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

#### **TESE**

Taxonomia de monogenéticos (Platyhelminthes: Monogenea: Diplectanidae, Hexabothriidae, Monocotylidae) parasitos em peixes marinhos do Peru e Brasil

JHON DARLY CHERO DE LA CRUZ



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

### TAXONOMIA DE MONOGENÉTICOS (PLATYHELMINTHES: MONOGENEA: DIPLECTANIDAE, HEXABOTHRIIDAE, MONOCOTYLIDAE) PARASITOS EM PEIXES MARINHOS DO PERU E BRASIL

#### JHON DARLY CHERO DE LA CRUZ

Sob a Orientação do Professor 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.

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

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

Chero de la Cruz, Jhon Darly, 1991
C522m Monogenéticos (Platyhelminthes: Monogenea:
Diplectanidae, Hexabothriidae, Monocotylidae)
parasitos de peixes marinhos do Peru e do Brasil /
Jhon Darly Chero de la Cruz. - Lima, 2022.
95 f.: il.

Orientador: José Luis Fernando Luque Alejos. Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Biologia animal , 2022.

1. Monogenea. 2. Diplectanidae. 3. Hexabothriidae . 4. Monocotylidae . 5. Peixes marinhos . I. Luque Alejos, José Luis Fernando , 1962-, orient. II Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Biologia animal III. Título.



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



TERMO Nº 1097 / 2022 - PPGBA (12.28.01.00.00.00.42)

Nº do Protocolo: 23083.065092/2022-10

Seropédica-RJ, 19 de outubro de 2022.

#### JHON DARLY CHERO DE LA CRUZ

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Doutor(a)** no Programa de Pós Graduação em Biologia Animal, Área de Concentração em Biodiversidade Animal.

#### TESE APROVADA EM 28/09/2022

Conforme deliberação número 001/2020 da PROPPG, de 30/06/2020, tendo em vista a implementação de trabalho remoto e durante a vigência do período de suspensão das atividades acadêmicas presenciais, em virtude das medidas adotadas para reduzir a propagação da pandemia de Covid-19, nas versões finais das teses e dissertações as assinaturas originais dos membros da banca examinadora poderão ser substituídas por documento(s) com assinaturas eletrônicas. Estas devem ser feitas na própria folha de assinaturas, através do SIPAC, ou do Sistema Eletrônico de Informações (SEI) e neste caso a folha com a assinatura deve constar como anexo ao final da tese / dissertação.

JOSÉ LUIS FERNANDO LUQUE ALEJOS (Orientador)
RAQUEL DE OLIVEIRA SIMÕES
MARCELO ENRIQUE OLIVA MORENO (Universidad de Antofagasta)
CLÁUDIA PORTES SANTOS SILVA (FIOCRUZ)
FABIANO PASCHOAL DE OLIVEIRA (UFMA

(Assinado digitalmente em 21/10/2022 10:53 )
JOSE LUIS FERNANDO LUQUE ALEJOS
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
PROPPG (12.28.01.18)
Matrícula: 2242796

(Assinado digitalmente em 21/10/2022 09:51)
RAQUEL DE OLIVEIRA SIMOES
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptPA (12.28.01.00.00.00.00.55)
Matricula: 3092534

(Assinado digitalmente em 21/10/2022 08:15 ) MARCELO E. OLIVA ASSINANTE EXTERNO Passaporte: P10114219 (Assinado digitalmente em 21/10/2022 15:13 ) CLÁUDIA PORTES SANTOS SILVA ASSINANTE EXTERNO CPF: 594.361.667-53

(Assinado digitalmente em 24/10/2022 14:31 )
FABIANO PASCHOAL DE OLIVEIRA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 059.343.167-70

 $https://sipac.ufrrj.br/sipac/protocolo/documento/documento\_visualizacao.jsf?imprimir=true\&idDoc=1138573$ 

1/2

25/10/2022 16:35

https://sipac.ufrrj.br/sipac/protocolo/documento/documento\_visualizacao.jsf?imprimir=true&idDoc=1138573

Para verificar a autenticidade deste documento entre em

https://sipac.ufrrj.br/public/documentos/index.jsp informando seu número: 1097, ano: 2022, tipo: TERMO, data de emissão: 19/10/2022 e o código de verificação: d6d660c988

#### **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a minha família, em especial aos meus pais Paulina Margarita de la Cruz Lavado e Pascual Chero Sullón, que sempre foram o meu maior exemplo, e por me dar a oportunidade de estudar e acreditar no que eu faço. Aos meus irmãos Jhoner Jairo, Ivan e Celso Luis por sempre me apoiarem apesar da distância. Amo vocês!

"Importante não é ver o que ninguém nunca viu, mas sim, pensar o que ninguém nunca pensou sobre algo que todo mundo vê"

#### **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!

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

Aos colegas do Laboratório de Parasitologia General e Especializada (LAPAGE) da UNFV, Ivette Cuellar, Eva Gloria Huancachoque, Milagros Carrillo, Cynthia Rodriguez, Alexander Reyes, Stefani Infante, Edson Cacique, Rosa Dias, Erika Pajuelos e Marlyt Sanchez pela companhia e colaboração incondicional nas coletas de parasitos. Obrigado pela amizade!

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

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.

#### **RESUMO**

CHERO, JHON DARLY DE LA CRUZ. **Taxonomia de monogenéticos** (Platyhelminthes: Monogenea: Diplectanidae, Hexabothriidae, Monocotylidae) parasitos em peixes marinhos do Peru e Brasil. 2022. 95p. Tese (Doutorado em Biologia Animal). Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2022.

O presente trabalho tem como objetivo estudar a taxonomia de monogenéticos parasitos de peixes marinhos no Peru e no Brasil. Entre março de 2018 e dezembro de 2019 foram coletadas duas espécies de peixes elasmobrânquios, Hypanus dipterurus (Jordan e Gilbert, 1880) (Dasyatidae) e Pseudobatos planiceps (Garman, 1880) (Rhinobatidae), e cinco espécies de cienídeos, Cheilotrema fasciatum Tschudi, 1846, Menticirrhus elongatus (Günther, 1864), Nebris micros Cuvier, 1830, Paregues lanfeari (Barton, 1947) e Stellifer minor (Tschudi, 1846). Os peixes hospedeiros foram obtidos frescos, através de pescadores locais e imediatamente analisados para presença de parasitos. Os monogenéticos encontrados foram analisados morfologicamente através de microscopia de luz e alguns foram analisados geneticamente. No primeiro capítulo, duas espécies de monogenéticos da família Monocotylidae, Peruanocotyle chisholmae Chero, Cruces, Sáez e Luque, 2018 (Dasybatotreminae) e Heterocotyle margaritae Chero, Cruces, Sáez, Santos e Luque, 2020 (Heterocotylinae), foram descritas a partir de espécimes coletados das brânquias de H. dipterurus baseado em dados morfológicos. No segundo capítulo, dos monogenéticos da família Hexabothriidae Price, 1942 foram encontradas nas brânquias de duas espécies de peixes elasmobrânquios. A primeira espécie, Hypanocotyle bullardi Chero, Cruces, Sáez, Camargo, Santos e Luque, 2018, foi descrita de H. dipterurus e a segunda espécie Rhinobatonchocotyle pacifica Oliva & Luque, 1995 foi encontrada em P. planiceps e uma redescrição é fornecida. Para ambas as espécies de Hexabothriidae foram fornecidas as sequências dos genes 18S e 28S do rDNA. No terceiro capítulo, uma nova espécie de Loimopapillosum Hargis, 1955 foi descrita parasitando também as brânquias de H. dipterurus baseado em dados morfológicos e moleculares. A posição filogenética da nova espécie de Loimopapillosum foi investigada com base nas sequências parciais dos genes 18S e 28S do rDNA e sequências de monogenéticos obtidas do GenBank. Como resultado destas analises a família Loimoidae Price, 1936 é rejeitada e incluída como uma subfamília nos Monocotylidae. Loimopapillosum pascuali Chero, Cruces, Sáez, Oliveira, Santos & Luque, 2021 representa a primeira espécie deste gênero na América do Sul. No quarto capítulo, um novo gênero da família Diplectanidae Monticelli, 1903 é proposto e sete novas espécies são descritas das brânquias de peixes cienídeos. Além destas, é descrita a primeira espécie de Rhamnocercus no Brasil.

**Palavras-chave:** Monogenéticos, Diplectanidae, Hexabothriidae, Monocotylidae, Peixes marinhos, Taxonomia.

#### **ABSTRACT**

CHERO, JHON DARLY DE LA CRUZ. **Taxonomy of monogeneans** (**Platyhelminthes: Monogenea: Diplectanidae, Hexabothriidae, Monocotylidae**) **parasites in marine fishes from Peru**. 2022. 95p. Thesis (Ph.D. in Animal Biology). Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2022

The present work aims to study the taxonomy of monogenetic parasites of marine fish from Peru and Brazil. Between March 2018 and December 2019, two species of elasmobranch fish were collected, Hypanus dipterurus (Jordan and Gilbert, 1880) (Dasyatidae) and Pseudobatos planiceps (Garman, 1880) (Rhinobatidae), and five species of sciaenids, Cheilotrema fasciatum Tschudi, 1846, Menticirrhus elongatus (Günther, 1864), Nebris microps Cuvier, 1830, Paregues lanfeari (Barton, 1947) and Stellifer minor (Tschudi, 1846). Fish host were obtained fresh from local fishermen and immediately analyzed for the presence of parasites. The monogeneans found were analyzed morphologically through light microscopy and some specimens were genetically analyzed. In the first chapter, two species of monogeneans of the family Monocotylidae, Peruanocotyle chisholmae Chero, Cruces, Sáez and Luque, 2018 (Dasybatotreminae) and Heterocotyle margaritae Chero, Cruces, Sáez, Santos and Luque, 2020 (Heterocotylinae), were described from specimens collected from the gills of *H. dipterurus* based on morphological data. In the second chapter, two monogenean species of the family Hexabothriidae Price, 1942 were found in the gills of two species of elasmobranch fish. The first species, Hypanocotyle bullardi Chero, Cruces, Sáez, Camargo, Santos and Luque, 2018, was described from H. dipterurus and the second species Rhinobatonchocotyle pacifica Oliva & Luque, 1995 was found from P. planiceps and a redescription is provided. For both species of Hexabothriidae the sequences of the 18S and 28S rDNA genes were provided. In the third chapter, a new species of Loimopapillosum Hargis, 1955 was described also parasitizing the gills of H. dipterurus based on morphological and molecular data. The phylogenetic position of the new species of Loimopapillosum was investigated based on the partial sequences of 18S and 28S rDNA genes and sequences of other monogeneans obtained from GenBank. As a result of this analysis, the Family Loimoidae Price, 1936 is rejected and included as a subfamily in the Monocotylidae. Loimopapillosum pascuali Chero, Cruces, Sáez, Oliveira, Santos & Luque, 2021 represents the first species of this genus in South America. In the fourth chapter, a new genus from the family Diplectanidae Monticelli, 1903 is proposed and seven new species are described from the gills of sciaenid fish. In addition, the first species of Rhamnocercus in Brazil is described.

**Key words:** monogeneans, Diplectanidae, Hexabothriidae, Monocotylidae, marine fish, Taxonomy

#### LISTA DE FIGURAS

| <b>Figura 1.</b> <i>Peruanocotyle chisholmae</i> . <b>A.</b> Espécime (vista ventral do holótipo). <b>B.</b> Órg de fixação anterior. <b>C.</b> Âncora. <b>D.</b> Gancho. <b>E.</b> Órgão copulador masculino. Extremidade distal do órgão copulador masculino. ABREVIATURAS: alg; glându ântero-lateral; amg, glândula anteromedial; asp, peça esclerotizada acessória; bp, papi bucais; exb, bexiga excretora; gr, groove; op, abertura oral; pg, glându periférica   | F.<br>ula<br>las<br>ula                       |
|---|---|
| <b>Figura 2.</b> <i>Peruanocotyle chisholmae</i> . <b>A.</b> Espécime (vista ventral) mostrando os cedintestinais. <b>B.</b> Sistema reprodutivo. ABREVIATURAS: aao, órgão de fixação anteriodo, ovário distal; ded, duto ejaculatório distal; eb, bulbo ejaculatório; eg, ovo; ha, hapto isv, vesícula seminal interna; lvd, duto vitelino longitudinal; mag, glândulas acessóri masculinas; ocm, órgão copulador masculino; oo, oótipo; ovi, oviduto; ped, du ejaculatório proximal; ph, faringe; po, ovário proximal; sr, receptáculo seminal; vesícula seminal; t, testículo; tvd, duto vitelino transversal; vd, vaso deferente; ve, va eferente; vg, glândulas vaginais; vp, po vaginal.              | or;<br>or;<br>ias<br>uto<br>sv,<br>iso<br>oro |
| <b>Figura 3.</b> Heterocotyle margaritae das brânquias de Hypanus dipterurus, holótipo. espécime (vista ventral). <b>B.</b> Âncora. <b>C.</b> Gancho. <b>D.</b> Órgão copulador masculino. <b>E.</b> Ov ABREVIATURAS: eb, bulbo ejaculatório; eg, ovo; las, estruturas acessórias luniformo mag, glândulas acessórias masculinas; ocm, órgão copulador masculino; mg, glândulade Mehlis; ooi, oótipo; ov, ovário; ph, faringe; phg, glândulas faríngeas; sr, receptácu seminal; sv, vesícula seminal; te, testículo; va, vagina; vd, vaso deferente; vit, folícul vitelinos.  | vo.<br>es;<br>las<br>ılo<br>los               |
| <b>Figura 4.</b> Hypanocotyle bullardi das brânquias de Hypanus dipterurus, holótipo. Espécime inteiro (vista ventral). <b>B.</b> Escleritos da ventosa anterior do haptor. <b>C.</b> Esclerito tários médios do haptoral. <b>D.</b> Escleritos de ventosas haptorais posteriores. <b>E.</b> Âncordo apêndice   | tos   |
| <b>Figura 5.</b> Hypanocotyle bullardi das brânquias de Hypanus dipterurus, holótipo. Sistema reprodutor masculino mostrando porção distal (dp) e proximal (pp) da glânda prostática masculina (pg), porção distal (dvd) e proximal (pvd) dos vasos deferentes porção distal (dve) e proximal (pve) dos vasos eferentes. <b>B.</b> Sistema reprodutor femini mostrando poro vaginal (vp), útero (u), vagina distal (dvag), vagina proximal (pvagovário proximal (po), ovário distal (do), receptáculo seminal (sr), glândula de Meh (mg), oótipo (oo), duto vitelino comum (cvd) e canal genito-intestinal (gic). <b>C.</b> O mostrando filamento anterior (af), corpo do ovo (eb) e filamento posteri (pf) | ula<br>s e<br>no<br>g),<br>ilis<br>vo<br>ior  |
| <b>Figura 6.</b> Árvore de máxima verossimilhança de <i>Hypanocotyle bullardi</i> baseado região 18S para mostrar suas relações com outras espécies de Monogenea. Números (9 nos ramos indicam 5.000 réplicas de bootstrap. Os números de acesso do GenBank s mostrados e a barra de escala indica as mutações de nucleotídeos práctio  | %)<br>são<br>oor                              |

**Figura 7.** Árvore de máxima verossimilhança de *Hypanocotyle bullardi* baseado na região 28S para mostrar suas relações com outras espécies de Monogenea. Números (%)

| nos ramos indicam 5.000 réplicas de bootstrap. Os números de acesso do GenBank são mostrados e a barra de escala indica as mutações de nucleotídeos por sítio  |
|--|
| Figura 8. Rhinobatonchocotyle pacifica das brânquias de Pseudobatos planiceps. A. Verme inteiro (vista ventral) com vista dorsal do haptor, mostrando células glandulares pedunculadas unicelulares do esôfago (upg). B. Par de escleritos com ventosa haptoral 1. C. Par de esclerito com ventosa haptoral 2. D. Par de esclerito com ventosa haptoral 3. E. Âncoras de apêndice. F. Haptor (vista dorsal) mostrando os músculos adutores extrínsecos (eam), bulbo muscular (mb) do apêndice, placa oval muscular (mop) associada ao bulbo muscular e amortecedor muscular (mp) associado a cada complexo sugador haptoral  |
| Figura 9. Rhinobatonchocotyle pacifica das brânquias de Pseudobatos planiceps. A. Sistema reprodutivo mostrando poro vaginal (vp), útero (u), vagina distal (dvag), vagina proximal (pvag), ovário proximal (po), ovário distal (do), receptáculo seminal (sr), glândula de Mehlis (mg), oótipo (oo) e duto vitelino comum (cvd). B. Trato reprodutor masculino mostrando porção distal (dp) e proximal (pp) do órgão copulador masculino, glândulas prostáticas (pg), porção distal (dvd) e proximal (pvd) do duto deferente e vesícula seminal (sv). C. Ovário mostrando a porção descendente (dpo) e ascendente (apo) do ovário distal. D. Extremidade anterior do corpo mostrando papilas espiniformes sésseis. E. Filamento anterior do ovo (af), corpo do ovo (eb) e filamento posterior (pf). F. Órgão copulador masculino de R. cyclovaginatus Doran, 1953 (Hexabothriidae) (USNM 1346769, holótipo) |
| Figura 10. Árvore de máxima verossimilhança de <i>Rhinobatonchocotyle pacifica</i> Oliva & Luque, 1995 (Hexabothriidae) baseada na região 18S para mostrar suas relações com outras espécies de Monogenea. Números (%) nos ramos indicam 5.000 réplicas de bootstrap. Os números de acesso do GenBank são mostrados e a barra de escala indica as mutações de nucleotídeos por sítio   |
| <b>Figura 11.</b> Árvore filogenética baseada na máxima verossimilhança do gene 28S parcial para mostrar a relação de <i>Rhinobatonchocotyle pacifica</i> Oliva & Luque, 1995 (Hexabothriidae) com outras espécies de Monogenea. Números (%) nos ramos indicam 5.000 réplicas de bootstrap. Os números de acesso do GenBank são mostrados e a barra de escala indica as mutações de nucleotídeos por sítio   |
| <b>Figura 12.</b> Loimopapillosum pascuali das brânquias de Hypanus dipterurus, holotype. <b>A.</b> espécime (vista ventral). <b>B.</b> Âncora. <b>C.</b> Gancho. <b>D.</b> Órgão copulador masculino. <b>E.</b> Sistema reprodutivo. <b>F.</b> Ovo. ABREVIATURAS: eb, bulbo ejaculatório; ocm, órgão copulador masculino; ov, ovário; sr, receptáculo seminal; sv, vesícula seminal; tvd, duto vitelino transverso; te, testículo; va, vagina; vd, vaso deferente   |

| Figura 13.  | Morfologia dos ó  | órgãos cefálic   | os. A. Órgã  | los cefálicos de L.  | pascuali. B.  |
|---|---|--|--|--|---|
| •   |   |  |  | dasyatis   | •   |
| B.  | OCM   | de   | L.   | OCM). A. OCM de dasyatis   | Hargis,   |
| Figura 15. (Monocotyli relações com os valores de acesso do Ge  | Árvore filogenétic<br>dae: Loimoinae)<br>n outras espécies d<br>e bootstrap obtido<br>enBank são mostra   | ca baseada na<br>inferida por i<br>le Monocotylio<br>s a partir da p<br>ados e a barra   | região 28S<br>nferência Ba<br>dae. Os núm<br>robabilidade<br>de escala ind   | para <i>Loimopapillo</i> ayesiana (BI) para eros ao longo dos ra posterior de BI. O dica as mutações de  | esum pascuali<br>mostrar suas<br>amos indicam<br>es números de<br>e nucleotídeos                                |
| (Monocotyli<br>relações com<br>os valores de<br>acesso do Ge  | dae: Loimoinae)<br>n outras espécies d<br>e bootstrap obtido<br>enBank são mostra   | inferida por i<br>le Monocotyli<br>s a partir da p<br>ados e a barra   | nferência Ba<br>dae. Os núm<br>robabilidade<br>de escala ind   | para <i>Loimopapillo</i> ayesiana (BI) para eros ao longo dos ra posterior de BI. O dica as mutações de  | mostrar suas<br>amos indicam<br>es números de<br>nucleotídeos   |
| espécime (vi<br>ventral. <b>F.</b> B  | sta ventral). <b>B.</b> Es  | quamodisco.<br>Incho. <b>H.</b> Órgá   | C. Âncora ve<br>ão copulado:   | e Cynoscion phoxo<br>entral. <b>D.</b> Âncora do<br>masculino. ABRE  | orsal. <b>E.</b> Barra  |
| A. espécime<br>Âncora dors<br>haptorais co-<br>distal expand<br>gancho e de<br>associadas a<br>associados a<br>acessórias | (vista ventral). SM al. <b>D.</b> Barra vent m porção distal agdida (AEH). <b>I.</b> Espelicada membrana os lobos haptorais a lobos haptorais haptorais com | MR, anéis mus<br>tral. <b>E.</b> Barra<br>guda (HAA). l<br>pinhas acessón<br>a umbeliform<br>(HSL). <b>K.</b> Pec<br>s dispostos e<br>porção dista | dorsal. F. On the control of the con | quias de <i>Menticirrh</i> icirculares. <b>B.</b> Ânco Gancho. <b>G.</b> Espinhaciculares haptorai r com porção distal . Espinhas acessón de espinhos acessó e espigas (HAS). HSB). <b>M.</b> Órgã | ora ventral. C. nas aciculares s com porção l em forma de rias haptorais rios haptorais L. Espinhas o copulador |
| (vista ventra<br>Espinho peo<br>Gancho.   | l). <b>B.</b> Âncora vent<br>luncular. <b>G</b> . Espi<br><b>I</b>  | tral. C. Âncora<br>inhos acessór   | a dorsal. <b>D.</b> l<br>ios haptorais<br>Órgâ   | Pareques lanfeari.<br>Barra ventral. <b>E.</b> Ba<br>s ao nível da barr<br>ão  | arra dorsal. <b>F.</b><br>a ventral. <b>H</b> .<br>copulador  |
| ventral. <b>B.</b> Â Espinhos ace   | Ancora dorsal. C. essórios haptorais  | Barra ventral.<br>ao nível da ba   | . <b>D.</b> Barra do<br>arra ventral.  | Pareques lanfear<br>orsal. <b>E.</b> Espinho p<br><b>G</b> . Gancho. <b>H.</b> Órg   | eduncular. <b>F</b> .<br>gão copulador  |

| ventral. <b>B.</b> acessórios copulador | Rhamnocercus fasciatum de Âncora dorsal. C. Barra ve haptorais ao nível da ba           | ventral. <b>D.</b> Barra dorsal. rra ventral. <b>G</b> . Espinho masculino. | E. Gancho. F. Espinhos<br>peduncular. H. Órgão<br>I.               |
|---|---|---|--|
| <b>B.</b> Âncora                        | A Rhamnocercus micros das dorsal. C. Barra ventral. D. copulador masculino              | Barra dorsal. E. Gancho   | o. $\hat{\mathbf{F}}$ . Espinho peduncular.                        |
| Âncora do haptorais                     | Rhamnocercus rimaci das la rsal. C. Barra ventral. D. la ao nível da barra ventral.     | Barra dorsal. E. Gancho G. Espinho peduncula                                | . <b>F</b> . Espinhos acessórios<br>ar. <b>H.</b> Órgão copulador  |
| <b>B.</b> Âncora haptorais              | Rhamnocercus tantaleani d<br>dorsal. C. Barra ventral. D.<br>ao nível da barra ventral. | Barra dorsal. E. Gancho G. Espinho peduncula                                | o. <b>F</b> . Espinhos acessórios<br>ar. <b>H.</b> Órgão copulador |

#### LISTA DE TABELAS

|               | istagem das esp<br>de <i>Hypanocotyle</i>              |              | _        | 0 1          |           |          |         |
|---------------|--|--------------|----------|--------------|-----------|----------|---------|
| utilizando    | sequências   | parciais     | dos      | genes        | 18S       | e        | 28S     |
| rDNA          | •••••  |              |          |              |           |          | 35      |
| filogenéticas | ista das espécie<br>de <i>Loimopapillo</i><br>28S rDNA | sum pascuali | (Loimoin | ae) usando s | ssequênci | as parci | ais dos |

## SUMÁRIO

| INTRODUÇÃO GERAL   |
|--|
| CAPITULO 1: Monogenéticos (Monogenea: Monocotylidae) parasitos das brânquias de <i>Hypanus dipterurus</i> (Jordan & Gilbert, 1880) (Myliobatiformes: Dasyatidae) do Peru incluindo a proposta de um novo gênero e descrição de duas novas espécies   |
| CAPITULO 2: Caracterização morfológica e molecular de monogenéticos Hexabothriidae (Monogenea: Diclybothriidea) parasitos das brânquias de peixes elasmobrânquios marinhos do Peru, incluindo a proposta de um novo gênero e redescrição de <i>Rhinobatonchocotyle pacifica</i> Oliva & Luque 1995 |
| CAPITULO 3: Uma nova espécie de <i>Loimopapillosum</i> Hargis, 1955 (Monogenea Monocotylidae) parasitando <i>Hypanus dipterurus</i> (Myliobatiformes: Dasyatidae) na costa do Pacífico da América do Sul e suas relações filogenéticas   |
| <b>CAPITULO 4:</b> Diplectanídeos (Monogenea: diplectanidae) parasitos de peixes cienídeos marinhos (Perciformes: Sciaenidae) na América do Sul, com a proposta de um novo gênero e descrição de oito novas espécies   |
| CONCLUSÕES GERAIS81  |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS82   |
| ANEXOS91   |
|  |

#### INTRODUÇÃO GERAL

Membros da classe Monogenea Van Beneden, 1858 pertencem ao filo Platyhelminthes Minot, 1876 e são caracterizados principalmente pela presença de um órgão de fixação localizado no extremo posterior do corpo denominado haptor (BOEGER e KRITSKY, 2001; PAVANELLI et al., 2002). Esse aparelho de fixação é bastante complexo e apresenta geralmente estruturas esclerotizadas como âncoras, barras e ganchos marginais ou grampos e ventosas (PAVANELLI et al., 2008). O haptor apresenta uma grande variabilidade morfológica que está relacionada principalmente com o sítio de infecção. A configuração do haptor é um dos caracteres mais utilizado na sua diferenciação taxonômica (THATCHER, 2006). O corpo dos monogenéticos pode estar dividido em quatro regiões: região cefálica, tronco, pedúnculo e haptor. A região cefálica pode ser ampla ou estreita e pode apresentar ventosas, lóbulos, glândulas ou órgãos cefálicos que auxiliam na fixação do espécime ao hospedeiro durante a locomoção. No tronco, também chamada região medial, se localizam principalmente os órgãos reprodutivos (o aparelho reprodutor feminino está representado por um ovário, oviduto, oótipo, glândulas vitelínicas, útero, vagina e receptáculo seminal, enquanto o aparelho reprodutor masculino apresenta um ou numerosos testículos, conduto eferente, conduto deferente, a vesícula seminal, glândulas prostáticas e o complexo cupulatório que pode ser muscular ou esclerotizado). O pedúnculo pode ser bem desenvolvido ou estar ausente, com ou sem espinhos. Na região posterior se localiza o haptor (MENDOZA-FRANCO, 2009).

Os monogenéticos são um grupo altamente diversificado e pelo geral são ectoparasitos que infectam a superfície externa (pele e nadadeiras) e brânquias de peixes marinhos e de água doce (BOEGER e KRITSKY, 2001), entretanto, existem algumas espécies, principalmente os membros da família Polystomatidae Gamble, 1896, que infetam os órgãos internos (cloaca ou bexiga urinária) de outros vertebrados como anfíbios e répteis aquáticos (DU PREEZ et al., 2002) e outras poucas espécies podem utilizar invertebrados (copépodes e cefalópodes) como hospedeiros (LLEWELLYN, 1984; ROUMBEDAKIS et al., 2018). Até existe uma espécie, *Oculotrema hippopotami* Stunkard, 1924, que foi descrita parasitando a cavidade ocular dos hipopótamos (BOEGER e VIANNA, 2006).

Os monogenéticos apresentam um ciclo de vida direto (monoxênico), o que significa que não é necessário nenhum hospedeiro intermediário para a reprodução do parasito (PAVANELLI et al., 2013). As formas adultas são hermafroditas, cada organismo apresenta estruturas reprodutivas masculinas e femininas. Porém, são insuficientes e precisam de dois indivíduos para executar a fecundação. Pelo geral, produzem ovos (monogenéticos ovíparos) de onde emerge uma larva ciliada de vida livre chamada oncomiracídio (BUCHMANN e LINDESSTROM, 2002). Os ovos muitas vezes têm apêndices ou filamentos polares que são usados para manter a flutuabilidade na coluna de água ou permitem que sejam facilmente presos na mucosidade produzida pelo hospedeiro ou outro material orgânico. A maturação dos ovos depende principalmente da temperatura da água, por exemplo, temperaturas elevadas permitem concluir o ciclo de vida em poucos dias, mas em baixas temperaturas o tempo de geração pode ser estendido para cinco ou seis meses. Os oncomiracídios são transportados ao novo hospedeiro pelas correntes de água ou por seu próprio movimento (BUCHMANN e LINDESSTROM, 2002). Assim que as larvas encontram um hospedeiro, elas rastejam na superfície do corpo até chegar para o seu sítio de infecção onde amadurecem até a etapa adulta. Em contraste, as formas vivíparas (Gyrodactylidae) produzem juvenis totalmente equipados com ganchos para fixar-se imediatamente ao hospedeiro. Os juvenis nascem morfologicamente iguais aos adultos e carregam várias gerações de embriões em desenvolvimento (poliembrionia sequencial), capacidade que pode contribuir em explosões populacionais nos sistemas de aquicultura, resultando em doenças clínicas (BAKKE et al., 2007; ANTONELLI et al., 2010).

Os monogenéticos apresentam uma elevada especificidade ao seu hospedeiro em diferentes níveis, por exemplo em nível de espécie, gênero ou família (WHITTINGTON et al., 2000). Essa especificidade também está vinculada com o sítio de infecção ou microhabitat porque muitas espécies de monogenéticos têm preferência por determinados arcos branquiais e por uma determinada posição nos filamentos branquiais, evitando assim a competição interespecífica (DRAGO e NÚÑEZ, 2017).

Tradicionalmente, a Classe Monogenea é dividida em duas subclasses, Monopisthocotylea e Polyopisthocotylea, porém de acordo com BOEGER e KRITSKY (2001), o nome da classe é Monogenoidea e está dividida nas subclasses Polyonchoinea e Heteronchoinea. Os membros da subclasse Monopisthocotylea apresentam em geral um haptor arredondado com âncoras unidas por barras transversais e pequenos ganchos marginais. Se alimentam principalmente de células epiteliais e muco causando danos importantes aos hospedeiros (EIRAS et al., 2010). Já os membros da subclasse Polyopisthocotylea apresentam um haptor geralmente pedunculado e contendo múltiplas unidades de fixação como ventosas, pinças e ganchos e se alimentam principalmente do sangue dos seus hospedeiros (EIRAS et al., 2010). Dentre os monogenéticos, existem mais de 50 famílias de monogenéticos distribuídas em 9 ordens (5 em Monopysthocotylea e 4 em Polyopisthocotylea) (BOEGER e KRITSKY, 1993). As famílias Gyrodactylidae Cobbold, 1864 e Dactylogyridae Bychowsky, 1933 são as mais diversas (CRIBB et al., 2002).

O presente trabalho teve como objetivo principal estudar a biodiversidade dos monogenéticos (Diplectanidae, Hexabothriidae e Monocotylidae) parasitos de peixes condricthyes e osteichthyes marinhos da costa do Peru e Brasil, através da análise taxonômica morfológica e molecular das espécies encontradas. Como consequência, o trabalho apresentou os seguintes objetivos secundários: (i) descrever novas espécies e propor novos gêneros; (ii) fornecer novos dados morfológicos quando espécies conhecidas foram estudadas (redescrição).

Para tanto, esta tese encontra-se dividida em quatro capítulos de acordo com o grupo de monogenéticos estudado. No primeiro capítulo, duas espécies de monogenéticos da família Monocotylidae foram descritas baseadas em dados morfológicos. No segundo capítulo, foram estudados monogenéticos da família Hexabothriidae, fornecendo sequências dos genes 18S e 28S do rDNA. No terceiro capítulo, uma nova espécie de *Loimopapillosum* Hargis, 1955 foi descrita baseada em dados morfológicos e moleculares. No quarto capítulo, um novo gênero da família Diplectanidae Monticelli, 1903 é proposto e sete novas espécies são descritas das brânquias de peixes cienídeos.

#### CAPÍTULO I

Monogenéticos (Monogenea: Monocotylidae) parasitos das brânquias de *Hypanus dipterurus* (Jordan & Gilbert, 1880) (Myliobatiformes: Dasyatidae) do Peru, incluindo a proposta de um novo gênero e descrição de duas novas espécies<sup>1</sup>

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Artigos publicados: Chero, J.D.; Cruces, C.L.; Sáez, G.; Luque, J.L. A new genus and species of the Dasybatotreminae Bychowsky, 1957 (Monogenea: Monocotylidae), parasitic on *Hypanus dipterurus* (Jordan & Gilbert) (Myliobatiformes: Dasyatidae) in the Southeastern Pacific Ocean off Peru. **Zootaxa**, v. 4527, pp. 347–356, 2018a, doi: 10.11646/zootaxa.4527.3.4 (ANEXO I).

Chero, J.D.; Cruces, C.L.; Sáez, G.; Portes Santos, C.; Luque J.L. A new species of *Heterocotyle* (Monogenea: Monocotylidae), a gill parasite of the diamond stingray *Hypanus dipterurus* (Myliobatiformes: Dasyatidae) from the Peruvian coastal zone. **Acta Parasitologica**, v. 65, pp. 474–481, 2020, doi: 10.2478/s11686-020-00183-5 (ANEXO I).

#### 1. INTRODUÇÃO

A família Dasyatidae (Myliobatiformes) inclui peixes comumente conhecidos como arraias, que ocorrem nos oceanos Atlântico, Índico e Pacífico (FROESE e PAULY, 2018). Eles representam o grupo mais diverso dentro da ordem Miliobatiformes com cerca de 100 espécies atribuídas a 19 gêneros aceitos (LAST et al., 2016). Os membros da família Dasyatidae incluem principalmente espécies marinhas, embora algumas espécies habitem água salobra ou doce (JONNA, 2003). Três espécies de dasiátides marinhos foram relatadas no Oceano Pacífico da América do Sul: *Hypanus dipterurus* (Jordan & Gilbert, 1880), *H. longus* (Garman, 1880) e *Pteroplatytrygon violacea* (Bonaparte, 1832) (FROESE e PAULY, 2018). Destas espécies, apenas *H. dipterurus* possui dados disponíveis sobre seus parasitos de peixes e apenas duas espécies monogenéticas foram obtidas deste hospedeiro capturado no Peru (CHERO et al. 2016).

Membros dos Monocotylidae Taschenberg, 1879 (Monogenea) infectam a pele, brânquias, tecidos nasais, cloaca, reto, glândula retal e parede interna da cavidade corporal de peixes cartilaginosos marinhos e de água doce (CHISHOLM e WHITTINGTON, 1998; CHISHOLM et al., 2001; CHISHOLM e WHITTINGTON, 2001; PULIDO-FLORES et al., 2015; KRITSKY et al., 2017). Os Monocotylidae tem sido o foco de vários trabalhos de revisão, incluindo revisões associadas à análise cladística usando dados morfológicos (CHISHOLM et al. 1995) e moleculares (CHISHOLM et al., 2001). Atualmente, os Monocotylidae contêm mais de 150 espécies atribuídas a 28 gêneros, com *Electrocotyle* Vaughan, Chisholm & Hansen, 2016 sendo o único gênero proposto nos últimos anos (VAUGHAN et al., 2016). Três espécies de monocotilídeos foram descritas a partir de dasiátides na América do Sul, Heterocotyle sulamericana Santos, Santos, Cunha & Chisholm, 2012 e Monocotyle guttatae Santos, Santos & Gibson, 2006 de Hypanus guttata (Bloch & Schneider) (= Dasyatis guttata) no Brasil e Monocotyle luquei Chero, Cruces, Iannacone, Sanchez, Minaya, Sáez & Alvariño, 2016 de H. dipterurus (= Dasyatis dipterurus) no Peru (COHEN et al., 2013; CHERO et al., 2016; KOHN et al., 2016).

Durante um levantamento parasitológico de peixes marinhos peruanos, realizado de junho de 2015 a novembro de 2018, espécimes de um monogenético não descrito, representando uma nova espécie e gênero de Dasybatotreminae Bychowsky, 1957, foram encontrados nos filamentos brânquiais de *H. dipterurus* capturados perto da região central do Peru. Além disso, outros espécimes de monogenéticos do gênero *Heterocotyle* Scott, 1904 (Heterocotylinae), representando uma nova espécie, foram encontrados também nas brânquias de *H. dipterurus*. A descrição do novo gênero e as duas espécies é fornecida aqui, e a subfamília Dasybatotreminae é emendada para acomodar ao novo gênero.

#### 2. MATERIAL E MÉTODOS

As arraias foram coletadas de junho de 2015 até novembro de 2018 na costa da região do Callao (12°5'S, 78°11'W) e na zona costeira de Chorrillos, região Lima (12°09'S, 77°01'W), usando tarrafas e redes de pesca artesanal. Os peixes foram sacrificados imediatamente após a captura e dissecados. As brânquias foram retiradas dos peixes, colocadas em placas com água do mar e examinadas para procurar monogenéticos com o auxílio de um estereomicroscópio. Os monogenéticos foram coletados vivos, lavados em água do mar, fixados em formalina quente a 4% sob uma leve pressão entre lâmina e lamínula. Os monogenéticos encontrados foram corados com carmim ou tricrômico de Gomori, clarificados com eugenol (óleo de cravo) e montados com bálsamo do Canadá para estudo dos órgãos internos. Alguns espécimes foram montados diretamente em meio Gray e Wess para estudo de estruturas esclerotizadas (HUMASON, 1979). Os desenhos foram feitos com o auxílio de um microscópio Olympus BX53 (Olympus Corporation, Tokyo, Japan) equipado com um tubo de desenho e redesenhados no programa CorelDraw Graphics Suite 2018. As medidas foram feitas em micrômetros, exceto quando indicado, e representam distâncias em linha reta entre os pontos extremos e são expressas como a amplitude seguida da média e o número (n) de indivíduos medidos em parênteses; o comprimento do corpo inclui o haptor. Os nomes científicos, incluindo autoridades taxonômicas e datas, para peixes seguem ESCHMEYER et al. (2018). Nomenclatura e classificação de Myliobatiformes, Dasyatidae e Hypanus spp. segue LAST et al. (2016). Os termos anatômicos para monocotilídeos seguem CHISHOLM et al. (1995), KRITSKY et al. (2017) e PODDUBNAYA et al. (2018). A prevalência e a intensidade média da infecção foram calculadas de acordo com BUSH et al. (1997).

