

IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE PARASITAS DE *SALMINUS BRASILIENSIS* (CHARACIFORMES: BRYCONIDAE) DA PLANÍCIE DE INUNDAÇÃO DO ALTO RIO PARANÁ

Leonardo de Freitas Chagas (PIBIC/CNPq), Bárbara Scorsim (Coorientador);
Alessandra Valéria de Oliveira (Orientadora). E-mail: avoliveira@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas/Genética Molecular e de Microorganismos

Palavras-chave: Bryconidae; Dactylogyridae; 28S rDNA.

RESUMO

Os gêneros de monogenéticos que parasitam *Salminus brasiliensis* pertencem a família Dactylogyridae e por se tratar de organismos pequenos, a identificação a partir apenas da morfologia se torna por vezes limitada. Assim, o objetivo deste trabalho foi identificar e caracterizar molecularmente monogenéticos parasitos de *Salminus brasiliensis* da planície de inundação do alto rio Paraná, por meio do uso da região nuclear 28S. As análises realizadas permitiram a primeira caracterização molecular para esse marcador de *Jainus iocensis*, *Annulotrematoides parisellei* e *Anacanthorus contortus* contribuindo para a compreensão da fauna parasitária no local.

INTRODUÇÃO

A bacia do alto rio Paraná abriga uma das espécies de peixes mais importantes da região, o *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816), conhecido popularmente como Dourado. Essa espécie acaba sendo drasticamente afetada por parasitos, principalmente os ectoparasitos monogenéticos (COHEN et al., 2012). De acordo com Cohen e colaboradores (2012) foram encontrados em *S. brasiliensis* parasitos monogenéticos dos gêneros *Anacanthorus* Mizelle & Price 1965, *Annulotrematoides* Kritsky & Boeger e *Jainus* Mizelle, Kritsky & Crane, 1968.

Os gêneros de monogenéticos identificados no Dourado pertencem a família Dactylogyridae e parasitam principalmente peixes da família Bryconidae (COHEN et al., 2012). Por se tratar de organismos pequenos, a identificação a partir apenas da morfologia se torna mais limitada, sendo necessário o uso de ferramentas moleculares para realizar uma correta identificação e consequente caracterização molecular desses organismos (YAMADA, 2023). Portanto, o objetivo deste trabalho foi realizar, por meio do marcador molecular 28S, a caracterização molecular de parasitos de *Salminus brasiliensis* e ajudar na compreensão da diversidade da fauna parasitária dos monogenéticos na planície de inundação do alto rio Paraná.

MATERIAIS E MÉTODOS

Exemplares de *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816) (Characiformes: Bryconidae), coletados na planície de inundação do alto rio Paraná, foram triados de acordo com metodologia de Da Graça *et al.* (2018). Os parasitos obtidos foram acondicionados individualmente de acordo com o morfotipo em tubos de 1,5 mL com água Milli-Q, em seguida congelados. A extração do DNA do tecido dos parasitas foi realizada utilizando o kit QIAamp DNA Blood da Qiagen®, seguindo as instruções do fabricante.

Para amplificação do DNA dos parasitas, foram utilizados primers específicos para a região 28S. Os produtos amplificados foram visualizados em gel de agarose 1% e o tamanho dos fragmentos foi estimado com a utilização de um marcador de peso molecular conhecido (DNA Ladder 100pb). Os produtos obtidos da amplificação do DNA foram purificados pelo protocolo de Rosenthal *et al.* (1993). O sequenciamento foi realizado por uma empresa privada no sequenciador Applied Biosystems® AB-3500, utilizando o kit BigDye® Terminator.

As sequências obtidas foram editadas e alinhadas juntamente com sequências dos bancos de dados genéticos obtidas para os gêneros *Anacanthorus*, *Urocleidoides*, *Annulotrematoides* e *Jainus*. Pelo programa MEGA 11 (TAMURA, 2021) foram calculadas as distâncias genéticas p e construída uma árvore gênica pelo método de máxima verossimilhança com 1000 reamostragens de *bootstrap*. O modelo de substituição de nucleotídeos utilizado foi *Generalized Time-Reversible* com distribuição *Gamma* e sítios *Invariant* (GTR+G+I). *Austrodiplostomum compactum* (MH373585) foi utilizado como grupo externo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises morfológicas realizadas permitiram a identificação prévia, a nível de espécie, para os espécimes analisados, sendo todos pertencentes à família Dactylogyridae. Foram identificados três exemplares de *Jainus iocensis*, um exemplar de *Annulotrematoides parisellei* e cinco exemplares de *Anacanthorus contortus*.

Em relação à árvore gênica (Fig 1.), ocorreu a formação de dois grandes clados, um deles formado por espécies do gênero *Anacanthorus* e o outro por espécies dos gêneros *Jainus*, *Annulotrematoides* e *Urocleidoides*. As sequências de *Anacanthorus* obtidas em nosso estudo se agruparam, formando um grupo irmão em relação àquele formado por outras sequências obtidas dos bancos de dados, com valores de distância p variando de 30,3% até 36,5%. Podemos concluir então que se trata de uma espécie diferente daquelas encontradas nos bancos de dados.

