical dos folículos vitelínicos (dispersos em quase todo o córtex ventral) e testículos em um campo dorsal único. *Zygobothrium* caracteriza-se principalmente pela posse de um escólex robusto, com quatro ventosas uniloculadas com duas aberturas cada e pelo “véu” tetralobado (lacinações) em cada proglótide (dois no lado ventral e dois no lado dorsal). *Phractocephalus hemioliopus* é o hospedeiro definitivo de 7 espécies de proteocefalídeos, que, no entanto, não representam um grupo monofilético. *Zygobothrium megacephalum* foi um dos primeiros proteocefalídeos a divergirem em bagres neotropicais, estando intimamente relacionada com proteocefalídeos africanos e norte-americanos, enquanto *E. microcephalus*, pertence ao grupo de táxons com divergência mais recente e interrelações incertas. Ao contrário da maioria dos proteocefalídeos que parasitam o intestino anterior de *P. hemioliopus*, *E. microcephalus* e *Z. megacephalum* ocorrem exclusivamente no terço posterior do intestino. Uma chave para a identificação das espécies de proteocefalídeos que parasitam *P. hemioliopus* é apresentada.

Palavras-chave: cestoides, *Ephedrocephalus*, *Zygobothrium*, taxonomia, morfologia, relações filogenéticas, bacia do Rio Amazonas, América do Sul, Região Neotropical

ABSTRACT

Species of two monotypic genera, *Ephedrocephalus* Diesing, 1850 and *Zygobothrium* Diesing, 1850 (Cestoda: Proteocephalidae), parasites of one of the most basal members of the catfish family Pimelodidae, the redbtail catfish, *Phractocephalus hemioliopus*, in the Neotropical Region, are redescribed based on the evaluation of type specimens and newly collected material. Generic diagnoses are amended to provide a robust baseline for the future re-arrangement of the classification of proteocephalid cestodes. *Ephedrocephalus* is typified by the medullary position of the ovary and uterus, the cortical distribution of vitelline follicles (dispersed throughout almost the entire ventral cortex) and the testes in one dorsal field. *Zygobothrium* is primarily characterized by its possession of a robust scolex bearing four uniloculate suckers with two openings each and by the tetralobed velum (lacinations) on every proglottid (two on the ventral and two on the dorsal side). *Phractocephalus hemioliopus* is the definitive host of as many as seven species of proteocephalid cestodes, which, however, do not represent a monophyletic group. *Zygobothrium megacephalum* is one of the earliest diverged parasites of Neotropical catfishes, being closely related to African and North American proteocephalids from catfishes, whereas *E. microcephalus* belongs to more recently diverged taxa with uncertain interrelations. Unlike most proteocephalids of the redbtail catfish, which almost always infect the anterior parts of the host intestine, *E. microcephalus* and *Z. megacephalum* occur exclusively in its posterior third. A key to the identification of the proteocephalid species parasitizing *P. hemioliopus* is presented.

Key-words: cestodes, *Ephedrocephalus*, *Zygobothrium*, taxonomy, morphology, phylogenetic relationships, Amazon River basin, South America, Neotropical region

5.1 INTRODUÇÃO

Estudos filogenéticos forneceram evidências de que a atual classificação (ao nível das subfamílias) dos cestoides proteocefalídeos (Proteocephalidae) é artificial e que todas as gêneros ricos em espécies são polifiléticos (DE CHAMBRIER et al., 2015a). Como resultado, uma nova classificação que reflita melhor as interrelações deste grupo deve ser proposta, com base na monofilia de clados individuais. No caso dos gêneros monotípicos, que representam mais de metade (57%, ou seja, 38) de um total de 67 gêneros (DE CHAMBRIER et al., 2017), é necessário verificar se eles realmente representam táxons morfológica e geneticamente muito distintos de outros gêneros. Também é essencial revisar criticamente as autapomorfias desses gêneros, incluindo a diagnose dos mesmos.

Dois gêneros monotípicos, *Ephedrocephalus* Diesing, 1850 e *Zygothrium* Diesing, 1850, foram propostos há quase 170 anos por Diesing (1850) com base na morfologia peculiar de suas espécies, ambas encontradas na “pirarara”, *Phractocephalus hemioliopterus* (Bloch & Schneider) (Siluriformes: Pimelodidae). Embora extensos dados morfológicos sobre estes gêneros tenham sido acumulados por vários autores (e.g., MOLA, 1906; WOODLAND, 1933b; FURHMANN, 1934; REGO, 1984b), ainda existem inconsistências e lacunas substanciais nas diagnoses de ambos e nas descrições das espécies tipo, i.e., *Ephedrocephalus microcephalus* Diesing, 1850 e *Zygothrium megacephalum* Diesing, 1850. Além disso, muitas características morfológicas, que atualmente são usadas para a circunscrição de táxons individuais, não foram descritas, além de serem poucos os dados morfométricos disponíveis na literatura.

Como continuação do esforço colaborativo de longo prazo para fornecer uma diretriz taxonômica robusta para futuros estudos sistemáticos e evolutivos sobre proteocefalídeos (ver DE CHAMBRIER et al., 2017, para uma lista de artigos relacionados à alteração de diagnósticos genéricos), *E. microcephalus* e *Z. megacephalum* são redescritas. Estas redescritas, baseadas no exame de espécimes tipo e material recém coletado, também permitiu a alteração das respectivas diagnoses genéricas.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Procedência dos hospedeiros e coleta dos parasitos

Os exemplares de *Phractocephalus hemioliopterus* foram coletados por pescadores artesanais em duas localidades: médio Amazonas, próximo a Itacoatiara (Estado do Amazonas, Brasil; 3°09'S, 58°26'O) e Rio Xingú, próximo a Altamira (Estado do Pará, Brasil; 3°12'S, 52°12'O). As coletas foram realizadas em diferentes expedições nos anos de 1992, 1995 pelos Dr. Alain de Chambrier e Dr. Amilcar Rego. O material proveniente do Rio Xingú foi coletado durante as expedições para o presente capítulo em 2013. Os parasitos coletados *in situ* foram fixados e armazenados conforme a metodologia descrita no Cap. I.

5.2.2. Análises morfológicas e moleculares

O presente estudo baseia-se no exame do material tipo e material recém coletado de proteocefalídeos parasitos da 'pirarara', *Phractocephalus hemioliopterus*. Para fins comparativos, ovos das espécies de *Cangatiella* Pavanelli & Santos, 1991 também foram estudados. Os espécimes foram processados para os estudos morfológicos conforme o Cap. I. A descrição das microtríquias segue Chervy (2009); todas as medidas foram fornecidas em micrômetros (μm), salvo quando indicado. Espécimes estudados no presente trabalho foram depositados nas seguintes coleções parasitológicas: CHIOC, IPCAS e MHNG-PLAT.

O DNA genômico de 1 exemplar de *Zygobothrium megacephalum* (código de campo BR-X 35a) foi isolado utilizando o kit de extração DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN™, Hilden, Germany), de acordo com as instruções do fabricante. A amplificação, o sequenciamento do gene 28S rDNA e a formação dos contíguos foram realizados conforme o Cap. I.

5.3 RESULTADOS

5.3.1 Emenda do gênero *Ephedrocephalus* Diesing, 1850

Diagnose: Onchoproteocephalidea, Proteocephalidae. Testículos, folículos vitelínicos corticais; ovário, útero medulares. Cestoides de tamanho médio. Estróbilo acraspedotado, com sulcos longitudinais e transversais; proglótides mais largas que longas, variáveis em tamanho e forma. Escólex cônico, sem órgão apical, mais largo que a zona proliferativa; metaescólex bem desenvolvido, com rugas longitudinais, formado pela expansão da zona proliferativa. Ventosas robustas, esféricas, uniloculadas. Musculatura longitudinal interna bem desenvolvida, com pequenos feixes numerosos de fibras musculares. Testículos em 1 campo dorsal, 1 camada, sobrepondo-se dorsalmente a bolsa do cirro, folículos vitelínicos e ovário. Bolsa do cirro alongada a piriforme, ducto espermático interno de paredes grossas, altamente contorcido na metade proximal da bolsa do cirro. Poros genitais marcadamente pré-equatoriais, irregularmente alternados. Átrio genital presente, profundo. Ovário medular, compacto, bilobado. Vagina anterior ou posterior a bolsa do cirro. Porção terminal do canal vaginal (*pars copulatrix vaginae*) cercado por células cromofílicas; esfíncter vaginal presente. Folículos vitelínicos em 1 campo ventral, dispersos por toda área da proglótide. Desenvolvimento uterino do tipo 1 *sensu* de Chambrier et al. (2004a, 2015a). Ovos limoniformes, contendo vacúolos internos. Parasitos de pimelodídeos (Siluriformes) da região Neotropical.

Espécie tipo e única conhecida: *Ephedrocephalus microcephalus* Diesing, 1850.

Comentários: anteriormente, *Ephedrocephalus* era considerado o gênero tipo e único da subfamília Ephedrocephalinae (ver REGO, 1994). A distribuição cortical dos folículos vitelínicos (dispersos quase que inteiramente no córtex ventral), testículos limitados a 1 campo dorsal e a posição medular do ovário e útero são características peculiares a esta subfamília. Embora a classificação das subfamílias proposta por W.N.F Woodland (ver DE CHAMBRIER et al., 2009a) não seja natural, ou seja, com base em grupos monofiléticos, *Ephedrocephalus* distingue-se facilmente dos demais gêneros de proteocefalídeos pelas características acima mencionadas, especialmente a singular distribuição dos folículos vitelínicos por todo córtex ventral.

5.3.2 Redescrição de *Ephedrocephalus microcephalus* Diesing, 1850

Sin. *Rudolphiella microcephalus* (Diesing, 1850) Brooks, 1995

Descrição (Figuras 1–18) baseada em 7 espécimes adultos, 1 escólex e proglótide (MEV).

Onchoproteocephalidea, Proteocephalidae. Testículos e folículos vitelínicos corticais, ovário e útero medulares. Comprimento total do corpo 45–95 mm (n = 4), largura máxima 3.3 mm (n = 4). Estróbilo acraspedotado, anapolítico, paredes grossas, com sulcos longitudinais e transversais, consistindo em *c.* 105–145 proglótides: 50–65 imaturas, 15–20 maduras, 30–40 pré-grávidas e 10–20 grávidas. Proglótides imaturas, maduras e pré-grávidas marcadamente mais largas que longas (razão comprimento: largura 0,05–0,25), proglótides grávidas mais largas que longas (razão comprimento: largura 0,60–0,80).

Escólex 2,5–2,8 × 2,4–2,6 mm (n = 3), mais largo que a zona proliferativa, 1,6–2,0 × 1,2–1,8 mm, com 4 ventosas uniloculadas e metaescólex com numerosas rugas longitudinais, grupos de pequenas células glandulares e rede de canais osmorregulatórios esparsamente distribuída (Figs. 1–3, 10, 11). Ventosas esféricas, altamente musculares, 570–605 em

diâmetro (n = 12). Ápice cônico, sem órgão apical, com poucas células glandulares (Figs. 2, 3, 10, 11). Ápice do escólex, margens externas e internas das ventosas, superfícies entre ventosas, metaescólex e estróbilo cobertos por filitríquias capiliformes de similar aparência e densidade (Figs. 4–9).

Musculatura longitudinal interna bem desenvolvida, formada por 3–5 fileiras de numerosos, pequenos, feixes de fibras musculares (Figs. 14–16). Canais osmorregulatórios situados ao mesmo nível, medianos aos folículos vitelínicos e testículos laterais, ligeiramente sinuosos; canal ventral consideravelmente mais largo que o dorsal (Figs. 12–17).

Testículos numerosos, esféricos, 40–65 em diâmetro, em 1 camada, 200–340 (x = 270; n = 8) em número por proglótide madura (Figs. 13–16). Testículos em 1 campo irregular, dorsal, sobrepondo-se a bolsa do cirro e ovário (Figs. 13–16); presentes em proglótides grávidas. Vaso deferente contorcido formando um campo alongado sem cruzar a linha mediana das proglótides (Fig. 12). Bolsa do cirro alongada a piriforme, de paredes finas (Figs. 12, 13, 15, 17), 345–500 × 130–235 (n = 12); comprimento representando 15–30% (x = 21; n = 12) da largura das proglótides. Ducto espermático (vaso deferente interno) sinuoso (Figs. 13, 15, 17). Cirro muscular, ocupando o máximo de 60% (n = 12) do comprimento da bolsa do cirro. Poros genitais alternando irregularmente, marcadamente pré-equatoriais, situados a 2–9% (x = 6; n = 12) da margem anterior das proglótides (Figs. 12, 13, 17).

Ovário medular, compacto, bilobado, ocupando 45–55% (x = 52%; n = 12) da largura das proglótides, seu comprimento representando 25–40% (x = 30%; n = 12) do comprimento das proglótides (Figs. 12, 13, 16). Glândula de Mehlis *c.* 97–135 em diâmetro, representando 4–9% da largura das proglótides (n = 7). Tamanho relativo do ovário (ver DE CHAMBRIER et al., 2012) 10–15% (x = 13%; n = 8). Canal vaginal ligeiramente sinuoso, cercado por células cromofílicas, concentradas na porção terminal (*pars copulatrix vaginae*); esfíncter vaginal esférico, terminal (Figs. 12, 13, 17). Vagina anterior (35%) ou posterior (65%) a bolsa do cirro (n = 20). Folículos vitelínicos corticais, formando um amplo campo ventral, com distribuição irregular (Figs. 12–16).

Desenvolvimento uterino do tipo 1; útero com 2–5 divertículos laterais (Fig. 13). Ovos limoniformes, embrióforo com 41–47 × 25–27 (n = 6), oncosfera 14–16 × 13–14 (n = 6), ganchos embrionários 5–6 de comprimento (n = 6) (Fig. 18).

Resenha taxonômica.

Hospedeiro tipo e único conhecido: *Phractocephalus hemioliopterus* (Bloch & Schneider) (Siluriformes: Pimelodidae).

Localidade tipo: Sul da bacia do Rio Amazonas, Estado do Mato Grosso, Brasil (localidade específica desconhecida. Material coletado por Johann Natterer em 1828 (ver DIESING, 1855).

Localidade adicional: Rio Amazonas, próximo a Itacoatiara (Estado do Amazonas, Brasil; 3°09'S, 58°26'O); Rio Amazonas, próximo a Iquitos (Região de Loreto, Peru; 3°34'S, 72°50'O).

Sítio de infecção: intestino (porção posterior).

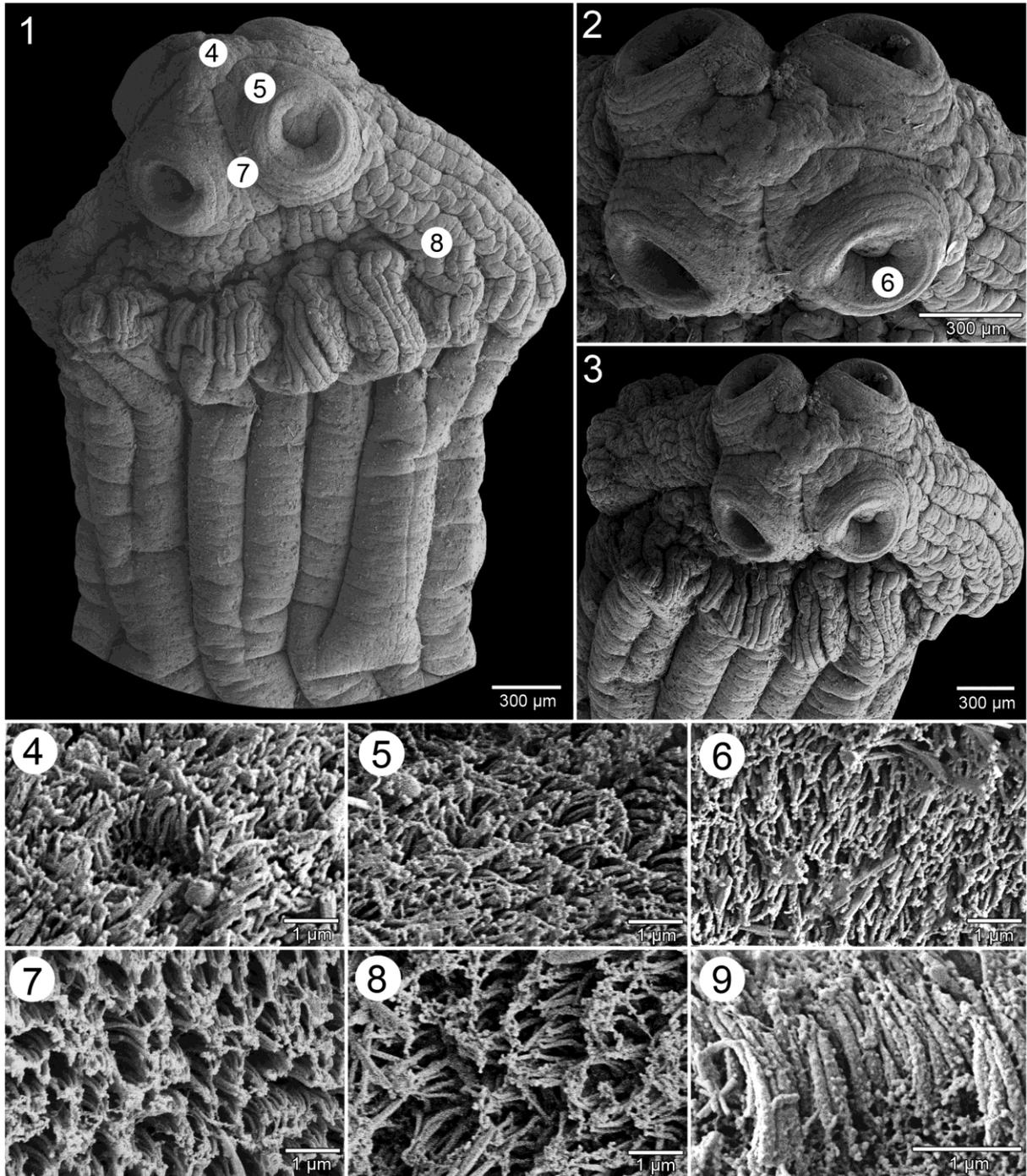
Prevalência: 29 peixes examinados/5 infectados (17%) coletados próximo a Itacoatiara.