Para fins comparativos, foram examinados os seguintes espécimes depositados na Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil (CHIOC) e na Coleção Helmintológica do Museu de História Natural da Universidade San Marcos (MUSM), Peru: *H. sulamericana* (CHIOC 37551, holótipo); *M. guttatae* (CHIOC 36577, holótipo); *M. luquei* (MUSM 3245, holótipo) e *Potamotrygonocotyle chisholmae* Domingues & Marques, 2007 (CHIOC 36699, parátipo). Imagens de alta resolução do haptor de *Dendromonocotyle cortesi* Bravo, 1969 (CNHE 149, holótipo) e *Spinuris mexicana* Bravo, 1969 (CNHE 151, holótipo) da Coleção Nacional de Helmintos, Instituto de Biologia, Universidade Nacional Autônoma do México (CNHE), México disponível em http://unibio.unam.mx também foram examinadas. O material tipo foi depositado na CHIOC e na MUSM.

#### 3. RESULTADOS

Ordem Monocotylidea Lebedev, 1988 Família Monocotylidae Taschenberg, 1879

Subfamília Dasybatotreminae Bychowsky, 1957

**Diagnose emendada**: Haptor com um lóculo central e sete ou oito lóculos periféricos. Membrana marginal presente. Âncoras presentes; raiz profunda alongada, mais da metade do comprimento dos septos radiais ou muito mais curta do que a largura da membrana marginal; raiz superficial bem desenvolvida ou reduzida. Ganchos distribuídos na membrana marginal. Papilas haptorais marginais presentes ou ausentes. Escleritos papilares, escleritos septais, cristas septais sinuosas, protuberâncias haptorais não

esclerotizadas dorsais e escleritos haptorais acessórios dorsais ausentes. Numerosas aberturas de dutos da glândula anterior presentes. Manchas oculares presentes ou ausentes. Cecos intestinais sem divertículos ou com divertículos laterais e mediais grandes, não confluentes posteriormente. Órgão copulador masculino esclerotizado. Peça acessória presente ou ausente. Filamento acessório presente ou ausente. Poro genital comum desarmado. Um testículo ou quatro. Bulbo ejaculatório com vesícula seminal interna bipartida (= câmara interna esférica) presente ou ausente. Ovário enlaçando ou não o ceco intestinal direito; porção proximal do ovário com lóbulos clavados ou não; porção distal do ovário sinuosa, fortemente enrolada ou reta. Vagina única, parede vaginal esclerotizada ou não; poro vaginal desarmado. Parasitos de brânquias de dasiátides, glaucostegídeos, rajídeos e rinobatídeos.

Gênero tipo: Dasybatotrema Price, 1938.

**Outros gêneros:** *Anoplocotyloides* Young, 1967; *Mehracotyle* Neifar, Euzet & Ben Hassine, 2002; *Peruanocotyle* Chero, Cruces, Sáez & Luque, 2018; *Timofeevia* Chisholm, Wheeler & Beverley-Burton, 1995.

#### Peruanocotyle Chero, Cruces, Sáez & Luque, 2018

Diagnose: Monocotylidae. Dasybatotreminae. Corpo compreendendo o corpo propriamente dito (região cefálica e tronco) e haptor. Órgão de fixação anterior bem desenvolvido, de forma ovóide, com sulcos oblíquos, uma depressão ântero-medial e numerosas aberturas ductuais das glândulas anteriores. Três glândulas anteriores proeminentes (uma medial e duas laterais) contendo secreção granular presente. Numerosas glândulas periféricas começando nas glândulas anteriores, circundando a abertura oral. Ausência de manchas ocelares. Boca rodeada por numerosas pequenas papilas. Cecos intestinais com grandes divertículos lateral e medial, divertículos estendendo-se da extremidade anterior à posterior do corpo propriamente dito, não confluentes posteriormente. Tronco panduriforme. Haptor com um lóculo central e oito lóculos periféricos. Membrana marginal presente. Papilas haptorais marginais, escleritos papilares, escleritos septais, crista septal esclerotizada sinuosa, protuberâncias haptorais dorsais não esclerotizadas e escleritos haptorais dorsais acessórios ausentes. Âncoras presentes, muito mais curtas que a largura da membrana marginal, com raiz profunda alongada e raiz superficial não reduzida. Peça acessória esclerotizada na âncora presente. Sete pares de ganchos semelhantes distribuídos na membrana marginal. Quatro testículos dispostos em dois grupos de dois. Duto ejaculatório com paredes levemente esclerotizadas, possuindo porção proximal (entrecruzada) e distal (altamente convoluta). Bulbo ejaculatório bem desenvolvido, altamente musculoso, com uma vesícula seminal interna bipartida (= câmara interna esférica); porção distal do bulbo ejaculatório com numerosas glândulas acessórias masculinas. Órgão copulador masculino (OCM) esclerotizado, compreendendo quatro tubos conados (um tubo mais ou menos ligado paralelamente a outros tubos). Peça acessória presente. Filamento acessório ausente. Ovário enlaçando o ceco intestinal direito, com porções proximal e distal; ovário proximal com seis lobos clavados; ovário distal semelhante a um tubo, fortemente enrolado. Vagina única, parede vaginal esclerotizada; poro vaginal desarmado. Poro genital comum desarmado. Parasitos de brânquias de dasiátides.

Espécie tipo: Peruanocotyle chisholmae.

Etimologia: O nome do gênero se refere ao país onde os espécimes foram encontrados.

#### **Comentários:**

Conforme afirmado por CHISHOLM et al. (2001), os Monocotylidae incluem 7 subfamílias reconhecidas com espécies que parasitam exclusivamente peixes cartilaginosos marinhos e de água doce: Calicotylinae Monticelli, Dasybatotreminae; Decacotylinae Chisholm, Wheelerv & Beverley-Burton, 1995; Euzetiinae Chisholm & Whittington, 2001; Heterocotylinae Chisholm, Wheeler & Beverley-Burton, 1995; Merizocotylinae Johnston & Tiegs, 1922 e Monocotylinae Taschenberg, 1879. O novo gênero é colocado em Dasybatotreminae por ter um órgão de fixação anterior com numerosas aberturas dutuais das glândulas anteriores e uma raiz profunda alongada nas âncoras (CHISHOLM et al., 2001). A subfamília atualmente inclui quatro gêneros parasitando elasmobrânquios marinhos: Anoplocotyloides Young, 1967; Dasybatotrema Price, 1938; Mehracotyle Neifar, Euzet & Ben Hassine, 2002 e Timofeevia Chisholm, Wheeler & Beverley-Burton, 1995 (CHISHOLM et al., 2001, NEIFAR et al., 2002). *Peruanocotyle* pode ser facilmente distinguido dos outros gêneros de Dasybatotreminae pela morfologia da região cefálica, que é única na subfamília por possuir um órgão de fixação anterior de formato oval amplo, com numerosos sulcos e uma depressão ântero-medial e por ter as âncoras muito mais curtas do que a largura da membrana marginal. Além disso, *Peruanocotyle* pode ser diferenciado de todas as outras espécies de Dasybatotreminae por terem três glândulas anteriores proeminentes, que se originam de numerosas glândulas periféricas que circundam a abertura oral e pela morfologia do órgão copulador masculino, que compreende quatro tubos conados. Além disso, Peruanocotyle também difere de todos os gêneros previamente descritos na subfamília pela seguinte combinação de caracteres: haptor com um lóculo central e oito lóculos periféricos; ovário com porções proximais (com seis lóbulos clavados) e distais (fortemente enroladas); duto ejaculatório com paredes levemente esclerotizadas, tendo a porção proximal (entrecruzada) e distal (muito convoluta); bulbo ejaculatório com uma vesícula seminal interna bipartida; âncora com peça acessória esclerotizada; cecos intestinais com grandes divertículos laterais e mediais; abertura oral rodeada por numerosas pequenas papilas; e quatro testículos ovais.

# *Peruanocotyle chisholmae* Chero, Cruces, Sáez & Luque, 2018 (Figuras 1A-F)

Descrição: Com base em 1 espécime montado em meio Gray e Wess e 3 espécimes aplainados sob leve pressão e corados com carmim. Corpo com 7.13-7.65 (n = 3) mm de comprimento, 2,08-2,27 (n = 3) mm de largura ao nível do terço posterior do tronco, ligeiramente contraído ao nível dos testículos (Figura 1A). Tegumento liso. Haptor em forma de roda (Figura 1A), 1,49-1,78 (n = 3) mm de comprimento, 1,38-1,94 (n = 3) mm de largura, com um lóculo central e oito lóculos periféricos; membrana marginal delicada, uniforme, 106-122 (n = 3) de largura. Âncora 32-63 (n = 4) de comprimento, associada a septos póstero-laterais, com raízes profundas e superficiais distintas; raiz profunda alongada, com pequenas protuberâncias distalmente; raiz superficial arredondada e espessa; lâmina levemente curvada e ponta recurvada, ponta atingindo o nível da ponta da raiz superficial (Figura 1C). Quatorze ganchos semelhantes, 14-15 (n = 8) de comprimento, distribuídos na membrana marginal conforme ilustrado (Fig. 1A), cada um com ponta curta e curva, polegar protuberante e lâmina uniforme com ponta proximal curva; laço filamentoso do gancho (FH) estendendo-se até próximo ao nível da extremidade proximal da lâmina (Figura 1D). Órgão de fixação anterior bem desenvolvido, amplamente oval, 1,36–1,57 (n = 3) mm de comprimento, 1,70–1,84 (n =

3) mm de largura, com 79–91 sulcos oblíquos e uma depressão ântero-medial (Figura 2A). Três glândulas anteriores, uma medial (amg) e duas laterais (alg), bem desenvolvidas e de formato irregular (fig. 2). Glândulas periféricas (pg) circundando a abertura oral, em número de 18 a 20 (Fig. 2). Ausência de manchas oculares. Boca ventral, subterminal, rodeada por numerosas papilas em forma de cúpula (Fig. 2), cada papila com 25-27 (n = 3) de comprimento. Faringe muscular, subquadrangular, com células glandulares circundando a porção posterior, 479–587 (n = 3) longa, 555–611 (n = 3) de largura, com 10-11 pacotes musculares transversais; esôfago curto a indistinto. Bifurcação intestinal anterior à abertura genital comum; cecos intestinais com grandes divertículos lateral e medial, estendendo-se da extremidade anterior à posterior do corpo propriamente dito, alguns divertículos circundam parcialmente os testículos, não confluentes posteriormente (Figs. 1A, 2A). Poro genital comum desarmado. Testículos ovais, 4 em número, 536–785 (n = 12) de comprimento, 335–472 (n = 12) de largura, dispostos em dois grupos limitados ao campo intercaecal, bem separados da extremidade posterior do corpo (Figs. 1A, 2B). Vaso deferente altamente convoluto, corre anteriormente dorsal à vagina, estreitando-se e curvando-se antes de se juntar à vesícula seminal (Figs. 1A, 2B). A vesícula seminal quase fusiforme, situada sinistrolateral à porção distal do oötipo, continua como um duto sinuoso, curva-se dorsal ao bulbo ejaculatório para o lado direito do corpo e vai até a base do bulbo ejaculatório, onde entra e forma uma vesícula seminal interna. Vesícula seminal interna bipartida (Fig. 2B). Duto ejaculatório, que surge da vesícula seminal interna, possui paredes levemente esclerotizadas, com porção proximal e distal; porção proximal cruzada; porção distal altamente convoluta (Fig. 2B). Bulbo ejaculatório bem desenvolvido, altamente musculoso, oval, 362-371 (n = 3) de comprimento, 217-265 (n = 3) largura, ântero-medial a oótipo; porção distal do bulbo ejaculatório com numerosas glândulas acessórias masculinas (Fig. 2B). Órgão copulador masculino esclerotizado, em forma de chicote, 1,18-1,20 (n = 2) mm de comprimento, compreendendo quatro tubos; extremidade distal do OCM terminando em quatro extensões entrelaçadas, duas delas armadas com 14-15 espinhos finos (Figs. 1E-F). Peça acessória esclerotizada, em forma de T invertido (Fig. 1E), 110-115 (n = 2) de comprimento. Ovário posicionado anterodextral ao campo testicular, 701-868 (n = 3) de comprimento, 760-836 (n = 3) largura, com porções proximal e distal; ovário proximal com seis lobos clavados, cada um com 103-154 (n = 8) de comprimento, 111-150 (n = 8) de largura, ventral e ligeiramente posterior à porção distal do ovário; ovário distal em forma de tubo, fortemente enrolado, estreita-se para formar um oviduto curto (Fig. 2B). Ootipo 318–410 (n = 2) de comprimento, 240–290 (n = 2) de largura, extremidade proximal ligeiramente sinuosa (Fig. 2B). Poro vaginal desarmado, rodeado por numerosas células glandulares densamente agrupadas, abrindo-se ventralmente no lado esquerdo, 2,31-2,46 (n = 3) mm da extremidade anterior. Vagina fracamente esclerotizada, em forma de funil, situada obliquamente no lado esquerdo do corpo anterior ao ovário; células da glândula circundando ao longo de todo o seu comprimento; porção proximal da vagina conectada ao receptáculo seminal oval por um duto estreito (Fig. 2B); receptáculo seminal 117-137 (n = 2) de comprimento, 73–82 (n = 2) de largura. Folículos vitelinos densos, estendendose do nível pré-faríngeo à extremidade posterior do tronco, ausentes nas regiões dos órgãos reprodutivos, campos laterais dos folículos confluentes posteriormente aos testículos (Fig. 1A). Vesículas excretoras paralelas, estendendo-se da região faríngea até o nível da bifurcação intestinal (Fig. 1A). Ovo tetraédrico (embora distorcido) observado no oótipo.

#### Resenha taxonômica

Hospedeiro tipo: Hypanus dipterurus (Jordan & Gilbert, 1880) (Myliobatiformes:

Dasyatidae), arraia diamante. **Sitio de infecção:** Brânquias.

**Localidade tipo:** Callao, Lima, Peru (12 ° 5'S, 78 ° 11'W), América do Sul. **Prevalência:** 2 de 8 hospedeiros infectados (25%) com um total de 4 vermes.

**Intensidade média de infecção:** 2 monogenéticos por hospedeiro infectado (intervalo de

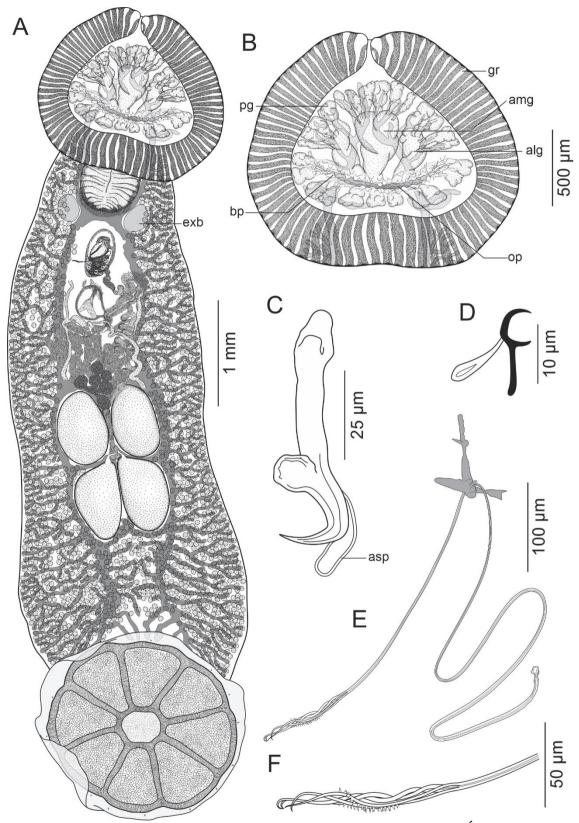
1–3).

Material tipo: Holótipo, CHIOC 39080a; 3 parátipos, CHIOC 39080b-d.

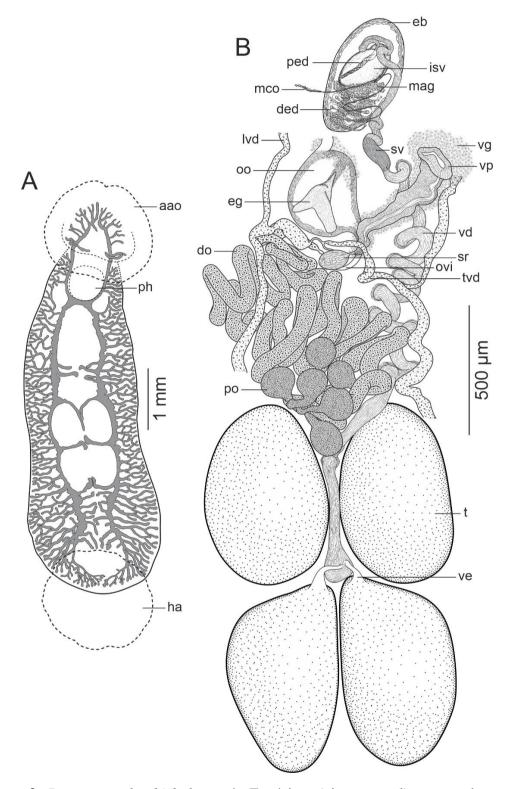
**Etimologia:** A espécie recebeu esse nome em homenagem à Dra. Leslie Chisholm (Museu da Austrália do Sul, Austrália) por sua contribuição para a sistemática dos Monocotylidae.

#### **Comentários:**

Peruanocotyle chisholmae é a espécie-tipo do gênero. A nova espécie é caracterizada por possuir um órgão copulador masculino em forma de chicote, terminando em quatro extensões entrelaçadas, duas delas armadas com finos espinhos.



**Figura 1.** *Peruanocotyle chisholmae*. **A.** Espécime i (vista ventral). **B.** Órgão de fixação anterior. **C.** Âncora. **D.** Gancho. **E.** Órgão copulador masculino. **F.** Extremidade distal do órgão copulador masculino. ABREVIATURAS: alg; glândula ântero-lateral; amg, glândula anteromedial; asp, peça esclerotizada acessória; bp, papilas bucais; exb, bexiga excretora; gr, sulco; op, abertura oral; pg, glândula periférica.



**Figura 2.** *Peruanocotyle chisholmae*. **A.** Espécime (vista ventral) mostrando os cecos intestinais. **B.** Sistema reprodutivo. ABREVIATURAS: aao, órgão de fixação anterior; do, ovário distal; ded, duto ejaculatório distal; eb, bulbo ejaculatório; eg, ovo; ha, haptor; isv, vesícula seminal interna; lvd, duto vitelino longitudinal; mag, glândulas acessórias masculinas; ocm, órgão copulador masculino; oo, oótipo; ovi, oviduto; ped, duto ejaculatório proximal; ph, faringe; po, ovário proximal; sr, receptáculo seminal; sv, vesícula seminal; t, testículo; tvd, duto vitelino transversal; vd, vaso deferente; ve, vaso eferente; vg, glândulas vaginais; vp, poro vaginal.

#### Heterocotylinae Chisholm, Wheeler & Beverley-Burton, 1995

*Heterocotyle margaritae* Chero, Cruces, Sáez, Santos & Luque, 2020 (Figura 3A-E)

**Descrição.** Baseado em 14 espécimes adultos. Corpo 0.57–1,24 (0.83; n = 14) mm de comprimento, 161-364 (258; n = 14) de largura geralmente ao nível do bulbo ejaculatório, ligeiramente constrito ao nível da faringe. Tegumento liso. Haptor amplamente elipsóide 184–377 (261; n = 11) de comprimento, 280-542 (358; n = 11) amplo, com um lóculo central e oito periféricos; lóculos posteriores ligeiramente maiores que os anteriores (Fig. 1A). Cristas sinuosas do haptor com configuração 1/2/3: simples no anel interno e externo e três septos posteriores, dupla nos dois septos radiais laterais e tripla nos três septos radiais anteriores; membrana marginal delicada, uniforme, 19-32 (26; n = 5) de largura (Fig. 1A). Superfície dorsal do haptor com quatro estruturas acessórias, luniforme, esclerotizado, estriado na borde anterior com extremidades laterais dobradas em torno da região adjacente (Fig. 1A). Âncora 40-43 (41; n = 12) de comprimento, associada com septos posterolaterais, com raízes profundas e superficiais distintas; raiz profunda alongada e estreita; raiz superficial espessa; eixo levemente curvado e ponta recurvada, ponta estendendo-se além da ponta da raiz superficial (Fig. 1B). Quatorze ganchos semelhantes, 9-10 (9; n = 5) de comprimento, distribuídos na membrana marginal conforme ilustrado (Fig. 1A), cada um com ponta curta e curva, polegar saliente, eixo dilatado e haste uniforme e estreita; alça de gancho filamentoso (FH) estendendo-se até próximo ao nível da extremidade proximal do eixo (Fig. 1C). Manchas oculares em forma de grânulos de pigmento dispersos distribuídos em duas áreas (Fig. 1A), um par de grânulos dispersos póstero-lateral à abertura oral e grânulos frouxamente concentrados ao nível da extremidade anterior da faringe. Boca ventral, subterminal, circundada por pseudoventosa muscular. Glândulas anteriores não observadas. Faringe muscular, em forma de barril, 73-131 (105; n = 9) longa, 57-124 (88; n = 9) larga, compreendendo parte anterior curta circundada por esfíncter fraco e parte posterior longa; glândulas faríngeas proeminentes em ambos os lados da faringe; esôfago curto a indistinto. Bifurcação intestinal anterior à abertura genital comum; cecos intestinais não ramificados, estendendo-se da extremidade anterior à posterior do corpo próprio, não confluentes posteriormente (Fig. 1A). Abertura genital comum desarmada. Testículo quase reniforme, limitado ao campo intercecal. Vaso deferente originando-se da margem anterior esquerda do testículo, correndo anteriormente dorsal à vagina; alargando para formar vesícula seminal. A vesícula seminal é alongada, sinistra ao bulbo ejaculatório, continua como um duto estreito e se enrola dorsalmente para entrar na base do bulbo ejaculatório com numerosas glândulas acessórias. Bulbo ejaculatório bem desenvolvido, altamente musculoso, panduriforme, 102-219 (174; n = 6) de comprimento, 41-129 (86; n = 6) largura, anteromedial ao oótipo; a região anterior estreita-se para encontrar a região proximal do órgão copulatório masculino (OCM). Órgão copulador masculino 73-80 (76; n = 11) de comprimento, esclerotizado, em forma de funil, espatulado distalmente com pregas laterais (Fig. 1D). Peça acessória esclerotizada, em forma de bastão, 41–45 (43; n = 4) de comprimento, origina-se da região proximal do OCM (Fig. 1D). Ovário alongado, dextrolateral ao testículo, circunda o ceco intestinal direito dorsoventralmente e se estreita para formar o oviduto, que recebe o receptáculo seminal e os dutos vitelinos. Oótipo 163–185 (173; n = 4) de comprimento, 61–68 (64; n = 2) de largura, em forma de taça, extremidade proximal ligeiramente sinuosa (Fig. 1A). Vagina esclerotizada, em forma de saco, deitada obliquamente no lado esquerdo do corpo anterior ao ovário; porção proximal da vagina conectada a pequeno

receptáculo seminal estreitamente ovalado por um duto fino (Fig. 1A); receptáculo seminal 27–44 (36; n = 3) de comprimento, 16–22 (18; n = 3) de largura. Folículos vitelinos densos, estendendo-se desde o nível faríngeo até a extremidade posterior do tronco, ausentes nas regiões dos órgãos reprodutores (Fig. 1A). Poro vaginal desarmado, abrindo ventralmente no lado esquerdo, 230–447 (348; n = 5) mm da extremidade anterior. Ovo tetraédrico 74–89 (79; n = 3) de comprimento, 73–87 (79; n = 3) largura, filamento único 163–253 (200; n = 3) de comprimento, com um pequeno botão 6–7 (6; n = 3) de comprimento na extremidade distal.

#### Resenha taxonômico

**Hospedeiro tipo:** *Hypanus dipterurus* (Jordan & Gilbert, 1880) (Myliobatiformes: Dasyatidae), arraia diamante.

Sitio de infecção: filamentos brânquiais.

**Localidade tipo:** Chorrillos, Lima, Peru, Oceano Pacífico Sul (12°09'S, 77°01'W).

Prevalência: 2 de 3 hospedeiros infectados (67%) com um total de 14 parasitos.

**Intensidade média de infecção:** 7 monogenéticos por hospedeiro infectado (intervalo de 5 a 9).

**Material tipo:** Holotype, MUSM 4436; 9 parátipos, MUSM 4437a-i; 4 parátipos, CHIOC 39264a-d.

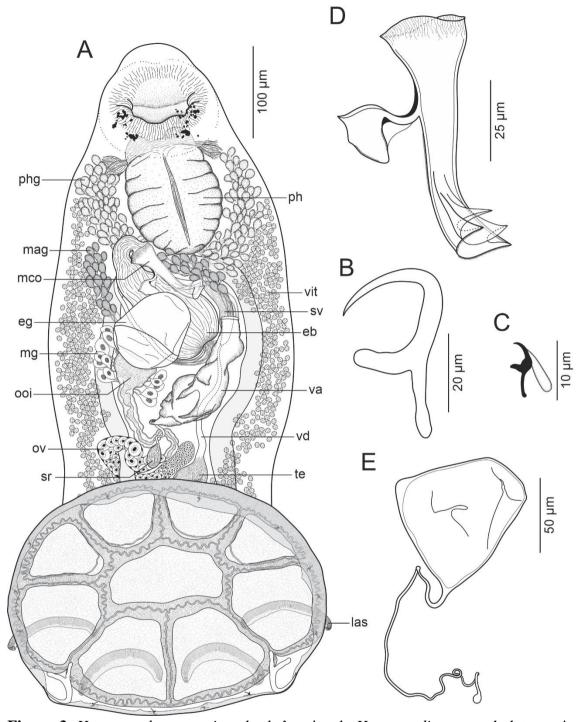
**Etimologia:** A nova espécie leva o nome em homenagem a Paulina Margarita de la Cruz Lavado, mãe do primeiro autor.

#### Comentários:

Os espécimes recém-coletados de *H. dipterurus* são atribuídos a *Heterocotyle* por terem um haptor com um lóculo central e oito lóculos periféricos, tendo uma única ou múltiplas cristas sinuosas na superfície ventral dos septos haptorais e quatro estruturas acessórias na superfície dorsal do haptor (CHISHOLM, 1995; CHISHOLM e WHITTINGTON, 1995).

Heterocotyle margaritae difere de H. armata, H. capricornensis, H. confusa, H. forcifera, H. granulatae e H. sulamericana por ter um haptor com arranjo de cristas sinuosas 1/2/3, em vez de ter uma única crista sinuosa sobre os septos como nas espécies acima mencionadas. Heterocotyle capapei, H. chinensis, H. dasyatis, H. minima, H. mokhtarae, H. pastinacae, H. pseudominima, H. scotti, H. similis e H. striata diferem de H. margaritae por possuir um órgão copulador masculino sem peça acessória (presente na nova espécie). Heterocotyle margaritae pode ser distinguida de H. dasyatis, H. minima, H. taeniuropi e H. tokoloshei pela morfologia da peça acessória (em forma de bastão na nova espécie versus composta por cerca de dez espinhos esclerotizados em H. dasyatis, em forma de sino em H. mínimo, pequeno com borda recortada em H. taeniuropi e semelhante a um pente em *H. tokoloshei*) e pelo tamanho do órgão copulador masculino (75–80 na nova espécie vs 32–46 em *H. dasyatis*, 110 em *H. minima*, 193–330 em *H.* taeniuropi e 189–260 em H. tokoloshei). Pela presença de um órgão copulador masculino em forma de funil com uma peça acessória, H. margaritae assemelha-se a H. americana. No entanto, H. margaritae pode ser facilmente distinguido de H. americana por sua peça acessória em forma de bastão (vs em forma de garra com um botão dorsal em H. americana) e por ter um órgão copulador masculino com a extremidade distal espatulada e dobras laterais (vs extremidade distal reta e tubular sem dobras laterais em H. americana). Além disso, a nova espécie difere de H. americana por possuir uma vagina esclerotizada (vs muscular em H. americana) e um bulbo ejaculatório panduriforme (vs

ovóide em *H. americana*). Este é o primeiro relato de um membro de *Heterocotyle* no sudeste do Oceano Pacífico.



**Figura 3.** Heterocotyle margaritae das brânquias de Hypanus dipterurus, holotype. **A.** Espécime (vista ventral). **B.** Âncora. **C.** Gancho. **D.** Órgão copulador masculino. **E.** Ovo. ABREVIATURAS: eb, bulbo ejaculatório; eg, ovo; las, estruturas acessórias luniformes; mag, glândulas acessórias masculinas; ocm, órgão copulador masculino; mg, glândulas de Mehlis; ooi, oótipo; ov, ovário; ph, faringe; phg, glândulas faríngeas; sr, receptáculo seminal; sv, vesícula seminal; te, testículo; va, vagina; vd, vaso deferente; vit, folículos vitelinos.

#### 4. DISCUSSÃO

Com a proposta de *Peruanocotyle*, existem agora 29 gêneros reconhecidos em Monocotylidae. A característica mais exclusiva de *P. chisholmae*, que nunca foi observado em Monocotylidae, é a presença de um órgão de fixação anterior amplamente ovalado, bem desenvolvido, que possui numerosos sulcos oblíquos e uma depressão ântero-medial. Apenas uma espécie, *Dictyocotyle coeliaca* Nybelin, 1941 (Calicotylinae), um monogenético endoparasito da cavidade corporal de peixes elasmobrânquios da ordem Rajiformes, é conhecido por possuir um órgão de fixação anterior grande (= ventosa oral), mas sem sulcos e uma depressão ântero-medial (PODDUBNAYA et al. 2016). Além disso, o órgão de fixação anterior de *P. chisholmae* é extraordinariamente grande, semelhante em tamanho ao haptor, que excede consideravelmente o tamanho do órgão de inserção anterior de *D. coeliaca*, que é menor que a metade do comprimento do haptor.

De acordo com CHISHOLM et al. (1995) e CHISHOLM (2013), o número de lóculos haptorais é uma importante característica morfológica usada para diferenciar táxons dentro dos Monocotylidae. Peruanocotyle chisholmae possui o haptor com um lóculo central e oito lóculos periféricos. Essa configuração se assemelha à observada nas espécies de Anoplocotyloides Young, 1967 (Dasybatotreminae); Electrocotyle Vaughan, Chisholm & Hansen, 2016; Heterocotyle Scott, 1904; Myliocotyle Neifar, Euzet & Ben Hassine, 1999; Potamotrygonocotyle Mayes, Brooks & Thorson, 1981; Spinuris Doran, 1953 (Heterocotylinae); Clemacotyle Young, 1967; Dendromonocotyle Hargis, 1955 e Monocotyle Taschenberg, 1878 (Monocotylinae). No entanto, todos os taxa acima mencionados são conhecidos por possuírem estruturas haptorais adicionais no haptor, por exemplo papilas haptorais marginais como em as espécies de *Anoplocotyloides* (DORAN 1953; BRAVO-HOLLIS 1969); estruturas acessórias dorsais e cristas na superfície ventral dos septos como nas espécies de Electrocotyle, Heterocotyle, Myliocotyle, Potamotrygonocotyle e Spinuris (DOMINGUES e MARQUES 2007; VAUGHAN et al. 2016) ou escleritos nas papilas e septos como nas espécies de Clemacotyle, Dendromonocotyle e Monocotyle (CHISHOLM 1998; VAUGHAN e CHISHOLM 2009). Em contraste, todas essas estruturas estão ausentes em *Peruanocotyle chisholmae*.

Uma peça esclerotizada acessória só foi descrita na âncora de *Denarycotyle gardneri* Pulido-Flores, Monks & Violante-González, 2015 (Euzetiinae) da raia *Rhinoptera steindachneri* Evermann & Jenkins, 1892 (Myliobatidae) e *Troglocephalus rhinobatidis* Young, 1967) de *Glaucostegus typus* (Anonymous [Bennett, 1830]) (Glaucostegidae) (CHISHOLM et al. 1995; PULIDO-FLORES et al. 2015). A presença de uma peça esclerotizada acessória parece ser resultado da evolução convergente nos táxons citados e *Peruanocotyle chisholmae*.

A presença de quatro testículos dispostos em dois grupos em *Peruanocotyle chisholmae* é único. Nos monocotilídeos, o número de testículoe varia de um a vários (CHISHOLM et al. 1995). Monocotilídeos pertencentes às seguintes seis subfamílias têm um testículo: Dasybatotreminae, Decacotylinae, Euzetiinae, Heterocotylinae, Merizocotylinae e Monocotylinae. No entanto, duas espécies de Monocotylinae, *Monocotyle ijimae* Goto, 1894 e *M. tritestis* Young, 1967, são conhecidas por terem três testículos (Chisholm 1998, Portes Santos et al. 2006). A presença de numerosos testículos é uma característica restrita a membros de Calicotylinae (CHISHOLM et al. 1997, BULLARD e OVERSTREET 2000, PODDUBNAYA et al. 2018).

O ovário de *Peruanocotyle chisholmae* tem uma porção proximal com seis lóbulos clavados e uma porção distal fortemente enrolada, que envolve o ceco intestinal direito. Apenas uma outra espécie, *D. coeliaca* tem a porção proximal do ovário com múltiplos

lobos clavados (CHISHOLM et al. 1995). No entanto, *Peruanocotyle chisholmae* difere de *D. coeliaca* pela porção distal do ovário, que é fortemente enrolada, enquanto a de *D. coeliaca* é apenas sinuosa.

O ceco intestinal de *P. chisholmae* tem divertículos laterais e mediais, que se estendem da extremidade anterior à posterior do corpo. Cecos com divertículos só foi descrito em espécies de *Clemacotyle*, *Dendromonocotyle*, *Dictyocotyle* e algumas espécies de *Calicotyle* Diesing, 1850 (CHISHOLM et al. 1995). No entanto, o ceco intestinal de *P. chisholmae* difere daqueles de *Dictyocotyle* e *Calicotyle* por ter divertículos laterais e mediais grandes em vez de serem muito curtos como nas espécies de *Dictyocotyle* e *Calicotyle*. As espécies de *Clemacotyle* e *Dendromonocotyle* também apresentam cecos intestinais com grandes divertículos laterais e mediais, mas os cecos intestinais de *P. chisholmae* tem alguns divertículos mediais que circundam parcialmente os testículos, o que não foi descrito nas espécies de *Clemacotyle* e *Dendromonocotyle*.

Heterocotyle margaritae de Hy. dipterurus do Peru é adicionado às três espécies de Heterocotyle descritas anteriormente de espécies de Hypanus, ou seja, H. americana, H. pseudominima e H. sulamericana. A nova espécie se distingue dessas espécies pela seguinte combinação de características: um haptor com arranjo de cristas sinuosas 1/2/3, um OCM com uma peça acessória e uma vagina esclerotizada. Segundo CHISHOLM e WHITTINGTON (1996), a morfologia do OCM é o melhor caráter para diferenciar as espécies de Heterocotyle. No entanto, este caráter deve ser estudado apenas em espécimes maduros, uma vez que a variação na morfologia do OCM com a idade foi descrita em algumas espécies de monocotilídeos, ou seja, H. granulatae e Dendromonocotyle ardea Chisholm & Whittington, 1995 (CHISHOLM, 1995; CHISHOLM e WHITTINGTON, 1996). O OCM de H. margaritae (baseado apenas em espécimes maduros) difere de todos os congêneres por ter a forma de funil, espatulada distalmente com dobras laterais e por sua peça acessória em forma de clava.

#### **CAPÍTULO II**

Caracterização morfológica e molecular de monogenéticos Hexabothriidae (Monogenea: Diclybothriidea) parasitos das brânquias de peixes elasmobrânquios marinhos do Peru, incluindo a proposta de um novo gênero e redescrição de *Rhinobatonchocotyle pacifica* Oliva & Luque, 1995<sup>2</sup>

Chero, J.D.; Cruces, C.L.; Sáez, G.; Camargo, A.C.; Portes Santos, C.; Luque, J.L. Redescription and first nucleotide sequences of *Rhinobatonchocotyle pacifica* Oliva & Luque, 1995 (Monogenea: Hexabothriidae), a parasite of *Pseudobatos planiceps* (Garman, 1880) (Rhinopristiformes: Rhinobatidae) from Peru. **Acta Parasitologica**, v. 64, pp. 797–806, 2019, doi: 10.2478/s11686-019-00101-4 (ANEXO II).

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>Artigos publicados: Chero, J.D.; Cruces, C.L.; Sáez, G.; Camargo, A.C.; Portes Santos, C.; Luque, J.L. *Hypanocotyle bullardi* n. gen. n. sp. (Monogenea: Hexabothriidae) from gill of the diamond stingray *Hypanus dipterurus* (Jordan et Gilbert) (Myliobatiformes: Dasyatidae) in the Southeastern Pacific Ocean off Peru. **Parasitology International**, v. 67, pp. 425–430, 2018b, doi: 10.1016/j.parint.2018.03.010 (ANEXO II).

