

**UFRRJ
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOLOGIA ANIMAL**

TESE

**Taxonomia e filogenia de dactilogirídeos (Platyhelminthes:
Monopisthocotyla: Dactylogyridae) parasitos de peixes
marinhos na região norte do Peru**

CELSO LUIS CRUCES CHANCAHUAÑA

2024



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

**TAXONOMIA E FILOGENIA DE DACTILOGIRÍDEOS
(PLATYHELMINTHES: MONOPISTHOCOTYLA:
DACTYLOGYRIDAE) PARASITOS DE PEIXES
MARINHOS NA REGIÃO NORTE DO PERU**

CELSO LUIS CRUCES CHANCAHUAÑA

Sob a Orientação do Professor
Dr. José Luis Fernando Luque Alejos

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

Seropédica, RJ
Setembro de 2024

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

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

C454t Chanchahuaña, Celso Luis Cruces , 13/06/1993-
Taxonomia e filogenia de dactilogirídeos
(Platyhelminthes: Monopisthocotyla: Dactylogyridae)
parasitos de peixes marinhos na região norte do Peru
/ Celso Luis Cruces Chanchahuaña. - Lima, 2024.
71 f.: il.

Orientador: José Luis Fernando Luque Alejos.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Programa de Pós-graduação em Biologia
Animal, 2024.

1. Monopisthocotyla. 2. Bicentenariella. 3.
Brotulella. 4. Neotetraonchus. 5. peixes ósseos. I.
Luque Alejos, José Luis Fernando, 22/02/1962-,
orient. II Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. Programa de Pós-graduação em Biologia Animal
III. Título.



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



TERMO Nº 586 / 2024 - PPGBA (12.28.01.00.00.00.42)

Nº do Protocolo: 23083.035388/2024-78

Seropédica-RJ, 19 de julho de 2024.

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

CELSO LUIS CRUCES CHANCAHUAÑA

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

TESE APROVADA EM 11/07/2024

(Assinado digitalmente em 19/07/2024 13:14)

JOSE LUIS FERNANDO LUQUE ALEJOS
PRO-REITOR(A)
PROPPG (12.28.01.18)
Matrícula: 2242796

(Assinado digitalmente em 22/07/2024 09:47)

RAQUEL DE OLIVEIRA SIMOES
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptPA (12.28.01.00.00.00.00.55)
Matrícula: 3092534

(Assinado digitalmente em 22/07/2024 13:24)

RODNEY KOZLOWISKI DE AZEVEDO
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 041.744.517-29

(Assinado digitalmente em 19/07/2024 11:42)

SIMONE CHINICZ COHEN
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 890.315.807-59

(Assinado digitalmente em 31/07/2024 17:45)

LUIZ EDUARDO ROLAND TAVARES
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 874.300.296-04

(Assinado digitalmente em 19/07/2024 15:12)

FABIANO PASCHOAL DE OLIVEIRA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 059.343.167-70

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/public/documentos/index.jsp>
informando seu número: **586**, ano: **2024**, tipo: **TERMO**, data de emissão: **19/07/2024** e o
código de verificação: **cd4e8e015c**

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho com todo meu coração aos meus pais Luisa Ignacelia Chancahuaña Huamani e Celso Manuel Cruces Torres por me darem a oportunidade de estudar e acreditar no que eu faço. Aos meus irmãos Roni e André por sempre me apoiarem apesar da distância. Vocês estão sempre em minha mente e em meu coração.

*“Se você pode ver o seu caminho
indicado na sua frente, passo a
passo, saiba que não é seu
caminho. O seu próprio caminho
você faz com cada passo que dá. É
por isso que é o seu caminho.”*

Joseph Campbell

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, professor Dr. José Luis Fernando Luque Alejos, pela oportunidade de trabalho, pelos ensinamentos e conselhos que, além de tornar esse projeto possível, me permitiram crescer profissionalmente e pessoalmente. Obrigado!

À professora, Blga. Gloria Maria Sáez Flores (Universidad Nacional Federico Villarreal, Peru), por me inculcar o amor pela pesquisa e a parasitologia de peixes.

Aos professores, Blgo. Ruperto Severino López, Blga. Alicia Encarnacion Diestro Diestro e Dr. Jhon Darly Chero de la Cruz pelo apoio e consideração para comigo.

A todos os colegas do Laboratório de Parasitologia de Peixes da UFRRJ, pelo companheirismo e apoio.

A minha grande amiga, Daniela Vinhas, pelo seu companheirismo e cumplicidade. Suas palavras e sua sinceridade me deram a força que precisava para continuar trilhando um caminho diferente. Uma amizade que continuará sempre.

A todos os funcionários, professores e colegas do Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal e da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro que estiveram presentes nessa empreitada.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. "This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001.

RESUMO

CRUCES, CELSO LUIS CHANCAHUAÑA. **Taxonomia e filogenia de dactilogirídeos (Platyhelminthes: Monopisthocotyla: Dactylogyridae) parasitos de peixes marinhos na região norte do Peru.** 2024. 59p. Tese (Doutorado em Biologia Animal). Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2024.

O presente trabalho tem como objetivo estudar a taxonomia e filogenia de dactilogirídeos parasitos de peixes marinhos na região norte do Peru. Entre março de 2018 e dezembro de 2019 foram coletadas, com auxílio de pescadores locais, três ósseos, *Pronotogrammus multifasciatus* Gill (Perciformes: Serranidae), *Brotula clarkae* Hubbs, 1944 (Ophidiiformes: Ophidiidae) e *Galeichthys peruvianus* Lütken, 1874 (Siluriformes: Ariidae), para estudar seus parasitos. Os dactilogirídeos encontrados foram analisados morfológicamente por meio de microscopia de luz e, em alguns casos, foram analisados geneticamente. No primeiro capítulo, o gênero *Bicentenariella* Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2022, é proposto e três espécies, *B. claudiae* (espécie-tipo), *B. sinuosa* e *B. puertopizarroensis*, são descritas das brânquias de *P. multifasciatus*. Adicionalmente, duas espécies previamente descritas no gênero *Parancylodiscoides* Caballero y Caballero & Bravo-Hollis, 1961, *Pa. peruensis* e *Pa. signiferi*, são transferidos para *Bicentenariella* como *B. peruensis* e *B. signiferi*. No segundo capítulo, *Brotulella* Cruces, Chero & Luque, 2023, é proposto, baseado em dados morfológicos e moleculares, para acomodar duas espécies de dactilogirídeos, *B. laurafernandae* (espécie-tipo) e *B. luisahelenae* nos filamentos branquiais do peixe *B. clarkae*. No terceiro capítulo, três espécies, duas de *Neotetraonchus* e uma de *Chauhanellus*, são descritas infectando as brânquias de *G. peruvianus*. Foram fornecidas as sequências do gene 28S do rDNA para estas espécies e sua posição filogenética foi investigada. As espécies aqui descritas representam as primeiras ocorrências dos gêneros *Neotetraonchus* e *Chauhanellus* no Peru.

Palavras-chave: Monopisthocotyla, *Bicentenariella*, *Brotulella*, *Neotetraonchus*, peixes ósseos, ectoparasitos.

ABSTRACT

CRUCES, CELSO LUIS CHANCAHUAÑA. **Taxonomy and phylogeny of dactylogyrids (Platyhelminthes: Monopisthocotyla: Dactylogyridae) parasites of marine fish in the northern region of Peru.** 2024. 59p. Thesis (Ph.D. in Animal Biology). Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2024

The present work aims to study the taxonomy and phylogeny of dactylogyrid parasites of marine fish in the northern region of Peru. Between March 2018 and December 2019, three species of bony fish were collected with the help of local fishermen: *Pronotogrammus multifasciatus* Gill (Perciformes: Serranidae), *Brotula clarkae* Hubbs, 1944 (Ophidiiformes: Ophidiidae), and *Galeichthys peruvianus* Lütken, 1874 (Siluriformes: Ariidae) to study their parasites. The dactylogyrids found were morphologically analyzed using light microscopy and, in some cases, were genetically analyzed. In the first chapter, *Bicentenariella* Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2022, is proposed, and three species, *B. claudiae* (type species), *B. sinuosa*, and *B. puertopizarroensis*, are described from the gills of *P. multifasciatus*. Additionally, two species previously described in the genus *Parancylodiscoides* Caballero y Caballero & Bravo-Hollis, 1961, *P. peruensis*, and *P. signiferi*, are transferred to *Bicentenariella* as *B. peruensis* and *B. signiferi*. In the second chapter, a new genus, *Brotulella* Cruces, Chero & Luque, 2023, is proposed based on morphological and molecular data to accommodate two species of dactylogyrids, *Br. laurafernandae* (type species) and *Br. luisahelenae*, on the gill filaments of *B. clarkae*. In the third chapter, three species, two of *Neotetraonchus* and one of *Chauhanellus*, are described infecting the gills of *G. peruvianus*. The 28S rDNA gene sequences for these species were provided, and their phylogenetic position was investigated. The species described here represent the first occurrences of the genera *Neotetraonchus* and *Chauhanellus* in Peru.

Key words: Monopisthocotyla, *Bicentenariella*, *Brotulella*, *Neotetraonchus*, Bony fish, Ectoparasites.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** O ciclo de vida de um monogenético parasitando as brânquias de um peixe marinho.....1
- Figura 2.** Localização geográfica do litoral do Puerto Pizarro, Região de Tumbes, Peru. Círculo vermelho indica a localidade de coleta dos peixes.....5
- Figura 3.** *Bicentenariella claudiae*. **A.** Espécime (vista ventral). **B.** Âncora ventral. **C.** Âncora dorsal. **D.** Barra ventral. **E.** Barra dorsal. **F.** Gancho. **G.** Órgão copulatório masculino. Abreviações: mp, projeções mediais.....9
- Figura 4.** *Bicentenariella sinuosa*. **A.** Espécime (vista ventral). **B.** Âncora ventral. **C.** Âncora dorsal. **D.** Barra ventral. **E.** Barra dorsal. **F.** Gancho. **G.** Órgão copulatório masculino. Abreviações: mp, projeções mediais.....12
- Figura 5.** *Bicentenariella puertopizarroensis*. **A.** Espécime (vista ventral). **B.** Âncora ventral. **C.** Âncora dorsal. **D.** Barra ventral. **E.** Barra dorsal. **F.** Gancho. **G.** Órgão copulatório masculino. Abreviações: mp, projeções mediais.....14
- Figura 6.** Fotomicrografias compostas da barra dorsal de **A.** *Bicentenariella claudiae*. **B.** *Bicentenariella sinuosa*. **C.** *Bicentenariella puertopizarroensis*. **D.** *Bicentenariella peruensis* (Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2017) (MUSM 3487, parátipo). **E.** *Bicentenariella signiferi* (Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2017) (MUSM 3536, parátipo). **F.** *Parancylodiscoides chaetodipteri* Caballero & Bravo-Hollis, 1961 (MUSM 3247, voucher)16
- Figura 7.** *Brotulella laurafernandae*. **A.** Espécime (vista ventral). **B.** Âncora ventral. **C.** Âncora dorsal. **D.** Barra ventral. **E.** Barra dorsal. **F.** Gancho. **G.** Órgão copulatório masculino.....25
- Figura 8.** *Brotulella luisahelenae*. **A.** Espécime (vista ventral). **B.** Âncora ventral. **C.** Âncora dorsal. **D.** Barra ventral. **E.** Barra dorsal. **F.** Gancho. **G.** Órgão copulatório masculino.....28
- Figura 9.** Árvore filogenética com base na região 28S para *B. laurafernandae* e *B. luisahelenae* (Dactylogyridae) inferida pelos métodos de inferência bayesiana (BI) e máxima verossimilhança (ML) (aLRT e réplicas de bootstrap). O suporte nodal é descrito à esquerda por probabilidade posterior bayesiana, aRLT e réplicas de bootstrap para cada nó representado. A barra de escala representa o número de substituições por sítio. O símbolo de um asterisco (*) indica baixo suporte nodal.....31

Figura 10. *Chauhanellus* sp. nov. **B.** Âncora ventral. **C.** Âncora dorsal. **D.** Barra ventral. **E.** Barra dorsal. **F.** Ganchos. **G.** Órgão copulatório masculino.....37

Figura 11. *Neotetraonchus celsomaneli*. **B.** Âncora ventral. **C.** Âncora dorsal. **D.** Onchium. **E.** Barra ventral. **F.** Barra dorsal. **G.** Par de ganchos 1. **H.** Par de ganchos 2. **I.** Par de ganchos 3. **J.** Par de ganchos 4. **K.** Par de ganchos 5. **L.** Par de ganchos 6. **M.** Par de ganchos 7. **N.** Órgão copulatório masculino.....40

Figura 12. *Neotetraonchus peruvianus*. **A.** Espécime (vista ventral). **B.** Âncora ventral. **C.** Âncora dorsal. **D.** Onchium. **E.** Barra ventral. **F.** Barra dorsal. **G.** Par de ganchos 1. **H.** Par de ganchos 2. **I.** Par de ganchos 3. **J.** Par de ganchos 4. **K.** Par de ganchos 5. **L.** Par de ganchos 6. **M.** Par de ganchos 7. **N.** Órgão copulatório masculino.....43

Figura 13. Árvore filogenética com base na região 28S para *Neotetraonchus celsomaneli* (Dactylogyridae) inferida por inferência bayesiana (BI) para mostrar suas relações com outras espécies de Dactylogyridae que infectam hospedeiros ariídeos. Números ao longo dos ramos indicam os valores de bootstrap.....44

Figura 14. Árvore filogenética com base na região 28S para *Chauhanellus* sp. nov. (Dactylogyridae) por inferência bayesiana (BI) e máxima verossimilhança (ML) para mostrar suas relações com outras espécies de *Chauhanellus* e *Haematopeduncularia* que infectam hospedeiros ariídeos. Números ao longo dos ramos indicam os valores de bootstrap.....47

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPÍTULO 1: Proposta de <i>Bicentenariella</i> Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2021 (Monogenea: Dactylogyridae), incluindo a descrições de três espécies e duas combinações de peixes serranídeos (Actinopterygii: Serranidae: Anthiinae) no Oceano Pacífico Sul-Americano.....	3
CAPÍTULO 2: Caracterização morfológica e molecular de Dactylogyridae parasitos das brânquias de peixes marinhos de profundidade no Peru, incluindo a proposta de <i>Brotulella</i> Cruces, Chero & Luque, 2022 e a descrição de duas espécies.....	19
CAPÍTULO 3: Três espécies de monogenéticos Dactylogyridae parasitando o bagre-marinho peruano <i>Galeichthys peruvianus</i> (Siluriformes, Ariidae), incluindo dados moleculares.....	32
CONCLUSÕES GERAIS	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
ANEXOS	57

INTRODUÇÃO GERAL

Os monogenéticos são parasitos que fazem parte da classe Monogenea Van Beneden, 1858, e pertencente ao filo Platyhelminthes Minot, 1876 e são caracterizados pela presença de um órgão de fixação posterior denominado haptor (Boeger & Kritsky, 2001; Pavenelli et al., 2002). São organismos geralmente pequenos e achatados, e infetam peixes marinhos e de água doce (Boeger & Kritsky, 2001), e outros animais aquáticos (Du Preez et al., 2002; Pavenelli et al., 2008). Estes parasitos têm um ciclo de vida direto, o que significa que passam por um único hospedeiro durante o seu ciclo de vida (Pavenelli et al., 2013) (Fig. 1). As formas adultas dos monogenéticos geralmente vivem nas brânquias, na pele ou nas nadadeiras dos peixes, onde se fixam e se alimentam de fluidos corporais (Eiras et al., 2010). Algumas espécies podem infectar os órgãos internos, cloaca ou bexiga urinária, de anfíbios e répteis aquáticos ou a cavidade ocular de hipopótamos (Boeger & Kritsky, 2001). O ciclo de vida dos monogenéticos geralmente inclui estágios de ovos, larvas (oncomiracídio) e adultos (Buchmann & Lindesstrom, 2002). Após a eclosão dos ovos, as larvas procuram ativamente um hospedeiro adequado para se fixarem. Uma vez ligados ao hospedeiro, amadurecem e reproduzem-se, produzindo novos ovos para continuar o ciclo (Roumbedakis et al., 2018). No entanto, esse não é o único ciclo de vida observado entre os monogenéticos. A família Gyrodactylidae, por exemplo, apresenta um ciclo de vida diferente e mais complexo. Os gyrodactylídeos são vivíparos e não liberam ovos no ambiente. Em vez disso, eles produzem larvas diretamente dentro do corpo da fêmea, e essas larvas são liberadas já em estágio avançado de desenvolvimento, prontas para infestar o hospedeiro. Além disso, esses parasitos têm a capacidade de se reproduzir por meio de um processo chamado poliembriogenia, onde uma larva em desenvolvimento pode conter uma outra larva no seu interior, criando assim uma descendência rápida e eficaz no hospedeiro (Boeger & Kritsky, 2001).

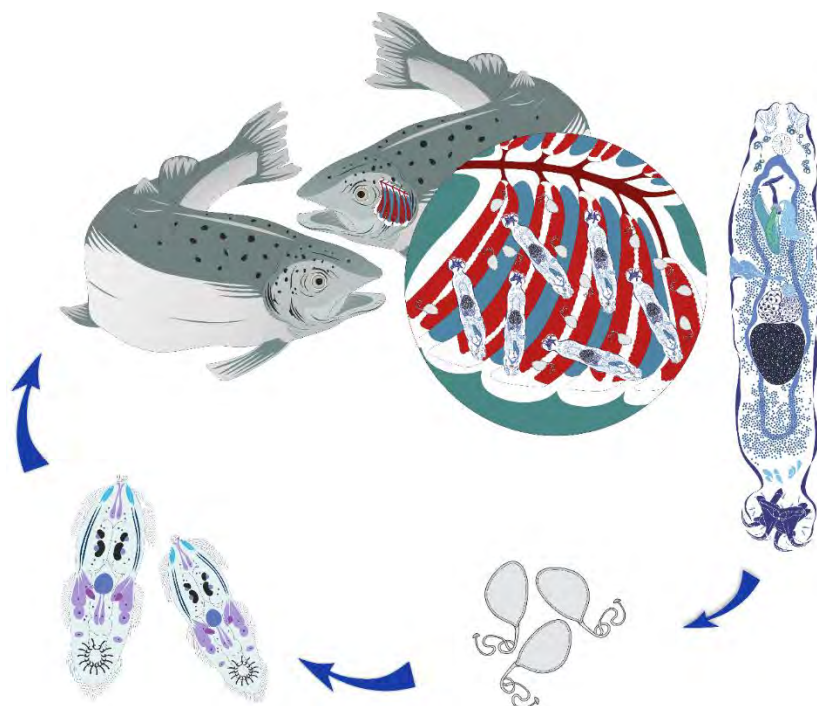


Figura 1. O ciclo de vida de um monogenético parasitando as brânquias de um peixe marinho. Informações de acordo com Boeger & Kritsky (2001).

O estudo da taxonomia dos monogenéticos é fundamental por várias razões. Primeiramente, a taxonomia permite a identificação e classificação adequadas desses parasitos com base em características morfológicas e moleculares. Isso é essencial para compreender a diversidade, distribuição e evolução desses organismos, além de auxiliar na investigação de suas relações com os hospedeiros. Dentro dos monogenéticos, os Dactylogyridae são uma família de grande importância na saúde dos hospedeiros, composta por uma grande variedade de espécies (Cribb et al., 2002). Estes parasitos são encontrados nas brânquias e na superfície do corpo de peixes de água doce e salgada. A sua capacidade de se fixar nas brânquias pode causar sérios danos aos hospedeiros, interferindo na respiração, no funcionamento adequado das brânquias e, conseqüentemente, prejudicando o desempenho fisiológico do peixe (Bakke et al., 2007; Antonelli et al., 2010). Através de suas estruturas de fixação, como ganchos, eles provocam lesões que podem levar à ulceração, inflamação e até hemorragias (Buchmann & Lindenstrøm, 2002; Thatcher, 2006). Essas lesões facilitam a entrada de agentes patogênicos secundários, como bactérias e fungos, comprometendo ainda mais a saúde do hospedeiro (Thatcher, 2006). Além disso, a infestação intensa pode causar estresse no peixe, reduzindo sua capacidade de alimentação e crescimento (Buchmann & Lindenstrøm, 2002; Thatcher, 2006). Portanto, a compreensão da diversidade desses parasitos é crucial para implementar medidas de controle e manejo adequadas, incluindo o desenvolvimento de estratégias de prevenção e tratamento para reduzir o impacto negativo que eles podem causar nos peixes e na indústria aquícola (Mendoza-Franco 2009).

No Peru, foram registradas um total de 358 espécies de monogenéticos, das quais 270 são espécies válidas e 88 estão identificadas a nível de família ou gênero (Santillán et al., 2023). A maioria dessas espécies (335) infesta peixes teleósteos, enquanto 20 parasitam condrictes, como tubarões e raias. Além disso, foram documentadas 3 espécies que infectam anfíbios. As famílias mais diversas são Dactylogyridae, com 217 espécies, e Diplectanidae, com 24 espécies (Santillán et al., 2023).

O objetivo desta tese é fornecer um maior conhecimento da biodiversidade de monogenéticos Dactylogyridae, parasitos de peixes marinhos na zona norte do Peru, realizando um estudo taxonômico e filogenético dos mesmos. Isso permitirá gerar informações que possam, futuramente, servir como subsídios para estudos de integridade biótica das regiões, como, por exemplo, na avaliação da saúde dos ecossistemas marinhos através da presença e diversidade desses parasitos, ou no monitoramento de mudanças ambientais que possam afetar as comunidades de peixes e seus parasitos associados.

CAPÍTULO I

Proposta de *Bicentenariella* Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2021 (Monogenea: Dactylogyridae), incluindo a descrições de três espécies e duas combinações de peixes serranídeos (Actinopterygii: Serranidae: Anthiinae) no Oceano Pacífico Sul-Americano¹

¹Artigo publicado: Cruces, C.L.; Chero, J.D.; Sáez, G.; Luque, J.L. *Bicentenariella* ng (Monogenea: Dactylogyridae) including descriptions of three new species and two new combinations from serranid fishes (Actinopterygii: Serranidae: Anthiinae) in the South American Pacific Ocean. **Syst. Parasitol.** 2021, 98(4), 357–367. (ANEXO I).

1. INTRODUÇÃO

Os Serranidae incluem 556 espécies de peixes marinhos que ocorrem em oceanos tropicais e temperados. Comumente conhecidos como robalos (garoupas e castanholas), a família atualmente contém 75 gêneros (Eschmeyer et al. 1983). Apesar de os Serranidae serem relativamente comuns e terem distribuições geográficas relativamente amplas, a diversidade da fauna de Dactylogyridae que os parasitam é comparativamente pouco conhecida (Cruces et al., 2017a, 2020). Até hoje, membros de quatro gêneros foram relatados de hospedeiros serranídeos; estes são *Dactylogyrus* Diesing, 1850, *Haliotrema* Johnston & Tiegs, 1922, *Parancylodiscoides* Caballero y Caballero & Bravo-Hollis, 1961, e *Pronotogrammella* Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2020 (Monaco & Mizelle, 1955; Young, 1968; Justine, 2007a, b; Justine & Sigura, 2007; Justine & Vignon, 2009; Dang et al., 2010; Kritsky & Bakenhaster, 2016; Nitta & Nagasawa, 2018; Cruces et al., 2017a, 2020).

Durante uma pesquisa parasitológica de helmintos parasitando peixes marinhos do norte do Peru, foram encontradas três espécies de *Bicentenariella* Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2022, infectando as brânquias do robalo-filé, *Pronotogrammus multifasciatus* Gill (Actinopterygii: Serranidae), um actinopterígeo demersal endêmico do Pacífico Oriental, que habita em fundos rochosos e se alimenta de pequenos crustáceos planctônicos (Eschmeyer et al. 1983; Froese & Pauly, 2021). Aqui são descritas essas três espécies. Além disso, *Parancylodiscoides peruensis* Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2017 e *P. signiferi* Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2017 foram transferidos para o gênero *Bicentenariella*, como *B. peruensis* e *B. signiferi*, respectivamente.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os peixes foram coletados de janeiro de 2018 até fevereiro de 2019 da zona costeira de Puerto Pizarro, Tumbes, Peru (3°29'S, 80°24'W) (Fig. 2), usando redes de emalhe e foram dissecados imediatamente após a captura. Os arcos branquiais foram removidos imediatamente e colocados em frascos contendo água do mar aquecida (60°C). Cada frasco foi vigorosamente agitado e formalina foi adicionada para obter uma solução de 4%. No laboratório, o conteúdo de cada frasco foi examinado sob um microscópio estereoscópico e os monogenéticos foram retirados das brânquias ou sedimentos usando agulhas pequenas. Alguns espécimes foram corados com tricrômico de Gomori, diafanizados em eugenol, e montados em bálsamo do Canadá. Outros espécimes foram montados em meio Gray & Wess (Humason 1979) para o estudo de estruturas esclerotizadas. Os espécimes foram examinados e fotografados usando um microscópio composto Olympus™ BX51 equipado com iluminação normal e microscopia de contraste de interferência diferencial (DIC), e desenhos foram feitos com o auxílio de um tubo de desenho. Medidas são expressas em micrômetros, a menos que indicado de outra forma, usando distâncias em linha reta entre pontos extremos das estruturas medidas e são expressas como o intervalo seguido pela média e número (n) de estruturas medidas entre parênteses. O comprimento do corpo representa o comprimento do corpo propriamente dito com o háptor. A numeração dos pares de ganchos segue as recomendações de Mizelle (1936) e Mizelle & Price (1963). Os peixes foram identificados usando as chaves dos peixes marinhos peruanos de Chirichigno & Vélez (1998) e Chirichigno & Cornejo (2001). As abreviações *P.* e *Pr.* para os parasitos

(*Parancylodiscoides* e *Pronotogrammella*) e *Po.* para o hospedeiro (*Pronotogrammus*) são usadas para evitar dúvidas quanto aos gêneros.