Sequências representativas de DNA: genes 5.8S-ITS2-28S rDNA (AY551143), 18S rDNA (AY551108, KC786007), 28S rDNA (AJ388605, KC786017), 16S rDNA (AJ389509, KC785994) e *cox1* (AJ275056, KC785982) (ZEHNDER; MARIAUX 1999; HYPŠA et al., 2005; SCHOLZ et al., 2013).

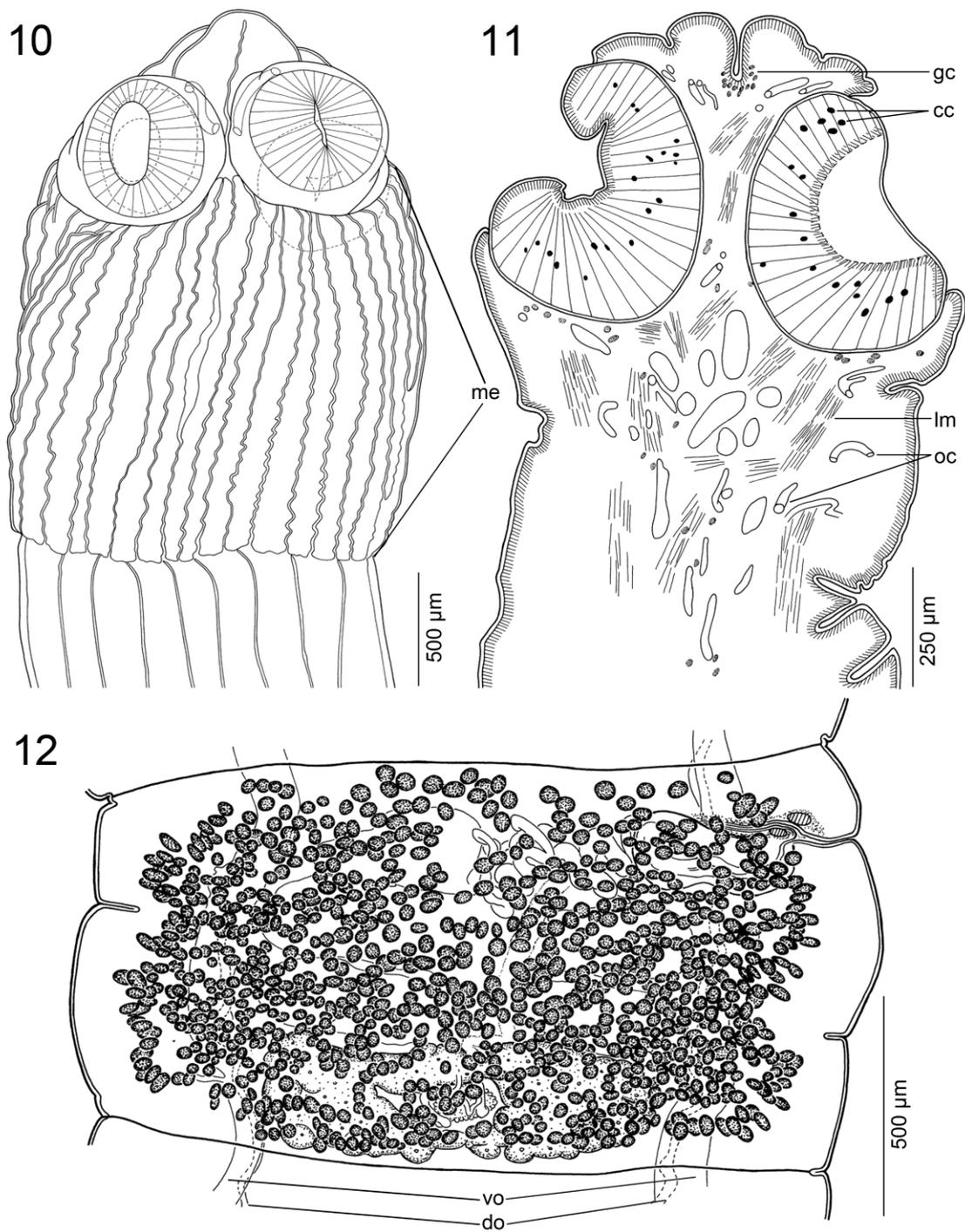
Descrições morfológicas: Diesing (1850, 1855), Mola (1906), Woodland (1933), Furhmann (1934), Rego (1984b) e presente estudo.

Material estudado: Espécime completo, fragmentos e cortes transversais seriados (sintipos, MHNG-PLAT-40806). 5 espécimes completos e cortes transversais seriados (vouchers,

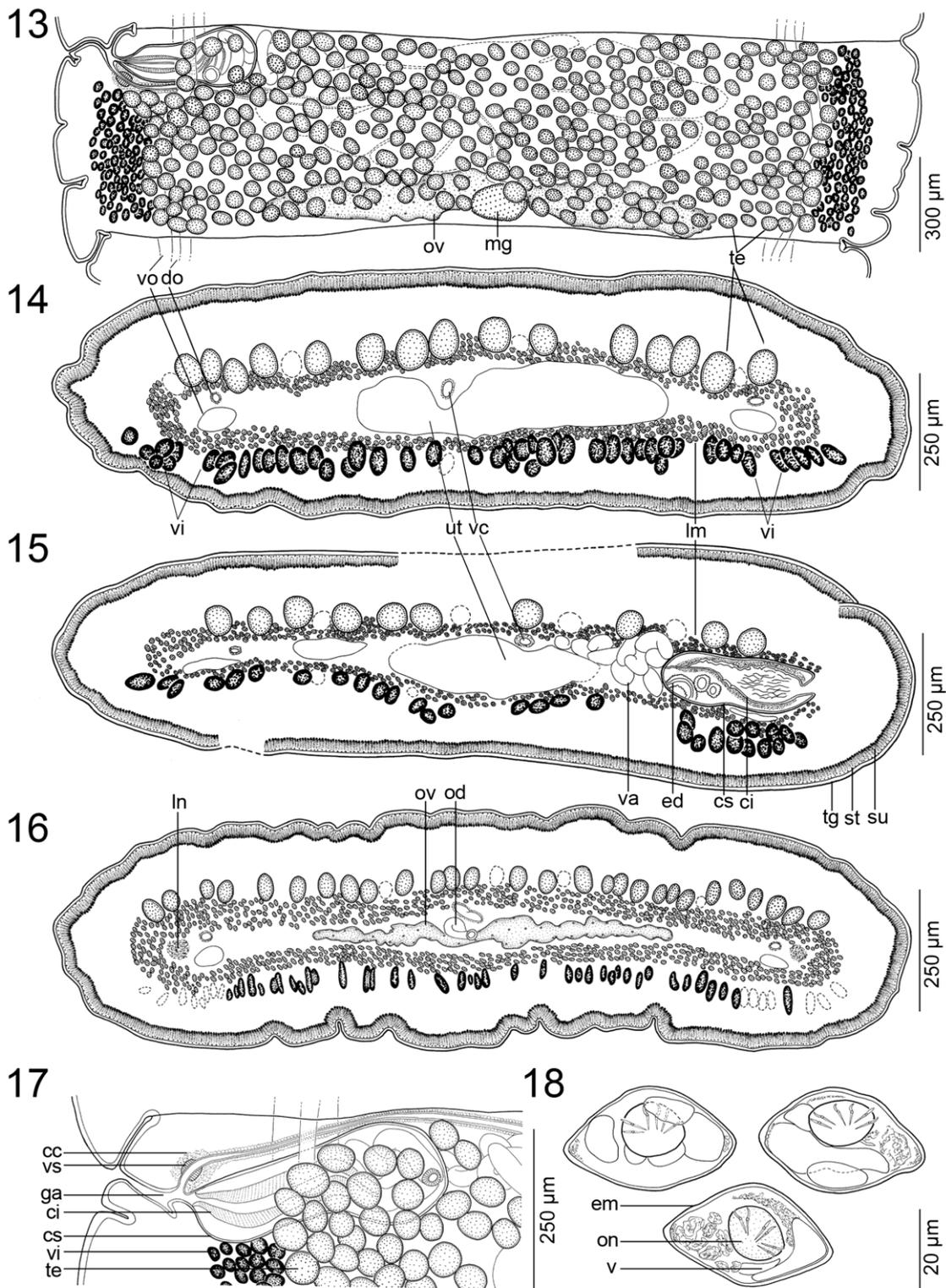
CHIOC 38886, MHNG-PLAT-21851, 21853, 21899, 21909, 21910), coletados em 5/10/1995, códigos de campo Br 539b-e, 540a,b. Espécime completo (voucher, MHNG-PLAT-22009), coletado em 9/10/1995, código de campo Br 649e. 2 espécimes completos e cortes sagitais seriados do escólex (MHNG-PLAT-22371, 28296), coletados em 10/10/1995, códigos de campo Br 652a,b; todos os espécimes foram coletados em Itacoatiara, Amazonas, Brasil, por A. A. Rego and A. de Chambrier.



Figuras 1–9. Micrografias (MEV) de *Ephedrocephalus microcephalus* Diesing, 1850 (MHNG-PLAT-28296) ex *Phractocephalus hemioliopterus*. 1. Escólex, vista lateral, evidenciando o metaescólex altamente enrugado. 2. Detalhe das ventosas, vista apical. 3. Escólex, vista apical. 4–9. Microtríquias no ápice do escólex, bordas internas e externas das ventosas, superfícies entre ventosas, no metaescólex e estróbiló, respectivamente.



Figuras 10–12. Morfologia de *Ephedrocephalus microcephalus* Diesing, 1850 ex *Phractocephalus hemioliopterus*. 10. Escólex, vista dorsoventral (MHNG-PLAT-22371). 11. Escólex, secção sagital (MHNG-PLAT-28296). 12. Proglótide grávida, vista ventral (MHNG-PLAT-22009); notar: os testículos foram omitidos.



Figuras 13–18. Morfologia de *Ephedrocephalus microcephalus* Diesing, 1850 ex *Phractocephalus hemioliopterus*. 13. Proglótide pré-grávida, vista dorsal (MHNG-PLAT-22009); notar: apenas os folículos vitelínicos laterais nas regiões pós-poral e antiporal são representados, embora eles ocupem toda superfície ventral da proglótides. 14–16. Secções transversais da região entre a bolsa do cirro e ovário, aos níveis da bolsa do cirro e ovário, respectivamente (MHNG-PLAT-21910). 17. Genitália terminal, vista dorsal (MHNG-PLAT-22009). 18. Ovos em água destilada (MHNG-PLAT-21851).

Comentários: A espécie foi brevemente descrita por Diesing (1850) sendo que o mesmo autor forneceu ilustrações adicionais do escólex e estróbilo (DIESING, 1855). Mola (1906) redescreveu a espécie com base no material tipo depositado no Museu de História Natural de Viena. Estudos morfológicos subsequentes não adicionaram dados significantes para uma melhor caracterização da espécie (ver WOODLAND, 1933; FURHRMANN, 1934; REGO, 1984b). Mais tarde, o mesmo autor (MOLA, 1929) propôs uma nova subfamília monotípica, Ephedrocephalinae, para acomodar *Ephedrocephalus microcephalus*, ação amplamente aceita (ver REGO, 1994).

O escólex de *E. microcephalus* foi, repetidamente ilustrado possuindo um metaescólex em forma de colar e expandido lateralmente (ver Figs. 2–5 em DIESING, 1855, Figs. 1–3 em MOLA, 1906 e Fig. 1A–C em FURHRMANN, 1934), porém sua morfologia depende do método de fixação utilizado. Provavelmente, os exemplares tipo foram fixados a frio, o que pode ter causado uma contração anormal do escólex (ver WOODLAND, 1933).

Woodland (1933) reportou ovos operculados em *E. microcephalus*, característica esta incluída na diagnose de *Ephedrocephalus* por Freze (1965) e Rego et al. (1999), embora, aparentemente, estes autores não tenham examinado os espécimes tipo. Se este caráter estivesse, de fato, presente nestes espécimes, este seria o primeiro caso de ovos operculados dentre todos os proteocefalídeos (e demais cestoides acetabulados, ver WAESCHENBACH et al., 2012). Neste estudo foi observado que os ovos de *E. microcephalus* não possuem nenhum tipo de estrutura externa rígida, ou seja, não possuem uma casca homóloga àquela presente em ovos dos cestoides mais basais (ver CONN; SWIDERSKI, 2008) e não possuem opérculo (ver Fig. 18 no presente estudo). Em sua morfologia, os ovos de *E. microcephalus* se assemelham mais aos das espécies de *Rudolphiella* Fuhrmann, 1916, *Brooksiella praeputialis* (Rego, Santos & Silva, 1974) e *Cangatiella macdonaghi* (Szidat & Nani, 1951) (ver GIL DE PERTIERRA; VIOZZI 1999; GIL DE PERTIERRA; DE CHAMBRIER 2000; DE CHAMBRIER et al., 2004b, presente estudo – Fig. 39).

Um estudo comparativo de ambas as espécies de *Cangatiella* revelou que os ovos de *C. arandasi* Pavanelli & Santos, 1991 possuem longas projeções polares (Fig. 38), e não filamentos, como afirmou Rego (1994).

A presença de vacúolos nos ovos de *E. microcephalus* também é considerada incomum em cestoides proteocefalídeos. Até o momento, apenas os ovos de *Travassiwella jandia* (Woodland, 1934), *Zygobothrium megacephalum* e *C. arandasi*, todos parasitos de bagres neotropicais, foram relatados com esta característica (ver Fig. 8 em DE CHAMBRIER; GIL DE PERTIERRA, 2002 e Figs. 37, 38 no presente estudo).

Embora alguns proteocefalídeos também apresentem folículos vitelínicos no córtex ventral (ver ALVES et al., 2017c e referências ali contidas), nenhum deles possui os folículos ocupando toda a área ventral das proglótides, como observado em *E. microcephalus*, ao contrário, os folículos vitelínicos destas espécies são distribuídos em duas bandas lateroventrais.

As relações filogenéticas de *E. microcephalus* permanecem incertas, embora este táxon, aparentemente, tenha divergido mais recentemente do seu ancestral quando comparado com *Z. megacephalum* (ver abaixo), pois em reconstruções filogenéticas anteriores (ver DE CHAMBRIER et al., 2015a) o mesmo aparece dentro de uma grande politomia, agrupado com proteocefalídeos parasitos de répteis de diferentes partes do globo, uma espécie que parasita gambás, *Didelphis marsupialis* Linnaeus (Mammalia), além de alguns representantes que parasitam bagres neotropicais, incluindo duas espécies de *Pseudocrepidobothrium* Rego & Ivanov, 2001, i.e., *Ps. eirasi* (Rego & de Chambrier, 1995) e *Ps. ludovici* Ruedi & de Chambrier, 2012, que também ocorrem em *Ph. hemiolepterus*.

5.3.3 Emenda do gênero *Zygobothrium* Diesing, 1850

Diagnose: Onchoproteocephalidea, Proteocephalidae. Testículos, ovário e útero medulares; folículos vitelínicos corticais. Cestoides de tamanho médio. Estróbilo craspedotado, com 4 lacinações, ‘véu’, em cada proglótide (2 dorsais e 2 ventrais); proglótides mais largas que longas, variáveis em forma e tamanho. Escólex massivo, com ápice quadrilobado, sem órgão apical, consideravelmente mais largo que estróbilo; zona proliferativa ausente. Ventosas alongadas, profundas, com septo separando duas aberturas do lóculo único. Musculatura longitudinal interna bem desenvolvida, com numerosos feixes de fibras musculares. Testículos em 1 campo e 1–3 camadas irregulares. Bolsa do cirro alongada a ligeiramente sigmóide, torcido/constrito distalmente; cirro armado com espinitríquias. Poros genitais pré-equatoriais, irregularmente alternados. Átrio genital presente, profundo. Ovário com 2 lóbulos foliculares, raramente penetrando a musculatura longitudinal interna ao córtex dorsal. Vagina anterior ou posterior a bolsa do cirro. Porção terminal do canal vaginal (*pars copulatrix vaginae*) cercado por células cromofílicas; esfíncter vaginal presente. Folículos vitelínicos em duas fileiras laterais, alcançando a margem anterior das proglótides, poucos folículos na região pré-poral. Desenvolvimento uterino do tipo 2 *sensu* de Chambrier et al. (2004a, 2015a). Parasitos de pimelodídeos (Siluriformes) da região Neotropical.

Espécie tipo e única conhecida: *Zygobothrium megacephalum* Diesing, 1850.