#### 1. INTRODUÇÃO

Hexabothriidae Price, 1942 (Monogenea) compreende espécies que infectam a cavidade bucal, arcos branquiais e superfícies respiratórias de peixes cartilaginosos (tubarões, arraias e quimeras) (BULLAR e DIPPENAAR, 2003; PATELLA e BULLARD, 2003; GLENNON et al., 2005). Boeger e Kritsky (1989) realizaram uma análise filogenética dos Hexabothriidae usando caracteres morfológicos e reconheceram 13 gêneros válidos, mas consideraram muitas espécies como incertae sedis, apontando a possibilidade de que algumas dessas espécies possam representar novos gêneros. Atualmente, a família contém > 60 espécies atribuídas a 16 gêneros, sendo *Mobulicola* Patella et Bullard, 2013 o único gênero proposto nos últimos 4 anos (PATELLA e BULLARD, 2003). As Dasyatidae (raias) são o grupo mais diverso de peixes miliobatiformes, com aproximadamente 97 espécies distribuídas em 19 gêneros aceitos (LAST et al., 2016). Eles normalmente habitam águas costeiras rasas, lagoas, estuários e, ocasionalmente, águas doces, mas algumas espécies podem ocorrer em águas mais profundas (além de 100 m) (FROESE e PAULY, 2017). Até o momento, membros de 14 gêneros monogêneticos foram relatados a partir de dasiátides: Entobdella Blainville em Lamarck, 1818; Listrocephalos Bullard, Payne et Braswell, 2004; Neoentobdella Kearn et Whittington, 2005; Trimusculotrema Whittington et Barton, 1990 (Capsalidae); Dasyoncotyle (Hexabothriidae); Loimopapillosum Hargis, 1955 (Loimoidae); Calicotyle Diesing, 1850; Dasybatotrema Price, 1938; Dendromonocotyle Hargis, 1955; Empruthotrema Johnston et Tiegs, 1922; Heterocotyle Scott, 1904; Merizocotyle Cerfontaine, 1894; Monocotyle Taschenberg, 1879 e Thaumatocotyle Odhner, 1910 (Monocotylidae) (MERLO-SERNA et al., 2016). Até agora, o único gênero de hexabotriídeos com espécies que infectam apenas Dasyatidae é Dasyonchocotyle Hargis, 1955 (2 spp.), que parece estar restrito a espécies de Hypanus Rafinesque, ou seja, Dasyonchocotyle dasyatis (Yamaguti, 1968) e D. spiniphallus Hargis, 1955 (BOEGER e KRITSKY, 1989; ESCORCIA-IGNACIO et al., 2015; POLLERSPÖCK e STRAUBE, 2015; MERLO-SERNA et al., 2016). Registros de hexabotriídeos infectando condricties marinhos do Peru são escassos: Callorhynchocotyle marplatensis Suriano & Incorvaia, 1982 de Callorhinchus callorynchus (Linnaeus); Rhinobatonchocotyle cyclovaginatus Doran, 1953 e R. pacifica Oliva & Luque, 1995 de Pseudobatos planiceps (Garman) (LUQUE et al., 2016). Durante um levantamento parasitológico de peixes marinhos peruanos de junho de 2015 a maio de 2018, vários espécimes monogenéticos foram coletados dos filamentos branquiais de Hypanus dipterurus (Jordan & Gilbert) (Dasyatidae) e de *P. planiceps* na costa de Lima, Peru. A análise morfológica detalhada revelou que alguns destes espécimes representavam uma nova espécie para a qual se justificava a proposta de um novo gênero. Outros espécimes foram identificados como R. pacifica Oliva & Luque, 1995 (Hexabothriidae). A descrição original desta espécie estava incompleta, incluindo poucas características diagnósticas e ilustrações altamente estilizadas e generalizadas. Assim, R. pacifica aqui é redescrita com base no exame do material-tipo (holótipos e parátipos) e espécimes recém-coletados de P. planiceps (hospedeiro-tipo). Além disso, sequências representativas de nucleotídeos do novo gênero e de R. pacifica foram obtidas e usadas para reconstruir a filogenia de Hexabothriidae.

#### 2. MATERIAL E MÉTODOS

#### Coleta de espécimes e análise morfológica

De junho de 2015 a maio de 2018, condrichthyes foram capturados por arrastões comerciais na zona costeira de Chorrillos (12°09'S, 77°01'W) e na zona costeira do Callao (12°5'S, 78°11'W), região de Lima, Peru. Os peixes foram imediatamente levados ao laboratório para análise. Nomes científicos, incluindo autoridades taxonômicas e datas, para peixes seguem ESCHMEYER et al. (2018). As brânquias foram excisadas e colocadas em placas de Petri com água do mar e examinadas para monogenéticos com o auxílio de um estereomicroscópio. Os monogeneos foram coletados vivos, lavados em água do mar, fixados em formol 4% quente sob leve pressão de lamínula, corados com carmim de Semichon, clarificados em óleo de cravo e montados em bálsamo do Canadá para estudo da anatomia interna. Alguns espécimes de monogenéticos foram montados em meio de Gray e Wess para estudo de estruturas esclerotizadas (HUMASON, 1979). As amostras foram examinadas com o auxílio de um microscópio Olympus BX53 (Olympus Corporation, Tokyo, Japan) equipado com um tubo de desenho e redesenhados no programa CorelDraw Graphics Suite 2018. As medidas estão em micrômetros, representando distâncias em linha reta entre os pontos extremos das estruturas medidas e são expressas como o alcance seguido pela média e número (n) de estruturas medidas entre parênteses. Espécimes foram depositados na Coleção Helmintológica e Invertebrados Menores do Museu de História Natural da Universidade de San Marcos (MUSM), Peru e na Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC), Brasil. Para fins comparativos, foram examinados os seguintes espécimes depositados na Helminthological Collection do National Museum of Natural History, Smithsonian Institution (USNM), EUA: Rhinobatonchocotyle cyclovaginatus Doran, 1953 (USNM 1346769, holótipo; USNM 1356773, parátipo) e *R. pacifica* (USNM 1377335, holótipo; USNM 1377336, parátipo).

#### Extração de DNA, amplificação por PCR e sequenciamento de DNA

O DNA genômico foi extraído usando o método fenol-clorofórmio (BILLINGS et al., 1998). A região parcial abrangendo 28S rDNA foi amplificada por PCR usando os (5'-ACCCGCTGAATTTAAGCAT-3') (5'-TGGTCCGTGTTTCAAGAC-3') (HASSOUNA et al., 1984; CHISHOLM et al., 2001). A região parcial que abrange o 18S rDNA foi amplificada por PCR usando os primers S1 (5'-TTCCGATAAC GAACG AGACT -3') e IR5 (5'-TACG GAAA CCTT GTTACGAC) (SINNAPPAH et al., 2001). Os ensaios de PCR foram realizados em um volume total de 15 μl contendo 7,5 μl de 2× GoTaq® Colorless Master Mix (Promega), 0,5 μl Mg2+ (concentração de 50 mM), 1,5 µl de cada primer com concentração final de 0,5 µM, 2,0 ul de amostra de cDNA e água ultrapura para completar, usando parâmetros de ciclagem conforme descrito anteriormente por esses autores. Os produtos da PCR foram analisados por eletroforese em géis de agarose 1,5% em Tris-borato EDTA, corados com SyberGreen (Invitrogen, Eugene, Oregon, EUA) e fotografados sob transiluminação UV. Os produtos de PCR amplificados foram purificados com ExoSap-IT (USB® Products Affymetrix Inc., Cleveland, Ohio, EUA). As reações de sequenciamento do ciclo de DNA foram realizadas usando BigDye Terminator v.3.1 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) e o sequenciamento automatizado foi feito usando a Plataforma de Sequenciamento da Fundação Oswaldo Cruz-PDTIS/FIOCRUZ no Brasil. As sequências de ambas as fitas foram geradas, editadas e alinhadas usando o software MEGA versão 7.0 (KUMAR et al., 2016). As sequências foram comparadas com outras disponíveis no banco de dados GenBank usando o programa BLASTN do servidor do National Center for Biotechnology Information (NCBI) (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST) (ALTSCHUL et al., 1990).

#### Análises moleculares

As sequências foram alinhadas com Clustal W no MEGA 7.0 (THOMPSON et al., 1994). O modelo evolutivo selecionado automaticamente pelo MEGA 7 para reconstrução de árvores filogenéticas de Máxima Verossimilhança (ML) (FELSENSTEIN, 1981) foi o GTR (G + I) ou Kimura (K2+G) para a árvore parcial 18S rDNA e Tamura-Nei (G) ou Hasegawa-Kishino-Yano (HKY+I) para parcial 28S rDNA. As árvores foram reamostradas por 5.000 repetições bootstrap para avaliar a confiabilidade dos grupos. As sequências das novas espécies foram depositadas no GenBank. As sequências do GenBank que foram usadas para a análise filogenética estão listadas na Tabela 1.

#### 3. RESULTADOS

Ordem Diclybothriidea Bychowsky, 1957 Família Hexabothriidae Price, 1942

Hypanocotyle Chero, Cruces, Sáez, Camargo, Santos & Luque, 2018

Diagnose: Monogenea, Hexabothriidae. Corpo alongado. Haptor simétrico, paralelo à linha média do corpo; complexos de ventosas de tamanho igual, distribuindo-se em 2 colunas bilaterais de 3 complexos de ventosas cada; escleritos de tamanho igual, com eixo em forma de C e gancho distal afiado. Apêndice armado (= com âncoras), situado na linha média do haptor, originando-se da superfície dorsal do haptor, com extremidade bifurcada compreendendo ventosas apêndices pareadas; ventosas do apêndice com bulbos musculares proximais e distais; âncoras (= hamuli) pareadas, quase em tandem ou ligeiramente oblíquas, com extremidade proximal bifurcada e ponta distal pontiaguda e curva, aparentemente incrustada no tegumento do apêndice. Conduto eferente com porções proximal e distal; porção proximal estreita com parede glandular fina; porções distais expandidas, entrelaçadas, com parede glandular espessa, juntando-se medialmente para formar o conduto deferente. Conduto deferente com porções proximal (expandido, sinuoso, com parede glandular espessa) e distal (estreito, fortemente sinuoso, com parede glandular fina). Órgão copulador masculino (OCM) desarmado, de paredes espessas, com distintas porções proximal e distal; porção proximal semelhante a um tubo levemente sinuoso, provavelmente compreendendo uma vesícula seminal interna; porção distal do órgão copulador masculino em forma de funil, provavelmente acomodando cirros em parte ou na maior parte de seu comprimento. Glândulas prostáticas presentes, distribuídas ao redor do OCM. Ovário intercecal, com porções proximal e distal; ovário proximal ramificado, lateral e anterior à porção distal do ovário, conectando-se com a porção distal do ovário mediolateralmente; ovário distal semelhante a um tubo ovariano, sinuoso, composto por uma porção inicial descendente e uma final ascendente; porção descendente do ovário distal formando alças, extensamente convolutas; porção ascendente do ovário distal ligeiramente convoluta. Receptáculo seminal presente, medial, de paredes finas, um saco oval com terminação cega, separado do ovário e do oviduto propriamente dito. Oótipo sem fileiras longitudinais de células grandes (sem oótipo cotelé). Útero relativamente reto, estendendo-se ao longo da linha média distalmente, intercecal. Vaginas pareadas, paralelas, cada uma com porções proximal e distal bem diferenciadas, acompanhando entre o órgão copulador masculino e os cecos intestinais; porção proximal da vagina glandular, conectando-se ao duto vitelino comum, estendendo-se anteriormente em paralelo com a margem lateral do corpo, possuindo porção tubular levemente sinuosa; porção distal da vagina de parede espessa, musculoglandular, convoluta, marcadamente expandida lateralmente em relação à porção proximal da vagina, estendendo-se em direção à parte anterior do corpo entre o órgão copulador masculino e o intestino; células glandulares que circundam o duto vaginal ao longo de toda a extensão da porção distal, densamente agrupadas na porção média. Poros vaginais imediatamente posteriores ao nível da abertura genital comum. Ovo com 2 filamentos. Parasitas das branquias de dasiátides (raias).

Espécie tipo: Hypanocotyle bullardi.

**Etimologia:** O nome genérico refere-se ao gênero do peixe hospedeiro.

#### **Comentários:**

Atualmente, Hexabothriidae inclui 16 gêneros aceitos com espécies que parasitam condrictios marinhos e de água doce: Branchotenthes Bullard & Dippenaar, 2003; Callorhynchocotyle Suriano & Incorvaia, 1982; Dasyonchocotyle Hargis, 1955; Epicotyle Euzet & Maillard, 1974; Erpocotyle Van Beneden & Hesse, 1863; Heteronchocotyle Brooks, 1934; Hexabothrium von Nordmann, 1840; Mobulicola Patella & Bullard, 2013; Neonchocotyle Ktari & Maillard, 1972; Paraheteronchocotyle Mayes, Brooks & Thorson, 1981; Pristonchocotyle Watson & Thorson, 1976; Protocotyle Euzet & Maillard, 1974; Pseudohexabothrium Brinkmann, 1952; 1899: Rajonchocotyle Cerfontaine. Rhinobatonchocotyle Doran. 1953 Squalonchocotyle Cerfontaine, 1899 (PATELLA e BULLARD, 2003; JUSTINE, 2011; KHEDDAM et al., 2011; VAUGHAN e CHRISTISON, 2012). Hypanocotyle pode ser facilmente distinguido de todos os táxons mencionados acima pela morfologia única do OCM, que tem uma porção proximal que é levemente sinuosa e em forma de tubo, bem como uma porção distal que é em forma de funil. Além disso, o novo gênero pode ser diferenciado de todos os outros gêneros por ter os ramos dextral e sinistral de duto eferente marcadamente expandidos e entrelaçados distalmente, unindo-se medialmente antes de se conectarem ao duto deferente. Hypanocotyle também difere de Callorhynchocotyle, Epicotyle, Heteronchocotyle, Neonchocotyle, Paraheteronchocotyle, Pristonchocotyle e Rhinobatonchocotyle porque as espécies desses gêneros possuem o haptor assimétrico (simétrico em membros de *Hypanocotyle*). As espécies de Dasyonchocotyle e Hexabothrium possuem o OCM armado (não armado em membros do novo gênero). Hypanocotyle difere de Protocotyle, Pseudohexabothrium e Rajonchocotyle porque as espécies desses gêneros possuem vaginas indiferenciadas (diferenciadas em membros de Hypanocotyle). As espécies de Branchotenthes, Mobulicola e Squalonchocotyle têm as porções proximais do ovário lobadas (porção proximal do ovário ramificadas em membros do novo gênero). Hypanocotyle assemelhase a Erpocotyle, que inclui espécies que parasitam tubarões carcarinoides (BOEGER e KRITSKY, 1989; VAUGHAN e CHRISTISON, 2012). Ambos os gêneros apresentam um haptor simétrico, um apêndice que se origina da margem haptoral entre o par posterior de ventosas haptorais, um órgão copulador masculino desarmado, vaginas paralelas compostas por porções proximais e distais distintas e óvulos uterinos com filamentos alongados. No entanto, e para além das características distintivas já referidas, Hypanocotyle é facilmente diferenciado do Erpocotyle por uma combinação de características relacionadas à porção proximal do OCM, distribuição das glândulas prostáticas, porção distal do duto deferente, porção distal da vagina e porção ascendente e descendente do ovário. Em relação à porção proximal do OCM, Hypanocotyle tem uma porção proximal do OCM que tem uma parede espessa. A de *Erpocotyle* tem uma parede fina. Em relação à porção distal do duto deferente, Hypanocotyle tem a porção distal do vaso deferente com uma parede fina, enquanto que no Erpocotyle a parede é espessa. Quanto à distribuição das glândulas prostáticas, Hypanocotyle possui glândulas prostáticas distribuídas por todo o OCM. Em contraste, Erpocotyle possui glândulas prostáticas restritas à porção proximal do OCM. Em relação à porção distal da vagina, Hypanocotyle possui a porção distal da vagina com uma camada muscular espessa, enquanto no Erpocotyle a camada muscular é fina. Em relação à porção ascendente e descendente do ovário, Hypanocotyle possui a porção distal do ovário com ramos descendente e ascendente sinuosos. Em contraste, Erpocotyle tem o ramo descendente e ascendente reto.

# *Hypanocotyle bullardi* Chero, Cruces, Sáez, Camargo, Santos & Luque, 2018 (Figuras 4 e 5)

Descrição. Baseada em 24 espécimes adultos. Corpo alongado (Fig. 4A), 15,25–23,00 (19,16; n = 24) mm de comprimento, 2,10-3,27 (2,54; n = 24) mm de largura ao nível do ovário. Tegumento liso. Haptor 2,75–4,12 (3,510; n = 24) mm de comprimento, 3,80– 5,67 (4,73; n = 24) mm de largura. Ventosas haptorais cada uma com 0,800-1,050 (0,927;n = 20) mm de diâmetro, contráteis, com dois conjuntos de cristas na superfície ventral perpendiculares à linha média; escleritos sugadores haptorais (Fig. 4B-D) de tamanho igual, com sulco curvo ventral 687-868 (762; n = 20) em comprimento máximo, 65-83 (74; n = 20) de largura. Apêndice armado, 3,55–5,55 (4,46; n = 24) mm de comprimento, 0,77-1,35 (1,00; n = 20) mm de largura máxima, extremidade bifurcada, com bulbos musculares proximais e distais e ventosa distal; bulbo proximal 456-634 (529; n = 20) de comprimento, 329–556 (441; n = 20) de largura, com eixo longo paralelo à linha média; bulbo distal 123–182 (160; n = 20) de comprimento, 109–171 (146; n = 20) de largura, com eixo longo paralelo à linha média; ventosa distal em forma de cúpula, com superfície enrugada; âncoras (Fig. 4E) 48–58 (54; n = 19) de comprimento, 18–28 (22 n = 19) de largura. Ventosa circumoral 250-330 (279; n = 18) de comprimento, 250-390 (304; n = 18) de largura. Boca ventral, subterminal. Faringe muscular, subesférica, imediatamente posterior ou ao nível da margem posterior da ventosa circumoral, 100-138 (116; n = 15) de comprimento, 95–125 (112; n = 15) de largura. Bifurcação intestinal anterior à abertura genital comum, 2,07-3,35 (2,45; n = 13) mm da extremidade anterior do corpo; cecos intestinais ramificados, tornando-se confluentes posteriormente e formando um ciclo; ciclocele conectando-se ao ceco único; ceco com divertículo que se estende pelo haptor e apêndice. Campo testicular 3,87–6,35 (4,98; n = 20) mm de comprimento, 0,80–1,37 (1,07; n = 20) mm de largura, ocupam a área intercecal da parte posterior do corpo. Órgão copulador masculino (Fig. 5A) 1,09–1,84 (1,37; n = 13) mm de comprimento; porção proximal do órgão copulador masculino 721-992 (884; n = 13) de comprimento, 140-204 (178; n = 13) de largura máxima; porção distal do órgão copulador masculino 313-472 (375; n = 13) de comprimento, 226-294 (262; n = 13) de largura máxima. Abertura genital comum ao redor da porção distal do OCM, 2,32-3,67 (2,81; n = 10) mm da extremidade anterior do corpo. Porção proximal do ovário ramificado (5B-C), 0,53-1,2 (0,70; n = 20) mm de comprimento, 0,74-1,81 (0,99; n = 20) mm de largura; porção distal do ovário em forma de tubo, com porções ascendente e descendente (Fig. 5B), sobrepondo-se à área anterior do campo testicular; porção descendente 1,58-5,66 (2,66; n = 20) mm de comprimento; porção ascendente 0,864-3,01 (1,50; n = 20) mm de comprimento. Receptáculo seminal 320-450 (377; n = 18) de comprimento, 200-360 (259; n = 18) de largura, principalmente posterior à porção proximal do ovário. Ovo de formato oval (Fig. 2D), 570–670 (616; n = 13) de comprimento total, 60–80 (67; n = 13) de largura máxima, contendo células vitelínicas na maioria dos espécimes, consistindo de um corpo e filamentos; corpo do ovo 130–200 (166; n = 13) de comprimento, com casca grossa; opérculo 35–50 (42; n = 13) de comprimento; filamentos sub-iguais, cada um com 180–270 (128; n = 10) de comprimento, 13–15 (14; n = 10) de largura máxima.

#### Resenha taxonômico

Hospedeiro tipo: Hypanus dipterurus (Jordan & Gilbert, 1880) (Myliobatiformes:

Dasyatidae), arraia diamante. **Sitio de infecção:** Brânquias.

Localidade tipo: Callao, Lima, Peru (12°5'S, 78°11'W), América do Sul.

**Prevalência:** 2 de 4 hospedeiros infectados (50%) com um total de 154 vermes.

**Intensidade média de infecção:** 39 monogenéticos por hospedeiro infectado (intervalo de 52 a 104).

Material tipo: Holótipo, MUSM 3650; 18 parátipos, MUSM 3651a-r.

**Etimologia:** A espécie recebeu esse nome em homenagem ao Dr. Stephen A. Bullard (Universidade Auburn, Estados Unidos) por sua contribuição à sistemática dos Hexabothriidae.

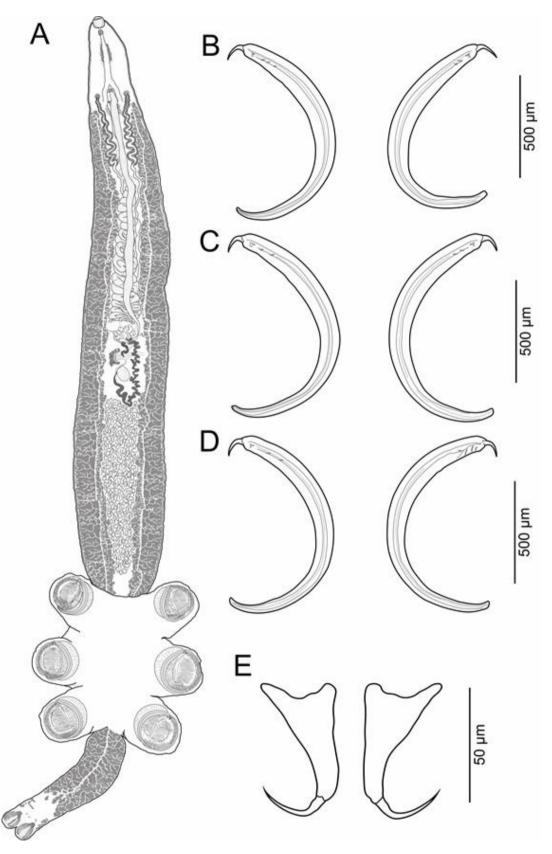
#### Comentários:

Hypanocotyle bullardi é a espécie-tipo do novo gênero.

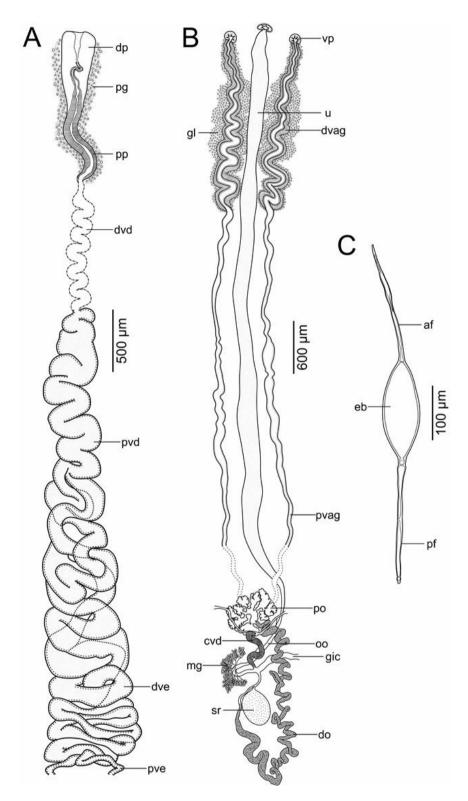
#### Análises moleculares

O resultado BLAST para a região 18S rDNA parcial indicou uma identidade de 93% com 100% de cobertura de consulta e uma pontuação máxima de 767 para *Pseudohexabothrium taeniurae* (AJ228791) e 87% de identidade com 100% de cobertura de consulta e uma pontuação máxima de 579 para *Mazocraeoides prashadi* (KT267182). Para as sequências parciais de 28S rDNA, o BLAST indicou uma identidade de 85% com 100% de cobertura de consulta e uma pontuação máxima de 891 para *P. taeniurae* (AF382035) e 87% de identidade com 48% de cobertura de consulta e uma pontuação máxima de 486 para *Mazocraeoides dussumieri* (KF306257). A reconstrução filogenética baseada na sequência parcial que abrange o 18S rDNA mostra *H. bullardi* (MG591251) agrupando-se com *P. taeniurae* (AJ228791) com suporte estatístico de 97% no clado da família Hexabothriidae, separado da família Diclybothriidae representada por *Paradiclybothrium pacificum* (KP796243) e *Diclybothrium armatum* (KP96254) com suporte estatístico de 64%. As famílias Hexabothriidae e Diclybothriidae agruparam-se na ordem Diclybothriidea bem separadas de um clado com espécies representativas de Mazocraeidae, ordem Mazocraeidea (Fig. 6).

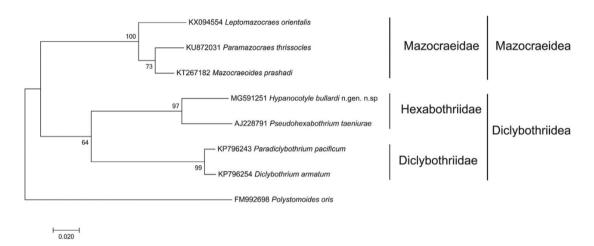
A topologia da árvore filogenética para 28S rDNA parcial mostrou as ordens Diclydobothriidea e Mazocraeidea em diferentes clados. O clado de Diclydobothriidea com representantes de Hexabothriidae incluiu nossas sequências de *H. bullardi* agrupados com *P. taeniurae* (AF131724) com suporte estatístico de 100% e *Hexabothrium appendiculatum* (AF131724) com suporte estatístico de 70%. Os Mazocraeidae apareceram em um clado separado com 100% de suporte estatístico (Fig. 7).



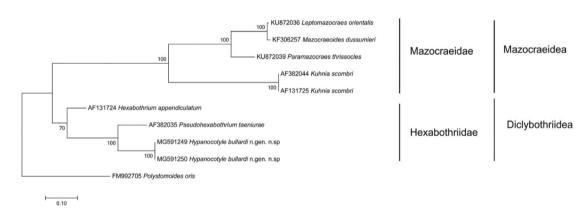
**Figura 4.** Hypanocotyle bullardi das brânquias de Hypanus dipterurus, holótipo. **A.** Espécimes inteiros (vista ventral). **B.** Escleritos da ventosa anterior do haptor. **C.** Escleritos de ventosas do haptor médio. **D.** Escleritos de ventosas haptorais posteriores. **E.** Âncoras do apêndice.



**Figura 5.** Hypanocotyle bullardi das brânquias de Hypanus dipterurus, holótipo. **A.** Sistema reprodutor masculino mostrando porção distal (dp) e proximal (pp) da glândula prostática masculina (pg), porção distal (dvd) e proximal (pvd) dos vasos deferentes e porção distal (dve) e proximal (pve) dos vasos eferentes. **B.** Sistema reprodutor feminino mostrando poro vaginal (vp), útero (u), vagina distal (dvag), vagina proximal (pvag), ovário proximal (po), ovário distal (do), receptáculo seminal (sr), glândula de Mehlis (mg), oótipo (oo), poeira vitelina comum (cvd) e canal genito-intestinal (gic). **C.** Ovo mostrando filamento anterior (af), corpo do ovo (eb) e filamento posterior (pf).



**Figura 6.** Árvore de máxima verossimilhança de *Hypanocotyle bullardi* baseado na região 18S para mostrar suas relações com outras espécies de Monogenea. Números (%) nos ramos indicam 5.000 réplicas de bootstrap. Os números de acesso do GenBank são mostrados e a barra de escala indica as mutações de nucleotídeos por sítio.



**Figura 7.** Árvore de máxima verossimilhança de *Hypanocotyle bullardi* baseado na região 28S para mostrar suas relações com outras espécies de Monogenea. Números (%) nos ramos indicam 5.000 réplicas de bootstrap. Os números de acesso do GenBank são mostrados e a barra de escala indica as mutações de nucleotídeos por sítio.

#### Rhinobatonchocotyle pacifica Oliva & Luque, 1995

## (Figuras 8 e 9)

Redescrição. Baseada em 7 espécimes adultos. Corpo alongado (Fig. 8A), 7,36–10,13 (8,42; n = 6) mm de comprimento, 0,81-1,10 (0,95; n = 6) mm de largura ao nível do ovário, tegumento liso, haptor assimétrico, quase perpendicular à linha média do corpo, 0.61-0.95 (0.72; n = 6) mm de comprimento, 1.05-1.97 (1.39; n = 6) mm de largura; complexos de ventosas de tamanhos desiguais, distribuídos em uma fileira perpendicular à linha média do corpo, exceto o complexo de ventosas 1; complexo de ventosa 1 imediatamente posterior à base do apêndice haptoral; três pares de pacotes de músculos adutores extrínsecos bem desenvolvidos, cada um conectado à extremidade proximal dos escleritos da ventosa haptoral (Fig. 8F). Ventosas haptorais contráteis, com arranjo de cristas na superfície ventral que correm perpendicularmente ao eixo dos escleritos. Escleritos das ventosas haptorais de tamanho desigual, com sulco curvo ventral, com eixo em forma de C e gancho distal afiado (Fig. 8B-D); gancho com estrias na superfície; esclerito da ventosa haptoral 1 e 1' orientado para o lado direito, 273–353 (317; n = 5) de comprimento máximo, 26–36 (32; n = 5) de largura; esclerito da ventosa haptoral 2 orientado para o lado direito e 2' orientado para o lado esquerdo, 352–488 (412; n = 5) de comprimento máximo, 36–55 (46; n = 5) de largura; esclerito da ventosa haptoral 3 e 3' orientado para o lado esquerdo, 406-528 (476; n = 5) de comprimento máximo, 46-58 (52; n = 5) de largura; Almofada muscular em forma de meia-lua perto da ponta do gancho distal do esclerito da ventosa haptoral, exceto esclerito sugador 1 (Fig. 8F). Apêndice armado (= com âncoras), 441-762 (624; n = 7) de comprimento, 193-294 (252; n = 7) de largura, originando-se da margem do haptor, deitado na linha média do corpo, com extremidade ligeiramente bifurcada compreendendo pares ventosas de apêndice (Fig. 8F); ventosas de apêndice com bulbo muscular; bulbo muscular 95-105 (98; n = 4) de comprimento, 83–97 (91; n = 4) de largura, com eixo paralelo à linha média e; placa oval levemente muscular associada à extremidade distal do bulbo muscular, com projeções curtas em forma de dedos na extremidade distal, 29–36 (32; n = 4) longas, 65–75 (71; n = 4) largas; âncoras (= hamuli) emparelhadas, quase em tandem ou ligeiramente oblíquas, aparentemente embutidas no tegumento do apêndice, com extremidade proximal bifurcada e ponta distal pontiaguda e recurvada (Fig. 8E), 53-55 (54; n = 6) longa, 17 – 28(24; n = 6) de largura. Ventosa oral subterminal, 116-158(131; n = 5) de comprimento, 208-280 (238; n = 5) de largura. Boca ventral, subterminal; cavidade oral uniformemente coberta por pequenas papilas espiniformes sésseis (Fig. 2d). Faringe medial, muscular, esferóide, imediatamente posterior ou ao nível da margem posterior da ventosa oral, 66-72 (69; n = 7) de comprimento, 64–76 (71; n = 7) de largura; esôfago longo e estreito; numerosas células glandulares pedunculadas unicelulares dispostas em cada lado do esôfago. Bifurcação cecal anterior à abertura genital comum (Fig. 8A), 507-561 (534; n = 2) da extremidade anterior do corpo; ceca diverticulada, tornando-se confluente posteriormente e formando ciclocele; ciclocele continua como ceco único que se estende em haptor e apêndice (Fig. 8A). Testículos de forma irregular, 40-45 em número, 65-81 (73; n = 6) de comprimento, 146–196 (173; n = 6) de largura, ocupam a área intercecal posterior ao ovário. Vaso eferente não observado. Vaso deferente com porção proximal (expandida, fortemente sinuosa, com parede glandular espessa) e distal (estreita, levemente sinuosa, com parede glandular fina) (Fig. 9B). Órgão copulador masculino (OCM) desarmado (Fig. 9B), 362-420 (391; n = 4) de comprimento, com distintas porções proximal e distal; porção proximal semelhante a um tubo levemente sinuoso, parede fina (Fig. 9B), 70-92 (81; n = 4) de comprimento, 6-10 (8; n = 4) de largura máxima; porção distal alongada, compreendendo uma vesícula seminal interna convoluta,

de parede espessa (Fig. 9B), 304-353 (334; n = 6) de comprimento, 62-77 (67; n = 6) de largura máxima; glândulas acessórias masculinas distribuídas por toda a MCO (Fig. 9B). Abertura genital comum circundando a porção distal do OCM, 522–806 (643; n = 5) da extremidade anterior do corpo. Ovário intercecal, com porções proximal e distal; ovário proximal profundamente lobado (Fig. 9A, C), 128–180 (152; n = 4) de comprimento, 210–293 (261; n = 4) de largura; ovário distal em forma de tubo, sobrepondo-se à área anterior do campo testicular, compreendendo uma porção inicial descendente (direção posterior) e uma porção ascendente curta (direção anterior) (Fig. 9A, C); porção descendente do ovário distal formando alças, altamente convolutas (Fig. 9C), 1,27-2,11 (1,77; n = 4) mm de comprimento; porção ascendente do ovário distal reta (Fig. 9A), 361– 445 (359; n = 4) de comprimento. Receptáculo seminal medial, de paredes finas, um saco oval com terminação cega (Fig. 9A), posterior à porção proximal do ovário, 98-140 (115; n = 6) de comprimento, 95-161 (117; n = 6) de largura. Oótipo sem fileiras longitudinais de células grandes (não oótipo côtelé) (Fig. 9A). Útero relativamente reto, estendendo-se ao longo da linha média distalmente, intercecal (Fig. 9A). Vaginas pareadas, em forma de X, cada uma com porções proximal e distal bem diferenciadas (Fig. 9A); dutos vaginais distais começando como tubos musculares ligeiramente expandidos, estendendo-se diagonalmente na posteridade como tubos musculoglandulares altamente convolutos e estreitos, unindo-se medialmente, formando um tubo reto e curto, bifurcando-se para formar dutos vaginais proximais; dutos vaginais proximais bem expandidos, glandulares, com espessa camada muscular, conectando-se independentemente ao duto vitelino comum; células glandulares que circundam os dutos vaginais (Fig. 9A). Poros vaginais imediatamente posteriores à abertura genital comum, extracecais, situados lateralmente à porção proximal do órgão copulador masculino, posteriores à bifurcação cecal (Fig. 8A), 543–864 (690; n = 6) da extremidade anterior do corpo. Folículos vitelinos estendendo-se do nível da porção distal do OCM ao nível posterior dos testículos (Fig. 1a), 0.61-1.04 (0.81; n=6) da extremidade anterior. Ovo de formato oval (Fig. 9E), 360-483 (412; n = 5) de comprimento total, 47-54 (50; n = 5) de largura máxima, contendo células vitelínicas na maioria dos espécimes, consistindo de um corpo e filamentos; corpo do ovo 147-156 (150; n = 5) de comprimento, com casca grossa (Fig. 9E); opérculo 42–49 (46; n = 5) de comprimento; filamentos sub-iguais, cada um com 149-194 (175; n = 5) de comprimento, 5-9 (7; n = 4) de largura máxima.

## Resenha taxonômico

**Hospedeiro tipo:** *Pseudobatos planiceps* (Garman, 1880) (Rhinopristiformes: Rhinobatidae).

Sitio de infecção: Brânquias.

Localidade tipo: zona costeira de Chorrillos, região de Lima, Peru (12°09'S, 77°01'W),

América do Sul.

Material depositado: 5 vouchers, MUSM 4160a-c; 3 vouchers, CHIOC 40091a-c.

### Análises moleculares

O BLAST com a primeira sequência parcial de 18S rDNA de *R. pacifica* (MH724313) indicou 92% de identidade com *Hypanocotyle bullardi* (MG 591251) e 91% com *Pseudohexabothrium taeniurae* (AJ228791), ambos com 99% de cobertura de consulta. A primeira sequência parcial de 28S rDNA de *R. pacifica* foi semelhante com *H. bullardi* MG591249 com 90% de identidade e 100% de cobertura de consulta e MG591250 com

91% e 87%, respectivamente. *Pseudohexabothrium taeniurae* (AF382035) dentro da mesma família teve 84% de identidade com cobertura de consulta de 100%.

A reconstrução filogenética baseada no 18S rDNA recuperou dois clados: um de Diclybothriidae spp. (*Diclybothrium armatu*m Leuckart, 1835 e *Paradiclybothrium pacificum* Bychowsky & Gusev, 1950; 100% bootstrap) e Hexabothriidae spp. (P. *taeniurae*, com baixo suporte; 79%, irmão do clado formado por *H. bullardi* e *R. pacifica* (69%)) (Fig. 10). A árvore de consenso de máxima verossimilhança baseada em um 28S rDNA parcial mostrou dois clados: Hexabothriidae spp. e Mazocraeidae spp. O clado de Hexabothriidae apresentou três clados de *H. appendiculatum* (68% bootstrap), *P. taeniurae* (100% bootstrap) e *R. pacifica* com *H. bullardi* (100% suporte estatístico) (Fig. 11).

## Comentários:

Os espécimes recém-coletados pertencem aos Hexabothriidae, conforme definido por BOEGER e KRITSKY (1989), por terem um haptor com três pares de complexos de ventosas, cada um dos quais armados com grandes escleritos em forma de gancho; e por possuir um apêndice haptoral, que possui um par de pequenas ventosas em sua extremidade distal. É atribuído a *Rhinobatonchocotyle* Doran, 1953 pela morfologia da vagina, que tem forma de X e pelo seu haptor, que é assimétrico com um apêndice armado originário da margem do haptor (BOEGER e KRITSKY, 1989). *Rhinobatonchocotyle* inclui duas espécies aceitas, que são parasitas braquiais de peixes rinobatídeos: *R. cyclovaginatus* Doran, 1953 (espécie-tipo) de *Pseudobatos productus* (Ayres, 1854) nos Estados Unidos e *R. pacifica* Oliva & Luque, 1995 de *P. planiceps* (Garman, 1880) no Chile (DORAN, 1953; OLIVA e LUQUE, 1995; POLLERSPÖCK e STRAUBE, 2015).

