

ANÁLISE MOLECULAR DE UMA NOVA ESPÉCIE DE MONOGENÉTICO PARASITA DE *Hemiodus orthonops* (CHARACIFORMES: HEMIODONTIDAE) NA PLANÍCIE DE INUNDAÇÃO DO ALTO RIO PARANÁ

Isadora Scorsim Arjona (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Bárbara Scorsim Arjona (coorientadora), Wagner Toshio Hasuike (PGB/UEM), Alessandra Valéria de Oliveira (DBC/UEM), Ricardo Massato Takemoto (orientador), e-mail: takemotorm@nupelia.uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Maringá, PR.

Genética e Genética Molecular e de microorganismos; Parasitologia e Helminologia de Parasitos.

Palavras-chave: Espécie Nova, Marcador Molecular, Taxonomia.

RESUMO

A Classe Monogenea se caracteriza por apresentar uma estrutura de fixação denominada haptor e o complexo copulatório masculino, ambos com importância relevante para a identificação taxonômica. Dado o uso da taxonomia integrativa e a importância de ferramentas moleculares, o objetivo deste trabalho foi analisar molecularmente uma nova espécie de monogenético parasita de *Hemiodus orthonops* da planície de inundação do alto rio Paraná. Os hospedeiros foram coletados junto ao projeto Pesquisa Ecológica de Longa Duração (PELD). No que se refere as análises morfológicas dos parasitas, foi descrito como diagnóstico de gênero a presença do esclerito vaginal. Para a análise molecular foram utilizadas sequências parciais do DNA ribossômico (rDNA) 28S. Com base nos dados obtidos foi possível confirmar que a nova espécie de Monogenea pertence ao gênero *Urocleidoides*, sendo mais próxima geneticamente a *U. brasiliensis*.

INTRODUÇÃO

Os monogenéticos, representantes da Classe Monogenea Van Beneden, 1858 (Filo Platyhelminthes), tem como características serem bilaterais, ectoparasitos, com algumas espécies sendo endoparasitas, triblásticos não segmentados, acelomados com corpo mole, os quais manifestam o ciclo de vida monoxênico com um único hospedeiro. Dentre as enfermidades causadas por esses helmintos pode-se citar o estiolamento branquial, aumento excessivo de muco que pode causar o sufocamento do animal, causando assim um alto nível de mortalidade (Hickmann, 2016; Pavanelli et al., 2008).

Os indivíduos dessa classe exibem uma forma alongada, ovóide e com o corpo dividido em três partes; a cabeça, chamada de prohaptor, onde estão localizadas as glândulas adesivas, tronco, onde está localizado o complexo

copulatório e o haptor, um aparelho de fixação que é uma estrutura de extrema importância para os estudos taxonômicos (Eiras et al., 2006).

Entretanto, as características morfológicas utilizadas como critérios de identificação podem apresentar dúvidas quanto a distinção entre gêneros (Mendoza-Franco & Reina, 2008). Com isso, o objetivo deste trabalho foi analisar molecularmente uma nova espécie de monogenético parasita de *Hemiodus orthonops* (Eigenmann & Kennedy, 1903) descrita na planície de inundação do alto Rio Paraná.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os espécimes de *Hemiodus orthonops* foram coletados junto ao projeto Pesquisa Ecológica de Longa Duração (PELD) site 6, na planície de inundação do alto rio Paraná, e identificados conforme Ota et al. (2018). A coleta, conservação e preparação dos parasitos foi realizada conforme Eiras et al. (2006) no laboratório de Ictioparasitologia do Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura (Nupélia).

Para caracterização molecular, os monogenéticos foram triados conforme metodologia de Da Graça et al. (2018), sendo acondicionados individualmente de acordo com o morfotipo em tubos de 1,5 mL com água Milli-Q, e em seguida congelados. A extração do DNA do tecido dos parasitas foi feita utilizando o kit de extração em colunas QIAamp DNA Blood da Qiagen®, seguindo as instruções do fabricante. Na sequência, foi realizada a amplificação de fragmentos parciais da região do gene 28S com os primers U178: 5'-GCACCCGCTGAAYTTAAG-3' e L1642: 5'-CCAGCGCCATCCATTTTCA-3'; e o primer interno 1500R: 5'-GCTATCCTGAGGGAACTTCG-3' foi usado para sequenciamento.

As sequências obtidas foram editadas e alinhadas, usando os softwares BioEdit v7 e MEGA7, respectivamente. Cálculos de distância p e a construção da árvore gênica, pelo método de máxima verossimilhança com 1000 reamostragens de bootstrap (modelo de substituição de nucleotídeos TN93+G), foram realizadas no software MEGA7. *Pseudorhabdosynochus epinepheli* foi usada como grupo externo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma sequência parcial do 28S rDNA, com 951 pares de bases (pb), após edição e alinhamento, foi obtida para a nova espécie, apresentando valores de distância p de 23% a 29,8%, sendo mais perto de *U. brasiliensis* e mais distante de *U. indianensis*. No que se refere a árvore gênica (Figura 1), a sequência obtida no presente estudo se posicionou próxima ao clado formado pelas espécies *U. sinus* (MT556799), *U. digitabulum* (MT556796), e *U. paradoxus* (MT556795), todos parasitas de Anostomídeos.