Comentários: a subfamília Zygobothriinae Woodland, 1933, classificação não-natural utilizada por razões práticas (ver DE CHAMBRIER et al., 2015a), é composta por 8 gêneros: *Amphoteromorphus* Diesing, 1850, *Brooksiella* Rego, Chubb & Pavanelli, 1999; *Gibsoniella* Rego, 1984; *Harriscolex* Rego, 1987; *Houssayela* Rego, 1987; *Nomimoscolex* Woodland, 1933; *Travassiella* Rego, 1987; e *Zygobothrium* Diesing, 1950 (ver DE CHAMBRIER et al., 2017). *Zygobothrium* difere de todos esses gêneros, bem como de todos os demais proteocefalídeos, pela combinação dos seguintes caracteres: (i) ventosas uniloculadas, com duas aberturas separadas por um septo robusto; (ii) estróbilo craspedotado, com quatro lacinações semelhantes a um véu em cada proglótides; (iii) bolsa do cirro constrita em sua parte distal; (iv) e pequenas projeções digitiformes na superfície do embrióforo.

5.3.4 Redescrição de *Zygobothrium megacephalum* Diesing, 1850

Descrição (Figuras 19–37) baseada em 12 espécimes adultos, 1 escólex e proglótide (MEV).

Onchoproteocephalidea, Proteocephalidae. Testículos, ovário e útero medulares; folículos vitelínicos corticais. Comprimento total do corpo 16–38 mm (n = 5), largura máxima 2.3 mm (n = 12). Estróbilo anapolítico, craspedotado, com 2 lacinações (véu) dorsais e 2 ventrais, consistindo em c. 80–105 proglótides: 50–65 imaturas, 4–5 maduras, 22–26 pré-grávidas e 5–8 grávidas. Proglótides imaturas, maduras e pré-grávidas marcadamente mais largas que longas (razão comprimento: largura 0,06–0,40), proglótides grávidas mais largas que longas (razão comprimento: largura 0,50–0,90).

Escólex robusto, quadrangular, 1,5–1,6 × 2,7–2,9 mm (n = 4), com 4 ventosas uniloculadas, 2 aberturas cada, separadas por 1 septo (Figs. 19–21, 29). Ventosas alongadas, profundas, altamente musculares, 940–1205 × 435–580 (n = 5); musculatura circular servindo como esfíncter presente em ambas margens anteriores (Fig. 29). Ápice achatado, sem órgão apical (Figs. 19–21, 29). Ápice do escólex e margem externa das ventosas cobertos por filitríquias capiliformes, intercaladas por espinitríquias gladiadas (Figs. 23, 25); septo da ventosa coberto por poucas filitríquias capiliformes, intercaladas por espinitríquias gladiadas

espessas (Fig. 24); superfície entre ventosas cobertas por filitríquias capiliformes, intercaladas por poucas espinitríquias gladiadas (Fig. 26); estróbilo e lacinações (véu) cobertos por filitríquias capiliformes de similar aparência e densidade (Fig. 27, 28).

Musculatura longitudinal interna bem desenvolvida, formando 1 fileira de feixes musculares espessos, ventrodorsais (Figuras 32–35). Canais osmoregulatórios situados em diferentes níveis, com canais ventrais medianos aos dorsais; canais ventrais de paredes grossas, ao mesmo nível dos testículos laterais (Figuras 31–36); canal dorsal mais estreito que ventral (Fig. 31–36).

Testículos numerosos, esféricos, 60–70 em diâmetro, em 2 ou 3 camadas medulares, 110–200 ($x = 159$; $n = 8$) em número por proglótide madura (Figs. 30, 32, 33). Testículos em 1 campo, ventrais ao ovário, dorsais a bolsa do cirro (Figs. 31–35); presentes em proglótides grávidas. Vaso deferente contorcido, formando um campo alongado sem cruzar a linha mediana das proglótides (Fig. 30). Bolsa do cirro alongada, paredes grossas, composta de duas partes: distal (anterior), maior que a parte proximal (posterior) (Figs. 30, 31, 34–36), $400\text{--}610 \times 70\text{--}95$ ($n = 17$); comprimento representando 17–29% ($x = 23$; $n = 9$) da largura das proglótides. Ducto espermático (vaso deferente interno) sinuoso (Figs. 30, 36). Cirro muscular, armado com espinitríquias (Fig. 36), ocupando o máximo de 80% ($n = 17$) do comprimento da bolsa do cirro. Poros genitais alternando irregularmente, marcadamente pré-equatoriais ou aproximadamente equatoriais, situados a 23–48% ($x = 30$; $n = 17$) da margem anterior das proglótides (Figs. 30, 31).

Ovário medular, bilobado, foliculado, com alguns folículos penetrando a musculatura longitudinal interna ao córtex dorsal (Fig. 33), ocupando 37–56% ($x = 50\%$; $n = 11$) da largura das proglótides, seu comprimento representando 24–54% ($x = 42\%$; $n = 11$) do comprimento das proglótides (Figs. 30, 31). Glândula de Mehlis *c.* 115–215 em diâmetro, representando 9% da largura das proglótides ($n = 5$). Tamanho relativo do ovário (ver DE CHAMBRIER et al., 2012) 21–22% ($n = 2$).

Canal vaginal ligeiramente sinuoso, cercado por células cromofílicas, concentradas na porção terminal (*pars copulatrix vaginae*); esfíncter vaginal esférico, a certa distância do átrio genital (Figs. 30, 31, 35, 36). Vagina anterior (42%) ou posterior (58%) a bolsa do cirro ($n = 26$). Folículos vitelínicos laterais, formando 2 campos amplos, ventrais e dorsais, raramente presentes preporalmente (Figs. 30–33).

Desenvolvimento uterino do tipo 2; útero com 8–11 divertículos laterais (Fig. 31). Ovos arredondados, vacuolados, envelope externo 50–65 de diâmetro ($n = 5$); embrióforo 23–25, oncosfera 11–12, ganchos embrionários 6–7 de comprimento ($n = 5$) (Fig. 37).

Resenha taxonômica.

Hospedeiro tipo e único conhecido: Phractocephalus hemioliopterus (Bloch & Schneider) (Siluriformes: Pimelodidae).

Localidade tipo: Sul da bacia do Rio Amazonas, Estado do Mato Grosso, Brasil (localidade específica desconhecida. Material coletado por Johann Natterer em 1826 e 1828 (ver DIESING, 1855).

Localidade adicional: Rio Amazonas, próximo a Itacoatiara (Estado do Amazonas, Brasil; $3^{\circ}09'S$, $58^{\circ}26'O$); Rio Amazonas, próximo a Iquitos (Região de Loreto, Peru; $3^{\circ}34'S$, $72^{\circ}50'O$); Rio Xingú, próximo a Altamira (Estado do Pará, Brasil ($3^{\circ}12'S$: $52^{\circ}12'O$).

Sítio de infecção: intestino (porção posterior).

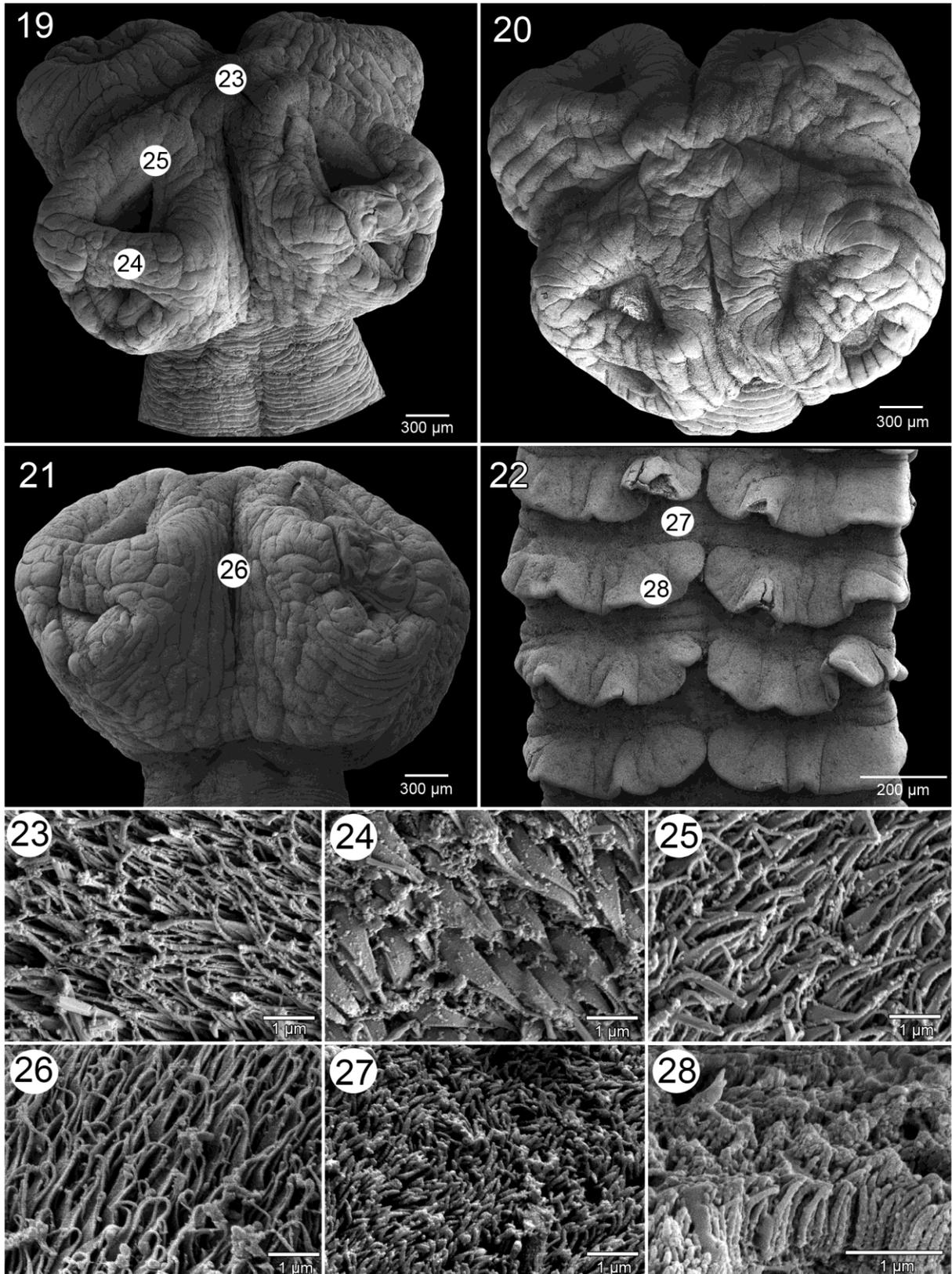
Prevalência: 29 peixes examinados/20 infectados (69%), coletados no Rio Amazonas, próximo a Itacoatiara; 5 peixes examinados/3 infectados (60%), coletados no Rio Xingú, próximo a Altamira.

Sequências representativas de DNA: genes 5.8S-ITS2-28S rDNA (AY551177), 18S rDNA (AF286991), 28S rDNA (AF286939, AJ388621), 16S rDNA (AJ389508), *cox1* (AJ275053)

(ZEHNDER; MARIAUX, 1999; OLSON et al., 2001; HYPŠA et al., 2005). Um fragmento de 1513 bp do gene 28S rDNA (domínios D1–D3) de um único espécime coletado do Rio Xingú (tributário do Rio Amazonas) foi gerado *de novo* (GenBank MG429813). Esta sequência é 503 bp maior que aquela proveniente do mesmo hospedeiro e bacia hidrográfica disponível no GenBank.

Descrições morfológicas: Diesing (1850, 1855), Woodland (1933), Fuhmann (1934), Rego (1984b) e presente estudo.

Material estudado: 5 espécimes completos e cortes transversais seriados (sintipos, MHNG-PLAT-42526, 42527). 3 espécimes completos e cortes transversais (vouchers, MHNG-PLAT-18316, 18317), coletados em 17/09/1992, códigos de campo Br 291, 326. Espécime completo e cortes sagitais seriados do escólex (vouchers, CHIOC 38884, MHNG-PLAT-1847), coletados em 1/10/1995, código de campo Br 445. 5 espécimes completos, fragmentos e cortes sagitais do escólex fixado ao intestino do hospedeiro (vouchers, CHIOC 38885, MHNG-PLAT-19302, 21846, 21854, 21911, 22014, 22049, 22370, 85239), coletados entre 5/10/1995 e 18/10/1995, códigos de campo Br 334, 445, 539, 547, 599, 649, 802, 804; todos espécimes foram coletados próximo a Itacoatiara, Brasil, por A. A. Rego e A. de Chambrier. 2 espécimes completos (vouchers CHIOC 38883, IPCAS C-401), coletados em 24/04/2013, códigos de campo BR-X 35a (hologenóforo), BR-X 70d1. Espécime completo em álcool 70° GL (voucher, CHIOC 38567), coletado em 24/04/2013, códigos de campo BR-X 06d; espécimes coletados próximo a Altamira, Brasil, por P. V. Alves e T. Scholz.



Figuras 19–28. Micrografias (MEV) de *Zygobothrium megacephalum* Diesing, 1850 (MHNG-PLAT-85239) ex *Phractocephalus hemioiopterus*. 19. Escólex, vista antero-dorsoventral 20. Escólex, vista apical. 21. Escólex, vista lateral. 22. Detalhe da superfície de uma proglótide madura; notar: padrão craspedotado. 23–28. Microtríquias no ápice do escólex, septo das ventosas, margem das ventosas, entre ventosas, superfícies do estróbilo e lacinações, respectivamente.