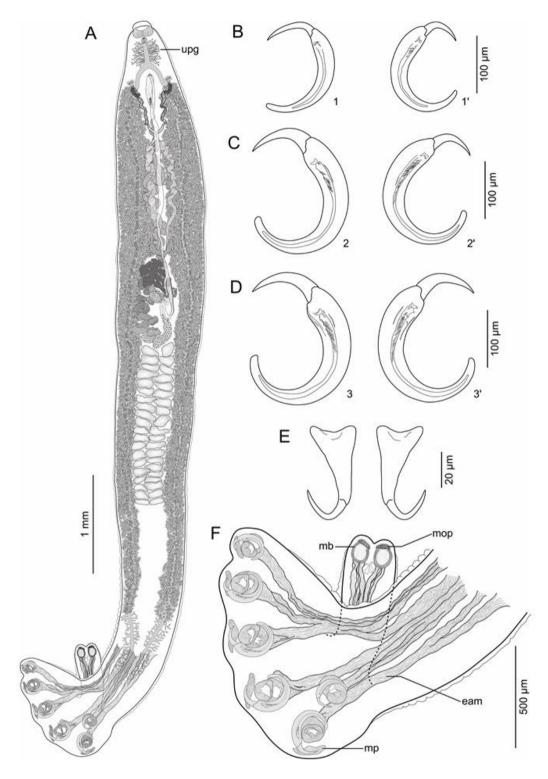
O exame do material tipo (USNM 1377335, holótipo; USNM 1377336, parátipo) de *R. pacifica* e a descrição original, nos permitiu identificar os espécimes recém coletados neste estudo de *P. planiceps* (hospedeiro tipo) como *R. pacifica*.

Uma vagina cíclica foi usada por DORAN (1953) para diferenciar Rhinobatonchocotyle cyclovaginatus. BOEGER e KRISTSKY (1989) reexaminaram espécimes do tipo e notaram uma vagina em forma de X, com dutos vaginais se fundindo e bifurcando e entrando independentemente no duto vitelino comum ao contrário da descrição de DORAN (1953). OLIVA e LUQUE (1995) observaram que os dutos vaginais de R. pacifica começam como dutos separados, que se fundem em um duto mediano curto antes de se bifurcar antes de entrar no duto vitelino comum, correspondendo ao relato de Doran (1953). Nossa observação do material tipo e do material recém-coletado de P. planiceps revelou que os dutos vaginais não se fundem antes de entrar no duto vitelino comum, mas entram independentemente de acordo com o diagnóstico corrigido de BOEGER e KRISTSKY (1989) de Rinobatonchocotyle. O desenho da vagina de R. pacifica é altamente esquemático/estilizado e não detalha adequadamente os dutos vaginais. No presente trabalho, notamos que os dutos vaginais distais começam como tubos musculares levemente expandidos, estendendo-se como tubos musculoglandulares altamente convolutos e estreitos, juntando-se medialmente para formar um tubo reto, que se bifurca; enquanto que os dutos vaginais proximais são bem expandidos e de natureza glandular, com espessa camada muscular. A natureza característica da parede (musculoglandular) dos dutos vaginais distais de R. pacifica é provavelmente convergente porque também está presente em Branchotenthes spp. e Mobulicola spp. (BULLARD e DIPPENAAR, 2003; PATELLA e BULLARD, 2013). Além disso, notamos a presença de numerosas células glandulares ao redor dos dutos

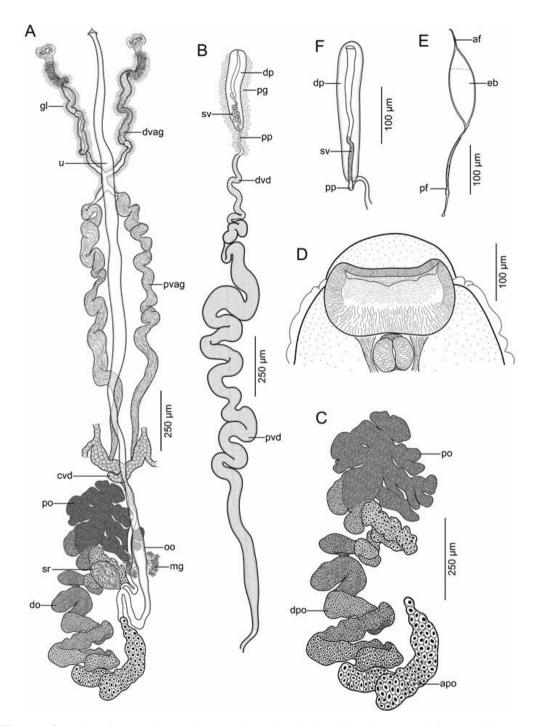
vaginais. OLIVA e LUQUE (1995) relataram os poros vaginais situados ao nível da abertura genital comum; no entanto, eles são de fato imediatamente posteriores à abertura genital comum.

OLIVA e LUQUE (1995) observaram que o vaso deferente é bifurcado, originando dois ramos que por sua vez se unem, mas, de fato, nossas observações mostraram que ele não é bifurcado. O vaso deferente de *R. pacifica* é um tubo altamente sinuoso, com porção proximal expandida, glandular e de paredes espessas; enquanto a da porção distal é estreita, glandular e de paredes finas. Esses autores interpretaram erroneamente o ovário de *R. pacifica* como irregular com a extremidade posterior recurvada como um "J" invertido. O exame do material tipo de *R. pacifica* e do material recém coletado revelou que o ovário apresenta porção proximal profundamente lobada e porção distal tubular, que compreende uma porção descendente altamente convoluta e uma porção ascendente curta.

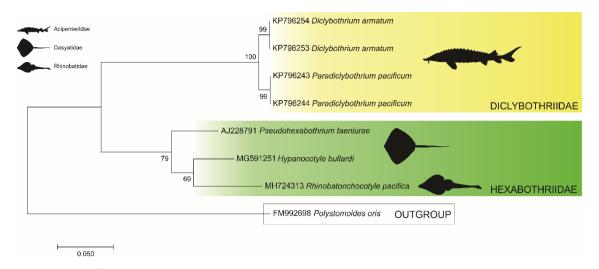
Em nossos espécimes e em os espécimes tipo de *R. pacifica*, confirmamos a presença de um receptáculo seminal, papilas espiniformes na cavidade oral, estrias na superfície dos ganchos dos escleritos haptorais, almofada muscular em forma de meialua associada a cada esclerito sugador haptoral (exceto esclerito 1), um bulbo muscular dentro de cada ventosa do apêndice, um oótipo sem fileiras longitudinais de células grandes (oótipo não côtelé). Também fornecemos a primeira descrição morfológica detalhada dos escleritos sugadores do haptor, âncoras do haptor e complexo genital, acrescentando estados de caráter que podem ser usados para melhor resolução do *Rhinobatonchocotyle*.



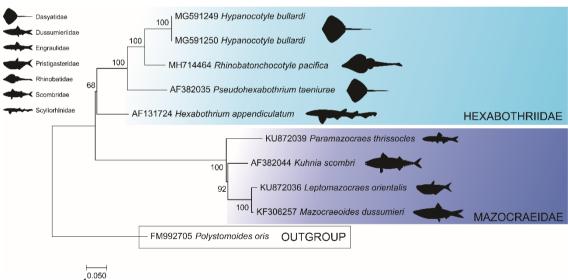
**Figura 8.** Rhinobatonchocotyle pacifica das brânquias de Pseudobatos planiceps. **A.** Parasito inteiro (vista ventral) com vista dorsal do haptor, mostrando células glandulares pedunculadas unicelulares do esôfago (upg). **B.** Par de escleritos com ventosa haptoral 1. **C.** Par de esclerito com ventosa haptoral 2. **D.** Par de esclerito com ventosa haptoral 3. **E.** Âncoras de apêndice. **F.** Haptor (vista dorsal) mostrando os músculos adutores extrínsecos (eam), bulbo muscular (mb) do apêndice, placa oval muscular (mop) associada ao bulbo muscular e coxim muscular (mp) associado a cada complexo da ventosa haptoral.



**Figura 9**. *Rhinobatonchocotyle pacifica* das brânquias de *Pseudobatos planiceps*. **A.** Sistema reprodutivo mostrando poro vaginal (vp), útero (u), vagina distal (dvag), vagina proximal (pvag), ovário proximal (po), ovário distal (do), receptáculo seminal (sr), glândula de Mehlis (mg), oótipo (oo) e duto vitelino comum (cvd). **B.** Aparelho reprodutor masculino mostrando porção distal (dp) e proximal (pp) do órgão copulador masculino, glândulas prostáticas (pg), porção distal (dvd) e proximal (pvd) do duto deferente e vesícula seminal (sv). **C.** Ovário mostrando a porção descendente (dpo) e ascendente (apo) do ovário distal. **D.** Extremidade anterior do corpo mostrando papilas espiniformes sésseis. **E.** Filamento anterior do ovo (af), corpo do ovo (eb) e filamento posterior (pf). **F.** Órgão copulador masculino de *R. cyclovaginatus* Doran, 1953 (Hexabothriidae) (USNM 1346769, holótipo).



**Figura 10.** Árvore de máxima verossimilhança de *Rhinobatonchocotyle pacifica* Oliva & Luque, 1995 (Hexabothriidae) baseada na região 18S para mostrar suas relações com outras espécies de Monogenea. Números (%) nos ramos indicam 5.000 réplicas de bootstrap. Os números de acesso do GenBank são mostrados e a barra de escala indica as mutações de nucleotídeos por sítio.



**Figura 11.** Árvore filogenética baseada na máxima verossimilhança do gene 28S parcial para mostrar a relação de *Rhinobatonchocotyle pacifica* Oliva & Luque, 1995 (Hexabothriidae) com outras espécies de Monogenea. Números (%) nos ramos indicam 5.000 réplicas de bootstrap. Os números de acesso do GenBank são mostrados e a barra de escala indica as mutações de nucleotídeos por sítio.

**Tabela 1.** Listagem das espécies de Monogenea e outgroups utilizadas nas análises filogenéticas de *Hypanocotyle bullardi* e *Rhinobatonchocotyle pacifica* (Hexabothriidae) utilizando seqüências dos genes rDNA parcial 18S e 28S parcial.

| Espécie   | Família         | 18S rDNA | 28S rDNA             |  |
|---|-----------------|----------|----------------------|--|
| Diclybothrium armatum Leuckart, 1835  | Diclybothriidae | KP796253 |                      |  |
| Diclybothrium armatum Leuckart, 1835  | Diclybothriidae | KP796254 |                      |  |
| Hexabothrium appendiculatum (Kuhn, 1829)                                    | Hexabothriidae  |          | AF131724             |  |
| Hypanocotyle bullardi Chero, Cruces, Sáez,<br>Camargo, Santos & Luque, 2018 | Hexabothriidae  | MG591251 | MG591249<br>MG591250 |  |
| Kuhnia scombri (Kuhn, 1829)   | Mazocraeidae    |          | AF382044             |  |
| Leptomazocraes orientalis Mamaev, 1975                                      | Mazocraeidae    |          | KU872036             |  |
| Mazocraeoides dussumieri Mamaev, 1975                                       | Mazocraeidae    |          | KF306257             |  |
| Paradiclybothrium pacificum Bychowsky & Gusev, 1950                         | Diclybothriidae | KP796243 |                      |  |
| Paradiclybothrium pacificum Bychowsky & Gusev, 1950                         | Diclybothriidae | KP796244 |                      |  |
| Paramazocraes thrissocles Tripathi, 1959                                    | Mazocraeidae    |          | KU872039             |  |
| Polystomoides oris Paul, 1938   | Polystomatidae  | FM992698 | FM992705             |  |
| Pseudohexabothrium taeniurae Agrawal,<br>Chisholm & Whittington, 1996       | Hexabothriidae  | AJ228791 | AF382035             |  |
| Rhinobatonchocotyle pacifica Oliva &<br>Luque, 1995                         | Hexabothriidae  | MH724313 | MH714464             |  |

## 4. DISCUSSÃO

Neste trabalho, uma nova espécie de monogenético, H. bullardi, é descrito, bem como um novo gênero proposto para acomodá-lo. Hypanocotyle se soma aos 16 gêneros atualmente reconhecidos em Hexabothriidae e difere de todos esses gêneros pela morfologia das porções proximal e distal do OCM (porção proximal em forma de tubo levemente sinuoso e porção distal em forma de funil) e pelas características da porção distal dos vasos eferentes (ramos dextral e sinistral bem expandidos e entrelaçados distalmente, unindo-se medialmente antes de se conectarem aos vasos deferentes). De acordo com PATELLA e BULLARD (2013) a natureza da parede dos vasos eferentes, a largura proporcional dos vasos eferentes e a localização relativa da união desses dutos pareados são características morfológicas importantes usadas para diferenciar alguns gêneros de hexabotriídeos. Por exemplo, Hypanocotyle possui os vasos eferentes expandidos distalmente. Essa característica também foi observada em membros de Branchotenthes (BULLARD e DIPPENAAR, 2003; GLENNON et al., 2005). Os vasos eferentes em *Branchotenthes* são relativamente longos e maciços, cada um se estendendo em direção à parte anterior do corpo, atingindo ou estendendo-se anteriormente ao nível do órgão copulador masculino, antes de se unir medialmente. Em contraste, Hypanocotyle tem os vasos eferentes longos e entrelaçados distalmente que se estendem em direção à parte anterior do corpo, não atingindo o nível do órgão copulador masculino. O presente estudo com dados genéticos e morfológicos confirma a posição de H. bullardi dentro dos Hexabothriidae fornecendo os primeiros dados filogenéticos, incluindo os genes parciais 18S e 28S rDNA. Esses resultados são extremamente limitados em comparação com o número de gêneros na família.

Rhinobatonchocotyle spp. assemelham-se a Pristonchocotyle spp. incluindo duas espécies que infectam pristídeos: Pristonchocotyle intermedia Watson & Thorson, 1976 (espécie tipo) de *Pristis perotteti* Müller & Henle, 1841 na Nicarágua e *P. papuensis* Ogawa, 1991 de Pr. pristis (Linnaeus, 1758) na Nova Guiné (WATSON e THORSON, 1976; OGAWA, 1991). Espécies de ambos os gêneros possuem dutos vaginais que se unem medialmente (em forma de X), um haptor assimétrico com os complexos de ventosas distribuídos em uma fileira perpendicular à linha média do corpo (exceto o complexo de ventosas 1), um ovário com lobada) e distal (ramo descendente convoluto, ramo ascendente curto), um órgão copulador masculino desarmado e ovos uterinos com filamentos alongados (BOEGER e KRITSKY, 1989; WATSON e THORSON, 1976; OGAWA, 1991). CHERO et al. (2018) e QUITERIO-RENDON et al. (2018) apresentaram chaves para diferenciar gêneros de Hexabothriidae, em que Rhinobatonchocotyle é separado de Pristonchocotyle pela falta de um receptáculo seminal. O material aqui coletado e examinado revelou que R. pacifica possui um receptáculo seminal posterior à porção proximal do ovário, portanto este caráter é inválido como caráter diagnóstico. Rhinobatonchocotyle difere Pristonchocotyle por ter uma porção distal alongada do OCM, que é em forma de bulbo no Pristonchocotyle. Uma vez que R. cyclovaginatus não possui um receptáculo seminal, mas está presente em R. pacifica, é necessário reexaminar R. cyclovaginatus com base no material tipo e em espécimes recém-coletados para reavaliar esse caráter. Até então, o diagnóstico genérico de Rhinobatonchocotyle é alterado para incluir espécies com e sem receptáculo seminal.

Tantalean et al. (1998) relataram infecções de *R. cyclovaginatus* em *P. planiceps* do Peru, mas não detalharam morfologicamente seus espécimes. Eles desenharam algumas características diagnósticas (escleritos, âncoras e OCM) e compararam seus espécimes com a descrição original de *R. cyclovaginatus*. Eles não mencionaram e aparentemente desconheciam as espécies de OLIVA e LUQUE (1995) de *P. planiceps*.

Uma análise dos desenhos fornecidos por Tantaleán et al. (1998) indica que eles foram identificados erroneamente e representam *R. pacifica*.

Oliva e Luque (1995) mencionaram que *R. pacifica* difere de *R. cyclovaginatus* pela extensão dos folículos vitelinos, que se estendem para o haptor e apêndice em *R. cyclovaginatus*, mas não o fazem em *R. pacifica*. O material tipo de *R. cyclovaginatus* (USNM 1377335, holótipo; USNM 1377336, parátipo) indica que Doran (1953) identificaram erroneamente o conteúdo dos cecos intestinais como folículos vitelinos. *Rhinobatonchocotyle pacifica* difere de *R. cyclovaginatus* por apresentar papilas na cavidade oral ausentes em *R. cyclovaginatus* (presente estudo; baseado em materiais tipo); ausência de curvatura na extremidade distal da porção proximal do OCM (presente em *R. cyclovaginatus*) e pela ausência de entalhe na interseção entre eixo e ponta das âncoras (presente em *R. cyclovaginatus*).

As sequências de nucleotídeos de rDNA 18S e 28S de *R. pacifica* não haviam sido publicadas anteriormente. Ambas as árvores recuperadas mostraram que *R. pacifica* compartilha um ancestral comum recente com *H. bullardi*; corroborando hipóteses filogenéticas anteriores sobre Hexabothriidae. A árvore 18S rDNA recuperou dois clados separando as famílias Diclybothriidae e Hexabothriidae com alto suporte estatístico. Quanto à análise parcial de 28S rDNA referente a Diclybotriidea, havia apenas sequências de Hexabothriidae no GenBank. Portanto, representantes de Mazocraeidea foram usados para comparação e suporte estatístico, embora suas relações estejam fora do escopo deste estudo. A família Hexabothriidae é bem suportada com bootstrap alto incluindo as espécies *R. pacifica*, *H. bullardi* e *P. taeniurae*. A espécie *H. appendiculatum* apresentou baixo bootstrap provavelmente devido ao tamanho de sua sequência (312 bp) quando comparada com as demais.

## **CAPÍTULO III**

Uma nova espécie de *Loimopapillosum* Hargis, 1955 (Monogenea: Monocotylidae) parasitando *Hypanus dipterurus* (Myliobatiformes: Dasyatidae) na costa do Pacífico da América do Sul e suas relações filogenéticas<sup>3</sup>

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup>Artigo publicado: Chero, J.D.; Cruces, C.L.; Sáez, G.; Oliveira, A.G.L.; Santos, C.P.; Luque, J.L. A new species of *Loimopapillosum* Hargis, 1955 (Monogenea: Monocotylidae) parasitizing *Hypanus dipterurus* (Myliobatiformes: Dasyatidae) off the Pacific coast of South America, and its phylogenetic relationships. **Journal of Helminthology**, v. 95, p. e37, 1–9, 2021, doi: 10.1017/S0022149X21000262 (ANEXO III).

## 1. INTRODUÇÃO

Myliobatiformes, comumente conhecido como arraias, é uma ordem monofilética que compreende mais de 221 espécies (29 gêneros em 10 famílias) com distribuição mundial (DUNN et al., 2003; NELSON, 2006). Diversas espécies de arraias são utilizadas para consumo e outras, principalmente os potamotrigonídeos, são muito apreciadas pelos aquaristas. Apesar de sua grande diversidade e importância econômica, menos de 29% das espécies de arraias foram estudadas para procurar seus monogenéticos parasitos (CHERO et al., 2016; KOHN et al., 2016; LOPES et al., 2016; MERLO-SERNA e GARCÍA-PRIETO, 2016; MENDOZA-GARFIAS et al., 2017; CHERO et al., 2018a, b, 2020; POLLERSPÖCK e STRAUBE, 2021).

A fauna global de monogeneticos infectando arraias é notavelmente diversa e inclui 147 espécies pertencentes a 33 gêneros em seis famílias: Acanthocotylidae Monticelli, 1903 (1 sp.), Capsalidae Baird, 1853 (23 spp.), Hexabothriidae Price, 1942 (9 spp.), Loimoidae Price, 1936 (1 sp.), Monocotylidae Taschenberg, 1879 (111 spp.) e Udonellidae Taschenberg, 1879 (2 spp.) (KRITSKY e CHISHOLM, 2020; CHISHOLM e KRITSKY, 2020; POLLERSPÖCK e STRAUBE, 2021). Mais da metade desses gêneros (19) e cerca de 91 espécies são parasitos de dasiátides, o grupo mais diverso dentro dos Myliobatiformes (LAST et al., 2016). O monocotilídeo Monocotyle ijimae Goto (1894) foi a primeira espécie monogenética descrita a partir de um hospedeiro dasiátideo e foi encontrado na boca de Dasyatis pastinaca (Linnaeus, 1758) no Japão. Trinta e cinco espécies de monogenéticos foram descritas de dasiátides nas últimas duas décadas e quatro novos gêneros foram propostos: Hypanocotyle Chero, Cruces, Sáez, Camargo, Santos & Luque, 2018; Listrocephalos Bullard, Payne & Braswell, 2004; Peruanocotyle Chero, Cruces, Sáez & Luque, 2018 e Septesinus Chisholm, 2013 (CAO et al., 2010; VAUGHAN e CHISHOLM, 2010; CHISHOLM e WHITTINGTON, 2012; SANTOS et al., 2012; CHISHOLM, 2013; CHERO et al., 2016; CHERO et al., 2018a, b, 2020; KITAMURA e OGAWA, 2019).

Loimoidae Price, 1936 inclui três gêneros aceitos com espécies que infectam elasmobrânquios marinhos: Loimopapillosum Hargis, 1955 (uma espécie descrita de dasiatídeos no Oceano Atlântico); Loimos MacCallum, 1917 (5 espécies de carcarinídeos nos oceanos Atlântico e Pacífico) e Loimosina Manter, 1944 (2 espécies descritas de esfirrnídeos na América Central e uma espécie no Brasil) (KOHN et al., 2016; LOPEZ et al., 2016; MENDOZA-GARFIAS et al., 2017; POLLERSPÖCK e STRAUBE, 2021). BOEGER e KRITSKY (2001) forneceram uma análise filogenética dos monogenéticos no nível de família baseado na análise cladística e Loimoidae e Monocotylidae foram agrupados como táxons irmãos dentro da ordem Monocotylidea. Essa hipótese também foi considerada por CHISHOLM et al. (1995), que usaram Loimoidae como grupo externo em sua análise cladística de relacionamentos dentro dos Monocotylidae. BOEGER et al. (2014) avaliaram a posição filogenética de Loimoidae dentro dos monogenéticos com base em análises de sequências parciais de 18S e 28S rDNA de Loimosina sp. Eles não encontraram suporte filogenético para a família e sugeriram que Loimoidae representa um táxon subordinado dentro dos Monocotylidae.

Durante um levantamento parasitológico de peixes marinhos peruanos realizado de julho de 2018 a novembro de 2019, vários espécimes de monogenéticos foram encontrados nos filamentos brânquiais da arraia diamante *Hypanus dipterurus* (Jordan & Gilbert, 1880) de Puerto Pizarro, norte do Peru. O exame morfológico detalhado revelou que os parasitos representam uma nova espécie de *Loimopapillosum*, que é descrita com base em análises morfológicas e moleculares. Adicionalmente, sequências de

nucleotídeos (28S e 18S rDNA) obtidas da nova espécie foram utilizadas para avaliar sua posição filogenética.

### 2. MATERIAL E MÉTODOS

## Coleta de espécimes e análise morfológica

As arraias foram coletadas durante julho de 2018 e novembro de 2019 na zona costeira de Puerto Pizarro, Tumbes, Peru (3°29'S, 80°24'W), usando tarrafas e redes de pesca artesanal. Os peixes foram sacrificados imediatamente após a captura e dissecados. As brânquias foram retiradas e colocadas em placas de Petri com água do mar e examinadas para procurar monogenéticos com o auxílio de um estereomicroscópio. Monogenéticos foram coletados vivos, lavados em água do mar, fixados em formalina quente a 4%. Em seguida, foram corados com carmim, clarificados em eugenol (óleo de cravo) e montados em bálsamo do Canadá. Outros espécimes foram montados diretamente em meio Gray e Wess para estudo de estruturas esclerotizadas (HUMASON, 1979). Os desenhos foram feitos com o auxílio de um microscópio Olympus BX53 (Olympus Corporation, Tokyo, Japan) equipado com um tubo de desenho e redesenhados no programa CorelDraw Graphics Suite 2018. As medidas foram feitas em micrômetros, exceto quando indicado, e representam distâncias em linha reta entre os pontos extremos e são expressas como a amplitude seguida da média e o número (n) de indivíduos medidas em parênteses; o comprimento do corpo inclui o haptor. Os nomes científicos, incluindo autoridades taxonômicas e datas, para peixes seguem ESCHMEYER et al. (2018). Nomenclatura e classificação de Myliobatiformes, Dasyatidae e Hypanus spp. segue LAST et al. (2016). Os termos anatômicos para monocotilídeos seguem CHISHOLM et al. (1995), KRITSKY et al. (2017) e PODDUBNAYA et al. (2018). A prevalência e a intensidade média da infecção foram calculadas de acordo com BUSH et al. (1997).

Os espécimes-tipo foram depositados na Coleção Helmintológica do Museu de História Natural da Universidade San Marcos (MUSM), Lima, Peru. Foram examinados espécimes de *Loimopapillosum dasyatis* Hargis, 1955 (USNM 1338744, holótipo e parátipos) depositados na Coleção Helmintológica do Museu Nacional de História Natural, Instituto Smithsonian (USNM), EUA. Imagens em alta resolução da extremidade anterior de *Loimosina parawilsoni* Bravo-Hollis, 1970 (CNHE 153, holótipo) e da extremidade anterior e haptor de *Loimos winteri* Caballero & Bravo-Hollis, 1961 (CNHE 86, holótipo) da Coleção Nacional de Helmintos, Instituto de Biologia, Universidade Nacional Autônoma do México (CNHE), México disponível em http://unibio.unam.mx também foram examinados.

## Extração de DNA, amplificação por PCR e sequenciamento de DNA

Dois monogenéticos foram fixados diretamente em etanol absoluto para as análises moleculares. O DNA genômico foi isolado utilizando o kit de extração QIAamp DNA Mini Kit (QUIAGEN<sup>TM</sup>, Hilden, Germany), de acordo com as instruções do fabricante. A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi realizada para a amplificação parcial do gene 28S rDNA, usando os iniciadores C1 (5 ′-ACCCG CTGAA TTTAA GCAT-3 ′) e D2 (5 ′-TGGTC CGTGT TTCAA GAC-3 ′) (de acordo com CHISHOLM et al. 2001). Para a região parcial do 18S rDNA, os iniciadores usados foram L7 (5 ′-TGATT TGTCT GGTTT ATTCC GAT- 3′) e IR5 (5 ′-TACGG AAACC TTGTT ACGAC- 3′) (Sinnappah et al. 2001). Os ensaios da PCR foram realizados em um volume total de 15 μl contendo 7,5 μl de 2 × GoTaq® Colorless Master Mix (Promega), 1,5 μl de cada iniciador com uma concentração final de 0,5 μM, 2,5 μl de amostra de cDNA e água

ultrapura para completar, usando parâmetros de ciclagem conforme descrito anteriormente por esses autores. Os produtos de PCR foram analisados por eletroforese em agarose 1,5% em gel de agarose 1,5% em Tris-borato EDTA, corados com SyberGreen (Invitrogen, Eugene, Oregon, EUA) e fotografados sob transiluminação UV. Os produtos da PCR amplificados foram purificados com ExoSap-IT (USB® Products Affymetrix Inc., Cleveland, Ohio, EUA). As reações de sequenciamento do ciclo de DNA foram realizadas usando BigDye Terminator v.3.1 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) e o sequenciamento automático foi feito usando a Plataforma de Sequenciamento da Fundação Oswaldo Cruz-PDTIS / FIOCRUZ no Brasil. As sequências foram geradas, editadas e alinhadas usando o software MEGA versão 7.0 (KUMAR et al., 2016). As sequências foram comparadas com outras disponíveis no banco de dados do GenBank usando o programa BLAST do servidor National Center for Biotechnology Information (NCBI) (http://www.ncbi. Nlm.nih.gov/BLAST) (ALTSCHUL et al., 1990).

#### Análises moleculares

As sequências foram alinhadas com Clustal W em MEGA 7.0 (Thompson et al. 1994). O melhor modelo encontrado por JModelTest2 (POSADA e CRANDALL, 1998) selecionado com o critério de informação corrigido, foi GTR + I + G para 28S e K80 + G para 18S. O melhor modelo foi implementado em MrBayes 3.2.7a (RONQUIST et al., 2011) para análise de Inferência Bayesiana (BI). Para a análise de BI foi realizada análise de Monte Carlo de cadeia de Markov acoplada à Metrópolis, realizada com quatro cadeias e 5.000.000 gerações e amostrada a cada 1.000 gerações. As probabilidades do clado posterior foram utilizadas para avaliar o suporte nodal. A topologia da árvore representada nas árvores de consenso de regra da maioria de 50%. O software utilizado foi implementado no CIPRES Science Gateway V. 3.3 (http://www.phylo.org/) (MILLER et al., 2010). As sequências do GenBank que foram usadas para a análise filogenética estão listadas na Tabela 2, bem como sequências para os grupos externos.

**Tabela 2.** Lista das espécies de Monogenea e grupos externos usados nas análises filogenéticas de *Loimopapillosum pascuali* (Loimoinae) usando sequências dos genes parciais 28S e 18S rDNA.

| Espécie de parasito  | Espécie de hospedeiro   | Localidade                 | 28S rDNA             | 18S rDNA             |
|--|-------------------------|----------------------------|----------------------|----------------------|
| CAPSALIDAE   |                         |                            |                      |                      |
| Encotyllabe chironemi Robinson, 1961   | Chironemus marmoratus   | Coffs Harbour, Australia   |                      | AJ228780             |
| MICROBOTHRIINAE  |                         |                            |                      |                      |
| Leptocotyle minor (Monticelli, 1888)   | Scyliorhinus canicula   | United Kingdom             | AF382063             |                      |
| MONOCOTYLIDAE  |                         |                            |                      |                      |
| Calicotylinae  |                         |                            |                      |                      |
| Calicotyle affinis Scott, 1911   | Chimaera monstrosa      | Deep sea, Atlantic Ocean   |                      | AJ228777             |
| Calicotyle japonica Kitamura, Ogawa, Shimizu, Kurashima, Mano, Taniuchi & Hirose, 2010 | Squalus mitsukurii      | Pacific Ocean, off Japan   | AB485996             |                      |
| Calicotyle kroyeri Diesing, 1850   | Raja radiata            | North Sea                  | AF279746             |                      |
| Calicotyle palombi Euzet & Williams, 1960  | Mustelus mustelus       | Tunisia, Mediterranean Sea | AF279749             |                      |
| Calicotyle urolophi Chisholm, Beverley-Burton & Last, 1991                             | Urolophus cruciatus     | Tasmania, Australia        | AF279752             |                      |
| Dictyocotyle coeliaca Nybelin, 1941  | Raja radiata            | North Sea                  | AF279754             | AJ228778             |
| Decacotylinae  |                         |                            |                      |                      |
| Decacotyle lymmae Young, 1967  | Aetobatus narinari      | Heron Island, Australia    | AF348359             |                      |
| Decacotyle tetrakordyle Chisholm & Whittington, 1998                                   | Pastinachus sephen      | Heron Island, Australia    | AF348358             |                      |
| Heterocotylinae  |                         |                            |                      |                      |
| Heterocotyle capricornensis Chisholm & Whittington, 1996                               | Pateobatis fai          | Heron Island, Australia    | AF348360             |                      |
| Neoheterocotyle rhinobatidis (Young, 1967) Chisholm, 1994                              | Glaucostegus typus      | Heron Island, Australia    | AF348361             |                      |
| Neoheterocotyle rhinobatis (Pillai & Pillai, 1976) Chisholm & Whittington, 1997        | Rhynchobatus djiddensis | Heron Island, Australia    | AF348362             |                      |
| $Ne ohetero cotyle\ rhynchobatis\ (Tripathi,\ 1959)\ Chisholm,\ 1994$                  | Glaucostegus typus      | Heron Island, Australia    | AF348363             |                      |
| Troglocephalus rhinobatidis Young, 1967  | Glaucostegus typus      | Heron Island, Australia    | AF348364             | AJ228795             |
| Loimoinae  |                         |                            |                      |                      |
| Loimosina sp.  | Sphyrna sp.             | Atlantic Ocean, off Brazil | KF908848             | KF908849             |
| Loimopapillosum pascuali n. sp.  | Hypanus dipterurus      | Pacific Ocean, off Peru    | MZ367713<br>MZ367714 | MZ367711<br>MZ367712 |
| Merizocotylinae  |                         |                            |                      |                      |
| Empruthotrema dasyatidis Whittington & Kearn, 1992                                     | Orectolobus maculatus   | Heron Island, Australia    | AF348345             |                      |
| Empruthotrema quindecima Chisholm & Whittington, 1999                                  | Taeniura lymma          | Heron Island, Australia    | AF348346             |                      |
| Merizocotyle australensis (Beverley-Burton & Williams, 1989)                           | Pateobatis fai          | Heron Island, Australia    | AF348348             |                      |
| Merizocotyle urolophi Chisholm & Whittington, 1999                                     | Urolophus bucculentus   | Tasmania, Australia        | AF348347             |                      |
| Monocotylinae  |                         |                            |                      |                      |
| Clemacotyle australis Young, 1967  | Aetobatus narinari      | Heron Island, Australia    | AF348350             |                      |
| Dendromonocotyle ardea Chisholm & Whittington, 1995                                    | Pastinachus sephen      | Heron Island, Australia    | AF348351             |                      |
| Dendromonocotyle octodiscus Hargis, 1955   | Hypanus americana       | Gulf of Mexico, Mexico     | AF348352             |                      |
| Monocotyle corali Chisholm, 1998   | Pastinachus sephen      | Heron Island, Australia    | AF348353             |                      |
| Monocotyle multiparous Measures, Beverley-Burton & Williams, 1990                      | Pateobatis fai          | Heron Island, Australia    | AF348356             |                      |

#### 3. **RESULTADOS**

Ordem Monocotylidea Lebedev, 1988 Família Monocotylidae Taschenberg, 1879 Subfamília Loimoinae Price, 1936

Loimopapillosum pascuali Chero, Cruces, Sáez, Oliveira, Santos & Luque, 2021 (Figuras 12A-F, 13A e 14A)

Descrição: Baseado em 25 espécimes adultos. Corpo alongado, fusiforme, 2,16-3,41 (2.70; n = 15) mm de comprimento, 0.32-0.44 (0.35; n = 14) mm de largura ao nível do testículo; ligeiramente contraído ao nível da faringe (Figura 12A). Tegumento liso. Pedúnculo ligeiramente de largura, alongado. Haptor diferenciado do corpo propriamente dito, 264–380 (311; n = 12) em diâmetro, amplamente elipsoide, côncavo-convexo, não dividido, com forte anel muscular, armado com duas âncoras e 14 ganchos semelhantes em papilas digitiformes musculares; membrana marginal presente. Âncora 30–31 (30,5; n = 4) de comprimento, raízes longas, raízes profundas e superficiais distintas; raiz profunda curta, espatulada distalmente, contraída na base; raiz superficial arredondada, espessa, com saliências distais; lâmina ligeiramente curva e ponta recurvada; ponta atingindo o nível da ponta da raiz superficial (Figura 12B). Ganchos 9-11 (10; n=7) de comprimento, cada um com ponta curta e curva, polegar protuberante e lâmina uniforme; Laço do gancho filamentoso (FH) estendendo-se até próximo ao nível da extremidade proximal da lâmina (Figura 12C). Região cefálica ligeiramente larga; com 4 pares de órgãos cefálicos (Figuras 12A e 13A); glândulas cefálicas posterolaterais à faringe. Manchas oculares ausentes. Boca ventral, subterminal, posterior aos órgãos cefálicos. Faringe muscular, piriforme, 102–125 (113; n = 11) de comprimento, 92–120 (100; n = 11) na maior largura, compreendendo a parte anterior curta e a parte posterior longa com 7-8 pacotes musculares transversais. Esôfago curto. Bifurcação intestinal anterior à abertura genital comum; cecos intestinais não ramificados, não confluentes posteriormente, estendendo-se até a extremidade posterior do corpo propriamente dito. Poro genital comum desarmado. Testículo oval, 284-362 (332; n = 6) de comprimento, 102-141 (128; n = 6) de largura, limitado ao campo intercaecal, bem separado da extremidade posterior do corpo. O vaso deferente é ligeiramente sinuoso, corre anteriormente dorsal ao duto vitelino transverso esquerdo, circulando sobre o bulbo ejaculatório, expandindo-se como uma vesícula seminal e entrando no bulbo ejaculatório. Bulbo ejaculatório muscular, pequeno, subesférico, 32–37 (34; n = 6) de comprimento, 24–29 (26; n = 6) de largura. Órgão copulador masculino 39–55 (48; n = 12) de comprimento, esclerotizado, em forma de funil com base assimétrica (Figuras 12D e acessória ausente. Ovário pretesticular, Peça alongado, envolvendo dorsoventralmente o ceco intestinal direito (Figura 12E), 299–345 (323; n = 6) de comprimento, 128-201 (174; n = 6) de largura. Glândulas de Mehlis e oótipo não observadas. Poro vaginal desarmado, abrindo-se ventralmente no lado direito. Vagina fracamente esclerotizada, em forma de clube, ligeiramente oblíqua, anterior ao ovário; porção proximal da vagina conectada ao receptáculo seminal por um duto estreito (Figura 12E); receptáculo seminal 49-58 (54; n = 3) de comprimento, 43-49 (46; n = 3) de largura. Folículos vitelinos densos, ausentes nas regiões dos órgãos reprodutivos (Figura 12E). Ovo oval (Figura 12F), 98–149 (134; n = 4) de comprimento, 86–117 (104; n = 4) de largura; filamento terminal único, curto, 30-45 (38; n = 2) de comprimento, com pequeno botão na extremidade distal.