Para comparação, os seguintes tipos e vouchers de dactylogyrídeos depositados na Coleção Nacional de Helminthos, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México (CNHE), México, na Coleção Helminológica do Museu Nacional de História Natural, Instituição Smithsonian (USNM), EUA, e na Coleção Helminológica do Museu de História Natural da Universidade San Marcos (MUSM), Peru, foram estudados: *Haliotrema cromileptis* Young, 1968 (USNM 1357003, holótipo; USNM 1357004, parátipo); *H. epinepheli* Young, 1968 (USNM 1357005, holótipo; USNM 1357006, parátipo); *P. peruensis* (MUSM 3480, holótipo; MUSM 3481-3507, parátipos); *P. signiferi* (MUSM 3508, holótipo; MUSM 3509-3539, parátipos); *P. chaetodipteri* Caballero & Bravo-Hollis, 1961 (MUSM 3247, voucher); *Pronotogrammella boegeri* Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2020 (MUSM 4430, holótipo; MUSM 4431a-j, parátipos); *Pr. multifasciatus* Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2020 (MUSM 4434, holótipo; MUSM 4435a-b, parátipos); e *Pr. scholzi* Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2020 (MUSM 4432, holótipo; MUSM 4433a-f, parátipos). O material-tipo foi depositado no Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marco (MUSM).

Para cumprir com as regulamentações estabelecidas no artigo 8.5 da versão modificada de 2012 do Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (ICZN, 2012), os detalhes de todos os novos táxons foram submetidos ao ZooBank. Para cada novo táxon, o Identificador de Ciências da Vida (LSID) é relatado no resumo taxonômico.

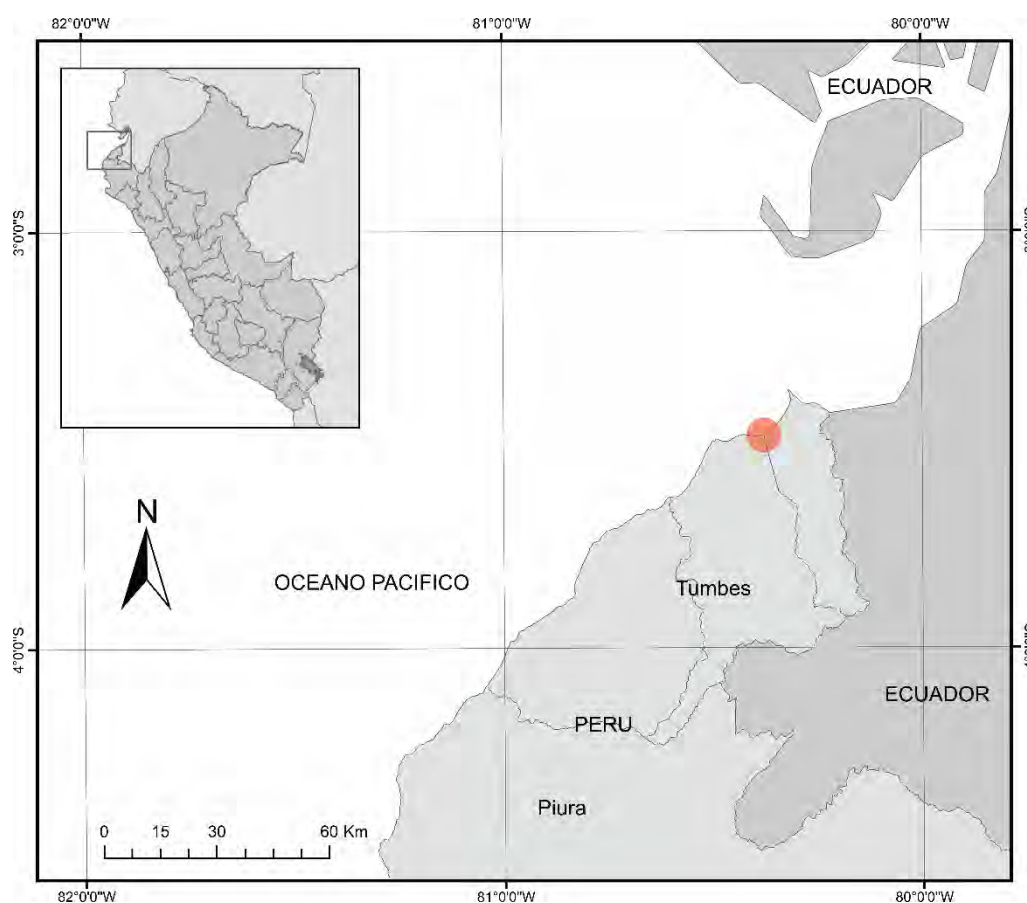


Figura 2. Localização geográfica do litoral do Puerto Pizarro, Região de Tumbes, Peru. Círculo vermelho indica a localidade de coleta dos peixes.

3. RESULTADOS

Ordem Dactylogyridea Bychowsky, 1937

Família Dactylogyridae Bychowsky, 1933

***Bicentenariella* Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2021**

Diagnose: Corpo fusiforme, ligeiramente achatado dorsoventralmente, compreendendo corpo próprio (região cefálica, tronco e pedúnculo) e háptor. Tegumento fino, superfície lisa. Um lóbulo terminal discreto e 2 lobos cefálicos bilaterais; 3 pares de órgãos cefálicos bilaterais. Glândulas cefálicas unicelulares, anterior e posterolateral à faringe. Manchas ocelares ausentes; grânulos cromáticos acessórios presentes. Boca subterminal, ventral; faringe muscular, glandular; esôfago curto. Poros genitais comuns ventrais, próximo ao nível da bifurcação intestinal. Gônadas interceca. Testículo dorsal e posterior ao ovário; vesícula seminal é uma dilatação do vaso deferente; um ou dois reservatórios prostáticos. Órgão copulatório masculino (OCM) tubular, esclerotizado, com aba basal bifurcada ou não, sem peça acessória. Membrana delicada associada ao eixo do OCM presente ou ausente. Ovário inteiro, à direita da porção anterior do testículo; oviduto, útero não observados. Abertura vaginal dextrolateral; vagina muscular, em forma de trombeta, esvaziando-se para receptáculo seminal. Folículos vitelinos densos, coextensos com os cecos intestinais. Háptor com lóbulos emparelhados bilateralmente, sem reservatórios hápticos, armado com 2 pares de complexos de barra de âncora e 7 pares de ganchos com distribuição ancirocefalina *sensu* Mizelle (1936). Âncoras iguais; cada uma com raiz superficial alongada e raiz profunda curta. Barra ventral alongada com duas projeções mediais (mp); barra dorsal em forma de X, com braços anteriores mais longos que os braços posteriores. Ganchos com hastes não dilatadas e polegar obtuso saliente. Parasitos das brânquias de espécies de peixes serranídeos.

Espécie tipo: *Bicentenariella claudiae*.

Etimologia: O nome do gênero refere-se à comemoração do 200º aniversário da Independência da República do Peru (América do Sul). O nome é apendado ao diminutivo *-ella* e deve ser tratado como feminino.

Comentários:

Bicentenariella difere de todos os outros gêneros de Dactylogyridae principalmente por apresentar uma barra dorsal em forma de X, com os braços anteriores mais longos que os posteriores, e por ter uma barra ventral com duas projeções mediais. Além disso, *Bicentenariella* também se caracteriza pelos seguintes caracteres: (i) âncoras iguais, cada uma com raiz superficial alongada e raiz profunda curta; (ii) háptor com lóbulos emparelhados bilateralmente, sem reservatórios hápticos; (iii) ganchos com polegar obtuso saliente e haste não dilatada; (iv) ceco intestinal confluindo posteriormente; (v) OCM tubular em forma de cone com aba basal bifurcada ou não, sem peça acessória, com membrana delicada associada ao eixo do OCM presente ou ausente; (vi) uma vagina muscular em forma de trombeta, abertura vaginal dextrolateral; (vii) manchas ocelares ausentes, grânulos cromáticos acessórios presentes; e (viii) um testículo não lobulado. *Bicentenariella* se assemelha a *Parancylodiscoides* Caballero y Caballero & Bravo-Hollis, 1961, que inclui três espécies parasitando peixes Ehippidae e uma espécie que infesta peixes serranídeos. Os membros de ambos os gêneros compartilham

as seguintes características: (i) um complexo copulatório sem peça acessória; (ii) barras dorsais e ventrais diferentes; e (iii) âncoras iguais. No entanto, além das características distintivas mencionadas (barra dorsal em forma de X com os braços anteriores mais longos que os posteriores e uma barra ventral com duas projeções mediais), *Bicentenariella* difere de *Parancylodiscoides* por suas espécies geralmente terem um háptor sem reservatórios hápticos (dois pares de reservatórios hápticos presentes em *Parancylodiscoides* spp.); uma vagina em forma de trombeta (fusiforme em *Parancylodiscoides* spp.); uma abertura vaginal dextrolateral (uma abertura vaginal dextroventral em *Parancylodiscoides* spp.); OCM tubular (em forma de J em *Parancylodiscoides* spp.); base do OCM com aba bifurcada ou não, dirigida posteriormente (aba bifurcada ou não dirigida anteriormente em *Parancylodiscoides* spp.); e testículo não lobulado (testículo lobulado em *Parancylodiscoides* spp.).

As espécies de *Bicentenariella* assemelham-se ligeiramente as espécies de *Pronotogrammella* por possuírem um OCM sem peça acessória, ganchos com polegares salientes e hastes não dilatadas, barras dorsais e ventrais diferentes, um poro vaginal dextral, dois cecos intestinais sem divertículos e unidos posteriormente às gônadas, e um ovário à direita do testículo. No entanto, *Bicentenariella* difere de *Pronotogrammella* por suas espécies terem âncoras iguais (ao invés de diferentes como em *Pronotogrammella* spp.); âncoras ventrais sem esclerito acessório articulado à ponta das raízes superficiais (presente em *Pronotogrammella* spp.); e grânulos cromáticos acessórios na área cefálica (ausentes em *Pronotogrammella* spp.).

***Bicentenariella claudiae* Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2022**
(Figuras 3A-F)

Descrição: [Baseado em 8 espécimes montados em meio Gray e Wess e 11 corados com tricrômico de Gomori.] Corpo alongado (Fig. 3A), 496–578 (528; n = 19) de comprimento; largura máxima 108–127 (117; n = 19) geralmente no nível do testículo. Região cefálica ligeiramente larga; lobos cefálicos moderadamente desenvolvidos; par bilateral de glândulas cefálicas no nível pré e pós-faríngeo. Faringe esférica, com maior largura de 28–35 (32; n = 11). Pedúnculo largo. Háptor subretangular, 53–63 (56; n = 11) de comprimento; 80–96 (89; n = 11) de largura; grupo de células secretoras bem desenvolvidas situadas no pedúnculo; músculo adutor extrínseco ventral bem desenvolvido, passando através de células secretoras. Âncoras com ranhuras finas conspícuas, semelhantes em forma; cada uma com raiz superficial alongada bem desenvolvida, raiz profunda arredondada e curta, haste ligeiramente curva, ponta curta e curva (Fig. 3B, C); âncora ventral 50–51 (51; n = 10) de comprimento, base 14–18 (16; n = 10) de largura; âncora dorsal 50–53 (51; n = 10) de comprimento, base 14–17 (16; n = 10) de largura. Barra ventral 37–50 (44; n = 12) de comprimento, em forma de barra, com extremidades laterais em forma de machado (Fig. 3D). Barra dorsal 51–64 (58; n = 12) de comprimento, com projeções posteromedial, braços anteriores bem desenvolvidos e robustos, braços posteriores curtos (Fig. 3E, Fig. 6A). Quatorze ganchos semelhantes, 12–13 (13; n = 8) de comprimento, cada um com polegar obtuso saliente, haste uniforme e ponta delicada (Fig. 3F); laço de gancho filamentosos (FH) aproximadamente do tamanho da haste. OCM 247–268 (256; n = 12) de comprimento, um tubo esclerotizado sinuoso com extremidade distal em forma de chicote; base do OCM ligeiramente expandida com uma aba curta e larga dirigida posteriormente; aba com extremidade distal arredondada. Testículo grande, intercaecal, oval, não lobulado, 82–91 (86; n = 8) de comprimento, 38–42 (40; n = 8) de largura; vaso deferente dilatando-se para formar

grande vesícula seminal fusiforme ligeiramente no lado esquerdo do tronco, lateral ao OCM; dois reservatórios prostáticos piriformes, dextrolaterais ao OCM; glândulas prostáticas pouco visíveis, intercaecais. Ovário 22–31 (27; n = 8) de comprimento, 19–26 (22; n = 8) de largura; piriforme; oviduto, oótipo e útero não observados. Abertura vaginal dextrolateral no nível da vesícula seminal; vestíbulo vaginal alongado, não esclerotizado, situado obliquamente no lado direito do corpo anterior ao ovário; ducto vaginal correndo posteriormente para se unir ao receptáculo seminal subsférico; receptáculo seminal sobrepondo a extremidade anterior do ovário. Folículos vitelinos ao longo do tronco, ausentes nas regiões dos órgãos reprodutivos. Ovos não observados.

Resenha taxonômica

Hospedeiro tipo: *Pronotogrammus multifasciatus* Gill (Perciformes: Serranidae).

Sítio de infecção: Brânquias.

Localidade tipo: Puerto Pizarro (3°29'S, 80°24'W), Tumbes, Peru, América do Sul.

Material tipo: Holótipo (MUSM 4715); 18 parátipos (MUSM 4716a-r).

Etimologia: Esta espécie é nomeada em homenagem à Dra. Cláudia Portes Santos (Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Brasil) em reconhecimento à sua valiosa contribuição para a Ictioparasitologia Neotropical.

Comentários:

Bicentenariella claudiae é a espécie-tipo do gênero recém-criado. A espécie é caracterizada por seu OCM, que é um tubo esclerotizado sinuoso com extremidade distal em forma de chicote. Além disso, *B. claudiae* é tipificada por ter uma barra ventral com extremidades laterais em forma de machado e dois reservatórios prostáticos.

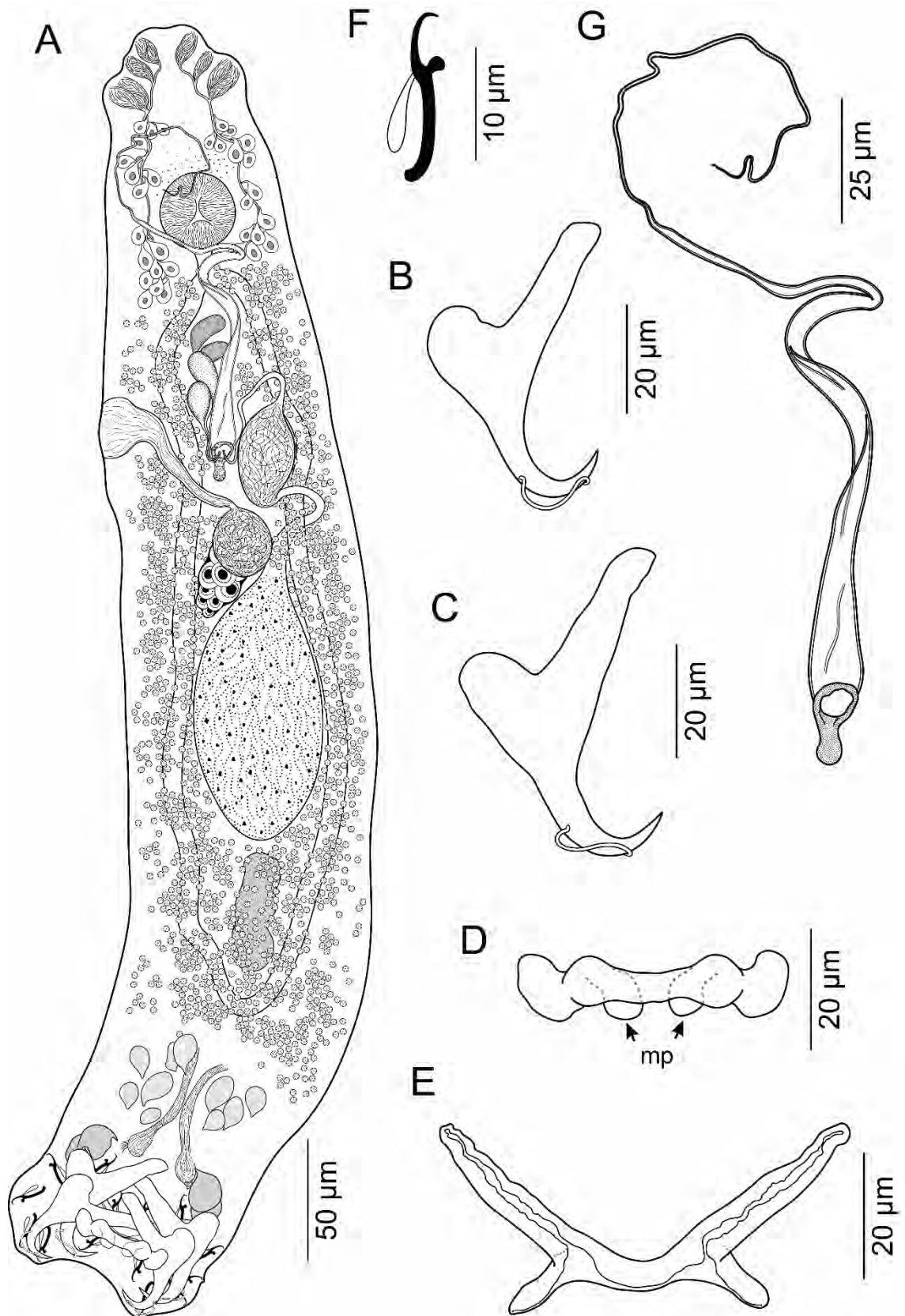


Figura 3. *Bicentenariella claudiae*. **A.** Espécime (vista ventral). **B.** Âncora ventral. **C.** Âncora dorsal. **D.** Barra ventral. **E.** Barra dorsal. **F.** Gancho. **G.** Órgão copulatório masculino. Abreviações: mp, projeções mediais.

***Bicentenariella sinuosa* Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2022**

(Figuras 4A-F)

Descrição: [Baseado em 7 espécimes montados em meio Gray e Wess e 6 corados com tricrômico de Gomori.] Corpo alongado (Fig. 4A), 490–512 (508; n = 11) de comprimento; largura máxima 106–119 (112; n = 11) geralmente no nível do testículo. Região cefálica larga; lobos cefálicos moderadamente desenvolvidos; par bilateral de glândulas cefálicas no nível pré e pós-faríngeo. Faringe esférica, 30–34 (32; n = 6) na maior largura. Pedúnculo largo, alongado. Háptor subretangular, diferenciado do tronco, 59–62 (61; n = 6) de comprimento; 84–93 (88; n = 6) de largura; grupo de poucas células secretoras situadas no pedúnculo. Âncoras com ranhuras finas conspícuas, semelhantes em forma; cada uma com raiz superficial alongada bem desenvolvida, raiz profunda arredondada e curta, haste ligeiramente curva, ponta curta e curva (Fig. 4B, C); âncora ventral 49–53 (51; n = 7) de comprimento, base 16–18 (17; n = 7) de largura; âncora dorsal 53–55 (54; n = 7) de comprimento, base 14–16 (15; n = 7) de largura. Barra ventral 45–48 (46; n = 7) de comprimento, em forma de haltere com duas projeções mediais pouco desenvolvidas, extremidades laterais ampliadas e bilobadas (Fig. 4D). Barra dorsal 55–61 (57; n = 7) de comprimento, com braços anteriores moderadamente desenvolvidos e estreitos, braços posteriores robustos (Fig. 4E, Fig. 6B). Quatorze ganchos semelhantes, 12–13 (13; n = 7) de comprimento, cada um com polegar obtuso saliente, haste uniforme e ponta delicada (Fig. 4F); laço de gancho filamentosos (FH) aproximadamente do tamanho da haste. OCM 145–163 (152; n = 7) de comprimento, ligeiramente afunilado, eixo sinuoso; base do OCM expandida com uma aba discreta e larga dirigida posteriormente; membrana filamentosos irregular envolvendo o eixo do OCM. Testículo grande, intercaecal, ovado, não lobulado, 85–98 (86; n = 6) de comprimento, 45–59 (48; n = 4) de largura; vaso deferente dilatando-se para formar vesícula seminal fusiforme bem desenvolvida ligeiramente no lado esquerdo do tronco, lateral ao OCM; um reservatório prostático piriforme, dextrolateral ao OCM. Ovário 47–50 (49; n = 4) de comprimento, 22–28 (25; n = 3) de largura; piriforme; oviduto, oótipo e útero não observados. Abertura vaginal dextrolateral no nível da vesícula seminal; vestíbulo vaginal alongado, não esclerotizado, situado obliquamente no lado direito do corpo anterior ao ovário; ducto vaginal correndo posteriormente para se unir ao receptáculo seminal subsférico; receptáculo seminal sobrepondo a extremidade anterior do ovário. Folículos vitelinos ao longo do tronco, ausentes nas regiões dos órgãos reprodutivos. Ovos não observados.

Resenha taxonômica

Hospedeiro tipo: *Pronotogrammus multifasciatus* Gill (Perciformes: Serranidae).

Sítio de infecção: Brânquias.

Localidade tipo: Puerto Pizarro (3°29'S, 80°24'W), Tumbes, Peru, América do Sul.

Material tipo: Holótipo (MUSM 4717); 12 parátipos (MUSM 4718a-l).

Etimologia: O nome específico (um adjetivo) vem do latim (*sinuosa* = sinuoso) e se refere à forma do eixo do OCM.

Comentários:

Bicentenariella sinuosa é tipificada por possuir um OCM ligeiramente afunilado e sinuoso com uma membrana filamentosos irregular envolvendo seu eixo e uma base expandida com uma aba discreta. Além disso, *B. sinuosa* difere de *B. claudiae* por possuir uma barra ventral em forma de haltere com extremidades bilobadas (vs uma barra ventral em forma de barra com extremidades laterais em forma de machado em *B. claudiae*), um

reservatório prostático (vs dois reservatórios prostáticos em *B. claudiae*) e uma barra dorsal com braços anteriores quase do mesmo tamanho que os braços posteriores (vs uma barra dorsal com braços anteriores bem desenvolvidos e robustos e braços posteriores curtos em *B. claudiae*).

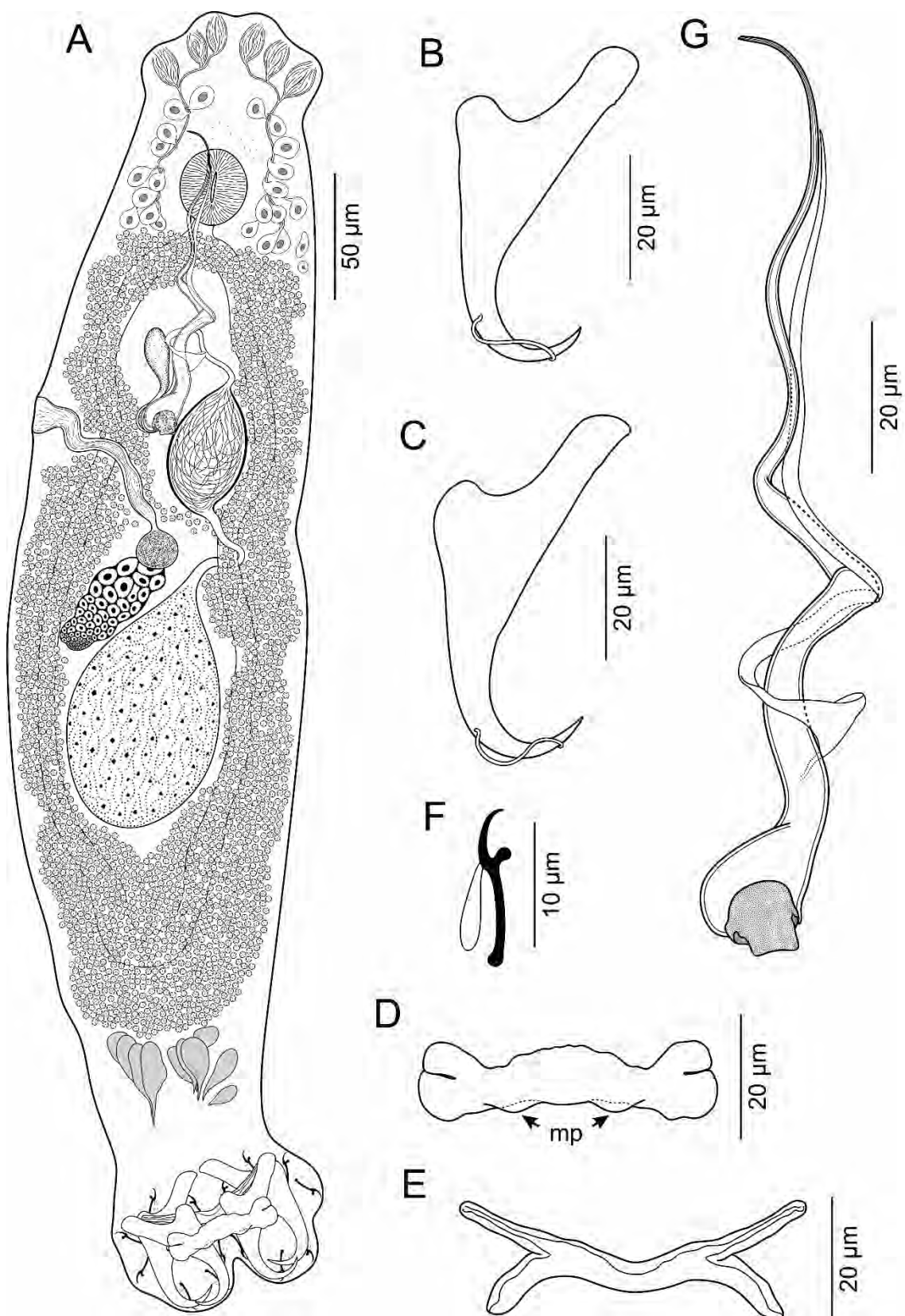


Figura 4. *Bicentenariella sinuosa*. **A.** Espécime (vista ventral). **B.** Âncora ventral. **C.** Âncora dorsal. **D.** Barra ventral. **E.** Barra dorsal. **F.** Gancho. **G.** Órgão copulatório masculino. Abreviações: mp, projeções mediais.

