

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LUCIANA PATELLA DE AZAMBUJA

**Uso de redes de interação para testar hipóteses de
diversificação dos Gyrodactylidae (Monogenoidea:
Platyhelminthes)**

CURITIBA 2012

LUCIANA PATELLA DE AZAMBUJA

**Uso de redes de interação para testar hipóteses de
diversificação dos Gyrodactylidae (Monogenoidea:
Platyhelminthes)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Microbiologia, Parasitologia e Patologia, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas área de concentração Parasitologia.

Orientador: Walter A. Boeger, Ph.D.

CURITIBA 2012



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
Departamento de Patologia Básica
Pós-graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia.

TERMO DE APROVAÇÃO

“Uso de redes de interação para testar hipóteses de diversificação dos Gyrodactylidae (Monogeneoidea: Platyhelminthes)”

por

LUCIANA PATELLA DE AZAMBUJA

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia, pela Comissão formada pelos professores:

Prof. Dr. Walter Antonio Pereira Boeger (presidente)

Prof. Dr. Marcus Vinicius Domingues

Dr. Marlus Bueno Silva

Curitiba, 28 de fevereiro de 2012.

“Não é o mais forte que sobrevive, nem o mais inteligente,
mas o que melhor se adapta às mudanças”

Charles Darwin

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, sinto a obrigação e necessidade de agradecer enormemente meu orientador Professor Walter Boeger, pela oportunidade e suporte de todos esses anos, por nunca ter desistido de mim, e principalmente pela amizade. Todos esses anos de orientação foram de muita influencia no meu crescimento profissional e pessoal. Com certeza sem essa oportunidade eu não estaria aqui, vivendo esse momento tão desejado na minha vida. Obrigada por tudo, obrigada pelas conversas, pelo ensinamento, pela vivencia e porque não pelos puxões de orelha que ainda bem não foram muitos, mas acho que sem eles não podemos evoluir, afinal como diz o velho ditado... “é errando que se aprende”. E claro, obrigada por ter apresentado esse mundo que tanto adoro que é a parasitologia. Quem diria que depois de tantas voltas entre peixes, mexilhões, caranguejos e fungos eu iria voltar ao meu ponto de partida.

A Professora Maria Regina, pelo apoio, carinho e pelas inúmeras conversas.

Não posso esquecer-me de outros dois professores que fizeram parte da minha formação no mundo dos Monogenoidea, a Professora Kerlen Engers pela coorientação na minha monografia e o Professor Marcus Vinícius Domingues pela paciência no começo desse meu aprendizado.

Agradeço também a minha mãe Márcia, minha irmã Raquel, aos meus queridos avós Cícero e Gilda pelo apoio incondicional, pela educação, incentivo, cuidado e amor nesses anos de vida.

Ao meu amor, André, nem sei como agradecer todo o carinho, parceria, incentivo, paciência dedicada a mim todos esses anos. Sei que não estaria aqui vivendo esse momento se tu não estivesses ao meu lado.

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, procedimentos de laboratório ou nas análises: Dr. Marlus, Renata Cristina (ou Ju), Rodrigo Menthira, Mariana, Carol, Emanuel. Aos amigos e companheiros do LEMPE-GIA: Raphael, Marlus (novamente), José Francisco, Rogério (Sargento Vianna), Rafael Baggio, Flávio, Marcel, Letícia, Renan, Diogo (escovinha), Kel, Lua, Professor Marcio Pie que estiveram presentes os momentos da alegria e loucura dentro e fora do Laboratório. Aos novos integrantes

Sandra, Micheli, Anne e Ale. Não posso esquecer-me da minha grande amiga “gringa”, Leslie, essa boliviana que caiu no Laboratório para fazer Mestrado e que jamais será esquecida.

Aos colegas do GIA-Agrárias, Professor Antonio Ostrensky, Débora, Bob (Robert), Cris e todos que colaboraram direta ou indiretamente nesses anos de formação científica.

Ao Dr. Vinicius Abilhoa pelo suporte na identificação das espécies hospedeiras utilizadas no presente estudo.

As minhas queridas amigas Kelli, Lise, Joca, Ju (Gaúcha), Olivia, Flávia. Francelise, Ale, Déberli, Claudia, Ju, Sandra, Cris (GIA) e Valéria que sempre estiveram por perto, sempre apoiando e por simplesmente estarem lá. Adoro vocês.

Ao curso de Pós-graduação de Microbiologia, Parasitologia e Patologia da UFPR, em especial à secretária Lu. Aos professores pelo carinho e atenção.