#### Resenha taxonômica

**Hospedeiro tipo:** *Hypanus dipterurus* (Jordan et Gilbert) (Myliobatiformes: Dasyatidae), arraia diamante.

Sítio de infecção: Brânquia.

**Localidade tipo:** Puerto Pizarro, Região de Tumbes, Peru (3°29'S, 80°24'W). **Prevalência:** 2 de 3 hospedeiros infectados (67%) com um total de 52 vermes.

**Intensidade média de infecção:** 26 monogenéticos por hospedeiro infectado (intervalo 25–27).

Amostras depositadas: Holotype, MUSM 4660; 24 parátipos, MUSM 4661a-x.

**Sequências de DNA representativas:** As sequências foram depositadas no GenBank sob os números de acesso MZ367711 e MZ367712 para o rDNA 18S parcial com 489 pb e MZ367713 e MZ367714 para o rDNA 28S parcial com 914 pb.

**Etimologia:** A nova espécie leva o nome em homenagem a Pascual Chero Sullon, pai do primeiro autor.

#### Comentários:

Os espécimes coletados pertencem ao gênero *Loimopapillosum* por seu haptor, que é um disco côncavo-convexo, indiviso, armado com duas âncoras e 14 ganchos localizados em papilas digitiformes (Hargis, 1955). *Loimopapillosum pascuali* pode ser facilmente distinguido de *L. dasyatis* Hargis, 1955, principalmente pelo órgão copulador masculino, que é em forma de funil com uma base assimétrica (em forma de retorta em *L. dasyatis*) (Figura 14). Além disso, *L. pascuali* difere de *L. dasyatis* pela posição do OCM, que é posterior ao início dos folículos vitelinos (ao nível dos folículos vitelinos em *L. dasyatis*). A nova espécie também difere de *L. dasyatis* por ter a raiz superficial da âncora com saliências distais, a raiz profunda da âncora com uma constrição em sua base, um único testículo (dois testículos em *L. dasyatis*) e pelo número de órgãos cefálicos (4 em *L. pascuali* vs 5 em *L. dasyatis*) (Figura 13). *Loimopapillosum pascuali* é a segunda espécie descrita no gênero e representa o primeiro registro de uma espécie de *Loimopapillosum* em águas Sul-Americanas.

#### Caracterização genética

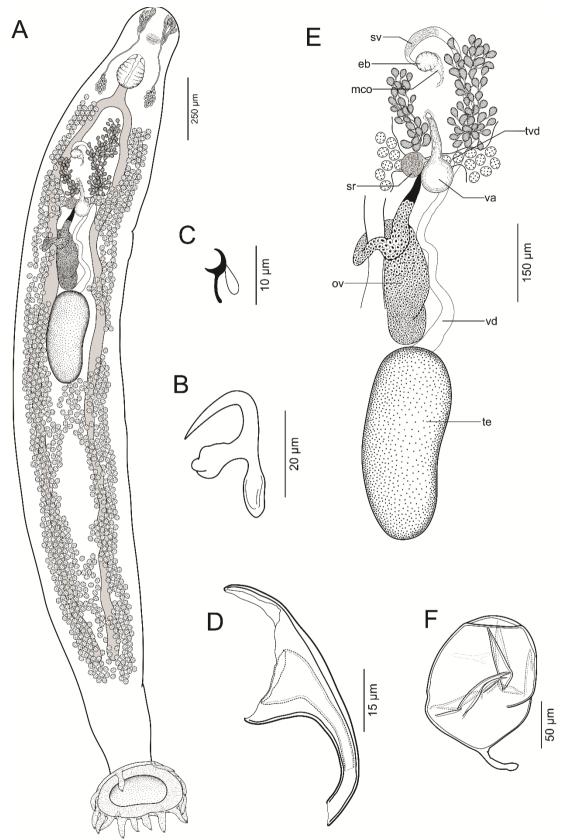
Para a primeira sequência parcial do gene 18S rDNA de *L. pascuali*, os resultados do BLAST indicaram 95% de identidade com *Troglocephalus rhinobatidis* (AJ228795); *Loimosina* sp. (KF908849) com 95% de identidade; e *Dictyocotyle coeliaca* (AJ228778) com 92% de identidade. Para a primeira sequência parcial do gene 28S rDNA, as sequências mais semelhantes incluíram aquelas de *Decacotyle lymmae* (AF348359) com uma identidade de 86% e *Heterocotyle capricornensis* (AF348360) com 85% de identidade.

## Análises filogenéticas de Monocotylidae

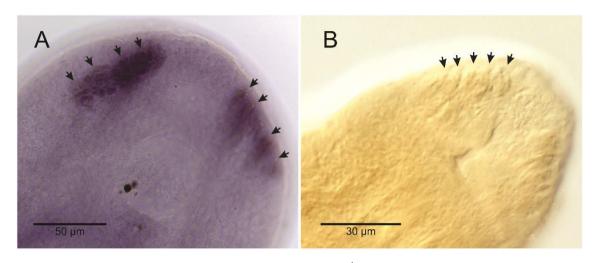
As árvores de inferência bayesiana baseadas nas sequências parciais dos genes 28S e 18S rDNA mostram que Loimoidae (representado neste estudo por *L.* pascuali e *Loimosina* sp.) está incluído em Monocotylidae Taschenberg, 1879 (Figuras 15 e 16). Portanto, propomos o restabelecimento de Loimoinae como uma subfamília de Monocotylidae.

A árvore filogenética baseada na sequência parcial 28S rDNA mostra dois clados principais (Figura 4). O primeiro clado, com um bom suporte estatístico (0,97), continha espécies de Calicotylinae e Merizocotylinae. Calicotylinae, representado por quatro espécies de Calicotyle que infectam Carchariniformes, Miliobatiformes e Rajiformes, C. urolophi e C. kroyeri, C. japonica e C. palombi, juntamente com Dictyocotyle coeliaca, apareceu como o clado irmão de Merizocotylinae, representado por Empruthotrema dasyatidae e Empruthotrema quindecima, juntamente com Merizocotyle urolophi e Merizocotyle australensis, mostraram um bom suporte estatístico (1). O segundo clado, com suporte estatístico 1, é politômico e compreende quatro subfamílias (Loimoinae, Heterocotylinae, Decacotylinae e Monocotylinae) com nove gêneros divididos em dois subclados principais com forte suporte estatístico (0,98 e 1, respectivamente). O primeiro subclado continha L. pascuali (Loimoinae) e H. capricornensis (Heterocotylinae), ambos parasitas branquiais de dasiátides, juntamente com Decacotyle lymmae e Decacotyle tetrakordyle (Decacotylinae), ambos ocorrendo em arraias (aetobatídeos na primeira espécie e dasiatídeos na última). Membros de Decacotylinae formam um grupo monofilético bem suportado, mas Heterocotylinae e Loimoinae aparecem como grupo não monofilético. É interessante notar o baixo suporte estatístico (0,58) entre essas subfamílias. Outro clado de Heterocotylinae representado por espécies que infectam Rhinopristiformes (Glaucostegidae e Rhinidae), ou seja, três espécies de Neoheterocotyle e Troglocephalus rhinobatidis, e Loimoinae com Loimosina sp. ocorrendo em um tubarão-martelo (Sphyrnidae), apresentou um forte suporte estatístico (1). O último continha membros do Monocotylinae infectando subclado arraias da ordem Myliobatiformes representadas duas espécies de Dendromonocotyle, por Dendromonocotyle octodiscus e Dendromonocotyle ardea agrupando-se com Clemacotyle australis, e duas espécies de Monocotyle, Monocotyle corali e Monocotyle multiparous, formando um grupo monofilético bem suportado.

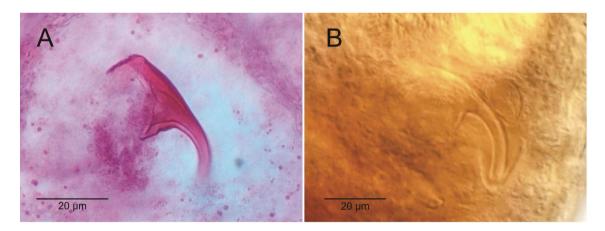
A reconstrução filogenética baseada na sequência parcial do gene 18S rDNA mostra que nossas sequências de consenso de *L. pascuali* está agrupado com *Loimosina* sp. formando um clado da subfamília Loimoinae (Figura 5). Este clado é o grupo irmão de *Troglocephalus rhinobatidis*, um membro da subfamília Heterocotylinae. Um segundo clado bem suportado é formado pelas espécies Calicotylinae, representadas por *Calicotyle affinis* e *Dictyocotyle coeliaca*.



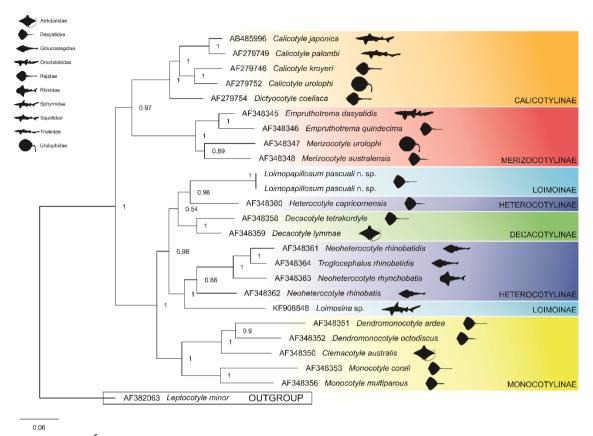
**Figura 12.** *Loimopapillosum pascuali* das brânquias de *Hypanus dipterurus*, holotype. **A.** Espécime (vista ventral). **B.** Âncora. **C.** Gancho. **D.** Órgão copulador masculino. **E.** Sistema reprodutivo. **F.** Ovo. ABREVIATURAS: eb, bulbo ejaculatório; ocm, órgão copulador masculino; ov, ovário; sr, receptáculo seminal; sv, vesícula seminal; tvd, duto vitelino transverso; te, testículo; va, vagina; vd, vaso deferente.



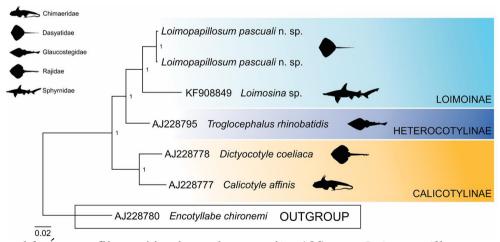
**Figura 13.** Morfologia dos órgãos cefálicos. A. Órgãos cefálicos de *L. pascuali*. B. Órgãos cefálicos de *L. dasyatis* Hargis, 1955.



**Figura 14.** Morfologia do órgão copulador masculino (OCM). A. OCM de *L. pascuali*. B. OCM de *L. dasyatis* Hargis, 1955.



**Figura 15.** Árvore filogenética baseada na região 28S para *Loimopapillosum pascuali* (Monocotylidae: Loimoinae) inferida por inferência Bayesiana (BI) para mostrar suas relações com outras espécies de Monocotylidae. Os números ao longo dos ramos indicam os valores de bootstrap obtidos a partir da probabilidade posterior de BI. Os números de acesso do GenBank são mostrados e a barra de escala indica as mutações de nucleotídeos por local.



**Figura 16.** Árvore filogenética baseada na região 18S para *Loimopapillosum pascuali* (Monocotylidae: Loimoinae) inferida por inferência Bayesiana (BI) para mostrar suas relações com outras espécies de Monocotylidae. Os números ao longo dos ramos indicam os valores de bootstrap obtidos a partir da probabilidade posterior de BI. Os números de acesso do GenBank são mostrados e a barra de escala indica as mutações de nucleotídeos por local.

## 4. DISCUSSÃO

Historicamente, representantes de Loimoinae Price, 1936 foram incluídos em Monocotylidae, ordem Capsaloidea Price, 1936. BYCHOWSKY (1957) elevou Loimoinae ao nível de família e foi incluído em Dactylogyridea Bychowsky, 1937. LEBEDEV (1988) reconheceu o status da família, mas foi transferido para os Monocotylidea Lebedev, 1988. De acordo com BYCHOWSKY (1957), Loimoidae inclui dois gêneros, *Loimos e Loimosina*, que são caracterizados por terem fossetas cefálicas, um haptor sem septos, com ou sem costelas dorsais esclerotizadas semicirculares e um ovário lobulado sem envolver o ceco intestinal direito. HARGIS (1955) propôs um terceiro gênero, *Loimopapillosum*, para acomodar *L. dasyatis* das brânquias de *Hypanus americanus* (Hildebrand & Schroeder, 1928) (tipo hospedeiro) e *Hypanus say* (Lesueur, 1817) em Alligator Harbor, Flórida (Estados Unidos) e emendou o diagnóstico da família. Esta espécie é caracterizada, além de outras características, por possuir um ovário que envolve o ceco intestinal direito (também observado na nova espécie aqui descrita), caráter considerado apomórfico entre os Monocotylidae (CHISHOLM et al. 1995), sugerindo uma relação filogenética com os monocotilídeos.

Duas espécies de Monocotylidae foram descritas tendo um ovário com as mesmas características de *Loimos* e *Loimosina* (sem envolver o ceco intestinal direito): *Mehracotyle insolita* Neifar, Euzet & Ben Hassine, 2002, um membro de Dasybatotreminae, das brânquias de *Glaucostegus cemiculus* (Geoffroy Saint-Hilaire, 1817) (Glaucostegidae) na Tunísia e *Anoplocotyloides papillatus* (Doran, 1953) Young, 1967, também membro de Dasybatotreminae infectando as brânquias de peixes da família Rhinobatidae (DORAN, 1953; BRAVO-HOLLIS, 1969; NEIFAR et al . 2002), exibindo uma relação filogenética com as espécies de *Loimos* e *Loimosina*. Essa relação também é suportada pela presença de fossetas cefálicas em *M. insolita* e *A. papillatus* e as espécies acima mencionadas (BOEGER et al. 2014).

A posição filogenética dos Loimoidae foi avaliada por BOEGER et al. (2014) usando dados moleculares, mas apenas uma única espécie, *Loimosina* sp., um monogenético de um tubarão-martelo na região Neotropical, foi incluída nesta análise. Como resultado, eles descobriram que Loimoidae (representado por *Loimosina* sp.) caiu dentro de um clado monocotilídeo principal, incluindo espécies de Heterocotylinae, Decacotylinae e Monocotylinae, sugerindo que Loimoidae representa um táxon subordinado de Monocotylidae. Em suas análises filogenéticas, eles descobriram que *Loimosina* sp. formou um clado terminal com *Troglocephalus rhinobatidis* e *Neoheterocotyle rhinobatis*.

No presente trabalho, nossas sequências parciais do gene 28S rDNA de L. pascuali da região Neotropical estão agrupados em um clado com *H. capricornensis*, um membro de Heterocotylinae, da região australiana. Essas duas espécies são parasitos das brânquias de arraias do ordem Myliobatiformes (Dasyatidae) e compartilham algumas características morfológicas, por exemplo, um ovário que envolve o ceco intestinal direito, presença de órgãos cefálicos e âncoras pequenas com as raízes profundas maiores e mais estreitas do que as raízes superficiais. Este clado (*L. pascuali + H. capricornensis*) junto com *D. lymmae* e *D. tetrakordyle* representa o grupo irmão de um clado contendo quatro espécies de Heterocotylinae da região australiana (três espécies de *Neoheterocotyle* e *T. rhinobatidis* que infectam Rhinopristiformes, junto com *Loimosina* sp. (Loimoinae). Aparentemente, os Heterocotylinae (aqui representados por *H. capricornenesis*, três espécies de *Neoheterocotyle* e *T. rhinobatidis*) e os Loimoinae (aqui representados por *Loimosina* e *L. pascuali*) são grupos não monofiléticos, indicando que as relações ainda são amplamente mal compreendidas nessas duas subfamílias.

Aparentemente, *Loimosina* sp. e *L. pascuali* (ambos em Loimoinae) não são espécies filogeneticamente relacionadas. embora seja verdade que ambas espécies exibem uma grande semelhança morfológica, existem diferenças morfológicas marcantes entre as espécies de ambos gêneros que poderiam apoiar esta hipótese, por exemplo, as espécies de *Loimopapillosum* têm um ovário que envolve o ceco intestinal direito (em oposição a um ovário intercaecal em *Loimosina* spp.), um ovário compacto (em oposição a um ovário lobulado em espécies de *Loimosina*), um testículo não lobulado (em oposição a um testículo lobulado em *Loimosina* spp.) e órgãos cefálicos (em oposição a fossas cefálicas em *Loimosina* spp.).

Por outro lado, nossas sequências do gene 18S rDNA da nova espécie são agrupadas com *Loimosina* sp. (KF908849) formando um clado da subfamília Loimoinae. No entanto, esse resultado pode ser devido ao baixo número de sequências utilizadas na análise filogenética. Provavelmente, adicionando mais sequências de espécies de monocotilídeos, principalmente de espécies das famílias Heterocotylinae e Decacotylinae, a relação filogenética entre *Loimosina* sp. e *L. pascuali* pode ser melhor resolvida.

Finalmente, nossos resultados com base nas sequências parciais dos genes 28S e 18S rDNA confirmam a rejeição de *Loimoidae* Price, 1936 (representado neste estudo por *L. pascuali* e *Loimosina* sp.) e sua reincorporação como uma subfamília de Monocotylidae como foi sugerido anteriormente (BOEGER et al. 2014). Infelizmente, não há dados genéticos disponíveis de espécie de *Loimos* para testar sua relação filogenética com *Loimosina* sp. e *L. pascuali*.

Loimopapillosum agora inclui duas espécies que parasitam arraias marinhas: L. dasyatis, a espécie-tipo descrita a partir das brânquias de dois hospedeiros diferentes, H. americanus (hospedeiro-tipo) e H. say no Golfo de México (EEUU). Loimopapillosum pascuali com um OCM em forma de funil com base assimétrica é a primeira espécie a ser descrita do Oceano Pacífico. Portanto, L. dasyatis pode ser facilmente diferenciado de L. pascuali não apenas por caracteres morfológicos, mas também pela distribuição geográfica de seus hospedeiros. Hypanus dipterurus, hospedeiro de L. pascuali é tipicamente uma espécie subtropical com uma distribuição restrita ao Pacífico Oriental (do sul da Califórnia, EUA ao Peru), enquanto H. americanus e H. say, hospedeiros de L. dasyatis, são endêmicos do Atlântico Ocidental (DUNN et al., 2003; NELSON, 2006; LAST et al., 2016). Infelizmente, dados moleculares para L. dasyatis não estão disponíveis no GenBank, o que poderia nos ajudar a elucidar as relações filogenéticas entre esses dois táxons.

Quarenta e duas espécies de monogenéticos foram relatadas infectando peixes cartilaginosos marinhos da América do Sul (SANTOS et al., 2012; IRIGOITIA et al., 2014; IRIGOITIA et al., 2016; LUQUE et al., 2016; KOHN et al., 2016; CHERO et al., 2018a, b; IRIGOITIA et al., 2019; ÑACARI et al., 2018; CHERO et al., 2019; ÑACARI et al., 2019; CHERO et al., 2020; ÑACARI et el., 2020). Destas, 24 espécies pertencem aos Monocotylidae e apenas três espécies pertencem aos Loimoinae: Loimos scitulus Burhnheim, 1972 de Rhizoprionodon terraenovae (Richardson, 1836) no Brasil; L. scoliodoni (Manter, 1938) de Mustelus dorsalis Gill, 1864 no Peru; e Loimosina sp. de um tubarão-martelo no Brasil. Loimopapillosum pascuali é adicionado às 42 espécies previamente conhecidas que infectam condrictes marinhos da América do Sul e representa a segunda espécie de Loimoinae que infecta condrictes do Peru.

## **CAPÍTULO IV**

Diplectanídeos (Monogenea: diplectanidae) parasitos de peixes cienídeos marinhos (Perciformes: Sciaenidae) na América do Sul, com a proposta de um novo gênero e descrição de oito novas espécies<sup>4</sup>

Chero, J.D.; Cruces, C.L.; Sáez, G.; Luque, J.L. First data on the parasites of the Pacific kingcroaker *Menticirrhus elongatus* (Perciformes: Sciaenidae): Description of a new species of *Rhamnocercoides* (Dactylogyridea: Diplectanidae). **Acta Parasitologica**, v. 66, pp. 1246–1250, 2021, doi: 10.1007/s11686-021-00388-2 (ANEXO IV).

Chero, J.D.; Cruces, C.L.; Sáez, G.; Luque, J.L. Six new species of *Rhamnocercus* Monaco, Wood & Mizelle, 1954 (Monogenea: Diplectanidae) infecting the gills from South American sciaenid fishes. **Systematic Parasitology**, v. 99, pp. 571–585, 2022, doi: 10.1007/s11230-022-10047-3 (ANEXO IV).

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup>Artigos publicados: Chero, J.D.; Cruces, C.L.; Sáez, G.; Luque, J.L. First data on the parasites of the Pacific kingcroaker *Menticirrhus elongatus* (Perciformes: Sciaenidae): Description of a new species of *Rhamnocercoides* (Dactylogyridea: Diplectanidae). **Acta Parasitologica**, v. 66, pp. 1246–1250, 2021, doi: 10.1007/s11686-021-00388-2 (ANEXO IV).

# 1. INTRODUÇÃO

Os Sciaenidae (Perciformes: Sciaenidae) são principalmente peixes marinhos e representam um importante recurso pesqueiro em todo o mundo (NELSON, 2006; SANTOS et al., 2013). Eles são conhecidos por hospedar espécies de diplectanideos (Monogenea: Diplectanidae) do gênero *Anoplectanum* Boeger, Fehlauer & Marques, 2006, *Diplectanum* Diesing, 1858, *Murraytrema* Price, 1937, *Rhamnocercoides* Luque & Iannacone, 1991, *Rhamnocercus* Monaco, Wood & Mizelle, 1954, e *Spinomatrix* Boeger, Fehlauer & Marques, 2006 (DOMINGUES e BOEGER, 2008).

Rhamnocercus é um gênero altamente específico para peixes cienídeos marinhos e caracteriza-se por apresentar espinhos pedunculares (dorsal e ventral) com raiz anterior várias vezes mais curta que a posterior, uma barra ventral com projeção posteromedial, 3 ou 6 espinhos acessórios haptorais ao nível da barra ventral, e um órgão copulatório masculino (OCM) com tubo interno colapsado contra o tubo externo (DOMINGUES e BOEGERGER, 2006). Este gênero atualmente está composto por 6 espécies aceitas, com a maioria descrita de cienídeos do Oceano Pacífico e apenas duas espécies do Oceano Atlântico (CHERO et al., 2017). Rhamnocercus dominguesi Chero, Cruces, Sáez, Iannacone & Luque, 2017 foi a última espécie descrita no gênero Rhamnocercus e foi encontrada nas brânquias de Paralonchurus peruanus (Steindachner) no Peru (CHERO et al., 2017). O gênero Rhamnocercoides também é específico de peixes cienídeos (CHERO et al., 2017).

Durante um levantamento parasitológico de peixes marinhos sul-americanos realizado de dezembro de 2019 a fevereiro de 2022, vários espécimes de monogenéticos foram encontrados nas brânquias de seis peixes cienídeos. O exame morfológico detalhado revelou que os monogenéticos representam um novo gênero e espécie de Diplectanidae, uma nova espécie de *Rhamnocercoides* e seis novas espécies de *Rhamnocercus*, que são descritas aqui.

#### 2. MATERIAL E MÉTODOS

Os peixes foram coletados entre dezembro de 2019 a fevereiro de 2020 na costa de Puerto Santa Rosa, Lambayeque, Peru (6°52'S, 79°55'W), na costa de Puerto Pizarro, Tumbes, Peru (3°29'S, 80°24'W), e da zona costeira do Estado do Rio de Janeiro, Brasil (23°00'S, 44°10'W), utilizando redes de espera e foram dissecados imediatamente após a captura. Os arcos branquiais foram imediatamente removidos e colocados em frascos contendo água do mar aquecida (60°C). Cada frasco foi agitado vigorosamente e foi adicionada formalina para obter uma solução a 4%. No laboratório, o conteúdo de cada frasco foi examinado sob um microscópio de dissecação e os monogenéticos foram removidos das brânquias ou sedimentos usando estiletes finos. Alguns espécimes foram corados com tricrômio de Gomori, clarificados em eugenol e montados em bálsamo do Canadá. Outros espécimes foram montados em meio Gray & Wess (HUMASON 1979) para o estudo de estruturas esclerotizadas. As amostras foram examinadas usando um fotomicroscópio composto OlympusTM BX51 equipado com óptica de luz normal e microscopia de contraste de interferência diferencial (DIC) e os desenhos foram feitos com o auxílio de um tubo de desenho e redesenhados no programa CorelDraw Graphics Suite 2018. As medições são em micrômetros, exceto quando indicado, usando distâncias em linha reta entre os pontos extremos das estruturas medidas e são expressas como a faixa seguida pela média e número (n) de estruturas medidas entre parênteses. O comprimento do corpo representa o comprimento do corpo próprio com o haptor. A

numeração dos pares de ganchos segue a recomendada por MIZELLE (1936) e MIZELLE e PRICE (1963) para Ancyrocephalinae por apresentarem a mesma distribuição. Os peixes foram identificados utilizando as chaves de peixes marinhos peruanos de CHIRICHIGNO e VÉLEZ (1998) e as chaves de peixes marinhos brasileiros de MENEZES e FIGUEIREDO (1980).

Para fins comparativos, foram examinados os seguintes espécimes depositados na Coleção Helmintológica do Museu de História Natural da Universidade San Marcos (MUSM), Lima, Peru e na Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC), Brasil: *Diplectanum monticellii* (CHIOC 34962, holótipo; CHIOC 34963–34964, parátipos) *Rhamnocercoides menticirrhi* Luque & Iannacone, 1991 (MUSM 3288, neótipo), *Rhamnocercus dominguesi* Chero, Cruces, Sáez, Iannacone & Luque, 2017 (MUSM 3292, holotype), *Rhamnocercus oliveri* Luque & Iannacone, 1991 (MUSM 1727, voucher), *Rhamnocercus stelliferi* Luque & Iannacone, 1991 (MUSM 1729, voucher) e *Pseudorhamnocercoides stichospinus* (Seamster & Monaco, 1956) Chero, Cruces, Sáez, Iannacone & Luque, 2017 (CHIOC 33959a-f, voucher). O material tipo foi depositado no MUSM e no CHIOC.

#### 3. RESULTADOS

Ordem Dactylogyridea Bychowsky, 1937 Família Diplectanidae Monticelli, 1903 Subfamília Diplectaninae Monticelli, 1903

Cynoscionella Chero, Cruces, Sáez & Luque, 2022

Diagnose: Diplectaninae. Corpo compreendendo corpo próprio (região cefálica, tronco e pedúnculo) e haptor. Tegumento escamado. Região cefálica com lobo cefálico ventral terminal; pares bilaterais de órgãos da cabeça; glândulas cefálicas unicelulares, pósterolaterais à faringe. Manchas oculares presentes. Boca subterminal, medioventral; faringe muscular, glandular; esôfago curto, bifurcando-se para formar dois cecos intestinais; cecos intestinais terminando cegamente posterior às gônadas. Átrio genital esclerotizado ou aparentemente musculoso. Testículo dorsal e ligeiramente justaposto ao ovário, intercecal; vesícula seminal uma dilatação simples do duto deferente; um reservatório prostático, dorsal ao órgão copulatório masculino (OCM). OCM tubular, composto por 2 tubos aninhados (tubo interno e externo) com base em forma de manga levemente esclerotizada. Peça acessória ausente. Órgão copulador acessório ausente. Ovário em volta do ceco intestinal direito. Abertura vaginal sinistra; vagina muscular ou levemente esclerotizada, desembocando no receptáculo seminal. Haptor com lobos bilaterais, esquamodisco dorsal e ventral, pares de âncoras dorsais e ventrais, barra ventral, barras dorsais pareadas e 7 pares de ganchos. Esquamodisco com fileiras anteriores de ossículos em anéis abertos. Raiz superficial da âncora ventral desenvolvida. Parasitas de brânquias de espécies de peixes cienídeos.

**Espécie tipo:** *Cynoscionella sanmarci* Chero, Cruces, Sáez & Luque, 2022. **Etimologia:** O nome do gênero refere-se ao nome do gênero do peixe hospedeiro (*Cynoscion*). O diminutivo -ella é anexado ao nome do gênero e deve ser tratado como

feminino.

#### Comentários:

Cynoscionella distingue-se de todos os outros gêneros de Diplectaninae por seu OCM com uma base em forma de manga levemente esclerotizada, sem peça acessória, e a âncora ventral com raiz superficial desenvolvida. Este novo gênero se assemelha mais a Diplectanum Diesing, 1858 sensu stricto de acordo com DOMINGUES e BOEGER (2008). Os membros de ambos os gêneros compartilham as seguintes características: (i) um OCM tubular composto por 2 tubos aninhados (tubo externo e interno), sem peça acessória, e (ii) esquamodisco dorsal e ventral com fileiras anteriores de ossículos com anéis abertos. No entanto, e além das características distintivas já referidas, Cynoscionella difere de Diplectanum por suas espécies apresentam um reservatório prostático simples (reservatório prostático separado em três zonas no Diplectanum), e por não ter um órgão copulador acessório (órgão copulador acessório presente em Diplectanum).

# Cynoscionella sanmarci Chero, Cruces, Sáez & Luque, 2022 (Figura 17A-H)

**Descrição:** Baseado em 14 espécimes adultos. Corpo alongado (Fig. 17A), 350–405 (378; n = 8) de comprimento; maior largura 62–85 (73; n = 7) geralmente ao nível do ovário.

Região cefálica ligeiramente larga; lobos cefálicos pouco a moderadamente desenvolvidos; órgãos da cabeca conspícuos; glândulas cefálicas discretas. Dois pares de manchas oculares, equidistantes. Faringe esférica, 18–21 (19; n = 8) de diâmetro. Pedúnculo estreito, alongado. Haptor subtriangular (Fig. 17A), diferenciado do corpo propriamente dito, 45-58 (51; n = 6) de comprimento; 119-146 (134; n = 6) de largura, com dois lobos laterais bem desenvolvidos. Esquamodiscos semelhantes, cada um com 37-53 (45; n = 5) de comprimento; 48-66 (56; n = 5) de largura, com 15-21 fileiras concêntricas; ossículos em forma de haltere (Fig. 17B). Âncoras com asas bem conspícuas (Fig. 17C, D). Âncora ventral 54-58 (56; n = 8) longa, com raiz superficial alongada, raiz profunda alongada e nó medial, eixo curvo e alongado e ponta recurvada (Fig. 17C); base 4–6 (5; n = 8) de largura. Âncora dorsal 48–53 (51; n = 7) longa, com raiz superficial imperceptível, raiz profunda alongada, eixo alongado e reto e ponta recurvada (Fig. 17D); base 3-5 (4; n=6) de largura. Barra ventral 83-140 (106; n=8) longa, alongada, em forma de V, com extremidades afiladas; constrição anteromedial presente (Fig. 17E). Barras dorsais 53–106 (69; n = 9) longas, em forma de bastonete com extremidade medial expandida e extremidade lateral cilíndrica (Fig. 17F). Quatorze ganchos semelhantes, 10-12 (11; n = 5) de comprimento, cada um com o polegar deprimido, eixo fino e curvo e ponta curta; laço de gancho filamentoso (FH) sobre o comprimento do eixo (Fig. 17G); par de ganchos 1 ao nível da barra ventral; pares de ganchos 5 posteriores às extremidades da barra ventral, outros pares submarginais nos lobos haptorais laterais (Fig. 17A). OCM reto, em forma de taco, 41-74 (57; n=9) de comprimento; tubo externo com porção distal em forma de gancho e base anelada (Fig. 17H). Testículo não lobulado, 38–51 (46; n = 6) de comprimento, 31–45 (40; n = 6) de largura; vaso deferente enrolando cecos intestinais esquerdos, dilatando-se para formar uma vesícula seminal no lado esquerdo do tronco; um reservatório prostático oval; glândulas prostáticas visíveis. Ovário 19–23 (21; n = 3) de comprimento, 31–36 (34; n = 3) de largura, alongado; oviduto, oótipo e útero não observados. Abertura vaginal ao nível do OCM; vestíbulo vaginal curto; duto vaginal estreito, curto, correndo posteriormente para se unir ao pequeno receptáculo seminal subesférico (Fig. 17A). Folículos vitelinos densos, estendendo-se do nível posterior da faringe até a extremidade posterior do tronco, ausentes nas regiões dos órgãos reprodutores. Ovos não observados.

#### Resenha taxonômica

**Hospedeiro tipo:** *Cynoscion phoxocephalus* Jordan & Gilbert (Perciformes: Sciaenidae). **Sítio de infecção:** Brânquias.

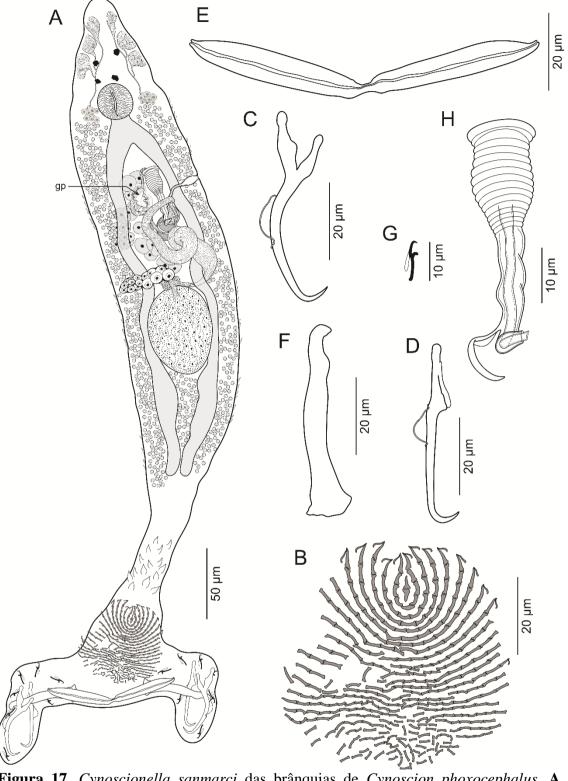
Localidade tipo: Puerto Pizarro, Região de Tumbes, Peru (3°29'S, 80°24'W).

**Amostras depositadas:** Holotype, MUSM 4907; 4 parátipos, MUSM 4908a-d; 5 parátipos, CHIOC 39757 a-e.

**Etimologia:** A nova espécie é nomeada em homenagem à Universidade de San Marcos (Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Peru), "Decana das Américas".

#### Comentários:

Cynoscionella sanmarci é a espécie-tipo do novo gênero. A nova espécie é caracterizada pelo seu OCM em forma de garrote, possuindo a porção distal em forma de gancho e base anelada. Além disso, a nova espécie é caracterizada por apresentar uma barra ventral com constrição ântero-medial conspícua.



**Figura 17.** *Cynoscionella sanmarci* das brânquias de *Cynoscion phoxocephalus*. **A.** Espécime (vista ventral). **B.** Esquamodisco. **C.** Âncora ventral. **D.** Âncora dorsal. **E.** Barra ventral. **F.** Barra dorsal. **G.** Gancho. **H.** Órgão copulador masculino. ABREVIATURAS: gp, poro genital.