***Bicentenariella puertopizarroensis* Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2022**
(Figuras 5A-F)

Descrição: [Baseado em 8 espécimes montados em meio Gray e Wess e 7 corados com tricrômico de Gomori] Corpo alongado (Fig. 5A), 702–757 (738; n = 15) de comprimento; largura máxima 94–98 (96; n = 14) geralmente no nível do testículo. Região cefálica ligeiramente larga; lobos cefálicos não diferenciados; par bilateral de glândulas cefálicas no nível faríngeo. Faringe esférica, 26–30 (28; n = 7) na maior largura. Pedúnculo estreito, alongado. Háptor subtrapezoidal, diferenciado do tronco, 66–75 (69; n = 7) de comprimento; 85–92 (89; n = 5) de largura. Âncoras com ranhuras finas conspicuas, ligeiramente diferentes em forma (Fig. 5B, C); âncora ventral 51–54 (52; n = 6) de comprimento, base 15–18 (16; n = 7) de largura, com raiz superficial alongada bem desenvolvida, raiz profunda arredondada, haste ligeiramente curva e ponta curta e curva; âncora dorsal 57–63 (60; n = 8) de comprimento, base 17–19 (18; n = 5) de largura, com raiz superficial alongada bem desenvolvida, raiz profunda discreta, haste ligeiramente curva e ponta curta e curva. Barra ventral 78–81 (80; n = 8) de comprimento, estreita, em forma de “W”, projeções mediais discretas, extremidades laterais ligeiramente expandidas (Fig. 5D). Barra dorsal 51–58 (54; n = 5) de comprimento, braços anteriores desenvolvidos e estreitos, braços posteriores robustos (Fig. 5E, Fig. 6C). Quatorze ganchos semelhantes, 12–13 (13; n = 8) de comprimento, cada um com polegar obtuso deprimido, haste uniforme e ponta delicada (Fig. 5F); laço de gancho filamentosos (FH) aproximadamente do tamanho da haste. OCM 69–75 (72; n = 8) de comprimento, um tubo esclerotizado com extremidade distal torcida; base do OCM amplamente expandida com aba bifurcada dirigida posteriormente; membrana delicada colocada na extremidade distal do OCM (Fig. 5G). Testículo grande, intercaecal, ovado, não lobulado, 118–124 (121; n = 6) de comprimento, 46–52 (48; n = 6) de largura; vaso deferente dilatando-se para formar grande vesícula seminal fusiforme ligeiramente no lado esquerdo do tronco, lateral ao OCM; reservatório prostático quase piriforme, dextrolateral ao OCM. Ovário 37–39 (38; n = 4) de comprimento, 18–25 (23; n = 4) de largura; piriforme; oviduto, oótipo e útero não observados. Abertura vaginal dextrolateral no nível da vesícula seminal; vestíbulo vaginal alongado, não esclerotizado, situado obliquamente no lado direito do corpo anterior ao ovário; ducto vaginal correndo posteriormente para se unir ao pequeno receptáculo seminal subsférico; receptáculo seminal sobrepondo a extremidade anterior do ovário. Folículos vitelinos ao longo do tronco, ausentes nas regiões dos órgãos reprodutivos. Ovos não observados.

Resenha taxonômica

Hospedeiro tipo: *Pronotogrammus multifasciatus* Gill (Perciformes: Serranidae).

Sítio de infecção: Brânquias.

Localidade tipo: Puerto Pizarro (3°29'S, 80°24'W), Tumbes, Peru, América do Sul.

Material tipo: Holótipo (MUSM 4719); 14 parátipos (MUSM 4720a-n).

Etimologia: O nome específico refere-se à localidade tipo.

Comentários:

Bicentenariella puertopizarroensis é facilmente diferenciada de todos os congêneres por possuir um OCM em forma de tubo com extremidade distal torcida e uma base amplamente expandida com aba bifurcada. Além disso, *B. puertopizarroensis* difere por possuir uma barra ventral em forma de W, uma membrana delicada associada à extremidade distal do OCM, e âncoras ligeiramente diferentes.

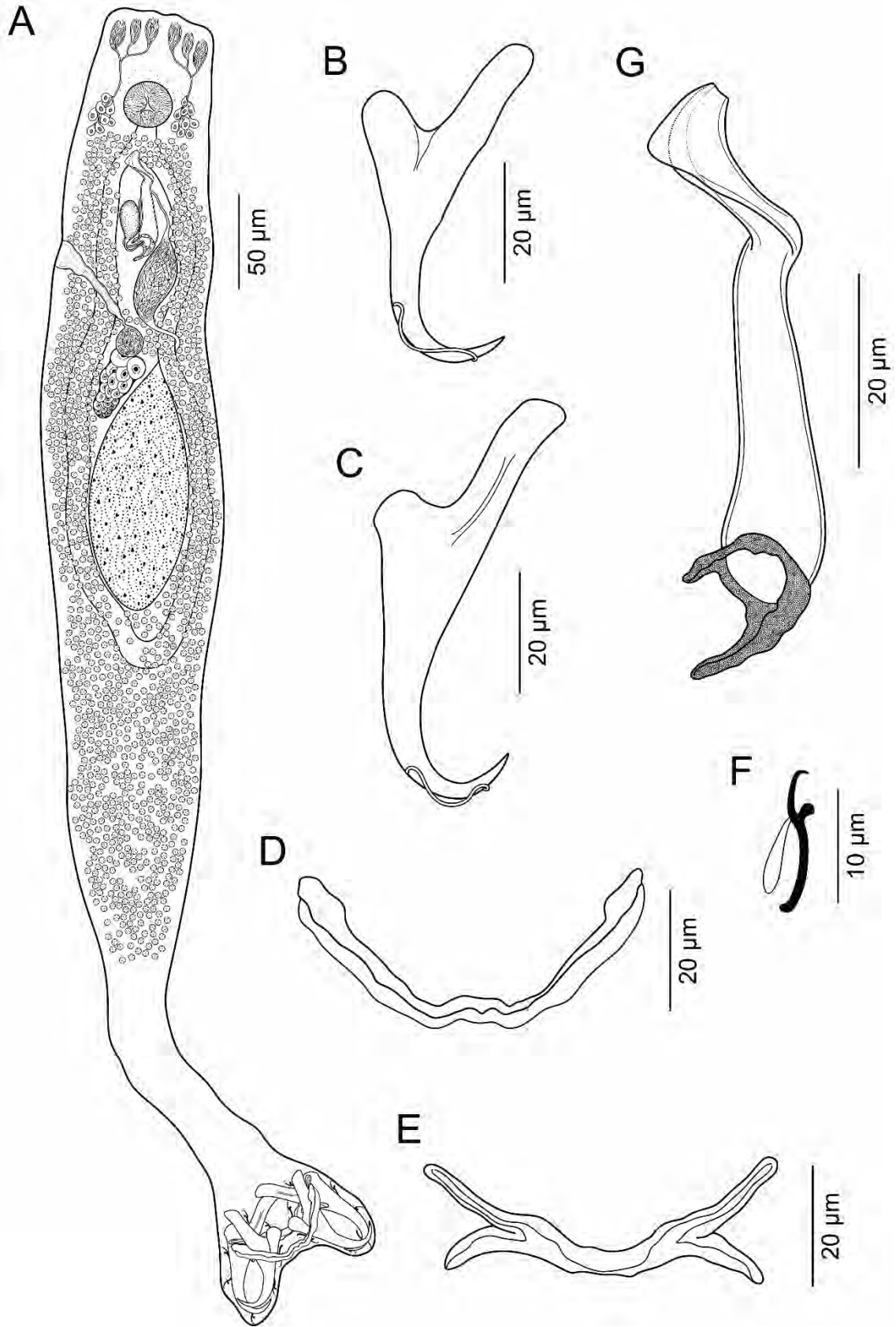


Figura 5. *Bicentenariella puertopizarroensis*. **A.** Espécime (vista ventral). **B.** Âncora ventral. **C.** Âncora dorsal. **D.** Barra ventral. **E.** Barra dorsal. **F.** Gancho. **G.** Órgão copulatório masculino. Abreviações: mp, projeções mediais.

***Bicentenariella peruensis* (Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2017) Cruces, Chero, Sáez y Luque, 2021**

Sinônimo: *Parancylodiscoides peruensis* Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2017 (Fig. 6D).

Resenha taxonômica

Hospedeiro tipo: *Hemanthias peruanus* (Steindachner) (Perciformes: Serranidae)

Sítio de infecção: Brânquias.

Localidade tipo: Puerto Pizarro (3°29'S, 80°24'W), Tumbes, Peru, América do Sul.

Espécimes estudados: Holótipo (MUSM 3480); 27 parátipos (MUSM 3481–3507).

Comentários:

Esta espécie foi originalmente descrita como *Pa. peruensis* por Cruces et al. (2017a) a partir das brânquias de *H. peruanus* coletados em Puerto Pizarro, Tumbes, Peru. *Parancylodiscoides peruensis* é agora transferido para *Bicentenariella* como *B. peruensis* (Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2017) com base na barra dorsal amplamente em forma de X com os braços anteriores mais longos que os posteriores, a barra ventral com duas projeções mediais, háptor sem reservatórios hápticos, OCM tubular em forma de cone, sem peça acessória e abertura vaginal dextrolateral. *Bicentenariella peruensis* difere de todos os congêneres por seu OCM em forma de cone com extremidade distal curva e uma base em forma de sino.

***Bicentenariella signiferi* (Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2017) Cruces, Chero, Sáez y Luque, 2021**

Sinônimo: *Parancylodiscoides signiferi* Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2017 (Fig. 6E).

Resenha taxonômica

Hospedeiro tipo: *Hemanthias signifer* (Garman) (Perciformes: Serranidae)

Sítio de infecção: Brânquias.

Localidade tipo: Puerto Pizarro (3°29'S, 80°24'W), Tumbes, Peru, América do Sul.

Espécimes estudados: Holótipo (MUSM 3508); 31 parátipos (MUSM 3509–3539).

Comentários:

Esta espécie foi descrita como *Pa. signiferi* por Cruces et al. (2017a) a partir das brânquias de *H. signifer* coletadas em Puerto Pizarro, Tumbes, Peru. *Parancylodiscoides signiferi* foi transferido aqui para *Bicentenariella* com base na barra dorsal amplamente em forma de X com os braços anteriores mais longos que os posteriores, uma barra ventral com duas projeções mediais, um háptor sem reservatórios hápticos; um OCM tubular em forma de cone, sem peça acessória e uma abertura vaginal dextrolateral. *Bicentenariella signiferi* (Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2017) n. comb. difere de todos os congêneres por sua morfologia do OCM, que é tubular com um laço na extremidade distal. Além disso, *B. signiferi* é tipificada por ter pontos de âncoras com sulco na superfície externa.

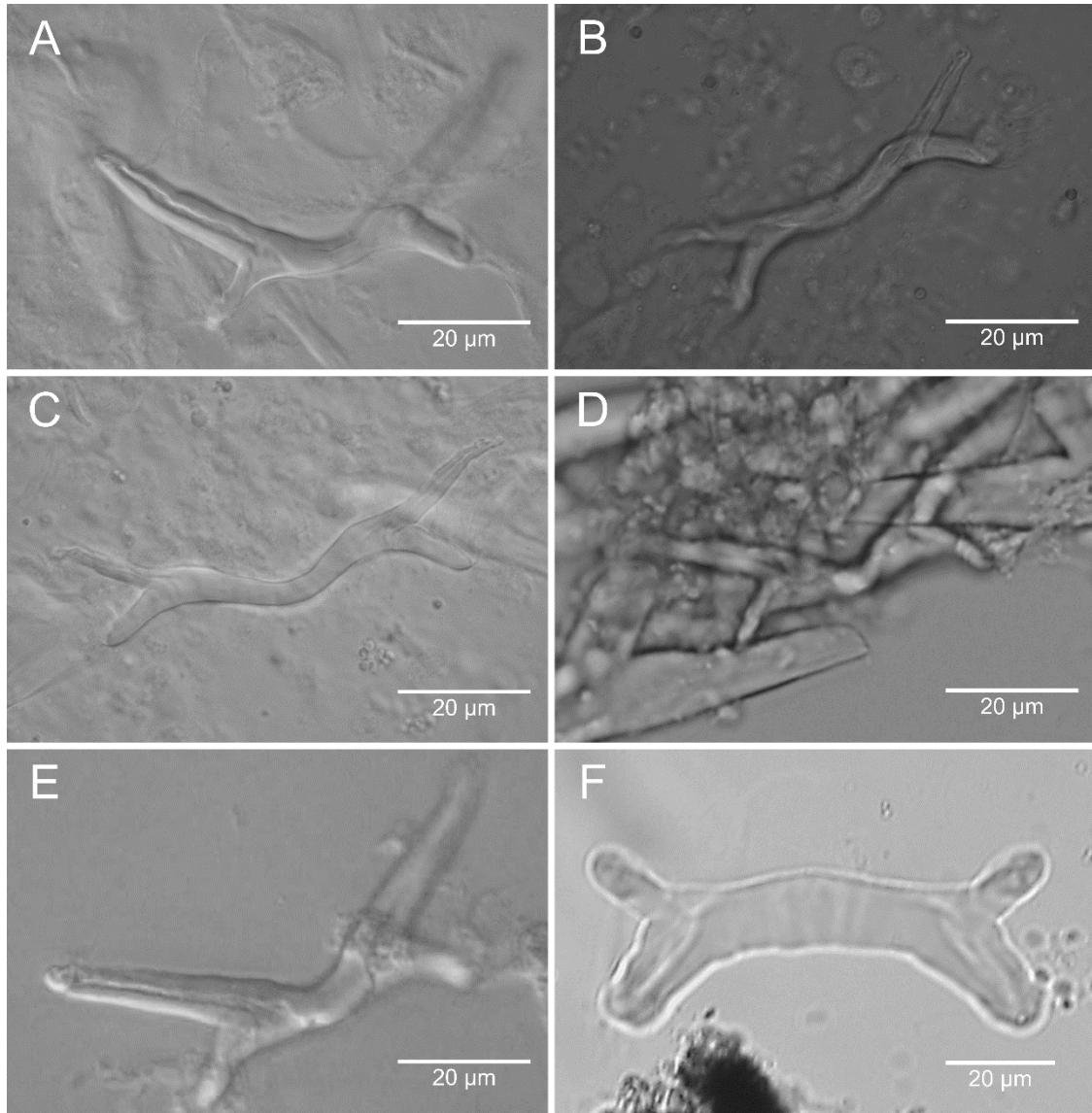


Figura 6. Fotomicrografias compostas da barra dorsal de **A.** *Bicentenariella claudiae*. **B.** *Bicentenariella sinuosa*. **C.** *Bicentenariella puertopizarroensis*. **D.** *Bicentenariella peruensis* (Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2017) n. comb. (MUSM 3487, parátipo). **E.** *Bicentenariella signiferi* (Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2017) n. comb. (MUSM 3536, parátipo). **F.** *Parancylodiscoides chaetodipteri* Caballero & Bravo-Hollis, 1961 (MUSM 3247, voucher).

4. DISCUSSÃO

Embora apenas três espécies de hospedeiros serranídeos tenham sido anteriormente examinadas para parasitos monogenéticos no Peru (Cruces et al., 2020), a diversidade parece ser maior, com espécies aparentemente exibindo alta especificidade de hospedeiro (oioxenos). Das cinco espécies válidas de monogenéticos dactylogyrídeos relatadas de serranídeos do Peru, três espécies parecem estar restritas a infectar *P. multifasciatus*: *Pronotogrammella boegeri* Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2020, *Pr. multifasciatus* Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2020, e *Pr. scholzi* Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2020 (Cruces et al., 2020).

As outras duas espécies de Dactylogyridae parasitando hospedeiros serranídeos no Peru são *B. peruensis* e *B. signiferi* infectando as brânquias de *H. peruanus* e *H. signifer*, respectivamente. Cruces et al. (2017) atribuíram esses dois espécimes ao gênero *Parancylodiscoides* com base, entre outras características, por ter uma barra dorsal com extremidades bifurcadas. No entanto, uma análise detalhada dos espécimes-tipo de *Pr. peruensis* (MUSM 3480, holótipo; MUSM 3481–3507, parátipos) e *Pr. signiferi* (MUSM 3508, holótipo; MUSM 3509–3539, parátipos) indicou que suas barras dorsais têm formato de X (veja Fig. 6D-E) e não formato de bastão com extremidades bifurcadas como nas espécies de *Parancylodiscoides* (Veja Fig. 6F). Com base nisso e em outras características, *Pr. peruensis* e *Pr. signiferi* agora foram transferidos para *Bicentenariella* como *B. peruensis* e *B. signiferi*. Com nossos dados parasitológicos atualizados, a fauna dactylogyrídea de peixes serranídeos do Peru, que são hospedeiros relativamente pouco estudados, agora é composta por oito espécies: cinco espécies de *Bicentenariella* e três espécies de *Pronotogrammella*.

A ocorrência de espécies de *Bicentenariella* em diferentes espécies de hospedeiros da mesma família (*B. claudiae*, *B. sinuosa* e *B. puertopizarroensis* em *P. multifasciatus*; *B. peruensis* em *H. peruanus*; e *B. signiferi* em *H. signifer*) pode parecer inesperada, mas tem sido demonstrado que essas três espécies de peixes serranídeos são filogeneticamente relacionadas com base em análises de sequências de mtDNA ribossomal 12S e 16S (Craig e Hastings, 2007). Os hospedeiros *P. multifasciatus*, *H. peruanus* e *H. signifer* são membros da subfamília Anthiinae, um grupo aparentemente monofilético e filogeneticamente relacionado à Serraninae (Craig e Hastings, 2007). Assim, as espécies de *Bicentenariella* são confirmadas como parasitos naturais das brânquias de peixes serranídeos atribuídos à Anthiinae e aparentemente restritas ao Pacífico Oriental.

A presença de uma barra dorsal em forma de X com os braços anteriores mais longos que os posteriores é a principal característica taxonômica de *Bicentenariella*. Esse caráter aparentemente também ocorre em algumas espécies de dactylogyrídeos que infectam peixes serranídeos, i.e. *Haliotrema cromileptis* Young, 1968 de *Cromileptes altivelis* (Valenciennes) na Austrália; *H. epinepheli* Young, 1968 de *Epinephelus fasciatus* (Forsskål) e *E. merra* Bloch na Austrália e *Variola albimarginata* Baissac na China; *Haliotrema* sp. de Justine (2007a) de *E. maculatus* (Bloch) na Nova Caledônia; e *Pa. macrobaculum* (Zhukov, 1983) Kritsky & Bakenhaster, 2016 de *E. morio* (Valenciennes), *Mycteroperca interstitialis* (Poey), *M. microlepis* (Goode & Bean), *M. phenax* Jordan & Swain, e *M. venenosa* (Linnaeus) no Golfo do México (Young, 1968; Justine 2007a; Dang et al., 2010; Kritsky & Bakenhaster, 2016; Nitta & Nagasawa, 2018). No entanto, todas as quatro espécies são parasitos das brânquias de peixes serranídeos pertencentes à subfamília Epinephelinae, e diferem das espécies de *Bicentenariella* por possuir uma

barra dorsal com os braços anteriores de tamanho semelhante aos braços posteriores (barra dorsal com os braços anteriores mais longos que os braços posteriores em *Bicentenariella*, exceto em *B. sinuosa* onde os braços anteriores quase do mesmo tamanho que os posteriores).

Paracylodyscoides macrobaculum é a única espécie do gênero descrita de peixes serranídeos (Kritsky & Bakenhaster 2016). As outras espécies de *Paracylodyscoides* (incluindo a espécie-tipo) foram descritas de peixes ephippídeos dos oceanos Pacífico e Atlântico (Kritsky 2012). Com base nisso, *Pa. macrobaculum* apresenta algumas diferenças morfológicas com *Paracylodyscoides* spp. de ephippídeos, ou seja, uma barra dorsal não bifurcada, mas sim amplamente em forma de X (uma barra dorsal com extremidades bifurcadas em *Paracylodyscoides* spp.), uma abertura vaginal dextrolateral (uma abertura vaginal dextroventral em *Paracylodyscoides* spp.), uma base do OCM com aba dirigida posteriormente (aba bifurcada ou não dirigida anteriormente em *Paracylodyscoides* spp.); e um testículo não lobulado (testículo lobulado em *Paracylodyscoides* spp.), essa espécie poderia eventualmente ser removida de *Paracylodyscoides* e um novo gênero poderia ser proposto para designar *Pa. macrobaculum*. Além disso, os hospedeiros de *Pa. macrobaculum* (Ordem Perciformes) e os hospedeiros das espécies de *Paracylodyscoides* que infectam peixes ephippídeos (Ordem Ephippifformes) são filogeneticamente distantes (Betancur et al. 2017), o que poderia apoiar essa hipótese. No entanto, um estudo detalhado com base no exame de espécimes-tipo e novos espécimes de *Pa. macrobaculum* é necessário para confirmar seu status taxonômico.

Atualmente, estudos sobre a fauna de parasitos monogenéticos de peixes marinhos no Peru têm aumentado progressivamente nos últimos cinco anos (Cruces et al., 2020). Como resultado, dezessete novas espécies de monogenéticos foram descritas e quatro novos gêneros foram propostos, ou seja. *Olivacotyle* Cruces, Chero, Sáez, Iannacone & Luque, 2017; *Hypanocotyle* Chero, Cruces, Sáez, Camargo, Santos & Luque, 2018; *Peruanocotyle* Chero, Cruces, Sáez & Luque, 2018 e *Pronotogrammella* (Cruces et al. 2017a, b; 2018; 2020; 2022). Assim, o presente trabalho, juntamente com outros trabalhos anteriormente realizados, sugere que os peixes marinhos do Peru abrigam uma diversidade excepcional de espécies de monogenéticos ainda inexploradas.

CAPÍTULO II

Caracterização morfológica e molecular de Dactylogyridae parasitos das brânquias de peixes marinhos de profundidade no Peru, incluindo a proposta de *Brotulella* Cruces, Chero & Luque, 2022 e a descrição de duas espécies¹

¹Artigo publicado: Cruces, C.L.; Simões, R.; Maldonado, A.M.; Severino, R.; Chero, J.D.; Luque, J.L. Proposal of *Brotulella* n. gen. for monogeneans from the gills of the Pacific bearded brotula *Brotula clarkae* Hubbs, 1944 (Ophidiiformes: Ophidiidae), based on morphological and molecular evidence. **Fishes** 2023, 8(12), 588. (ANEXO II).

1. INTRODUÇÃO

Peru, assim como outros países neotropicais, abriga uma fauna rica de peixes, especialmente um grande número de peixes ósseos (Marín et al., 2022). No que diz respeito à diversidade de ictiologia marinha, um total de 698 espécies de peixes foi relatado, pertencentes a 388 gêneros e 138 famílias (Froese & Pauly, 2023), a maioria registrada no mar do Norte, sendo um dos ecossistemas marinhos mais ricos no Peru (Nature & Culture International, 2023). Várias pesquisas parasitológicas realizadas no norte do Peru encontraram uma fauna rica de Dactylogyridea Bychowsky, 1937 em peixes marinhos, especialmente em peixes serranídeos e ciaenídeos (Cruces et al., 2017a, b).

Dactylogyridae Bychowsky, 1933, uma família diversa de parasitos monogenéticos, representa um componente significativo da fauna parasítica entre peixes em todo o mundo (Cruces et al., 2018). Os Dactylogyridae exibem notável diversidade em morfologia, ciclos de vida e especificidade de hospedeiro, tornando imperativa a compreensão de sua taxonomia e papéis ecológicos (Cruces et al., 2018). Compreender as relações intrincadas entre as espécies de Dactylogyridae e seus hospedeiros de peixes é crucial por várias razões. Primeiro, esses parasitos podem induzir efeitos patogênicos consideráveis em seus hospedeiros, impactando na saúde, crescimento e até levando à mortalidade em casos graves (Tancredo & Martins, 2019). Em segundo lugar, sua prevalência e abundância nos ecossistemas aquáticos podem servir como indicadores de saúde do ecossistema e mudanças ambientais (Mbokane et al., 2015). Além disso, devido à sua alta especificidade de hospedeiro e seleção de local dentro das brânquias ou pele dos peixes, as espécies de Dactylogyridae podem oferecer *insights* sobre padrões de migração dos peixes e preferências de habitat (Mbokane et al., 2015).

A brotula barbada do Pacífico *Brotula clarkae* Hubbs, 1944 (Ophidiiformes: Ophidiidae) é um peixe bentopelágico endêmico do Pacífico Tropical Oriental (Allen et al., 1994; Nielsen et al., 1999; Herrera et al., 2016), que habita fundos de lama e conchas quebradas (Ambrose, 1996). Esta espécie é distribuída do Golfo da Califórnia (EUA) até Paita (Peru) (Herrera et al., 2016; Chirichigno & Cornejo, 2001; Lea et al., 2009). Embora numerosos estudos tenham se concentrado na biologia reprodutiva da brotula barbada do Pacífico (Nielsen et al., 1999; Acevedo et al., 2007; Chávez-Cevallos & Caballero-Vergara, 2008), a fauna parasitária associada à *Br. clarkae* permanece desconhecida até o momento. Durante um estudo sobre ectoparasitos branquiais de peixes marinhos do Peru, duas espécies pertencentes a Dactylogyridae Bychowsky, 1937 foram encontradas em *Br. clarkae*. Neste estudo, ambas as espécies, *B. laurafernandae* Cruces, Chero & Luque, 2023 e *B. luisahelenae* Cruces, Chero & Luque, 2023, são examinadas com base em dados morfológicos e moleculares.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Coleta de espécimes e análises morfológicas

Dois espécimes de *Br. clarkae* foram obtidos com pescadores locais do balneário de Puerto Pizarro (3°29'S, 80°24'W) (Fig. 2), Tumbes, Peru, durante uma expedição de campo em fevereiro de 2019. Os hospedeiros foram dissecados imediatamente, e os arcos branquiais foram removidos e colocados em frascos contendo água do mar (60°C). Cada

frasco foi agitado, e formalina foi adicionada para obter uma solução a 4%. Alguns monogenéticos foram fixados diretamente em álcool 70% e posteriormente preservados em álcool 90% até o uso. As partes anterior e posterior desses espécimes foram cortadas e usadas para identificação morfológica, enquanto as partes médias foram usadas em procedimentos moleculares. No laboratório, o conteúdo de cada frasco foi examinado sob um microscópio de dissecação, e monogenéticos foram removidos das brânquias ou do sedimento usando sondas pequenas. Alguns espécimes foram corados com tricrômico de Gomori, diafanizados em eugenol e montados em bálsamo do Canadá. Outros espécimes foram montados em meio de Gray & Wess (Humason, 1997) para o estudo de estruturas esclerotizadas. Os espécimes foram examinados e fotografados usando um microscópio de luz Olympus™ BX51 equipado com contraste de interferência diferencial (DIC), e desenhos foram feitos com a ajuda de um tubo de desenho. As medidas estão em micrômetros (µm), a menos que indicado de outra forma, usando distâncias em linha reta entre pontos extremos das estruturas medidas e são expressas como o intervalo seguido pela média e número (n) de estruturas medidas entre parênteses. O comprimento do corpo representa o comprimento do corpo com o haptor. A numeração dos pares de ganchos haptorais seguiu o sistema de Mizelle (1936) e Mizelle & Price (1963). Os peixes foram identificados de acordo com Chirichigno & Vélez (1998). A abreviação *B.* para o parasito (*Brotulella*) e *Br.* para o hospedeiro (*Brotulla*) são usadas para evitar dúvidas quanto aos gêneros. O material tipo foi depositado na coleção helmintológica do Museu de História Natural da Universidade San Marcos (MUSM-HEL), Lima, Peru.

