

MARLUS BUENO SILVA

**Especiação incipiente de *Gyrodactylus* (Monogenoidea) em espécies
simpátricas de *Corydoras* (Siluriformes)?**

CURITIBA

2007

MARLUS BUENO SILVA

**Especiação incipiente de *Gyrodactylus* (Monogenoidea) em espécies
simpátricas de *Corydoras* (Siluriformes)?**

Dissertação apresentada como requisito parcial à
obtenção do grau de Mestre em Ciências
Biológicas, área de concentração: Zoologia. Curso
de Pós-Graduação em Ciências Biológicas,
Zoologia, Setor de Ciências Biológicas da
Universidade Federal do Paraná.
Orientador: Walter A. P. Boeger, Ph.D.

CURITIBA

2007

Termo de aprovação

Especiação incipiente de *Gyrodactylus* (Monogenoidea)
em espécies simpátricas de *Corydoras* (Siluriformes)?

por

Marlus Bueno Silva

Dissertação aprovada em 16 de fevereiro de 2007, como requisito parcial para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências Biológicas, área de concentração Zoologia, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Zoologia, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores



Dr. Walter Antonio Pereira Boeger – UFPR
Orientador



Dr. Marcus Vinicius Domingues - USP



Dr. Mauricio Osvaldo Moura – UNICENTRO

*“No reino animal, a vida diversificada
se faz de indivíduo a indivíduo, sendo que cada um apresenta, além da uniformidade da
espécie, a diferença da sua própria individualidade.”*

Antonio Grimm

SUMÁRIO

Termo de aprovação	iii
Epígrafe	iv
Lista de Figuras	vi
Lista de Tabelas	vii
Agradecimentos	ix
Resumo Geral	x
Abstract	xii

Capítulo I. Morfometria revela que *Gyrodactylus anisopharynx* (Monogenoidea, Gyrodactylidae) representa duas espécies distintas com a descrição de *Gyrodactylus* sp. n. e redescricao de *G. anisopharynx*, parasitos de *Corydoras* spp. (Siluriformes, Callichthyidae) no sul do Brasil.

Resumo	1
Abstract	2
Introdução	3
Material e Métodos	4
Resultados	6
Discussão	11
Referências	14

Capítulo II. Morfometria e DNA sugerem especiação incipiente de *Gyrodactylus* sp. n. (Monogenoidea, Gyrodactylidae) em espécies simpátricas de *Corydoras* (Siluriformes).

Resumo	30
Abstract	31
Introdução	32
Material e Métodos	34
Resultados	37
Discussão	41
Referências	46

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

Figura 1. Distâncias dos pontos morfométricos da âncora e gancho de espécimes de <i>Gyrodactylus anisopharynx</i> Popazoglo et Boeger, 2000	20
Figura 2. Ganchos e barras profundas dos morfotipos de <i>Gyrodactylus anisopharynx</i> Popazoglo et Boeger, 2000	21
Figura 3. Classificação dos morfotipos de <i>Gyrodactylus anisopharynx</i> Popazoglo et Boeger, segundo PCA	22
Figura 4. Morfologia geral de <i>Gyrodactylus</i> sp. n.	23

Capítulo II

Figura 1. Análise discriminante de pontos morfométricos de âncora e gancho de <i>Gyrodactylus</i> sp. n.	55
Figura 2. Relação filogenética de <i>Gyrodactylus</i> sp. n. entre hospedeiros simpátricos (análise de parcimônia)	56
Figura 3. Relação filogenética de <i>Gyrodactylus</i> sp. n. entre hospedeiros simpátricos (análise bayesiana)	57
Figura 4. Um dos cladogramas mais parcimoniosos de <i>Gyrodactylus</i> sp. n. evidenciando eventos de troca de hospedeiro	58
Figura 5. Análise da distribuição de linhagens de <i>Gyrodactylus</i> sp. n. entre hospedeiros distintos, segundo análise de parcimônia	59
Figura 6. Cladograma da análise bayesiana mostrando eventos de troca de hospedeiro	60
Figura 7. Análise da distribuição de linhagens de <i>Gyrodactylus</i> sp. n. entre hospedeiros distintos, segundo análise bayesiana	61

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Tabela 1. Valores médios das distâncias entre pontos morfométricos de âncora, gancho e faringe dos morfotipos de <i>Gyrodactylus anisopharynx</i> Popazoglo et Boeger, 2000	24
Tabela 2. Análise discriminante dos pontos morfométricos de âncora, gancho e faringe dos morfotipos de <i>Gyrodactylus anisopharynx</i> Popazoglo et Boeger, 2000	25
Tabela 3. Análise discriminante dos pontos morfométricos de âncora e gancho dos morfotipos de <i>Gyrodactylus anisopharynx</i> Popazoglo et Boeger, 2000	26
Tabela 4. Autovalores da matriz de correlação da PCA de estruturas do háptor e faringe.....	27
Tabela 5. Escores da PCA de estruturas do háptor e faringe dos morfotipos de <i>Gyrodactylus anisopharynx</i> Popazoglo et Boeger, 2000	28
Tabela 6. Escores da PCA de estruturas do háptor dos morfotipos de <i>Gyrodactylus anisopharynx</i> Popazoglo et Boeger, 2000	29

Capítulo II

Tabela 1. Valores médios das distâncias dos pontos morfométricos de âncora e gancho de <i>Gyrodactylus</i> sp. n. do rio Miringuava	62
Tabela 2. Valores médios das distâncias dos pontos morfométricos de âncora e gancho de <i>Gyrodactylus</i> sp. n. do rio Piraquara	63
Tabela 3. Análise de variância multivariada dos pontos morfométricos de âncora e gancho de <i>Gyrodactylus</i> sp. n. do rio Miringuava	64
Tabela 4. Análise de variância multivariada dos pontos morfométricos de âncora e gancho de <i>Gyrodactylus</i> sp. n. do rio Piraquara	65

Tabela 5. Distância de Mahalanobis de pontos morfométricos de <i>Gyrodactylus</i> sp. n. entre hospedeiros procedentes dos rios Miringuava e Piraquara	66
Tabela 6. Análise de variância multivariada dos pontos morfométricos de âncora e gancho de infrapopulações de <i>Gyrodactylus</i> sp. n. dos rios Miringuava e Piraquara	67

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, aos meus pais (Antonio e Rute) e irmão (Daniel) pelo apoio, carinho e compreensão que foram indispensáveis para mim, especialmente nos últimos três anos.

Às professoras Dr^a Marta Fischer e Dr^a Leny Cristina. Graças a elas tive meu primeiro contato com a iniciação científica e incentivo para continuar estudando após a conclusão da graduação em biologia.

Ao orientador professor Dr. Walter Boeger pela oportunidade de trabalhar com ele, bem como pelo incentivo, confiança e profissionalismo.

Ao pessoal do Laboratório de Ecologia Molecular e Parasitologia Evolutiva, especialmente àqueles que tiveram uma participação direta no meu trabalho, seja em coletas de campo ou nos procedimentos de laboratório: Rogério Vianna, Raphael Ribeiro, Luciana Patella, Marcio Pie, Guilherme Schnell, José Francisco e estagiários. E falando em coletas, quero fazer um agradecimento especial aos amigos Rogério, Raphael e Érico, que estiveram presentes em todos os momentos que precisei.

Ao biólogo André Zelanis pela amizade e apoio.

Ao curso de Pós-graduação de Zoologia da UFPR, em especial às secretárias Vera e Tereza. Aos professores Mário, Danúncia, Tatiana, Jayme e Sônia Mello pelo carinho e atenção.

À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

RESUMO GERAL

O objetivo deste trabalho é compreender como uma espécie de *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 utiliza hospedeiros em simpatria por meio de técnicas morfométricas e moleculares. A maioria das espécies de *Gyrodactylus* ocorre apenas em uma espécie de hospedeiro. Entretanto, alguns estudos têm relatado a ocorrência concomitante de *Gyrodactylus* spp. em hospedeiros simpátricos distintos, o que tem motivado o desenvolvimento e aplicação de métodos para avaliar se esses parasitos, de fato, representam espécies diferentes. Na América do Sul, são conhecidas quatro espécies de *Gyrodactylus* que compartilham os hospedeiros simpátricos *Corydoras ehrhardti* Steindachner, 1910 e *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842). Originalmente, o presente estudo seria realizado com exemplares da espécie *Gyrodactylus anisopharynx* Popazoglo et Boeger, 2000. Porém, a análise discriminante e PCA mostraram que diferenças na forma e tamanho das âncoras, ganchos, faringes distal e proximal, e barra dorsal entre os dois morfotipos de *G. anisopharynx*, superaram possíveis variações intraespecíficas ou sazonais, justificando a separação desses morfotipos em duas espécies distintas. Por esta razão, no primeiro capítulo *G. anisopharynx* é redescrita, e passa a ser limitada aos espécimes do morfotipo denominado “faringe grande”, pois o holótipo da espécie é desse morfotipo. Uma nova espécie, *Gyrodactylus* sp. n., é descrita para acomodar os animais do morfotipo denominado “faringe pequena”. Devido ao fato dessa espécie ser mais abundante que *G. anisopharynx* (*sensu stricto*), o estudo da dinâmica de parasitismo foi realizado exclusivamente com exemplares de *Gyrodactylus* sp. n. Assim, no segundo capítulo foi analisado como *Gyrodactylus* sp. n. compartilha os hospedeiros simpátricos *C. ehrhardti* e *C. paleatus*. Com base em estudos de dinâmica de populações de *Gyrodactylus* spp., foram formuladas duas hipóteses: (1) *Gyrodactylus* sp. n. pode utilizar hospedeiros simpátricos de forma indiscriminada? (2) A troca de hospedeiro pode favorecer a adaptação de linhagens de *Gyrodactylus* sp. n. entre

espécies distintas de *Corydoras*? Para testar essas hipóteses, foram utilizados dois conjuntos de técnicas morfométricas e moleculares, como fontes hipoteticamente independentes de evidências. A análise discriminante e análise de variância multivariada de 9 pontos morfométricos revelaram diferenças significativas na morfologia de âncora e gancho de 164 espécimes de *Gyrodactylus* sp. n., o que permitiu discriminar os parasitos das espécies hospedeiras em 71,5% dos casos. Da mesma maneira, a análise filogenética de parcimônia e bayesiana de 741 pares de bases do gene mitocondrial citocromo oxidase I (COI) de 40 espécimes de *Gyrodactylus* sp. n., revelou pelo menos duas linhagens de parasitos, relacionadas com as espécies de hospedeiros. Dados moleculares sugerem que *Gyrodactylus* sp. n. é capaz de dispersar entre *C. ehrhardti* e *C. paleatus*. A correlação significativa entre as classificações morfométricas e moleculares de *Gyrodactylus* sp. n. indica que os parasitos estão se adaptando aos seus respectivos hospedeiros, refletindo, aparentemente, um processo que pode resultar na especiação da espécie parasita.

ABSTRACT

The objective of this study is to analyze how one species of *Gyrodactylus* exploits two sympatric hosts by morphological and molecular analysis. The majority of the described species of this genus is recorded from a single host, however some species are extremely generalist. The presence of cryptic *Gyrodactylus* species on sympatric hosts has enhanced the application of morphometric analysis to distinguish these parasites. In South America, four species of *Gyrodactylus* are known from sympatric hosts *Corydoras ehrhardti* Steindachner, 1910 e *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842). Originally, this study would be developed with *Gyrodactylus anisopharynx* Popazoglo et Boeger, 2000. However, the stepwise discriminant analysis and PCA showed significant differences on the haptoral sclerites and pharynx between two variants of *G. anisopharynx*. The data suggests that this difference exceeds any expected intraspecific variation or seasonal phenotypic plasticity. Thus, the two variants of *G. anisopharynx* were separated into two species. For that reason, in the first chapter *G. anisopharynx* is redescribed and restricted to the variants known as “large-pharynx”. Consequently, *Gyrodactylus* sp. n. is described from “small-pharynx” variants. Because *Gyrodactylus* sp. n. is more abundant than *G. anisopharynx*, this study was developed exclusively with specimens of *Gyrodactylus* sp. n. In the second chapter, we investigate how *Gyrodactylus* sp. n. exploits sympatric hosts, *C. ehrhardti* and *C. paleatus*. According to previous studies on the population dynamics of *Gyrodactylus* spp., two questions were formulated: (1) Can *Gyrodactylus* sp. n. use sympatric hosts indistinctively? (2) Can host-switch events cause the adaptation of *Gyrodactylus* sp. n. strains on sympatric *Corydoras* species? Morphological and molecular techniques were used to corresponding hypotheses. Nine point-to-point measurements of the opisthaptor hard parts were measured and analyzed by discriminant analysis and multivariate analysis of variance. The data showed that 71,5% of the parasites were discriminated from their hosts species. The mitochondrial cytochrome

oxidase I gene (COI) were sequenced (741 base pairs) from 40 *Gyrodactylus* specimens. The mtDNA data has recognized two *Gyrodactylus* sp. n. strains that were closely correlated to the species of *Corydoras*. Molecular data showed that *Gyrodactylus* sp. n. can switch between the sympatric hosts. Significant correlation between morphological and molecular classification suggests that *Gyrodactylus* sp. n. is adapting to their hosts, which may reflect an ongoing speciation of *Gyrodactylus* sp. n. on sympatric *Corydoras* species.

CAPÍTULO I

Morfometria revela que *Gyrodactylus anisopharynx* (Monogenoidea, Gyrodactylidae) representa duas espécies distintas com a descrição de *Gyrodactylus* sp. n. e redescricao de *G. anisopharynx*, parasitos de *Corydoras* spp. (Siluriformes, Callichthyidae) no sul do Brasil (*)

Título abreviado: Descrição de *Gyrodactylus* sp. n. de *Corydoras* spp. no sul do Brasil

Resumo

As espécies de *Gyrodactylus* são abundantes e encontradas em ambiente aquático marinho e dulcícola. A ocorrência concomitante de espécies de *Gyrodactylus* em um mesmo hospedeiro tem motivado a aplicação de análises morfométricas para avaliar se esses parasitos representam, de fato, espécies distintas. Partindo dessa premissa, o presente estudo objetivou avaliar o status evolutivo de dois morfotipos de *Gyrodactylus anisopharynx* Popazoglo et Boeger, 2000 utilizando técnicas morfométricas. Foram coletados 132 parasitos dos hospedeiros *Corydoras ehrhardti* Steindachner, 1910 e *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842) entre fevereiro de 2005 e maio de 2006 no rio dos Patos, rio Piraquara e rio Miringuava, Paraná, Brasil. Os 11 pontos morfométricos de âncora, gancho e faringe, avaliados por análise discriminante e PCA, bem como a morfologia distinta das barras profundas e ganchos dos dois morfotipos, mostraram que as diferenças morfológicas ultrapassam possíveis variações intraespecíficas ou sazonais. Os resultados sugeriram a descrição de uma nova espécie a partir de um dos morfotipos, nomeada *Gyrodactylus* sp. n., morfologicamente distinta de *G. anisopharynx* por possuir gancho com ponta mais longa e calcanhar mais robusto, plataforma convexa, bico ligeiramente pontiagudo, deprimido, com porção inferior suavemente côncava; faringe proximal com aproximadamente metade da largura; barra profunda com o dobro de

(*) Artigo formatado para publicação na revista *Folia Parasitologica*.

largura e duas projeções posteriores subterminais; e âncoras com maior largura e comprimento total. Os dados evidenciaram a importância de medidas da faringe na distinção das duas espécies. *Gyrodactylus* sp. n. é a quarta espécie do gênero descrita para peixes *Corydoras* do sul do Brasil.

Palavras-chave: *Gyrodactylus*, morfometria, *Corydoras*, simpatria

Abstract

Gyrodactylus sp. n. (**Monogenoidea, Gyrodactylidae**) from the body surface of *Corydoras* spp. (**Siluriformes, Callichthyidae**) of southern Brazil

Species of *Gyrodactylus* are numerous and found on marine and freshwater environment. The presence of cryptic *Gyrodactylus* species on sympatric hosts has enhanced the application of morphometric analysis to distinguish these parasites. Therefore, we apply morphometric techniques to analyze the taxonomic status of two sympatric variants of *Gyrodactylus anisopharynx* Popazoglo et Boeger, 2000. The parasites were collected from Piraquara river, Miringuava river and Patos river, State of Paraná, Brazil, between February 2005 and May 2006. 132 parasites specimens were measured from two hosts: *Corydoras ehrhardti* Steindachner, 1910 and *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842). Eleven morphological features of the opisthaptor hard parts and pharynx were measured and analyzed by discriminant analyses and PCA. The results showed that the interspecific morphological variation succeeds intraspecific variation or seasonal phenotypic plasticity. Thus, a new species is described, as *Gyrodactylus* sp. n. This new species differs from *G. anisopharynx* by the following characteristics: *Gyrodactylus* sp. n. have marginal hook point longer and robust convex heel, convex shelf, concave toe moderately pointed with depression; proximal pharyngeal bulb with half of width; dorsal bar twice longer with two submedial, posterior projections; proximal shaft of anchor wider and total length longer than those observed in *G.*

anisopharynx (*sensu stricto*). Morphometric analyses show that the distal and proximal pharyngeal bulb discriminate those two species. *Gyrodactylus* sp. n. is the fourth species described from species of *Corydoras* from Southern Brazil.