#### Rhamnocercoides Luque & Iannacone, 1991

# Rhamnocercoides lambayequensis Chero, Cruces, Sáez & Luque, 2021 (Figura 18A-M)

**Descrição:** Baseado em 17 espécimes adultos. Corpo alongado (Fig. 18A), 786–803 (797; n = 18) de comprimento; maior largura 136-153 (147; n = 18) geralmente ao nível da região média do tronco. Tegumento com escamas, na porção posterior do tronco (Fig. 1A). Região cefálica ligeiramente larga; lobos cefálicos moderadamente desenvolvidos; três pares bilaterais de órgãos da cabeça conspícuos; par bilateral de glândulas cefálicas unicelulares ao nível da faringe. Dois pares de manchas oculares presentes, equidistantes, par posterior maior que par anterior. Faringe esférica, 43-60 (54; n = 11) de diâmetro; esôfago curto; cecos intestinais não ramificados, estendendo-se da extremidade anterior até próxima da extremidade posterior do tronco, não confluentes posteriormente. Pedúnculo ligeiramente largo, curto. Haptor subtriangular (Fig. 18A), diferenciado do corpo propriamente dito, 158-175 (169; n = 10) de comprimento; 435-452 (446; n = 10) de largura, com dois lobos laterais bem desenvolvidos. Âncoras diferentes (Fig. 18A-C), sem asas finas e conspícuas. Âncora ventral 79-96 (90; n=8) longa, com raiz superficial arredondada e curta, raiz profunda bem alongada e resistente, eixo curvo e ponta recurvada; ponta ultrapassando o nível da ponta da raiz superficial; base 8-10 (9; n=8) de largura (Fig. 18B). Âncora dorsal 83–98 (94; n = 6) longa, com raiz superficial imperceptível, raiz profunda alongada, eixo reto e ponta recurvada; base 5-7 (6; n = 6) de largura (Fig. 18C). Barra ventral 372–389 (382; n = 10) longa, alongada, largamente em forma de V, com extremidades agudas direcionadas anteriormente; sulco longitudinal ventral presente; projeção póstero-medial curta e constrição ântero-medial presentes (Fig. 18D). Barras dorsais 119-136 (130; n = 9) longas, em forma de bastonete com extremidade medial espatulada e extremidade lateral cilíndrica (Fig. 18E). Quatorze ganchos semelhantes, 10-13 (11; n = 10) de comprimento, cada um com polegar obtuso deprimido, eixo fino e curvo e ponta curta; laço de gancho filamentoso (FH) sobre o comprimento do eixo (Fig. 18F); par de ganchos 1 ao nível da barra ventral; par de ganchos 5 ao nível da parte distal do eixo da âncora ventral, outros pares submarginais nos lobos haptorais laterais (Fig. 1A). Espinhos aciculares haptorais ventrais e dorsais, dispostos em 4 fiadas (Fig. 18A); fileiras 1 e 4 com espinhos aciculares haptorais com porção distal aguda (HAA) (Fig. 18A, G); fileiras 2 e 3 com HAA e com espinhos aciculares haptorais com porção distal expandida (HAE) (Fig. 18A, H); espinhos aciculares posteriores do haptor maior que os anteriores. Espinhas acessórias do haptor ao nível da barra ventral com porção distal em forma de gancho e com delicada membrana umbeliforme (HSH) (Fig. 18A, I); dispostos diagonalmente em cada extremidade lateral da barra ventral; espinhos anteriores maiores que os posteriores (Fig. 18A). Espinhas acessórias haptorais associadas aos lobos haptorais (HSL), com morfologia semelhante às espinhas aciculares haptorais; espinhos mediais maiores que os espinhos laterais (Fig. 18A, J). Espinhas acessórias haptorais associadas às pontas das âncoras (HSA), dispostas como espigões (Fig. 18A, K). Espinhas acessórias haptorais ao nível da margem anterior da barra ventral com porção distal bífida (HSB) (Fig. 18A, L). Órgão copulatório masculino (OCM) tubular, reto, 76–93 (87; n = 12) de comprimento, composto por dois tubos aninhados (tubos internos e externos); tubo externo expandido e bifurcado distalmente, ramo esquerdo curto, ramo direito longo e levemente sinuoso; porção distal do tubo interno descoberto pelo tubo externo (Fig. 18M). Testículo dorsal ao ovário, não lobulado, 50-68 (62; n = 8) de comprimento, 27-42 (36; n = 8) de largura; vaso deferente enrolando cecos intestinais esquerdos, dilatando-se para formar grande vesícula seminal

fusiforme no lado esquerdo do tronco, lateral ao OCM; um reservatório prostático oval, dextrolateral à OCM; glândulas prostáticas conspícuas, intercecais. Ovário 98–102 (99; n = 8) longo, 47–64 (58; n = 8) de largura, alongado; oviduto, oótipo e útero não observados. Abertura vaginal sinistra ao nível do ovário; vestíbulo vaginal curto, quase piriforme, pouco esclerotizado; duto vaginal estreito, curto, correndo posteriormente para unir-se ao pequeno receptáculo seminal subesférico (fig. 18A). Dois anéis musculares semicirculares (SMR) presentes, posteriores ao testículo (Fig. 18A). Folículos vitelinos densos, estendendo-se do nível posterior da faringe até a extremidade posterior do tronco. Ovos não observados.

#### Resenha taxonômica

Hospedeiro tipo: Menticirrhus elongatus (Günther 1864) (Perciformes: Sciaenidae).

Sítio de infecção: Brânquias.

**Localidade tipo:** Puerto Santa Rosa, região de Lambayeque, Peru, Oceano Pacífico Sul (6°52'S, 79°55'W).

Amostras depositadas: Holótipo, MUSM 4713; 17 parátipos, MUSM 4714a-g.

**Etimologia:** A nova espécie é nomeada por a localidade-tipo onde os espécimes foram coletados.

## Comentários:

Com base na presença de 11-13 fileiras de espinhos aciculares haptorais com a porção distal aguda, espinhos aciculares com a porção distal bífida e espinhos aciculares com a porção distal em forma de gancho (CHERO et al., 2021), os espécimes recém-coletados de M. elongatus são atribuídos a Rhamnocercoides. Rhamnocercoides lambayequensis caracteriza-se principalmente pelo seu OCM, que é tubular e reto, com tubos externos (distalmente expandidos e bifurcados) e internos (distalmente descobertos pelo tubo externo) (OCM tubular com dois botões na região proximal e a porção distal do tubo externo expandido e com forma de funil em R. menticirrhi Luque & Iannacone, 199). Rhamnocercoides lambayequensis também difere do tipo e única espécie do gênero, R. menticirrhi de M. ophicephalus (Jenyns 1840) no Peru, por ter uma vagina quase piriforme e fracamente esclerotizada (uma vagina saciforme com bainha em forma de taça esclerotizada proximal em R. menticirrhi); espinhos aciculares haptorais com porção distal expandida (espinhos aciculares haptorais apenas com porção distal aguda em R. menticirrhi) e por possuírem um pequeno grupo de espinhos acessórios haptorais associados a lobos haptorais dispostos em forma de espigões (ausentes em R. menticirrhi). Além disso, R. lambayequensis difere de R. menticirrhi pelo tamanho da barra ventral (372–389 em R. lambayequensis versus 234–242 em R. menticirrhi) e pela largura do haptor (435–452 na nova espécie versus 263 –344 em R. menticirrhi).

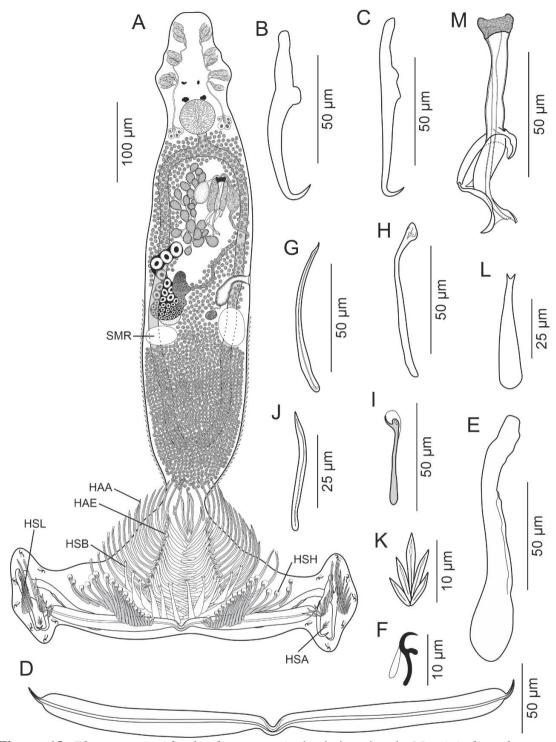
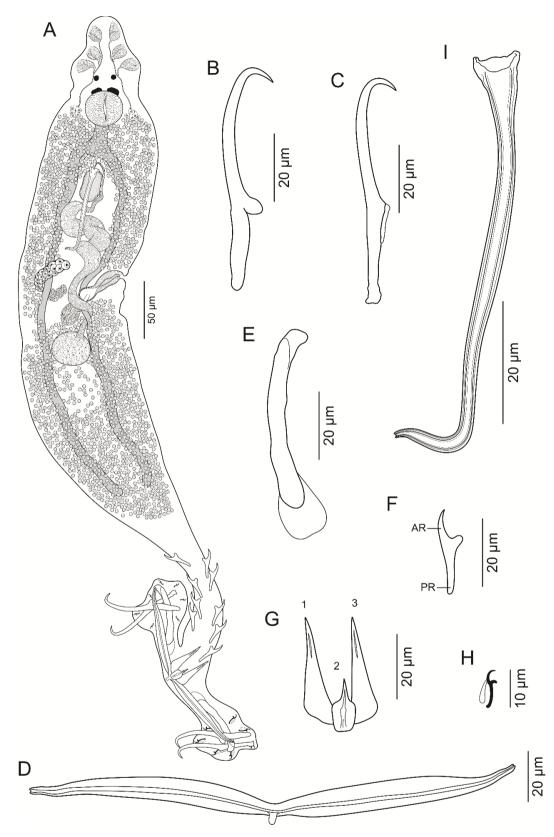


Figura 18. Rhamnocercoides lambayequensis das brânquias de Menticirrhus elongatus. A. Espécime (vista ventral). SMR, anéis musculares semicirculares. B. Âncora ventral. C. Âncora dorsal. D. Barra ventral. E. Barra dorsal. F. Gancho. G. Espinhas aciculares haptorais com porção distal aguda (HAA). H. Espinhas aciculares haptorais com porção distal expandida (AEH). I. Espinhas acessórias do haptor com porção distal em forma de gancho e delicada membrana umbeliforme (HSH). J. Espinhas acessórias haptorais associadas aos lobos haptorais (HSL). K. Pequeno grupo de espinhos acessórios haptorais associados a lobos haptorais dispostos em forma de espigas (HAS). L. Espinhas acessórias haptorais com porção distal bífida (HSB). M. Órgão copulador masculino.

#### Rhamnocercus Monaco, Wood & Mizelle, 1954

## Rhamnocercus chacllae Chero, Cruces, Sáez & Luque, 2022 (Figura 19A-I)

Descrição: Baseado em 10 espécimes adultos. Corpo fusiforme (Fig. 19A), 652-817 (745; n = 10) de comprimento; maior largura 100-125 (109; n = 8) geralmente ao nível do ovário. Região cefálica com lobos terminais pouco desenvolvidos; 3 pares bilaterais de órgãos da cabeça conspícuos; Par bilateral de glândulas cefálicas unicelulares posterolateral à faringe (Fig. 19A). Dois pares de manchas oculares presentes, equidistantes (Fig. 19A). Boca subterminal; faringe esférica, 30-38 (36; n = 7) de diâmetro; esôfago curto; cecos intestinais não ramificados, estendendo-se da extremidade anterior até próxima da extremidade posterior do tronco, não confluentes posteriormente. Haptor diferenciado do corpo próprio, com dois lobos laterais bem desenvolvidos (Fig. 1A), 53-76 (62; n = 6) de comprimento, 195-212 (201; n = 6) de largura. Âncoras dissimilares (Fig. 19B, C), sem asas finas e conspícuas. Âncora ventral 62–70 (67; n = 7) longa, com raiz superficial curta e arredondada, raiz profunda bem alongada e resistente, eixo curvo e ponta recurvada (Fig. 19B); ponta ultrapassando o nível da ponta da raiz superficial; base 5-7 (6; n = 4) de largura. Âncora dorsal 65-72 (70; n = 7) longa, com raiz superficial imperceptível, raiz profunda alongada e subretangular, eixo levemente curvado e ponta recurvada (Fig. 19C); ponta ultrapassando o nível da ponta da raiz superficial; base 4-5 (4; n = 4) de largura. Barra ventral 172–177 (174; n = 7) longa, alongada, largamente em forma de V, com extremidades afiladas e um leve entalhe anteromedial; sulco longitudinal ventral presente; projeção póstero-medial curta presente (Fig. 19D). Barras dorsais 63-75 (68; n = 6) longas, em forma de bastonete, com extremidade medial espatulada (Fig. 19E). Quatorze ganchos semelhantes, 10-13 (11; n = 5) de comprimento, cada um com polegar obtuso deprimido, eixo fino e curvo e ponta curta; laço de gancho filamentoso (FH) sobre o comprimento do eixo (Fig. 19F); par de ganchos 1 ao nível da barra ventral; par de ganchos 5 ao nível da parte distal do eixo da âncora ventral, outros pares submarginais nos lobos haptorais laterais (Fig. 19A). Três espinhos acessórios haptorais ao nível da barra ventral com porção distal aguda, espinho médio (indicado como 2 na Fig. 19G) menor que os espinhos bilaterais (indicados como 1 e 3 na Fig. 19G); espinhas acessórias do haptor associado com lobos do haptor presentes. Pedúnculo delgado, alongado, com espinhos pedunculares (Fig. 19A); espinhos pedunculares ventral e dorsal, com raiz anterior várias vezes menor que a raiz posterior (Fig. 1H), dispostos em duas fileiras longitudinais, facilmente perdidos no espécime preservado. Órgão copulador masculino (OCM), tubular, longo, em forma de L, composto por dois tubos aninhados (tubo interno e externo) (Fig. 19I), 75–89 (83; n = 8) de comprimento. Testículo dorsal ao ovário, não lobulado; vaso deferente enrolando cecos intestinais esquerdos, dilatando-se para formar grande vesícula seminal fusiforme no lado esquerdo do tronco, lateral ao OCM; um reservatório prostático oval, dextrolateral à OCM; glândulas prostáticas conspícuas, intercecais (Fig. 19A). Ovário alongado; oviduto, oótipo e útero não observados (Fig. 19A). Abertura vaginal sinistra ao nível do ovário; vestíbulo vaginal curto, sacado, fracamente esclerotizado; duto vaginal estreito, fracamente esclerotizado, curto, correndo posteriormente para unir-se ao pequeno receptáculo seminal subesférico (Fig. 19A). Folículos vitelinos densos, estendendo-se do nível posterior da faringe até a extremidade posterior do tronco, ausentes nas regiões dos órgãos reprodutores (Fig. 19A). Ovos não observados.



**Figura 19.** Rhamnocercus chacllae das brânquias de Pareques lanfeari. **A.** Espécime (vista ventral). **B.** Âncora ventral. **C.** Âncora dorsal. **D.** Barra ventral. **E.** Barra dorsal. **F.** Espinho peduncular. **G.** Espinhos acessórios haptorais ao nível da barra ventral. **H.** Gancho. **I.** Órgão copulador masculino.

#### Resenha taxonômica

Hospedeiro tipo: Pareques lanfeari (Barton) (Perciformes: Sciaenidae).

Sítio de infecção: Brânquias.

Localidade tipo: Puerto Santa Rosa, região de Lambayeque, Peru, Oceano Pacífico Sul

(6°52′S, 79°55′W).

Amostras depositadas: Holótipo, MUSM 4873; 8 parátipos, MUSM 4874a-h; 1

parátipo, CHIOC 39751.

**Etimologia:** O nome específico refere-se à deusa Chaclla, filha do deus Inti e deusa da

#### **Comentários:**

Rhamnocercus chacllae pode ser distinguido de todos os congêneres por seu OCM em forma de L. Rhamnocercus chacllae é mais semelhante com Rhamnocercus rhamnocercus Monaco, Wood & Mizelle, 1954 de Umbrina roncador Gilbert & Jordan relatados na Califórnia (EUA) por ter um OCM longo e três espinhos acessórios haptorais ao nível da barra ventral (espinho médio menor que os espinhos bilaterais). No entanto, a nova espécie difere de R. rhamnocercus por apresentar uma vagina fracamente esclerotizada (muscular em R. rhamnocercus) e um leve entalhe anteromedial na barra ventral (ausente em R. rhamnocercus).

### Rhamnocercus chaskae Chero, Cruces, Sáez & Luque, 2022 (Figura 20A-H)

**Descrição:** Baseado em 12 espécimes adultos. Corpo fusiforme, 491–667 (588; n = 12) de comprimento; maior largura 69-109 (83; n = 11) geralmente ao nível do ovário. Região cefálica com lobos terminais pouco desenvolvidos; 3 pares bilaterais de órgãos da cabeça conspícuos; Par bilateral de glândulas cefálicas unicelulares posterolateral à faringe. Dois pares de manchas oculares presentes, equidistantes. Boca subterminal; faringe esférica, 31–37 (34; n = 8) de diâmetro; esôfago curto; cecos intestinais não ramificados, estendendo-se da extremidade anterior até próxima da extremidade posterior do tronco, não confluentes posteriormente. Haptor diferenciado do corpo propriamente dito, com dois lobos laterais bem desenvolvidos, 34–50 (42; n = 5) de comprimento, 164–193 (180; n = 6) de largura. Âncoras dissimilares, sem asas finas e conspícuas (Fig. 20A, B). Âncora ventral 69–81 (73; n = 6) longa, com raiz superficial saliente e arredondada, raiz profunda bem alongada e resistente, eixo curvo e ponta recurvada; ponta ultrapassando o nível da ponta da raiz superficial (Fig. 20A); base 5-7 (6; n=5) de largura. Âncora dorsal 65–78 (71; n = 6) longa, com raiz superficial imperceptível, raiz profunda alongada, eixo levemente curvo e ponta recurvada; ponta ao nível da ponta da raiz superficial (Fig. 20B); base 4–6 (5; n = 6) de largura. Barra ventral 125–142 (135; n = 8) de comprimento, alongada, com extremidades afiladas; sulco longitudinal ventral presente; grande projeção relativa posteromedial presente (Fig. 20C). Barras dorsais 51–68 (58; n = 8) longas, em forma de bastonete, com extremidade medial espatulada (Fig. 20D). Quatorze ganchos semelhantes, 10-11 (11; n = 5) de comprimento, cada um com polegar obtuso deprimido, eixo fino e curvo e ponta curta; laço de gancho filamentoso (FH) sobre o comprimento do eixo (Fig. 20E); par de ganchos 1 ao nível da barra ventral; par de ganchos 5 ao nível da parte distal do eixo da âncora ventral, outros pares submarginais nos lobos haptorais laterais. Três espinhos acessórios do haptor no nível da barra ventral, espinho médio (indicado como 2 na Fig. 20F) menor que os espinhos bilaterais (indicados como 1 e 3 na Fig. 20F), espinhos bilaterais com porção distal trífida; espinha acessória

do haptor com extremidade distal aguda associada a lobos do haptor presentes. Pedúnculo delgado, alongado, com espinhos pedunculares; espinhos pedunculares ventrais e dorsais, com raiz anterior várias vezes menor que a posterior (Fig. 20G), dispostos em duas fileiras longitudinais, facilmente perdidos no espécime preservado. OCM longo e reto, composto por dois tubos aninhados (tubo interno e externo), com extremidade distal bífida (Fig. 20H), 48–62 (57; n = 8) de comprimento. Testículo dorsal ao ovário, não lobulado; vaso deferente enrolando cecos intestinais esquerdos, dilatando-se para formar grande vesícula seminal fusiforme no lado esquerdo do tronco, lateral ao OCM; um reservatório prostático oval, dextrolateral à OCM; glândulas prostáticas conspícuas, intercecais. Ovário alongado; oviduto, oótipo e útero não observados. Abertura vaginal sinistra ao nível do ovário; vestíbulo vaginal curto, sacado, fracamente esclerotizado; duto vaginal estreito, fracamente esclerotizado, curto, correndo posteriormente para unir-se ao pequeno receptáculo seminal subesférico. Folículos vitelinos densos, estendendo-se do nível posterior da faringe até a extremidade posterior do tronco, ausentes nas regiões dos órgãos reprodutores. Ovos não observados.

#### Resenha taxonômica

Hospedeiro tipo: Pareques lanfeari (Barton) (Perciformes: Sciaenidae).

Sítio de infecção: Brânquias.

**Localidade tipo:** Puerto Santa Rosa, região de Lambayeque, Peru, Oceano Pacífico Sul (6°52'S, 79°55'W).

**Amostras depositadas:** Holótipo, MUSM 4875; 9 parátipos, MUSM 4876a-i; 2 parátipos, CHIOC 39752a-b.

**Etimologia:** O nome específico refere-se à deusa Chaska, deusa do amanhecer e do crepúsculo.

#### Comentários:

Rhamnocercus chaskae caracteriza-se por possuir um OCM longo e reto com extremidade distal bífida e por possuir espinhos acessórios haptorais ao nível da barra ventral com porção distal quadrifida.

### Rhamnocercus fasciatum Chero, Cruces, Sáez & Luque, 2022 (Figura 21A-I)

**Descrição:** Baseado em 10 espécimes adultos. Corpo fusiforme, 388–889 (659; n = 10) de comprimento; maior largura 71-84 (77; n = 9) geralmente ao nível do ovário. Região cefálica com lobos terminais pouco desenvolvidos; 3 pares bilaterais de órgãos da cabeça conspícuos; Par bilateral de glândulas cefálicas unicelulares posterolateral à faringe. Dois pares de manchas oculares presentes, equidistantes. Boca subterminal; faringe esférica, 26-34 (30; n = 7) de diâmetro; esôfago curto; cecos intestinais não ramificados, estendendo-se da extremidade anterior até próxima da extremidade posterior do tronco, não confluentes posteriormente. Haptor diferenciado do corpo propriamente dito, com dois lobos laterais bem desenvolvidos, 36–54 (46; n = 6) de comprimento, 187–248 (216; n = 6) de largura. Âncoras dissimilares, sem asas finas e conspícuas (Fig. 21A, B). Âncora ventral 78–86 (83; n = 8) longa, com raiz superficial forte e curta, raiz profunda bem alongada, eixo curvo e ponta recurvada; ponta ultrapassando o nível da ponta da raiz superficial (Fig. 21A); base 6–8 (7; n = 5) de largura. Âncora dorsal 82–86 (84; n = 8) longa, com raiz superficial imperceptível, raiz profunda alongada, eixo levemente curvo e ponta recurvada; ponta ultrapassando o nível da ponta da raiz superficial (Fig. 21B); base 5–7 (6; n = 5) de largura. Barra ventral 166–183 (173; n = 8) longa, alongada, com extremidades afiladas; sulco longitudinal ventral presente; projeção póstero-medial curta presente (Fig. 21C). Barras dorsais 68-80 (75; n = 6) longas, em forma de bastonete, com extremidade medial espatulada e saliência na extremidade lateral (Fig. 21D). Quatorze ganchos semelhantes, 10–11 (11; n = 6) de comprimento, cada um com polegar obtuso deprimido, eixo fino e curvo e ponta curta; laço de gancho filamentoso (FH) em torno do comprimento do eixo (Fig. 21E); par de ganchos 1 ao nível da barra ventral; par de ganchos 5 ao nível da parte distal do eixo da âncora ventral, outros pares submarginais nos lobos haptorais laterais. Três espinhos acessórios do haptor no nível da barra ventral, espinho médio (indicado como 2 na Fig. 21F) menor que os espinhos bilaterais (indicados como 1 e 3 na Fig. 21F), espinhos bilaterais com porção distal bífida; espinha acessória do haptor com extremidade distal aguda associada a lobos do haptor presentes. Pedúnculo delgado, alongado, com espinhos pedunculares; espinhos pedunculares ventrais e dorsais, com raiz anterior várias vezes menor que a posterior (Fig. 21G), dispostos em duas fileiras longitudinais, facilmente perdidos no espécime preservado. OCM longo e reto, composto por dois tubos aninhados (tubo interno e externo), com extremidade distal truncada (Fig. 21H), 56–63 (61; n = 8) de comprimento. Testículo dorsal ao ovário, não lobulado; vaso deferente enrolando cecos intestinais esquerdos, dilatando-se para formar grande vesícula seminal fusiforme no lado esquerdo do tronco, lateral ao OCM; um reservatório prostático oval, dextrolateral à OCM; glândulas prostáticas conspícuas, intercecais. Ovário alongado; oviduto, oótipo e útero não observados. Abertura vaginal sinistra ao nível do ovário; vestíbulo vaginal grande, em forma de sino, fracamente esclerotizado (Fig. 21I); duto vaginal estreito, fracamente esclerotizado, curto, porção distal esvaziada, correndo posteriormente para unir-se ao pequeno receptáculo seminal subesférico (Fig. 21I). Folículos vitelinos densos, estendendo-se do nível posterior da faringe até a extremidade posterior do tronco, ausentes nas regiões dos órgãos reprodutores. Ovos não observados.

#### Resenha taxonômica

**Hospedeiro tipo:** *Cheilotrema fasciatum* Tschudi (Perciformes: Sciaenidae).

Sítio de infecção: Brânquias.

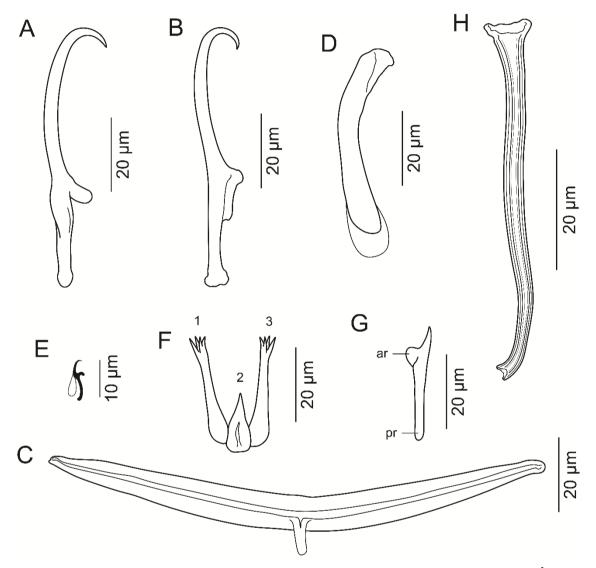
**Localidade tipo:** Puerto Santa Rosa, região de Lambayeque, Peru, Oceano Pacífico Sul (6°52'S, 79°55'W).

**Amostras depositadas:** Holótipo, MUSM 4877; 8 parátipos, MUSM 4878a-h; 1 parátipo, CHIOC 39753.

Etimologia: O nome específico refere-se ao nome específico do hospedeiro.

#### Comentários:

Rhamnocercus fasciatum mais se assemelha a R. chaskae por ter um OCM longo e reto, uma vagina fracamente esclerotizada e três espinhos acessórios haptorais no nível da barra ventral (espinho médio menor que os espinhos bilaterais). No entanto, a nova espécie difere de R. chaskae por possuir espinhos acessórios do haptor ao nível da barra ventral com porção distal bífida (espinhos acessórios do haptor ao nível da barra ventral com porção distal quadrífida em R. chaskae) e por possuir barras dorsais com saliência na extremidade lateral (ausente em R. chaskae). Além disso, R. fasciatum difere de R. chaskae pelo formato da vagina (em forma de sino em R. fasciatum vs em forma de saco em R. chaskae) e pelo tamanho da barra ventral (166–183 em R. fasciatum vs 125-142 em R. chaskae).



**Figura 20.** *Rhamnocercus chaskae* das brânquias de *Pareques lanfeari*. **A.** Âncora ventral. **B.** Âncora dorsal. **C.** Barra ventral. **D.** Barra dorsal. **E.** Espinho peduncular. **F.** Espinhos acessórios haptorais ao nível da barra ventral. **G.** Gancho. **H.** Órgão copulador masculino.

#### Rhamnocercus microps Chero, Cruces, Sáez & Luque, 2022 (Figura 22A-G)

**Descrição:** Baseado em 5 espécimes adultos. Corpo fusiforme, 401–568 (465; n = 5) de comprimento; maior largura 44-72 (61; n = 5) geralmente ao nível do ovário. Região cefálica com lobos terminais pouco desenvolvidos; 3 pares bilaterais de órgãos da cabeca conspícuos; Par bilateral de glândulas cefálicas unicelulares posterolateral à faringe. Dois pares de manchas oculares presentes, equidistantes. Boca subterminal; faringe esférica, 20–24 (22; n = 5) de diâmetro; esôfago curto; cecos não é ramificado, estendendo-se da extremidade anterior até tronco, posterior da extremidade posterior do tronco posterior, não confluente posteriormente. Haptor diferenciado do próprio corpo, com dois lobos laterais bem desenvolvidos, 32-33; = 4) de comprimento, 126-154 (139; n = 4) de largura. Âncoras dissimilares (Fig. 22A, B), sem asas finas e conspícuas. Âncora ventral 55–58 (56; n = 4) longa, com raiz superficial curta e arredondada, raiz profunda bem alongada, pressa curva e ponta recurvada; ponta ultrapassando o nível da ponta da raiz superficial (Fig. 22A); base 3–4 (4; n = 4) de largura. Âncora dorsal 53–59 (57; n = 5) longa, com raiz superficial imperceptível, raiz profunda ao longo e subretangular, eixo levemente curvado e ponta recurvada; ponta ultrapassando o nível da ponta da raiz superficial (Fig. 22B); base 2–4 (3; n = 5) de largura. Barra ventral 108–119 (111; n = 5) longa, alongada, robusta, com limitações afiladas e botão anteromedial; sulco longitudinal ventral presente; projeção posteromedial relativamente longa (Fig. 22C). Barras dorsais 49-5150; n = 5) longas, em forma de bastonete, com extremidade medial espatulada (Fig. 22D). Quatorze ganchos semelhantes, 2–14 (13; n = 5) de comprimento, cada um com polegar obtuso deprimido, eixo fino e curvo e ponta curta; laço de gancho filamentoso (FH) sobre o cumprimento do eixo (Fig. 22E); par de ganchos 1 ao nível da barra ventral; par de ganchos 5 ao nível da parte distal do eixo da âncora ventral, outros pares submarginais nos lobos haptorais laterais. Espinhas acessórias do haptor no nível da barra ventral não observadas; espinhas acessórias do haptor não observadas associadas aos lobos do haptor. Pedúnculo delgado, alongado, com espinhos pedunculares ventrais e dorsais, com raiz anterior várias vezes menor que a posterior (Fig. 22F). OCM curto, reto, composto por dois tubos aninhados (tubo interno e externo), 20–27 (23; n = 5) longos; extremidade distal do tubo externo expandida; extremidade distal da espátula interna do tubo, descoberta pelo tubo externo (Fig. 22G). Testículo dorsal ao ovário, não lobulado; vaso deferente enrolando cecos intestinais esquerdos, dilatando-se para formar grande vesícula seminal fusiforme no lado esquerdo do tronco, lateral ao OCM; um reservatório prostático oval, dextrolateral à OCM; glândulas prostáticas conspícuas, intercecais. Ovário alongado; oviduto, oótipo e útero não observados. Abertura vaginal sinistra ao nível do ovário; vestíbulo vaginal curto, sacado, fracamente esclerotizado; receptáculo seminal pequeno. Folículos densos, estendendo-se do nível posterior da faringe até a extremidade posterior do tronco. Ovos não observados.

#### Resenha taxonômica

**Hospedeiro tipo:** *Nebris microps* Cuvier (Perciformes: Sciaenidae).

Sítio de infecção: Brânquias.

Localidade tipo: Zona Costeira do Estado do Rio de Janeiro (22°50'S, 41°58'W), Brasil,

América do Sul.

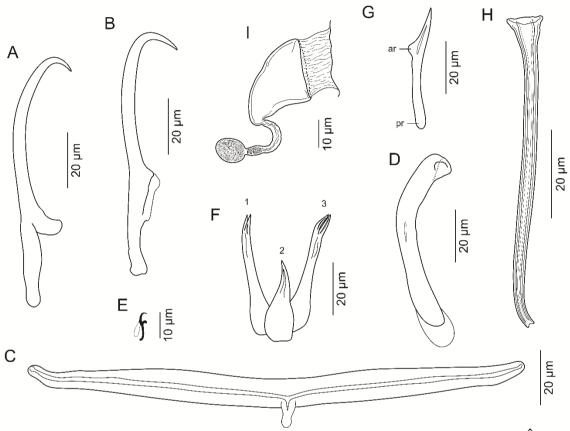
Amostras depositadas: Holótipo, MUSM 4879; 2 parátipos, MUSM 4880a-b; 2

parátipos, CHIOC 39754a-b.

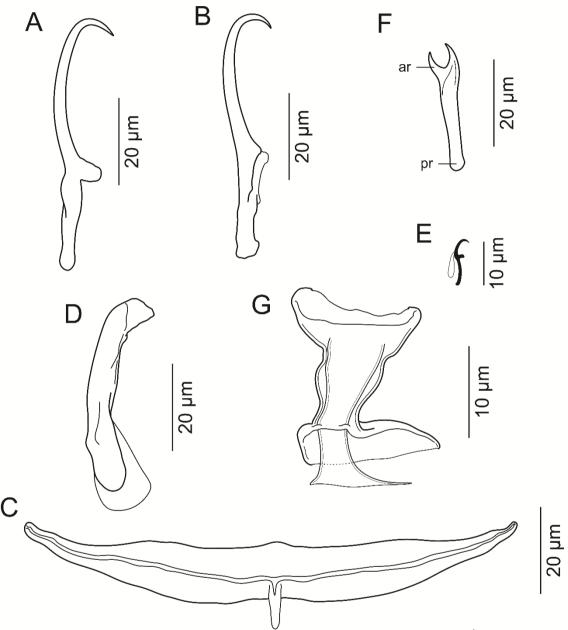
**Etimologia:** O nome específico refere-se ao nome específico do hospedeiro.

#### **Comentários:**

Rhamnocercus microps difere de todos os congêneres principalmente por ter um OCM curto e reto com a extremidade distal do tubo interno espatulado e descoberto pelo tubo externo. Rhamnocercus microps assemelha-se a R. dominguesi por ter o OCM com a extremidade distal do tubo interno descoberto pelo tubo externo. No entanto, e para além das características distintivas já referidas, R. microps é facilmente diferenciada de R. dominguesi por possuir uma barra ventral com um botão anteromedial (uma barra ventral sem um botão anteromedial em R. dominguesi) e pelo tamanho do OCM (20–27 na nova espécie vs 30–37 em R. dominguesi).



**Figura 21.** Rhamnocercus fasciatum das brânquias de Cheilotrema fasciatum. **A.** Âncora ventral. **B.** Âncora dorsal. **C.** Barra ventral. **D.** Barra dorsal. **E.** Gancho. **F.** Espinhos acessórios haptorais ao nível da barra ventral. **G.** Espinho peduncular. **H.** Órgão copulador masculino. **I.** Vagina.



**Figura 22.** Rhamnocercus microps das brânquias de Nebris microps. **A.** Âncora ventral. **B.** Âncora dorsal. **C.** Barra ventral. **D.** Barra dorsal. **E.** Gancho. **F.** Espinho peduncular. **G.** Órgão copulador masculino.

### Rhamnocercus rimaci Chero, Cruces, Sáez & Luque, 2022 (Figura 23A-H)

**Descrição:** Baseado em 7 espécimes adultos. Corpo fusiforme, 375–485 (427; n = 7) de comprimento; maior largura 68-89 (76; n = 7) geralmente ao nível do ovário. Região cefálica com lobos terminais pouco desenvolvidos; 3 pares bilaterais de órgãos da cabeca conspícuos; Par bilateral de glândulas cefálicas unicelulares posterolateral à faringe. Dois pares de manchas oculares presentes, equidistantes. Boca subterminal; faringe esférica, 23-30 (26; n = 5) de diâmetro; esôfago curto; cecos intestinais não ramificados, estendendo-se da extremidade anterior até próxima da extremidade posterior do tronco, não confluentes posteriormente. Haptor diferenciado do corpo próprio, com dois lobos laterais bem desenvolvidos, 27-33 (31; n = 4) de comprimento, 103-146 (125; n = 4) de largura. Âncoras dissimilares (Fig. 23A, B), sem asas finas e conspícuas. Âncora ventral 43–46 (45; n = 5) longa, com raiz superficial curta e arredondada, raiz profunda bem alongada e resistente, eixo curvo e ponta recurvada (Fig. 23A); base 2-3 (3; n = 4) de largura. Âncora dorsal 41-44 (43; n = 4) longa, com raiz superficial imperceptível, raiz profunda alongada e subretangular, eixo curvo e ponta recurvada; ponta ultrapassando o nível da ponta da raiz superficial (Fig. 23B); base 2-3 (2; n=4) de largura. Barra ventral 94-102 (98; n = 5) longa, alongada, quase em forma de bumerangue, com extremidades afiladas; sulco longitudinal ventral presente; projeção póstero-medial curta presente (Fig. 23C). Barras dorsais 47-50 (49; n = 5) longas, em forma de bastonete, com extremidade medial espatulada e extremidade lateral bilobada (Fig. 23D). Quatorze ganchos semelhantes, 11-12 (12; n=5) de comprimento, cada um com polegar obtuso deprimido, eixo fino e curvo e ponta curta; laço de gancho filamentoso (FH) em torno do comprimento do eixo (Fig. 23E); par de ganchos 1 ao nível da barra ventral; par de ganchos 5 ao nível do eixo da parte distal da âncora ventral, outros pares submarginais nos lobos haptorais laterais. Três espinhos acessórios do haptor ao nível da barra ventral com porção distal aguda, espinho médio (indicado como 2 na Fig. 23F) ligeiramente menor que os espinhos bilaterais (indicados como 1 e 3 na Fig. 23F); espinhas acessórias do haptor associado com lobos do haptor presentes. Pedúnculo delgado, alongado, com espinhos pedunculares; espinhos pedunculares ventrais e dorsais, com raiz anterior várias vezes menor que a posterior (Fig. 23G), dispostos em duas fileiras longitudinais, facilmente perdidos no espécime preservado. OCM tubular, longo, quase em forma de J, composto por dois tubos aninhados (tubo interno e externo), 40-47 (44; n = 6) de comprimento; extremidade distal do tubo externo levemente expandida; extremidade distal do tubo interno estreita, descoberta pelo tubo externo (Fig. 23H). Testículo dorsal ao ovário, não lobulado; vaso deferente enrolando cecos intestinais esquerdos, dilatandose para formar grande vesícula seminal fusiforme no lado esquerdo do tronco, lateral ao OCM; um reservatório prostático oval, dextrolateral à OCM; glândulas prostáticas conspícuas, intercecais. Ovário alongado; oviduto, oótipo e útero não observados. Abertura vaginal sinistra ao nível do ovário; vestíbulo vaginal curto, sacado, fracamente esclerotizado; duto vaginal estreito, fracamente esclerotizado, curto, correndo posteriormente para unir-se ao pequeno receptáculo seminal subesférico. Folículos vitelinos densos, estendendo-se do nível posterior da faringe até a extremidade posterior do tronco, ausentes nas regiões dos órgãos reprodutores. Ovos não observados.

#### Resenha taxonômica

**Hospedeiro tipo:** *Stellifer menor* (Tschudi) (Perciformes: Sciaenidae).

Sítio de infecção: Brânquias.

**Localidade tipo:** Puerto Santa Rosa (6°52'S, 79°55'W), Lambayeque, Peru, América do Sul.

**Amostras depositadas:** Holótipo, MUSM 4881; 5 parátipos, MUSM 4882a-e; 1 parátipo, CHIOC 39755.

Etimologia: O nome específico refere-se ao deus Rimac, filho do deus Inti.

#### Comentários:

Rhamnocercus rimaci pode ser distinguido de todas as outras espécies de Rhamnocercus por ter um OCM quase em forma de J com a extremidade distal do tubo externo ligeiramente expandida e a extremidade distal do tubo interno estreita e descoberta pelo tubo externo. Além disso, R. rimaci caracteriza-se pela sua barra ventral quase em forma de bumerangue e por ter as barras dorsais com a extremidade lateral bilobada.