Caracterização molecular e análises filogenéticas

O DNA genômico foi isolado de um espécime de cada espécie de parasito usando o kit Qiagen QIAamp DNA Mini (Qiagen, Hilden, Alemanha), de acordo com o protocolo do fabricante. O gene parcial de 28S rRNA foi amplificado por reação em cadeia da polimerase (PCR) usando os primers C1 (5' -ACCCG CTGAA TTAA GCAT- 3') e D2 (5' -TGGTC CGTGT TTCAA GAC- 3') (Littlewood et al., 2000; Lockyer et al., 2003; Olson et al., 2003). O perfil de termociclador, conforme descrito por Mendoza-Palmero et al. (2015), consistiu em uma desnaturação inicial ajustada em 95°C por 3 minutos, seguida por 34 ciclos de amplificação (94°C por 30 s, 56°C por 30 s e 72°C por 1:30 min), com uma extensão final mantida a 72 graus C por 4 minutos. As amostras foram sequenciadas usando um analisador de DNA ABI 3730 da subunidade RPT01A para sequenciamento de DNA da Rede de Plataformas Tecnológicas da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil. Os fragmentos resultantes foram montados em sequências contíguas no Geneious (Kearse et al., 2012). Essas sequências foram depositadas no GenBank SUB13983437 e SUB13983462. Um total de 36 espécies, representando 18 gêneros de Dactylogyridae infectando 27 espécies de peixes marinhos, foram incluídas nas análises filogenéticas. Além disso, 3 espécies de Diplectanidae foram utilizadas como grupo externo para comparação (consulte a tabela 1). O alinhamento e a edição das sequências foram realizados usando Clustal W no MEGA versão 7.0 (Kumar et al., 2016). O software Mega 7.0 foi usado para a construção de distâncias genéticas usando os dois parâmetros de Kimura (1980). O software online PhyML 3.0 (Guindon et al., 2010) foi usado para reconstruir filogenias com base na abordagem de máxima verossimilhança (ML). O modelo de evolução de nucleotídeos, General Time Reversible (GTR), foi selecionado com Smart Model Selection (SMS), executado no PhyML (Lefort et al., 2017), usando o critério de informação bayesiano. O suporte do nó foi calculado pelo teste de razão de verossimilhança aproximada para ramos (aLRT) (Anisimova & Gascuel, 2006) e pelos percentuais de bootstrap não paramétricos (ML-BP) com 1.000

pseudoréplicas. A inferência filogenética bayesiana (BI) foi realizada usando MrBayes versão 3.2.6 (Ronquist et al., 2011) em XSEDE usando o CIPRES Science Gateway (Miller et al., 2011), com o modelo GTR + G. Amostragem de cadeia de Monte Carlo (MCMC) para cada matriz foi realizada para 10.000.000 gerações com quatro cadeias simultâneas em duas execuções. O suporte de ramos em árvores bayesianas por probabilidades posteriores bayesianas (BPP) foi avaliado a partir de árvores que foram amostradas a cada 100 gerações, após a remoção de uma fração inicial de 25%. As sequências do GenBank que foram incluídas para as análises filogenéticas, assim como as sequências utilizadas para o grupo externo estão listadas na Tabela 1.

3. RESULTADOS

Ordem Dactylogyridea Bychowsky, 1937

Família Dactylogyridae Bychowsky, 1933

***Brotulella* Cruces, Chero & Luque, 2022**

Diagnosis: Corpo dividido em região cefálica, tronco, pedúnculo e haptor. Tegumento fino, liso. Órgãos cefálicos, lobos cefálicos presentes; glândulas cefálicas unicelulares, anterior e posterolateral à faringe. Manchas oclares ausentes; grânulos cromáticos acessórios ausentes. Boca subterminal, ventral; faringe muscular, glandular; esôfago curto, intestino bifurcado; cecos intestinais confluentes posteriormente ao testículo, sem divertículos. Poro genital comum ventral, próximo ao nível da bifurcação intestinal. Haptor armado com 14 ganchos com distribuição ancirocefálica segundo Mizelle (1936), 2 pares de âncoras, 2 barras haptorais, sem reservatórios haptorais; âncoras dissimilares, extremidade distal das raízes superficiais e profundas com bainha em forma de meias; barra ventral arqueada; barra dorsal com processo anterior e posterior largos; ganchos com hastes não dilatadas e polegar arredondado ereto. Gônadas *in tandem*, intercecal. Testículo posterior ao ovário. Ducto deferente em volta do ceco intestinal esquerdo. Vesícula seminal quase sigmóide. Dois reservatórios prostáticos com paredes musculares espessas. Órgão copulador masculino (OCM) tubular, esclerotizado, com extremidade distal torcida; base cilíndrica; peça acessória delicada, membranosa, articulada ao eixo do OCM. Ovário em forma de U; oviduto e útero não observados. Vagina esclerotizada, desembocando no receptáculo seminal, abertura vaginal dextrolateral. Foliculos vitelinos densos, coextensivos com os cecos intestinais. Parasitos de brânquias de peixes marinhos.

Espécie tipo: *Brotulella laurafernandae* Cruces, Chero & Luque, 2022 das brânquias da brotula barbada do Pacífico *Brotula clarkae* Hubbs, 1944 (Ophidiiformes: Ophidiidae).

Outras espécies: *Brotulella luisahelenae* Cruces, Chero & Luque, 2022 de *B. clarkae*.

Etimologia: O nome do gênero refere-se ao nome do gênero do peixe hospedeiro (*Brotula*). O diminutivo *-ella* é adicionado ao nome do gênero e deve ser tratado como feminino.

Comentários:

Brotulella é caracterizado pela combinação das seguintes características: (1) âncoras com uma bainha em forma de meia-calça associada à extremidade distal das raízes superficiais e profundas, (2) gônadas *in tandem*, (3) um OCM distalmente torcido

com uma delicada peça acessória membranosa articulada ao eixo do OCM, (4) um ovário em forma de U, (5) uma vesícula seminal quase sigmóide, e (6) dois reservatórios prostáticos com paredes musculares espessas. *Brotulella* se assemelha mais a espécies do gênero *Platycephalotrema* Kritsky & Nitta, 2019, que compreende nove espécies que parasitam as lâminas branquiais dos peixes cabeça-chata (Platycephalidae). Espécies de ambos os gêneros compartilham (1) gônadas in tandem, (2) um ducto deferente em volta do ceco intestinal esquerdo, (3) dois reservatórios prostáticos, (4) uma vagina esclerotizada, (5) abertura vaginal destra, (6) sete pares de ganchos, (7) e um OCM tubular com extremidade distal complexa. No entanto, *Brotulella* difere de *Platycephalotrema* por suas espécies terem âncoras desiguais (âncoras iguais em *Platycephalotrema* spp.); uma bainha em forma de meia-calça associada à extremidade distal das raízes superficiais e profundas das âncoras (ausente em *Platycephalotrema* spp.); um OCM com peça acessória (ausente em *Platycephalotrema* spp.); ganchos com polegar arredondado ereto (polegar arredondado proeminente em *Platycephalotrema* spp.); um ovário em forma de U (ovário oval em *Platycephalotrema* spp.); um vestíbulo vaginal curto (vestíbulo vaginal longo em *Platycephalotrema* spp.); reservatórios prostáticos com paredes musculares espessas (reservatórios prostáticos sem paredes musculares espessas em *Platycephalotrema* spp.); e ausência de manchas oclares (quatro manchas oclares em *Platycephalotrema* spp.). Espécies de *Brotulella* se assemelham a espécies de *Ligophorus* Euzet & Suriano, 1977, que inclui espécies parasitando tainhas (Mugilidae). Membros de ambos os gêneros compartilham as seguintes características: (1) gônadas in tandem, (2) um OCM tubular esclerotizado e não enrolado, (3) um ovário com forma de U, e (4) uma vagina esclerotizada. No entanto, espécies desses gêneros diferem por ter âncoras com uma bainha em forma de meia-calça associada à extremidade distal das raízes superficiais e profundas (ausente em *Ligophorus* spp.), um ducto deferente em volta do ceco intestinal esquerdo (ducto deferente não passando pelo ceco intestinal em *Ligophorus* spp.), dois reservatórios prostáticos com paredes musculares espessas (um reservatório prostático piriforme sem parede muscular espessa em *Ligophorus* spp.) e por ter uma barra ventral arqueada (barra ventral em forma de V em *Ligophorus* spp.). Espécies de *Brotulella* se assemelham ligeiramente às de *Bravohollisia* Bychowsky & Nagibina, 1970 e *Caballeria* Bychowsky & Nagibina, 1970 por terem gônadas in tandem, um OCM tubular esclerotizado e não enrolado, e uma barra ventral arqueada. No entanto, espécies de *Brotulella* diferem de espécies desses gêneros por terem um OCM com peça acessória (ausente em espécies de *Bravohollisia* e *Caballeria*) e pela ausência de glândulas haptorais (presentes em espécies de *Bravohollisia* e *Caballeria*). Espécies de *Brotulella* se assemelham ligeiramente a espécies de *Mexicana* Caballero & Bravo-Hollis, 1959, parasitos de peixes haemulídeos, por terem gônadas in tandem e um ovário quase em forma de U, mas diferem dessas espécies por terem dois reservatórios prostáticos (um reservatório prostático em *Mexicana* spp.), um testículo não bipartido (principalmente bipartido posteriormente em *Mexicana* spp.) e ausência de manchas oclares (quatro manchas oclares em *Mexicana* spp.).

Finalmente, espécies de *Brotulella* se assemelham a espécies de *Boegeriella* Mendoza-Palmero & Hsiao, 2020 e *Nanayella* Acosta, Mendoza-Palmero, da Silva & Scholz, 2019 pela forma do ovário (em forma de U). No entanto, espécies de *Brotulella* diferem de *Boegeriella* spp. pela morfologia do OCM (tubular com extremidade distal torcida em *Brotulella* vs enrolada em *Boegeriella* spp.). Espécies de *Brotulella* podem ser distinguidas de espécies de *Nanayella* por terem ganchos de tamanho semelhante (ganchos de tamanhos diferentes em *Nanayella*).

***Brotulella laurafernandae* Cruces, Chero & Luque, 2023**

(Figuras 7A-F)

Descrição: Corpo alongado, 486–702 (603, n = 13) de comprimento; maior largura 68–106 (89, n = 13) geralmente ao nível do testículo. Região cefálica moderadamente larga; lobos cefálicos moderadamente desenvolvidos; glândulas cefálicas bilaterais, emparelhadas, em níveis pré e pós-faríngeos. Faringe esférica, maior largura 23–30 (27, n = 6). Pedúnculo curto a alongado. Haptor sub-hexagonal, 59–84 (72, n = 13) de comprimento, 78–113 (100, n = 13) de largura; grupo de células glandulares secretoras discretas situadas no pedúnculo. Âncoras com asas finas e evidentes; âncora ventral 59–63 (61, n = 7) de comprimento, com raiz profunda arredondada, raiz superficial robusta, eixo ligeiramente arqueado, ponta alongada, base 19–24 (21, n = 7) de largura; âncora dorsal 65–69 (66, n = 7) de comprimento, com raiz profunda arredondada, raiz superficial alongada, eixo ligeiramente arqueado, ponta alongada, base 20–23 (21, n = 7) de largura. Barra ventral 44–57 (50, n = 11) de comprimento, em forma de haste, bilobada posterior e medialmente, com extremidades laterais expandidas. Barra dorsal 44–56 (51, n = 11) de comprimento, com processos anteriores curtos em forma de máscara, processos posteriores curvados. Sete pares de ganchos semelhantes, 12–15 (13, n = 8) de comprimento, cada um com polegar obtuso proeminente, haste uniforme e ponta delicada; laço filamentosos do gancho (FH) ao redor do comprimento da haste. OCM 36–46 (41, n = 12) de comprimento, afilado, peça acessória com expansões medial e proximal; base do OCM com formato cilíndrico. Testículo grande, intercecal, ovado, não lobulado, 77–100 (89, n = 6) de comprimento, 42–58 (52, n = 6) de largura; ducto deferente dilatado para formar grande vesícula seminal no lado esquerdo do tronco, posterolateral ao OCM; reservatório prostático anterior ovado, dorsal ao OCM, reservatório prostático posterior com forma de girino, dextrolateral ao OCM. Ovário 32–55 (45, n = 6) de comprimento, 26–40 (34, n = 6) de largura; oviduto, oótipo e útero não observados. Vestíbulo vaginal infundibuliforme, esclerotizado, posicionado horizontalmente no lado direito do corpo anterior ao ovário; ducto vaginal correndo posteriormente para se juntar ao grande receptáculo seminal subsférico. Folículos vitelinos ao longo do tronco, campos laterais de folículos confluindo posteriormente ao OCM e posteriormente ao testículo. Ovos não observados.

Resenha taxonômica

Hospedeiro tipo: *Brotula clarkae* Hubbs, 1944 (Ophidiiformes: Ophidiidae), brotula barbada do Pacífico.

Sítio de infecção: Brânquias.

Localidade tipo: Puerto Pizarro (3°29'S, 80°24'W), Tumbes, Peru, América do Sul.

Material tipo: Holótipo (MUSM-HEL 5132), 12 parátipos (MUSM-HEL 5133a-l), 1 hologenóforo (MUSM 5133m).

Sequência de DNA representativa: A sequência foi depositada no GenBank sob o número de acesso SUB13983437 para o rDNA 28S com 720 pb.

Etimologia: A espécie foi nomeada em homenagem a Laura Fernanda do Amarante Luque, filha do autor sênior.

Comentários:

Brotulella laurafernandae é a espécie-tipo do gênero e apresenta as características diagnósticas do mesmo.

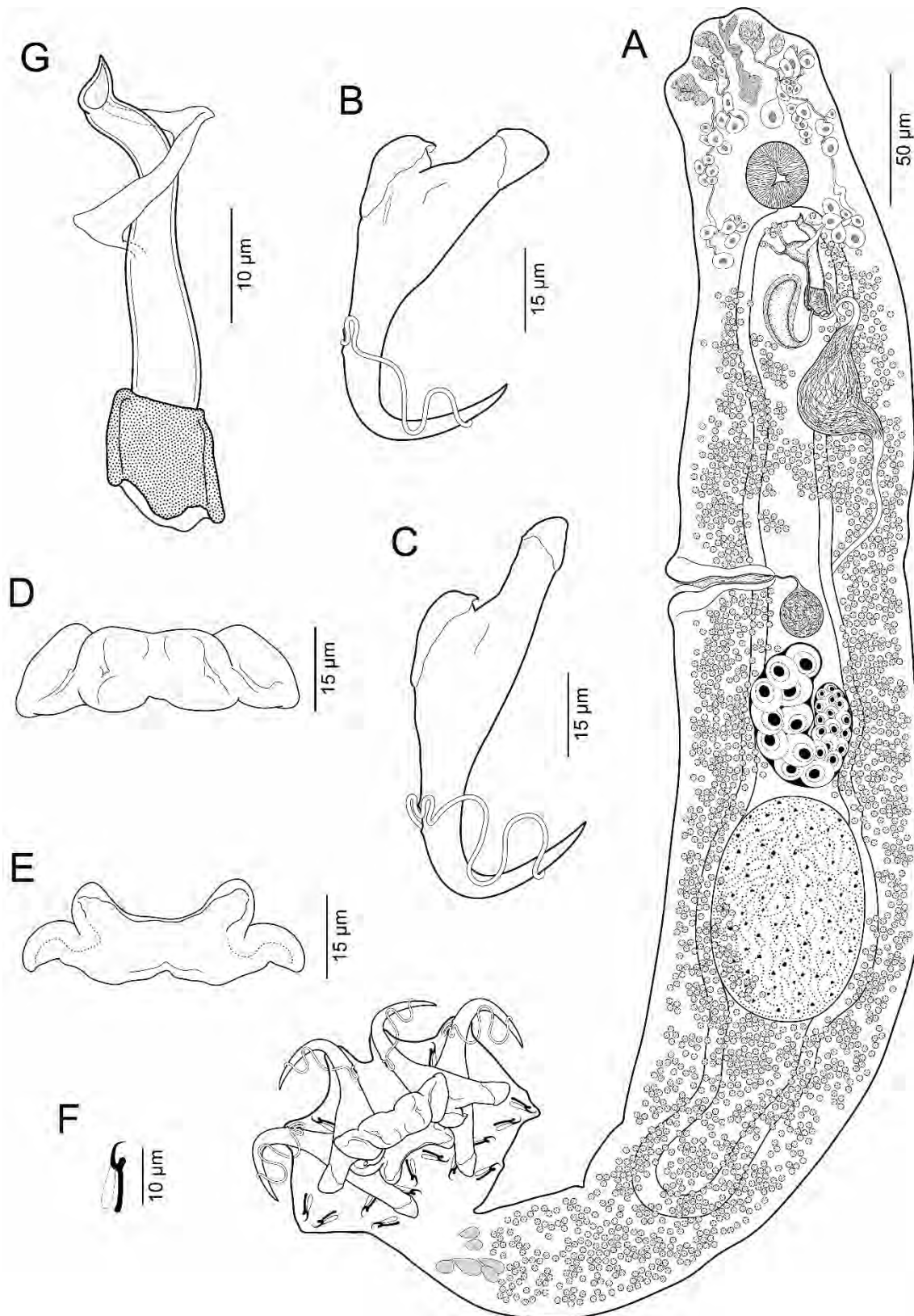


Figura 7. *Brotulella laurafernandae*. **A.** Espécime (vista ventral). **B.** Âncora ventral. **C.** Âncora dorsal. **D.** Barra ventral. **E.** Barra dorsal. **F.** Gancho. **G.** Órgão copulatório masculino.

***Brotulella luisahelenae* Cruces, Chero & Luque, 2023**

(Figuras 8A-F)

Descrição: Corpo alongado, quase fusiforme, 625–930 (769, n = 12) de comprimento; maior largura 111–153 (132, n = 12) geralmente ao nível da vesícula seminal. Região cefálica larga; lobos cefálicos pouco desenvolvidos; glândulas cefálicas bilaterais, emparelhadas em níveis pré e pós-faríngeos. Faringe esférica, com maior largura de 29–44 (35, n = 8). Pedúnculo curto a alongado. Haptor subquadrangular, 78–109 (94, n = 12) de comprimento, 120–165 (139, n = 12) de largura; grupo de células glandulares secretoras discretas localizadas no pedúnculo. Âncoras com finas e evidentes asas; âncora ventral 67–76 (70, n = 7) de comprimento, com raiz profunda arredondada, raiz superficial robusta, eixo ligeiramente arqueado, ponta alongada com sulco na superfície externa, base 22–26 (24, n = 7) de largura; âncora dorsal 80–89 (88; n = 7) de comprimento, com raiz profunda quase arredondada, raiz superficial alongada, eixo ligeiramente arqueado, ponta alongada com sulco na superfície externa, base 20–24 (22, n = 7) de largura. Barra ventral 60–78 (69, n = 8) de comprimento, em forma de V largo, com extremidades laterais moderadamente aumentadas. Barra dorsal 56–73 (66, n = 8) de comprimento, com processos anteriores curtos em forma de rosto de gato, processos posteriores oblíquos. Sete pares de ganchos semelhantes, 12–15 (14, n = 7) de comprimento, cada um com polegar obtuso proeminente, haste uniforme e ponta delicada; laço filamentososo do gancho (FH) ao redor do comprimento da haste. OCM 88–107 (96, n = 12) de comprimento, afilado, peça acessória com expansão proximal; base do OCM com forma quase de trapezoidal. Testículo grande, intercecal, subtriangular, não lobulado, 91–129 (108, n = 5) de comprimento, 75–97 (88, n = 5) de largura; ducto deferente dilatando para formar grande vesícula seminal no lado esquerdo do tronco, posteroalteral ao OCM; reservatório prostático ventral alongado, ventral ao OCM, reservatório prostático dorsal bem desenvolvido, dextrolateral ao OCM. Ovário 42–61 (54, n = 5) de comprimento, 58–73 (65, n = 5) de largura; oviduto, oótipo e útero não observados. Vestíbulo vaginal infundibuliforme, esclerotizado, posicionado horizontalmente no lado direito do corpo anterior ao ovário; ducto vaginal correndo posteriormente para se juntar ao grande receptáculo seminal subsférico. Folículos vitelinos ao longo do tronco, campos laterais de folículos confluindo posteriormente ao OCM e posteriormente ao testículo. Ovos não observados.

Resenha taxonômica

Hospedeiro tipo: *Brotula clarkae* Hubbs, 1944 (Ophidiiformes: Ophidiidae), brotula barbada do Pacífico.

Sítio de infecção: Brânquias.

Localidade tipo: Puerto Pizarro (3°29'S, 80°24'W), Tumbes, Peru, América do Sul.

Material tipo: Holótipo (MUSM-HEL 5134), 12 parátipos (MUSM-HEL 5135a-k), 1 hologenóforo (MUSM 5135l).

Sequência de DNA representativa: A sequência foi depositada no GenBank sob o número de acesso SUB13983462 para o 28S rRNA com 720 pb.

Etimologia: A espécie foi nomeada em homenagem a Luisa Helena do Amarante Luque, filha do autor sênior.

Comentários:

Brotulella luisahelenae pode ser distinguida de *Brotulella laurafernandae* por seu OCM, que tem uma base em forma quase de trapezoidal e uma membrana em forma de

cobertor com expansão proximal. Além disso, *B. luisahelenae* é tipificada por ter as pontas das âncoras ventrais com um sulco na superfície externa.

Relações filogenéticas

O alinhamento de todas as espécies analisadas compreendeu 769 caracteres, com 229 sendo constantes e 478 sendo variáveis informativas de parcimônia. As análises bayesianas geraram uma média de verossimilhança marginal estimada de -11962.2929, acompanhada por um valor mediano de -11961.93. O tamanho efetivo da amostra para todos os parâmetros excedeu 100, indicando um número substancial de amostras efetivamente independentes. Além disso, esse tamanho de amostra foi consideravelmente maior para a maioria dos parâmetros, destacando a natureza robusta das amostras. As análises de ML e BI geraram árvores filogenéticas com topologia geral semelhante, com pouca variação nos valores de suporte de nós (Fig. 9). As sequências obtidas das espécies diferiram em 10 pares de bases. A menor distância foi encontrada entre as sequências de *B. laurafernandae* e *B. luisahelenae* (0,01%). A distância entre as duas espécies e os gêneros irmãos é: 0,12% para *Platycephalotrema bassense* e 0,15% para *Haliotrema johnstoni* e *P. platycephali*. As espécies *B. laurafernandae* e *B. luisahelenae* formaram um clado fortemente suportado com probabilidades posteriores bayesianas (BPP= 0,97) e valores de ML (aLRT=0,99; ML-BP=1000). Este clado também constituiu um grupo monofilético moderadamente suportado junto com *Platycephalotrema bassense*, *Haliotrema johnstoni* e *P. platycephali* (BPP= 0,97; aLRT=0,66; ML-BP=603) (Fig.3). Essas espécies estão posicionadas dentro de um clado majoritariamente suportado conhecido como o grupo ‘*Haliotrema*’ segundo Kmentová et al. (2022). Este clado abrange outras espécies como aquelas pertencentes a *Bravohollisia* Bychowsky & Nagibina, 1970, *Caballeria* Bychowsky & Nagibina, 1970, *Lethrinitrema* Lim & Justine, 2011, *Pseudohaliotrema* Yamaguti, 1953 e *Tetrancistrum* Goto & Kikuchi, 1917.