Key words: *Gyrodactylus*, morphometry, *Corydoras*, sympatry

Os Monogenoidea constituem um diverso grupo de parasitos de peixes, vertebrados terrestres e invertebrados, amplamente distribuído no mundo. Gyrodactylidae Van Beneden et Hesse, 1863 inclui todas as espécies vivíparas conhecidas da classe. Nessa família, *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 é o gênero mais diverso, com mais de 400 espécies descritas até o momento. Muitas dessas representam sérias ameaças à manutenção de populações de peixes na natureza e em cativeiro (McVicar 1997, Euzet e Combes 1998, Bakke et al. 2002).

Na Região Neotropical são conhecidas cerca de 39 espécies de Gyrodactylidae, das quais 18 são de *Gyrodactylus* (Conroy e Conroy 1985, Boeger e Popazoglo 1995, Harris e Cable 2000, Popazoglo e Boeger 2000, Cable et al. 2005, Kritsky et al. 2007). A maioria das espécies de *Gyrodactylus* ocorre apenas em uma espécie de hospedeiro (Bakke et al. 2002). Entretanto, alguns estudos têm relatado a ocorrência concomitante de *Gyrodactylus* spp. em hospedeiros simpátricos distintos (Turgut et al. 1999, Ziętara e Lumme 2003, Meinilä et al. 2004, Boeger et al. 2005). Recentemente, dois morfotipos distintos de *Gyrodactylus anisopharynx* Popazoglo et Boeger, 2000 foram descritos para hospedeiros simpátricos (*Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842) e *Corydoras ehrhardti* Steindachner, 1910) na região sul do Brasil.

Dado a ocorrência de *G. anisopharynx* em mais de uma espécie de hospedeiro, questiona-se seu status evolutivo: os morfotipos da espécie representam uma única entidade biológica? Embora a diferenciação morfológica dos morfotipos de *G. anisopharynx*, denominados “faringe pequena” e “faringe grande”, tenha sido baseada exclusivamente na

morfologia das faringes proximal e distal, a variabilidade morfológica e morfométrica de estruturas esclerotizadas do háptor são desconhecidas. Muitos estudos tem demonstrado que a análise morfométrica (e.g. análise discriminante e análise de componentes principais) de estruturas do háptor contribui substancialmente para a identificação e caracterização de espécies de *Gyrodactylus* (Shinn et al. 1996, 2001, 2004, Huyse e Volckaert 2002, Lindenstrøm et al. 2003, Zięta e Lumme 2003, Cable et al. 2005). Além disso, o método morfométrico tem sido considerado uma importante ferramenta na diferenciação de espécies simpátricas de *Gyrodactylus* morfológicamente similares (Turgut et al. 1999, McHugh et al. 2000, Shinn et al. 2000, 2001, Huyse e Volckaert 2002, Zięta e Lumme 2003, Cable et al. 2005). Partindo dessa premissa, o presente estudo objetivou avaliar o status evolutivo dos dois morfotipos de *G. anisopharynx* utilizando técnicas morfométricas.

Os resultados mostram que diferenças significativas na forma e tamanho das âncoras, ganchos, faringes distal e proximal, e barra dorsal entre os dois morfotipos de *G. anisopharynx* superam possíveis variações intraespecíficas ou sazonais, justificando a separação desses morfotipos em duas espécies distintas.

MATERIAL E MÉTODOS

Os peixes hospedeiros, *C. paleatus* e *C. ehrhardti*, foram coletados em julho de 2003 e entre fevereiro de 2005 e maio de 2006 com auxílio de pesca elétrica e puçá no rio Piraquara (25°29'59"S, 49°02'40"W), município de Piraquara; rio Miringuava (25°38'06"S, 49°05'07"W), em São José dos Pinhais; e rio dos Patos (25°50'54"S, 49°43'38"W), em Lapa, Estado do Paraná, Brasil. Espécimes de *G. anisopharynx* ($n = 132$) foram capturados de acordo com o seguinte método: os peixes eram colocados em recipientes de vidro com água aquecida a 60° C e agitados vigorosamente. Em seguida, parte da amostra era separada e

fixada em formalina 5% (destinada à análise taxonômica), e outra parte fixada em álcool etílico 96% (para análise molecular).

Os parasitos coletados em formalina 5% foram usados na preparação de lâminas permanentes em meio de Hoyer, para estudo de estruturas esclerotizadas, e em Bálsamo do Canadá, após coloração com corante tricrômico de Gomori, para estudo de estruturas moles (Humason, 1979). O estudo morfométrico foi conduzido com organismos clarificados em meio de Hoyer, os quais foram fotografados com uma câmera digital (Olympus QColor 5) acoplada a um microscópio com contraste de fase (Olympus BX 51). Os desenhos foram produzidos com auxílio de microscópio óptico com câmara clara. Todas as medidas e escalas, incluindo as da descrição da espécie nova, são apresentadas em micrômetros.

Os pontos morfométricos escolhidos para a diferenciação das âncoras, ganchos e faringes foram aqueles usados por Shinn et al. (1996, 2004) e Popazoglo e Boeger (2000). Cada um dos 21 pontos morfométricos foram medidos repetidamente (5x), em um mesmo animal ($n = 10$), e em seguida as medidas foram analisadas a fim de descartar pontos morfométricos com alta probabilidade de erro de medida. Pontos morfométricos com erro padrão superior a 20% foram excluídos das análises. Além disso, mais dois critérios foram usados na escolha dos pontos morfométricos: significativa correlação entre si ($r^2 > 0,90$) (Shinn et al. 1996) e ausência de redundância geométrica (Du Preez e Maritz 2006). Assim, dos 21 pontos sugeridos pelos autores, apenas 11 foram escolhidos para as análises morfométricas (Fig. 1): abertura da ponta da âncora (APA), largura da lâmina da âncora (LLA), ângulo de abertura da ponta da âncora (AAPA), comprimento da curva interna da âncora (CCIA), comprimento total da âncora (CTA), comprimento da haste do gancho (CHG), comprimento da cabeça do gancho (CCG), abertura da ponta do gancho (APG), largura distal do gancho (LDG), largura da faringe distal (LFD) e largura da faringe proximal (LFP).

As distâncias dos pontos morfométricos foram medidas com o programa SigmaScan Pro 5.0 (SPSS, Inc.). Os dados foram logaritmizados (logaritmo natural). As distâncias resultantes foram avaliadas por análise discriminante “forward stepwise” e por análise de componentes principais (PCA), com auxílio do software Statistica 6.0 (Statsoft, Inc.). A análise discriminante e a PCA foram realizadas de duas formas: a primeira abrangeu todos os pontos morfométricos de âncora, gancho e faringe; e a segunda, apenas os pontos de âncora e gancho, com objetivo de avaliar o poder discriminatório de estruturas do háptor.

RESULTADOS

As médias de todos pontos morfométricos são apresentadas na Tabela 1. A análise discriminante revelou que os morfotipos “faringe pequena” e “faringe grande” de *G. anisopharynx* divergem significativamente, em média, em alguns pontos morfométricos da âncora, gancho e faringe (Wilks’ Lambda = 0,14; $F = 37,58$; $P < 0,0001$; $n = 132$) (Tabela 2). Embora a análise tenha indicado apenas um ponto morfométrico de gancho na diferenciação dos morfotipos, diferenças morfológicas nessa estrutura foram detectadas.

As diferenças morfológicas significativas de gancho (Fig. 2A-C) e barra profunda (Fig. 2D-E) permitiram distinguir os morfotipos em todos os casos, o que confirmou os resultados da análise discriminante sobre a expressiva divergência morfológica dos morfotipos de *G. anisopharynx*.

A análise discriminante realizada apenas com pontos morfométricos da âncora e gancho (Wilks’ Lambda = 0,65; $F = 16,90$; $P < 0,0001$) apresentou menos passos que a análise feita com medidas da faringe, entretanto o poder discriminatório entre os dois morfotipos de *G. anisopharynx* foi menor, como mostrado pelo valor de Wilks’ Lambda. Nesse caso, a análise revelou dois pontos de gancho e um de âncora na discriminação dos morfotipos (Tabela 3).

Os dados da análise discriminante, considerando todos pontos morfométricos, mostraram que os morfotipos podem ser separados por seis passos, com 100% de precisão, por duas medidas da faringe, três da âncora e uma do gancho (Tabela 2). A análise univariada desses pontos morfométricos revelou que as médias dos três primeiros passos são significativamente diferentes entre os morfotipos de *G. anisopharynx*, sendo que esses pontos sozinhos contribuem para uma discriminação 100% correta entre esses morfotipos: LFP ($F = 99,63$; $P < 0,0001$), CTA ($F = 79,05$; $P = 0,0001$), e LFD ($F = 61,48$; $P < 0,05$). Contudo, os três últimos passos da análise (APA, LLA e LDG) foram os que apresentaram maior poder discriminatório, segundo os valores de Wilks' Lambda de cada um deles.

A análise discriminante, considerando apenas os pontos morfométricos de âncora e gancho, mostrou que os morfotipos podem ser distinguidos por três pontos: APG, LDG e CTA, sendo que este último foi o que apresentou maior poder discriminatório (Wilks' Lambda = 0,68; $P < 0,0001$). Entretanto, nessa análise a precisão de discriminação foi de 87% (Tabela 3).

A PCA mostrou os dois primeiros fatores com autovalores acima da média, sendo que esses fatores corresponderam a 47,01% da variação morfométrica entre os morfotipos de *G. anisopharynx* (Tabela 4). O primeiro fator mostrou duas variáveis com escores maiores que 0,70, (CCG e APG) e o segundo fator três variáveis (APA, CCIA e AAPA) (Tabela 5).

A PCA revelou que as diferenças morfométricas de âncora, gancho e faringe entre os dois morfotipos permitem separá-los na maioria dos casos, entretanto com algumas poucas sobreposições (Fig. 3). Por outro lado, a análise exclusiva de pontos de âncora e gancho mostrou maior sobreposição entre os morfotipos (dados não mostrados). Os dois primeiros fatores dessa análise apresentaram autovalores acima da média, sendo que esses fatores responderam por 53,19% da variação total. O primeiro fator revelou três variáveis com

escores maiores que 0,70 (APA, CCIA e AAPA) e o segundo fator duas variáveis (CCG e APG) (Tabela 6).

A análise morfométrica de faringe e estruturas esclerotizadas do háptor, bem como a morfologia comparativa dos ganchos e barras profundas, revelaram diferenças morfológicas significativas entre os morfotipos de *G. anisopharynx* que superam possíveis variações intraespecíficas ou sazonais, o que sugere que *G. anisopharynx* representa um complexo de duas espécies distintas.

Dessa forma, para acomodar os resultados obtidos acima, *G. anisopharynx* é limitada aos espécimes do morfotipo denominado de “faringe grande”, pois o holótipo da espécie é desse morfotipo. A espécie é redescrita. Uma nova espécie, *Gyrodactylus* sp. n. é descrita, para acomodar os animais originalmente incluídos com membros do morfotipo “faringe grande”.

DESCRIÇÃO

Gyrodactylidea Bychowsky, 1937

Gyrodactylidae Van Beneden et Hesse, 1863

Gyrodactylus von Nordmann, 1832

Gyrodactylus anisopharynx Popazoglo et Boeger, 2000

Redescrição (baseada em 34 espécimes). Corpo fusiforme, 539 (445-591; $n = 4$) de comprimento, 123 (111-138; $n = 4$) de largura ao nível do embrião. Glândulas cefálicas, órgãos da cabeça conspicuos. Glândulas da cabeça anterior, lateral, posteriormente à faringe. Faringe distal 32 (22-43; $n = 14$) de largura, com projeções digitiformes; faringe proximal 77 (51-104; $n = 16$) de largura. Testículo oval 14 (13-18; $n = 3$) de largura, posterior ao germário. Órgão copulatório masculino 16 (14-18; $n = 4$) de largura, um bulbo armado com um espinho

grande, duas fileiras de espineletes: uma fileira com 3-4 espineletes com base robusta e larga, outra fileira com 2-3 espineletes menores de base estreita. Germário oval, 26 (22-33; $n = 4$) de comprimento, 28 (25-34; $n = 4$) de largura. Útero com até 2 gerações de embriões. Âncora com raiz profunda desenvolvida e raiz superficial robusta; comprimento da lâmina da âncora 39 (34-46; $n = 26$), comprimento da ponta 27 (20-32; $n = 26$), largura da base 4 (3-4; $n = 26$), comprimento total 62 (56-68; $n = 33$). Gancho com lâmina e ponta moderadamente curvada, calcanhar convexo, plataforma reta, bico ligeiramente pontiagudo, com porção inferior ligeiramente reta; haste com 17 (12-20; $n = 27$) de comprimento, cabeça do gancho com 11 (9-12; $n = 27$) de comprimento. Barra profunda 3 (2-4; $n = 25$) de largura. Barra superficial com projeções antero-laterais, provida de escudo membranoso trapezoidal.

Hospedeiro tipo: *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842).

Outro hospedeiro: *Corydoras ehrhardti* Steindachner, 1910.

Local de infestação no hospedeiro: superfície do corpo.

Localidade tipo: Rio Piraquara, Piraquara, Paraná, Brasil.

Outras localidades: Rio dos Patos, Lapa, Paraná, Brasil; e Rio Miringuava, São José dos Pinhais, Paraná, Brasil.

Comentários

Gyrodactylus anisopharynx (*sensu stricto*) pode ser distinguida das demais espécies simpátricas do gênero por possuir gancho com plataforma reta e bico ligeiramente pontiagudo, e faringe proximal significativamente maior. A barra superficial difere das espécies *Gyrodactylus superbis* (Szidat, 1973) e *Gyrodactylus samirae* Popazoglo et Boeger, 2000 por possuir duas projeções antero-laterais.

Gyrodactylus anisopharynx é limitada ao morfotipo “faringe grande” descrito por Popazoglo et Boeger, 2000. As ilustrações desses autores estão adequadas e não foram, portanto, repetidas neste trabalho (vide Figs. 6-9, 11-13 de Popazoglo et Boeger, 2000).

Gyrodactylus sp. n.

(Fig. 4)

Descrição (baseada em 59 espécimes). Corpo alongado, 594 (485-854; $n = 11$) de comprimento, 89 (59-143; $n = 11$) de largura ao nível do embrião. Glândulas cefálicas, órgãos da cabeça conspícuos. Glândulas da cabeça anterior, lateral, posteriormente à faringe. Faringe distal 32 (17-45; $n = 42$) de largura, com projeções digitiformes; faringe proximal 43 (31-58; $n = 42$) de largura. Testículo oval 19 (16-19; $n = 5$) de largura, posterior ao germário. Órgão copulatório masculino 17 (14-22; $n = 14$) de largura, um bulbo armado com um espinho grande, duas fileiras de espineletes: uma fileira com 4-5 espineletes com base robusta e larga, outra fileira com 2-3 espineletes menores de base estreita. Germário oval, 25 (20-33; $n = 12$) de comprimento, 29 (23-37; $n = 12$) de largura. Útero com até 2 gerações de embriões. Âncora com raiz profunda desenvolvida e raiz superficial ligeiramente estreita; comprimento da lâmina da âncora 41 (36-47; $n = 30$), comprimento da ponta 32 (29-40; $n = 30$), largura da base 5 (4-5; $n = 30$), comprimento total 65 (56-72; $n = 59$). Gancho com lâmina reta, ponta moderadamente curvada, calcanhar convexo, plataforma convexa, bico ligeiramente pontiagudo, deprimido, com porção inferior suavemente côncava; haste com 17 (12-21; $n = 59$) de comprimento, cabeça do gancho com 10 (8-12; $n = 59$) de comprimento. Barra profunda 5 (3-6; $n = 59$) de largura, com duas projeções posteriores subterminais. Barra superficial com projeções antero-laterais, provida de escudo membranoso trapezoidal.

Hospedeiro tipo: *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842).

Outro hospedeiro: *Corydoras ehrhardti* Steindachner, 1910.

Local de infestação no hospedeiro: superfície do corpo.

Localidade tipo: Rio Piraquara, Piraquara, Paraná, Brasil.

Outras localidades: Rio Miringuava, São José dos Pinhais, Paraná, Brasil; e Rio dos Patos, Lapa, Paraná, Brasil.