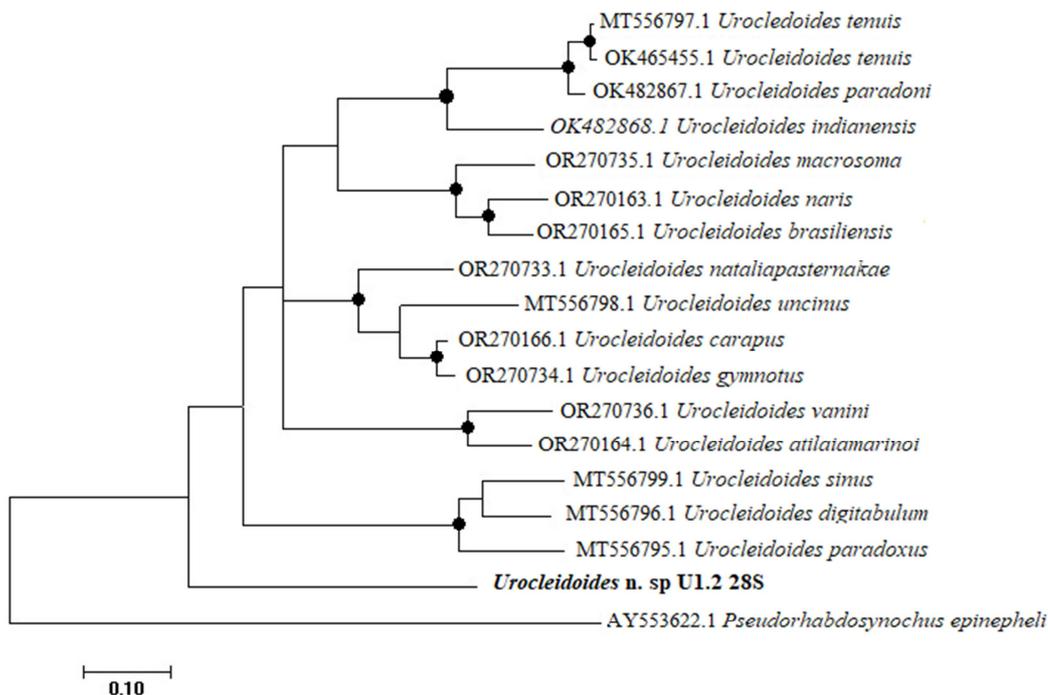


Figura 1: Árvore gênica construída para as espécies de *Urocleidoides* pelo método de máxima verossimilhança com 1000 reamostragens de bootstrap para a região 28S. A sequência destacada em negrito é a obtida neste estudo. Valores de suporte acima de 85 estão destacados com círculos.

Encontram-se no GenBank apenas 16 sequências de 28s rDNA, retratando apenas 28.84% das espécies descritas (15 de 52 espécies), desse modo, o presente trabalho foi feito utilizando todas as sequências disponíveis para o gênero nos bancos de dados. E assim como Neto & Domingues (2023) ressaltaram, acreditamos que as relações dentro do gênero de *Urocleidoides* poderão ser esclarecidos em futuras pesquisas, com a possível incorporação de todas as espécies descritas nas análises moleculares.

CONCLUSÕES

Após as análises da morfologia de espécimes de monogenéticos parasitas de *H. orthonops*, com a utilização de técnicas moleculares e análises da sequência obtida, foi possível identificar uma nova espécie de *Urocleidoides*. Esta é a primeira descrição de um monogenético para os hospedeiros da família Hemiodontidae, sendo necessário a realização de novos estudos para monitorar a ocorrência deste monogenético na família e clarificar questões filogenéticas ainda não resolvidas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq e à Fundação Araucária pela concessão da bolsa; e aos laboratórios de Ictioparasitologia e Genética Molecular pertencentes ao Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura da Universidade Estadual de Maringá (UEM).

REFERÊNCIAS

DA GRAÇA, R.J., FABRIN, T.M.C., GASQUES, L.S., et al. Topological congruence between phylogenies of *Anacanthorus* spp. (Monogenea: Dactylogyridae) and their Characiformes (Actinopterygii) hosts: A case of host-parasite cospeciation. **PLoS One** 13:1–14, 2018. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0193408> . Acesso em 16 de agosto de 2023.

EIRAS, J.C.; PAVANELLI, G.C.; TAKEMOTO, R.M. **Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes**. 2. ed. rev. ampl. Maringá: Eduem – Editora da Universidade Estadual de Maringá. ISBN 85-7628-032-9, 2006.

HICKMAN, C.P.; ROBERTS, L.S.; KEEN, S.L. **Princípios integrados de zoologia**. 16. ed Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. ISBN 978-85-277-2960-4, 2016

MENDOZA-FRANCO, E.F.; REINA, R.G. Five new species of *Urocleidoides* (Monogenoidea) (Mizelle and Price 1964) Kritsky, Thatcher, and Boeger, 1986, parasitizing the gills of Panamanian freshwater fishes. **J. Parasitol.**, v. 94, n. 4, p. 793-802, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1645/GE-1438.1> . Acesso em 15 de agosto de 2023.

NETO, SANTOS JF; DOMINGUES, MV. Integrative taxonomy of *Urocleidoides* spp. (Monogenoidea: Dactylogyridae) parasites of characiform and gymnotiform fishes from the coastal drainages of the Eastern Amazon, Brazil. **J. Helminthol.**, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0022149X2300041X> . Acesso em 2 de agosto de 2023.