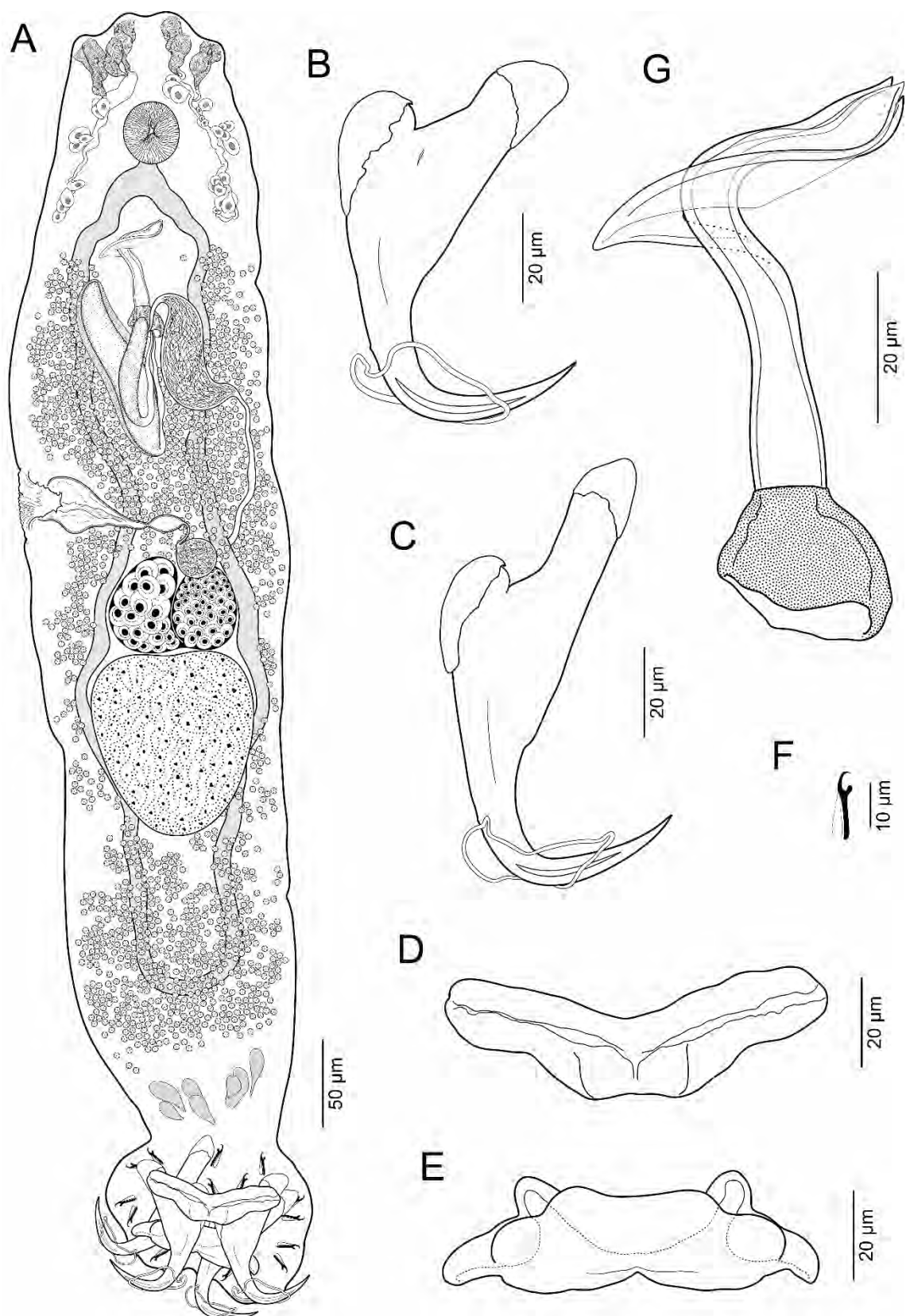


Figura 8. *Brotulella luisahelena*. **A.** Espécime (vista ventral). **B.** Âncora ventral. **C.** Âncora dorsal. **D.** Barra ventral. **E.** Barra dorsal. **F.** Gancho. **G.** Órgão copulatório masculino.

4. DISCUSSÃO

Brotulella é proposto para acomodar dois dactilogirídeos marinhos, *B. laurafernandae* e *B. luisahelenae*, que infestam os filamentos branquiais da *Brotula barbada* do Pacífico no Pacífico Sudeste, ao largo do Peru, com base na presença de uma combinação de características morfológicas, incluindo âncoras com uma bainha em forma de meia-calça associada à extremidade distal das raízes superficiais e profundas, gônadas *in tandem*, OCM distalmente torcido com uma peça acessória articulada ao eixo do OCM, ovário em forma de U e dois reservatórios prostáticos com paredes musculares espessas. Além disso, a posição filogenética das espécies de *Brotulella* apoia e justifica a proposição do gênero. Nossas sequências parciais de 28S rDNA de ambas espécies de *Brotulella* do Oceano Pacífico Sudeste formam um clado fortemente suportado que inclui *Platycephalotrema bassense* (Hughes, 1928) Kritsky & Nitta, 2019 da Austrália, junto com *Haliotrema johnstoni* Bychowsky & Nagibina, 1970, e *P. platycephali* (Yin & Sproston, 1948) Kritsky & Nitta, 2019 da China. As espécies de *Brotulella* e as duas espécies de *Platycephalotrema* compartilham algumas características morfológicas, como duas vesículas seminais e gônadas *in tandem*.

Haliotrema johnstoni, um dactilogirídeo que infesta *Upeneus luzonius* Jordan & Seale, 1907 (Mullidae), está inserido dentro de *Platycephalotrema*. A semelhança genética entre *H. johnstoni* e as duas espécies de *Platycephalotrema* observadas na presente análise parece ser consistente com os dados morfológicos, ou seja, uma barra dorsal com extremidades bifurcadas em *H. johnstoni* e espécies de *Platycephalotrema*, conforme mencionado por Kmentová et al. (2022). Infelizmente, não conseguimos acessar o material tipo de *H. johnstoni* para corroborar essa hipótese. Além disso, como mencionado por Kmentová et al. (2022), a presença de um OCM com uma peça acessória e o fato de que *H. johnstoni* infecta um repertório de hospedeiros diferente, evidencia que a relação entre *H. johnstoni* e as espécies de *Platycephalotrema* merece uma investigação mais aprofundada.

Brotulas, *Brotula* spp. (Ophidiidae), são peixes bentopelágicos que ocorrem principalmente nos oceanos Atlântico e Pacífico (Froese & Pauly, 2023). Anteriormente, apenas uma das seis espécies válidas de *Brotula* (Froese & Pauly, 2023) foi relatada como hospedeira de monogenéticos (Yamaguti, 1968). *Haliotrema brotulae* Yamaguti, 1968 e *H. spiculare* são as únicas espécies de monogenéticos descritas a partir desses hospedeiros (Yamaguti, 1968). Ambas as espécies têm algumas semelhanças morfológicas com as espécies descritas aqui, ou seja, um OCM distalmente torcido, uma vesícula seminal quase sigmóide e dois reservatórios prostáticos, essas espécies eventualmente poderiam ser removidas de *Haliotrema* Johnston & Tiegs, 1922 e transferidas para *Brotulella*. No entanto, nosso esforço para acessar o material tipo foi frustrado por complicações relacionadas ao acesso à coleção, o que impediu uma investigação exaustiva. Além disso, não há sequências disponíveis do gene 28S rRNA de *H. brotulae* e *H. spiculare* para testar sua relação filogenética com as espécies de *Brotulella*. Portanto, é necessário um estudo minucioso baseado no exame de espécimes tipo e novos de *H. brotulae* e *H. spiculare*, juntamente com dados genéticos, para confirmar sua classificação taxonômica.

A taxonomia de monogenéticos tem sido há muito tempo um tema de interesse científico, e a utilização de ferramentas alternativas para lidar com incertezas taxonômicas aprimora nossa compreensão da diversidade de monogenéticos (Justine et

al., 1985; Perkin et al., 2009; Justine & Poddubnaya, 2018). A aplicação de ferramentas moleculares tem se mostrado inestimável na resolução de ambiguidades taxonômicas dentro dos monogenéticos (Mollaret et al., 1997; Brabec et al., 2023). Através da análise de sequências de DNA e da construção de árvores filogenéticas, os pesquisadores têm obtido *insights* sobre a história evolutiva e a diversidade genética de espécies de monogenéticos (Mendoza-Palmero et al., 2017; Francerchini et al., 2020; Mendoza-Palmero et al., 2022; Ciccheto et al., 2023). Além disso, a genômica comparativa tem proporcionado uma compreensão mais profunda das características genômicas e adaptações evolutivas desses parasitos (Brabec et al., 2023). Além disso, a integração de ferramentas alternativas, como proteômica e transcriptômica, pode oferecer insights valiosos sobre a genômica funcional dos monogenéticos (Brabec et al., 2023).

O conhecimento da fauna de parasitos monogenéticos marinhos dos peixes peruanos aumentou notavelmente nos últimos anos (Chero et al., 2022; Cruces et al., 2022). A maioria desses estudos taxonômicos foi baseada exclusivamente em dados morfológicos. Apenas quatro estudos forneceram dados moleculares sobre monogenéticos das famílias Diclidophoridae (3 espécies), Hexabothriidae (2 espécies) e Monocotylidae (1 espécie) (Oliva et al., 2014). Assim, o presente estudo fornece a primeira sequência da região do gene 28S rRNA de dactilogirídeos marinhos do Peru.

Dezenove espécies de monogenéticos dactilogirídeos marinhos dos gêneros *Bicentenariella* Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2021 (5 spp.), *Haliotrema* Johnston & Tiegs, 1922 (3 spp.), *Haliotrematoides* Kritsky, Yang & Sun, 2009 (1 espécie), *Euryhaliotrema* (4 spp.) Kritsky & Boeger, 2002, *Mexicana* Caballero & Bravo-Hollis, 1959 (1 espécie), *Pronotogrammella* Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2020 (3 spp.), e *Tylosuricola* Unnithan, 1964 (1 espécie) foram descritas ou relatadas como infestando as brânquias de onze espécies de peixes do Peru (Cruces et al., 2022). Dessas, três espécies são conhecidas por parasitar as brânquias de peixes capturados no centro do Peru (Cohen et al., 2013). As outras dezesseis espécies de dactilogirídeos infectam peixes no norte do Peru. As duas espécies descritas aqui aumentam o número de espécies de dactilogirídeos que infectam peixes do Peru para 21.

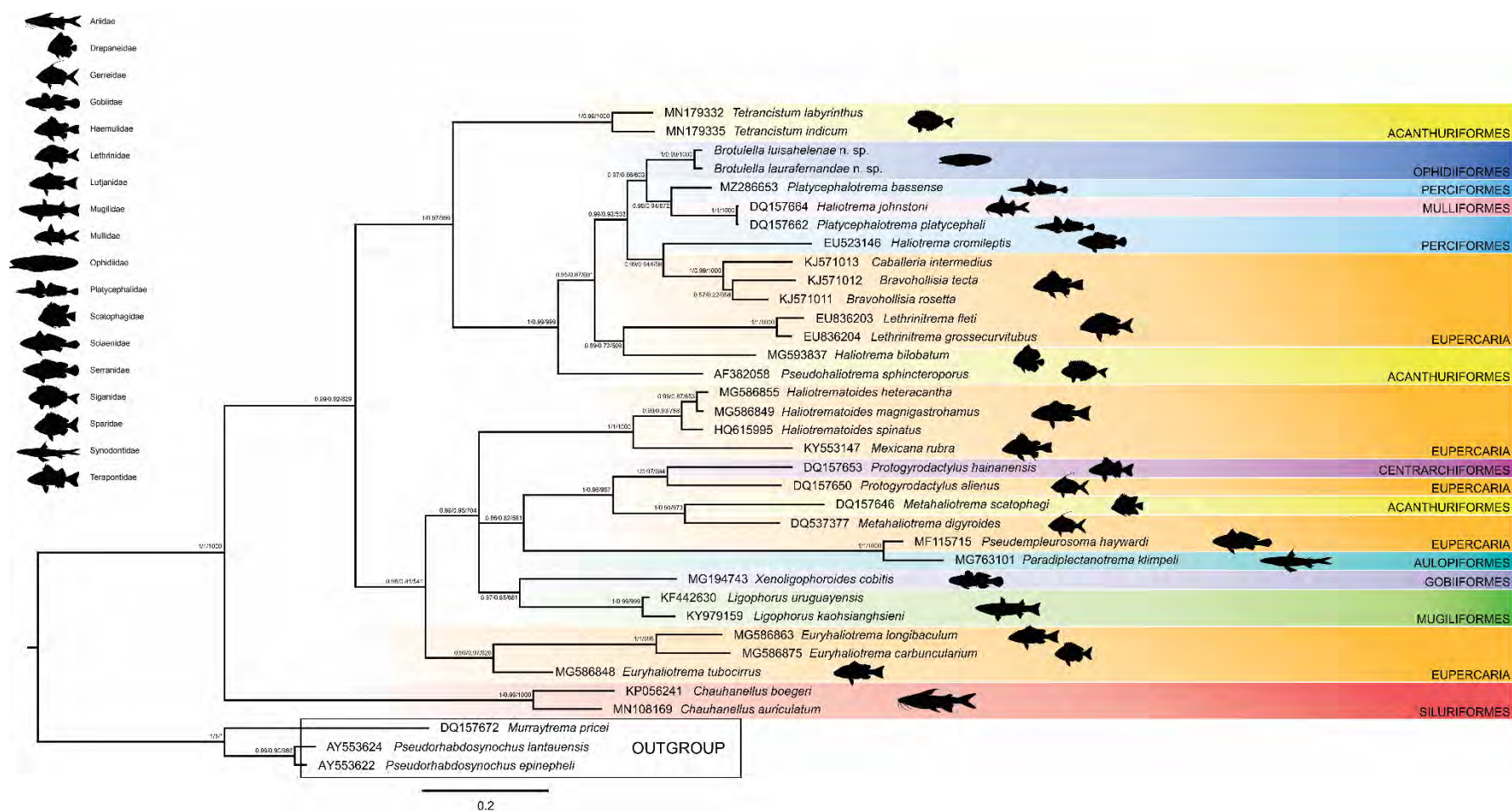


Figura 9. Árvore filogenética com base na região 28S para *B. laurafernandae* e *B. luisahelenae* (Dactylogyridae) inferida pelos métodos de inferência bayesiana (BI) e máxima verossimilhança (ML) (aLRT e réplicas de bootstrap). O suporte nodal é descrito à esquerda por probabilidade posterior bayesiana, aRLT e réplicas de bootstrap para cada nó representado. A barra de escala representa o número de substituições por sítio. O símbolo de um asterisco (*) indica baixo suporte nodal.

CAPÍTULO III

Três espécies de monogenéticos Dactylogyridae parasitando o bagre-marinho peruano *Galeichthys peruvianus* (Siluriformes, Ariidae), incluindo dados moleculares ¹

¹Artigo publicado: Cruces, C.; Chero, J.; Ñacari, L.A.; De Celis, V.R.; Simões, R.; Luque, J.L. Two new *Neotetraonchus* species (Dactylogyridea, Dactylogyridae) parasitising the Peruvian sea catfish *Galeichthys peruvianus* (Siluriformes, Ariidae), including molecular data. **J Helminthol.**, 2024, 98: e35. (ANEXO III).

1. INTRODUÇÃO

Os Siluriformes constituem um grupo excepcionalmente diverso de peixes e é um dos mais antigos do mundo (Kappas et al. 2016). Esta ordem abrange a família Ariidae, compreendendo 42 gêneros e 157 espécies. Os membros desta família habitam ambientes marinhos e estuarinos e ocasionalmente dulcícolas em todo o mundo (Eschmeyer, 1983; Marceniuk et al. 2023).

Até agora, existem 78 espécies conhecidas de Monopisthocotyla que parasitam Ariidae em todo o mundo (Soares et al. 2023). Dentre essas espécies, 69 pertencem à Dactylogyridae, incluindo representantes de gêneros como *Chauhanellus* Bychowsky & Nagibina, 1969, *Hamatopeduncularia* Yamaguti, 1953, *Neotetraonchus* Bravo-Hollis, 1968, e *Susanlimocotyle* Soares, Domingues & Adriano, 2021. Além disso, existem sete espécies classificadas sob Neocalceostomatidae, abrangendo gêneros como *Neocalceostomoides* Kritsky, Mizelle & Bilqees, 1978, *Fridericianella* Brandes, 1894, *Neocalceostoma* Tripathi, 1959, *Neocalceostomoides* Kritsky, Mizelle & Bilqees, 1978, e *Thysanotophaptor* Kritsky, Shameem, Kumari, & Krishnaveni, 2012.

O bagre do mar peruano, *Galeichthys peruvianus* Lütken, 1874 (Siluriformes: Ariidae), é um peixe demersal endêmico do Peru (Kulongowski, 2010; Froese & Pauly, 2023), que habita águas costeiras (Kailola & Bussing, 1995; Froese & Pauly, 2023). Até agora, pesquisas sobre monogeneos de *G. peruvianus* estão restritas a um registro: o dactilogirido *Hamatopeduncularia* sp. (Iannacone & Luque, 1993; Luque et al., 2016).

Durante um estudo sobre ectoparasitos de brânquias em peixes marinhos do Peru, duas espécies de *Neotetraonchus* Bravo-Hollis, 1968, *N. celsomaneui* e *N. peruvianus*, e uma espécie de *Chauhanellus* foram encontradas infectando *G. peruvianus*. Neste documento, as espécies são descritas e ilustradas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Coleta de espécimes e análises morfológicas

Os espécimes de bagre-do-mar peruano foram capturados pela pesca artesanal durante janeiro de 2018 e fevereiro de 2019 na zona costeira de Puerto Pizarro, região de Tumbes (3°29'S, 80°24'W) (Fig. 2), norte do Peru. Os peixes foram imediatamente dissecados após a captura, e os arcos das brânquias foram removidos e colocados em frascos contendo água do mar aquecida (60°C). Cada frasco passou por agitação vigorosa, após o qual foi adicionada formalina para obter uma solução de 4%. No laboratório, o conteúdo de cada frasco foi examinado sob um microscópio estereoscópico, e monopistocotídeos foram removidos dos filamentos das brânquias ou do sedimento usando agulhas pequenas. Alguns monopistocotídeos foram diretamente fixados em etanol 70% e posteriormente preservados em etanol 90% até processamento posterior. As partes anteriores e posteriores desses espécimes foram cortadas e usadas para identificação morfológica, enquanto as seções centrais foram usadas para procedimentos moleculares. Alguns espécimes foram corados com tricrômico de Gomori, diafanizados em eugenol e montados em bálsamo do Canadá para observar a anatomia interna. Outros espécimes foram montados em meio de Hoyer ou Grey e Wees (Humason 1979) para estudar

estruturas esclerotizadas. Exame e fotografia dos espécimes foram realizados usando um microscópio com luz de contraste de fase composto NikonTM Eclipse SI, e os desenhos foram feitos com a ajuda de um tubo de desenho. As medidas são apresentadas em micrômetros (μm), representando distâncias em linha reta entre pontos extremos das estruturas medidas e são expressas como intervalo seguido pela média e número (n) de estruturas medidas entre parênteses. As dimensões dos escleritos haptorais e copulatórios seguem a proposta de Kritsky et al. (2009). O comprimento do corpo representa o comprimento do corpo propriamente dito com o haptor. A numeração dos pares de ganchos haptorais seguiu o sistema de Mizelle (1936) e Mizelle & Price (1963). Os termos anatômicos para *Neotetraonchus* seguem Kritsky et al. (2009). A direção (sentido horário ou anti-horário) do órgão copulatório masculino (OCM) segue o sugerido por Kritsky et al. (1985). Os peixes foram identificados de acordo com as chaves de peixes marinhos peruanos de Chirichigno & Vélez (1998) e Chirichigno & Cornejo (2001). Para fins de comparação, os espécimes-tipo de *N. bychowskyi* Bravo-Hollis, 1968 (CNHE 193–94, 4552; holótipo e parátipo) depositados na Coleção Nacional de Helmintos do Instituto de Biologia (CNHE), México, foram estudados. O material-tipo das espécies estudadas no presente artigo foi depositado na Coleção Helmintológica do Museu de História Natural da Universidade San Marcos (MUSM), Peru.

Caracterização molecular e análise filogenética

As amostras de DNA foram isoladas de um único espécime de uma espécie de monopistocotíleo usando o Qiagen QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Alemanha), seguindo o protocolo do fabricante. Este DNA passou por amplificação por reação em cadeia da polimerase (PCR) usando primers C1 (5' -ACCCG CTGAA TTAA GCAT-3') e D2 (5' -TGGTC CGTGT TTCAA GAC- 3') (Littlewood et al. 2000; Lockyer et al. 2003; Olson et al. 2003) para amplificar e sequenciar o gene 28S rDNA parcial. O perfil de termociclagem aplicado estava de acordo com Mendoza-Palmero et al. (2015). As amostras foram sequenciadas utilizando um analisador de DNA ABI 3730 da subunidade RPT01A para sequenciamento de DNA, disponível na Rede de Plataformas Tecnológicas da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

As sequências foram editadas e os contigs foram montados usando o ProSeq 2.9 beta (Filatov, 2002). O banco de dados de sequências do National Center for Biotechnology Information (NCBI) (daqui em diante, 'GenBank') foi pesquisado em busca de sequências similares usando o BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (Altschul et al. 1990). As sequências geradas neste estudo foram alinhadas com sequências selecionadas obtidas do GenBank, usando o software Clustal W (Larkin et al. 2007). *Pseudomurraytrematoides pricei* (Caballero, Bravo-Hollis & Grocott, 1955) (DQ157672), *Pseudorhabdosynochus lantauensis* (Beverley-Burton & Suriano, 1981) Kritsky & Beverley-Burton, 1986 (AY553624) e *Pseudorhabdosynochus epinepheli* (Yamaguti, 1938) Kritsky & Beverley-Burton, 1986 (AY553622) (Diplectanidae) foram usados como grupo externo para o 28S rDNA. O conjunto de dados alinhados foi analisado com o software JModelTest2 (Santorum et al. 2014), que compara diferentes modelos de substituição de DNA em um quadro de teste de hipótese hierárquica para selecionar um modelo de substituição de bases que melhor se adapte aos dados para cada gene. O melhor modelo encontrado foi TVM + I + G, selecionado com o Critério de Informação Bayesiano (BIC). Os parâmetros do modelo foram os seguintes: frequências de nucleotídeos assumidas A = 0.1967, C = 0.1870, G = 0.2689 e T = 0.3474; matriz de taxa de substituição com substituição A-C = 1.2088, A-G = 5.2010, A-T = 2.6301, C-G = 0.6526, C-T = 5.2010, G-T = 1.000, distribuição p-inv e distribuição gama com

parâmetro de forma 0.1800 e 1.0240, respectivamente. Em seguida, o melhor modelo foi implementado no MrBayes 3.2.7a (Huelsenbeck e Ronquist, 2001) para análise de Inferência Bayesiana (BI). Na análise de BI, árvores iniciais aleatórias foram usadas no MCMC acoplado ao Metrópolis (Ronquist, et al. 2011). A análise foi realizada por um total de 5.000.000 gerações. A inspeção visual das pontuações de log-verossimilhança em relação ao tempo de geração indicou que os valores de log-verossimilhança atingiram um equilíbrio estável antes da 100.000ª geração. Assim, um burn-in de 1000 amostras foi conduzido; a cada 100ª árvore foi amostrada da análise MCMC, obtendo um total de 100.000 árvores e a topologia da árvore representou as árvores de consenso de 50% das regras de maioria. O suporte para nós na topologia da árvore de BI foi obtido por probabilidade posterior. As análises filogenéticas foram conduzidas na plataforma CIPRES Science Gateway V. 3.3 (<http://www.phylo.org/> (acesso em 2023)) (Miller et al. 2011). As árvores filogenéticas foram visualizadas e editadas no Figtree 1.4.4 (Rambaut, 2018). As distâncias genéticas par a par entre as sequências de 28S rDNA foram calculadas no MEGA X (Kumar et al. 2016) usando o modelo Kimura 2-Parameter (Kimura, 1980).

3. RESULTADOS

Ordem Dactylogyridea Bychowsky, 1937

Família Dactylogyridae Bychowsky, 1933

***Chauhanellus* sp. nov.**

(Figuras 10A-G)

Descrição: Com base em 4 espécimes montados em meio de Hoyer e 4 espécimes corados com tricrômico de Gomori: Corpo alongado, fusiforme, de delgado a robusto, 835–961 (882; n = 4) de comprimento; maior largura 86–94 (90; n = 4), normalmente ao nível da abertura vaginal. Tegumento fino, superfície lisa. Região cefálica estreita; lobos laterais pouco desenvolvidos; 3 pares bilaterais de órgãos cefálicos conspicuos; par bilateral de glândulas cefálicas em nível pós-faríngeo. Quatro manchas ocelares, equidistantes, membros do par anterior menores que os do par posterior; grânulos cromáticos ausentes. Faringe oval, músculo-glandular, 62–72 (67; n = 4) de comprimento; maior largura 33–45 (37; n = 4) de diâmetro; esôfago curto; bifurcação intestinal pós-faríngea; cecos intestinais não confluentes posteriormente às gônadas, sem divertículos. Pedúnculo largo, alongado. Haptor diferenciado do corpo propriamente dito, quase sub-esférico, com dígitos haptorais, 76–118 (97; n = 4) de comprimento; 83–105 (97; n = 4) de largura; glândulas secretórias bem desenvolvidas, situada no pedúnculo. Âncoras dissimilares. Âncora ventral com fino filamento interno conspicuo, 35–38 (37; n = 4) de comprimento; sem raízes bem definidas; eixo ligeiramente reto; ponto duplamente recurvado. Âncora dorsal 30–32 (31; n = 4) de comprimento, raiz profunda bem expandida, semelhante a extensão alar; raiz superficial curta; eixo uniformemente curvado e ponta recurvada. Barra ventral 81–84 (83; n = 4) de comprimento, em forma de V, com projeções anterolaterais e projeção posteromedial. Barra dorsal 59–62 (61; n = 4) de comprimento, reta, alongada, com duas projeções posterolaterais desenvolvidas, extremidades laterais ligeiramente expandidas. Sete pares de ganchos semelhantes, com haste não dilatada, composta por uma única subunidade; laço filamentoso do gancho (FH) e aproximadamente ao comprimento da haste, 12–14 (13; n = 4) de comprimento. O órgão copulatório masculino (OCM) 47–50 (49; n = 8) de comprimento, tubular, com base em forma de anel e eixo com dobras proximal e distal; extremidade distal como lança; peça acessória com

extremidade distal alongada, em forma de anzol. Testículo oval, intercecal, 114–122 (118; n = 4) de comprimento, 43–45 (44; n = 4) de largura; ducto deferente contornando o ceco intestinal esquerdo, dilatando-se para formar vesícula seminal em forma de S, posterior ao OCM; único reservatório prostático bem desenvolvido, oval, dorsal ao OCM. Ovário 102–119 (111; n = 4) de comprimento, 28–31 (29; n = 4) de largura; oval. Abertura vaginal dextrolateral, vestibulo vaginal grande, bem desenvolvido, esclerotizado, tubular, direcionado anteriormente; ducto vaginal estreito, curto, correndo anteriormente para se unir ao receptáculo seminal. Oviduto, oócito e útero não foram observados. Folículos vitelinos densos ao longo do tronco, campos laterais de folículos confluentes anteriormente ao OCM e posteriormente ao testículo. Ovos não observados.

Resenha taxonômica

Hospedeiro tipo: *Galeichthys peruvianus* Lütken, 1874 (Siluriformes, Ariidae), bagre do mar peruano.

Sítio de infecção: Brânquias.

Localidade tipo: Puerto Pizarro (3°29'S, 80°24'W), Tumbes, Peru, América do Sul.

Comentários:

Chauhanellus sp. nov. é única entre seus congêneres por possuir um OCM com base em forma de anel e eixo com dobras proximais e distais e a extremidade distal em forma de lança. Além disso, a nova espécie é caracterizada por possuir uma peça acessória com uma extremidade distal alongada, em forma de lança.