Comentários

Gyrodactylus sp. n. pode ser distinguida de *G. anisopharynx* (*sensu stricto*) pelas seguintes características: gancho com lâmina relativamente mais longa e ponta recurvada, com calcanhar mais robusto, plataforma convexa, e bico com porção inferior ligeiramente côncava; faringes distal e proximal comparativamente menores, sendo que a faringe proximal é quase 50% menor que a de *G. anisopharynx*; e âncoras com maior comprimento total que as de *G. anisopharynx*. A barra profunda de *Gyrodactylus* sp. n. difere significativamente das demais espécies simpátricas do gênero, *G. anisopharynx*, *G. superbus* e *G. samirae*, por apresentar duas projeções posteriores subterminais e largura, em média, duas vezes maior.

DISCUSSÃO

Gyrodactylus anisopharynx foi descrita originalmente como parasita de espécies simpátricas de *C. paleatus* e *C. ehrhardti*. Entretanto, os resultados mostraram que as diferenças morfológicas e morfométricas entre os dois morfotipos de *G. anisopharynx* superam possíveis variações intraespecíficas, o que resultou na descrição de uma nova espécie, *Gyrodactylus* sp. n.

As principais diferenças morfométricas entre *G. anisopharynx* e *Gyrodactylus* sp. n., segundo análise discriminante e PCA, confirmam os dados de outros estudos sobre a eficácia

de análises morfométricas na diferenciação de espécies de *Gyrodactylus* (Shinn et al. 1996, 2001, 2004, McHugh et al. 2000). A primeira análise discriminante, que incluiu medidas de âncora, gancho e faringe, detectou diferenças significativas entre as espécies em 6 dos 11 pontos morfométricos. Já a segunda análise, somente com medidas de âncora e gancho, acusou diferenças em três pontos, coincidentes com os da primeira análise (APA, LDG e CTA). A primeira PCA, que abrangeu as medidas de âncora, gancho e faringe, mostrou diferenças significativas em 5 dos 11 pontos morfométricos. A segunda PCA, somente com medidas da âncora e gancho, revelou diferenças em 5 pontos, os quais foram coincidentes com a primeira PCA.

A análise discriminante e PCA mostraram que os pontos morfométricos LFP (largura da faringe proximal), LFD (largura da faringe distal), CTA (comprimento total da âncora), APA (abertura da ponta da âncora), LDG (largura distal do gancho), LLA (largura da lâmina da âncora), CCIA (comprimento da curva interna da âncora), AAPA (ângulo de abertura da ponta da âncora), CCG (comprimento da cabeça do gancho) e APG (abertura da ponta do gancho) foram os mais informativos na diferenciação das duas espécies. Embora as medidas da barra superficial não tenham sido utilizadas na análise morfométrica, sua morfologia foi significativamente diferente entre *Gyrodactylus* sp. n. e *G. anisopharynx*, mostrando que a forma e a largura da barra são típicas de cada espécie. Logo, as análises morfométricas e a morfologia descritiva reforçam a importância da análise conjunta de estruturas distintas de *Gyrodactylus* (e.g. âncora, gancho, faringe e barra profunda), as quais contribuíram para a discriminação de *Gyrodactylus* sp. n. e *G. anisopharynx*. Contudo, a análise discriminante foi o método mais eficaz na diferenciação das duas espécies.

A utilização de estruturas não esclerotizadas em análises morfométricas (e.g. faringe) apenas havia sido sugerida por Malmberg (1970), o qual comentou sobre a importância taxonômica de medidas da faringe na diferenciação de espécies de *Gyrodactylus*. Além dos

pontos morfométricos de âncora e gancho, o uso de medidas da faringe revelou ser uma importante característica na discriminação entre as espécies *Gyrodactylus* sp. n. e *G. anisopharynx*, uma vez que as faringes distal e proximal aparecem entre os três primeiros passos da análise discriminante.

Os ganchos foram as estruturas que mais contribuíram na discriminação de *Gyrodactylus* sp. n. e *G. anisopharynx*, o que confirma a importância taxonômica dessa estrutura na identificação de espécies de *Gyrodactylus*, como demonstrado por outros autores (Malmberg 1970, Geets et al. 1999, Turgut et al. 1999, Dmitrieva e Dimitrov 2002, Huyse e Volckaert 2002 e Cable et al. 2005).

O fato de os exemplares de *Gyrodactylus* sp. n. e *G. anisopharynx* terem sido coletados ao longo de um ano, em mais de uma localidade, descarta a possibilidade das variações morfológicas entre as espécies serem consequência de possíveis alterações sazonais ou mesmo plasticidade fenotípica, como demonstrado por Malmberg (1970), Harris (1998), Geets et al. (1999), Huyse e Volckaert (2002) e Dávidová et al. (2005). As diferenças encontradas na forma e tamanho de estruturas do háptor e faringe são, portanto, peculiares de cada espécie.

REFERÊNCIAS

- BAKKE T. A., HARRIS P. D., CABLE J. 2002: Host specificity dynamics: observations on gyrodactylid monogeneans. *Int. J. Parasitol.* 32: 281-308.
- BOEGER W. A., KRITSKY D. C., PIE M. R., ENGERS K. B. 2005: Mode of transmission, host switching, and escape from the Red Queen by viviparous gyrodactylids (Monogenoidea). *J. Parasitol.* 91: 1000-1007.
- BOEGER W. A., POPAZOGLO F. 1995: Neotropical Monogenoidea. 23. Two new species of *Gyrodactylus* (Gyrodactylidae) from a cichlid and an erythrinid fish of southeastern Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 90: 689-694.
- CABLE J., VAN OOSTERHOUT C., BARSON N., HARRIS P. D. 2005: *Gyrodactylus pictae* n. sp. (Monogenea: Gyrodactylidae) from the Trinidadian swamp guppy *Poecilia picta* Regan, with a discussion on species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 and their poeciliid hosts. *Syst. Parasitol.* 60: 159-164.
- CONROY G., CONROY D. A. 1985: Gyrodactylosis in silver mullet (*Mugil curema* Val.) from Venezuelan coastal waters, and a description of *Gyrodactylus curemae* n. sp. *Riv. It. Piscic. Ittiop.* 20: 140-147.
- DÁVIDOVÁ M., JARKOVSKÝ J., MATĚJUSOVÁ I., GELNAR M. 2005: Seasonal occurrence and metrical variability of *Gyrodactylus rhodei* Žitňan 1964 (Monogenea, Gyrodactylidae). *Parasitol. Res.* 95: 398-405.
- DMITRIEVA E., DIMITROV G. 2002: Variability in the taxonomic characters of Black Sea gyrodactylids (Monogenea). *Syst. Parasitol.* 51: 199-206.
- DU PREEZ L. H., MARITZ M. F. 2006: Demonstrating morphometric protocols using polystome marginal hooklet measurements. *Syst. Parasitol.* 63: 1-15.
- EUZET L., COMBES C. 1998: The selection of habitats among the Monogenea. *Int. J. Parasitol.* 28: 1645-1652.

- GEETS A., APPLEBY C., OLLEVIER F. 1999: Host-dependent and seasonal variation in opisthaptor hard parts of *Gyrodactylus* cf. *arcuatus* from three *Pomatoschistus* spp. and *G. arcuatus* from *Gasterosteus aculeatus*: a multivariate approach. *Parasitology* 119: 27-40.
- HARRIS P. D. 1998: Extreme morphological variation between related individuals of *Gyrodactylus pungitti* Malmberg, 1964 (Monogenea). *Syst. Parasitol.* 39: 137-140.
- HARRIS P. D., CABLE J. 2000: *Gyrodactylus poeciliae* n. sp. and *G. milleri* n. sp. (Monogenea: Gyrodactylidae) from *Poecilia caucana* (Steindachner) in Venezuela. *Syst. Parasitol.* 47: 79-85.
- HUMASON G. L. 1979: *Animal Tissue Techniques*. 4th ed. W.H. Freeman and Company, San Francisco, 661 p.
- HUYSE T., VOLCKAERT F. A. M. 2002: Identification of a host-associated species complex using molecular and morphometric analyses, with description of *Gyrodactylus rugiensoides* n. sp. (Gyrodactylidae, Monogenea). *Int. J. Parasitol.* 32: 907-919.
- KRITSKY D. C., VIANNA R. T., BOEGER W. A. 2007: Neotropical Monogenoidea. 50. Oviparous gyrodactylids from loricariid and pimelodid catfishes in Brazil, with proposal of *Phanerothecioides* n. gen., *Onychogyrodactylus* n. gen. and *Aglaigyrodactylus* n. gen. (Polyonchoinea, Gyrodactylidea). *Syst. Parasit.* 66: 1-34.
- LINDENSTRØM T., COLLINS C. M., BRESCIANT J., CUNNINGHAM C. O., BUCHMANN K. 2003: Characterization of a *Gyrodactylus salaris* variant: infection biology, morphology and molecular genetics. *Parasitology* 127: 165-177.
- MALMBERG G. 1970: The excretory systems and the marginal hooks as a basis for the systematic of *Gyrodactylus* (Trematoda, Monogenea). *Ark. Zool.* 23: 1-235.

- McHUGH E. S., SHINN A. P., KAY J. W. 2000: Discrimination of the notifiable pathogen *Gyrodactylus salaris* from *G. thymalli* (Monogenea) using statistical classifiers applied to morphometric data. *Parasitology* 121: 315-323.
- McVICAR A. H. 1997: Disease and parasite implications of the coexistence of wild and cultured Atlantic salmon populations. *J. Mar. Sci.* 54: 1093-1103.
- MEINILÄ M., KUUSELA J., ZIĘTARA M. S., LUMME J. 2004: Initial steps of speciation by geographic isolation and host switch in salmonid pathogen *Gyrodactylus salaris* (Monogenea: Gyrodactylidae). *Int. J. Parasitol.* 34: 515-526.
- POPAZOGLO F., BOEGER W. A. 2000: Neotropical Monogenoidea 37. Redescription of *Gyrodactylus superbis* (Szidat, 1973) comb. n. and description of two new species of *Gyrodactylus* (Gyrodactylidea: Gyrodactylidae) from *Corydoras paleatus* and *C. ehrhardti* (Teleostei: Siluriformes: Callichthyidae) of southern Brazil. *Folia Parasitol.* 47: 105-110.
- SHINN A. P., DES CLERS S., GIBSON D. I., SOMMERVILLE C. 1996: Multivariate analyses of morphometrical features from *Gyrodactylus* spp. (Monogenea) parasitising British salmonids: light microscope based studies. *Syst. Parasitol.* 33: 115-125.
- SHINN A. P., KAY J. W., SOMMERVILLE C. 2000: The use of statistical classifiers for the discrimination of species of the genus *Gyrodactylus* (Monogenea) parasitizing salmonids. *Parasitology* 120: 261-269.
- SHINN A. P., GIBSON D. I., SOMMERVILLE C. 2001: Morphometric discrimination of *Gyrodactylus salaris* Malmberg (Monogenea) from species of *Gyrodactylus* parasitising British salmonids using novel parameters. *J. Fish Dis.* 24: 83-97.
- SHINN A. P., HANSEN H., OLSTAD K., BACHMANN L., BAKKE T. A. 2004: The use of morphometric characters to discriminate specimens of laboratory-reared and wild

populations of *Gyrodactylus salaris* and *G. thymalli* (Monogenea). *Folia Parasitol.* 51: 239-252.

TURGUT E., SHINN A. P., WOOTTEN R., YEOMANS W. E. 1999: *Gyrodactylus sommervillae* n. sp. (Monogenea) from *Abramis brama* (L.) and *Rutilus rutilus* (L.) (Cyprinidae) in Oxfordshire, UK. *Syst. Parasitol.* 43: 59-63.

ZIĘTARA M. S., LUMME J. 2003: The crossroads of molecular, typological and biological species concepts: two new species of *Gyrodactylus* Nordmann, 1832 (Monogenea: Gyrodactylidae). *Syst. Parasitol.* 55: 39-52.

LEGENDA DAS FIGURAS

Figura 1. Distâncias dos pontos morfométricos da âncora e gancho de espécimes de *Gyrodactylus*. **(A)** Âncora. 1-2 (APA): abertura da ponta da âncora; 2-3 (LLA): largura da lâmina da âncora; 4-5 (CCIA): comprimento da curva interna da âncora; 6-7 (CTA): comprimento total da âncora; β (AAPA): ângulo de abertura da ponta da âncora. **(B)** Gancho. 1-2 (CCG): comprimento da cabeça do gancho; 3-4 (CHG): comprimento da haste do gancho; 5-7 (APG): abertura da ponta do gancho; 5-6 (LDG): largura distal do gancho. Fig. 1A – escala 30 micrômetros; Fig. 1B – escala 10 micrômetros.

Figura 2. Ganchos e barras profundas dos morfotipos de *Gyrodactylus anisopharynx* Popazoglo et Boeger, 2000. **(A)** Gancho de espécime do morfotipo “faringe pequena”. **(B)** Gancho de espécime do morfotipo “faringe grande”. **(C)** Sobreposição de ganchos, evidenciando a diferença morfológica entre os morfotipos “faringe pequena” (linha contínua) e “faringe grande” (linha pontilhada). **(D)** Barra profunda de espécimes do morfotipo “faringe pequena”; as setas indicam projeções presentes na porção inferior da barra. **(E)** Barra profunda de espécimes do morfotipo “faringe grande”. Fig. 2A-C – Escala 5 micrômetros; Fig. 2D-E – Escala 4 micrômetros.

Figura 3. Classificação dos dois morfotipos de *Gyrodactylus anisopharynx* Popazoglo et Boeger, 2000, segundo PCA, considerando pontos morfométricos de âncora, gancho e faringe. A linha pontilhada vertical separa indivíduos do morfotipo “faringe grande” à direita, e do morfotipo “faringe pequena” à esquerda.

Figura 4. (A) *Gyrodactylus* sp. n. (holótipo) (B) Complexo de âncoras, barra profunda e barra superficial. (C) Gancho. (D) Órgão copulatório masculino. (E) Âncora. Fig. 5A – escala 100 micrômetros; Fig. 5B e E – escala 20 micrômetros; Fig. 5C e D – escala 10 micrômetros.