29

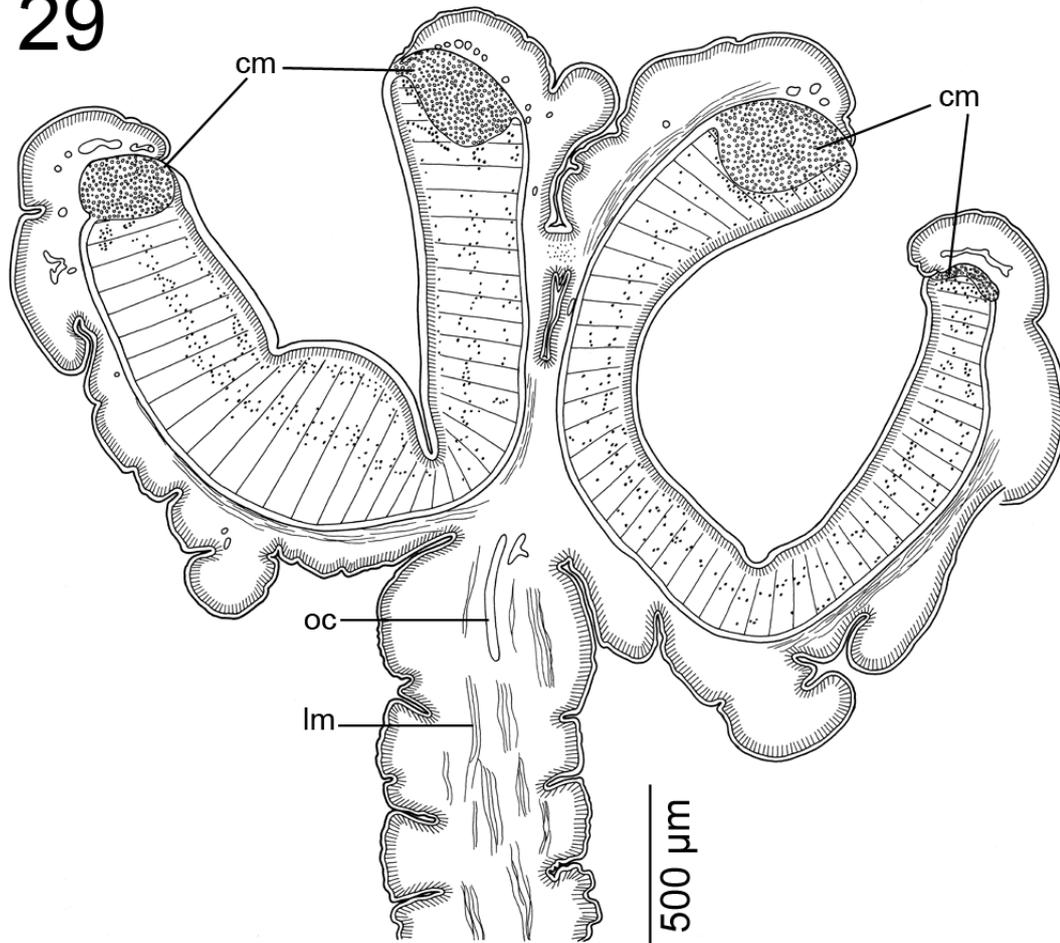
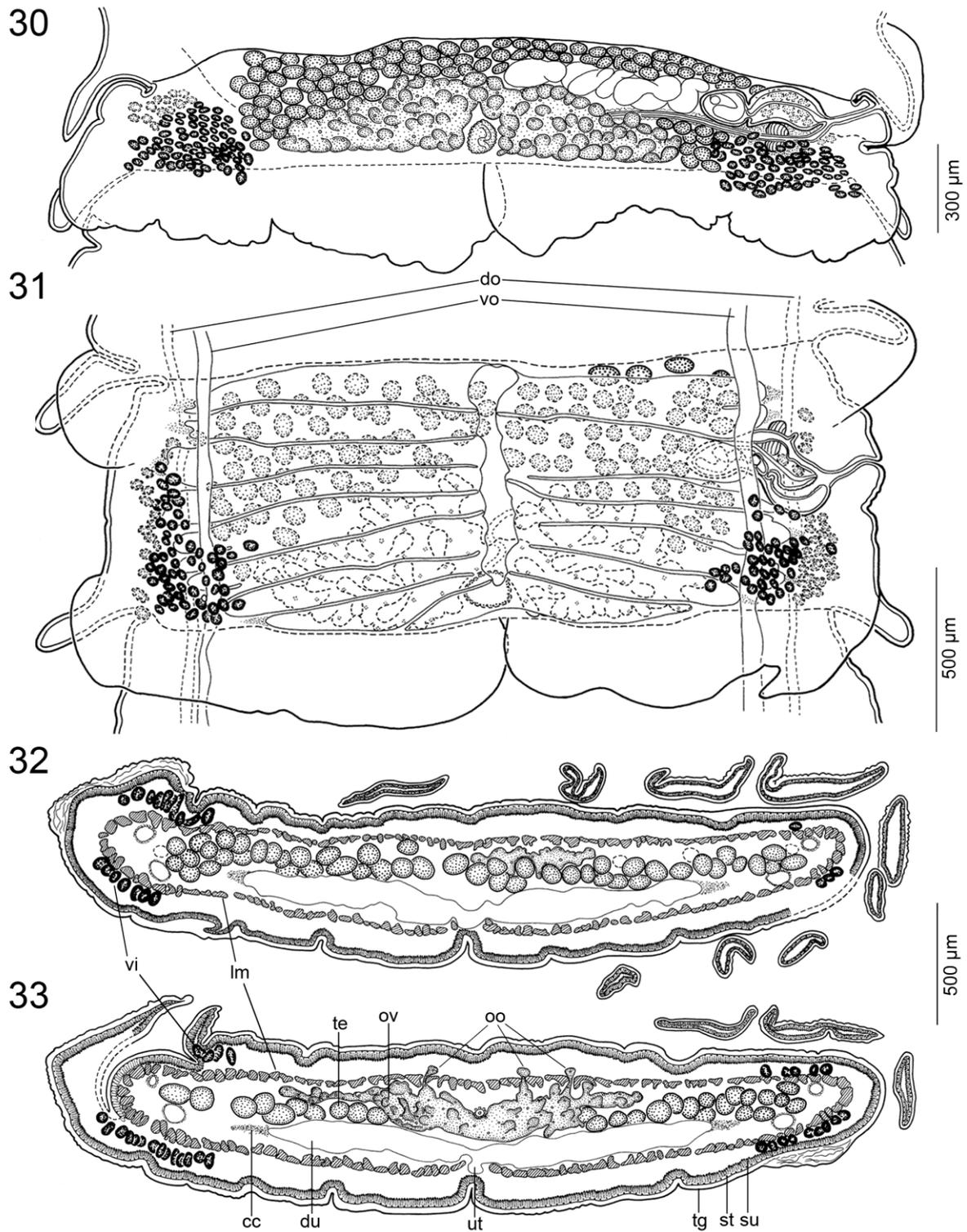
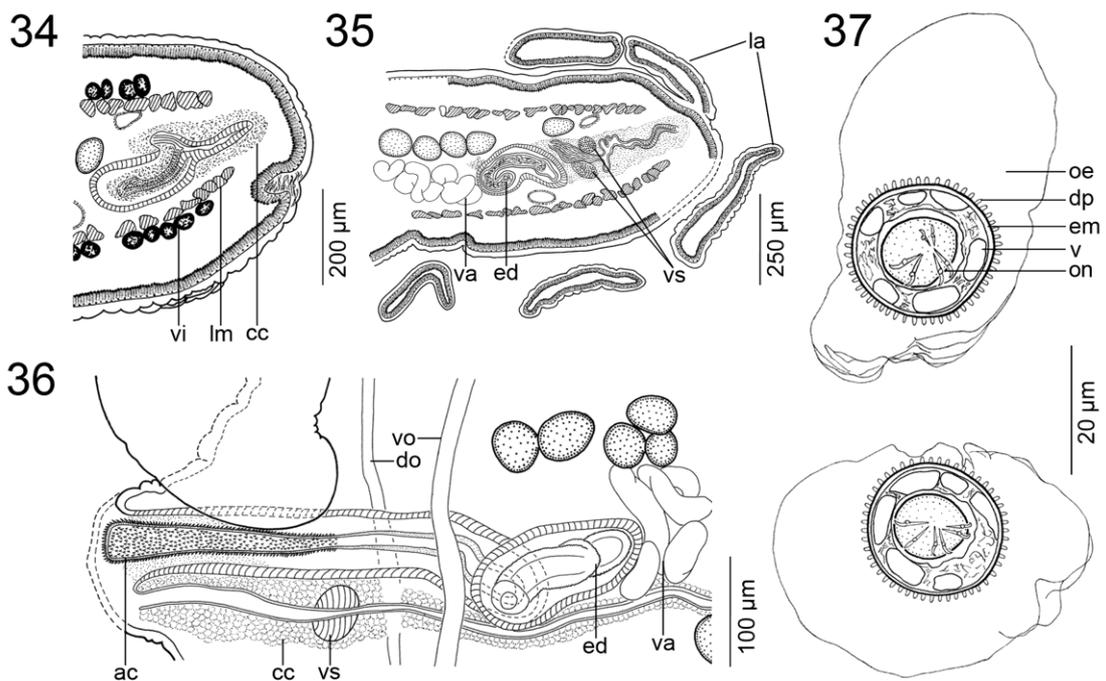


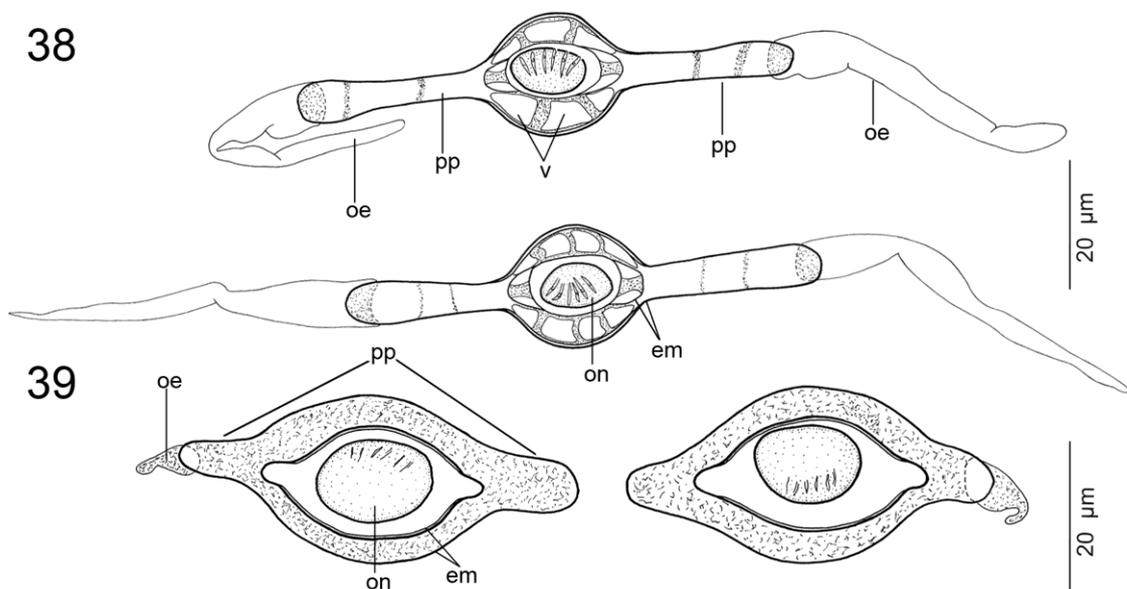
Figura 29. Morfologia do escólex de *Zygobothrium megacephalum* Diesing, 1850 ex *Phractocephalus hemioliopterus*. Corte sagital mostrando a musculatura circular desenvolvida, na parte anterior das ventosas, servindo como um esfíncter para o sistema de fixação ao intestino do hospedeiro.



Figuras 30–33. Morfologia de *Zygobothrium megacephalum* Diesing, 1850 ex *Phractocephalus hemioliopterus*. 30. Proglótide pré-grávida, vista ventral (MHNG-PLAT-21854); notar: útero omitido. 31. Proglótide grávida, vista ventral (MHNG-PLAT-85239). 32, 33. Secções transversais nas regiões anterior e posterior da proglótide, respectivamente (MHNG-PLAT-18316).



Figuras 34–37. Morfologia de *Zygobothrium megacephalum* Diesing, 1850 ex *Phractocephalus hemioliopterus*. 34, 35. Secções transversais aos níveis anterior e posterior da genitália terminal, respectivamente. 36. Genitália terminal, vista ventral (MHNG-PLAT-18317); 37. Ovos em água destilada (MHNG-PLAT-85239).



Figuras 38, 39. Morfologia dos ovos de *Cangatiella* Pavanelli & Santos, 1991 em água destilada. 38. *Cangatiella arandasi* Pavanelli & Santos, 1991 (MHNG-PLAT-34751) ex *Trachelyopterus galeatus*. 39. *Cangatiella macdonaghi* (Szidat & Soria, 1951) (MHNG-PLAT-30269) ex *Odontesthes hatcheri*.

Comentários: A espécie foi brevemente caracterizada por Diesing (1850), que examinou 17 exemplares coletados por J. Natterer no Brasil. Diesing (1855) ilustrou a morfologia externa deste táxon, incluindo a morfologia do escólex e porções estrobilares. Detalhes adicionais foram descritos na literatura, incluindo interpretações dúbias de alguns caracteres morfológicos. Woodland (1933) forneceu uma caracterização morfológica detalhada da espécie; os dados morfométricos fornecidos por este pesquisador, estão de acordo com aqueles mensurados no presente trabalho, apesar de, aparentemente, Woodland (1933) tenha estudado espécimes maiores. O mesmo autor descreveu grande parte das características peculiares a *Z. megacephalum*, embora os folículos ovarianos que penetram no córtex dorsal tenham sido confundidos com folículos vitelínicos. Além disso, Woodland (1933) propôs a subfamília Zygobothriinae para acomodar *Zygobothrium*, ação taxonômica amplamente aceita (FREZE, 1965; REGO, 1994).

Fuhrmann (1934) também estudou o material tipo de *Z. megacephalum* e ilustrou os folículos ovarianos penetrando no córtex dorsal, além da correta posição das fileiras de folículos vitelínicos, esfíncter vaginal e canais osmorregulatórios. No entanto, o mesmo negligenciou os esfíncteres nas margens anteriores das ventosas e descreveu a musculatura longitudinal interna como pouco desenvolvida quando, de fato, as Figs. 32 e 33 do presente estudo evidenciem o contrário.

Rego (1984b) forneceu as primeiras imagens de MEV de *Z. megacephalum* e reportou a presença de um órgão glandular no ápice do escólex desta espécie, mas nenhum tipo de órgão similar foi encontrado nos espécimes do presente trabalho (Fig. 29). Schmidt (1986) reportou os poros genitais como sendo unilaterais, porém os poros alternam irregularmente.

A análise filogenética molecular mais abrangente, ainda que deduzida a partir de sequências de um único gene (28S rDNA), revelou *Z. megacephalum* como um dos cestoides neotropicais mais basais, ao lado de outras duas espécies que parasitam *Ph. hemioliopus*, i.e., *Proteocephalus hemiolioperti* de Chambrier & Vaucher, 1997 e *Scholzia emarginata* (Diesing, 1850) (ver DE CHAMBRIER et al., 2015a). Estas 3 espécies formam um clado bem suportado com aquelas da subfamília Corallobothriinae, provenientes da região Neártica a partir de bagres ictalurídeos (Ictaluridae); são espécies dos gêneros *Corallotaenia* Freze, 1965, *Essexiella* Scholz, Chambrier, Mariaux & Kuchta, 2011 e *Megathylacoides* Jones, Kerley & Sneed, 1956.

Além da sua posição filogenética mais basal entre os proteocefalídeos de peixes neotropicais, *Z. megacephalum* possui uma combinação única de características que ocorrem raramente dentro de Proteocephalidae, brevemente discutida abaixo.

(1) As ventosas uniloculadas com cavidade dividida por septo, isto é, com duas aberturas, foram descritas anteriormente apenas em *Barsonella lafoni* de Chambrier, Scholz, Beletew & Mariaux, 2009 ex *Clarias* spp. (Siluriformes) na África. No entanto, as aberturas nestas duas espécies são visivelmente diferentes umas das outras, sendo a abertura posterior em *B. lafoni* muito menor do que a anterior (DE CHAMBRIER et al., 2009b). Vale ressaltar que as espécies estão intimamente relacionadas filogeneticamente (ver DE CHAMBRIER et al., 2015a).

(2) O cirro armado com espinitríquias foi relatado anteriormente apenas em *Euzetiella tetraphylliformis* de Chambrier, Rego & Vaucher, 1999, parasito de pimelodídeos do gênero *Zungaro* Bleeker, no Brasil (DE CHAMBRIER et al., 1999). No entanto, a presença de cirro ornamentado é comum entre cestoides ciclofilídeos e membros de diferentes ordens de cestoides parasitos de elasmobrânquios (ver CAIRA; JENSEN, 2017). Portanto, essa característica pode ter surgido mais de uma vez durante a história evolutiva do grupo.

(3) A presença de estróbilos craspedotados, i.e., com lacinações (véu), está presente apenas em *S. emarginata* (ver DE CHAMBRIER et al., 2005), também descrito em *P. hemioliopus*, mas a importância funcional desta estrutura ainda é desconhecida.

(4) As projeções digitiformes na superfície do embrióforo foram observadas apenas nos ovos de proteocefalídeos com hospedeiros terrestres, como os parasitos de serpentes *Vaucheriella bicheti* de Chambrier, 1987 ex *Tropidophis* cf. *taczanowskyi* (Steindachner) no Equador e *Ophiotaenia gallardi* (Johnston, 1911) ex *Pseudechis porphyriacus* (Shaw) na Austrália; e parasitos de mamíferos *Thaumasiosecolex didelphidis* Cañeda-Guzmán, de Chambrier & Scholz, 2001 ex *Didelphis marsupialis* Linnaeus no México (CAÑEDA-GUZMÁN et al., 2001; COQUILLE; CHAMBRIER, 2008; DE CHAMBRIER; DE CHAMBRIER, 2010). As duas últimas espécies são filogeneticamente distantes de *Z. megacephalum* (dados moleculares de *V. bicheti* não estão disponíveis) e, portanto, é aceitável considerar a presença dessas estruturas como adaptações funcionais de espécies com histórias evolutivas independentes.

(5) A presença de folículos ovarianos no córtex, ou seja, penetrando a musculatura longitudinal interna até atingir o córtex dorsal, é uma característica de *Frezella vaucheri* Alves, Chambrier, Scholz & Luque, 2015 e espécies das antigas subfamílias Endorchiinae, Rudolphiellinae e algumas espécies de Peltidocotylineae (DE CHAMBRIER; VAUCHER, 1997; GIL DE PERTIERRA; DE CHAMBRIER, 2000; GIL DE PERTIERRA, 2009; ALVES et al., 2015). No entanto, esta parece ser uma característica homoplástica, uma vez que estas espécies não estão filogeneticamente relacionadas (ver DE CHAMBRIER et al., 2015a).

5.4 DISCUSSÃO

A ‘pirarara’, *Phractocephalus hemioliopus*, é um pimelodídeo que pode ser considerado um “fóssil vivo”, já que divergiu de sua forma ancestral no final da época Mioceno, sendo o único membro do gênero *Phractocephalus* Agassiz ainda presente na natureza (LUNDBERG; AGUILERA, 2003). Assim como os membros do gênero *Steindachneridion* Eigenmann & Eigenmann, este bagre está entre os membros mais basais da família Pimelodidae (ver LUNDBERG et al., 2011). Até o momento, existem 7 espécies em 6 gêneros de cestóides proteocefalídeos descritas em *Ph. hemioliopus* (espécimes de um novo gênero foram recentemente encontradas no rio Xingú, mas o número limitado de exemplares impede a preparação de uma descrição formal). Todas essas espécies ocupam posições basais entre os táxons neotropicais, exceto *Riggenbachiella amazonense* Alves, de Chambrier, Luque & Scholz, 2017, que se agrupa dentro da grande politomia dos táxons derivados (ALVES et al., 2017b). Isto corrobora dois pressupostos: (i) espécies de *Scholzia*, *Zygobothrium* e *Pr. hemiolioperti* estão entre os mais basais proteocefalídeos de peixes neotropicais e podem se assemelhar às formas ancestrais, assim como *P. hemioliopus*; (ii) eventos de colonização podem ter ocorrido várias vezes durante a longa história evolutiva deste hospedeiro. Em comparação com outros bagres neotropicais, apenas *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus), *Z. zungaro* (Humboldt) e *Z. jahu* (Ihering) servem como hospedeiros definitivos para um maior número de espécies de cestóides proteocefalídeos (ALVES et al., 2017a).

Os proteocefalídeos encontrados em *Ph. hemioliopus* estão distribuídos de forma desigual no lúmen intestinal, com 5 espécies ocorrendo quase sempre dentro dos primeiros 60% de seu comprimento, a saber, *Pr. hemiolioperti*, *Ps. eirasi*, *Ps. ludovici*, *R. amazonense* e *S. emarginata* (ver RUEDI; DE CHAMBRIER, 2012 para obter dados detalhados sobre a preferência dos sítios de infecção). Ambas espécies aqui redescritas, no entanto, ocorrem exclusivamente na região posterior do intestino.