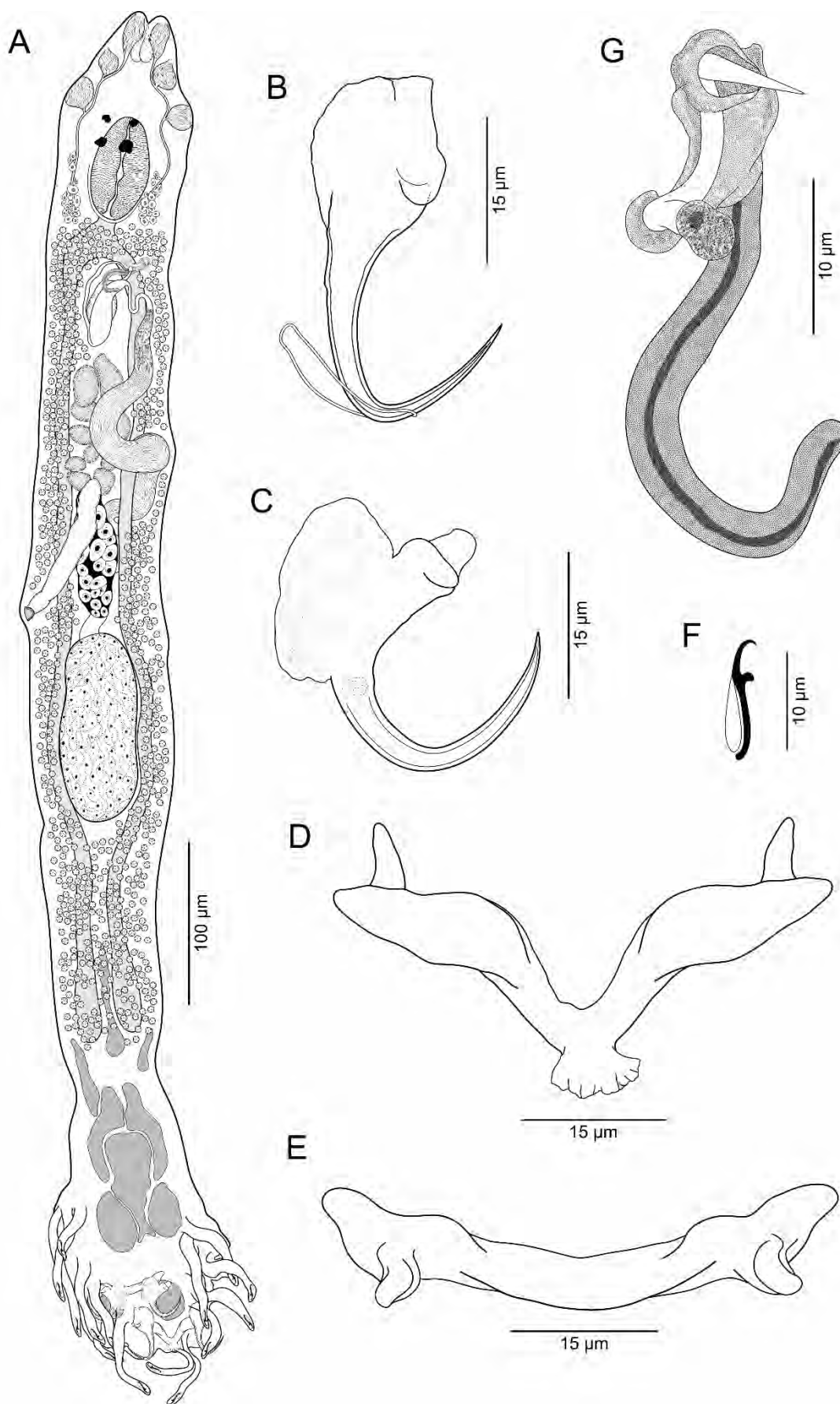


Figura 10. *Chauhanellus* sp. nov. **B.** Âncora ventral. **C.** Âncora dorsal. **D.** Barra ventral. **E.** Barra dorsal. **F.** Ganchos. **G.** Órgão copulatório masculino.

***Neotetraonchus celsomanaui* Cruces, Chero, Ñacari & Luque, 2024**
(Figuras 11A-N)

Descrição: Com base em 5 espécimes montados em meio de Hoyer e 6 espécimes corados com tricrômico de Gomori: Corpo alongado, fusiforme, delgado, 985–1308 (1198; n = 6) de comprimento; maior largura 112–158 (134; n = 6) geralmente no nível do reservatório prostático. Tegumento fino, superfície lisa. Região cefálica moderadamente ampla; lóbulos laterais pouco desenvolvidos; 3 pares bilaterais de órgãos cefálicos conspícuos; par bilateral de glândulas cefálicas no nível pós-faríngeo. Quatro manchas ocelares equidistantes, os membros do par anterior menores que os do par posterior; grânulos cromáticos ausentes. Faringe esférica, músculo-glandular, 51–71 (62; n = 6) de diâmetro; esôfago curto; bifurcação intestinal pós-faríngea; cecos intestinais não confluentes posteriormente às gônadas, sem divertículos. Pedúnculo largo, alongado. Haptor diferenciado do corpo propriamente dito, sub-hexagonal, com lóbulos bilaterais, 126–187 (156; n = 6) de comprimento; 170–219 (192; n = 6) de largura; glândula secretória bem desenvolvida no pedúnculo, em forma de placa. *Onchium* ventral no haptor, 77–109 (93; n = 11) de comprimento, em forma de garfo, com longos braços bilaterais direcionados posteriormente. Âncoras dissimilares, sem raízes bem definidas. Âncora ventral com fino filamento interno conspícuo, 82–88 (85; n = 4) de comprimento; eixo uniformemente curvado; ponta duplamente recurvada. Âncora dorsal 81–83 (82; n = 4) de comprimento, com base grande sem raízes; eixo delicado e ponta. Músculo adutor extrínseco ventral bem desenvolvido, amplamente em forma de U invertido. Barra ventral 154–177 (163; n = 4) de comprimento, em forma de tiara, com projeção anteromedial média, extremidades laterais bilobadas. Barra dorsal 85–104 (92; n = 4) de comprimento, em forma de barra, alongada, com duas protuberâncias anterolaterais desenvolvidas, extremidades laterais expandidas. Sete pares de ganchos dissimilares em tamanho e forma; pares de ganchos 1–4 e 6–7 com hastes compostas de 2 subunidades variavelmente expandidas; par 1 com subunidade proximal grosseiramente expandida da haste, perto do *onchium*; subunidade proximal dos pares 2–4 e 6 variável em comprimento e forma; par de ganchos 5 com haste uniforme, composta de uma única subunidade, situada ao longo do eixo e ponto da âncora ventral; laço filamentoso do gancho (FH) se estende além do nível de junção de ambas as subunidades nos pares 1, 2, 4 e 7, estende-se no nível de junção de ambas as subunidades nos pares 3 e 6, e cerca do comprimento da haste no par 5; par de ganchos 1, 59–63 (61; n = 4) de comprimento; par de ganchos 2, 32–33 (33; n = 4) de comprimento; par de ganchos 3, 23–25 (24; n = 4) de comprimento; par de ganchos 4, 22–25 (23; n = 4) de comprimento; par de ganchos 5, 15–16 (16; n = 4) de comprimento; par de ganchos 6, 26–31 (28; n = 4) de comprimento; par de ganchos 7, 101–109 (103; n = 4) de comprimento. Órgão copulatório masculino (OCM) 250–316 (282; n = 11) de comprimento, tubular, com base em forma de anel e eixo proximalmente expandido; eixo com ponta em forma de T e anel anti-horário na extremidade distal da expansão proximal; peça acessória aderida e expandida proximalmente, com terminação em forma de verme. Testículo oval, intercecal, dorsal ao ovário, 90–123 (101; n = 6) de comprimento, 31–40 (36; n = 6) de largura; ducto deferente contornando o ceco intestinal esquerdo, dilatando-se para formar vesícula seminal sinuosa no lado esquerdo do tronco, anterolateral ao OCM; único reservatório prostático oval alongado, dorsal ao OCM. Ovário 90–119 (102; n = 6) de comprimento, 29–48 (40; n = 6) de largura; ovário, sobrepondo a porção anterior do testículo. Abertura vaginal dextrolateral, proeminente; vestibulo vaginal bem desenvolvido, esclerotizado e em forma de tigela proximamente; ducto vaginal estreito, curto, correndo posteriormente para se juntar ou receptáculo seminal subsférico localizado próximo à linha média do corpo e sobrepondo extremidade anterior do ovário.

Oviduto, oócito e útero não foram observados. Folículos vitelinos densos ao longo do tronco, campos laterais de folículos confluentes anteriormente ao OCM, anterior ao ovário e posteriormente ao testículo. Ovos não observados.

Resenha taxonômica

Hospedeiro tipo: *Galeichthys peruvianus* Lütken, 1874 (Siluriformes, Ariidae), bagre-do-mar peruano.

Sítio de infecção: Brânquias.

Localidade tipo: Puerto Pizarro (3°29'S, 80°24'W), Tumbes, Peru, América do Sul.

Material tipo: Holótipo (MUSM 4715); 18 parátipos (MUSM 4716a-r).

Dados de sequência molecular: O 28S rDNA (823 bp) obtido de um espécime foi depositado no GenBank (números de acesso OR886655).

Etimologia: Esta espécie é nomeada em homenagem a Celso Manuel Cruces Torres, pai do primeiro autor.

Comentários:

Neotetraonchus celsomaneli difere de todos os congêneres principalmente por ter um OCM tubular com uma base em forma de anel e uma extremidade distal em forma de T, além de ter uma peça acessória aderida e expandida proximalmente com terminação em forma de verme. A espécie se assemelha a *N. bychowskyi* Bravo-Hollis, 1968 do Golfo do México na morfologia das âncoras e barras ventrais. No entanto, *N. celsomaneli* difere de *N. bychowskyi* pela morfologia da peça acessória, que é aderida e anexada à região medial do eixo do OCM, ao contrário de uma peça acessória em forma de haste não aderida em *N. bychowskyi* (ver Fig. 2 de Kritsky et al. 2009). Além disso, ambas as espécies podem ser diferenciadas pela morfologia do OCM (ponta em forma de T em *Neotetraonchus celsomaneli* vs ponta aberta em *N. bychowskyi*) e pela morfologia do *onchium* (placa subtrapezoidal com dois botões anterolaterais e grande projeção anteromedial na espécie vs placa subquadrangular com projeção anteromedial curta em *N. bychowskyi*). *Neotetraonchus celsomaneli* também se assemelha a *N. bravohollisae* Paperna, 1977 do Atlântico Norte na morfologia do OCM (expandido distalmente). No entanto, *N. celsomaneli* difere de *N. bravohollisae* pela morfologia da peça acessória do complexo copulatório do OCM (aderida e expandida proximalmente com terminação em forma de verme em *N. celsomaneli* vs haste esbelta com terminação em forma de foice em *N. bravohollisae*), *onchium* (placa subtrapezoidal em *N. celsomaneli* vs placa subquadrangular em *N. bravohollisae*) e pela morfologia da barra ventral (em forma de tiara com projeção anteromedial média em *N. celsomaneli* vs em forma de U invertido com projeção anteromedial curta em *N. bravohollisae*).

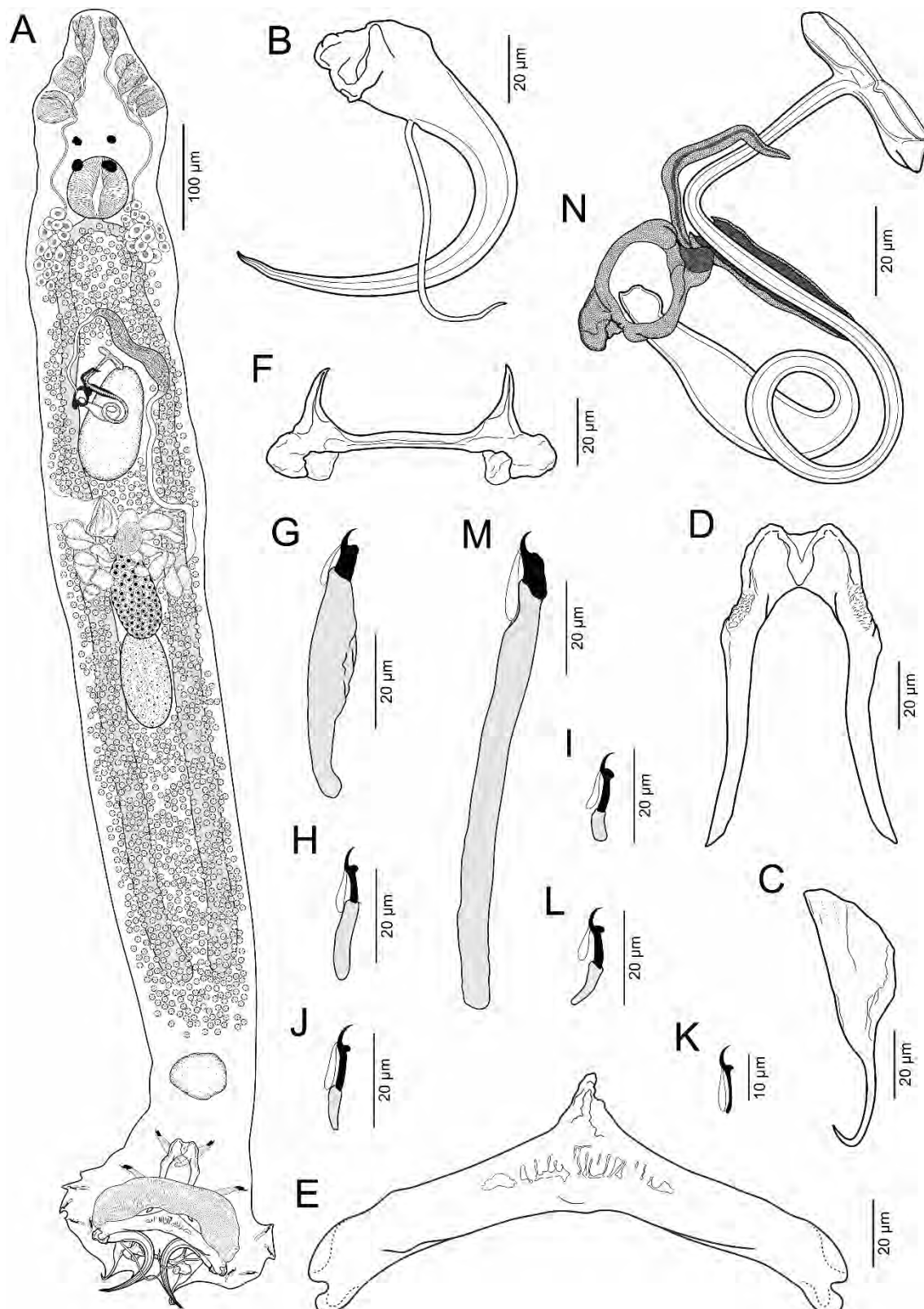


Figura 11. *Neotetraonchus celsomaneli*. **B.** Âncora ventral. **C.** Âncora dorsal. **D.** *Onchium*. **E.** Barra ventral. **F.** Barra dorsal. **G.** Par de ganchos 1. **H.** Par de ganchos 2. **I.** Par de ganchos 3. **J.** Par de ganchos 4. **K.** Par de ganchos 5. **L.** Par de ganchos 6. **M.** Par de ganchos 7. **N.** Órgão copulatório masculino.

***Neotetraonchus peruvianus* Cruces, Chero, Ñacari & Luque, 2024**
(Figuras 12A-N)

Descrição: Com base em 4 espécimes montados em meio de Hoyer e 4 espécimes corados com tricrômico de Gomori: Corpo alongado, fusiforme, de delgado a robusto, 847–1094 (976; n = 4) de comprimento; maior largura 137–164 (152; n = 4), normalmente ao nível do reservatório prostático. Tegumento fino, superfície lisa. Região cefálica moderadamente ampla; lobos laterais pouco desenvolvidos; 3 pares bilaterais de órgãos cefálicos conspícuos; par bilateral de glândulas cefálicas em nível pré e pós-faríngeo. Quatro manchas oclares, equidistantes, membros do par anterior menores que os do par posterior; grânulos cromáticos ausentes. Faringe esférica, músculo-glandular, 53–69 (60; n = 4) de diâmetro; esôfago curto; bifurcação intestinal pós-faríngea; cecos intestinais não confluentes posteriormente às gônadas, sem divertículos. Pedúnculo largo, alongado. Haptor diferenciado do tronco, sub-retangular, com lobos bilaterais, 95–124 (109; n = 4) de comprimento; 136–164 (149; n = 4) de largura; glândula secretória bem desenvolvida, situada no pedúnculo, alongada. *Onchium* ventral no haptor, 44–58 (53; n = 8) de comprimento, em forma de água-viva, com longos braços bilaterais direcionados posteriormente. Âncoras dissimilares, sem raízes bem definidas. Âncora ventral com fino filamento interno conspícuo, 49–55 (52; n = 4) de comprimento; eixo uniformemente curvado; ponto duplamente recurvado. Âncora dorsal 46–51 (49; n = 4) de comprimento, com base grande sem raízes; eixo e ponto delicados. Músculo adutor extrínseco ventral bem desenvolvido, em forma de U invertido. Barra ventral 106–113 (111; n = 4) de comprimento, em forma de V invertido, com projeção anteromedial, extremidades laterais bilobadas. Barra dorsal 73–76 (74; n = 4) de comprimento, em forma de faixa, alongada, com duas projeções anterolaterais desenvolvidas, extremidades laterais expandidas. Sete pares de ganchos dissimilares; pares de ganchos 1–4 e 6–7 com hastes compostas por 2 subunidades variavelmente expandidas; par 1 com subunidade proximal grosseiramente expandida da haste, perto do *onchium*; subunidade proximal dos pares 2–4 e 6 variável em comprimento e forma; par de ganchos 5 com haste não dilatada, composta por uma única subunidade, situada ao longo do eixo e ponto da âncora ventral; laço filamentoso do gancho (FH) se estende além do nível de junção de ambas as subunidades nos pares 1, 2, 4 e 7, estende-se no nível de junção de ambas as subunidades nos pares 3 e 6, e aproximadamente ao comprimento da haste no par 5; par de ganchos 1, 40–45 (42; n = 4) de comprimento; par de ganchos 2, 26–31 (29; n = 4) de comprimento; par de ganchos 3, 23–26 (25; n = 4) de comprimento; par de ganchos 4, 23–27 (25; n = 4) de comprimento; par de ganchos 5, 16–17 (16; n = 3) de comprimento; par de ganchos 6, 31–36 (33; n = 4) de comprimento; par de ganchos 7, 62–66 (65; n = 4) de comprimento. O órgão copulatório masculino (OCM) 172–226 (194; n = 8) de comprimento, tubular, com base em forma de anel e eixo proximalmente expandido; eixo com extremidade distal em forma de marreta, com anel em sentido anti-horário na extremidade distal da expansão proximal; peça acessória aderida e expandida proximalmente, com extremidade distal em forma de garra. Testículo ovado, intercecal, dorsal ao ovário, 57–79 (70; n = 4) de comprimento, 38–53 (46; n = 4) de largura; ducto deferente contornando o ceco intestinal esquerdo, dilatando-se para formar vesícula seminal sinuosa no lado esquerdo do tronco, anterolateral ao OCM; único reservatório prostático bem desenvolvido, oval, dorsal ao OCM. Ovário 72–86 (79; n = 4) de comprimento, 41–48 (45; n = 4) de largura; oval, sobrepondo a porção anterior do testículo. Abertura vaginal dextrolateral, proeminente; vestibulo vaginal bem desenvolvido, esclerotizado e em forma de funil proximamente; ducto vaginal estreito, curto, correndo posteriormente para se unir ao grande receptáculo seminal subsférico,

localizado próximo à linha média do corpo e sobrepondo a extremidade anterior do ovário. Oviduto, oócito e útero não foram observados. Folículos vitelinos densos ao longo do tronco, campos laterais de folículos confluentes anteriormente ao OCM e posteriormente ao testículo. Ovos não observados.

Resenha taxonômica

Hospedeiro tipo: *Galeichthys peruvianus* Lütken, 1874 (Siluriformes, Ariidae), bagre-do-mar peruano.

Sítio de infecção: Brânquias.

Localidade tipo: Puerto Pizarro (3°29'S, 80°24'W), Tumbes, Peru, América do Sul.

Material tipo: Holótipo (MUSM 4715); 18 parátipos (MUSM 4716a-r).

Dados de sequência molecular: Não foi possível obter as sequências moleculares desta espécie.

Etimologia: O epíteto específico da espécie se refere ao país onde ela foi descoberta.

Comentários:

Neotetraonchus peruvianus é única entre seus congêneres a possuir um OCM com extremidade distal em forma de marreta e uma peça acessória com extremidade distal em forma de garra. Além disso, *N. peruvianus* é caracterizada por ter um onchium em forma de água-viva.

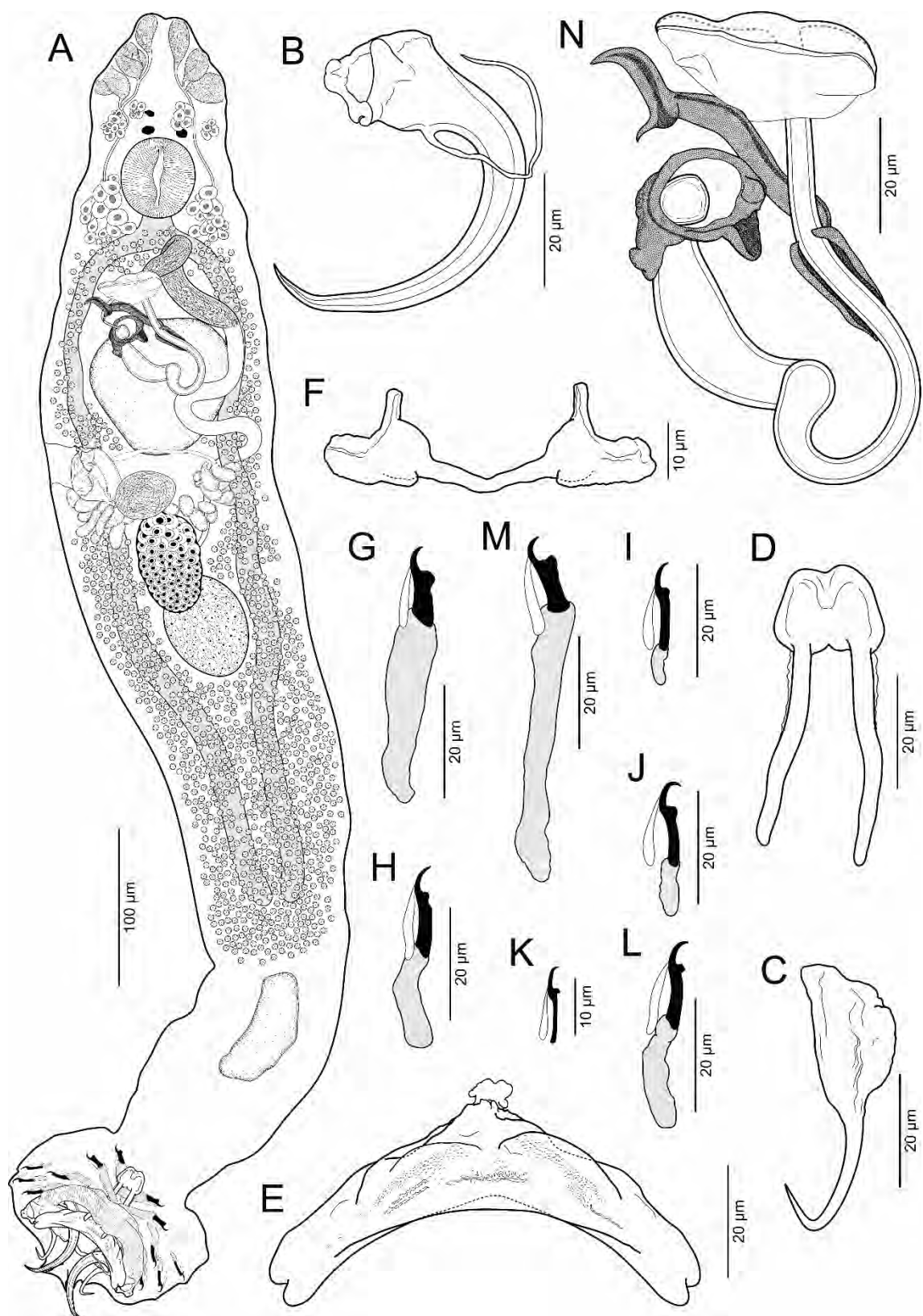


Figura 12. *Neotetraonchus peruvianus*. **A.** Espécime (vista ventral). **B.** Âncora ventral. **C.** Âncora dorsal. **D.** Onchium. **E.** Barra ventral. **F.** Barra dorsal. **G.** Par de ganchos 1. **H.** Par de ganchos 2. **I.** Par de ganchos 3. **J.** Par de ganchos 4. **K.** Par de ganchos 5. **L.** Par de ganchos 6. **M.** Par de ganchos 7. **N.** Órgão copulatório masculino.