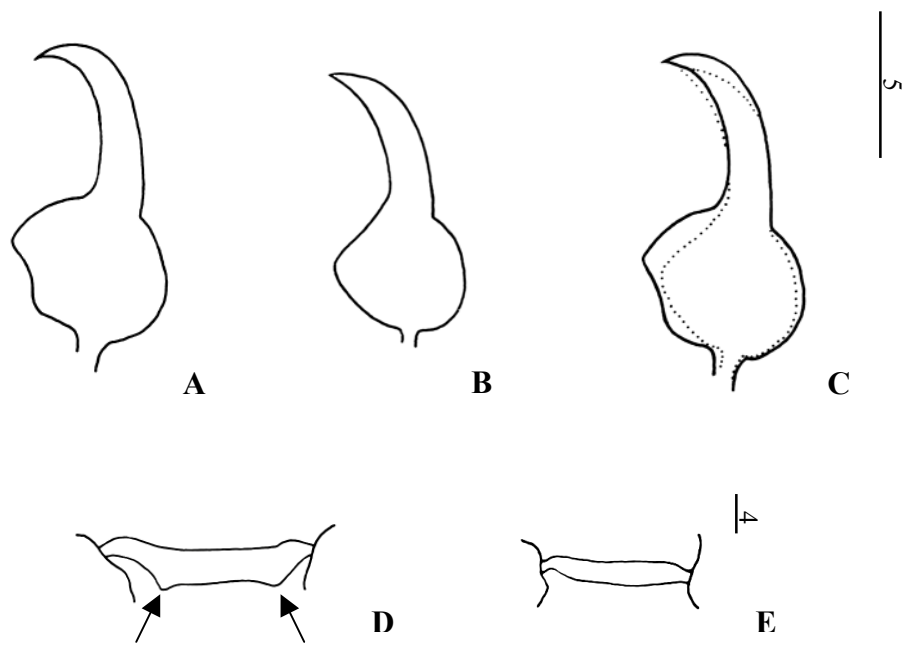


Figura 2

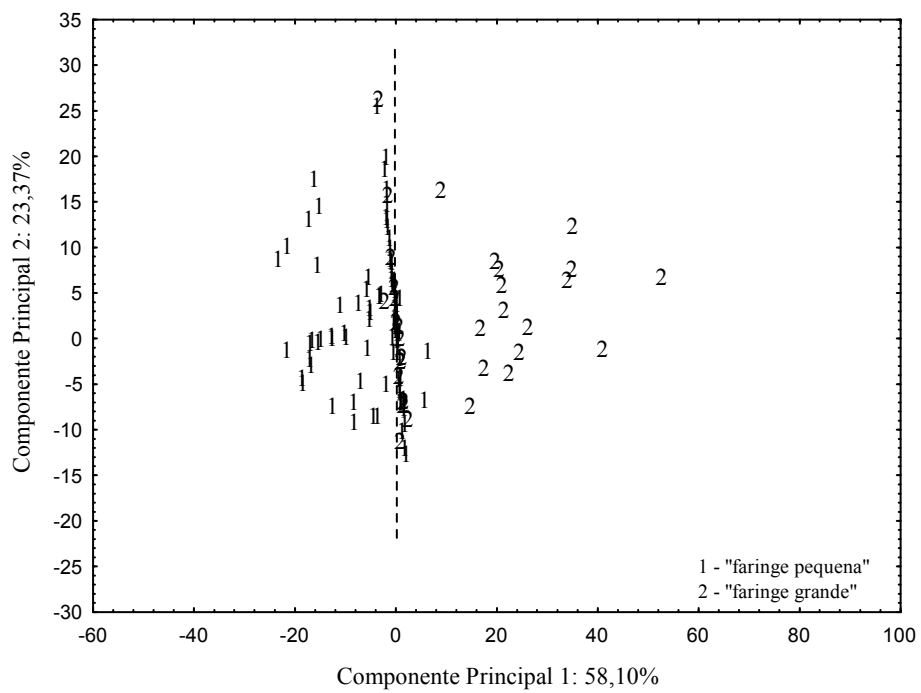


Figura 3

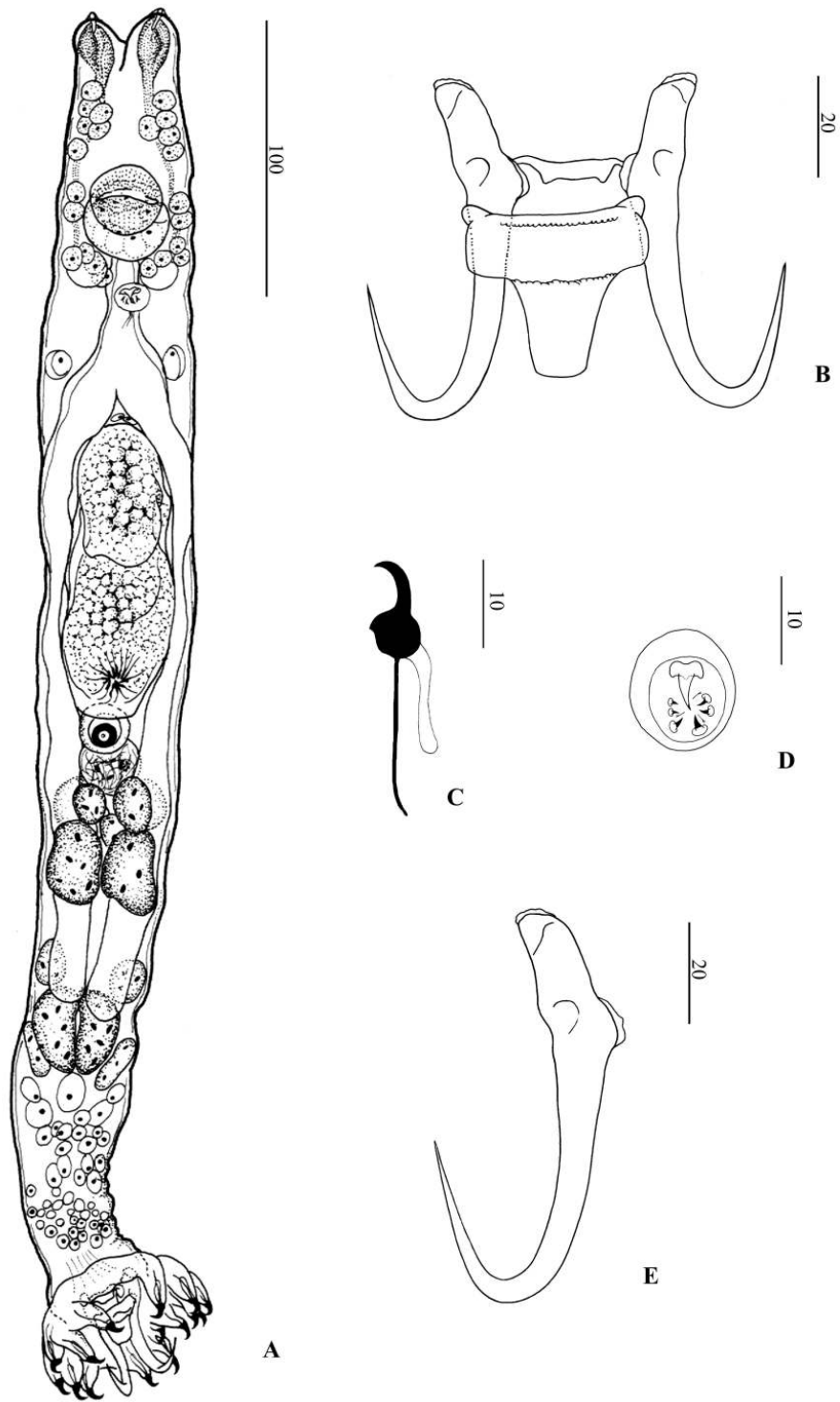


Figura 4

Tabela 1. Valores médios das distâncias entre os pontos morfométricos de âncora, gancho e faringe dos dois morfotipos de *Gyrodactylus anisopharynx* Popazoglo et Boeger, 2000. As medidas são apresentadas em micrômetros. Os números indicam respectivamente: média e intervalo de confiança de 95% (entre parênteses).

Variáveis	<i>G. anisopharynx</i>	<i>G. anisopharynx</i>
	(faringe pequena) (n = 98)	(faringe grande) (n = 34)
Abertura da ponta	23,5 (22,7-24,2)	25,2 (18,9-36,3)
Largura da lâmina	9,7 (9,4-9,9)	9,3 (7,2-11,8)
Âncora		
Comprimento da curva interna	5,3 (4,8-5,9)	3,6 (0-9,8)
Ângulo de abertura da ponta	13,7 (12,1-15,2)	11,7 (2,2-36,8)
Comprimento total	64,1 (63,4-64,8)	61,6 (56,1-68,5)
Comprimento da haste	16,9 (16,5-17,3)	17,2 (12,3-20,1)
Gancho		
Comprimento do gancho	10,1 (10,0-10,3)	10,8 (9,5-11,9)
Largura distal	4,0 (3,9-4,2)	5,5 (3,0-11,9)
Abertura da ponta	10,4 (10,2-10,5)	11,1 (9,7-12,0)
Faringe		
Largura distal	31,9 (29,7-34,1)	31,6 (21,9-43,1)
Largura proximal	42,6 (40,5-44,8)	76,6 (50,7-103,8)

Tabela 2. Análise discriminante dos pontos morfométricos de âncora, gancho e faringe dos dois morfotipos de *Gyrodactylus anisopharynx* Popazoglo et Boeger, 2000 (Wilks' Lambda = 0,14; $F = 37,58$; $P < 0,0001$).

Variáveis	Passos na análise	Wilks' lambda	Valor de F	Tolerância	Índice P
Largura da faringe proximal	1	0,31	99,63	0,50	< 0,0001
Comprimento total da âncora	2	0,21	79,05	0,63	< 0,0001
Largura da faringe distal	3	0,16	61,48	0,70	< 0,0001
Abertura da ponta da âncora	4	0,15	50,56	0,55	< 0,0001
Largura da lâmina da âncora	5	0,15	44,15	0,70	< 0,0001
Largura distal do gancho	6	0,14	37,58	0,69	< 0,0001

Tabela 3. Análise discriminante dos pontos morfométricos de âncora e gancho dos morfotipos de *Gyrodactylus anisopharynx* Popazoglo et Boeger, 2000 (Wilks' Lambda = 0,65; $F = 16,90$; $P < 0,0001$).

Variáveis	Passos na análise	Wilks' lambda	Valor de F	Tolerância	Índice P
Abertura da ponta do gancho	1	0,74	25,86	0,97	< 0,0001
Largura distal do gancho	2	0,73	22,45	0,96	< 0,0001
Comprimento total da âncora	3	0,68	16,90	0,96	< 0,0001

Tabela 4. Autovalores da matriz de correlação da PCA de estruturas do háptor e faringe dos morfotipos de *Gyrodactylus anisopharynx* Popazoglo et Boeger, 2000.

Fator	Autovalores	% Variação	Autovalor	%
		total	cumulativo	Cumulativa
1	2,70	24,57	2,70	24,57
2	2,47	22,44	5,17	47,02
3	1,34	12,14	6,51	59,16
4	1,18	10,77	7,69	69,93
5	0,94	8,53	8,63	78,46
6	0,82	7,45	9,45	85,91
7	0,54	4,93	9,99	90,84
8	0,51	4,66	10,50	95,50
9	0,33	2,96	10,83	98,46
10	0,09	0,81	10,92	99,27
11	0,08	0,73	11,00	100,00

Tabela 5. Escores da PCA de estruturas do háptor e faringe dos morfotipos de *Gyrodactylus anisopharynx* Popazoglo et Boeger, 2000.

Variável	Fator 1	Fator 2
Abertura da ponta da âncora	- 0,11	0,72
Largura da lâmina da âncora	- 0,46	0,53
Comprimento da curva interna da âncora	- 0,18	- 0,88
Ângulo de abertura da ponta da âncora	- 0,06	- 0,87
Comprimento total da âncora	- 0,54	0,12
Comprimento da haste do gancho	0,09	0,11
Comprimento da cabeça do gancho	0,78	- 0,10
Largura distal do gancho	0,59	0,22
Abertura da ponta do gancho	0,82	0,01
Largura da faringe distal	0,34	0,00
Largura da faringe proximal	0,63	0,25

Tabela 6. Escores da PCA de estruturas do háptor dos morfotipos de *Gyrodactylus anisopharynx* Popazoglo et Boeger, 2000.

Variável	Fator 1	Fator 2
Abertura da ponta da âncora	0,70	- 0,16
Largura da lâmina da âncora	0,53	- 0,46
Comprimento da curva interna da âncora	- 0,89	- 0,21
Ângulo de abertura da ponta da âncora	- 0,89	- 0,10
Comprimento total da âncora	0,10	- 0,59
Comprimento da haste do gancho	0,12	0,13
Comprimento da cabeça do gancho	- 0,08	0,82
Largura distal do gancho	0,21	0,53
Abertura da ponta do gancho	0,03	0,86

CAPÍTULO II

Morfometria e DNA sugerem especiação incipiente de *Gyrodactylus* sp. n. (Monogenoidea, Gyrodactylidae) em espécies simpátricas de *Corydoras* (Siluriformes) (*)

Título abreviado: Morfometria e DNA sugerem especiação incipiente de *Gyrodactylus* sp. n.

Resumo

A ampla diversificação de *Gyrodactylus* spp. é atribuída a algumas características de sua biologia que facilitam a dispersão das espécies e a conquista de novos hospedeiros. A maioria das espécies de *Gyrodactylus* ocorre apenas em uma espécie de hospedeiro, porém algumas têm a capacidade de migrar e parasitar hospedeiros simpátricos. Na América do Sul, são conhecidas quatro espécies de *Gyrodactylus* que compartilham hospedeiros simpátricos, sendo que uma delas, *Gyrodactylus* sp. n., invariavelmente é a mais abundante. Partindo dessa premissa, o presente estudo objetivou compreender como *Gyrodactylus* sp. n. utiliza hospedeiros em simpatria por meio de técnicas morfométricas e moleculares. Os parasitos foram coletados dos hospedeiros *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842) e *Corydoras ehrhardti* Steindachner, 1910 entre fevereiro de 2005 e maio de 2006 nos rios Piraquara e Miringuava, Paraná, Brasil. Foram medidos 164 parasitos. Os 9 pontos morfométricos de âncora e gancho, avaliados por análise discriminante e análise de variância multivariada, permitiram separar parasitos de hospedeiros distintos em 71,5% dos casos. Análise filogenética de 741 pares de bases (pb) do gene citocromo oxidase I (COI) de *Gyrodactylus* sp. n. detectou duas linhagens, associadas com as espécies de hospedeiros, mas não com a sua distribuição geográfica. Entretanto, diferenças morfométricas de ganchos e âncoras entre infrapopulações de localidades distintas mostraram que os parasitos são localmente adaptados aos hospedeiros.

(*) Artigo formatado para publicação na revista *Folia Parasitologica*.

Os dados moleculares sugerem que *Gyrodactylus* sp. n. é capaz de migrar entre *C. paleatus* e *C. ehrhardti*. A correlação significativa entre as classificações morfométrica e molecular de *Gyrodactylus* sp. n. indica que os parasitos estejam adaptando-se aos seus respectivos hospedeiros, refletindo, aparentemente, um processo que pode resultar na especiação da espécie parasita.

Palavras-chave: especiação simpátrica, *Gyrodactylus*, morfometria, citocromo oxidase I

Abstract

Ongoing sympatric speciation: *Gyrodactylus* sp. n. (Monogenoidea, Gyrodactylidae) on *Corydoras* spp. of southern Brazil.

The diversification of *Gyrodactylus* spp. is attributed to some biological characteristics that make possible its dispersion to different localities and hosts. Approximately 71% of described species are recorded from a single host, however some *Gyrodactylus* spp. are extremely generalist. In South America, four species of *Gyrodactylus* are known on sympatric hosts, however *Gyrodactylus* sp. n. is the most abundant among them. For that reason, we investigate how *Gyrodactylus* sp. n. exploits sympatric hosts. The parasites were collected from the Piraquara river and the Miringuava river, State of Paraná, Brazil, between February 2005 and May 2006. A total of 164 parasites were measured from two hosts, *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842) and *Corydoras ehrhardti* Steindachner, 1910. Nine morphometric measurements of the opisthaptor hard parts were measured and analyzed by discriminant analyses and multivariate analysis of variance. The data showed that 71,5% of the parasites were discriminated from their hosts species. Morphometrical differences on hooks and anchors between infrapopulations from distinct localities have revealed that the parasites show local adaptation to the hosts. The mitochondrial cytochrome oxidase I gene (COI) were sequenced (741 base pairs) from 40 *Gyrodactylus* specimens. The mtDNA data has

recognized two main *Gyrodactylus* sp. n. strains that were closely correlated to the *Corydoras* spp. hosts. Significant correlation between morphological and molecular classification suggests that *Gyrodactylus* sp. n. is adapting to their hosts, which may reflect an ongoing speciation of *Gyrodactylus* sp. n. on sympatric *Corydoras* species.

Key words: sympatric speciation, *Gyrodactylus*, morphometry, cytochrome oxidase I

Espécies de *Gyrodactylus* (Monogenoidea) parasitam peixes dulcícolas e marinhos no mundo todo. A ampla diversificação de *Gyrodactylus* spp. é atribuída a algumas características de sua biologia (e.g. hiperviviparidade, hábitos oportunista e generalista, e ciclo de vida sem estágio larval). Essas características facilitam a dispersão dos parasitos para ambientes geográficos distintos e a colonização de novos hospedeiros (Bakke et al. 2002, Cable e Harris 2002, Morand et al. 2002, Boeger et al. 2003).

A maioria das espécies de *Gyrodactylus*, cerca de 71%, ocorrem em apenas uma espécie de hospedeiro (Bakke et al. 2002). Porém, algumas espécies de *Gyrodactylus* demonstram capacidade de dispersar entre espécies simpátricas de hospedeiros, e assim constituir novas populações de parasitos (Ergens 1983, Geets et al. 1999, Huyse e Volckaert 2002, Huyse et al. 2003, Ziętara e Lumme 2003, Meinilä et al. 2004, Cable et al. 2005). Além disso, alguns estudos têm evidenciado que a troca de hospedeiro é um dos principais fatores responsáveis pela dispersão e especiação de *Gyrodactylus* (Ziętara e Lumme 2002, Huyse et al. 2003, Buchmann et al. 2004, Meinilä et al. 2004, Boeger et al. 2005, Ziętara et al. 2006).

Os parasitos se fixam no hospedeiro por meio de estruturas esclerotizadas (e.g. ganchos e âncoras) (Malmberg 1970, Buchmann 1999) e o estudo da variabilidade morfológica dessas estruturas constitui uma das principais formas de diferenciar *Gyrodactylus* spp. e avaliar sua especificidade ao hospedeiro (Turgut et al. 1999, McHugh et al. 2000, Shinn et al. 1996, 2000, 2001, 2004). Por outro lado, marcadores moleculares de DNA têm se revelado como

importantes ferramentas de suporte para análises morfológicas em estudos taxonômicos, ecológicos e filogenéticos (Cunningham e Mo 1997, Harris 1998a, Matejusová et al. 2001, Huyse e Volckaert 2002, Ziętara e Lumme 2002, 2003, Huyse et al. 2003, 2005, Meinilä et al. 2004, Cable et al. 2005, LeBlanc et al. 2006, Ziętara et al. 2006).