Proteocephalus hemiolioperti e *S. emarginata* ocorrem em simpatria na região anterior do intestino de *Ph. hemioliopus*. Ambas espécies compartilham escólices praticamente indistinguíveis, embora difiram marcadamente na morfologia do estróbilo. Uma vez considerada importante para a classificação de cestóides proteocefalídeos (ver REGO et al., 1999), a morfologia do escólex pode ser extremamente variável, com diversos exemplos de evolução convergente em diferentes táxons (SCHOLZ et al., 2013; ALVES et al., 2017b; ARREDONDO et al., 2017), enquanto a anatomia estrobilar pode ser mais conservada e indicativa de relações filogenéticas. Por exemplo, os tipos de desenvolvimento uterino e a área superficial do ovário em relação à superfície total das proglótides demonstraram ser úteis, com certo grau de complexidade, para a avaliação das interrelações dos proteocefalídeos (DE CHAMBRIER et al., 2015a, 2017).

Embora os cestóides parasitos de *Ph. hemioliopus* não formem um grupo monofilético, a chave de identificação apresentada a seguir auxiliará na identificação rotineira de cestóides, que frequentemente, ocorrem em simpatria no intestino deste hospedeiro (RUEDI; DE CHAMBRIER, 2012). Como já dito, a identificação precisa do sítio de infecção deve ser sempre notada durante a dissecação.

5.4.1 Chave de identificação de proteocefalídeos (Proteocephalidae) parasitos de *Phractocephalus hemioliopterus*

1a	Estróbilo craspedotado (lacinações presentes)	2
1b	Estróbilo acraspedotado (lacinações ausentes)	3
2a	Escólex massivo, com ventosas uniloculadas bipartidas; folículos vitelínicos corticais; musculatura longitudinal interna bem desenvolvida	
 <i>Zygobothrium megacephalum</i>	
2b	Escólex tetralobado, com ventosas côncavas; folículos vitelínicos medulares; musculatura longitudinal interna pouco desenvolvida	
 <i>Scholzia emarginata</i>	
3a	Metaescólex presente; folículos vitelínicos em 1 campo ventral	
 <i>Ephedrocephalus microcephalus</i>	
3b	Metaescólex ausente; folículos vitelínicos em 2 fileiras laterais	4
4a	Ventosas biloculadas; bolsa do cirro sigmóide, com ducto espermático dividido em câmaras	
 <i>Riggenbachiella amazonense</i>	
4b	Ventosas uniloculadas; bolsa do cirro piriforme, com ducto espermático altamente contorcido	5
5a	Folículos vitelínicos presentes na região pré-poral, com posição medular; ventosas côncavas	
 <i>Proteocephalus hemioliopteri</i>	
5b	Folículos vitelínicos ausentes na região pré-poral, com posição medular ou paramuscular; ventosas entalhadas posteriormente (cordiformes)	6
6a	Apêndices ventrais posteriores presentes	
 <i>Pseudocrepidobothrium eirasi</i>	
6b	Apêndices ventrais posteriores ausentes	
 <i>Pseudocrepidobothrium ludovici</i>	

6. CONCLUSÕES GERAIS

- O uso de uma abordagem taxonômica integrativa nos estudos de cestoides proteocefalídeos na América do Sul fortalece significativamente as hipóteses quanto a validade de táxons individuais e das demais categorias sistemáticas superiores.
- A morfologia do escólex, disposição dos órgãos internos em relação à musculatura longitudinal e a posição da vagina em relação à bolsa do cirro, são características que não podem ser usadas inequivocadamente para a elucidação das relações de parentesco dos proteocefalídeos na região.
- A adição de táxons terminais à filogenia de cestoides proteocefalídeos da região Neotropical, com base na utilização do gene ribossomal 28S rDNA, não implica em uma melhor reconstrução da história evolutiva deste grupo nesta região.
- O uso de novas tecnologias de sequenciamento molecular, como a “next generation sequencing” (NGS) podem ser úteis para elucidação da história evolutiva do grupo a partir do sequenciamento completo de vários genes.
- Os capítulos 3 e 4 exemplificam a importância dos espécimes testemunho depositados em coleções helmintológicas internacionais para a correção e/ou complementação de informações sobre um determinado táxon.
- A utilização conjunta de dados morfológicos e moleculares demonstram que a especificidade parasitária pode ser variável, ao contrário da alta (estrita) especificidade comumente reportada na literatura.
- Embora a fauna de proteocefalídeos parasitos de peixes na América do Sul seja reconhecidamente diversa, o presente estudo reitera a ideia de que o conhecimento atual da mesma é fragmentário e incipiente; somente nesta tese, foram propostos 2 gêneros, descritas 3 espécies, além de 2 novas combinações e 5 redescições.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, P. V. et al. A new genus and species of proteocephalidean tapeworm (Cestoda), first parasite found in the driftwood catfish *Tocantinsia piresi* (Siluriformes: Auchenipteridae) from Brazil. **Folia Parasitologica**, v. 62, p. 006, 2015.

ALVES, P. V. et al. Annotated checklist of fish cestodes from South America. **Zookeys**, v. 650, p. 1–205, 2017a.

ALVES, P. V. et al. Untangling convoluted taxonomy of *Chambriella* Rego, Chubb & Pavanelli, 1999 (Cestoda: Proteocephalidae), with erection of *Riggenbachiella* n. g. and the description of a new species from pimelodid catfishes in the Neotropical Region. **Systematic Parasitology**, v. 94, p. 367–389, 2017b.

ALVES, P. V. et al. Reappraisal of *Goezeella* Fuhrmann, 1916 (Cestoda: Proteocephalidae), parasites of Neotropical catfishes (Siluriformes), with description of a new species from *Pimelodella cristata* (Heptapteridae). **Revue suisse de Zoologie**, v. 124, 335–350, 2017c.

ALVES, P. V. et al. Towards a robust systematic baseline of Neotropical fish tapeworms (Cestoda: Proteocephalidae): amended diagnoses of two genera from the redbtail catfish, *Phractocephalus hemioliopus*. **Zootaxa**, v. 4370, p. 363–380, 2018.

ARREDONDO, N. J.; ALVES, P. V.; GIL DE PERTIERRA, A. A. A new genus of proteocephalid tapeworm (Cestoda) from the marbled swamp eel *Synbranchus marmoratus* Bloch (Synbranchiformes: Synbranchidae) in the River Paraná basin, Argentina. **Folia Parasitologica**, v. 64, p. 015, 2017.

ARREDONDO, N. J.; DE CHAMBRIER, A.; GIL DE PERTIERRA, A. A. A new genus and species of the Monticelliinae (Eucestoda: Proteocephalidea), a parasite of *Pseudoplatystoma fasciatum* (Pisces: Siluriformes) from the Paraná River basin (Argentina), with comments on microtriches of proteocephalideans. **Folia Parasitologica**, v. 60, p. 248–256, 2013.

ARREDONDO, N. J.; GIL DE PERTIERRA, A. A. The taxonomic status of *Spatulifer* cf. *maringaensis* Pavanelli & Rego, 1989 (Eucestoda: Proteocephalidea) from *Sorubim lima* (Bloch & Schneider) (Pisces: Siluriformes), and the use of the microtrix pattern in the discrimination of *Spatulifer* spp. **Systematic Parasitology**, v. 70, p. 223–236, 2008.

ARREDONDO, N. J.; GIL DE PERTIERRA, A. A. *Monticellia santafesina* n. sp. (Cestoda: Proteocephalidea), a parasite of *Megalonema platanum* (Günther) (Siluriformes: Pimelodidae) in the Paraná River basin, Argentina. **Systematic parasitology**, v. 76, p. 103–110, 2010.

ARREDONDO, N. J.; GIL DE PERTIERRA, A. A. *Margaritaella gracilis* gen. n. et sp. n. (Eucestoda: Proteocephalidea), a parasite of *Callichthys callichthys* (Pisces: Siluriformes) from the Paraná River basin, Argentina. **Folia Parasitologica**, v. 59, p. 99–106, 2012.

ARREDONDO, N. J.; GIL DE PERTIERRA, A. A.; DE CHAMBRIER, A. A new species of *Pseudocrepidobothrium* (Cestoda: Proteocephalidea) from *Pseudoplatystoma reticulatum* (Pisces: Siluriformes) in the Paraná River basin (Argentina). **Folia Parasitologica**, v. 61, p. 462–472, 2014

BARROS, F. B. Etnoecologia da pesca na Reserva Extrativista Riozinho do Anfrísio – Terra do Meio, Amazônia, Brasil. **Amazônica**, v. 4, p. 286–312, 2012.

BERGSTEN, J. A review of long-branch attraction. **Cladistics**, v. 21, p. 163–193, 2005.
BOCKMANN, F. A.; GUAZZELLI, G. M. Family Heptapteridae. In: REIS, R. E. et al. (Eds), **Checklist of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre: Editora da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – EDIPUCRS, 2003, p. 406–431.

BRABEC, J. et al. Molecular phylogeny of the Bothriocephalidea (Cestoda): molecular data challenge morphological classification. **International Journal for Parasitology**, v. 45, p. 761–771, 2015.

BROOKS, D. R. Phylogenetic hypothesis, cladistic diagnoses, and classification of the Monticelliidae (Eucestoda: Proteocephaliformes). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 55, p. 359–367, 1995.

BROOKS, D. R.; DEARDORFF, T. L. Three proteocephalid cestodes from Colombian siluriform fishes, including *Nomimoscolex alovarius* sp. n. (Monticelliidae: Zygobothriinae). **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v. 47, p. 15–21, 1980.

BROOKS, D. R.; HOBERG E. P. Triage for the biosphere: the need and rationale for taxonomic inventories and phylogenetic studies of parasites. **Comparative Parasitology**, v. 67, p. 1–25, 2000.

BROOKS, D. R.; RASMUSSEN, G. Proteocephalidean cestodes from Venezuelan siluriform fishes, with a revised classification of the Monticelliidae. **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v. 97, p. 748–760, 1984.

BUSH, A. O. et al. **Parasitism. The diversity and ecology of animal parasites**. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 2001, 566 p.

CAIRA, J. N. Synergy advances parasite taxonomy and systematics: an example from elasmobranch tapeworms. **Parasitology**, v. 138, p. 1675–1687, 2011.

CAIRA, J. N.; JENSEN, K. A digest of elasmobranch tapeworms. **Journal of Parasitology**, v. 100, p. 373–391, 2014.

CAIRA, J. N.; JENSEN, K. **Planetary Biodiversity Inventory (2008–2017): tapeworms from vertebrate bowels of the Earth**. Special Publication No. 25. University of Kansas, Natural History Museum, Lawrence, 2017, 463 p.

CAIRA, J. N.; JENSEN, K. Insights on the identities of sharks of the *Rhizoprionodon acutus* (Elasmobranchii: Carcharhiniformes) species complex based on three new species of *Phoreiobothrium* (Cestoda: Onchoproteocephalidea). **Zootaxa**, v. 4059, p. 335–350, 2015.

CAIRA, J. N.; JENSEN, K.; BARBEAU, E. Global cestode database. **World Wide Web electronic publication**, 2012. Disponível em <www.tapewormdb.uconn.edu> Acesso em: junho de 2016.

CAIRA, J. N. et al. Orders out of chaos—molecular phylogenetics reveals the complexity of shark and stingray tapeworm relationships. **International Journal for Parasitology**, v. 44, p. 55–73, 2014.

CAIRA, J. N.; LITTLEWOOD, D. T. J. Worms, Platyhelminthes. In: LEVIN, S. A. (Ed.). **Encyclopedia of Biodiversity**. San Diego: Academic Press, v. 2nd, 2013, p. 437–469.

CAÑEDA-GUSMÁN, I. C.; DE CHAMBRIER, A.; SCHOLZ, T. *Thaumasioscolex didelphidis* n. gen., n. sp. (Eucestoda: Proteocephalidae) from the black-eared opossum *Didelphis marsupialis* from Mexico, the first proteocephalidean tapeworm from a mammal. **Journal of Parasitology**, v. 87, p. 639–646, 2001.

CARVALHO, F. M.; DE RESENDE, E. K. Aspectos da biologia de *Tocantinsia depressa* (Siluriformes, Auchenipteridae). **Amazoniana**, v. 8, p. 327–337, 1984.

DE CHAMBRIER, A. *Crepidobothrium garzonii* n. sp. (Cestoda: Proteocephalidae) parasite de *Bothrops alternatus* Dum. Bibr. & Dum., 1854 (Serpentes: Viperidae) au Paraguay. **Revue suisse de Zoologie**, v. 95, p. 1163–1170, 1988.

DE CHAMBRIER, A. Revision du genre *Crepidobothrium* Monticelli, 1900 (Cestoda: Proteocephalidae) parasite d'ophidiens néotropicaux. I. *C. gerrardii* (Baird, 1860) et *C. viperis* (Beddard, 1913). **Revue suisse de Zoologie**, v. 96, p. 191–217, 1989a.

DE CHAMBRIER, A. Revision du genre *Crepidobothrium* Monticelli, 1900 (Cestoda: Proteocephalidae) parasite d'ophidiens néotropicaux. 2. *Crepidobothrium dollfusi* Freze, 1965, *Crepidobothrium lachesidis* (MacCallum, 1921) and conclusions. **Revue suisse de Zoologie**, v. 96, p. 345–380, 1989b.

DE CHAMBRIER, A. Redescription de *Proteocephalus paraguayensis* (Rudin, 1917) (Cestoda: Proteocephalidae) parasite de *Hydrodynastes gigas* (Dum., Bibr. & Dum., 1854) du Paraguay. **Systematic Parasitology**, v. 16, p. 85–97, 1990.

DE CHAMBRIER, A. A new tapeworm from the Amazon, *Amazotaenia yvetteae* gen. n., sp. n., (Eucestoda: Proteocephalidea) from the siluriform fishes *Brachyplatystoma filamentosum* and *B. vaillanti* (Pimelodidae). **Revue suisse de Zoologie**, v. 108, p. 303–316, 2001.

DE CHAMBRIER, A. Systematic status of *Manaosia bracodemoca* Woodland, 1935 and *Paramonticellia itaipuensis* Pavanelli et Rego, 1991 (Eucestoda: Proteocephalidea), parasites of *Sorubim lima* (Siluriformes: Pimelodidae) from South America. **Folia Parasitologica**, v. 50, p. 121–127, 2003.

DE CHAMBRIER, A.; AL KALLAK, S. N. H.; MARIAUX, J. A new tapeworm *Postgangesia inarmata* sp. n. (Eucestoda: Proteocephalidea: Gangesiinae), parasite of *Silurus glanis* (Siluriformes) from Iraq and some considerations on Gangesiinae. **Systematic Parasitology**, v. 55, p. 199–209, 2003.

DE CHAMBRIER, A.; BINH, T.T.; SCHOLZ, T. *Ophiotaenia bungari* n. sp. (Cestoda), a parasite of *Bungarus fasciatus* (Schneider) (Ophidia: Elapidae) from Vietnam, with comments on relative ovarian size as a new and potentially useful diagnostic character for proteocephalidean tapeworms. **Systematic Parasitology**, v. 81, p. 39–50, 2012.

DE CHAMBRIER, A.; GIL DE PERTIERRA, A. A. Redescription of *TravassIELla avitellina* Rego & Pavanelli, 1987 (Proteocephalidea: Monticelliidae, Zygobothriinae), a parasite of *Paulicea luetkeni* (Siluriformes) from South America. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 657–661, 2002.

DE CHAMBRIER, A.; KUCHTA, R.; SCHOLZ, T. Tapeworms (Cestoda: Proteocephalidea) of teleost fishes from the Amazon River in Peru: additional records as an evidence of unexplored species diversity. **Revue suisse de Zoologie**, v. 122, p. 149–163, 2015b.

DE CHAMBRIER, A.; REGO, A. A. *Mariauxiella pimelodi* n. g., n. sp. (Cestoda: Monticelliidae): a parasite of pimelodid siluroid fishes from South America. **Systematic Parasitology**, v. 30, p. 57–65, 1995.

DE CHAMBRIER, A.; REGO, A. A.; GIL DE PERTIERRA, A. A. Redescription of two cestodes (Eucestoda: Proteocephalidea) parasitic in *Phractocephalus hemioliopus* (Siluriformes) from the Amazon and erection of *Scholzia* gen. n. **Revue suisse de Zoologie**, v. 112, p. 735–752, 2005.

DE CHAMBRIER, A.; REGO, A. A.; MARIAUX, J. Redescription of *Brooksiella praeputialis* and *Goezeella siluri* (Eucestoda: proteocephalidea), parasites of *Cetopsis coecutiens* (Siluriformes) from the Amazon and proposition of *Goezeella dankbrooksi* sp. n. **Revue suisse de Zoologie**, v. 111, p. 111–120, 2004b.

DE CHAMBRIER, A.; REGO, A. A.; VAUCHER, C. *Euzetiella tetraphylliformis* n. gen., n. sp., (Eucestoda: Proteocephalidae), parasite du poisson d'eau douce Néotropical *Paulicea luetkeni* (Siluriformes, Pimelodidae). **Parasite**, v. 6, p. 43–47, 1999.

DE CHAMBRIER, A.; SCHOLZ, T. Tapeworms (Cestoda: Proteocephalidea) of firewood catfish *Sorubimichthys planiceps* (Siluriformes: Pimelodidae) from the Amazon River. **Folia Parasitologica**, v. 55, p. 17–28, 2008.

DE CHAMBRIER, A.; SCHOLZ, T.; KUCHTA, R. Taxonomic status of Woodland's enigmatic tapeworms (Cestoda: Proteocephalidea) from Amazonian catfishes: back to museum collections. **Systematic parasitology**, v. 87, p. 1–19, 2014.

DE CHAMBRIER, A.; VAUCHER, C. Révision des cestodes (Monticelliidae) décrits par Woodland (1934) chez *Brachyplatystoma filamentosum* avec redéfinition des genres *Endorchis* Woodland, 1934 et *Nomimoscolex* Woodland, 1934. **Systematic Parasitology**, v. 37, p. 219–233, 1997.