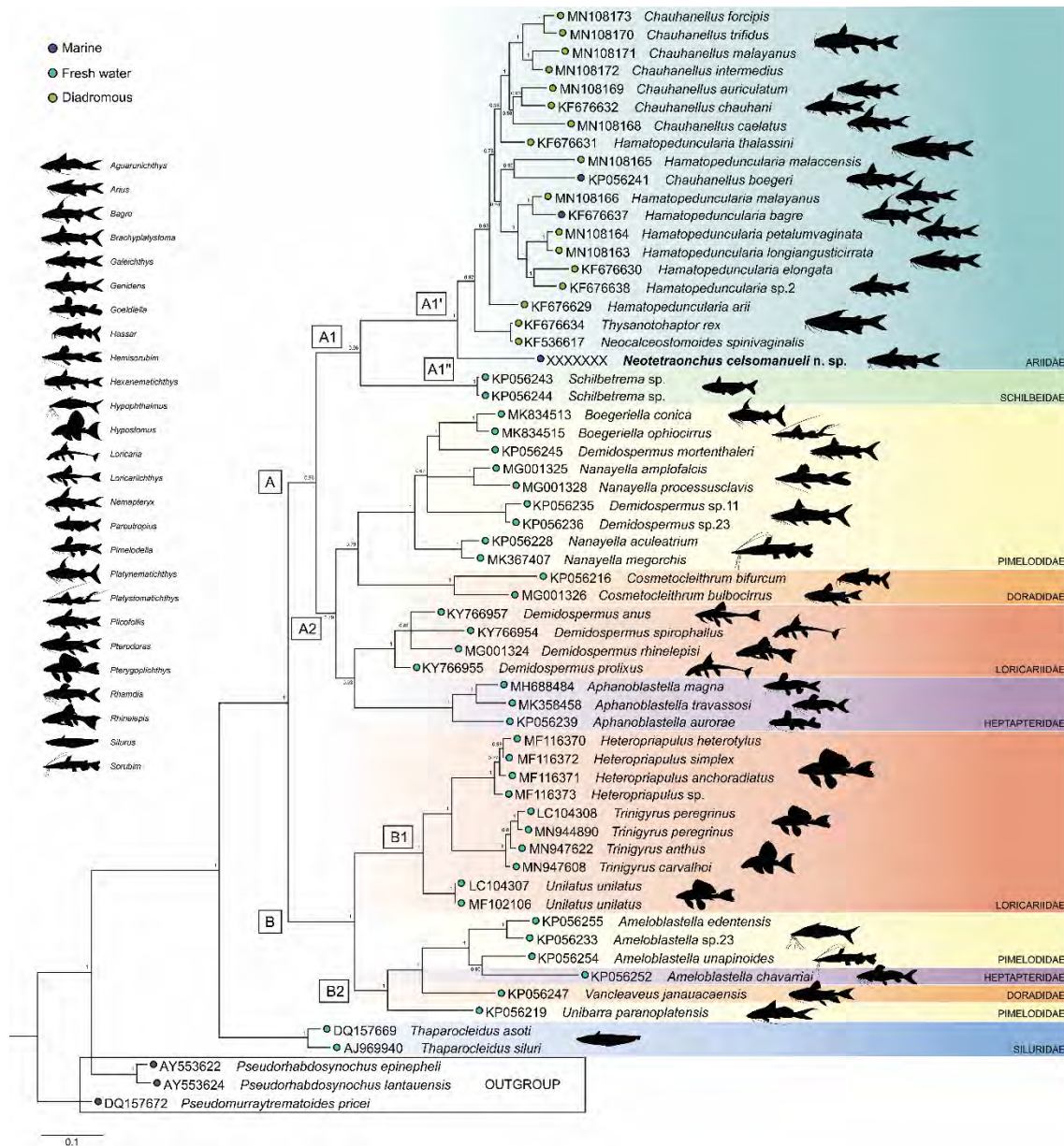


Figura 13. Árvore filogenética com base na região 28S para *Neotetraonchus celsomanueli* (Dactylogyridae) inferida por inferência bayesiana (BI) para mostrar suas relações com outras espécies de Dactylogyridae que infectam hospedeiros ariídeos. Números ao longo dos ramos indicam o bootstrap.

Relações filogenéticas

Neste estudo, uma sequência parcial de 28S rDNA de 823 pares de bases (bp) foi obtida de *Neotetraonchus celsomanei* (OR886655). As análises de alinhamento não revelaram correspondências significativas com outras sequências disponíveis de Monopisthocotylea no GenBank. As semelhanças mais próximas foram observadas com *Hamatopeduncularia thalassini* (KF676631), *Thysanotophaptor rex* (KF676634) e *Chauhanellus auriculatum* (MN108169) de bagres ariídeos, mostrando uma faixa de similaridade entre 82,61% e 83,11%. As divergências genéticas entre *Neotetraonchus celsomanei* e *Thysanotophaptor rex*, bem como *Neocalceostomoides spinivaginalis*, variaram de 16% (84 bp). Entre *Hamatopeduncularia* spp. e *Chauhanellus* spp., a divergência variou de 17% a 23% (83–112 bp).

A análise filogenética foi realizada com base no gene parcial 28S rDNA de espécies de Dactylogyridae exclusivamente de Siluriformes, incluindo a nossa espécie recém-identificada. As análises revelaram dois clados distintos com suporte robusto em análises de Inferência Bayesiana (BI) (Fig. 13). O clado A exibiu forte suporte e foi subdividido em dois clados bem apoiados: clado A1, que foi subdividido em A1' e A1". O clado A1' compreende parasitos monopistocotíleos de bagres diádromos e marinhos (Ariidae) como *Hamatopeduncularia* spp., *Chauhanellus* spp., *Thysanotophaptor rex*, *Neocalceostomoides spinivaginalis* e *Neotetraonchus celsomanei*. O clado A1" inclui *Schilbetrema* sp. de bagres de água doce (Schilbeidae), intimamente relacionado às espécies dactilogiridas de bagres ariídeos. O clado A2 abrange espécies que parasitam bagres de água doce (Pimelodidae, Doradidae, Loricariidae e Heptapteridae) (Fig. 13).

O clado B também mostrou forte suporte e foi dividido em duas subclados (B1 e B2), incluindo espécies que parasitam bagres de água doce. O clado B1 compreendeu espécies de Dactylogyridae que parasitam exclusivamente loricarídeos, como *Heteropriapulus* spp., *Trinigyryus* spp. e *Unilatus unilatus*. O clado B2 abrange espécies como *Ameloblastella* spp. de Pimelodidae e Heptapteridae, *Vancleaveus janauacaensis* de Doradidae e *Unibarra paranoplatensis* de Pimelodidae (Fig. 13).

A reconstrução filogenética baseada na sequência parcial do gene 28S rDNA do nosso isolado de *Chauhanellus* sp. nov. de *G. peruvianus* mostra que nossa sequência consenso está agrupada com *Chauhanellus boegeri* (KP056241) e *Chauhanellus* sp. (KP056242), de *Genidens* spp., formando um clado bem suportado de espécies sul-americanas que infectam bagres marinhos (Fig. 14). Este clado é o grupo irmão de um clado maior contendo espécies de *Haematopeduncularia* e *Chauhanellus* que infetam peixes bagre diádromos. Apenas uma espécie deste clado, *Haematopeduncularia bagre* (KF676637), foi reportada infectando um bagre exclusivamente marinho. Este clado maior contém dois subclados (A1 e A2). O clado A1 agrupa sete espécies de *Haematopeduncularia*, com *Haematopeduncularia arii* (KF676629) como a espécie mais basal. O clado A2 contém sete espécies de *Chauhanellus*, com *Chauhanellus auriculatum* (MN108169), *Chauhanellus caelatus* (MN108168) e *Chauhanellus chauhani* (KF676632) formando um clado basal. A espécie *Haematopeduncularia thalassini* (KF676631) apresenta uma incerteza em sua posição filogenética; apesar de pertencer ao gênero *Haematopeduncularia*, não se agrupa no clado de espécies de *Haematopeduncularia*, aparecendo como grupo basal do clado maior. Em nossa análise, os gêneros *Haematopeduncularia* e *Chauhanellus* aparecem como grupos não monofiléticos.

4. DISCUSSÃO

O estudo atual revelou a presença de duas espécies de *Neotetraonchus*, *N. celsomanueli* e *N. peruvianus*, e uma de *Chauhanellus* encontradas em bagres marinhos *Galeichthys peruvianus*, um peixe comumente encontrado em mercados locais do centro e norte do Peru, mas pouco estudado em relação a seus parasitos helmintos.

Neotetraonchus foi proposto e incluído na família Neotetraonchidae por Bravo-Hollis (1968) devido a características específicas, como possuir 16 ganchos larvais (oito pares), um intestino sacciforme (não bifurcado) e um complexo copulatório tubular esclerotizado. No entanto, uma revisão posterior por Kritsky et al. (2009) reavaliou o gênero, sugerindo que as espécies de *Neotetraonchus* possuem na verdade 14 ganchos (sete pares) e um intestino composto por dois cecos, alinhando-se mais com as características típicas da Dactylogyridae. Até hoje, quatro espécies válidas de *Neotetraonchus* foram relatadas infestando bagres marinhos ariídeos (Kritsky et al. 2009, Soares et al. 2023).

A análise filogenética de BI (Fig. 13), empregando sequências parciais de 28S rDNA, mostra a posição filogenética do gênero *Neotetraonchus* dentro do clado A1'. Agrupando-se com membros da Neocalceostomidae (*Thysanotohaptor* e *Neocalceostomoides*) e Dactylogyridae (*Chauhanellus* e *Hamatopeduncularia*). No entanto, isso sugere uma possível confusão na posição taxonômica dos neocalceostomídeos, que é provável que esteja intimamente relacionada à Dactylogyridae. Neocalceostomatidae não foi estabelecida de forma definitiva ou universalmente aceita, mas a família é reconhecida tentativamente para incluir espécies com um haptor em forma de disco armado com um par de âncoras ventrais e 14 pares de ganchos (10 marginais e 4 ventrais) (Boeger e Kritsky, 2001, Kritsky et al. 2012).

Tradicionalmente, Dactylogyridae compreendia as subfamílias Ancylo-discoidinae Gusev, 1961 e Ancyrocephalinae Bychowsky, 1937 (Boeger e Kritsky, 1993). A análise filogenética de BI apoia a possibilidade de que as famílias Neotetraonchidae Bravo-Hollis, 1968 (agora Dactylogyridae) e Neocalceostomatidae Lim, 1995 possam ser potencialmente reclassificadas como subfamílias dentro de Dactylogyridae, como Neotetraonchinae e Neocalceostominae, respectivamente. No entanto, determinar a subfamília exata dentro de Dactylogyridae, de uma perspectiva molecular, requer mais dados de sequência de táxons intimamente relacionados.

Neotetraonchus celsomanueli, *N. peruvianus*, e *Chauhanellus* sp. nov. são as primeiras espécies do gênero encontradas infestando uma espécie de *Galeichthys* que habita águas peruanas. Com base neste estudo e em relatos recentes sobre monopisthocotídeos que infectam peixes do norte do Peru, presumimos que a diversidade real de monopisthocotídeos no Peru e no Pacífico Sudeste ainda é pouco conhecida. A descrição de muitos novos táxons, especialmente em hospedeiros pouco estudados, é esperada.

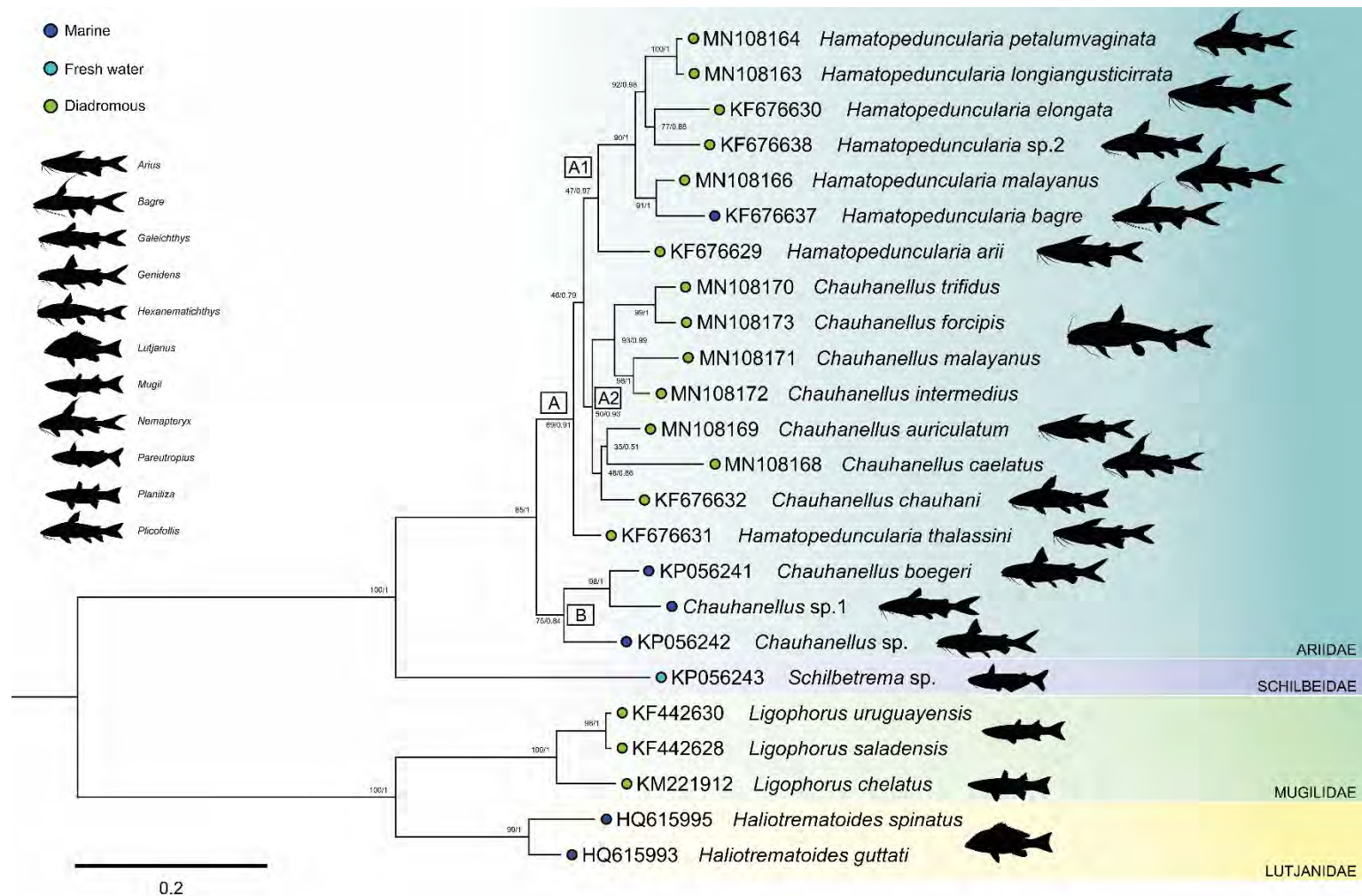


Figura 14. Árvore filogenética com base na região 28S para *Chauhanellus* n. sp. (Dactylogyridae) inferida por inferência bayesiana (BI) e máxima verossimilhança (ML) para mostrar suas relações com outras espécies de *Chauhanellus* e *Haematopoduncularia* que infectam hospedeiros ariídeos. Números ao longo dos ramos indicam o bootstrap.

CONCLUSÕES GERAIS

- Oito espécies de Dactylogyridae foram descritas, e dois gêneros foram propostos.
- As espécies *P. peruensis* e *P. signiferi* foram transferidos para o gênero *Bicentenariella*, como *B. peruensis* e *B. signiferi*, respectivamente.
- O presente trabalho constitui os primeiros dados moleculares de Dactylogyridae em ambientes marinhos no Peru.
- O presente trabalho representa o primeiro registro de Dactylogyridae dos gêneros *Neotetraonchus* e *Chauhanellus* no Peru.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACEVEDO, J.; ANGULO, W.; RAMÍREZ, M.; ZAPATA, L.A. Reproduction of the fish *Brotula clarkae* (Pisces: Ophidiidae) in the Colombian Pacific. *Revista de Biología Tropical*, v. 55, p. 957-967, 2007.
- ALLEN, G.R.; ROBERTSON, D.R. Fishes of the Tropical Eastern Pacific. Honolulu: University of Hawaii Press, 1994. 332 p.
- ALTSCHUL, S.F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E.W.; LIPMAN, D.J. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, v. 215, p. 403-410, 1990.
- AMBROSE, D.A. Ophidiidae: cusk-eels. In: MOSER, H.G. (ed.). *The early stages of fishes in the California Current region*. California Cooperative Oceanic Fisheries Investigations (CalCOFI) Atlas, n. 33, p. 513-531, 1996. 1505 p.
- ANISIMOVA, M.; GASCUEL, O. Approximate likelihood-ratio test for branches: a fast, accurate, and powerful alternative. *Systematic Biology*, v. 55, p. 539-552, 2006.
- ANTONELLI, L.; QUILICHINI, Y.; MARCHAND, B. *Sparicotyle chrysophrii* (Van Beneden & Hesse, 1863) (Monogenea: Polyopisthocotylea) parasite of cultured gilthead sea bream *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758) (Pisces: Teleostei) from Corsica: ecological and morphological study. *Parasitology Research*, v. 107, p. 389-398, 2010.
- BAKKE, T. A.; CABLE, J.; HARRIS, P. O. The biology of gyrodactylid monogeneans: the "Russian-doll killers". *Advances in Parasitology*, v. 64, p. 121-460, 2007.
- BETANCUR, R. R.; WILEY, E. O.; ARRATIA, G.; ACERO, A.; BAILLY, N.; MIYA, M.; LECOINTRE, G.; ORTÍ, G. Phylogenetic classification of bony fishes. *BMC Evolutionary Biology*, v. 17, p. 162, 2017.
- BOEGER, W.A.; KRITSKY, D.C. Phylogeny and a revised classification of the Monogenoidea Bychowky, 1937 (Platyhelminthes). *Systematic Parasitology*, v. 26, p. 1-32, 1993.
- BOEGER, W. A.; KRITSKY, D. C. Phylogenetic relationships of the Monogenoidea. In: LITTLEWOOD, D. T. J.; BRAY, R. A. (Eds.). *Interrelationships of the Platyhelminthes*. p. 92-102. London: Taylor & Francis, 2001.
- BRABEC, J.; SALOMAKI, E.D.; KOLÍSKO, M.; SCHOLZ, T.; KUTCHTA, R. The evolution of endoparasitism and complex life cycles in parasitic platyhelminths. *Current Biology*, v. 33, p. 1-7, 2023.
- BUCHMANN, K.; LINDENSTRØM, T. Interactions between monogenean parasites and their fish hosts. *International Journal of Parasitology*, v. 32, p. 309-319, 2002.
- CHÁVEZ-CEVALLOS, J. M.; CABALLERO-VERGARA, J. A. Análisis del contenido gastrointestinal de la corvina deroca (*Brotula clarkae*, Hubbs, 1994) desembarcados en la Playa de Tarqui, Cantón Manta, Provincia de Manabí. Tesis de grado, Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, 2008. 84 p.

CHERO, J. D.; CRUCES, C. L.; SáEZ, G.; LUQUE, J. L. Proposal of *Cynoscionella* n. g. (Monogenea: Diplectanidae), with description of a new species from the gills of *Cynoscion phoxocephalus* (Actinopterygii: Sciaenidae) in Peru and reassignment of two species of *Diplectanum* Monticelli, 1903. *Systematic Parasitology*, v. 100, p. 23-29, 2022.

CHIRICHIGNO, N.; VÉLEZ, M. Clave para identificar los peces marinos del Perú. 2. ed. Publicación Especial del Instituto del Mar. Callao: Instituto del Mar del Perú, 1998. 500 p.

CHIRICHIGNO, N.; CORNEJO, R. M. Catálogo comentado de los peces marinos del Perú. Publicación Especial del Instituto del Mar. Callao: Instituto del Mar del Perú, 2001. 314 p.

COHEN, S. C.; JUSTO, M. C. N.; KOHN, A. South American Monogenoidea parasites of fishes, amphibians and reptiles. Rio de Janeiro: Oficina de Livros, 2013. 663 p.

CICCHETO, J. R. M.; RAZZOLINI, E. L.; DE BURON, I.; BOEGER, W. A. Position of *Polyclithrum* within Gyrodactylidae (Monogenoidea): incongruences between morphological and molecular phylogenies. *Systematic Parasitology*, v. 100, p. 633-645, 2023.

CRIBB, T. H.; CHISHOLM, L. A.; BRAY, R. A. Diversity in the Monogenea and Digenea: does lifestyle matter? *International Journal for Parasitology*, v. 32, p. 321-328, 2002.

CRAIG, M.; HASTINGS, P. A molecular phylogeny of the groupers of the subfamily Epinephelinae (Serranidae) with a revised classification of the Epinephelini. *Ichthyological Research*, v. 54, p. 1-17, 2007.

CRUCES, C. L.; CHERO, J. D.; SáEZ, G.; LUQUE, J. L. Dactylogyrids (Monogenea) parasitic on marine fish from Peru including the description of a new species of *Haliotrema* Johnston & Tiegs, 1922 and two new species of *Parancylodiscoides* Caballero & Bravo-Hollis, 1961. *Zootaxa*, v. 4311, p. 111-121, 2017a.

CRUCES, C. L.; CHERO, J. D.; SáEZ, G.; IANNAcone, J.; LUQUE, J. L. Olivacotyle *hemanthiasi* n. gen., n. sp. (Monogenea: Diclidophoridae) from the gills of damselfish *Hemanthias signifer* (Garman, 1899) (Teleostei: Serranidae) in the South American Pacific Ocean. *Neotropical Helminthology*, v. 11, p. 387-394, 2017b.

CRUCES, C. L.; CHERO, J. D.; LUQUE, J. L. Four new species of dactylogyrids (Monogenea: Dactylogyridae) parasitic on gills of labrid and sparid fishes from Southeastern Pacific Ocean off Peru. *Systematic Parasitology*, v. 95, p. 829-840, 2018.

CRUCES, C. L.; CHERO, J. D.; SáEZ, G.; LUQUE, J. L. A new genus and three new species of dactylogyrids (Monogenea), gill parasites of the threadfin bass, *Pronotogrammus multifasciatus* Gill (Perciformes: Serranidae) in the Southeastern Pacific Ocean off Peru. *Systematic Parasitology*, v. 97, p. 121-131, 2020.

CRUCES, C. L.; CHERO, J. D.; SáEZ, G.; LUQUE, J. L. Redescription of *Haliotrematoides mediohamides* (Monogenea: Dactylogyridae), a gill parasite of the

Pacific porgy *Calamus brachysomus* (Perciformes: Sparidae) from the Eastern Pacific Ocean. *Systematic Parasitology*, v. 93, p. e933960, 2022.

DANG, B. T.; LEVSEN, A.; SCHANDER, C.; BRISTOW, G. A. Some *Haliotrema* (Monogenea: Dactylogyridae) from cultured grouper (*Epinephelus* spp.) with emphasis on the phylogenetic position of *Haliotrema cromileptis*. *Journal of Parasitology*, v. 96, p. 30-39, 2010.

DU PREEZ, L. H.; VAUCHER, C.; MARIAUX, J. Polystomatidae (Monogenea) of African Anura: *Polystoma dawiekoki* n. sp. parasitic in *Ptychadena anchietae* (Bocage). *Systematic Parasitology*, v. 52, p. 35-41, 2002.

EIRAS, J. D. C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C.; ADRIANO, E. A. Diversidade dos parasitas de peixes de água doce do Brasil. Maringá: Clichetec, 2010. 333 p.

ESCHMEYER, W. N.; HERALD, E. S.; HAMMANN, H. A field guide to Pacific coast fishes of North America. Boston: Houghton Mifflin Company, 1983. 336 p.

FILATOV, D. A. Proseq: A software for preparation and evolutionary analysis of DNA sequence data sets. *Molecular Ecology Notes*, v. 2, p. 621-624, 2002

FRANCESCINI, L.; ACOSTA, A. A.; ZAGO, A. C.; MÜLLER, M. I.; DA SILVA, R. J. *Trinigyrus* spp. (Monogenea: Dactylogyridae) from Brazilian catfishes: New species, molecular data and new morphological contributions to the genus. *Journal of Helminthology*, v. 94, e126, 2020.

FROESE, R.; PAULY, D. FishBase. World Wide Web electronic publication. Available at: <http://www.fishbase.org>. Accessed on: 12 Jan. 2021.

FROESE, R.; PAULY, D. FishBase. Available online: <https://www.fishbase.se/search.php> (accessed on 24 May 2023).

GUINDON, S.; DUFAYARD, J. F.; LEFORT, V.; ANISIMOVA, M.; HORDIJK, W.; GASCUEL, O. New algorithms and methods to estimate maximum likelihood phylogenies: assessing the performance of *PhyML3.0*. *Systematic Biology*, v. 59, p. 307-321, 2010.

HERRERA, M.; CLARKE, T.; NARANJO-ELIZONDO, B.; ESPINOZA, M.; WEHRTMANN, I. S. Size at maturity of the Pacific bearded brotula (*Ophidiidae: Brotula clarkae*): a commercially exploited species in the Pacific of Costa Rica. *Latin American Journal of Aquatic Research*, v. 44, p. 657-661, 2016.

HUMASON, G. L. *Animal tissue techniques*. 4. ed. San Francisco: W. H. Freeman and Co., 1979. 661 p.

HUELSENBECK, J. P.; RONQUIST, F. MrBAYES: Bayesian inference for phylogeny trees. *Bioinformatics*, v. 17, p. 754-755, 2001.

ICZN. International Commission on Zoological Nomenclature: Amendment of articles 8, 9, 10, 21 and 78 of the International Code of Zoological Nomenclature to expand and

refine methods of publication. *Bulletin of Zoological Nomenclature*, v. 69, p. 161-169, 2012.

IANNACONE, J.; LUQUE, J. L. Aspectos ecológicos de los parásitos branquiales del bagre, *Galeichthys peruanus* (L.) (Pisces: Teleostei) en la costa central del Perú. *Boletín de Lima (Perú)*, v. 88, p. 69-73, 1993.

JUSTINE, J. L. Parasite biodiversity in a coral reef fish: twelve species of monogeneans on the gills of the grouper *Epinephelus maculatus* (Perciformes: Serranidae) off New Caledonia, with a description of eight new species of *Pseudorhabdosynochus* (Monogenea: Diplectanidae). *Systematic Parasitology*, v. 66, p. 81-129, 2007a.

JUSTINE, J. L. *Pseudorhabdosynochus argus* n. sp. (Monogenea: Diplectanidae) from *Cephalopholis argus*, *P. minutus* n. sp. and *Diplectanum nanus* n. sp. from *C. sonnerati* and other monogeneans from *Cephalopholis* spp. (Perciformes: Serranidae) off Australia and New Caledonia. *Systematic Parasitology*, v. 68, p. 195-215, 2007b.

JUSTINE, J.-L.; LAMBERT, A.; MATTEI, X. Spermatozoon ultrastructure and phylogenetic relationships in the monogeneans (Platyhelminthes). *International Journal for Parasitology*, v. 15, p. 601-608, 1985.

JUSTINE, J.-L.; PODDUBNAYA, L. G. Spermiogenesis and spermatozoon ultrastructure in basal polyopisthocotylean monogeneans, *Hexabothriidae* and *Chimaericolidae*, and their significance for the phylogeny of the Monogenea. *Parasite*, v. 25, p. 7, 2018.