Os marcadores moleculares de DNA mitocondrial (mtDNA) são extensivamente utilizados em estudos filogeográficos, pois essas moléculas não apresentam recombinação gênica intermolecular, sua herança é assexual, e evoluem mais rápido que o DNA nuclear (Avice 2000). Recentemente, Hansen et al. (2003) e Meinilä et al. (2002, 2004) mostraram que *Gyrodactylus* spp. exibem variações inter- e intra-específicas significativas no gene mitocondrial citocromo oxidase I (COI), que se revelou ideal para estudos de dinâmica populacional.

Na América do Sul, são conhecidas quatro espécies de *Gyrodactylus* que compartilham os hospedeiros simpátricos *Corydoras ehrhardti* Steindachner, 1910 e *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842) (Bueno-Silva, capítulo I). As quatro espécies não ocorrem na mesma proporção na natureza, sendo que uma delas, *Gyrodactylus* sp. n., invariavelmente é a mais abundante (Bueno-Silva, capítulo I). Partindo dessa premissa, o presente estudo objetivou compreender como *Gyrodactylus* sp. n. utiliza hospedeiros em simpatria. Com base em estudos de dinâmica de populações de *Gyrodactylus* spp. (Huyse et al. 2003, Ziętara e Lumme 2002, 2003, Meinilä et al. 2004, Boeger et al. 2005, Cable et al. 2005, Robertsen et al. 2007), foram formuladas duas hipóteses: (1) *Gyrodactylus* sp. n. pode utilizar hospedeiros simpátricos de forma indiscriminada? (2) A troca de hospedeiro pode favorecer a adaptação de linhagens de *Gyrodactylus* sp. n. entre espécies distintas de *Corydoras*? Para testar essas hipóteses, foram utilizados dois conjuntos de técnicas morfométricas e moleculares, como fontes hipoteticamente independentes de evidências.

MATERIAL E MÉTODOS

O método de coleta e processamento dos peixes hospedeiros foi o mesmo descrito na seção Material e Métodos do Capítulo I. Espécimes de *Gyrodactylus* sp. n. foram coletados entre fevereiro de 2005 e maio de 2006 no rio Miringuava ($n = 429$) ($25^{\circ}38'06''S$, $49^{\circ}05'07''W$), em São José dos Pinhais, e no rio Piraquara ($n = 64$) ($25^{\circ}29'59''S$, $49^{\circ}02'40''W$), município de Piraquara, Estado do Paraná, Brasil.

Os parasitos foram fixados em formalina 5% (para análise taxonômica) ou em álcool etílico 96% conservados subseqüentemente à $-20^{\circ} C$ (para análise molecular e morfométrica). O háptor de cada parasito foi separado do corpo e usado na confirmação da identificação da espécie. As estruturas haptorais de espécimes conservados em etanol foram preparadas em lâmina com meio de Hoyer (Humason, 1979), e fotografadas com uma câmera digital (Olympus QColor 5) acoplada a um microscópio óptico com contraste de fase (Olympus BX 51). As imagens resultantes foram utilizadas para medir as distâncias dos pontos morfométricos (vide abaixo).

Embora as hipóteses do presente estudo tenham respaldo na literatura científica, a hipótese (2) tem sido a mais suportada em estudos de dinâmica populacional de *Gyrodactylus* spp. (Huyse e Volckaert 2002, Ziętara e Lumme 2002, Meinilä et al. 2004, Robertsen et al. 2007), pois o processo de diversificação de *Gyrodactylus* spp. é intensamente influenciado pela capacidade de dispersão dos parasitos (Boeger et al. 2003, Huyse et al. 2005) e pela co-evolução entre parasito e hospedeiro (Boeger e Kritsky 1997). Por outro lado, a hipótese (1) reflete o hábito generalista de *Gyrodactylus* spp. (Bakke et al. 2002). Assim, se os resultados mostrarem que não há diferenças morfométricas e moleculares entre espécimes de *Gyrodactylus* sp. n. de hospedeiros distintos, a hipótese (1) será aceita, do contrário, se for demonstrado que os parasitos são adaptados aos seus respectivos hospedeiros, a hipótese (2) será aceita e a hipótese (1) rejeitada.

A terminologia ecológica foi usada de acordo com Bush et al. (1997).

Estudo morfométrico

O critério de escolha dos pontos morfométricos de âncora e gancho foi o mesmo de outros estudos (Shinn et al. 1996, 2004, Bueno-Silva, capítulo I). Foram medidos 9 pontos de âncora e gancho: abertura da ponta da âncora (APA), largura da lâmina da âncora (LLA), ângulo de abertura da ponta da âncora (AAPA), comprimento da curva interna da âncora (CCIA), comprimento total da âncora (CTA), comprimento da haste do gancho (CHG), comprimento da cabeça do gancho (CCG), abertura da ponta do gancho (APG) e largura distal do gancho (LDG). Todas as medidas são apresentadas em micrômetros.

As distâncias dos pontos morfométricos foram medidas com o programa SigmaScan Pro 5.0 (SPSS, Inc.). Os dados foram logaritmizados (logaritmo natural) e avaliados por análise discriminante e análise de variância multivariada (MANOVA) com auxílio do programa Statistica 6.0 (Statsoft, Inc.).

Procedimentos moleculares

A extração de DNA foi realizada segundo o método de Cunningham et al. (2001) ou com kit de extração “DNeasy” (Qiagen). O protocolo do kit “DNeasy” foi adaptado para extração de DNA de Monogenoidea: o produto final foi eluído duas vezes com 20 µl de tampão AE, após as amostras terem sido incubadas à 55° C por 1 minuto. Os pares de “primers” LB (5'-TAATTGGTGGGTTTGGTAA-3') e HB (5'-AGCTACCACGAACCATGTAT-3'), e ZMO1 (5'-GCGMCTAAATGCTTTAAGGGCTTG-3') e HB (Meinilä et al. 2002, Hansen et al. 2003) foram usados para amplificar e seqüenciar aproximadamente 800 pb do gene mitocondrial COI de 40 exemplares de *Gyrodactylus* sp. n.

A reação de PCR foi preparada com 5 µl de extrato de DNA, 2 µl de MgCl₂ (50mM), 2,5µl de PCR-Buffer (10X), 0,25 µl de cada primer (50 pmol), 0,5 µl de dNTP (25mM), 1U Platinum Taq DNA-polimerase (Invitrogen) e água bidestilada até completar volume final de 25 µl. O programa de PCR foi otimizado a partir de Meinilä et al. (2002): desnaturação inicial à 95° C por 5 min., seguidos de 40 ciclos de 94° C por 1 min., anelamento à 45° C por 1 min., extensão à 74° C por 2 min., e extensão final à 74° C por 7 min. O produto de PCR foi visualizado em gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídio, e purificado com kit “Montage PCR” (Millipore). Os produtos de PCR purificados foram seqüenciados em um seqüenciador ABI 3130 (Applied Biosystems) usando o protocolo indicado para o equipamento.

As seqüências de DNA foram editadas com o programa Staden Package 1.5 (Bonfield et al. 1995) e o alinhamento foi realizado com ClustalW (Thompson et al. 1994) no programa BioEdit 7.0.5.2 (Hall 1999). As seqüências alinhadas foram comparadas com outras seqüências de *Gyrodactylus* spp. do banco de dados GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). A análise de parcimônia foi realizada com o programa PAUP 4.0b10 (Swofford 2001) e a análise bayesiana com o programa Mr.Bayes 3.1.1 (Ronquist e Huelsenbeck 2003). O modelo de evolução molecular foi obtido com o programa ModelTest 3.7 (Posada e Crandall 1998).

A seqüência de COI de *Gyrodactylus* sp. Norway-HH-2003 (AY258375) (Hansen et al. 2003) foi usada nas análises como grupo externo. As árvores de parcimônia foram obtidas por busca heurística e o suporte de ramo por análise de “bootstrap” com 1000 repetições. Os critérios da busca heurística foram: caracteres com pesagem igual; árvores iniciais obtidas por “stepwise addition”; e algoritmo de “branch-swapping” (tree-bisection-reconnection – TBR).

Os critérios da análise bayesiana foram: modelo molecular com 6 tipos de substituição e sítios variáveis com distribuição gama, estimado para 3.500.000 gerações.

A probabilidade de distribuição das linhagens de *Gyrodactylus* sp. n. entre *Corydoras* spp. foi calculada pelo método de parcimônia, segundo Maddison (1995), com auxílio do programa MacClade 4.0 (Maddison e Maddison 2000). O método consiste em testar se a distribuição das linhagens de parasitos, entre hospedeiros distintos, é aleatória ou não. Para isso, os hospedeiros são otimizados na árvore filogenética como fossem caracteres. A aleatorização da árvore, realizada com 1000 repetições, mostra a distribuição e a frequência do número de eventos de troca de hospedeiro. A partir desses dados, é possível avaliar se a associação parasito-hospedeiro observada é significativamente diferente daquelas obtidas ao acaso (i.e. se o parasito não apresenta nenhuma especificidade pela espécie hospedeira). Uma distribuição significativamente diferente do acaso ($P < 0,01$) denota especificidade do parasito pela espécie do hospedeiro. As politomias foram resolvidas aleatoriamente com auxílio do programa MacClade, a fim de que todos eventos de troca de hospedeiro fossem considerados.

A compatibilidade entre classificação molecular e morfométrica de *Gyrodactylus* sp. n. foi analisada pelo método de correlação linear. A classificação molecular e morfométrica de cada um dos 40 espécimes de *Gyrodactylus* sp. n. foram plotadas em duas matrizes e, posteriormente, submetidas à análise de correlação com auxílio do programa Statistica 6.0 (Statsoft, Inc.). Os dados moleculares e morfométricos foram obtidos de um mesmo indivíduo.

RESULTADOS

Dados morfométricos

As médias das distâncias dos pontos morfométricos de âncora e gancho de *Gyrodactylus* sp. n. procedentes do rio Miringuava são apresentadas na Tabela 1 e do rio Piraquara na Tabela 2. A análise de variância multivariada revelou que *Gyrodactylus* sp. n. é

morfometricamente distinta entre os hospedeiros *C. paleatus* e *C. ehrhardti* do rio Miringuava (Wilks' lambda = 0,75; $F = 3,3$; $P < 0,01$; $n = 100$). A análise encontrou diferenças significativas em dois pontos morfométricos de âncora (LLA e CTA) (Tabela 3). A análise discriminante distinguiu *Gyrodactylus* sp. n. de cada hospedeiro em 71% dos casos.

A análise de variância multivariada também detectou diferenças morfométricas em *Gyrodactylus* sp. n. de *C. paleatus* e *C. ehrhardti* do rio Piraquara (Wilks' lambda = 0,68; $F = 2,2$; $P < 0,05$; $n = 64$). A análise encontrou diferença em um ponto morfométrico de âncora (CTA) (Tabela 4). A análise discriminante distinguiu *Gyrodactylus* sp. n. de cada hospedeiro em 72% dos casos.

As infrapopulações de *Gyrodactylus* sp. n. dos rios Miringuava e Piraquara apresentaram diferenças significativas entre si quanto à morfometria de ganchos e âncoras, independente das espécies de hospedeiros (Wilks' lambda = 0,60; $F = 10,7$; $P < 0,0001$; $n = 164$). Os parasitos apresentaram maior semelhança morfológica entre hospedeiros simpátricos do que entre hospedeiros da mesma espécie procedentes de localidades diferentes (Tabela 5).

A análise integrada das infrapopulações de *Gyrodactylus* sp. n. dos rios Miringuava e Piraquara indica que as mesmas diferem em 6 pontos morfométricos: três medidas de gancho (CCG, CHG e APG) e três de âncora (LLA, CCIA e AAPA) (Tabela 6). Por outro lado, a análise das infrapopulações dos dois rios e seus respectivos hospedeiros, revelou que apenas o comprimento total da âncora ($F = 11,6$; $P < 0,001$) variou significativamente entre infrapopulações de parasitos procedentes de hospedeiros e locais distintos. Infrapopulações de parasitos dos dois rios foram distinguidas, em média, em 77% dos casos, com maior porcentagem de classificação correta para o rio Miringuava (84%) e menor para o rio Piraquara (67%) (Fig. 1).

A análise de variância multivariada realizada exclusivamente com os hospedeiros, i.e sem considerar a localidade dos mesmos, não revelou diferenças morfométricas entre *Gyrodactylus* sp. n. de *C. paleatus* e *C. ehrhardti* (Wilks' lambda = 0,91; $F = 1,6$; $P = 0,12$).

Dados moleculares

Foram obtidos cerca de 741 pb do fragmento de COI de 40 exemplares de *Gyrodactylus* sp. n. (16 parasitos de *C. paleatus* e 24 de *C. ehrhardti*), procedentes dos rios Piraquara e Miringuava. Foram detectadas duas linhagens principais de *Gyrodactylus* sp. n., as quais não corresponderam aos locais de coleta, mas sim às espécies de hospedeiros.

A análise de parcimônia revelou 2040 árvores igualmente parcimoniosas. As substituições de nucleotídeos foram observadas em 208 posições, das quais 37 foram parcimoniosamente informativas (índice de consistência = 0,90 e índice de retenção = 0,88). A análise bayesiana foi realizada com o modelo de evolução molecular (TVM+G) indicado pelo programa ModelTest. A árvore resultante da análise bayesiana foi obtida com estimativa para 3.500.000 de gerações.

As análises de parcimônia (Fig. 2) e bayesiana (Fig. 3) suportam a existência de pelo menos duas linhagens de *Gyrodactylus* sp. n., uma na qual a maioria dos animais foi coletada de *C. paleatus* e outra, de *C. ehrhardti*. Ambas análises evidenciaram eventos de troca de hospedeiro. Parasitos coletados de *C. ehrhardti* foram agrupados com os da linhagem de *C. paleatus*, sendo que 2 espécimes (de um total de 24) coincidiram nas análises (E87718 e E87719). Por outro lado, alguns parasitos coletados de *C. paleatus* foram agrupados com os da linhagem de *C. ehrhardti*, dos quais 5 espécimes (de um total de 16) coincidiram nas análises (P122615, P120112, P1219124, P121815 e P121711).

Todavia, como dito acima, com base na seqüência do fragmento de COI, os indivíduos de *Gyrodactylus* sp. n., na sua maioria, foram agrupados conforme seus respectivos

hospedeiros em ambas análises (89,6% dos parasitos de *C. ehrhardti* e 59,3% dos parasitos de *C. paleatus*, em média). Porém, alguns parasitos foram agrupados em clados de hospedeiros diferentes do seu (10,4% para *C. ehrhardti* e 40,7% para *C. paleatus*, em média) (Figs. 2, 3).

A otimização mais parcimoniosa dos hospedeiros *C. paleatus* e *C. ehrhardti* sobre os cladogramas mais parcimoniosos ($n = 2040$) resultou em 6-9 eventos de dispersão (troca de hospedeiros) (Fig. 4). Esse número de eventos de dispersão (passos) foi significativamente diferente do número de eventos previstos se a distribuição das linhagens de *Gyrodactylus* sp. n. entre seus hospedeiros distintos fosse ao acaso (vide distribuição de frequência na Fig. 5), i.e. não houve sobreposição da distribuição de frequência entre cladogramas com hospedeiros definidos aleatoriamente e hospedeiros, de fato, observados.

A otimização mais parcimoniosa dos hospedeiros *C. paleatus* e *C. ehrhardti* sobre o cladograma da análise bayesiana resultou em 8 eventos de dispersão (troca de hospedeiros) (Fig. 6). Esse número de eventos de dispersão foi significativamente diferente do número de eventos previstos se a distribuição das linhagens de parasitos entre seus hospedeiros fosse ao acaso (vide distribuição de frequência na Fig. 7).

O relacionamento de grupos irmãos baseado nos dados moleculares dos 40 espécimes de *Gyrodactylus* sp. n. coincidiu com a classificação morfométrica na maioria dos casos ($r^2 = 0,83$; $P < 0,0001$). Em ambas análises, 29 espécimes foram associados a hospedeiros corretos e quatro espécimes a hospedeiros errados (P120112, P121711, P1219124 e P121815). O agrupamento molecular dos espécimes restantes ($n = 7$) não coincidiu com os resultados da análise morfométrica, sendo que, 3 espécimes (P122615, E87718 e E87719) corresponderam aos seus hospedeiros apenas por classificação morfométrica e 4 espécimes (E119915, E87717, E86911 e E88617) somente por classificação molecular.