O exemplar de *Annulotrematoides parisellei* analisado formou um grupo separado das demais sequências do gênero encontradas nos bancos de dados, com um valor de distância p de 34,3%. O mesmo foi observado para as sequências de *Jainus iocensis*, que se agruparam próximo ao clado formado por *Urocleidoides*. Os valores de distância p de *J. iocensis* em relação às outras espécies do gênero

variaram de 28,9% a 33,1%, evidenciando também que se trata de uma espécie diferente daquelas do banco de dados.

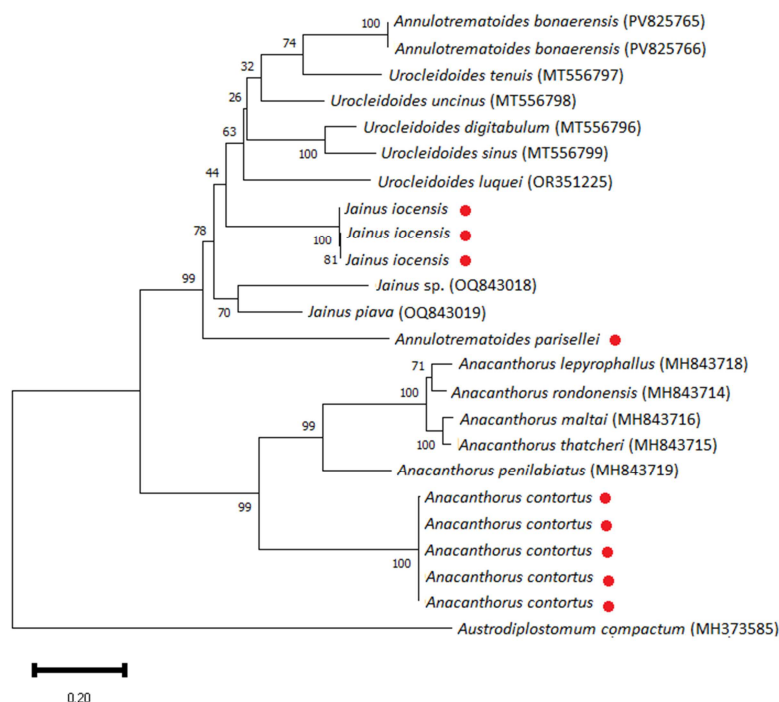


Figura 1: Árvore gênica construída utilizando o método de máxima verossimilhança com 1.000 reamostragens de bootstrap (GTR+G+I), para o marcador molecular 28S. *Austrodiplostomum compactum* (MH373585) foi utilizado como grupo externo. Os espécimes analisados nesse estudo estão marcados com círculo vermelho.

Os estudos moleculares para *Jainus* (YAMADA et al., 2023) e *Annulotrematoides* (OSAKI-PEREIRA et al., 2025) são recentes, com isso, a falta de sequências disponíveis nos bancos de dados dificultam análises mais aprofundadas para esses gêneros.

CONCLUSÕES

As análises realizadas permitiram a primeira caracterização molecular de *Jainus iocensis*, *Annulotrematoides parisellei* e *Anacanthorus contortus* parasitando *Salminus brasiliensis* na planície de inundação do alto Rio Paraná, por meio da região 28S, contribuindo para a compreensão da fauna parasitária no local.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida.

REFERÊNCIAS

COHEN, Simone Chinicz; KOHN, Anna; BOEGER, Walter A. Neotropical Monogeneoidea. 57. Nine new species of Dactylogyridae (Monogeneoidea) from the gill of *Salminus brasiliensis* (Characidae, Characiformes) from the Paraná river, State of Paraná, Brazil. **Zootaxa**, v. 3049, n. 1, p. 57-68, 2012.

DA GRACA, Rodrigo J. et al. Topological congruence between phylogenies of *Anacanthorus* spp. (Monogenea: Dactylogyridae) and their Characiformes (Actinopterygii) hosts: A case of host-parasite cospeciation. **PLoS One**, v. 13, n. 3, p. e0193408, 2018.

TAMURA, Koichiro; STECHER, Glen; KUMAR, Sudhir. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. **Molecular biology and evolution**, v. 38, n. 7, p. 3022-3027, 2021.

OSAKI-PEREIRA, Melissa Miyuki et al. Phylogenetic insights into Annulotrematoides (Kritsky & Boeger, 1995) and Urocleidoides (Mizelle & Price, 1964) (Monopisthocotyla: Dactylogyridae) species parasitizing *Cyphocharax modestus* (Fernández-Yépez) (Characiformes: Curimatidae) from southeastern Brazil. **Systematic Parasitology**, v. 102, n. 5, p. 47, 2025.

ROSENTHAL, Andre; COUTELLE, Oliver; CRAXTON, Molly. Large-scale production of DNA sequencing templates by microtitre format PCR. **Nucleic acids research**, v. 21, n. 1, p. 173, 1993.

YAMADA, Priscilla de Oliveira Fadel et al. Three new species of *Jainus* (Monogenea: Dactylogyridae) parasitizing gills of Brazilian freshwater fishes supported by morphological and molecular data. **Diversity**, v. 15, n. 5, p. 667, 2023.