### Rhamnocercus tantaleani Chero, Cruces, Sáez & Luque, 2022 (Figura 24A-H)

**Descrição:** Baseado em 6 espécimes adultos. Corpo fusiforme, 441–763 (575; n = 6) de comprimento; maior largura 87-103 (94; n = 6) geralmente ao nível do ovário. Região cefálica com lobos terminais pouco desenvolvidos; 3 pares bilaterais de órgãos da cabeça conspícuos; Par bilateral de glândulas cefálicas unicelulares posterolateral à faringe. Dois pares de manchas oculares presentes, equidistantes. Boca subterminal; faringe esférica, 29–35 (32; n = 6) de diâmetro; esôfago curto; cecos intestinais não ramificados, estendendo-se da extremidade anterior até próxima da extremidade posterior do tronco, não confluentes posteriormente. Haptor diferenciado do corpo próprio, com dois lobos laterais bem desenvolvidos, 41-65 (50; n = 5) de comprimento, 154-171 (160; n = 5) de largura. Âncoras dissimilares, sem asas finas e conspícuas (Fig. 24A, B). Âncora ventral 54–59 (57; n = 6) longa, com raiz superficial muito curta e arredondada, raiz profunda bem alongada, eixo curvo e ponta recurvada; ponta ultrapassando o nível da ponta da raiz superficial (Fig. 24A); base 4–5 (5; n = 4) de largura. Âncora dorsal 53–55 (54; n = 7) longa, com raiz superficial imperceptível, raiz profunda alongada e subretangular, eixo reto e ponta recurvada; ponta ultrapassando o nível da ponta da raiz superficial (Fig. 24B); base 2–4 (3; n = 4) de largura. Barra ventral 107–119 (112; n = 5) longa, alongada, quase em forma de bumerangue, com extremidades afiladas; sulco longitudinal ventral presente; projeção póstero-medial curta presente (Fig. 24C). Barras dorsais 64-68 (66; n = 5) longas, em forma de bastonete, com extremidade medial espatulada (Fig. 24D). Quatorze ganchos semelhantes, 13-14 (13; n = 6) de comprimento, cada um com polegar obtuso deprimido, eixo fino e curvo e ponta curta; laco de gancho filamentoso (FH) sobre o comprimento do eixo (Fig. 24E); par de ganchos 1 ao nível da barra ventral; par de ganchos 5 ao nível da parte distal do eixo da âncora ventral, outros pares submarginais nos lobos haptorais laterais. Três espinhos acessórios haptorais ao nível da barra ventral com porção distal aguda, espinho médio (indicado como 2 na Fig. 24F) menor que os espinhos bilaterais (indicados como 1 e 3 na Fig. 24F); espinhas acessórias do haptor associado com lobos do haptor presentes. Pedúnculo delgado, alongado, com espinhos pedunculares; espinhos pedunculares ventrais e dorsais, com raiz anterior várias vezes menor que a posterior (Fig. 24G), dispostos em duas fileiras longitudinais. OCM tubular, longo, reto, composto por dois tubos aninhados (tubo interno e externo), 57-62 (60; n = 6) de comprimento; extremidade distal do tubo externo bifurcado, ramo direito bem expandido, ramo esquerdo envolvendo estreita extremidade distal do tubo interno (Fig. 24H). Testículo dorsal ao ovário, não lobulado; vaso deferente enrolando cecos intestinais

esquerdos, dilatando-se para formar grande vesícula seminal fusiforme no lado esquerdo do tronco, lateral ao OCM; um reservatório prostático oval, dextrolateral à OCM; glândulas prostáticas conspícuas, intercecais. Ovário alongado; oviduto, oótipo e útero não observados. Abertura vaginal sinistra ao nível do ovário; vestíbulo vaginal curto, sacado, fracamente esclerotizado; duto vaginal estreito, fracamente esclerotizado, curto, correndo posteriormente para unir-se ao pequeno receptáculo seminal subesférico. Folículos vitelinos densos, estendendo-se do nível posterior da faringe até a extremidade posterior do tronco, ausentes nas regiões dos órgãos reprodutores. Ovos não observados.

#### Resenha taxonômica

Hospedeiro tipo: Stellifer menor (Tschudi) (Perciformes: Sciaenidae).

Sítio de infecção: Brânquias.

Localidade tipo: Puerto Santa Rosa (6°52'S, 79°55'W), Lambayeque, Peru, América do

Sul.

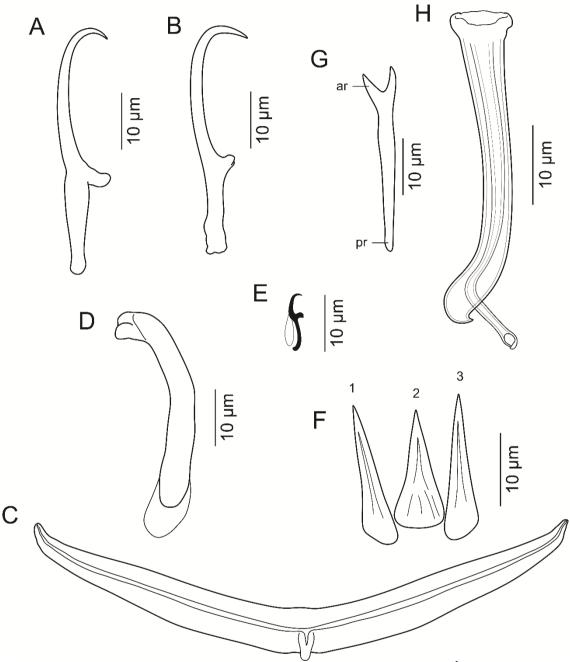
Amostras depositadas: Holótipo, MUSM 4883; 4 parátipos, MUSM 4884a-d; 1

parátipo, CHIOC 39756.

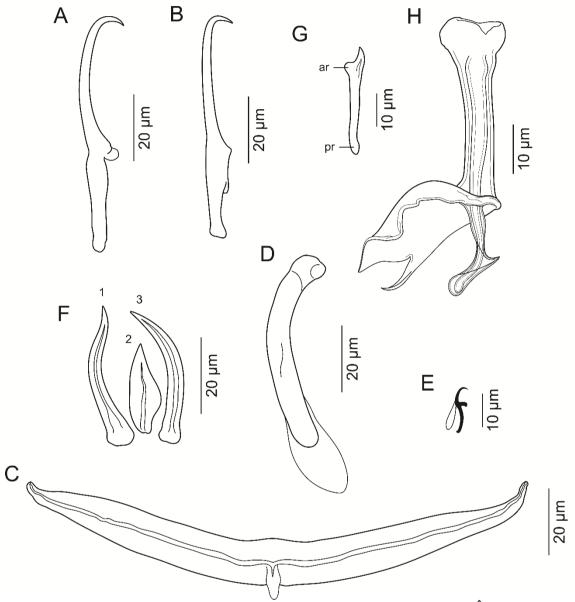
**Etimologia:** Esta espécie é nomeada em homenagem ao Dr. Manuel Tantaleán Vidaurre (Universidade Nacional de San Marcos, Peru) (in memoriam) em reconhecimento à sua valiosa contribuição para a parasitologia peruana.

#### Comentários:

Rhamnocercus tantaleani caracteriza-se principalmente por seu OCM, que é tubular e reto, tendo a extremidade distal do tubo externo bifurcada (ramo direito bem expandido e ramo esquerdo estreito) e a extremidade distal do tubo interno envolta pelo ramo esquerdo do tubo externo. Rhamnocercus tantaleani mais se assemelha a R. rimaci por ter uma barra ventral quase em forma de bumerangue e um OCM longo e reto. No entanto, a nova espécie difere de R. rimaci por ter barras dorsais com a extremidade lateral não bilobada (barras dorsais com a extremidade lateral bilobada em R. rimaci) e pelo tamanho do OCM (57–62 na nova espécie vs 40–47 em R. rimaci). Além disso, a nova espécie difere de R. rimaci por ter as âncoras dorsais com eixo reta (âncoras dorsais com eixo curvo em R. rimaci).



**Figura 23.** Rhamnocercus rimaci das brânquias de Stellifer minor. **A.** Âncora ventral. **B.** Âncora dorsal. **C.** Barra ventral. **D.** Barra dorsal. **E.** Gancho. **F.** Espinhos acessórios haptorais ao nível da barra ventral. **G.** Espinho peduncular. **H.** Órgão copulador masculino.



**Figura 24.** Rhamnocercus tantaleani das brânquias de Stellifer minor. **A.** Âncora ventral. **B.** Âncora dorsal. **C.** Barra ventral. **D.** Barra dorsal. **E.** Gancho. **F.** Espinhos acessórios haptorais ao nível da barra ventral. **G.** Espinho peduncular. **H.** Órgão copulador masculino.

#### 4. DISCUSSÃO

Até o momento, apenas 3 das 21 espécies válidas de *Cynoscion* listadas por FROESE e PAULY (2021) foram relatadas como hospedeiras de diplectanídeos: *D. bilobatum* de *Cynoscion nebulosus* (Cuvier) do Golfo do México, *D. monticellii* de *Cynoscion leiarchus* (Cuvier) no Brasil, e *D. squamatum* Santos, Timi & Gibson, 2002 das brânquias de *Cynoscion guatucupa* na Argentina (HARGIS, 1955; SANTOS et al., 2002; DOMINGUES e BOEGER, 2003, 2008; MENDOZA FRANCO et al., 2013). Todas essas espécies de *Diplectanum* foram consideradas como *incertae sedis* por DOMINGUES e BOEGER (2008).

Diplectanum bilobatum e D. monticellii possuem um OCM semelhante ao Cy. sanmarci com base em forma de manga levemente esclerotizada, sem peça acessória. Além disso, essas espécies possuem âncoras ventrais com raízes bem desenvolvidas, esquamodisco dorsal e ventral com fileiras anteriores de ossículos com anéis abertos, reservatório prostático simples e ausência de órgão copulador acessório, características incluídas no diagnóstico de Cynoscionella, apoiando a transferência aqui de D. bilobatum e D. monticellii para Cynoscionella como Cy. bilobatum (Hargis, 1955) n. comb. e Cy. monticellii (Domingues & Boeger, 2003) n. comb., respectivamente. Cynoscionella também é caracterizada por ter um poro genital lateral à OCM e um átrio genital esclerotizado. HARGIS (1955) relatou que o poro genital de Cy. bilobatum n. comb. está próximo à extremidade distal do OCM ("near cirrus tip") e em seu desenho de Cy. bilobatum n. comb., este recurso é representado ligeiramente lateral ao OCM. DOMINGUES e BOEGER (2003) mencionaram que o poro genital de Cy. monticelli n. comb. é posterior ao OCM. No entanto, esta característica não foi ilustrada por DOMINGUES e BOEGER (2003) e não pôde ser confirmada nos espécimes-tipo disponíveis, precisando ser verificada através do estudo de espécimes recém-coletados. Por outro lado, a natureza do átrio genital (muscular ou esclerotizado) não foi mencionada na descrição original de Cy. bilobatum n. comb. e Cy. monticelli n. comb. nem na redescrição de Cy. bilobatum n. comb. realizado por MENDOZA FRANCO et al. (2013). Cynoscionella sanmarci pode ser facilmente diferenciado de Cy. bilobatum n. comb. e Cy. monticelli n. comb. pela morfologia do OCM (em forma de clava com porção distal em forma de gancho e base anelada) e da barra ventral (com conspícua constrição anteromedial).

Diplectanum squamatum se assemelha a Cy. bilobatum n. comb., Cy. monticellii n. comb., e Cy. sanmarci por apresentarem uma OCM sem peça acessória, as âncoras ventrais com raízes bem desenvolvidas, esquamodisco dorsais e ventrais com fileiras anteriores de ossículos com anéis abertos e ausência de órgão copulador acessório (Santos et al., 2002). No entanto, D. squamatum difere das espécies de Cynoscionella por possuir um OCM esbelto e tubular sem base em forma de manga levemente esclerotizada (OCM com base em forma de manga levemente esclerotizada no novo gênero) e um reservatório prostático separado em três zonas (um reservatório prostático simples em Cynoscionella spp.). Esta espécie poderia eventualmente ser removida de Diplectanum e um novo gênero poderia ser proposto para atribuir D. squamatum. Este é o primeiro dado sobre os parasitas de C. phoxocephalus, um peixe pouco conhecido, mas popular nos mercados locais do norte do Peru.

Rhamnocercoides, conforme alterado por CHERO et al. (2017), distingue-se de outros gêneros de diplectanídeos que ocorrem em peixes cienídeos marinhos por uma combinação de caracteres que incluem a morfologia do órgão copulador masculino (composto por dois tubos aninhados, sem peça acessória), barra ventral (com constrição anteromedial e póstero-medial) e o haptor possuindo diferentes tipos de espinhos

acessórios do haptor (espinhos aciculares do haptor com a porção distal aguda, espinhos aciculares com a porção distal bífida e espinhos aciculares com a porção distal em forma de gancho) (CHERO et al., 2017). *Rhamnocercoides menticirrhi* é a única espécie conhecida descrita no gênero e foi descrita de *M. ophicephalus* coletado no Peru (LUQUE e IANNACONE, 1991; CHERO et al., 2017). *Rhamnocercoides lambayequensis* de *M. elongatus* do Peru é a segunda espécie descrita em *Rhamnocercoides* e representa a primeira espécie de parasito descrita de *M. elongatus*, um peixe pouco estudado em relação aos seus parasitos (COHEN et al., 2013; LUQUE et al., 2016; MENDOZA-GARFIAS et al., 2017). Com base neste e em outros relatos anteriores (LUQUE e IANNACONE, 1991; CHERO et al., 2017), espécies de *Rhamnocercoides* são confirmadas como parasitos naturais de brânquias de peixes cienídeos pertencentes a *Menticirrhus* e aparentemente restritos ao Pacífico Oriental.

Seis novas espécies de *Rhamnocercus* parasitando quatro hospedeiros cienídeos marinhos na América do Sul são descritas aqui, aumentando para 12 as espécies existentes no gênero (Chero et al., 2017). Atualmente, espécies de *Rhamnocercus* foram descritas infectando as brânquias de peixes cienídeos do Peru (três espécies), EUA (duas espécies) e Venezuela (uma espécie) (Chero et al., 2017). Os caracteres primários utilizados para diagnosticar espécies de *Rhamnocercus* estão associados ao OCM e aos espinhos acessórios haptorais ao nível da barra ventral (DOMINGUES e BOEGER, 2006). Da mesma forma, as novas espécies aqui descritas são diferenciadas principalmente das demais espécies de *Rhamnocercus* pela morfologia do OCM. No entanto, a espécie *R. chaskae* e *R. fasciatum* mostraram semelhança morfológica definida em seu OCM com *R. rhamnocercus*, a espécie-tipo do gênero, mas podem ser diferenciados de *R. rhamnocercus* pela morfologia dos espinhos acessórios haptorais ao nível da barra ventral. Provavelmente, essa semelhança morfológica do OCM de *R. chaskae*, *R. fasciatum* e *R. rhamnocercus* é indicativo da história coevolutiva dos parasitos e seu hospedeiro.

O Peru possui uma extraordinária diversidade de peixes marinhos, mas são poucos os hospedeiros de peixes que possuem algum estudo parasitológico. Até o momento, os monogenéticos de peixes marinhos, assim como outros grupos de parasitos, foram pouco explorados (CRUCES et al., 2018, 2020, 2021). Atualmente, seis espécies de diplectanídeos em peixes marinhos foram relatadas no Peru (LUQUE et al., 2016; CHERO et al., 2017, 2021). No presente relato, cinco espécies de diplectanídeos atribuídas a *Rhamnocercus* são descritas de cienídeos marinhos no Peru, aumentando assim o número de espécies de diplectanídeos marinhos para 11. Cinco espécies não descritas de Diplectanidae também foram relatadas parasitando as brânquias de cienídeos marinhos no Peru (LUQUE et al., 2016, CHERO et al., 2021), evidenciando que a diversidade de espécies de diplectanídeos ainda não é totalmente conhecida no Peru.

Três espécies de *Rhamnocercus* foram descritas anteriormente no Peru, *R. dominguesi* infectando as brânquias de *P. peruanus* e *R. oliveri* e *R. stelliferi* infectando *S. minor* (CHERO et al., 2017). Agora, existem oito espécies de *Rhamnocercus* descritas do Peru, mas *R. oliveri* e *R. stelliferi* precisam ser redescritas (DOMINGUES e BOEGER, 2006). Os exemplares-tipo de *R. oliveri* e *R. stelliferi*, que foram depositados na CHURP, desapareceram e os únicos exemplares disponíveis no MUSM (espécimes voucher) estão em mau estado. Assim, novos espécimes-tipo (neótipo e paraneótipos) de ambas as espécies precisam ser designados. No presente trabalho, duas novas espécies de *Rhamnocercus* (*R. rimaci* e *R. tantaleani*) foram descritas de *S. minor*, hospedeiro-tipo de *R. oliveri* e *R. stelliferi*. Essas duas novas espécies diferem de *R. oliveri* e *R. stelliferi* principalmente pela morfologia do OCM.

Pareques lanfeari (Barton), hospedeiro de R. chacllae e R. chaskae, é um peixe demersal endêmico do Pacífico Oriental (CHIRICHIGNO e CORNEJO, 2001), pouco conhecido, mas popular nos mercados locais do norte do Peru. Apesar disso, estudos sobre seus parasitos metazoários são desconhecidos (LUQUE et al., 2016). Portanto, o presente estudo representa os primeiros dados sobre os parasitos de P. lanfeari.

KOHN et al. (1989) relataram infecções de *R. rhamnocercus* nas brânquias da corvina, *Micropogonias furnieri* (Desmarest) no Brasil. Uma análise dos desenhos fornecidos por KOHN et al. (1989) indica que eles foram identificados erroneamente. DOMINGUES e BOEGER (2006) examinaram os espécimes depositados como *R. rhamnocercus* no CHIOC e observaram que esses espécimes provavelmente representam uma espécie não descrita de *Rhamnocercus*. Assim, *R. micros* da corvina, *Nebris microps* Cuvier é a primeira espécie descrita de *Rhamnocercus* no Brasil.

#### **CONCLUSÕES GERAIS**

- ➤ A fauna de monogenéicos parasitos em peixes marinhos é rica e diversa; das 13 espécies de parasitos analisadas 12 se mostraram desconhecidas pela ciência e três novos gêneros foram propostos.
- Foram geradas novas sequências genéticas, depositadas no GenBank, para *Hypanocotyle bullardi* e *Rhinobatonchocotyle pacifica* (Hexabothriidae) e *Loimopapillosum pascuali* (Monocotylidae).
- A diagnose da subfamilia Dasibatotreminae (Monocotylidae) foi emendada.
- ➤ A família Loimoidae foi rejeitada e foi incluída como uma subfamília nos Monocotylidae.
- ➤ O conhecimento atual sobre os diplectanídeos parasitos em peixes marinhos no Peru (considerando a riqueza da fauna ictiológica local) é incipiente, sendo que apenas 13 espécies, incluindo as espécies aqui estudadas, são conhecidas.
- > O presente trabalho descreve a primeira espécie de *Rhamnocercus* no Brasil.
- ➤ Chaves para os gêneros da familia Hexabotriidae, as espécies do gênero *Heterocotyle* e *Rhamnocercus* foram geradas.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- **Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ** (1990) Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* **215**, 403–410.
- **Antonelli L, Quilichini Y, Marchand B** (2010) *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*, **107**, 389–398.
- **Bakke TA, Cable J, Harris PO.** (2007) The biology of gyrodactylid monogeneans: the "russian-doll killers". *Advances in Parasitology*, **64**, 121–460.
- **Boeger WA, Kritsky DC** (1989) Phylogeny, coevolution, and revision of the Hexabothriidae Price, 1942 (Monogenea). *International Journal for Parasitology*, **19**, 425–440.
- **Boeger WA, Kritsky DC** (1993) Phylogeny and revised classification of the Monogenoidea Bychowsky, 1937 (Platyhelminthes). *Parasitology International* 63, 492–499.
- **Boeger WA, Kritsky D C** (2001) Phylogenetic relationships of the Monogenoidea. Em: **Littlewood DTJ, Bray RA** (eds.) Interrelationships of the Platyhelminthes. Taylor & Francis, London, p. 92–98.
- **Boeger WA, Vianna RT** (2006) Monogenoidea. In: **Thatcher VE** (ed). Amazon Fish Parasites, 2nd edn. Bulgaria: Pensoft, p. 42–116.
- **Boeger WA, Kritsky DC, Domingues MV, Bueno-Silva M** (2014) The phylogenetic position of the Loimoidae Price, 1936 (Monogenoidea: Monocotylidae) based on analyses of partial rDNA sequences. *Systematic Parasitology* **26**, 1–32.
- **Bravo-Hollis M** (1969) Helmintos de peces del Pacífico Mexicano XXX. Descripción de tres monogéneos de la familia Monocotylidae Taschenberg, 1879. *Anales del Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México* **40**, 161–178.
- **Buchmann K, Lindenstrøm T** (2002) Interactions between monogenean parasites and their fish hosts. *International Journal of Parasitology*, **32**, 309–319.
- **Bullard SA, Payne RR, Braswell JS** (2004) New genus with two new species of capsalid monogeneans from dasyatids in the Gulf of California. *The Journal of Parasitology*, **90**, 1412–1427.
- **Bullard SA, Overstreet RM** (2000) Calicotyle californiensis n. sp. and Calicotyle urobati n. sp. (Monogenea: Calicotylinae) from elasmobranchs in the Gulf of California. Journal of Parasitology, **86**, 939–944.
- **Bullard SA, Dippenaar SM** (2003). *Branchotenthes robinoverstreeti* n. gen. and n. sp. (Monogenea: Hexabothiidae) from gill filaments of the bowmouth guitarfish, *Rhina ancylostoma* (Rhynchobatidae), in the Indian Ocean. *Journal of Parasitology*, **89**, 595–601.
- **Bush AO, Lafferty KD, Lotz JM and Shostak AW** (1997) Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *The Journal of Parasitology* **83**, 575–583.

- **Bychowsky BE** (1957) Monogenetic Trematodes, Their Classification and Phylogeny [in Russian]. Izdatelstvo Academii Nauk, SSSR, Moscow and Leningrad. (English translation Edited by Hargis WH, A.I.B. S., Washington, DC. 1961).
- Carvalho-Azevedo A, Huancachoque E, Cuellar I, Sáez G, Cruces C, Chero JD, Luque JL (2021) New record of monogeneans (Platyhelminthes: Monogenea) infecting some marine fishes from the Peruvian coastal zone. *Revista Peruana de Biología*, **28**, 53–60.
- **Chao LN** (1995) Sciaenidae. Corvinas, barbiches, bombaches, corvinatas, corvinetas, corvinillas, lambes, pescadillas, roncachos, verrugatos. p. 1427–1518. In W. Fischer, F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K.E. Carpenter and V. Niem (eds.) Guia FAO para identificación de especies para los fines de la pesca. Pacifico Centro-oriental. 3 volumen. 1813 p.
- Cao S, Ding X, Zhang J and Liu L (2010) Monogenea of Chinese marine fishes. XVIII. Two monocotylids, including a new species, from the blotched fantail ray *Taeniurops meyeni* (Elasmobranchii: Dasyatidae) in the South China Sea. *Folia Parasitologica* 57, 169–172.
- Chero JD, Cruces CL, Iannacone I, Sáez G, Sánchez L, Minaya D and Alvariño, L (2016) *Monocotyle luquei* n. sp. (Monogenea: Monocotylidae), from the gills of diamond stingray *Dasyatis dipterura* (Jordan and Gilbert, 1880) (Myliobatiformes: Dasyatidae), in the South Pacific. *Acta Parasitologica* **61**, 713–719.
- Chero JD, Cruces CL, Sáez G, Iannacone J, Luque JL (2017) Diplectanids (Monogenea) parasitic on sciaenid fish from Peru with the proposal of *Pseudorhamnocercoides* n. gen., the description of *Rhamnocercus dominguesi* n. sp. and the redescription of *Rhamnocercoides menticirrhi* Luque and Iannacone, 1991. *Acta Parasitologica*, **62**, 541–548.
- Chero JD, Cruces CL, Sáez G, Camargo ACA, Santos CP and Luque JL (2018a) *Hypanocotyle bullardi* n. gen. n. sp. (Monogenea: Hexabothriidae) from gill of the diamond stingray *Hypanus dipterurus* (Jordan et Gilbert) (Myliobatiformes: Dasyatidae) in the Southeastern Pacific Ocean off Peru. *Parasitology International* 67, 425–430.
- **Chero JD, Cruces CL, Sáez G and Luque JL** (2018b) A new genus and species of the Dasybatotreminae Bychowsky, 1957 (Monogenea: Monocotylidae), parasitic on *Hypanus dipterurus* (Jordan & Gilbert) (Myliobatiformes: Dasyatidae) in the Southeastern Pacific Ocean off Peru. *Zootaxa* **4527**, 347–356.
- Chero JD, Cruces CL, Sáez G, Camargo ACA, Santos CP and Luque JL (2019) Redescription and first nucleotide sequences of *Rhinobatonchocotyle pacifica* Oliva & Luque, 1995 (Monogenea: Hexabothriidae), a parasite of *Pseudobatos planiceps* (Garman, 1880) (Rhinopristiformes: Rhinobatidae) from Peru. *Acta Parasitologica* **64**, 797–806.
- Chero JD, Cruces CL, Sáez G, Santos CP and Luque JL (2020) A new species of *Heterocotyle* (Monogenea: Monocotylidae), a gill parasite of the diamond stingray *Hypanus dipterurus* (Myliobatiformes: Dasyatidae) from the Peruvian coastal zone. *Acta Parasitologica* 65, 474–481.

- **Chero JD, Cruces CL, Sáez G, Luque JL** (2021) First Data on the Parasites of the Pacific Kingcroaker *Menticirrhus elongatus* (Perciformes: Sciaenidae): Description of a New Species of *Rhamnocercoides* (Dactylogyridea: Diplectanidae). *Acta Parasitologica*, **66**, 1246–1250.
- Chero JD, Cruces CL, Sáez G, Luque JL (2022) Six new species of Rhamnocercus Monaco, Wood & Mizelle, 1954 (Monogenea: Diplectanidae) infecting the gills from South American sciaenid fishes. *Systematic Parasitology*, **99**.
- **Chirichigno N, Vélez M** (1998) Clave para identificar los peces marinos del Perú. Publicación Especial del Instituto del Mar. 2nd. Ed. Callao: Instituto del Mar del Perú. 500 pp.
- **Chirichigno N, Cornejo RM** (2001) Catálogo comentado de los peces marinos del Perú. Publicación Especial del Instituto del Mar. Callao: Instituto del Mar del Perú. 314 pp.
- **Chisholm LA** (1998) A revision of *Monocotyle* Taschenberg, 1878 (Monogenea: Monocotylidae) with descriptions of three new species from Australia. *Journal of Natural History*, **32**, 1259–1290.
- **Chisholm LA, Whittington ID** (1996) A revision of *Heterocotyle* (Monogenea: Monocotylidae) with a description of *Heterocotyle capricornensis* n. sp. from Himantura fai (Dasyatidae) from Heron Island, Great Barrier Reef, Australia. *International Journal for Parasitology*, **26**, 1169–1190.
- **Chisholm LA, Wheeler TA and Beverley-Burton M** (1995) A phylogenetic analysis and revised classification of the Monocotylidae Taschenberg, 1879 (Monogenea). *Systematic Parasitology* **32**, 159–191.
- **Chisholm LA, Hansknecht TJ, Whittington ID, Overstreet RM** (1997) A revision of the Calicotylinae Monticelli, 1903 (Monogenea: Monocotylidae). *Systematic Parasitology*, **38**, 159–183.
- **Chisholm LA, Whittington ID** (1998) Revision of Decacotylinae Chisholm, Wheeler & Beverley Burton, 1995 (Monogenea: Monocotylidae) including the synonymy of *Papillicotyle* Young, 1967 with *Decacotyle* Young, 1967 and a description of a new species from Australia. *Systematic Parasitology*, **41**, 9–20.
- **Chisholm LA, Morgan JAT, Adlard RD and Whittington ID** (2001) Phylogenetic analysis of the Monocotylidae (Monogenea) inferred from 28S rDNA sequences. *International Journal for Parasitology* **31**, 1253–1263.
- **Chisholm LA, Whittington ID** (2001) *Euzetia occultum* n. g., n. sp. (Euzetiinae n. subf.), a monocotylid monogenean from the gills of *Rhinoptera neglecta* (Rhinopteridae) from Moreton Bay, Queensland, Australia. *Systematic Parasitology*, **48**, 179–183.
- **Chisholm LA and Whittington ID** (2012) Three new species of *Merizocotyle* Cerfontaine, 1894 (Monogenea: Monocotylidae) from the nasal tissues of dasyatid rays collected off Malaysian and Indonesian Borneo. *Systematic Parasitology* **82**, 167–176.
- **Chisholm LA** (2013) *Septesinus gibsoni* n. g., n. sp. (Monocotylidae: Heterocotylinae), from the gills of *Himantura walga* (Dasyatidae) off Sarawak, Borneo. *Systematic Parasit*ology **84**, 255–264.

- **Chisholm LA and Kritsky DC** (2020) *Heterocotyle whittingtoni* n. sp. (Monogenea: Monocotylidae) from the gills of the black-spotted whipray, *Maculabatis toshi* (Whitley) (Myliobatiformes: Dasyatidae), collected in coastal waters of Queensland, Australia. *Systematic Parasitology* **97**, 561–567.
- **Domingues MV, Boeger WA** (2003) Neotropical Monogenoidea. 43. *Diplectanum monticellii* n. sp. (Diplectanidae) from the gills of *Cynoscion leiarchus* (Perciformes: Sciaenidae) in Brazil. *The Journal of Parasitology*, **89**, 698–700.
- **Domingues MV, Marques FPL** (2007) Revision of *Potamotrygonocotyle* Mayes, Brooks & Thorson, 1981 (Platyhelminthes: Monogenoidea: Monocotylidae), with descriptions of four new species from the gills of the freshwater stingrays *Potamotrygon* spp. (Rajiformes: Potamotrygonidae) from the La Plata river basin. *Systematic Parasitology*, **67**, 157–174.
- **Domingues MV, Boeger WA** (2008). Phylogeny and revision of Diplectanidae Monticelli, 1903 (Platyhelminthes: Monogenoidea). *Zootaxa*, **1698**, 1–40.
- **Cribb TH, Chisholm LA, Bray RA** (2002) Diversity in the Monogenea and Digenea: does lifestyle matter? *International Journal for Parasitology*, **32**, 321–328.
- **Doran DJ** (1953) New monogenetic trematodes from the shovelnose guitar fish, *Rhinobatos productus* (Ayres). *Journal of Parasitology* **39**, 145–151.
- **Dunn KA, McEachran JD and Honeycutt RL** (2003) Molecular phylogenetics of myliobatiforms fishes (Chondrichthyes: Myliobatiformes), with comments on the effects of missing data on parsimony and likelihood. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **27**, 259–270.
- **Du Preez LH, Vaucher C, Mariaux J** (2002) Polystomatidae (Monogenea) of African Anura: *Polystoma dawiekoki* n. sp. parasitic in *Ptychadena anchietae* (Bocage). *Systematic Parasitology*, **52**, 35–41.
- **Eiras JDC, Takemoto RM, Pavanelli GC, Adriano EA** (2010) Diversidade dos parasitas de peixes de água doce do Brasil. Clichetec, Maringá, 333 p.
- Eschmeyer WN, Fricke R and van der Laan R (2019) Catalog of Fishes: genera, species, references. Available online at: Available from http://www.calacademy.org (accessed 11 June 2020).
- **Escorcia-Ignacio R, Pulido-Flores G, Monks S** (2015) Distribution extension of *Dasyonchocotyle dasyatis* (Yamaguti, 1968) Boeger & Kritsky, 1989 (Monogenea: Hexabothriidae) in Dasyatis longa (Garman, 1880) (Myliobatiformes: Dasyatidae) from Sinaloa, México. *Check List*, **11**, 1528.
- **Felsenstein J** (1981) Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution* **17**, 368–376.
- **Froese R, Pauly D** (2018) FishBase. World Wide Web electronic publication. Available online at: Available from http://www.fishbase.org (accessed 20 June 2018)
- **Froese R, Pauly D** (2021) FishBase. World Wide Web electronic publication. http://www.fishbase.org. Accessed on 3 January, 2022.

- **Hargis Jr WJ** (1955a) Monogenetic Trematodes of Gulf of Mexico Fishes. Part V. The Superfamily Capsaloidea. *Transactions of the American Microscopical Society* **74**, 203–225.
- **Hargis WJ** (1955b). Monogenetic trematodes of Gulf of Mexico fishes. Part III. The superfamily Gyrodactyloidea (Continued). *Journal of the Florida Academy of Sciences*, **18**, 33–47.
- **Humason GL** (1979) Animal tissue techniques. 4th Edition. W. H: Freeman and Company, San Francisco. 661 pp.
- **Irigoitia MM, Cantatore DMP, Delpiani GE, Incorvaia IS, Lanfranchi AL and Timi JT** (2014) *Merizocotyle euzeti* sp. n. (Monogenea: Monocotylidae) from the nasal tissue of three deep sea skates (Rajidae) in the southwestern Atlantic Ocean. *Folia Parasitologica* **61**, 206–212.
- **Irigoitia MM, Chisholm LA and Timi JT** (2016) A new species of *Dendromonocotyle* Hargis, 1955 (Monogenea: Monocotylidae) from the skin of *Zearaja chilensis* (Guichenot) (Rajiformes: Rajidae) from the Argentine Sea. *Systematic Parasitology* **93**, 367–374.
- **Irigoitia MM, Braicovich PE, Rossin MA, Canel D, Levy E, Farber MD and Timi JT** (2019) Diversity of *Empruthotrema* Johnston and Tiegs, 1992 parasitizing batoids (Chondrichthyes: Rajiformes and Myliobatiformes) from the Southwest Atlantic Ocean, with description of three new species. *Parasitology Research* **118**, 3113–3127.
- **Jonna R** (2003) Dasyatidae (on-line). Animal diversity Web. Available online at: Available from http://animaldiversity.org/accounts/Dasyatidae/ (accessed 20 June 2020).
- **Kitamura K and Ogawa K** (2019) Three species of *Dendromonocotyle* Hargis, 1955 (Monogenea: Monocotylidae) collected from Japanese rays. *Systematic Parasitology* **96**, 233–243.
- Kohn A, Justo MCN and Cohen SC (2016) Monogenoidea. In: Eiras JC, Velloso AL and Pereira-Jr J (Eds.), Parasitos de Peixes Marinhos da América do Sul. Rio Grande, Editora FURG. (2016) 441 pp.
- Kritsky DC, Bullard SA, Bakenhaster MD, Scharer RM, Poulakis GR (2017) Resurrection of *Mycteronastes* (Monogenoidea: Monocotylidae), with Description of *Mycteronastes caalusi* n. sp. from Olfactory Sacs of the Smalltooth Sawfish, *Pristis pectinata* (Pristiformes: Pristidae), in the Gulf of Mexico off Florid. *Journal of Parasitology*, 103, 477–485.
- **Kritsky DC and Chisholm LA** (2020) Monocotylids (Monogenoidea) infecting elasmobranchs in Moreton Bay, Queensland, Australia, with descriptions of *Calicotyle cutmorei* n. sp. (Calicotylinae) and *Dendromonocotyle raiae* n. sp. (Monocotylinae). *Systematic Parasitology* **97**, 569–589.
- **Kumar S, Stecher G and Tamura K** (2016) MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0. for bigger data. *Molecular Biology and Evolution* **33**, 1870-1874.
- Knoff M, Cohen SC, Cárdenas MQ, Cárdenas-Callirgos JM, Gomes DC (2015) A new species of diplectanid (Monogenoidea) from *Paranthias colonus* (Perciformes, Serranidae) of Peru. *Parasite*, **22**,11.