DISCUSSÃO

O fato dos dados morfométricos mostrarem que *Gyrodactylus* sp. n. apresenta especificidade morfológica aos hospedeiros *C. paleatus* e *C. ehrhardti*, confirma a correlação entre a morfologia de estruturas do háptor e a especificidade ao hospedeiro proposta previamente por diversos autores (Geets et al. 1999, Simková et al. 2001, 2006, Cribb et al. 2002, Dmitrieva e Dimitrov 2002, Huyse e Volckaert 2002, Robertsen et al. 2007). De acordo com a análise de variância multivariada, *Gyrodactylus* sp. n. diferiu entre *C. paleatus* e *C. ehrhardti* nos pontos morfométricos LLA (largura da lâmina da âncora), CTA (comprimento total da âncora) e LDG (largura distal do gancho). Todas essas medidas foram significativamente informativas na discriminação de infrapopulações de *Gyrodactylus* sp. n., sendo que ponto CTA distinguiu as infrapopulações em ambos rios Piraquara e Miringuava. Os resultados mostraram que as âncoras foram as estruturas que apresentaram maior variação morfológica entre as infrapopulações, como evidenciado para outras *Gyrodactylus* spp. por Geets et al. (1999), Dmitrieva e Dimitrov (2002) e Huyse e Volckaert (2002). Contudo, os ganchos contribuíram mais na discriminação de infrapopulações de *Gyrodactylus* sp. n., indicando que pontos morfométricos associados com a fixação do parasito no hospedeiro (Shinn et al. 2003, 2004), refletem a adaptação morfológica de *Gyrodactylus* sp. n. a espécies distintas de *Corydoras*.

As infrapopulações de *Gyrodactylus* sp. n. dos rios Miringuava e Piraquara diferiram entre si quanto a morfometria de âncoras e ganchos, independente da espécie de hospedeiro. Esses dados sugerem que variações morfológicas regionais podem estar relacionadas com variáveis abióticas (e.g. temperatura da água) e/ou bióticas (e.g. disponibilidade de hospedeiro) (Malmberg 1970, Mo 1991a,b, Rohde 1991, Perera 1992, De Meeûs et al. 1993, Harris 1998b, Geets et al. 1999, Dmitrieva e Dimitrov 2002, Huyse e Volckaert 2002, Dávidová et al. 2005, Robertsen et al. 2007). Shibatta e Hoffmann (2005) mostraram que

populações de *C. paleatus* do Alto Iguaçu (PR) apresentam variações morfométricas regionais definidas, o que leva a considerar que as diferenças morfométricas nos ganchos de *Gyrodactylus* sp. n., entre populações distantes de *Corydoras*, podem decorrer de variações na morfologia dos hospedeiros. Partindo do pressuposto que a especificidade de *Gyrodactylus* spp. é determinada pela morfologia e fisiologia epitelial do hospedeiro (Buchmann 1999, 2001, Buchmann et al. 2004, Larsen et al. 2006), acredita-se que a variação morfométrica de *Gyrodactylus* sp. n. resulta de sua adaptação local à *C. paleatus* e *C. ehrhardti*, o que caracteriza a diferenciação alopátrica dos parasitos.

A análise filogenética do gene mitocondrial COI identificou duas linhagens principais de *Gyrodactylus* sp. n., as quais corresponderam às espécies de hospedeiros, mas não à sua localização geográfica. O fato da distribuição dos parasitos estar relacionada com as espécies de hospedeiros confirma os dados morfométricos e as observações de Hansen et al. (2003), Meinilä et al. (2004) e Robertsen et al. (2007), os quais mostraram que a distribuição de linhagens mitocondriais de *Gyrodactylus* spp. relacionou-se com a especificidade dos parasitos. Porém, o fato de infrapopulações de parasitos de locais distintos diferirem entre si apenas morfometricamente, e não geneticamente, leva a sugerir duas hipóteses: (1) as infrapopulações de *Gyrodactylus* sp. n. dos rios Piraquara e Miringuava são capazes de manter fluxo gênico entre si; ou (2) que a variabilidade morfométrica dos parasitos é exclusivamente fenotípica, i.e. independe da variabilidade genética.

Os agrupamentos através de dados morfométricos ou moleculares mostraram que nem todos espécimes de *Gyrodactylus* sp. n. foram agrupados com indivíduos coletados na mesma espécie hospedeira, confirmando resultados de outros estudos sobre a capacidade de dispersão de *Gyrodactylus* spp. entre hospedeiros simpátricos (Geets et al. 1999, Huyse e Volckaert 2002, Hansen et al. 2003, Huyse et al. 2003, Meinilä et al. 2004) e a alta capacidade de troca de hospedeiro (Boeger et al. 2003). A falta de correspondência entre espécies de parasitos e

hospedeiros pode refletir possíveis eventos de troca de hospedeiro (Geets et al. 1999, Bakke et al. 2002, Huyse e Volckaert 2002, Cable et al. 2005), como evidenciado pela otimização da espécie de hospedeiro nos cladogramas moleculares. As análises revelaram que os parasitos não ocorreram aleatoriamente entre hospedeiros simpátricos, ou seja, o isolamento genético das linhagens parece estar relacionado com a espécie hospedeira e isso corrobora os dados de Hansen et al. (2003), Meinilä et al. (2004) e Robertsen et al. (2007). A frequência de eventos de troca de hospedeiro revelou que a distribuição das linhagens de *Gyrodactylus* sp. n. resulta entre 6-9 eventos de troca de hospedeiro entre *C. ehrhardti* e *C. paleatus*. Portanto, a diferenciação morfológica e molecular de *Gyrodactylus* sp. n. reflete eventos de diferenciação genética e morfológica, a qual pode resultar na especiação “simpátrica” dos parasitos.

A grande similaridade morfológica entre indivíduos das infrapopulações de *Gyrodactylus* sp. n. sugere que esses não representam duas espécies distintas. Todavia, adaptações morfométricas específicas aos hospedeiros indicam que *Gyrodactylus* sp. n. apresenta agrupamentos com especificidade distinta para hospedeiros simpátricos, como também evidenciado pelos dados moleculares.

Assim, a identificação de duas linhagens mitocondriais de parasitos levou ao questionamento o status taxonômico de *Gyrodactylus* sp. n.: trata-se de uma espécie generalista, ou duas espécies crípticas? A mesma indagação foi feita por Meinilä et al. (2004) ao identificarem 6 haplótipos para as espécies *Gyrodactylus thymalli* Žitňan, 1960 e *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957. Ziętara e Lumme (2003) postularam três condições para distinguir espécies simpátricas de *Gyrodactylus*: (1) consistente diferença no DNA, (2) diferença na forma dos ganchos e (3) especificidade ao hospedeiro.

Apesar dos resultados do presente estudo coincidirem com as hipóteses (1) e (3) de Ziętara e Lumme (2003), a capacidade de *Gyrodactylus* sp. n. dispersar entre espécies de hospedeiros, e a similaridade na forma de âncoras e ganchos entre infrapopulações distintas,

sugerem que *Gyrodactylus* sp. n. seja considerada uma única espécie que, aparentemente, apresenta clara evidência de adaptação a dois hospedeiros distintos. Sugere-se que esta situação represente etapas iniciais do processo de especiação simpátrica pelo fato dos hospedeiros compartilharem o mesmo espaço geográfico e os parasitos serem capazes de trocar de hospedeiro (Brooks e McLennan 1991, Le Gac e Giraud 2004, Huyse et al. 2005). O resultado final do processo detectado nesse estudo é incerto, mas certamente é consistente com a proposta de Boeger et al. (2003) sobre a dinâmica de diversificação das linhagens vivíparas de Gyrodactylidae.

O erro de classificação molecular de *Gyrodactylus* sp. n. diferiu entre os agrupamentos de parasitos coletados nos hospedeiros, *C. paleatus* e *C. ehrhardti*, sugerindo dinâmicas distintas de parasitismo entre hospedeiros (Geets et al. 1999, Boeger et al. 2005). O fato de alguns parasitos corresponderem aos seus hospedeiros apenas por análise morfométrica indica que, além de eventos de troca de hospedeiro, *Gyrodactylus* sp. n. pode apresentar variações fenotípicas que dificultam a distinção de parasitos morfologicamente semelhantes, procedentes de hospedeiros distintos, através da análise morfométrica. Essas variações podem resultar de variáveis ambientais (Malmberg 1970, Harris 1998b, Geets et al. 1999, Huyse e Volckaert 2002 e Dávidová et al. 2005). Entretanto, o fato de alguns parasitos corresponderem aos seus hospedeiros apenas por análise molecular sugere que a variabilidade morfométrica de estruturas do háptor resulta essencialmente de plasticidade fenotípica, que poderia favorecer a permanência, mesmo que temporária, de indivíduos de *Gyrodactylus* sp. n. em uma espécie de hospedeiro diferente.

Os resultados obtidos nesse estudo parecem oferecer, ainda, subsídios para uma melhor compreensão dos resultados obtidos por Boeger et al. (2005). Esses autores evidenciaram, sob condições laboratoriais, que clones de *Gyrodactylus anisopharynx* Popazoglo et Boeger, 2000 apresentaram prevalência e abundância diferentes entre *C. paleatus* e *C. ehrhardti*. Em

C. paleatus, as infrapopulações atingiram maior número de parasitos e permaneceram por mais tempo do que em *C. ehrhardti*. Os experimentos de Boeger et al. (2005) foram realizados com clones de um único parasito coletado de *C. paleatus*. Assim, a diferença observada entre as dinâmicas populacionais de *G. anisopharynx* entre hospedeiros distintos pode simplesmente ter refletido uma maior adaptação dos clones por seu hospedeiro original, *C. paleatus*.

REFERÊNCIAS

- AVISE J. C. 2000: Philogeography. The history and formation of species. Harvard University Press, Cambridge, 447 p.
- BAKKE T. A., HARRIS P. D., CABLE J. 2002: Host specificity dynamics: observations on gyrodactylid monogeneans. *Int. J. Parasitol.* 32: 281-308.
- BOEGER W. A., KRITSKY D. C. 1997: Coevolution of the Monogenoidea (Platyhelminthes) based on a revised hypothesis of parasite phylogeny. *Int. J. Parasitol.* 27: 1495-1511.
- BOEGER W. A., KRITSKY D. C., PIE M. R. 2003: Context of diversification of the viviparous Gyrodactylidae (Platyhelminthes, Monogenoidea). *Zool. Scr.* 32: 437-448.
- BOEGER W. A., KRITSKY D. C., PIE M. R., ENGERS K. B. 2005: Mode of transmission, host switching, and escape from the Red Queen by viviparous gyrodactylids (Monogenoidea). *J. Parasitol.* 91: 1000-1007.
- BONFIELD J., BEAL K., CHENG Y., JORDAN M., STADEN R. 1995: Staden Package. Available on <http://staden.sourceforge.net>.
- BROOKS D. R., McLENNAN D. A. 1991: Phylogeny, ecology, and behavior: a research program in comparative biology. University of Chicago Press, Chicago, 434 p.
- BUCHMANN K. 1999: Immune mechanisms in fish skin against monogenean infections – a model. *Folia Parasitol.* 46: 1-9.
- BUCHMANN K. 2001: Lectins in fish skin: do they play a role in host-monogenean interactions? *J. Helminthol.* 75: 227-231.
- BUCHMANN K., MADSEN K. K., DALGAARD M. B. 2004: Homing of *Gyrodactylus salaris* and *G. derjavini* (Monogenea) on different hosts and response post-attachment. *Folia Parasitol.* 51: 263-267.

- BUENO-SILVA M. 2007: Especiação incipiente de *Gyrodactylus* (Monogeneoidea) em espécies simpátricas de *Corydoras* (Siluriformes)? (Capítulo I). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 67 pp.
- BUSH A. O., LAFFERTY K. D., LOTZ J. M., SHOSTAK A. W. 1997: Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *J. Parasitol.* 83: 575-583.
- CABLE J., HARRIS P. D. 2002: Gyrodactylid developmental biology: historical review, current status and future trends. *Int. J. Parasitol.* 32: 255-280.
- CABLE J., van OOSTERHOUT C., BARSON N., HARRIS P. D. 2005: *Gyrodactylus pictae* n. sp. (Monogenea: Gyrodactylidae) from the Trinidadian swamp guppy *Poecilia picta* Regan, with a discussion on species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 and their poeciliid hosts. *Syst. Parasitol.* 60: 159-164.
- CRIBB T. H., CHISHOLM L. A., BRAY R. A. 2002: Diversity in the Monogenea and Digenea: does lifestyle matter? *Int. J. Parasitol.* 32: 321-328.
- CUNNINGHAM C. O., MO T. A. 1997: Random amplified polymorphic (RAPD) analysis of three Norwegian *Gyrodactylus salaris* populations (Monogenea; Gyrodactylidae). *J. Parasitol.* 83: 311-314.
- CUNNINGHAM C. O., MO T. A., COLLINS C. M., BUCHMANN K., THIERY R., BLANC G., LAUTRAITE A. 2001: Redescription of *Gyrodactylus teuchis* Lautraite, Blanc, Thiery, Daniel & Vigneulle, 1999 (Monogenea: Gyrodactylidae); a species identified by ribosomal RNA sequence. *Syst Parasitol.* 48: 141-150.
- DÁVIDOVÁ M., JARKOVSKÝ J., MATĚJUSOVÁ I., GELNAR M. 2005: Seasonal occurrence and metrical variability of *Gyrodactylus rhodei* Žitňan 1964 (Monogenea, Gyrodactylidae). *Parasitol. Res.* 95: 398-405.

- DE MEEÛS T., MICHALAKIS Y., RENAUD F., OLIVIERI I. 1993: Polymorphism in heterogenous environments, evolution of habitat selection and sympatric speciation: soft and hard selection models. *Evol. Ecol.* 7: 175-198.
- DMITRIEVA E., DIMITROV G. 2002: Variability in the taxonomic characters of Black Sea gyrodactylids (Monogenea). *Syst. Parasitol.* 51: 199-206.
- ERGENS R. 1983: A survey of the results of studies on *Gyrodactylus katharineri* Malmberg, 1964 (Gyrodactylidae: Monogenea). *Folia Parasitol.* 30: 319-327.
- GEETS A., APPLEBY C., OLLEVIER F. 1999: Host-dependent and seasonal variation in opisthaptor hard parts of *Gyrodactylus* cf. *arcuatus* from three *Pomatoschistus* spp. and *G. arcuatus* from *Gasterosteus aculeatus*: a multivariate approach. *Parasitology* 119: 27-40.
- HALL T. A. 1999: BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41: 95-98.
- HANSEN H., BACHMANN L., BAKKE T. A. 2003: Mitochondrial DNA variation of *Gyrodactylus* spp. (Monogenea, Gyrodactylidae) populations infecting Atlantic salmon, grayling, and rainbow trout in Norway and Sweden. *Int. J. Parasitol.* 33: 1471-1478.
- HARRIS P. D. 1998a: Ecological and genetic evidence for clonal reproduction in *Gyrodactylus gasterostei* Glaser, 1974. *Int. J. Parasitol.* 28: 1595-1607.
- HARRIS P. D. 1998b: Extreme morphological variation between related individuals of *Gyrodactylus pungitti* Malmberg, 1964 (Monogenea). *Syst. Parasitol.* 39: 137-140.
- HUYSE T., VOLCKAERT F. A. M. 2002: Identification of a host-associated species complex using molecular and morphometric analyses, with description of *Gyrodactylus rugiensoides* n. sp. (Gyrodactylidae, Monogenea). *Int. J. Parasitol.* 32: 907-919.

- HUYSE T., AUDENAERT V., VOLCKAERT F. A. M. 2003: Speciation and host-parasite relationships in the genus *Gyrodactylus* (Monogenea, Platyhelminthes) infecting gobies of the genus *Pomatoschistus* (Gobiidae, Teleostei). *Int. J. Parasitol.* 33: 1679-1689.
- HUYSE T., POULIN R., THÉRON A. 2005: Speciation in parasites: a population genetics approach. *Trends Parasitol.* 21: 469-475.
- LARSEN T. B., MADSEN K. K., BUCHMANN K. 2006: Host specific *in vitro* colonisation of fish epithelia by gyrodactylids. ICOPA XI: 11th International Congress of Parasitology, Glasgow, Storbritannien.
- Le GAC M., GIRAUD T. 2004: What is sympatric speciation in parasites? *Trends Parasitol.* 20: 207-208.
- LeBLANC J., HANSEN H., BURT M., CONE D. 2006: *Gyrodactylus neili* n. sp. (Monogenea: Gyrodactylidae), a parasite of chain pickerel *Esox niger* Lesueur (Esocidae) from freshwaters of New Brunswick, Canada. *Syst. Parasitol.* 65: 43-48.
- MADDISON D. R., MADDISON W.P. 2000: MacClade version 4. Sinauer Associates Sunderland, Massachusetts.
- MADDISON W. P. 1995: Calculating the probability distributions of ancestral states reconstructed by parsimony on phylogenetic trees. *Syst. Biol.* 44: 474-481.
- MALMBERG G. 1970: The excretory systems and the marginal hooks as a basis for the systematic of *Gyrodactylus* (Trematoda, Monogenea). *Ark. Zool.* 23: 1-235.
- MATEJUSOVÁ I., GELNAR M., McBEATH A. J. A., COLLINS C. M., CUNNINGHAM C. O. 2001: Molecular markers for gyrodactylids (Gyrodactylidae: Monogenea) from five fish families (Teleostei). *Int. J. Parasitol.* 31: 738-745.
- McHUGH E. S., SHINN A. P., KAY J. W. 2000: Discrimination of the notifiable pathogen *Gyrodactylus salaris* from *G. thymalli* (Monogenea) using statistical classifiers applied to morphometric data. *Parasitology* 121: 315-323.