DE CHAMBRIER, A.; VAUCHER, C. Proteocephalidae et Monticelliidae (Eucestoda: Proteocephalidea) parasites de poissons d'eau douce au Paraguay, avec descriptions d'un genre nouveau et de dix espèces nouvelles. **Revue suisse de Zoologie**, v. 106, p. 165–240, 1999.

DE CHAMBRIER, A. et al. The evolution of the Proteocephalidea (Platyhelminthes, Eucestoda) based on an enlarged molecular phylogeny, with comments on their uterine development. **Systematic Parasitology**, v. 57, p. 159–171, 2004a.

DE CHAMBRIER, A. et al. Tapeworms (Cestoda: Proteocephalidea) of fishes from the Amazon River in Peru. **Comparative Parasitology**, v. 73, p. 111–120, 2006.

DE CHAMBRIER, A. et al. Redescription of *Testudotaenia testudo* (Magath, 1924) (Eucestoda: Proteocephalidea), a parasite of *Apalone spinifera* (Le Sueur) (Reptilia: Trionychidae) and *Amia calva* L. (Pisces: Amiidae) in North America and erection of Testudotaeniinae n. subfam. **Systematic Parasitology**, v. 73, p. 49–64, 2009a.

DE CHAMBRIER, A. et al. A new genus and species of proteocephalidean (Cestoda) from *Clarias* catfishes (Siluriformes: Clariidae) in Africa. **Journal of Parasitology**, v. 95, p. 160–168, 2009b.

DE CHAMBRIER, A. et al. A large 28S rDNA-based phylogeny confirms the limitations of established morphological characters for classification of proteocephalidean tapeworms (Platyhelminthes, Cestoda). **ZooKeys**, v. 500, p. 25–59, 2015a.

DE CHAMBRIER, A. et al. Onchoproteocephalidea I Caira, Jensen, Waeschenbach, Olson & Littlewood, 2014. In: CAIRA, J. N.; JENSEN, K. (Eds.). **Planetary Biodiversity Inventory (2008–2016): Tapeworms from vertebrate bowels of the earth**. Lawrence: University of Kansas, Natural History Museum, Special Publication No. 25, 2017, p. 251–277.

DE CHAMBRIER, S.; DE CHAMBRIER, A. Two new genera and two new species of proteocephalidean tapeworms (Eucestoda) from reptiles and amphibians in Australia. **Folia Parasitologica**, v. 57, p. 263–279, 2010.

CHERVY, L. Unified terminology for cestode microtriches: a proposal from the International Workshops on Cestode Systematics in 2002–2008. **Folia Parasitologica**, v. 56, p. 199–230, 2009.

CHOUDHURY, A. et al. Trematode diversity in freshwater fishes of the globe II: ‘New World’. **Systematic Parasitology**, v. 93, p. 271–282, 2016.

CONN, D. B.; SWIDERSKI, Z. A standardised terminology of the embryonic envelopes and associated developmental stages of tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda). **Folia Parasitologica**, v. 55, p. 42–52, 2008.

COQUILLE, S. C.; DE CHAMBRIER, A. *Cairaella henrii* gen. n. sp. n., a parasite of *Norops trachyderma* (Polychrotidae), and *Ophiotaenia nicoleae* sp. n. (Eucestoda: Proteocephalidea), a parasite of *Thecadactylus rapicauda* (Gekkonidae) in Ecuador. **Folia Parasitologica**, v. 55, p. 197–206, 2008.

COSTELLO, M. J.; WILSON, S.; HOULDING, B. Predicting total global species richness using rates of species description and estimates of taxonomic effort. **Systematic Biology**, v. 61, p. 871–883, 2012.

COSTELLO, M. J.; WILSON, S.; HOULDING, B. More taxonomists describing significantly fewer species per unit effort may indicate that most species have been discovered. **Systematic Biology**, v. 62, p. 616–624, 2013.

CRIBB, T. H. Editorial: the biodiversity of trematodes of fishes. **Systematic Parasitology**, v. 93, p. 219–221, 2016.

CRISCIONE, C. D.; POULIN, R.; BLOUIN, M. S. Molecular ecology of parasites: elucidating ecological and microevolutionary processes. **Molecular Ecology**, v. 14, p. 2247–2257, 2005.

DARRIBA, D., TABOADA, G. L., DOALLO, R.; POSADA, D. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. **Nature Methods**, v. 9, p. 772, 2012.

DASMAHAPATRA, K. K. et al. Mitochondrial DNA barcoding detects some species that are real, and some that are not. **Molecular Ecology Resources**, v. 10, p. 264–273, 2010.

DAYRAT, B. Towards integrative taxonomy. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 85, p. 407–415, 2005.

DIESING, K. M. **Systema Helminthum**. vol I. Braumüller, Vienna, 1850, 679 p.

DIESING, K. M. Sechzehn Gattungen von Binnenwürmern und ihre Arten. **Denkschriften der Akademie der Wissenschaften in Wien, Mathematische und Naturwissenschaftliche Klasse**, v. 9, p. 171–185, 1855.

DOBSON, A. et al. Homage to Linnaeus: how many parasites? How many hosts? **The National Academic of Science of the USA**, v. 105, p. 11482–11489, 2008.

DUFFY, J. E. et al. Envisioning a marine biodiversity observation network. **BioScience**, v. 63, p. 350–361, 2013.

EBACH, M. C. Taxonomy and the DNA barcoding enterprise. **Zootaxa**, v. 2742, p. 67–68, 2011.

FRÉZAL, L.; LEBLOIS, R. Four years of DNA barcoding: currents advances and prospects. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 8, p. 727–736, 2008.

FREZE, V. I. **Essentials of Cestodology. Vol. V. Proteocephalata in Fish, Amphibians and Reptiles**. Nauka, Moscow, (In Russian; English translation, Israel Program of Scientific Translation, 1969, Cat. No. 1853. v + 597 pp.) 1965, 538 p.

FROESE, R.; PAULY, D. (Eds.) FishBase. **World Wide Web electronic publication**. Disponível em: <www.fishbase.org>, version 10/2017. Acesso em: novembro de 2017.

FUHRMANN, O. Eigentümliche Fischcestoden. **Zoologischer Anzeiger**, v. 46, p. 385–398, 1916.

FUHRMANN, O. Vier Diesing'sche Typen (Cestoda). **Revue suisse De Zoologie**, v. 41, p. 545–564, 1934.

GARCÍA-PRIETO L.; RODRÍGUEZ, L. M.; PÉREZ-PONCE DE LEÓN, G. *Proteocephalus brooksi* n. sp. (Cestoda: Proteocephalidae) in the Neotropical freshwater fish *Rhamdia*

guatemalensis (Siluriformes: Pimelodidae) from Lake Catemaco, Veracruz, Mexico. **Journal of Parasitology**, v. 82, p. 992–997, 1996.

GALTIER, N. et al. Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. **Molecular Ecology**, v. 18, p. 4541–4550, 2009.

GIL DE PERTIERRA, A. A. Two new species of *Nomimoscolex* (cestoda: Proteocephalidea, Monticelliidae) from *Gymnotus carapo* (Pisces: gymnotiformes) in Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, p. 345–352, 2003.

GIL DE PERTIERRA, A. A. Redescription of *Monticellia magna* (Rego, Santos & Silva, 1974) (Eucestoda: Monticelliidae) parasite of *Pimelodus* spp. (Pisces: Siluriformes) from Argentina, and morphological study of microtriches. **Revue suisse de Zoologie**, v. 111, p. 11–20, 2004.

GIL DE PERTIERRA, A. A. *Luciaella ivanovae* n. g., n. sp. (Eucestoda: Proteocephalidea: Peltidocotylineae), a parasite of *Ageneiosus inermis* (L.) (Siluriformes: Auchenipteridae) in Argentina. **Systematic parasitology**, v. 73, p. 71–80, 2009.

GIL DE PERTIERRA, A. A.; DE CHAMBRIER, A. *Harriscolex nathaliae* n. sp. (Cestoda: Proteocephalidea) from *Pseudoplatystoma corruscans* (Siluriformes: Pimelodidae) in the Paraná River Basin, Argentina. **Journal of Parasitology**, v. 99, p. 480–486, 2013.

GIL DE PERTIERRA, A. A.; DE CHAMBRIER, A. *Rudolphiella szidati* sp. n. (Proteocephalidea: Monticelliidae, Rudolphiellinae) parasite of *Luciopimelodus pati* (Valenciennes, 1840) (Pisces: Pimelodidae) from Argentina with new observations on *Rudolphiella lobosa* (Riggenbach, 1895). **Revue suisse de Zoologie**, v. 107, p. 81–95, 2000.

GIL DE PERTIERRA, A. A.; VIOZZI, G. P. Redescription of *Cangatiella macdonaghi* (Szidat y Nani, 1951) comb. nov. (Cestoda: Proteocephalidae) a parasite of the Atheriniform fish *Odontesthes hatcheri* (Eigenmann, 1909) from the Patagonian region of Argentina. **Neotrópica**, v. 45, p. 13–20, 1999.

GOLDSTEIN, P. Z.; DESALLE, R. Integrating DNA barcode data and taxonomy practice: determination, discovery and description. **Bioessays**, v. 33, p. 135–147, 2010.

HARWOOD, P. D. The helminths parasitic in a water moccasin (snake) with a discussion of the characters of the Proteocephalidae. **Parasitology**, v. 25, p. 130–142, 1933.

HEBERT, P. D. N. et al. Biological identification through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society of London B.**, v. 270, p. 313–321, 2003a.

HEBERT, P. D. N.; RATNASINGHAM, S.; DEWAARD, J. R. Barcoding animal life: Cytochrome *c* oxidase subunit I divergences among closed related species. **Proceedings of the Royal Society of London B**, v. 270, p. S96–S99, 2003b.

HOLCMAN-SPECTOR, B.; MAÑÉ-GARZÓN, F. Two new species of the genus *Proteocephalus* Weinlans, 1958 (Proteocephalidea, Eucestoda) of freshwater fishes *Rhamdia sapo* (Valenciennes, 1840), from Uruguay. **Parasitología al Día**, v. 12, p. 148–154, 1988.

HYPŠA, V.; ŠKERŔÍKOVÁ, A.; SCHOLZ, T. Phylogeny, evolution and host–parasite relationships of the order Proteocephalidea (Eucestoda) as revealed by combined analysis and secondary structure characters. **Parasitology**, v. 130, p. 359–371, 2005.

ICZN. **International Code of Zoological Nomenclature**, Fourth Edition. International Trust for Zoological Nomenclature, c/o The Natural History Museum, London, 1999, 306 p.

JENSEN, K. et al. When proglottids and scoleces conflict: phylogenetic relationships and a family-level classification of the Lecanicephalidea (Platyhelminthes: Cestoda). **International Journal for Parasitology**, v. 46, p. 291–310, 2016.

KATOH, K. et al. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. **Nucleic Acids Research**, v. 30, p. 3059–3066, 2002.

KEARSE, M. et al. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. **Bioinformatics**, v. 28, p. 1647–1649, 2012.

LAFFERTY, K. D.; DOBSON, A. P.; KURIS, A. M. Parasites dominates food web links. **The National Academic of Science of the USA**, v. 103, p. 11211–11216, 2006.

LANFEAR, R. et al. PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. **Molecular Biology and Evolution**, v. 29, p. 1695–1701, 2012.

LITTLEWOOD, D. T. J. Systematics as a cornerstone of parasitology: overview and preface. **Parasitology**, v. 138, p. 1633–1637, 2011.

LITTLEWOOD, D. T. J.; BRAY, R. A.; WAESCHENBACH, A. Phylogenetic patterns of diversity in the cestodes and trematodes. In: MORAND, S.; KRASNOV, B. R., et al (Ed.). **Parasite diversity and diversification: evolutionary ecology meets phylogenetics**. Cambridge: Cambridge University Press, 2015, p. 304–319.

LITTLEWOOD, D. T. J.; CURINI-GALLETTI, M.; HERNIOU, E. A. The interrelationships of Proseriata (Platyhelminthes: Seriata) flatworms tested with molecules and morphology. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 16, p. 449–466, 2000.

LUNDBERG, J. G.; AGUILERA, O. The late Miocene *Phractocephalus* catfish (Siluriformes: Pimelodidae) from Urumaco, Venezuela: additional specimens and reinterpretation as a distinct species. **Neotropical Ichthyology**, v. 1, p. 97–109, 2013.

LUNDBERG, J. G.; SULLIVAN, J. P.; HARDMAN, M. Phylogenetics of the South American catfish family Pimelodidae (Teleostei: Siluriformes) using nuclear and mitochondrial gene sequences. **Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia**, v. 161, p. 153–189, 2011.

MARCOGLIESE, D. J. Parasites: small players with crucial roles in the ecological theatre. **EcoHealth**, v. 1, p. 151–164, 2004.

- MARCOGLIESE, D. J. Parasites of the superorganism: are they indicators of ecosystem health? **International Journal for Parasitology**, v. 35, p. 705–716, 2005.
- MILLER, M. A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. **SC10 Workshop on Gateway Computing Environments (GCE10)**, New Orleans, November 14 1–8, 2010.
- MILOSLAVICH, P. et al. Marine biodiversity in the Atlantic and Pacific coasts of South America: knowledge and gaps. **PLoS ONE**, v. 6, p. e14631, 2011.
- MIRANDA-RIBEIRO, A. Peixes (excl. Characinidae). Comissão de Linhas Telegraficas Estratégicas de Matto-Grosso ao Amazonas. **História Natural: Zoologia**, Anexo nº 5, v. 58, p. 1–15, 1920.
- MITCHELL, A. DNA barcoding is useful for taxonomy: a reply to Ebach. **Zootaxa**, v. 2772, p. 67–68, 2011.
- MOLA, P. Di alcune specie poco studiate o mal note di Cestodi. **Annuario del Museo Zoologico della R. Università di Napoli**, v. 2, p. 1–12, 1906.
- MOLA, P. Vermi parassiti dell'ittiofauna Italiana. **Bollettino di Pesca, Piscicoltura e Idrobiologia**, v. 4, p. 395–443, 1928.
- MOLA, P. Descriptio platodorum sine exstis. **Zoologischer Anzeiger**, v. 86, p. 101–113, 1929.
- MYERS, N. et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853–858, 2000.
- NADLER, S. A.; PÉREZ-PONCE DE LEÓN, G. Integrating molecular and morphological approaches for characterizing parasite cryptic species: implications for parasitology. **Parasitology**, v. 138, p. 1688–1709, 2011.
- OLSON, P. D. et al. Phylogeny and classification of the Digenea (Platyhelminthes: Trematoda). **International Journal of Parasitology**, v. 33, p. 733–755, 2003.
- OLSON, P. D.; LITTLEWOOD, D. T. J.; BRAY, R. A.; MARIAUX, J. Interrelationships and evolution of the tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 19, p. 443–467, 2001.
- OROS, M. et al. A synoptic review of *Promonobothrium* Mackiewicz, 1968 (Cestoda: Caryophyllidea), parasites of suckers (Catostomidae) in North America, with description of two new species. **Folia Parasitologica**, v. 63, p. 008, 2016.
- PADIAL, J. M. et al. The integrative future of taxonomy. **Frontiers in Zoology**, v. 7, p. 16, 2010.
- PAVANELLI, G. C.; REGO, A. A. Novas espécies de proteocefalídeos (Cestoda) de *Hemisorubim platyrhynchos* (Pisces: Pimelodidae) do Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 49, p. 381–386, 1989.

PAVANELLI, G. C.; SANTOS, M. H. M. Proteocefalídeos parasitos de peixes, em especial pimelodídeos do rio Paraná, Paraná. **Revista Unimar**, v. 13, p. 163–175, 1991.

PAVANELLI, G. C.; SANTOS, M. H. M. *Goezeella agostinhoi* sp. n. e *Monticellia loyolai* sp. n., cestoides proteocefalídeos parasitos de peixes pimelodídeos do rio Paraná, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 1, p. 45–50, 1992.

PAVANELLI, G. C.; TAKEMOTO, R. M. *Spasskyellina mandi* n. sp. (Proteocephalidea: Monticelliidae), parasite of *Pimelodus ornatus* Kner, 1857 (Pisces: Pimelodidae) of the Paraná River, Paraná, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 91, p. 723–726, 1996.

PEARSON, D. L.; HAMILTON, A. L.; ERWIN, T. L. Recovery plan for the endangered taxonomy profession. **BioScience**, v. 61, p. 58–63, 2011.

PLEIJEL, F. et al. Phylogenies without roots? A plea for the use of vouchers in molecular phylogenetic studies. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 48, p. 369–371, 2008.

POULIN, R. Parasite biodiversity revisited: frontiers and constraints. **International Journal of Parasitology**, v. 44, p. 581–589, 2014.

POULIN, R.; MORAND, S. **Parasite Biodiversity**. Smithsonian Books, Washington, DC, 2004, 216 p.

POULIN, R.; PRESSWELL, B. Taxonomic quality of species descriptions varies over time and with the number of authors, but unevenly among parasitic taxa. **Systematic Biology**, v. 65, p. 1107–1116, 2016.

RAMBAUT, A. et al. Tracer v1.6. **World Wide Web electronic publication**, disponível em: <www.beast.bio.ed.ac.uk/Tracer, 11/2016>. Acesso em: novembro de 2016.

RATNASINGHAM, S.; HEBERT, P. D. N. BOLD: The barcode of life data system (www.barcodinglife.org). **Molecular Ecology Notes**, v. 7, p. 355–364, 2007.