- **Last PR, Naylor GJP and Manjaji-Matsumoto BM** (2016) A revised classification of the family Dasyatidae (Chondrichthyes: Myliobatiformes) based on new morphological and molecular insights. *Zootaxa* **4139**, 345–368.
- **Lebedev, BI** (1988) Monogenea in the light of new evidence and their position among platyhelminths. *Angewandte Parasitologie* **29**, 149–167.
- **Llewellyn J** (1984) The biology of *Isancistrum subulatae* n. sp., a monogenean parasitic on the squid, *Alloteuthis subulata*, at Plymouth. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 64, 285–302.
- **Lopes DA, Mainenti A, Sanches M, Knoff M and Gomes DC** (2016) Type material of Platyhelminthes (Monogenoidea) housed in the Helminthological Collection of the Oswaldo Cruz Institute/ FIOCRUZ (CHIOC), Rio de Janeiro, Brazil, from 1979 to 2016. *Zookeys* **616**, 1–75.
- **Luque JL, Iannacone J** (1991) Rhamnocercidae (Monogenea: Dactylogyroidea) in Sciaenid fishes from Peru, with description of *Rhamnocercoides menticirrhi* n. gen, n. sp. and two new species of Rhamnocercus. *Revista de Biología Tropical*, **39**, 193–201.
- Luque JL, Cruces C, Chero J, Paschoal F, Alves PV, Da Silva AC, Sánchez L and Iannacone J (2016) Checklist of metazoan parasites of fishes from Peru. *Neotropical Helminthology* **10**, 301–375.
- Mendoza-Franco EF (2009) Clase: Monogenoidea. In: Caspeta-Mandujano JM, Cabañas-Carranza G, Mendoza-Franco EF. Helmintos parásitos de peces dulceacuícolas mexicanos (Caso Morelos). México: AGT Editor, p. 18–20.
- Mendoza-Garfias B, García-Prieto L and Pérez-Ponce de León G (2017) Checklist of the Monogenea (Platyhelminthes) parasitic in Mexican aquatic vertebrates. *Zoosystema* **39**, 501–598.
- **Merlo-Serna AI and García-Prieto L** (2016) A checklist of helminth parasites of Elasmobranchii in Mexico. *Zookeys* **563**, 73–128.
- **Mizelle J D** (1936) New species of trematodes from the gills of Illinois fishes. *American Midland Naturalist*, **17**, 785–806.
- **Mizelle JD, Price CE (1963)** Additional haptoral hooks in the genus *Dactylogyrus*. *Journal of Parasitology*, 19, 785–806.
- **Neifar L, Euzet L and Ben Hassine OK** (2002) Une nouvelle espèce de Monocotylidae (Monogenea) parasite branchial de *Rinobatos cemiculus* (Euselachii, Rhinobatidae), avec proposition d'un nouveau genre et d'un amendement à la diagnose des Monocotylidae. *Zoosystema* **24**, 699–706.
- **Nelson JS** (2006) Fishes of the World. 4th Edition. John Wiley & Sons, Inc., Mar 2006. 624 pp.
- **Nitta M, Nagasawa K** (2015) *Heterocotyle chinensis* (Monogenea: Monocotylidae) from the whip stingray *Dasyatis akajei* in the Seto Inland Sea, Japan. *Species Diversity*, **20**, 89–93.
- Nacari LA, Sepulveda FA, Escribano R and Oliva ME (2018) Acanthocotyle gurgesiella n. sp. (Monogenea: Acanthocotylidae) from the deep-sea skate Gurgesiella

- furvescens (Rajidae) in the south-eastern Pacific. Journal of Helminthology **92**, 223–227.
- **Nacari LA, Sepulveda FA, Escribano R and Oliva ME** (2019) Two new species of *Acanthocotyle* Monticelli, 1888 (Monogenea: Acanthocotylidae), parasites of two deep-sea skates (Elasmobranchii: Rajiformes) in the South-East Pacific. *Parasites & Vectors* **12**, 512.
- Nacari LA, Sepulveda FA, Droguet F, Escribano R and Oliva ME (2020) Calicotyle hydrolagi n. sp. (Monogenea: Monocotylidae) infecting the deep-sea Eastern Pacific black ghost shark Hydrolagus melanophasma from the Atacama Trench, with comments on host specificity of Calicotyle spp. Parasitology International 75, 102025.
- **Ogawa K** (1991) Ectoparasites of sawfish, *Pristis microdon*, caught in freshwaters of Australia and Papua New Guinea. In: Shimizu M, Taniuchi T, editors. Studies on Elasmobranchs Collected from Seven River Systems in Northern Australia and Papua New Guinea. Tokyo: University of Tokyo. p. 91–102. (Nature Culture; vol. 3).
- **Oliva ME, Luque JL** (1995) *Rhinobatonchocotyle pacifica* n. sp. (Cercomeromorphae: Monogenea: Hexabothriidae) parasite of *Rhinobatos planiceps* (Rhinobatidae) from Northern Chile. *Revista de Biología Marina*, **30**, 1–5.
- **Patella R, Bullard SA** (2013) Hexabothriids of devil rays (Mobulidae): New genus and species from gill of *Mobula hypostoma* in the Northern Gulf of Mexico and redescription of a congener from *Mobula rochebrunei* in the Eastern Atlantic Ocean, *Journal of Parasitology*, **99**, 856–867.
- **Pavanelli GC, Eiras JC, Takemoto RM** (2002) Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento. Eduem, Maringá, 305 p.
- **Pavanelli GC, Eiras JC, Takemoto RM** (2008) Doenças de peixe: profilaxia, diagnóstico e tratamento. 3° ed. Maringá: Eduem.
- **Pavanelli GC, Takemoto RM, Eiras JC** (2013) Parasitologia de peixes de água doce do Brasil. Maringá, Eduem, 370 p.
- **Pollerspöck J and Straube N** (2021) Bibliography database of living/fossil sharks, rays and chimaeras (Chondrichthyes: Elasmobranchii, Holocephali): Host-Parasite List and Parasite-Host List. World Wide Web electronic publication. Available online at: Available from http://www.shark-references.com (accessed 17 January 2021).
- **Poddubnaya LG, Hemmingsen W, Bruñanská M, Gibson DI** (2018) Ultrastructural characteristics of the male ducts and terminal genitalia of an endoparasitic monogenean, *Calicotyle affinis* Scott, 1911 (Monopisthocotylea: Monocotylidae), with the first detailed description of a copulatory stylet in a monogenean. *Parasitology Research*, **117**, 1503–1512.
- **Poddubnaya LG, Hemmingsen W, Gibson DI** (2016) Surface ultrastructural characteristics of *Dictyocotyle coeliaca* Nybelin, 1941 (Monopisthocotylea: Monocotylidae), an endoparasitic monogenean of rays. *Parasitology Research*, **115**, 965–973.
- **Pulido-Flores G, Monks S, Violante-González J** (2015) *Denarycotyle gardneri* n. gen. n. sp. (Monogenea: Monocotylidae: Euzetiinae), from the gills of *Rhinoptera*

- steindachneri (Rhinoperidae) from Acapulco, Guerrero, México. Revista Mexicana de Biodiversidad, **86**, 582–589.
- **Quiterio-Rendon G, Monks S, Pulido-Flores G** (2018) *Neonchocotyle violantei* n. sp. (Monogenea, Hexabothriidae) from *Pseudobatos lentiginosus* (Rhinopristiformes, Rhinobatidae) of Yucatán, Gulf of Mexico. *Brazilian Journal of veterinary Parasitology*, **27**, 33–41.
- **Roumbedakis K, Drábková M, Tyml T, Di Cristo CA** (1573) Perspective Around Cephalopods and Their Parasites, and Suggestions on How to Increase Knowledge in the Field. *Frontiers in Physiology*, 9, 1573.
- **Santos CP, Timi JT, Gibson DI** (2002) *Diplectanum squamatum* n. sp. (Monogenea: Diplectanidae) from the gills of *Cynoscion guatucupa* (Sciaenidae) in Southwest Atlantic waters. *Systematic Parasitology*, **52**, 199–204.
- Santos CP, Santos AL, Gibson DI (2006) A new species of *Monocotyle* Taschenberg, 1878 (Monogenea: Monocotylidae) from *Dasyatis guttata* (Dasyatidae). *Journal of Parasitology*, **92**, 21–24.
- Santos CP, Santos AL, Cunha R and Chisholm LA (2012) A new species of *Heterocotyle* Scott, 1904 (Monogenea: Monocotylidae) from the gills of *Dasyatis guttata* (Dasyatidae) in southwestern Atlantic waters off Rio de Janeiro, Brazil. *Systematic Parasitology* 81, 65–70.
- **Sinnappah ND, Lim LHS, Rohde K, Tinsley R, Combes C and Verneau O** (2001) A paedomorphic parasite associated with a neotenic amphibian host: phylogenetic evidence suggests a revised systematic position for Sphyranuridae within anuran and turtle polystomatoineans. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **18**, 189–201.
- **Tantaleán M, Morales E, Hermes E** (1998) Una nueva especie y nuevo registro de monogeneos parásitos en peces marinos del Perú. *Parasitología al día*, **22**, 41–44.
- **Thatcher VE** (2006) Amazon fish parasites, second Edition. Sofia-Moscow, Pensoft Publishers, p. 42–116.
- **Thompson JD, Higgins DG and Gibson TJ** (1994) CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* **22**, 4673–4680.
- **Vaughan DB, Chisholm LA** (2009) Three *Dendromonocotyle* species (Monogenea: Monocotylidae) reported from captive rays, including *D. lotteri* sp. n. from Himantura *gerrardi* (Elasmobranchii: Dasyatidae) in the public aquarium at the Atlantis resort, Dubai. *Folia Parasitologica*, **56**, 99–106.
- **Vaughan D and Chisholm L** (2010) *Heterocotyle tokoloshei* sp. nov. (Monogenea, Monocotylidae) from the gills of *Dasyatis brevicaudata* (Dasyatidae) kept in captivity at Two Oceans Aquarium, Cape Town, South Africa: description and notes on treatment. *Acta Parasitologica* **55**, 108–114.
- Vaughan DB, Chisholm LA, Hansen H (2016) *Electrocotyle whittingtoni* n. gen., n. sp. (Monogenea: Monocotylidae: Heterocotylinae) from the gills of a captive onefin electric ray, *Narke capensis* (Narkidae) at Two Oceans Aquarium, Cape Town, South Africa. *Parasitology Research*, **115**, 3575–3584.

- **Watson DE, Thorson TB** (1976) Helminths from elasmobranchs in central American fresh waters. In: Thorson TB, editor. Investigations of the Ichthyofauna of Nicaraguan Lakes. Lincoln: School of Life Sciences, University of Nebraska-Lincoln. p. 629–640.
- **Whittington ID, Cribb BW, Hamwood TE, Halliday JA** (2000) Hostspecificity of monogenean (platyhelminth) parasites: a role for anterior adhesive areas? *International Journal for Parasitology*, **30**, 305–320.



#### Article



https://doi.org/10.11646/zootaxa.4527.3.4 http://zoobank.org/urn:lsid:zoobank.org:pub:23DD65F4-B4CC-4C78-99CC-9C704DB1C525

A new genus and species of the Dasybatotreminae Bychowsky, 1957 (Monogenea: Monocotylidae), parasitic on *Hypanus dipterurus* (Jordan & Gilbert) (Myliobatiformes: Dasyatidae) in the Southeastern Pacific Ocean off Peru

JHON D. CHERO<sup>1,3</sup>, CELSO L. CRUCES<sup>2,3</sup>, GLORIA SÁEZ<sup>3</sup> & JOSÉ L. LUQUE<sup>4</sup>

#### Abstract

Peruanocotyle n. gen. is proposed to accommodate Peruanocotyle chisholmae n. sp. (Monogenea: Monocotylidae). The new species is a gill parasite of the diamond stingray, Hypanus dipterurus (Jordan & Gilbert) (Myliobatiformes: Dasyatidae), a demersal chondrichthyan collected off the coast of Callao, Peru. Peruanocotyle n. gen. is placed in the Dasybatotreminae Bychowsky, 1957 because its anterior attachment organ has multiple glandular openings. Peruanocotyle chisholmae n. gen., n. sp. is unique among the Dasybatotreminae, by having: a well-developed, broadly ovoid anterior attachment organ with numerous grooves and an anteromedial notch; three prominent anterior glands that are connected to numerous peripheral glands; an unusual whip-shaped male copulatory organ composed of four connate tubes; an ejaculatory duct with slightly sclerotized walls where the proximal end has criss-crossed creases and the distal portion is highly convoluted; an ejaculatory bulb with one bipartite internal seminal vesicle; a wheel-shaped haptor with one central loculus and eight peripheral loculi; anchors that are much shorter than the width of marginal membrane and have an accessory sclerotized piece present; four oval testes, arranged in two groups; an ovary that has six clavate, proximal lobules and a distal portion that is strongly coiled; intestinal ceca with large lateral and medial diverticula; an oral opening surrounded by numerous small dome-like papillae; and a single vagina with sclerotized walls. Dasybatotreminae is amended to accommodate the new genus, and the new species is fully described and illustrated herein. The present finding adds to the other three marine monocotylids previously reported from Peru, namely Anoplocotyloides chorrillensis Luque & Iannacone, 1991; Anoplocotyloides papillatus (Doran, 1953) Young, 1967 and Monocotyle luquei Chero, Cruces, Iannacone, Sanchez, Minaya, Sáez & Alvariño, 2016.

Key words: Chondrichthyans, Diamond stingray, Dasyatids, Ectoparasites, Pacific Ocean, *Peruanocotyle chisholmae* n. gen., n. sp., taxonomy

#### Introduction

The Dasyatidae (Myliobatiformes) includes fishes commonly known as stingrays, which occur in the Atlantic, Indian and Pacific Oceans (Froese & Pauly 2018). They represent the most diverse group within the myliobatiforms with around 100 species assigned to 19 accepted genera (Last et al. 2016). The dasyatids include mainly marine species, although some species inhabit brackish or fresh water (Jonna 2003). Three species of marine dasyatids have been reported from the Pacific Ocean off South America, namely the diamond stingray, Hypanus dipterurus (Jordan & Gilbert), the longtail stingray, Hypanus longus (Garman) and the pelagic stingray, Pteroplatytrygon violacea (Bonaparte) (Froese & Pauly 2018). Of these hosts, the only available data on

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465, Km 7, CEP 23890-000, Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil. E-mail: cristhian-5645@hotmail.com

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465, Km 7, CEP 23890-000, Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil. E-mail: celso rdt10@hotmail.com

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup>Laboratorio de Parasitología General y Especializada, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV), Código postal 15007, El Agustino, Lima, Perú, E-mail: gloriasaez2000@hotmail.com

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup>Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Caixa postal 74.540, CEP 23851-970, Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil. E-mail: luqueufrrj@gmail.com

#### ORIGINAL PAPER



## A new species of *Heterocotyle* (Monogenea: Monocotylidae), a gill parasite of the diamond stingray *Hypanus dipterurus* (Myliobatiformes: Dasyatidae) from the Peruvian coastal zone

Jhon D. Chero<sup>1,3</sup> · Celso L. Cruces<sup>2,3</sup> · Gloria Sáez<sup>3</sup> · Cláudia Portes Santos<sup>4</sup> · José L. Lugue<sup>5</sup>

Received: 10 December 2019 / Accepted: 8 February 2020 © Witold Stefański Institute of Parasitology, Polish Academy of Sciences 2020

#### **Abstract**

**Introduction** A new monogenean, *Heterocotyle margaritae* n. sp. (Monocotylidae: Heterocotylinae), is described based on specimens collected from the gills of the diamond stingray, *Hypanus dipterurus* (Jordan & Gilbert, 1880) (Myliobatiformes: Dasyatidae) captured off the South Pacific coast, Lima Region, Peru.

Materials and methods Monogeneans were fixed in hot 4% formalin, observed and measured as permanent mounts stained with Gomori's trichrome, and mounted in Canada balsam. Drawings were made with the aid of a drawing tube.

**Results** The new species is distinguished from all congeners mainly by having a funnel-shaped male copulatory organ, spatulate distally with lateral folds and by its club-shaped accessory piece. The most similar congener, *H. americana* Hargis, 1955, resemble *H. margaritae* n. sp. regarding the general structure of the male copulatory organ (funnel-shaped with an accessory piece). However, besides other features, the new species differ from *H. americana* by having an accessory piece without a dorsal button (vs an accessory piece with a dorsal button in *H. americana*).

**Conclusions** This is the first report of a member of *Heterocotyle* Scott, 1904 in the Southeastern Pacific Ocean. The present finding brings to 20 the number of known species of *Heterocotyle*, and represents the fifth described monogenean species from *Hypanus dipterurus*.

 $\textbf{Keywords} \quad \text{Monogenea} \cdot \text{Elasmobranch} \cdot \text{Taxonomy} \cdot \text{Marine fish} \cdot \text{Peru}$ 

✓ José L. Luque luqueuſrrj@gmail.com

Published online: 02 March 2020

- Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, R.I. Brazil
- Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. Brazil
- 3 Laboratorio de Parasitología General y Especializada, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV), Código postal 15007, El Agustino, Lima, Perú
- <sup>4</sup> Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Av. Brasil 4365, Rio de Janeiro, RJ CEP 21040-360, Brazil
- Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ CEP 23851-970, Brazil

#### Introduction

Members of Heterocotyle Scott, 1904 (Monogenea: Monocotylidae) are branchial parasites that infect mainly dasvatids [1]. 21 nominal species have been described, but only 19 of them are considered valid, namely H. americana Hargis, 1955; H. armata Timofeeva, 1983; H. capapei Neifar, Euzet & Ben Hassine, 2000; H. capricornensis Chisholm & Whittington, 1996; H. chinensis Timofeeva, 1983; H. confusa Timofeeva, 1983; H. dasyatis (Yamaguti, 1965); H. forcifera Neifar, Euzet & Ben Hassine, 1999; H. granulatae Young, 1967; H. minima (MacCallum, 1916) Price, 1938; H. mokhtarae Neifar, Euzet & Ben Hassine, 1999; H. pastinacae Scott, 1904; H. pseudominima Hargis, 1955; H. scotti Neifar, Euzet & Ben Hassine, 1998; H. similis Neifar, Euzet & Ben Hassine, 1998; H. striata Neifar, Euzet & Ben Hassine, 1999; H. sulamericana Santos, Santos, Cunha & Chisholm, 2012; H. taeniuropi Cao, Ding, Zhang & Liu, 2010; and H. tokoloshei Vaughan & Chisholm, 2010 [1-7]. Three of these species have



Parasitology International 67 (2018) 425-430



Contents lists available at ScienceDirect

#### Parasitology International

journal homepage: www.elsevier.com/locate/parint



Hypanocotyle bullardi n. gen. n. sp. (Monogenea: Hexabothriidae) from gill of the diamond stingray Hypanus dipterurus (Jordan et Gilbert) (Myliobatiformes: Dasvatidae) in the Southeastern Pacific Ocean off Peru



Jhon D. Chero<sup>a,d</sup>, Celso L. Cruces<sup>a,c</sup>, Gloria Sáez<sup>a</sup>, Ana Carolina A. Camargo<sup>b,c</sup>, Cláudia Portes Santos<sup>b</sup>, José L. Luque<sup>e,</sup>

- i<sup>a</sup> Laboratorio de Parasitología General y Especializada, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV). Código postal 15007, El Agustino, Lima, Peru

  b Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Av. Brasil, 4365, RJ CEP 21040-360, Brasil

- Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ CEP 23890-000, Brazil
   Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ CEP 23890-000, Brazil
   Popartamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Caixa Postal 74.540, Seropédica, RJ, Brazil, CEP 23851-970.

#### ARTICLE INFO

#### Keywords: Parasites Monogenea Hexabothriidae Hypanocotyle n. gen. Dasyatidae Pacific Ocean, taxonomy

#### ABSTRACT

A new genus and species of monogenean belonging to Hexabothriidae, Hypanocotyle bullardi n. gen. n. sp., is described based on specimens collected from the gill filaments of the diamond stingray, Hypanus dipterurus (Jordan et Gilbert) (Myliobatiformes: Dasyatidae), a demersal chondrichthyan collected off the coast of Callao, Peru. Hypanocotyle n. gen. has the following combination of diagnostic features that differentiate it from other hexabothriid genera: haptor symmetrical; vasa efferentia having proximal (narrow, with thin glandular wall) and distal (expanded, interlaced, with thick glandular wall) portions, joining medially to form vas deferens; vas deferens having proximal (expanded, sinuous, with thick glandular wall) and distal (narrow, strongly sinuous, with thin glandular wall) portions; male copulatory organ unarmed, proximal portion slightly sinuous and tube-like, distal portion funnel-shaped; prostatic glands present, distributed around of the MCO; seminal receptacle present; ootype lacking longitudinal rows of large cells (no oötype côtelé); vaginae parallel, with well-differentiated proximal (glandular, narrow, tube-like, slightly sinuous) and distal (musculoglandular, convoluted) portions; gland cells surrounding the vaginal duct along the entire length of distal portion, densely clustered in middle portion; uterine eggs with 2 elongate filaments. Phylogenetic reconstructions by maximum-likelihood method, based on newly obtained partial 18S and 28S sequences, shows that *H. bullardi* n. gen. is included within the family Hexabothriidae, order Diclybothriidea. This is the second hexabothriid genus recorded from a diamond stingray (Dasyatidae), and the fourth hexabothriid species recorded from Peru. A key to hexabothriid genera is provided.

#### 1. Introduction

The Hexabothriidae Price, 1942 (Monogenea) comprises species that infect the buccal cavity, gill arches, and respiratory surfaces of cartilaginous fish (sharks, stingray and chimaeras) [1,2,3]. Boeger and Kritsky [4] conducted a phylogenetic analysis of the Hexabothriidae using morphological characters and recognized 13 valid genera but considered many species as incertae sedis, pointing out the possibility that some of these species could represent new genera. Currently, the family contains > 60 species assigned to 16 genera, with Mobulicola Patella et Bullard, 2013 being the only genus that has been proposed in the last 4 years [3].

The Dasyatidae (stingrays) are the most diverse group of myliobatiform fishes, having approximately 97 species assigned to 19 accepted genera [5]. They typically inhabit shallow coastal waters, lagoons, estuaries, and occasionally fresh waters, but a few species may range in deeper waters (beyond 100 m) [6]. To date, members of 14 monogenean genera have been reported from dasyatids: Entobdella Blainville in Lamarck, 1818; Listrocephalos Bullard, Payne et Braswell, 2004; Neoentobdella Kearn et Whittington, 2005; Trimusculotrema Whittington et Barton, 1990 (Capsalidae); Dasyoncocotyle Hargis, 1955 (Hexabothriidae); Loimopapillosum Hargis, 1955 (Loimoidae); Calicotyle Diesing,

https://doi.org/10.1016/j.parint.2018.03.010

Received 1 February 2018; Received in revised form 13 March 2018; Accepted 31 March 2018 Available online 03 April 2018 1383-5769/ © 2018 Published by Elsevier B.V.

<sup>\*</sup> Corresponding author. E-mail address: luqueufrrj@gmail.com (J.L. Luque)

#### **ORIGINAL PAPER**



## Redescription and First Nucleotide Sequences of *Rhinobatonchocotyle* pacifica Oliva & Luque, 1995 (Monogenea: Hexabothriidae), a Parasite of *Pseudobatos planiceps* (Garman, 1880) (Rhinopristiformes: Rhinobatidae) from Peru

Jhon D. Chero<sup>1,3</sup> · Celso L. Cruces<sup>2,3</sup> · Gloria Sáez<sup>3</sup> · Ana C. A. Camargo<sup>4</sup> · Cláudia Portes Santos<sup>4</sup> · José L. Luque<sup>5</sup> ©

Received: 6 May 2019 / Accepted: 10 July 2019 © Witold Stefański Institute of Parasitology, Polish Academy of Sciences 2019

#### Abstract

**Introduction** Specimens of *Rhinobatonchocotyle pacifica* Oliva & Luque, 1995 (Hexabothriidae) were collected from the gill filaments of Pacific guitarfish, *Pseudobatos planiceps* (Garman, 1880) (Rhinopristiformes: Rhinobatidae), from off the coast of Chorrillos, Lima, Peru. Since the original description of *R. pacifica* was incomplete, we herein redescribe *R. pacifica* based on re-examination of the holotype, paratypes, and newly collected voucher specimens. Nucleotide sequences (18S, 28S) for *R. pacifica* are presented for the first time, and a phylogenetic analysis conducted.

Materials and Methods Monogeneans were examined with light microscopy and partial sequences of 18S and 28S rDNA genes were obtained.

**Results** The following taxonomically important morphological features are described: presence of seminal receptacle, spiniform papillae within oral cavity, haptoral sucker sclerites and anchors, hook surface striations, muscular pad associated with each haptoral sucker sclerite (except sclerite 1), muscular bulbs in appendix suckers, and oötype lacking longitudinal rows of large cells (oötype not côtelé). The genital complex is detailed. The diagnosis of *Rhinobatonchocotyle* is emended to include species with or without seminal receptacle. Representative nucleotide sequences of partial 18S and 28S rDNA genes of *R. pacifica* were obtained for the first time and used for reconstructing the phylogeny of Hexabothriidae.

Conclusion The phylogenetic reconstruction confirmed the species within the Hexabothriidae.

Keywords Chondrichthyans · Ectoparasites · Monogeneans · Pacific Ocean · Phylogeny · Taxonomy

- ☑ José L. Luque luqucufrrj@gmail.com
- Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465, Km 7. Seropédica. Rio de Janeiro CEP 23890-000. Brazil
- Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465, Km 7, Seropédica, Rio de Janeiro CEP 23890-000, Brazil
- <sup>3</sup> Laboratorio de Parasitología General y Especializada, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV), El Agustino, Código postal 15007 Lima, Peru
- Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Av. Brasil 4365, Rio de Janeiro, RJ CEP 21040-360, Brazil
- Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Caixa postal 74.540, Seropédica, Rio de Janeiro CEP 23851-970, Brazil

#### Introduction

The Humboldt Current Large Region, which extends from northern Peru to southern of Chile, is among the most productive marine systems of the world and is characterized mainly by cold waters that flow toward the equator and by strong upwelling of cool nutrient-rich subsurface waters [1]. According to Miloslavich et al. [1], there were around 1167 marine fishes reported from this system, of which 692 species inhabit the waters along of the coast of Peru. Of those, 115 are chondrichthyans (66 sharks; 43 batoids; 6 chimaeras) that represent ~9% of extant (1275 spp.) chondrichthyans [2]. Of these, only 24 (<21%), have parasitological records [3–6].

Data on monogeneans infecting marine chondrichthyans from Peru are scare, comprising ten species of seven genera: *Callorhynchicola* Brinkmann, 1952 (1 sp.)

#### **ANEXO III**

#### Journal of Helminthology

#### cambridge.org/ihl

#### Research Paper

Cite this article: Chero JD, Cruces CL, Sáez G, Oliveira AGL, Santos CP, Luque JL (2021). A new species of *Loimopapillosum* Hargis, 1955 (Monogenea: Monocotylidae) parasitizing Hypanus dipterurus (Myliobatiformes: Dasyatidae) off the Pacific coast of South America, and its phylogenetic relationships. Journal of Helminthology 95, e37, 1-9, https:// doi.org/10.1017/S0022149X21000262

Received: 9 April 2021 Revised: 13 June 2021 Accepted: 16 June 2021

#### Keywords:

Elasmobranch; diamond stingray; Loimopapillosum pascuali n. sp; marine fishes; 18s and 28s rDNA; taxonomy

Author for correspondence: J.L. Luque, E-mail: luqueufrrj@gmail.com

© The Author(s), 2021, Published by Cambridge University Press



A new species of Loimopapillosum Hargis, 1955 (Monogenea: Monocotylidae) parasitizing Hypanus dipterurus (Myliobatiformes: Dasyatidae) off the Pacific coast of South America, and its phylogenetic relationships

J.D. Chero<sup>1</sup>, C.L. Cruces<sup>1</sup>, G. Sáez<sup>2</sup>, A.G.L. Oliveira<sup>3</sup>, C.P. Santos<sup>3</sup> and J.L. Lugue<sup>4</sup> (D)

1 Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465, Km 7. CEP 23890-000, Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil; <sup>2</sup>Laboratorio de Parasitología General y Especializada, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV), Código postal 15007, El Agustino, Lima, Peru; <sup>3</sup>Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Av. Brasil, 4365, Rio de Janeiro, RJ CEP 21040-360, Brazil and <sup>4</sup>Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, CEP 23851-970, Seropédica, Rio de Janeiro,

#### **Abstract**

A new species of Loimopapillosum Hargis, 1955 is described based on specimens collected from the gills of the diamond stingray, Hypanus dipterurus (Jordan & Gilbert, 1880) (Myliobatiformes: Dasyatidae) captured off Puerto Pizarro, Tumbes Region, northern Peru. Loimopapillosum pascuali n. sp. is distinguished mainly from the type and only species, Loimopapillosum dasyatis Hargis, 1955, by its funnel-shaped male copulatory organ, with an asymmetrical base; the superficial root of the anchor with distal knobs; the deep root of the anchor with a constriction at its base; a single testis; and the number of head organs. Available sequences for members of Monocotylidae in the GenBank as well as partial sequences for the gene 28S and 18S ribosomal DNA from L. pascuali n. sp. were included in phylogenetic analyses, suggesting that Loimoinae (represented in this study by  $L.\ pascuali$ n. sp. and Loimosina sp.) is nested within the Monocotylidae Taschenberg, 1879. Therefore, we confirm the rejection of Loimoidae Price, 1936 and its reincorporation as a subfamily of Monocotylidae, as previously suggested. Loimopapillosum pascuali n. sp. represents the first species of this genus in South America.

#### Introduction

Myliobatiformes, commonly known as stingrays, is a monophyletic order comprising more than 221 species (29 genera in ten families) with worldwide distribution (Dunn et al., 2003; Nelson, 2006). Several species of stingrays are used for human consumption and others, especially potamotrygonids, are highly appreciated by aquarists. Despite their great diversity and economic importance, less than 29% of stingray species have been studied for the presence of monogenean parasites (Chero et al., 2016, 2018a, b, 2020; Kohn et al., 2016; Lopes et al., 2016; Merlo-Serna & García-Prieto, 2016; Mendoza-Garfias et al., 2017; Pollerspöck & Straube, 2021)

The global fauna of monogeneans infecting stingrays is remarkably diverse and includes 147 species belonging to 33 genera in six families - namely, Acanthocotylidae Monticelli, 1903 (1 sp.), Capsalidae Baird, 1853 (23 spp.), Hexabothriidae Price, 1942 (9 spp.), Loimoidae Price, 1936 (1 sp.), Monocotylidae Taschenberg, 1879 (111 spp.) and Udonellidae Taschenberg, 1879 (2 spp.) (Chisholm & Kritsky, 2020; Kritsky & Chisholm, 2020; Pollerspöck & Straube, 2021). More than half of these genera (19) and about 91 species are parasites of dasyatids, the most diverse group within the Myliobatiformes (Last et al., 2016). The monocotylid Monocotyle ijimae Goto (1894) was the first monogenean species described from a dasvatid host and was found in the mouth of the common stingray, Dasyatis pastinaca (Linnaeus, 1758), in Japan. Thirty-five monogenean species have been described from dasyatids in the last two decades and four new genera have been proposed namely, Hypanocotyle Chero, Cruces, Sáez, Camargo, Santos & Luque, 2018; Listrocephalos Bullard, Payne & Braswell, 2004; Peruanocotyle Chero, Cruces, Sáez & Luque, 2018; and Septesinus Chisholm, 2013 (Cao et al., 2010; Vaughan & Chisholm, 2010; Chisholm & Whittington, 2012; Santos et al., 2012; Chisholm, 2013; Chero et al., 2016, 2018a, b, 2020; Kitamura & Ogawa, 2019).

Downloaded from https://www.cambridge.org/core. The University of Texas at El Paso, on 27 Jul 2021 at 14:51:39, subject to the Cambridge Core terms of use, available at https://www.cambridge.org/core/terms. https://doi.org/10.1017/S0022149X21000262

#### **ANEXO IV**

Acta Parasitologica https://doi.org/10.1007/s11686-021-00388-2

#### ORIGINAL PAPER



## First Data on the Parasites of the Pacific Kingcroaker *Menticirrhus elongatus* (Perciformes: Sciaenidae): Description of a New Species of *Rhamnocercoides* (Dactylogyridea: Diplectanidae)

Jhon D. Chero<sup>1</sup> · Celso L. Cruces<sup>1</sup> · Gloria Sáez<sup>2</sup> · José L. Luque<sup>3</sup>

Received: 15 February 2021 / Accepted: 29 March 2021

© Witold Stefański Institute of Parasitology, Polish Academy of Sciences 2021

#### **Abstract**

**Introduction** A new monogenean, *Rhamnocercoides lambayequensis* n. sp. (Dactylogyridea: Diplectanidae), is described based on the specimens collected from the gills of the Pacific kingcroaker *Menticirrhus elongatus* (Günther 1864) (Perciformes: Sciaenidae), a demersal fish endemic to Eastern Pacific, captured off the South American Pacific coast, Lambayeque Region, Peru.

**Materials and Methods** Monogeneans were fixed in hot 4% formalin. Some monogeneans were transferred directly onto a slide in a drop of glycerin–ammonium picrate mixture (GAP). Others were mounted stained with Gomori's trichrome in Canada balsam. Drawings were made using of a drawing tube.

**Results** The new species is mainly characterized by its MCO, which is tubular and straight, with external (distally expanded and bifurcated) and internal tubes (distally uncovered by external tube). *Rhamnocercoides lambayequensis* n. sp. is also characterized by having the following features: a weakly sclerotized almost pyriform vagina; haptoral acicular spines with expanded distal portion and by having a small group of haptoral accessory spines associated with haptoral lobes arranged as spikes.

**Conclusions** This is the first data on the parasites of *M. elongatus*, a little known, but popular fish in local markets. The present finding brings to two, the number of known species of *Rhamnocercoides* Luque and Iannacone 1991, and represents the sixth described marine diplectanid species infecting sciaenid fishes from Peru.

Keywords Rhamnocercoides lambayequensis n. sp. · Diplectanids · Gill parasite · Sciaenids · Marine fish · Taxonomy

#### Introduction

Menticirrhus elongatus (Günther 1864) (Perciformes: Sciaenidae) called Pacific kingcroaker, is a demersal fish endemic to Eastern Pacific, which inhabits coastal waters, especially

- Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, Brazil
- <sup>2</sup> Laboratorio de Parasitología General y Especializada, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV), El Agustino, Lima Código postal 15007, Peru
- Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ CEP 23851-970, Brazil

along sandy shores and lagoons, over soft bottom, and gravel substrates to depth of 70 m [1–3]. This species is distributed from Baja California (Mexico) to Peru and is common in the northern Peru [4]. *Menticirrhus elongatus* feeds on polychaetes, crustaceans, and mollusks [1]. So far, there is no information about the monogenean parasites of this fish host [5–7].

During a parasitological survey of Peruvian marine fishes carried out from May 2017 through June 2018, several specimens of diplectanid monogeneans were found on the gill filaments of *M. elongatus* captured off the South Pacific coast, Lambayeque Region, northern Peru. Detailed morphological examination revealed that the parasites represent a new species of *Rhamnocercoides* Luque and Iannacone 1991, which is described and illustrated herein.

Published online: 23 April 2021





## Six new species of *Rhamnocercus* Monaco, Wood & Mizelle, 1954 (Monogenea: Diplectanidae) infecting the gills from South American sciaenid fishes

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

Received: 9 February 2022/Accepted: 20 May 2022 © The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature B.V. 2022

**Abstract** A parasitological survey searching diplectanids (Monogenea: Diplecatnidae) infesting the gills of marine fishes from South America was carried out during the 2019–2020 period. The gills of four sciaenid species, 2 *Cheilotrema fasciatum* Tschudi, 1 smalleye croaker *Nebris microps* Cuvier, 2 royal highhat *Pareques lanfeari* (Barton), and 1 minor stardrum *Stellifer minor* (Tschudi), were sampled. Six new species of *Rhamnocercus* Monaco, Wood & Mizelle, 1954 were described: *Rhamnocercus chacllae* **n. sp.** and *Rhamnocercus chaskae* **n. sp.** from

J. D. Chero (🖂)

Departamento de Protozoología, Helmintología e Invertebrados afines, Museo de Historia Natural, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Av. Arenales 1256, Jesús María, 15072 Lima, Peru e-mail: jcherod@unmsm.edu.pe

#### J. D. Chero $\cdot$ C. L. Cruces

Published online: 16 June 2022

Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465, Km 7, Seropédica, Rio de Janeiro, CEP 23890-000, Brazil

#### G. Sáez

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

#### J. L. Luque

Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ 23851-970, Brazil P. lanfeari, Rhamnocercus fasciatus n. sp. from C. fasciatum, Rhamnocercus microps n. sp. from N. microps, and Rhamnocercus rimaci n. sp. and Rhamnocercus tantaleani n. sp. from S. minor. Rhamnocercus chacllae n. sp. can be differentiated from its congeners by its L-shaped male copulatory organ (MCO) and by having an anteromedial slight notch at ventral bar. Rhamnocercus chaskae n. sp. differs from the other species of the genus by its long and straight MCO with bifid distal end and by having haptoral accessory spines at level of ventral bar with quadrifid distal portion. Rhamnocercus fasciatus n. sp. is characterized by possessing a straight and long MCO with truncated distal end, haptoral accessory spines at level of ventral bar with bifid distal portion, dorsal bars with a knob at lateral extremity, and a large vagina with bell-shaped. Rhamnocercus microps n. sp. differs from all congeners mainly by having a short and straight MCO with the distal end of internal tube spatulate and uncovered by external tube. Rhamnocercus rimaci n. sp. is can be distinguished from all other species of Rhamnocercus by having an almost J-shaped MCO with the distal end of external tube slight expanded and the distal end of internal tube narrow and uncovered by external tube. Rhamnocercus tantaleani n. sp. is mainly characterized by its MCO, which is tubular and straight, having the distal end of external tube bifurcated (right branch wellexpanded and left branch narrow) and the distal end of internal tube enveloped by left branch of the external

Springer



# 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

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

Received: 20 July 2022/Accepted: 31 August 2022 © The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature B.V. 2022

**Abstract** Cynoscionella **n. g.** is proposed for Cynoscionella sanmarci **n. sp.** and two previously described species of Diplectanum Diesing, 1858 were reassigned into the new genus. The three species are gill parasites of sciaenid fishes (Perciformes: Sciaenidae). The new genus is closely related with Diplectanum (sensu stricto), but is mainly distinguished by its male copulatory organ (MCO) having a slightly sclerotized sleeve-shaped base, lacking accessory piece and accessory copulatory organ. In addition, Cynoscionella n. g. differs from Diplectanum

species by having the ventral anchors with welldeveloped roots, and a prostatic reservoir simple. Cynoscionella sanmarci n. sp. is a parasite of the cachema weakfish Cynoscion phoxocephalus Jordan & Gilbert, a demersal teleost collected from off the coastal zone of Puerto Pizarro, Tumbes region, northern Peru. Diplectanum bilobatum Hargis, 1955 from the spotted weakfish Cynoscion nebulosus (Cuvier) and D. monticellii Domingues & Boeger, 2003 from the smooth weakfish Cynoscion leiarchus (Cuvier), are transferred to Cynoscionella n. g. as Cy. bilobatum (Hargis, 1955) n. comb. and Cy. monticelli (Domingues & Boeger, 2003) n. comb. The present finding represents the first data on the monogenean parasites of C. phoxocephalus. This is the thirteenth marine diplectanid species recorded from Peru.

#### J. D. Chero (🖂)

Laboratorio 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

e-mail: jcherod@unmsm.edu.pe

J. D. Chero · C. L. Cruces 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), Código postal 15007 El Agustino, Lima, Peru

#### J. L. Luque

Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ CEP 23851-970, Brazil Introduction

The Sciaenidae (Perciformes) represents a diverse group of marine and freshwater fishes, with 68 recognised genera including 293 valid species, distributed in the Atlantic, Indian and Pacific oceans (Froese & Pauly, 2021). In Peru, 49 species have been reported (44 marine and 5 freshwater species). Even though many of these sciaenids are considered economically important and represent important food sources commercialized in fish markets for local consumption, barely 11 species (< 23%) have been

Springer