JUSTINE, J. L.; SIGURA, A. Monogeneans of the malabar grouper *Epinephelus malabaricus* (Perciformes, Serranidae) off New Caledonia, with a description of six new species of *Pseudorhabdosynochus* (Monogenea: Diplectanidae). *Zootaxa*, v. 1543, p. 1-44, 2007.

JUSTINE, J. L.; VIGNON, M. Monogeneans of the grouper *Epinephelus tauvina* (Perciformes, Serranidae) off Moorea, French Polynesia, with a description of *Pseudorhabdosynochus pai* n. sp. (Monogenea: Diplectanidae). *Systematic Parasitology*, v. 72, p. 113-125, 2009.

KAILOLA, P. J.; BUSSING, W. A. Ariidae. In: FISCHER, W.; KRUPP, F.; SCHNEIDER, W.; SOMMER, C.; CARPENTER, K. E.; NIEM, V. (Eds.). Guía FAO para identificación de especies para los fines de la pesca, Pacífico Centro-Oriental. v. 2. Roma: FAO, 1995. p. 860-886.

KAPPAS, I.; VITTAS, S.; PANTZARTZI, C. N.; DROSOPOULOU, E.; SCOURAS, Z. G. A time-calibrated mitogenome phylogeny of catfish (Teleostei: Siluriformes). *PLoS One*, v. 11, e0166988, 2016.

KEARSE, M.; MOIR, R.; WILSON, A.; STONES-HAVAS, S.; CHEUNG, M.; STURROCK, S.; BUXTON, S.; COOPER, A.; MARKOWITZ, S.; DURAN, C.; THIERER, T.; ASHTON, B.; MEINTJES, P.; DRUMMOND, A. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, v. 28, p. 1647-1649, 2012.

KIMURA, M. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, v. 16, p. 111-120, 1980.

KRITSKY, D. C.; BOEGER, W. A.; THATCHER, V. E. Neotropical Monogenea. 7. Parasites of the Pirarucu, *Arapaima gigas* (Cuvier), with descriptions of two new species and redescription of *Dawestrema cycloancistrum* Price & Nowlin, 1967 (Dactylogyridae: Ancyrocephalinae). *Proceedings of the Biological Society of Washington*, v. 98, p. 321-331, 1985.

KRITSKY, D. C.; SHAMEEM, U.; KUMARI, C. P.; KRISHNAVENI, I. A new Neocalceostomatid (Monogeneoidea) from the gills of the blackfin sea catfish, *Arius jella* (Siluriformes: Ariidae), in the Bay of Bengal, India. *Journal of Parasitology*, v. 98, p. 479-483, 2012.

KRITSKY, D. C.; MENDOZA-FRANCO, E. F.; BULLARD, S. A.; VIDAL-MARTÍNEZ, V. M. Revision of the amphiamerican *Neotetraonchus* Bravo-Hollis, 1968 (Monogeneoidea: Dactylogyridae), with a description of *N. vegrandis* n. sp. from the gill lamellae of the blue sea catfish *Ariopsis guatemalensis* (Siluriformes: Ariidae) off the Pacific Coast of Mexico. *Systematic Parasitology*, v. 74, p. 1-15, 2009.

KRITSKY, D. C. Revision of *Parancylodiscoides* Caballero y C. & Bravo-Hollis, 1961 (Monogeneoidea: Dactylogyridae), with a redescription of *P. longiphallus* (MacCallum, 1915) from the Atlantic spadefish *Chaetodipterus faber* (Broussonet) (Acanthuroidei: Ehippidae) in the Gulf of Mexico. *Systematic Parasitology*, v. 81, p. 97-108, 2012.

KRITSKY, D. C.; BAKENHASTER, M. D. Redescription and new host records for *Parancylodiscoides macrobaculum* n. comb. (Monogeneoidea: Dactylogyridae) from groupers (Serranidae: Epinephelinae) in the Gulf of Mexico. *Comparative Parasitology*, v. 3, p. 260-264, 2016.

KULONGOWSKI, C. Revision of the ariid catfish genus *Galeichthys* Valenciennes (subfamily Galeichthyinae), with description of a new species from South Africa and designation of a neotype for *G. ater* Castelnau. *Smithiana Bulletin*, v. 12, p. 9-23, 2010.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, v. 33, p. 1870-1874, 2016.

KMENTOVÁ, N.; CRUZ-LAUFER, A. J.; PARISELLE, A.; SMEETS, K.; ARTOS, T.; VANHOVE, M. P. M. Dactylogyridae 2022: a meta-analysis of phylogenetic studies and generic diagnoses of parasitic flatworms using published genetic and morphological data. *International Journal for Parasitology*, v. 52, p. 427-457, 2022.

LARKIN, M. A.; BLACKSHIELDS, G.; BROWN, N. P.; CHENNA, R.; MCGETTIGAN, P. A.; MCWILLIAM, H.; VALENTIN, F.; WALLACE, I. M.; WILM, A.; LOPEZ, R. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, v. 23, p. 2947-2948, 2007.

- LEA, R. N.; ALLEN, M. J.; POWER, W. Records of the Pacific bearded brotula, *Brotula clarkae*, from Southern California. *Bulletin of the Southern California Academy of Sciences*, v. 108, p. 163-167, 2009.
- LEFORT, V.; LONGUEVILLE, J. E.; GASCUEL, O. SMS: Smart Model Selection in PhyML. *Molecular Biology and Evolution*, v. 34, p. 2422-2424, 2017.
- LITTLEWOOD, D. T. J.; CURINI-GALLETTI, M.; HERNIOU, E. A. The interrelationships of Proseriata (Platyhelminthes: Seriata) tested with molecules and morphology. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 16, p. 449-466, 2000.
- LOCKYER, A. E.; OLSON, P. D.; LITTLEWOOD, D. T. J. Utility of complete large and small subunit rRNA genes in resolving the phylogeny of the Neodermata (Platyhelminthes): implications and a review of the cercomer theory. *Biological Journal of the Linnean Society*, v. 78, p. 155-171, 2003.
- LUQUE, J. L.; CRUCES, C.; CHERO, J.; PASCHOAL, F.; ALVES, P. V.; DA SILVA, A. C.; SÁNCHEZ, L.; IANNAcone, J. Checklist of metazoan parasites of fishes from Peru. *Neotropical Helminthology*, v. 10, p. 301-375, 2016.
- MACENIUK, A. P.; OLIVEIRA, C.; FERRARIS JR., C. J. A new classification of the family Ariidae (Osteichthyes: Ostariophysi: Siluriformes) based on combined analyses of morphological and molecular data. *Zoological Journal of the Linnean Society*, zlad078, 2023.
- MARÍN, A.; GOZZER-WUEST, R.; GRILLO-NÚÑEZ, J.; ÁLVAREZ-JAQUE, I. B.; RIVEROS, J. C. DNA barcoding reveals overlooked shark and bony fish species in landing reports of small-scale fisheries from northern Peru. *Marine and Fishery Sciences*, v. 35, p. 307-314, 2022.
- MBOKANE, E. M.; MATLA, M. M.; THERON, J.; LUUS-POWELL, W. J. Seasonal dynamics and occurrences of three Dactylogyrus species on the gills of three cyprinids at Nwanedi-Luphephe dams in Limpopo province, South Africa. *African Zoology*, v. 50, p. 119-125, 2015.
- MENDOZA-FRANCO, E. F. li. 2 Clase: Monogenoidea. In: CASPETA-MANDUJANO, J. M.; CABAÑAS-CARRANZA, G.; MENDOZA-FRANCO, E. F. *Helminths parasites of fishes dulceacuícolas mexicanos (Caso Morelos)*. México: AGT Editor, 2009. p. 18-20.
- MENDOZA-PALMERO, C. A.; BLASCO-COSTA, I.; SCHOLZ, T. Molecular phylogeny of Neotropical monogeneans (Platyhelminthes: Monogenea) from catfishes (Siluriformes). *Parasites Vectors*, v. 8, p. 164, 2015.
- MENDOZA-PALMERO, C. A.; BLASCO-COSTA, I.; HERNÁNDEZ-MENA, D.; DE LEÓN, G. P. *Parasciadicleithrum octofasciatum* n. gen., n. sp. (Monogenoidea: Dactylogyridae), parasite of Rocio octofasciata (Regan) (Cichlidae: Perciformes) from Mexico characterised by morphological and molecular evidence. *Parasitology International*, v. 66, p. 152-162, 2017.

MENDOZA-PALMERO, C.; ACOSTA, A.; SCHOLZ, T. Molecular phylogeny of *Cosmetocleithrum* Kritsky, Thatcher & Boeger, 1986 (Monogeneoidea: Dactylogyridae), gill parasites of Neotropical catfishes (Siluriformes). *Journal of Helminthology*, v. 96, p. E56, 2022.

MILLER, M. A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. The CIPRES science gateway: a community resource for phylogenetic analyses. In: *Proceedings of the 2011 TeraGrid Conference: extreme digital discovery*, 2011. p. 1-8.

MIZELLE, J. D. New species of trematodes from the gills of Illinois fishes. *American Midland Naturalist*, v. 17, p. 785-806, 1936.

MIZELLE, J. D.; PRICE, C. E. Additional haptor hooks in the genus *Dactylogyrus*. *Journal of Parasitology*, v. 19, p. 785-806, 1963.

MOLLARET, I.; JAMIESON, B. G. M.; ADLARD, R. D.; HUGALL, A.; LECOINTRE, G.; CHOMBARD, C.; JUSTINE, J.-L. Phylogenetic analysis of the Monogenea and their relationships with Digenea and Eucestoda inferred from 28S rDNA sequences. *Molecular and Biochemical Parasitology*, v. 90, p. 433-438, 1997.

MONACO, L. H.; MIZELLE, J. D. Studies on monogenetic trematodes. XVII. The genus *Dactylogyrus*. *The American Midland Naturalist Journal*, v. 53, p. 455-477, 1955.

NATURE & CULTURE INTERNATIONAL. Available online: <https://www.natureandculture.org/directory/marine-reserve-peru/> (accessed on 24 May 2023).

NIELSEN, J. G.; COHEN, D. M.; MARKLE, D. F.; ROBINS, C. R. Ophidiiform fishes of the world (Order Ophidiiformes). An annotated and illustrated catalogue of pearlfishes, cusk-eels, brotulas and other ophidiiform fishes known to date. *FAO Fish. Synop.*, v. 125, p. 178, 1999. Rome: FAO.

NITTA, M.; NAGASAWA, K. An annotated checklist of the monogeneans (Platyhelminthes) reported from Okinawa Prefecture, southern Japan (1936–2017), with four new Japanese records and one new prefectural record for fish monogeneans. *Fauna Ryukyuan*, v. 46, p. 11-34, 2018.

OLIVA, M. E.; SEPULVEDA, F. A.; GONZÁLEZ, M. *Parapedocotyle prolatili* gen. n. et sp. n., a representative of a new subfamily of the Diclidophoridae (Monogenea), a gill parasite of *Prolatilus jugularis* (Teleostei: Pinguipedidae) from Chile. *Folia Parasitologica*, v. 61, p. 543-548, 2014.

OLSON, P. D.; CRIBB, T. H.; TKACH, V. V.; BRAY, R. A.; LITTLEWOOD, D. T. J. Phylogeny and classification of the Digenea (Platyhelminthes: Trematoda). *International Journal for Parasitology*, v. 33, p. 733-755, 2003.

PAVANELLI, G. C.; TAKEMOTO, R. M.; EIRAS, J. C. *Parasitologia de peixes de água doce do Brasil*. Maringá: Eduem, 2013. 458 p.

PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M. *Doença de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento*. Maringá: Eduem, 2008.

PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M. Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento. 2. ed. Maringá: Eduem, 2002.

PERKINS, E. M.; DONNELLAN, S. C.; BERTOZZI, T.; CHISHOLM, L. A.; WHITTINGTON, I. D. Looks can deceive: Molecular phylogeny of a family of flatworm ectoparasites (Monogenea: Capsalidae) does not reflect current morphological classification. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 52, p. 705-714, 2009.

RAMBAUT, A. *FigTree: tree figure drawing tool* (Version 1.4.4). 2018.

RONQUIST, F.; HUELSENBECK, J.; TESLENKO, M. Draft MrBayes version 3.2 manual: tutorials and model summaries. Distributed with the software from <http://brahms.biology.rochester.edu/software.html>, 2011.

ROUMBEDAKIS, K.; DRÁBKOVÁ, M.; TYML, T.; DI CRISTO, C. A Perspective Around Cephalopods and Their Parasites, and Suggestions on How to Increase Knowledge in the Field. *Frontiers in Physiology*, v. 9, p. 1573, 2018.

SANTILLÁN, L. A.; CRUCES, C. L.; SáEZ, G. M.; MARTÍNEZ-ROJAS, R.; MONDRAGÓN-MARTÍNEZ, A.; MOREY, G. A. M.; QUIÑONES, M.; LUQUE, J. L.; CHERO, J. D. An Annotated Checklist of Monogeneans (Platyhelminthes, Monogenea) from Aquatic Vertebrates in Peru: A Review of Diversity, Hosts and Geographical Distribution. *Animals*, v. 14, n. 11, p. 1542, 2024.

SOARES, G.; ADRIANO, E.; DOMINGUES, M.; BALBUENA, J. Diversification processes between monogenoids (Dactylogyridae) and their marine catfish (Siluriformes: Ariidae) from the Atlantic coast of South America. *Parasitology*, v. 150, p. 184-194, 2023.

THATCHER, V. E. Amazon fish parasites. 2. ed. Sofia-Moscow: Pensoft Publishers, 2006. p. 42–116.

TANCREDO, K. R.; MARTINS, M. L. Three previously recorded species of *Dactylogyrus* Diesing, 1850 (Monogenea: Dactylogyridae) infecting cultured *Carassius auratus* in southern Brazil. *Journal of Parasitic Diseases*, v. 43, p. 522–527, 2019.


YOUNG, P. C. Ten new species of *Haliotrema* (Monogenoidea: Dactylogyridae) from Australian fish and a revision of the genus. *Journal of Zoology*, v. 154, p. 41–75, 1968.

YAMAGUTI, S. Monogenetic trematodes of Hawaiian fishes. Honolulu: University of Hawaii Press, 1968. 287 p.

ANEXOS



***Bicentenariella* n. g. (Monogenea: Dactylogyridae) including descriptions of three new species and two new combinations from serranid fishes (Actinopterygii: Serranidae: Anthiinae) in the South American Pacific Ocean**

Celso L. Cruces · Jhon D. Chero · Gloria Sáez · José L. Luque 


Received: 11 February 2021 / Accepted: 4 May 2021 / Published online: 4 June 2021
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature B.V. 2021

Abstract *Bicentenariella* n. g. is proposed to accommodate three new species of dactylogyrid monogeneans found on the gills of the threadfin bass *Pronotogrammus multifasciatus* Gill (Perciformes: Serranidae) from the Southeastern Pacific Ocean off Peru: *Bicentenariella claudiae* n. sp. (type-species), *B. sinuosa* n. sp. and *B. puertopizarroensis* n. sp. *Bicentenariella* n. g. is mainly characterised by possessing a broadly X-shaped dorsal bar, which has the anterior arms longer than posterior ones and by having a ventral bar with two medial projections. *Bicentenariella* n. g. is also characterised by having: (i) anchors equal, each with elongate superficial root and short deep root; (ii) an haptor with bilaterally paired lobes, lacking haptor reservoirs; (iii) hooks with protruded obtuse thumb and undilated shank; (iv)

a tubular tapered-shaped male copulatory organ with basal flap bifurcated or not (MCO), lacking accessory piece; (v) a delicate membrane associated with the shaft of the MCO present or absent; (vi) a muscular trumpet-shaped vagina, vaginal aperture dextralateral; (vii) eyespots absent, accessory chromatic granules present; and (viii) a not lobulated testis. *Bicentenariella claudiae* n. sp. is characterised by having a MCO with whip-shaped distal end and a rod-shaped ventral bar with hatchet-shaped lateral ends. *Bicentenariella sinuosa* n. sp. is typified by possessing a MCO with an irregular filamentous membrane surrounding its shaft and a dumbbell-shaped ventral bar. *Bicentenariella puertopizarroensis* n. sp. can be differentiated from its congeners by having a tubular-shaped MCO with twisted distal end and a narrow W-shaped ventral bar. *Parancylodiscoides peruensis* Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2017 from *Hemanthias peruanus* (Steindachner) and *P. signiferi* Cruces, Chero, Sáez & Luque, 2017 from *H. signifer* (Garman), are transferred to *Bicentenariella* n. g. as *B. peruensis* n. comb and *B. signiferi* n. comb., respectively.

C. L. Cruces · J. D. Chero
Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal,
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro,
Seropédica, RJ, Brazil

G. Sáez
Laboratorio de Parasitología General y Especializada,
Facultad de Ciencias Naturales y Matemática,
Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV), El
Agustino 15007, Lima, Peru

J. L. Luque 
Departamento de Parasitologia Animal, Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica,
RJ CEP 23851-970, Brazil
e-mail: luqueufrj@gmail.com

Introduction

The Serranidae includes 556 species of marine fishes occurring in tropical and temperate oceans. Commonly known as sea basses (groupers and fairy basslets), the family currently contains 75 genera.

Article

Proposal of *Brotulella* n. gen. for Monogeneans from the Gills of the Pacific Bearded Brotula *Brotula clarkae* Hubbs, 1944 (Ophidiiformes: Ophidiidae) Based on Morphological and Molecular Evidence

Celso Luis Cruces ^{1,2}, Raquel Simões ³, Arnaldo Maldonado Júnior ⁴, Ruperto Severino ², Jhon Darly Chero ² and José Luis Luque ^{3,*}

¹ Graduate Program in Animal Biology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica 23890-000, RJ, Brazil

² Invertebrate Zoology Laboratory, Academic Department of Zoology, Faculty of Biological Sciences, National University of San Marcos, Lima 15081, Peru

³ Department of Animal Parasitology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica 23890-000, RJ, Brazil

⁴ Laboratory of Biology and Parasitology of Wild Mammalian Reservoirs, Oswaldo Cruz Institute, Rio de Janeiro 22061-040, RJ, Brazil

* Correspondence: luqueufrj@gmail.com



Citation: Cruces, C.L.; Simões, R.; Maldonado Júnior, A.; Severino, R.; Chero, J.D.; Luque, J.L. Proposal of *Brotulella* n. gen. for Monogeneans from the Gills of the Pacific Bearded Brotula *Brotula clarkae* Hubbs, 1944 (Ophidiiformes: Ophidiidae) Based on Morphological and Molecular Evidence. *Fishes* 2023, 8, 588. <https://doi.org/10.3390/fishes8120588>

Academic Editor: Elvira Abollo

Received: 10 October 2023

Revised: 22 November 2023

Accepted: 28 November 2023

Published: 30 November 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Based on morphological and molecular data, *Brotulella* n. gen. is proposed to accommodate the dactylogyrid monogeneans *Brotulella laurafernandae* n. sp. (type species) and *Brotulella huisahelenae* n. sp. on the gill filaments of the Pacific bearded brotula *Brotula clarkae* Hubbs, 1944 (Ophidiiformes: Ophidiidae) from Puerto Pizarro in the Tumbes region (northern Peru). Species of the new genus are distinguished from all other dactylogyrids by the combination of the following features: (1) anchors with a stocking-shaped sheath associated with the distal end of superficial and deep roots, (2) tandem gonads, (3) a vas deferens looping left intestinal caecum, (4) a distally twisted male copulatory organ (MCO) with a delicate membranous accessory piece articulated to the shaft of the MCO, (5) a U-shaped ovary, (6) an almost sigmoid seminal vesicle, and (7) two prostatic reservoirs with thick muscular walls. A 28S ribosomal DNA-based phylogenetic analysis (Maximum likelihood and Bayesian inference) of sequences of two new species of *Brotulella* n. gen. from the Southeastern Pacific Ocean, along with sequences from closely related genera of the marine Dactylogyridae, supports the establishment of the new genus for the dactylogyrid parasites on the gills of the Pacific bearded brotula.

Keywords: *Brotulella* n. gen.; *Brotulella laurafernandae* n. sp.; *Brotulella huisahelenae* n. sp.; cusk-eels; gill ectoparasites; taxonomy; South America

Key Contribution: The manuscript introduces a new genus, *Brotulella* n. gen., to accommodate two newly discovered dactylogyrid monogeneans, *Brotulella laurafernandae* n. sp. and *Brotulella huisahelenae* n. sp., found on the gill filaments of the Pacific bearded brotula, *Brotula clarkae*. These parasites are distinguished by unique morphological features. Additionally, a phylogenetic analysis based on 28S ribosomal DNA sequences supports the establishment of this new genus, shedding light on the biodiversity of these marine parasites in the Southeastern Pacific Ocean.

1. Introduction

Peru, as other Neotropical countries, harbors a rich fauna of fishes, especially a large number of bony fishes [1]. Regarding its marine ichthyology diversity, a total of 698 fish species have been reported belonging to 388 genera and 138 families [2], most of them recorded from the northern sea, being one of the richest marine ecosystems in Peru [3].

Research Paper

Cite this article: Cruces C, Chero J, Nacari LA, De Celis VR, Simões R and Luque JL (2024). Two new *Neotetraonchus* species (Dactylogyriidea, Dactylogyridae) parasitising the Peruvian sea catfish *Galeichthys peruvianus* (Siluriformes, Ariidae), including molecular data. *Journal of Helminthology*, 98, e35, 1–8. <https://doi.org/10.1017/S0022148X24000208>.

Received: 18 December 2023

Revised: 12 March 2024

Accepted: 13 March 2024

Keywords:


Monopisthocotylea; fish parasites; ariids; gill parasites; 28S rDNA; taxonomy

Corresponding author:

J.L. Luque;

Email: luqueulrj@gmail.com

Two new *Neotetraonchus* species (Dactylogyriidea, Dactylogyridae) parasitising the Peruvian sea catfish *Galeichthys peruvianus* (Siluriformes, Ariidae), including molecular data

C. Cruces^{1,2}, J. Chero², L.A. Nacari³, V.R. De Celis⁴, R. Simões⁵ and J.L. Luque⁵ 

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

²Laboratorio de Zoología de Invertebrados, Departamento Académico de Zoología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM), Av. Universitaria cruce con Av. Venezuela cuadra 34, Lima, Peru;

³Laboratorio de Ecología y Evolución de Parásitos, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta, 601 Angamos, Antofagasta, Chile; ⁴Laboratorio de Genómica y Biología Evolutiva, Instituto de Ciencias y Tecnología, Universidad Ricardo Palma (URP), Av. Alfredo Benavides 5440 Santiago de Surco, Lima, Peru and

⁵Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, Brazil

Abstract

As part of a parasitological survey, several specimens of two new monopisthocotylean species, *Neotetraonchus celsomaneui* sp. nov. and *N. peruvianus* sp. nov. (Dactylogyriidea, Dactylogyridae), were collected from the gill filaments of the Peruvian sea catfish *Galeichthys peruvianus* (Siluriformes, Ariidae) off Puerto Pizarro, Tumbes region, Peru. *Neotetraonchus celsomaneui* sp. nov. is characterised by an MCO with a T-shaped distal end and an accessory piece that is ribbed and expanded proximally with a worm-shaped termination. *Neotetraonchus peruvianus* sp. nov. is typified by its MCO, which has a sledhammer-shaped distal end and an accessory piece with a claw-shaped distal end. Additionally, *N. peruvianus* sp. nov. is characterised by its jelly fish-shaped onchium. A partial 28S rDNA sequence was obtained from *N. celsomaneui* sp. nov., and a phylogenetic analysis was conducted. This analysis revealed the phylogenetic position of *Neotetraonchus celsomaneui* sp. nov. within a clade comprising monopisthocotylean parasites of diadromous and marine ariid catfishes, including *Hamatopeduncularia* spp., *Chauhanellus* spp., *Thysanotaphor* Kritsky, Shameem, Kumari & Krishnaveni, 2012, and *Neocalceostomoides spinivaginalis* Lin, 1995. This finding brings the number of known *Neotetraonchus* species to seven and represents the first described *Neotetraonchus* species infecting marine catfishes from Peru.

Introduction

The order Siluriformes constitutes an exceptionally diverse group of fishes and stands as one of the oldest in the world (Kappas *et al.* 2016). This order encompasses the family Ariidae, comprising 42 genera and 157 species. Members of this family inhabit marine and aquatic environments across the globe (Eschmeyer 2023; Marceniuk *et al.* 2024).

To date, 78 species of monopisthocotyleans have been found to parasitise Ariidae worldwide (Soares *et al.* 2023). Among these species, 69 belong to Dactylogyridae, including representatives from genera such as *Chauhanellus* Bychowsky & Nagibina, 1969, *Hamatopeduncularia* Yamaguti, 1953, *Neotetraonchus* Bravo-Hollis, 1968, and *Susanlimocotyle* Soares, Domingues & Adriano, 2021. Additionally, there are seven species classified under the Neocalceostomatidae, encompassing genera such as *Fridericianella* Brandes, 1894, *Neocalceostoma* Tripathi, 1959, *Neocalceostomoides* Kritsky, Mizelle & Bilgees, 1978, and *Thysanotaphor* Kritsky, Shameem, Kumari, & Krishnaveni, 2012.

The Peruvian sea catfish, *Galeichthys peruvianus* Lütken, 1874 (Siluriformes: Ariidae), is a demersal fish endemic to Peru (Kulonowski 2010; Froese and Pauly 2023; Fricke *et al.* 2023) that inhabits coastal waters (Kailola and Bussing 1995; Froese and Pauly 2023). Hitherto, surveys on monogeneans from *G. peruvianus* had been restricted to one record: the dactylogyrid *Hamatopeduncularia* sp. (Iannacone and Luque 1993; Luque *et al.* 2016).

During a study on gill ectoparasites on marine fishes from Peru, two new species of *Neotetraonchus* Bravo-Hollis, 1968, *N. celsomaneui* sp. nov. and *N. peruvianus* sp. nov., were found infecting *G. peruvianus*. Herein, the new species are figured and described.

Materials and methods

Specimen collection and morphological analyses

Specimens of the Peruvian sea catfish were captured by the artisanal fishery during January 2018 and February 2019 off the coastal zone of Puerto Pizarro, Tumbes region (3°29'S, 80°24'W),