REGO, A. A. Estudos de cestoides de peixes do Brasil. 2ª Nota: revisão do gênero *Monticellia* La Rue, 1911 (Cestoda, Proteocephalidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 35, p. 567–586, 1975.

REGO, A. A. Proteocephalidea from Amazonian freshwater fishes: new systematic arrangement for the species described by Woodland as *Anthobothrium* (Tetraphyllidea). **Acta Amazonica**, v. 14, p. 86–94, 1984a.

REGO, A. A. Proteocefalídeos (Cestoda) de *Phractocephalus hemioliopterus*, peixe da Amazônia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 79, p. 257–261, 1984b.

REGO, A. A. Redescription of *Gibsoniela mandube* (Woodland, 1935) (Cestoda: Proteocephalidea), a parasite of *Ageneiosus brevifilis* (Pisces: Siluriformes), and reappraisal of the classification of the proteocephalideans. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, p. 417–422, 1992.

REGO, A. A. Order Proteocephalidea Mola, 1928. In: KHALIL, L. F.; JONES, A.; BRAY, R. A. (Eds.). **Keys to the Cestode Parasites of Vertebrates**. Wallingford: Commonwealth Agricultural Bureaux International, 1994, p. 257–293.

REGO, A. A. Scolex morphology of proteocephalid cestodes parasites of Neotropical freshwater fishes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, p. 37–52, 1999.

REGO, A. A.; CHUBB, J. C.; PAVANELLI, G. C. Cestodes in South American freshwater teleost fishes: keys to genera and brief description of species. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 16, p. 299–367, 1999.

REIS, R. E. Conserving the freshwater fishes of South America. **International Zoo Yearbook**, v. 47, p. 65–70, 2013.

REIS, R.; LIMA, F. *Pimelodella cristata*. **The IUCN Red List of Threatened Species**. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2009-2.RLTS.T167812A6387343.en>> Acesso em: novembro de 2017.

REYDA, F. B.; MARQUES, F. P. L. Diversification and species boundaries of *Rhinebothrium* (Cestoda; Rhinebothriidea) in South American freshwater stingrays (Batoidea; Potamotrygonidae). **PLoS ONE**, v. 6, p. e22604, 2011.

REYDA, F. B.; OLSON, P. D. Cestodes of cestodes of Peruvian freshwater stingrays. **Journal of Parasitology**, v. 89, p. 1018–1024, 2003.

RONQUIST, F. et al. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. **Systematic Biology**, v. 61, p. 539–542, 2012.

RUBINOFF, D.; CAMERON, S.; WILL, K. A genomic perspective on the shortcomings of mitochondrial DNA for “barcoding” identification. **Journal of Heredity**, v. 97, p. 581–594, 2006.

RUEDI, V.; DE CHAMBRIER, A. *Pseudocrepidobothrium ludovici* sp. n. (Eucestoda: Proteocephalidea), a parasite of *Phractocephalus hemiliopterus* (Pisces: Pimelodidae) from Brazilian Amazon. **Revue suisse de Zoologie**, v. 119, p. 137–147, 2012.

SANDIFER, P. A.; SUTTON-GRIER, A. E.; WARD, B. P. Exploring connections among nature, biodiversity, ecosystem services, and human health and well-being: opportunities to enhance health and biodiversity conservation. **Ecosystem Services**, v. 12, p. 1–15, 2015.

SCHMIDT, G. D. **CRC Handbook of Tapeworm Identification**. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, 1986, 675 p.

SCHOLZ, T.; KUCHTA, R. A digest of fish tapeworms. **Vie et Milieu – Life and Environment**, v. 67, p. 43–58, 2017.

SCHOLZ, T. et al. Redescription of *Corallobothrium solidum* (Cestoda: Proteocephalidea) and erection of a new genus, *Essexiella*, for tapeworms from channel catfish (Ictaluridae). **Journal of Parasitology**, v. 97, p. 1142–1151, 2011.

- SCHOLZ, T. et al. *Macrobothriotaenia ficta* (Cestoda: Proteocephalidea), a parasite of sunbeam snake (*Xenopeltis unicolor*): example of convergent evolution. **Zootaxa**, v. 3640, p. 485–499, 2013.
- STAMATAKIS, A. RAxML-VI-HPC: Maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. **Bioinformatics**, v. 22, p. 2688–2690, 2006.
- STOECKLE, M. Y.; HEBERT, P. D. N. Barcode of Life. **Scientific American**, v. 299, p. 82–88, 2008.
- TAUTZ, D. et al. Plea for DNA Taxonomy. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 18, p. 70–74, 2003.
- TELETSCHEA, F. After 7 years and 1000 citations: comparative assessment of the DNA barcoding and the DNA taxonomy proposals for taxonomists and non-taxonomists. **Mitochondrial DNA**, v. 21, p. 206–226, 2010.
- THOMAS, F. et al. Parasites and host life-history traits: implications for community ecology and species co-existence. **International Journal of Parasitology**, v. 30, p. 669–674, 2000.
- VALENTINI, A.; POMPANON, F.; TABERLET, P. DNA barcoding for ecologists. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 24, p. 110–117, 2009.
- WAESCHENBACH, A.; WEBSTER, B. L.; LITTLEWOOD, D. T. Adding resolution to ordinal level relationships of tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda) with large fragments of mtDNA. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 63, p. 834–847, 2012.
- WERLE, E. et al. Convenient single-step, one tube purification of PCR products for direct sequencing. **Nucleic Acids Research**, v. 22, p. 4354–4355, 1994.
- WILL, K. W.; RUBINOFF, D. Myth of the molecule: DNA barcodes for species cannot replace morphology for identification and classification. **Cladistics**, v. 20, p. 47–55, 2004.
- WILL, K.W.; MISHLER, B. D.; WHEELER, Q. D. The perils of DNA barcoding and the need for integrative taxonomy. **Systematic Biology**, v. 54, p. 844–851, 2005.
- WOODLAND, W. N. F. On some remarkable new Monticellia-like and other cestodes from Sudanese siluroids. **Journal of Cell Science**, v. 69, p. 703–729, 1925.
- WOODLAND, W. N. F. On two new cestodes from the Amazon siluroid fish *Brachyplatystoma vaillanti* Cuv. and Val. **Parasitology**, v. 25, p. 485–490, 1933a.
- WOODLAND, W. N. F. On the anatomy of some fish cestodes described by Diesing from the Amazon. **Quarterly Journal of Microscopical Science**, v. 76, p. 175–208, 1933b.
- WOODLAND, W. N. F. On the Amphilaphorchidinae, a new subfamily of proteocephalid cestodes, and *Myzophorus admonticellia*, gen. et sp. n., parasitic in *Pirinampus* spp. from the Amazon. **Parasitology**, v. 26, p. 141–149, 1934a.

WOODLAND, W. N. F. On six new cestodes from Amazon fishes. **Proceedings of the Zoological Society of London**, v. 104, p. 33–44, 1934b.

WOODLAND, W. N. F. Some more remarkable cestodes from Amazon siluroid fish. **Parasitology**, v. 27, p. 207–225, 1935.

ZEHNDER, M. P.; MARIAUX, J. Molecular systematic analysis of the order Proteocephalidea (Eucestoda) based on mitochondrial and nuclear rDNA sequences. **International Journal for Parasitology**, v. 29, p. 1841–1852, 1999.

ZWICKL, D. J. **Genetic algorithm approaches for the phylogenetic analysis of large biological sequence datasets under the maximum likelihood criterion**. Tese, Universidade do Texas, Austin, 2006, 115 p.

ANEXO I – Lista de hospedeiros (peixes teleósteos) e parasitos (Cestoda: Proteocephalidae) estudados entre 2013 e 2015 provenientes de diferentes bacias hidrográficas da América do Sul, com valores de prevalência (%), estágio de desenvolvimento, localidade (s) e número (s) de depósito (quando disponível). As famílias dos hospedeiros estão listadas em ordem alfabética.

Família - hosp.	Espécie - hosp.	Nº - hosp.	Espécie - Cestoda	Prev.	Localidade ¹ (s)	Est. de desenvolvimento	Nº de depósito ²
Achiridae	<i>Catathyridium jenynsii</i> *	3	Proteocephalidae gen. sp.	100	BR-PR	metacestoide	–
Anostomidae	<i>Leporinus friderici</i>	6	<i>Proteocephalus vazzollerae</i>	17	BR-PR	adulto	–
	<i>Schizodon borelli</i> *	16	<i>Proteocephalus vazzollerae</i>	6	BR-PR	adulto	–
Atherinopsidae	<i>Odonthestes bonariensis</i>	7	<i>Cangatiella macdonaghi</i>	100	ARG	adulto	–
Auchenipteridae	<i>Ageneiosus inermis</i>	4	<i>Ageneiella brevifilis</i> †	25	BR-MS	adulto	–
	<i>Ageneiosus inermis</i>	3	<i>Gibsoniella meursaulti</i> †	33	BR-PR	adulto	–
	<i>Ageneiosus ucayalensis</i>	5	Proteocephalidae gen. sp.	20	BR-PR	adulto (imaturo)	–
	<i>Parauchenipterus galeatus</i>	16	<i>Cangatiella arandasi</i> †	25	BR-PR	adulto	–
	<i>Tocantinsia piresii</i>	8	<i>Frezella vaucheri</i> †	12	BR-X	adulto	CHIOC 37978a-h, 37979a-d, 37980a-d; IPCAS C-663; MHNG-PLAT-86723
Characidae	<i>Astyanax asuncionensis</i>	62	Proteocephalidae gen. sp.	3	BR-MS	metacestoide	–
Cichlidae	<i>Aequidens cf. tetramerus</i> *	1	<i>Cichlidocestus gillesi</i> †	–	Rio Marapanim, Pará	adulto	–
	<i>Cichla kelberi</i>	9	<i>Proteocephalus microscopicus</i> †	89	BR-PR	adulto	–
	<i>Cichla kelberi</i>	9	<i>Proteocephalus macrophallus</i> †	44	BR-PR	adulto	–
	<i>Cichla melaniae</i> *	14	<i>Proteocephalus microscopicus</i> †	21	BR-X	adulto	–
	<i>Cichla melaniae</i> *	14	<i>Proteocephalus macrophallus</i> †	7	BR-X	adulto	–
	<i>Cichla monoculus</i>	8/7	<i>Proteocephalus microscopicus</i> †	13/43	BR-AMP/BR-RO	adulto	–
	<i>Cichla monoculus</i>	8/7	<i>Proteocephalus macrophallus</i> †	13/14	BR-AMP/BR-RO	adulto	–
	<i>Cichla pinima</i> *	4	<i>Proteocephalus microscopicus</i> †	50	BR-RO	adulto	–
	<i>Cichla pinima</i> *	4	<i>Proteocephalus macrophallus</i> †	25	BR-RO	adulto	–
	<i>Cichla pleizona</i> *	3	<i>Proteocephalus microscopicus</i> †	100	BR-RO	adulto	–
	<i>Cichla temensis</i> *	7	<i>Proteocephalus microscopicus</i> †	86	BR-AMP	adulto	–
	<i>Cichla temensis</i> *	7	<i>Proteocephalus macrophallus</i> †	29	BR-AMP	adulto	–
	<i>Cichla</i> sp.	2	<i>Proteocephalus microscopicus</i>	50	BR-TO†	adulto	–
	<i>Crenicichla johanna</i>	1	Proteocephalidae gen. sp.	–	BR-AMP	metacestoide	–
Doradidae	<i>Megalodoras uranoscopus</i>	6	<i>Proteocephalus</i> sp.	67	BR-X	adulto	–
	<i>Platydoras armatulus</i> ³	4/6	<i>Proteocephalus renaudi</i> †	75/50	BR-MS/BR-PR	adulto	–

Anexo I – Continuação

Família – hosp.	Espécie – hosp.	Nº - hosp.	Espécie - Cestoda	Prev.	Localidade ¹ (s)	Est. de desenvolvimento	Nº de depósito ²
	<i>Platydoras armatulus</i>	4/6	<i>Proteocephalus soniae</i>	25/16	BR-MS/BR-PR	adulto	–
	<i>Platydoras costatus</i>	1	<i>Proteocephalus</i> sp.	–	BR-X	adulto	–
	<i>Trachydoras paraguayensis</i>	8	Proteocephalidae gen. sp.	13	BR-PR	metacestoide	–
	<i>Oxydoras niger</i>	1	<i>Proteocephalus hobergi</i> [‡]	–	BR-RO	adulto	–
Heptapteridae	<i>Pimelodella cristata</i>	7	<i>Goezeella mariae</i> [‡]	57	BR-AMP	adulto	CHIOC 38860a-f, 38861; MHNG-PLAT-97017, 86883; IPCAS C-759
	<i>Pimelodella cristata</i>	7	Proteocephalidae gen. sp. 1	100	BR-AMP	adulto	–
	<i>Pimelodella cristata</i> *	7	<i>Proteocephalus soniae</i>	14	BR-AMP [†]	adulto	–
	<i>Pimelodella gracilis</i>	1	Proteocephalidae gen. sp.	–	BR-MS	metacestoide	–
Loricariidae	<i>Loricaria cataphracta</i>	3	Proteocephalidae gen. sp.	67	BR-RO	metacestoide	–
Pimelodidae	<i>Hemisorubim platyrhynchus</i>	1	Proteocephalidae gen. sp.	–	BR-MS	metacestoide	–
	<i>Hypophthalmus edentatus</i>	1	Proteocephalidae gen. sp.	–	BR-RO	adulto	–
	<i>Phractocephalus hemioliopus</i>	3	<i>Pseudocrepidobothrium eirasi</i>	33	BR-TO [†]	adulto	–
	<i>Phractocephalus hemioliopus</i>	5	Proteocephalidae gen. sp. 2	40	BR-X	adulto	–
	<i>Phractocephalus hemioliopus</i>	5/3	<i>Scholzia emarginata</i>	60/100	BR-X/ BR-TO [†]	adulto	–
	<i>Phractocephalus hemioliopus</i>	5	<i>Zygobothrium megacephalum</i> [‡]	60	BR-X	adulto	CHIOC 38883, 38567; IPCAS C-401
	<i>Pimelodus</i> cf. <i>blochii</i>	8	<i>Monticellia magna</i>	29	BR-RO [†]	adulto	–
	<i>Pimelodus fur</i> *	15	<i>Monticellia magna</i>	20	BR-MS	adulto	–
	<i>Pimelodus fur</i>	15	Proteocephalidae gen. sp. 3	6	BR-MS	adulto	–
	<i>Pimelodus maculatus</i>	33	<i>Monticellia magna</i>	12	BR-PR	adulto	–
	<i>Pimelodus maculatus</i>	13	<i>Nomimoscolex microacetabula</i>	46	BR-MS	adulto	–
	<i>Pimelodus maculatus</i>	33	<i>Proteocephalus pimelodi</i>	3	BR-PR	adulto	–
	<i>Pimelodus maculatus</i>	13	Proteocephalidae gen. sp. 4	62	BR-MS	adulto	–
	<i>Pimelodus ornatus</i>	3	<i>Mariauxiella pimelodi</i>	33	BR-X [†]	adulto	–
	<i>Pimelodus ornatus</i>	3	<i>Spasskyellina mandi</i>	67	BR-X [†]	adulto	–
	<i>Pinirampus pirinampu</i>	2/2	<i>Monticellia ventrei</i> [‡]	100/50	BR-MS/BR-X [†]	adulto	–
	<i>Pinirampus pirinampu</i>	2/2	<i>Nomimoscolex admonticellia</i> [‡]	50/100	BR-X/BR-TO [†]	adulto	–
	<i>Platynematichthys notatus</i>	1	<i>Harriscolex</i> sp.	–	BR-X	adulto	–
	<i>Pseudoplatystoma corruscans</i>	6	<i>Choanoscolex abscisus</i> [‡]	100	BR-PR	adulto	–
	<i>Pseudoplatystoma corruscans</i>	6	<i>Harriscolex nathaliae</i>	33	BR-PR	adulto	–

Anexo I – Continuação

Família - hosp.	Espécie - hosp.	Nº - hosp.	Espécie - Cestoda	Prev.	Localidade ¹ (s)	Est. de desenvolvimento	Nº de depósito ²
	<i>Pseudoplatystoma corruscans</i>	6	<i>Spasskyllina spinulifera</i> [‡]	33	BR-PR	adulto	–
	<i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	4	<i>Nomimoscolex sudobim</i> [‡]	25	BR-TO†	adulto	–
	<i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	4	<i>Spatulifer</i> cf. <i>rugosa</i>	25	BR-TO†	adulto	–
	<i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	3	<i>Peltidocotyle</i> sp.	33	BR-RO	adulto	–
	<i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> *	4	<i>Scholzia emarginata</i> [‡]	50	BR-TO†	adulto	–
	<i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	1	<i>Spasskyllina spinulifera</i> [‡]	–	BR-MS	adulto	–
	<i>Pseudoplatystoma tigrinum</i>	3	Proteocephalidae gen. sp.	33	BR-RO	adulto	–
	<i>Sorubim lima</i>	3/9	<i>Manaosia bracodemoca</i> [‡]	100/78	BR-MS/BR-PR	adulto	–
	<i>Sorubim lima</i>	3/9	<i>Spatulifer maringaensis</i> [‡]	100/89	BR-MS/BR-PR	adulto	–

¹Códigos das localidades e siglas dos museus estão indicados na lista de abreviaturas

²Foram depositados apenas espécimes estudados em trabalhos científicos publicados, seguindo as normas das coleções helmintológicas

³Considerando que o hospedeiro tipo de *Proteocephalus renaudi* é *Platydoras armatulus* e não *Pl. costatus*, como mencionado na descrição original (ver ALVES et al., 2017a)

* Novo registro de hospedeiro (somente para indivíduos identificados ao nível de espécie)

† Novo registro de localidade (somente bacias hidrográficas)

‡ Identificação morfológica confirmada pela caracterização molecular (gene 28S rDNA, domínios D1–D3)

Research Article

OPEN ACCESS

A new genus and species of proteocephalidean tapeworm (Cestoda), first parasite found in the driftwood catfish *Tocantinsia piresi* (Siluriformes: Auchenipteridae) from Brazil

Philippe Vieira Alves¹, Alain de Chambrier², Tomáš Scholz³ and José Luis Luque⁴

¹Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil;

²Department of Invertebrates, Natural History Museum, Geneva, Switzerland;

³Institute of Parasitology, Biology Centre of the Czech Academy of Sciences, České Budějovice, Czech Republic;

⁴Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil

Abstract: *Frezella* gen. n. is proposed to accommodate *Frezella vaucheri* sp. n. from poorly known auchenipterid fish, *Tocantinsia piresi* (Miranda Ribeiro), from the Xingú River, one of the principal tributaries of the lower Amazon River in Brazil. The new genus belongs to the Proteocephalinae because of the medullary position of the testes, ovary (yet some follicles penetrate to the cortex on the dorsal side), vitelline follicles and uterus. It differs from other proteocephaline genera in the morphology of the scolex, which includes a metascolex composed of two distinct zones: anterior, strongly wrinkled part posterior to the suckers, and posterior, sparsely folded zone. *Frezella* can also be differentiated by having the internal longitudinal musculature hypertrophied laterally on both sides, the presence of some ovarian follicles in the cortex on the dorsal side and the presence of additional pair of tiny, thin-walled osmoregulatory canals situated slightly dorsomedian to ventral canals. *Frezella vaucheri* is the first helminth parasite reported from *T. piresi*, which occurs in the lower reaches of the Amazon and Tocantins River basins in Brazil.