- MEINILÄ M., KUUSELA J., ZIĘTARA M., LUMME J. 2002: Primers for amplifying ~ 820 bp highly polymorphic mitochondrial COI gene of *Gyrodactylus salaris*. *Hereditas* 137: 72-74.
- MEINILÄ M., KUUSELA J., ZIĘTARA M. S., LUMME J. 2004: Initial steps of speciation by geographic isolation and host switch in salmonid pathogen *Gyrodactylus salaris* (Monogenea: Gyrodactylidae). *Int. J. Parasitol.* 34: 515-526.
- MO T. A. 1991: Variations of opisthaptor hard parts of *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 (Monogenea: Gyrodactylidae) on parr of Atlantic salmon *Salmo salar* L. in laboratory experiments. *Syst. Parasitol.* 20: 11-19.
- MO T. A. 1991: Variations of opisthaptor hard parts of *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 (Monogenea: Gyrodactylidae) on rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) in a fish farm, with comments on the spreading of the parasite in south-eastern Norway. *Syst. Parasitol.* 20: 1-9.
- MORAND S., SIMKOVÁ A., MATEJUSOVÁ I., PLAISANCE L., VERNEAU O., DESDEVISES Y. 2002: Investigating patterns may reveal processes: evolutionary ecology of ectoparasitic monogeneans. *Int. J. Parasitol.* 32: 111-119.
- PERERA K. M. L. 1992: The effect of host size on large hamuli length of *Kuhnia scomбри* (Monogenea: Polyopisthocotylea) from Eden, New South Wales, Australia. *Int. J. Parasitol.* 22: 123-124.
- POSADA D., CRANDALL K. A. 1998: Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14: 817-818.
- ROBERTSEN G., HANSEN H., BACHMANN L., BAKKE T. A. 2007: Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) is a suitable host for *Gyrodactylus salaris* (Monogenea, Gyrodactylidae) in Norway. *Parasitology* 134: 257-267.

- ROHDE K. 1991: Size differences in hamuli of *Kuhnia scombri* (Monogenea: Polyopisthocotylea) from different geographical areas not due to differences in host size. *Int. J. Parasitol.* 21: 113-114.
- RONQUIST F., HUELSENBECK J. P. 2003: MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574.
- SHIBATTA O. A., HOFFMANN A. C. 2005: Variação geográfica em *Corydoras paleatus* (Jenyns) (Siluriformes, Callichthyidae) do sul do Brasil. *Rev. Bras. Zool.* 22: 366-371.
- SHINN A. P., des CLERS S., GIBSON D. I., SOMMERVILLE C. 1996: Multivariate analyses of morphometrical features from *Gyrodactylus* spp. (Monogenea) parasitising British salmonids: light microscope based studies. *Syst. Parasitol.* 33: 115-125.
- SHINN A. P., KAY J. W., SOMMERVILLE C. 2000: The use of statistical classifiers for the discrimination of species of the genus *Gyrodactylus* (Monogenea) parasitizing salmonids. *Parasitology* 120: 261-269.
- SHINN A. P., GIBSON D. I., SOMMERVILLE C. 2001: Morphometric discrimination of *Gyrodactylus salaris* Malmberg (Monogenea) from species of *Gyrodactylus* parasitising British salmonids using novel parameters. *J. Fish Dis.* 24: 83-97.
- SHINN A. P., BRON J. E., SOMMERVILLE C., GIBSON D. I. 2003: Comments on the mechanism of attachment in species of the monogenean genus *Gyrodactylus*. *Invertebr. Biol.* 122: 1-11.
- SHINN A. P., HANSEN H., OLSTAD K., BACHMANN L., BAKKE T. A. 2004: The use of morphometric characters to discriminate specimens of laboratory-reared and wild populations of *Gyrodactylus salaris* and *G. thymalli* (Monogenea). *Folia Parasitol.* 51: 239-252.

- ŠIMKOVÁ A., DESDEVISES Y., GELNAR M., MORAND S. 2001: Morphometric correlates of host specificity in *Dactylogyrus* species (Monogenea) parasites of European Cyprinid fish. *Parasitology* 123: 169-177.
- ŠIMKOVÁ A., VERNEAU O., GELNAR M., MORAND S. 2006: Specificity and specialization of congeneric monogeneans parasitizing Cyprinid fish. *Evolution* 60: 1023-1037.
- SWOFFORD D. L. 2001: PAUP: Phylogenetic analysis using parsimony (and others methods). Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- THOMPSON J. D., HIGGINS D. G., GIBSON T. J. 1994: Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22: 4673-4680.
- TURGUT E., SHINN A. P., WOOTTEN R., YEOMANS W. E. 1999: *Gyrodactylus sommervillae* n. sp. (Monogenea) from *Abramis brama* (L.) and *Rutilus rutilus* (L.) (Cyprinidae) in Oxfordshire, UK. *Syst. Parasitol.* 43: 59-63.
- ZIĘTARA M. S., LUMME J. 2002: Speciation by host switch and adaptive radiation in a fish parasite genus *Gyrodactylus* (Monogenea, Gyrodactylidae). *Evolution* 56: 2445-2458.
- ZIĘTARA M. S., LUMME J. 2003: The crossroads of molecular, typological and biological species concepts: two new species of *Gyrodactylus* Nordmann, 1832 (Monogenea: Gyrodactylidae). *Syst. Parasitol.* 55: 39-52.
- ZIĘTARA M. S., KUUSELA J., LUMME J. 2006: Escape from an evolutionary dead end: a triploid clone of *Gyrodactylus salaris* is able to revert to sex and switch host (Platyhelminthes, Monogenea, Gyrodactylidae). *Hereditas* 143: 84-90.

LEGENDA DAS FIGURAS

Figura 1. Análise discriminante de pontos morfométricos de âncora e gancho de *Gyrodactylus* sp. n. entre espécies de hospedeiros procedentes dos rios Miringuava e Piraquara, Paraná, Brasil. A linha vertical pontilhada separa as infrapopulações de *Gyrodactylus* sp. n. do rio Miringuava à direita (84%) e as do rio Piraquara à esquerda (67%).

Figura 2. Relação filogenética de *Gyrodactylus* sp. n. entre hospedeiros simpátricos *Corydoras ehrhardti* Steindachner, 1910 (identificado pela letra “E” e pela cor preta) e *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842) (identificado pela letra “P” e pela cor cinza), baseada na análise de 40 seqüências do gene mitocondrial COI. O cladograma representa uma das árvores igualmente parcimoniosas da análise de parcimônia. A árvore está enraizada (grupo externo – *GspNorw* = *Gyrodactylus* sp. Norway-HH-2003). Valores de “bootstrap” menores que 50% não foram mostrados.

Figura 3. Relação filogenética de *Gyrodactylus* sp. n. entre hospedeiros simpátricos *Corydoras ehrhardti* Steindachner, 1910 (identificado pela letra “E” e pela cor preta) e *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842) (identificado pela letra “P” e pela cor cinza), baseada na análise de 40 seqüências do gene mitocondrial COI. Filograma da análise bayesiana com valores de probabilidade posterior.

Figura 4. Um dos cladogramas mais parcimoniosos de *Gyrodactylus* sp. n. evidenciando eventos de troca de hospedeiro ($n = 8$). Parasitos coletados de *Corydoras ehrhardti* Steindachner, 1910 são representados pelo agrupamento em cinza escuro (à esquerda), e

parasitos coletados de *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842) pelo agrupamento em cinza claro (à direita). Indivíduos destacados em cinza claro no agrupamento da esquerda representam parasitos que dispersaram de *C. ehrhardti* para *C. paleatus*. Indivíduos destacados em cinza escuro no agrupamento da direita representam parasitos que dispersaram de *C. paleatus* para *C. ehrhardti*.

Figura 5. Análise da distribuição de linhagens de *Gyrodactylus* sp. n. entre hospedeiros distintos. O número de eventos de dispersão (troca de hospedeiros) nos cladogramas mais parcimoniosos (indicados pela cor cinza; $n = 6-9$) indica que a distribuição das linhagens de parasitos entre hospedeiros distintos não ocorreu ao acaso ($P < 0,001$). Colunas em cinza escuro simulam a distribuição das linhagens caso não houvesse especificidade ao hospedeiro.

Figura 6. Cladograma da análise bayesiana evidenciando eventos de troca de hospedeiro ($n = 8$). Parasitos coletados de *Corydoras ehrhardti* Steindachner, 1910 são representados pelo agrupamento em cinza escuro (à esquerda), e parasitos coletados de *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842) pelo agrupamento em cinza claro (à direita). Indivíduos destacados em cinza claro no agrupamento da esquerda representam parasitos que dispersaram de *C. ehrhardti* para *C. paleatus*. Indivíduos destacados em cinza escuro no agrupamento da direita representam parasitos que dispersaram de *C. paleatus* para *C. ehrhardti*.

Figura 7. Análise da distribuição de linhagens de *Gyrodactylus* sp. n. entre hospedeiros distintos. O número de eventos de dispersão (troca de hospedeiros) no cladograma da análise bayesiana (indicado pela seta; $n = 8$) indica que a distribuição das linhagens de parasitos entre hospedeiros distintos não ocorreu ao acaso ($P < 0,001$). Colunas em cinza escuro simulam a distribuição das linhagens caso não houvesse especificidade ao hospedeiro.