Keywords: taxonomy, morphology, Proteocephalidea, metascolex, Amazon River basin, Xingú River, Neotropical Region

The Neotropical region hosts the highest diversity of freshwater fishes on the Earth (Reis 2013). Siluriforms (catfishes) represent one of the dominant groups of the fish fauna of this region and some of them serve as definitive hosts of proteocephalidean tapeworms (Eucestoda: Proteocephalidea). The highest diversity of tapeworm species was recognised in large pimelodids such as *Brachyplatystoma* Bleeker, *Phractocephalus* Agassiz, *Pseudoplatystoma* Bleeker and *Zungaro* Bleeker in the Amazon and Paraná River basins. Some species of these genera may host as many as 7–9 species of proteocephalideans (de Chambrier and Vaucher 1999, Rego et al. 1999, de Chambrier et al. 2006, 2014, Arredondo et al. 2013, 2014). However, proteocephalidean cestodes also parasitise other groups of siluriforms, such as auchenipterids, in particular species of *Ageneiosus* Lacépède (see de Chambrier and Vaucher 1999, Gil de Perterra 2009).

During studies on the parasitic helminths of freshwater fishes from the Xingú River (southern tributary of the Amazon River) in Brazil, proteocephalidean tapeworms were found in the intestine of the auchenipterid catfish *Tocantinsia piresi* (Miranda Ribeiro), locally known as

‘pocomão’. This fish was described as *Glanidium piresi* by Miranda Ribeiro (1920) from the São Manuel River, which forms, together with the Juruena River, the Tapajós River (one of the principal southern tributaries of the Amazon River). Much later, Mees (1974) proposed a new genus, *Tocantinsia* Mees, to accommodate his new species *T. depressa* Mees from the Tocantins River, i.e. another river basin independent to that of the Amazon River. However, the same author (Mees 1984) synonymised *Tocantinsia depressa* with *Glanidium piresi*, which actually does not belong to *Glanidium* Lütken. Therefore, a new combination, *T. piresi*, was proposed by Mees (1984) and it is currently accepted as valid name (Froese and Pauly 2014). This fish occurs in both the Amazon and Tocantins River basins (Barros 2012), but data on its parasites including proteocephalidean cestodes are absent.

Morphological evaluation of the cestodes found in *T. piresi* from the Xingú River has revealed that they represent a new species, which is described herein. In addition, the new species cannot be allocated to any of the known genera of proteocephalidean cestodes. Therefore, a new genus is proposed to accommodate this new species.

Address for correspondence: T. Scholz, Institute of Parasitology, Biology Centre of the Czech Academy of Sciences, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, Czech Republic. Phone: +420 38 777 5431; Fax: +420 38 531 0388; E-mail: tscholz@paru.cas.cz

ZooBank number for article: urn:lsid:zoobank.org:pub:69A133E2-6EE6-4E1E-B238-4894EDF8096D

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Annotated checklist of fish cestodes from South America

Philippe V. Alves¹, Alain de Chambrier², Tomáš Scholz³, José L. Luque⁴

1 Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465, Km 7, 23851-970, Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil **2** Natural History Museum of Geneva, CP 6434, CH - 1211 Geneva 6, Switzerland **3** Institute of Parasitology, Biology Centre of the Czech Academy of Sciences, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, Czech Republic **4** Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, CP 74.540, BR 465, Km 7, 23851-970, Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil

Corresponding author: Tomáš Scholz (tscholz@paru.cas.cz)

Academic editor: B. Georgiev | Received 2 November 2016 | Accepted 21 December 2016 | Published 1 February 2017

<http://zoobank.org/CAD92ABE-4626-4206-98E3-E044D45EA9AC>

Citation: Alves PV, de Chambrier A, Scholz T, Luque JL (2017) Annotated checklist of fish cestodes from South America. ZooKeys 650: 1–205. <https://doi.org/10.3897/zookeys.650.10982>

Abstract

An exhaustive literature search supplemented by a critical examination of records made it possible to present an annotated checklist of tapeworms (Cestoda) that, as adults or larvae (metacestodes), parasitize freshwater, brackish water and marine fishes, i.e. cartilaginous and bony fishes, in South America. The current knowledge of their species diversity, host associations and geographical distribution is reviewed. Taxonomic problems are discussed based on a critical evaluation of the literature and information on DNA sequences of individual taxa is provided to facilitate future taxonomic and phylogenetic studies. As expected, the current knowledge is quite uneven regarding the number of taxa and host-associations reported from the principal river basins and marine ecoregions. These differences may not only reflect the actual cestode richness but may also be due to the research effort that has been devoted to unravelling the diversity of these endoparasitic helminths in individual countries. A total of 297 valid species, 61 taxa identified to the generic level, in addition to unidentified cestodes, were recorded from 401 species of fish hosts. Among the recognized cestode orders, 13 have been recorded in South America, with the Onchoproteocephalidea displaying the highest species richness, representing *c.* 50% of all species diversity. The majority of records include teleost fish hosts (79%) that harbour larval and adult stages of cestodes, whereas stingrays (Myliobatiformes) exhibit the highest proportion of records (39%) among the elasmobranch hosts. Fish cestodes are ubiquitous in South America, being mostly recorded from the Warm Temperate Southeastern Pacific (WTSP; 31%) for marine hosts and the Amazon River basin (45%) for freshwater ones. The following problems were detected during the compilation of literary data: (i) unreliability of many records; (ii) poor taxonomic resolution, i.e. identification made only to the genus or even family level; (iii) doubtful host identification;

Untangling convoluted taxonomy of *Chambriella* Rego, Chubb & Pavanelli, 1999 (Cestoda: Proteocephalidae), with erection of *Riggenbachiella* n. g. and the description of a new species from pimelodid catfishes in the Neotropical Region

Philippe Vieira Alves · Alain de Chambrier · José Luis Luque · Tomáš Scholz

Received: 28 July 2016 / Accepted: 19 January 2017 / Published online: 20 February 2017
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2017

Abstract As part of a complex revision of proteocephalid cestodes parasitic in freshwater bony fishes of the Neotropical Region, the genus *Chambriella* Rego, Chubb & Pavanelli, 1999 is redefined based on detailed examination of type-specimens and newly collected material of both nominal species of the genus. This examination revealed that the type-species *C. agostinhoi* (Pavanelli & Santos, 1992) from *Zungaro jahu* (Ihering) (type-host) and *Z. zungaro* (Humboldt) is indistinguishable from *Lenhataenia megacephala* (Woodland, 1934) from *Sorubimichthys planiceps* (Spix & Agassiz) (all hosts Siluriformes:

Pimelodidae), the type- and only species of the genus. New molecular data (partial sequences of the large subunit nuclear ribosomal RNA gene) support the conspecificity of these taxa. As a result, *Lenhataenia* de Chambrier & Scholz, 2008 becomes a junior synonym of *Chambriella* and its type-species, *C. agostinhoi*, a junior synonym of *C. megacephala* (Woodland, 1934) n. comb. The second species of *Chambriella*, *C. paranaensis* (Pavanelli & Rego, 1989) from *Hemisorubim platyrhynchos* (Valenciennes), is transferred to a new genus, *Riggenbachiella* n. g., as *R. paranaense* (Pavanelli & Rego, 1989) n. comb. *Riggenbachiella amazonense* n. sp. (syn. *Chambriella* sp. of de Chambrier & Scholz, 2008) from *S. planiceps* (type-host), *Phractocephalus hemioliopterus* (Bloch & Schneider) and *Z. zungaro* is described and designated as the type-species of the new genus. *Riggenbachiella* n. g. is placed in the subfamily Monticelliinae Mola, 1929, because of the

This article was registered in the *Official Register of Zoological Nomenclature* (ZooBank) as 404EDA94-5CAC-4C59-9623-2B0D08ED1F3B. This article was published as an Online First article on the online publication date shown on this page. The article should be cited by using the doi number. This is the Version of Record.

This article is part of the Topical Collection Cestoda.

P. V. Alves
Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal,
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro,
Seropédica, RJ, Brazil

A. de Chambrier
Department of Invertebrates, Natural History Museum,
Geneva, Switzerland

J. L. Luque
Departamento de Parasitologia Animal, Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, Brazil

T. Scholz (✉)
Institute of Parasitology, Biology Centre of the Czech
Academy of Sciences, České Budějovice, Czech Republic
e-mail: tscholz@paru.cas.cz

**Reappraisal of *Goezeella* Fuhrmann, 1916 (Cestoda: Proteocephalidae),
parasites of Neotropical catfishes (Siluriformes),
with description of a new species from *Pimelodella cristata* (Heptapteridae)**

Philippe V. Alves^{1,4}, Alain de Chambrier², José L. Luque³ & Tomáš Scholz^{4*}

¹ Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, 23851-970, Brazil.

² Département des Invertébrés, Muséum d'histoire naturelle de Genève, C.P. 6434, CH-1211 Geneva 6, Switzerland.

³ Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, CP 74.540, Seropédica, Rio de Janeiro, 23851-970, Brazil.

⁴ Institute of Parasitology, Biology Centre of the Czech Academy of Sciences, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, Czech Republic.

* Corresponding author; E-mail: tscholz@paru.cas.cz

Abstract: The cestode genus *Goezeella* Fuhrmann, 1916 is reviewed on the basis of taxonomic evaluation of type and newly collected material from pimelodid and heptapterid catfishes (Siluriformes) in the Amazon River basin, South America, and its generic diagnosis is amended. The genus is typified by the exclusively ventral position of the cortical vitelline follicles, the inner longitudinal musculature formed by dense individual muscle fibres, rather than forming bundles as in other proteocephalids, a well-developed metascolex and biloculate suckers. The type species, *G. siluri* Fuhrmann, 1916, is redescribed based on its syntype from *Cetopsis coecutiens* (type-host) (Cetopsidae) and specimens from *Pinirampus pinirampu* (Pimelodidae). The validity of *G. danbrooksi* de Chambrier, Rego & Mariaux, 2004 from *Ageneiosus pardalis* (Auchenipteridae) is confirmed and some erroneous morphological traits are corrected based on examination of its holotype. A new species, *Goezeella mariae* sp. nov., is described from the heptapterid catfish *Pimelodella cristata* (Heptapteridae). The new species differs from congeners by its overall size (much smaller compared to *G. siluri*), morphology of the scolex (strongly wrinkled metascolex and weakly developed interocular septum of suckers) and number of the testes. This is the third proteocephalid cestode described from a heptapterid catfish in South America and the first helminth parasite reported from *P. cristata*. *Goezeella* is unusual among other Neotropical proteocephalids by its occurrence in catfishes of as many as four families; all species of the genus are known only from the Amazon and Orinoco River basins. Molecular data on two of the three valid species and a key to their identification are provided.

Keywords: Morphology - taxonomy - tapeworms - Onchoproteocephalidea - systematics - host-associations - Neotropical Region - South America.

INTRODUCTION

South American catfishes (Siluriformes) are hosts of a vast diversity of tapeworms (Cestoda) of the recently erected order Onchoproteocephalidea Caira, Jensen, Waeschenbach, Olson & Littlewood, 2014 (see Alves *et al.*, 2017a; Scholz & Kuchta, 2017). This order includes the previously recognized order Proteocephalidea Mola, 1928 (all in one family, Proteocephalidae La Rue, 1911) and some members of the polyphyletic order 'Tetraphyllidea' Carus, 1863 (Caira *et al.*, 2014). A total of 87 species of proteocephalids in 36 genera have

been reported from South American catfishes (Alves *et al.*, 2017a; de Chambrier *et al.*, 2017), but new taxa are still being described and new genera erected (e.g. Alves *et al.*, 2015, 2017b; Arredondo *et al.*, 2017). Likewise, evaluation of type-specimens and newly collected material made it possible to elucidate the taxonomic status of some previously insufficiently known genera, such as *Brayela* Rego, 1984, *Megathylacus* Woodland, 1934 and *Chambriella* Rego, Chubb & Pavanelli, 1999 (de Chambrier *et al.*, 2014; Alves *et al.*, 2017b).

Goezeella Fuhrmann, 1916 was erected to accommodate *Goezeella siluri* Fuhrmann, 1916 from the blue whale

Manuscript accepted 19.06.2017

DOI: 10.5281/zenodo.893547

Towards a robust systematic baseline of Neotropical fish tapeworms (Cestoda: Proteocephalidae): amended diagnoses of two genera from the redbtail catfish, *Phractocephalus hemioliopus*

PHILIPPE V. ALVES^{1,4}, ALAIN DE CHAMBRIER², JOSÉ L. LUQUE³ & TOMÁŠ SCHOLZ⁴

¹Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, 23851-970, Brazil. E-mail: philippe-vieira@hotmail.com

²Department of Invertebrates, Natural History Museum, P.O. Box 6434, CH-1211 Geneva 6, Switzerland. E-mail: alain.dechambrier@ville-ge.ch

³Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, CP 74.540, Seropédica, Rio de Janeiro, 23851-970, Brazil. E-mail: luqueufrj@gmail.com

⁴Institute of Parasitology, Biology Centre of the Czech Academy of Sciences, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, Czech Republic. E-mail: tscholz@paru.cas.cz

Abstract

Species of two monotypic genera, *Ephedrocephalus* Diesing, 1850 and *Zygobothrium* Diesing, 1850 (Cestoda: Proteocephalidae), parasites of one of the most basal members of the catfish family Pimelodidae, the redbtail catfish, *Phractocephalus hemioliopus*, in the Neotropical Region, are redescribed based on the evaluation of type specimens and newly collected material. Generic diagnoses are amended to provide a robust baseline for the future re-arrangement of the classification of proteocephalid cestodes. *Ephedrocephalus* is typified by the medullary position of the ovary and uterus, the cortical distribution of vitelline follicles (dispersed throughout almost the entire ventral cortex) and the testes in one dorsal field. *Zygobothrium* is primarily characterized by its possession of a robust scolex bearing four uniloculate suckers with two openings each and by the tetralobed velum (lacinations) on every proglottid (two on the ventral and two on the dorsal side). The redbtail catfish is the definitive host of as many as seven species of proteocephalid cestodes, which, however, do not represent a monophyletic group. Some species, including *Z. megacephalum*, are among the earliest diverged parasites of Neotropical catfishes, being closely related to African and North American proteocephalids from catfishes, whereas others such as *E. microcephalus* belong to more recently diverged taxa with uncertain interrelations. Unlike most proteocephalids of the redbtail catfish, which almost always infect the anterior parts of the host intestine, *E. microcephalus* and *Z. megacephalum* occur exclusively in its posterior third. A key to the identification of the proteocephalid species parasitizing *P. hemioliopus* is also presented.

Key words: cestodes, *Ephedrocephalus*, *Zygobothrium*, taxonomy, morphology, phylogenetic relationships, Amazon River basin, South America, Neotropical region

Introduction

Molecular phylogenetic studies have provided evidence that the current classification of tapeworms of the former order Proteocephalida Mola, 1928 (currently part of the Onchoproteocephalida Caira, Jensen, Waeschenbach, Olson & Littlewood, 2014), at the subfamily level, is artificial and that all species-rich genera are polyphyletic (de Chambrier *et al.* 2015a). As a result, a new classification that would better reflect interrelationships of proteocephalids should be proposed, based on monophyly of individual clades. In the case of the assumed monotypic genera, which represent more than one half (57%, i.e., 38) of a total of 67 genera (de Chambrier *et al.* 2017), it is necessary to check whether they actually represent taxa morphologically and genetically markedly distinct from other genera. It is also essential to critically review autapomorphies of these genera, including their diagnoses.

Two monotypic genera, *Ephedrocephalus* Diesing, 1850 and *Zygobothrium* Diesing, 1850, were erected