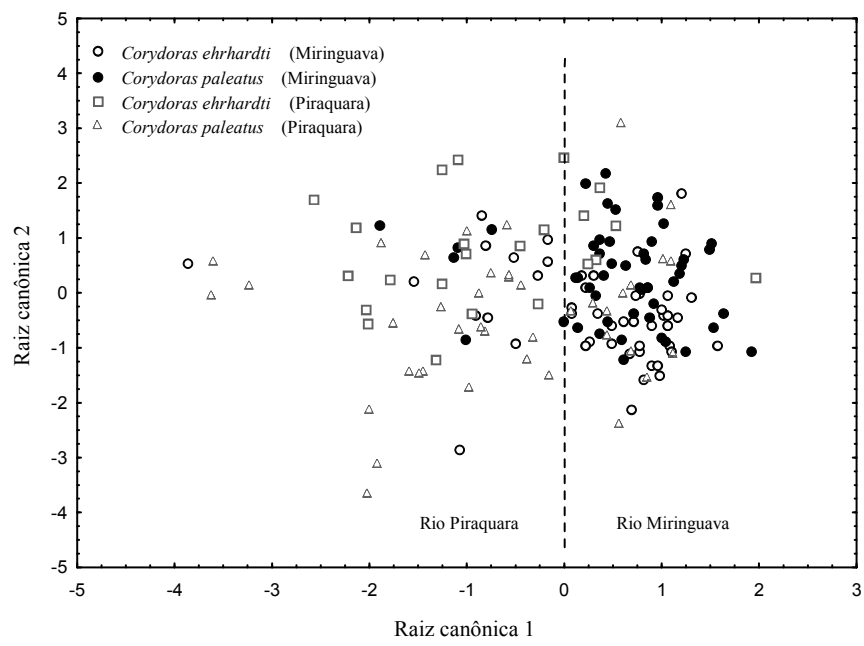


Figura 1



Figura 2

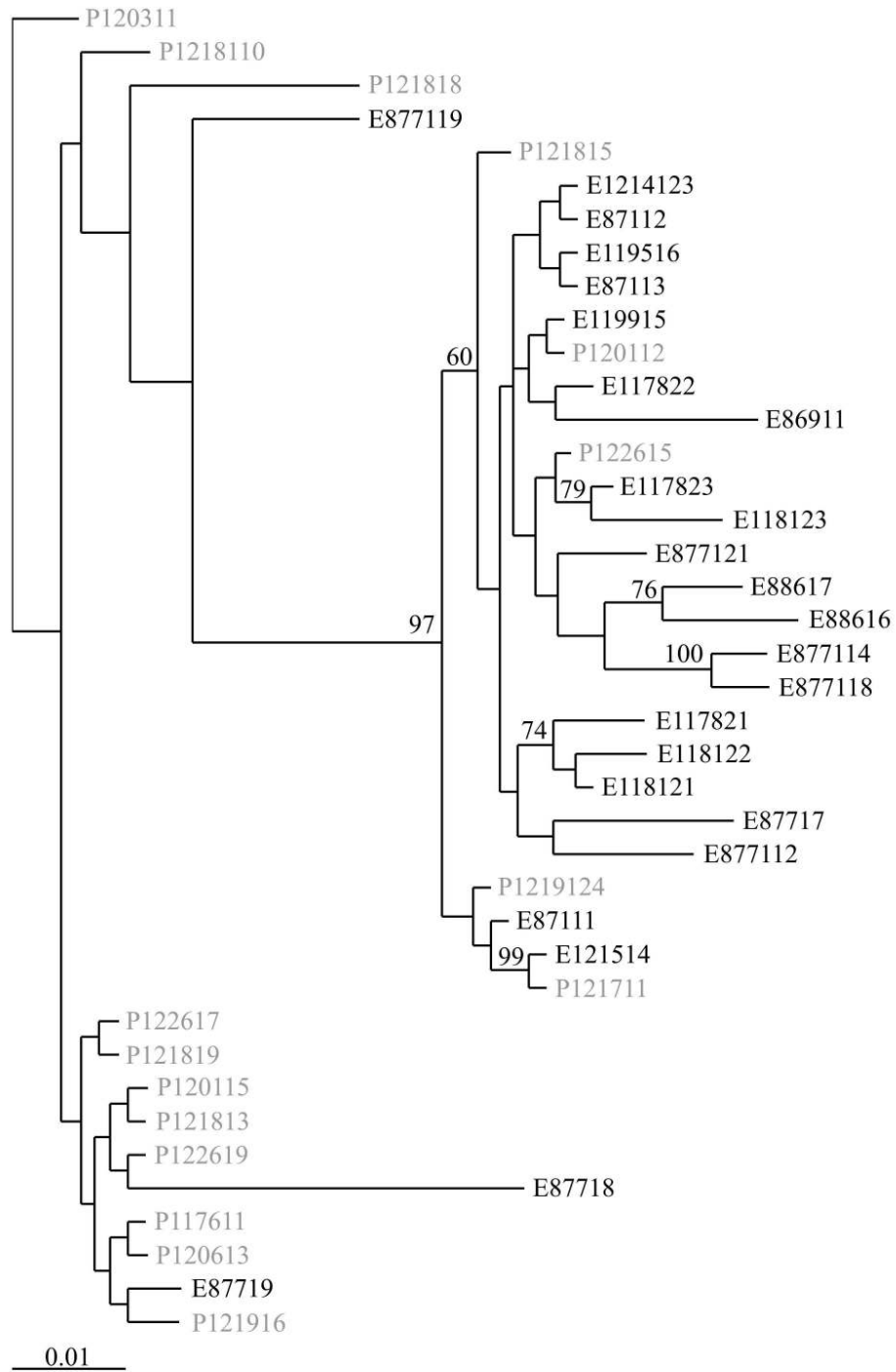


Figura 3

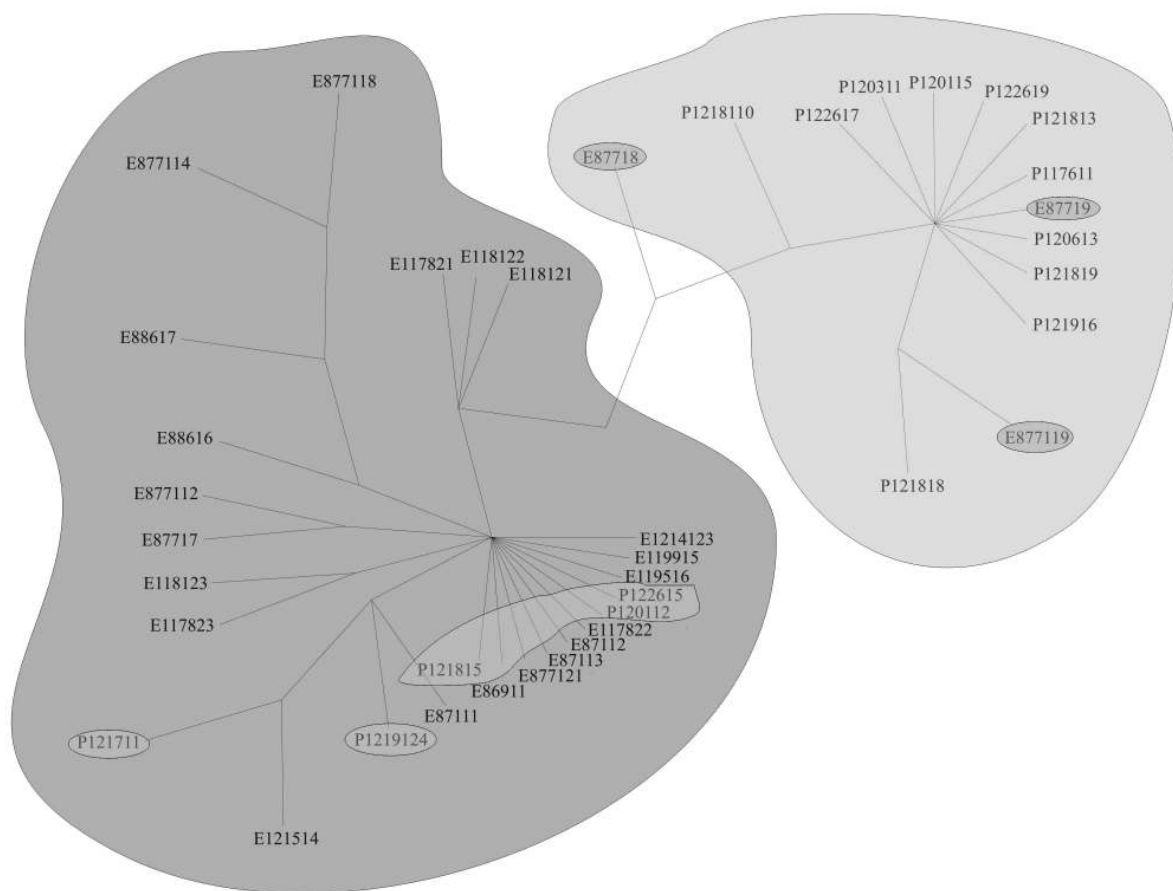


Figura 4

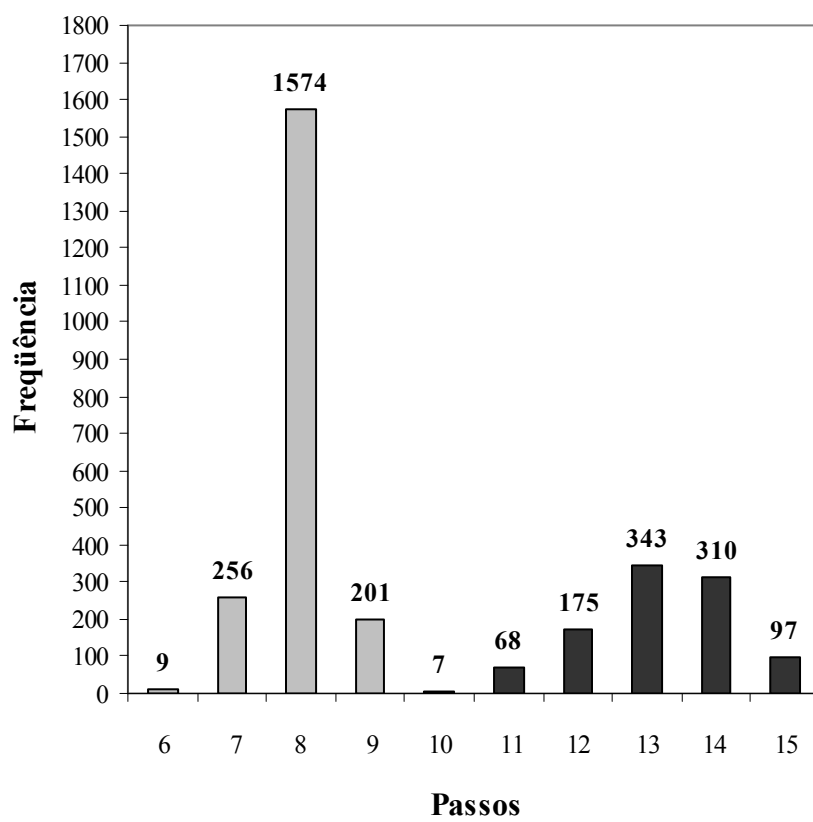


Figura 5

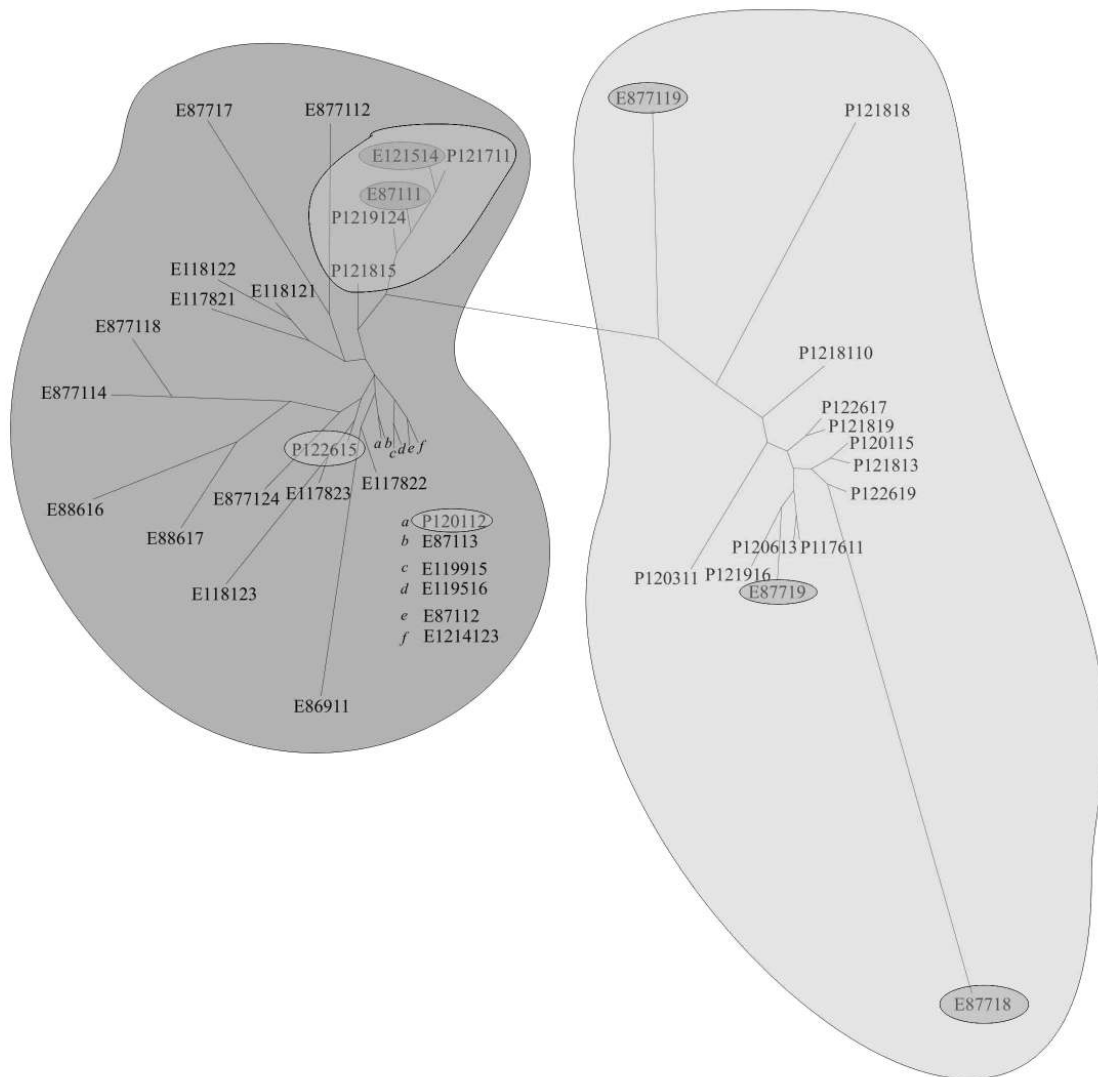


Figura 6

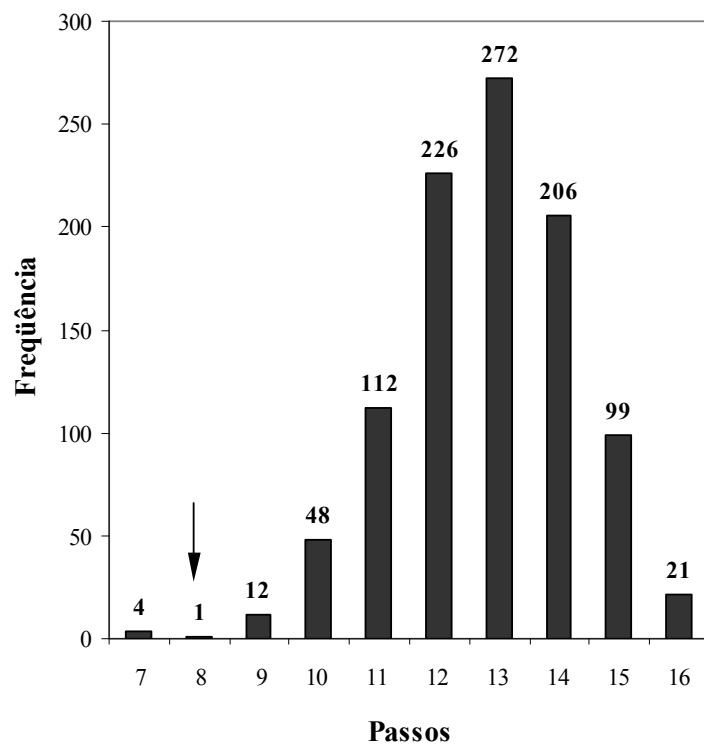


Figura 7

Tabela 1. Valores médios das distâncias dos pontos morfométricos de âncora e gancho de *Gyrodactylus* sp. n. coletados de *Corydoras ehrhardti* Steindachner, 1910 e *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842) no rio Miringuava, Paraná, Brasil. Os valores, apresentados em micrômetros, indicam respectivamente: média e intervalo de confiança de 95%.

Variáveis	<i>Gyrodactylus</i> sp. n.	<i>Gyrodactylus</i> sp. n.	
	(<i>C. paleatus</i>) (n = 50)	(<i>C. ehrhardti</i>) (n = 50)	
Âncora	Abertura da ponta	23,4 (22,7-24)	24,1 (23,4-24,9)
	Largura da lâmina	10,2 (10-10,5)	9,9 (9,7-10,1)
	Comprimento da curva interna	4,1 (3,6-4,6)	4,5 (4,0-5,0)
	Ângulo de abertura da ponta	10,0 (8,7-11,3)	10,6 (9,5-11,8)
	Comprimento total	64,0 (63,2-64,8)	65,2 (64,4-66,1)
Gancho	Comprimento da haste	18,1 (17,9-18,3)	17,8 (17,5-18,1)
	Comprimento do gancho	10,7 (10,5-10,9)	10,7 (10,5-10,9)
	Largura distal	4,0 (3,9-4,1)	3,9 (3,8-4,0)
	Abertura da ponta	10,6 (10,4-10,7)	10,5 (10,4-10,7)

Tabela 2. Valores médios das distâncias dos pontos morfométricos de âncora e gancho de *Gyrodactylus* sp. n. coletados de *Corydoras ehrhardti* Steindachner, 1910 e *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842) no rio Piraquara, Paraná, Brasil. Os valores, apresentados em micrômetros, indicam respectivamente: média e intervalo de confiança de 95%.

Variáveis	<i>Gyrodactylus</i> sp. n.	<i>Gyrodactylus</i> sp. n.
	(<i>C. paleatus</i>) (n = 41)	(<i>C. ehrhardti</i>) (n = 23)
Abertura da ponta	23,7 (22,3-25,1)	23,1 (21,5-24,8)
Largura da lâmina	9,8 (9,4-10,2)	9,6 (9,0-10,3)
Âncora		
Comprimento da curva interna	5,5 (4,5-6,5)	5,2 (4,2-6,2)
Ângulo de abertura da ponta	13,5 (10,9-16)	13,9 (10,9-16,8)
Comprimento total	65,3 (64,2-66,4)	62,8 (61,3-64,2)
Comprimento da haste	17,1 (16,6-17,6)	17,3 (16,9-17,7)
Gancho		
Comprimento do gancho	10,2 (9,9-10,4)	10,0 (9,7-10,4)
Largura distal	4,1 (3,9-4,3)	3,8 (3,6-4,1)
Abertura da ponta	10,4 (10,2-10,7)	10,1 (9,7-10,5)

Tabela 3. Análise de variância multivariada dos pontos morfométricos de âncora e gancho de *Gyrodactylus* sp. n. dos hospedeiros *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842) e *Corydoras ehrhardti* Steindachner, 1910 procedentes do rio Miringuava, Paraná, Brasil. (Wilks' Lambda = 0,75; $F = 3,3$; $P < 0,01$).

Variáveis	Valor de F	Índice P
Abertura da ponta da âncora	2,52	0,12
Largura da lâmina da âncora	6,55	< 0,05
Comprimento da curva interna da âncora	0,73	0,39
Ângulo de abertura da ponta da âncora	0,22	0,64
Comprimento total da âncora	3,96	< 0,05
Comprimento da haste do gancho	3,40	0,07
Comprimento da cabeça do gancho	0,01	0,94
Largura distal do gancho	1,77	0,19
Abertura da ponta do gancho	0,06	0,80

Tabela 4. Análise de variância multivariada dos pontos morfométricos de âncora e gancho de *Gyrodactylus* sp. n. dos hospedeiros *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842) e *Corydoras ehrhardti* Steindachner, 1910 procedentes do rio Piraquara, Paraná, Brasil. (Wilks' Lambda = 0,68; $F = 2,2$; $P < 0,05$).

Variáveis	Valor de F	Índice P
Abertura da ponta da âncora	0,28	0,60
Largura da lâmina da âncora	0,42	0,52
Comprimento da curva interna da âncora	0,62	0,43
Ângulo de abertura da ponta da âncora	1,40	0,24
Comprimento total da âncora	7,13	< 0,05
Comprimento da haste do gancho	0,45	0,51
Comprimento da cabeça do gancho	1,00	0,32
Largura distal do gancho	3,68	0,06
Abertura da ponta do gancho	3,28	0,08

Tabela 5. Distância de Mahalanobis de pontos morfométricos de *Gyrodactylus* sp. n. entre hospedeiros *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842) e *Corydoras ehrhardti* Steindachner, 1910 procedentes dos rios Miringuava e Piraquara, Paraná, Brasil. Os valores indicam o índice *P* da distância de Mahalanobis de pontos morfométricos de âncora e gancho.

	<i>C. paleatus</i> (Rio Miringuava)	<i>C. ehrhardti</i> (Rio Miringuava)	<i>C. paleatus</i> (Rio Piraquara)
<i>C. paleatus</i> (Rio Miringuava)	-		
<i>C. ehrhardti</i> (Rio Miringuava)	0,009 *	-	
<i>C. paleatus</i> (Rio Piraquara)	0,000001	0,0003	-
<i>C. ehrhardti</i> (Rio Piraquara)	0,00003	0,000004	0,001 **

* Índice *P* da distância de Mahalanobis entre infrapopulações de *Gyrodactylus* sp. n. do rio Miringuava.

** Índice *P* da distância de Mahalanobis entre infrapopulações de *Gyrodactylus* sp. n. do rio Piraquara.

Tabela 6. Análise de variância multivariada dos pontos morfométricos de âncora e gancho de infrapopulações de *Gyrodactylus* sp. n. procedentes dos rios Miringuava e Piraquara, Paraná, Brasil. (Wilks' Lambda = 0,60; $F = 10,7$; $P < 0,0001$).

Variáveis	Valor de F	Índice P
Abertura da ponta da âncora	2,04	0,16
Largura da lâmina da âncora	8,72	< 0,01
Comprimento da curva interna da âncora	6,84	< 0,05
Ângulo de abertura da ponta da âncora	9,59	< 0,01
Comprimento total da âncora	0,84	0,36
Comprimento da haste do gancho	21,10	< 0,0001
Comprimento da cabeça do gancho	23,54	< 0,0001
Largura distal do gancho	0,00	0,98
Abertura da ponta do gancho	4,45	< 0,05