À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

SUMÁRIO

Epígrafe.....	vi
AGRADECIMENTOS.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xii
INTRODUÇÃO.....	1
MATERIAL E MÉTODOS.....	5
Coleta de material biológico.....	5
Processamento morfológico dos parasitos.....	6
Processamento Molecular.....	6
Extração de DNA.....	6
Amplificação do DNA.....	7
Interações ecológicas.....	9
Métricas ao nível de espécies da rede.....	10
Análise filogenética.....	11
RESULTADOS.....	15
Diversidade de Gyrodactylidae.....	15
Extração de DNA e Amplificação do DNA.....	19
Interação ecológica.....	21
Métricas para espécies da rede.....	31
Análise filogenética.....	36
Coevolução.....	38
DISCUSSÃO.....	49
BIBLIOGRAFIA.....	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação gráfica da rede de interação ecológica das espécies de Gyrodactylidae e seus hospedeiros, mostrando a abundância de cada espécie	23
Figura 2. Representação gráfica de uma rede 100% aninhada, para possível comparação das redes obtidas pelos agrupamentos ovíparo e vivíparo	24
Figura 3. Representação gráfica do melhor aninhamento das espécies ovíparas obtido pelo programa “R” (R Development Core Team, 2011) utilizando o pacote “Bipartite” (Dormann, et al., 2008)	25
Figura 4. Representação gráfica do melhor aninhamento das espécies vivíparas obtido pelo programa “R” (R Development Core Team, 2011) utilizando o pacote “Bipartite” (Dormann, et al., 2008)	25
Figura 5. Representação gráfica da rede de interação ecológica dos parasitos ovíparos, com informações de ausência e presença de interações	27
Figura 6. Representação gráfica da rede de interação ecológica dos parasitos vivíparos, com informações de ausência e presença de interações	29
Figura 7. Representação gráfica da força para cada espécie ovípara na rede de interação	34
Figura 8. Representação gráfica da força para cada espécie vivípara na rede de interação	36
Figura 9. Representação gráfica dos tipos de substituição de nucleotídeos para as espécies apresentadas na filogenia de Gyrodactylidae	40
Figura 10. Filogenia das espécies ovíparas e vivíparas de Gyrodactylidae, baseada em dados moleculares de 18S rDNA	41
Figura 11. Representação gráfica dos tipos de substituição de nucleotídeos para as espécies apresentadas na filogenia de Characiformes	42
Figura 12. Filogenia das espécies de Characiformes, baseando-se em dados moleculares de <i>cyt-b</i> (mtDNA)	43
Figura 13. Representação gráfica dos tipos de substituição de nucleotídeos para as espécies apresentadas na filogenia de Siluriformes	44
Figura 14. Relacionamento filogenético das espécies de Siluriformes, baseando-se em dados moleculares de <i>cyt-b</i> (mtDNA)	44
Figura 15. Relacionamento filogenético simplificado das espécies hospedeiras baseada em dados moleculares de <i>cyt-b</i> mtDNA e pela literatura	45

Figura 16. Reconstrução filogenética das espécies de Gyrodactylidae e seus hospedeiros, baseando-se nos caracteres binários, inferidos na Análise de Parcimônia de Brooks (BPA) secundária	47
Figura 17. Reconstrução hipotética do relacionamento histórico das espécies de Gyrodactylidae e seus hospedeiros	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Identificação dos hospedeiros utilizados nas análises filogenéticas disponíveis no GenBank sequenciados com <i>cyt-b</i>	12
Tabela 2. Identificação dos hospedeiros utilizados nas análises filogenéticas sequenciados com <i>cyt-b</i> no presente estudo	13
Tabela 3. Lista de espécies de peixes hospedeiros capturados no Rio Marumbi-PR	15
Tabela 4. Lista de espécies de parasitos coletados no Rio Marumbi-PR	16
Tabela 5. Lista dos hospedeiros sequenciados com <i>cyt-b</i> , fragmento do mtDNA, indicando o número de sequências obtidas e tamanho (pb) para cada espécie	19
Tabela 6. Lista das espécies de Gyrodactylidae sequenciados com o 18S rDNA, indicando o número de sequências obtidas e tamanho (pb) para cada espécie	20
Tabela 7. Demonstração dos módulos apresentados para as espécies do grupo ovíparo com seus respectivos peixes hospedeiros	28
Tabela 8. Demonstração dos módulos para as espécies do grupo vivíparo com seus respectivos peixes hospedeiros	30
Tabela 9. Índice de especialização da espécie (d') para a rede do grupo ovíparo	31
Tabela 10. Índice de especialização da espécie (d') para a rede do clado vivíparo	32
Tabela 11. Valores de dependência e força entre as espécies do grupo ovíparo e seus peixes hospedeiros	33
Tabela 12. Valores de dependência e força entre as espécies do clado vivíparo e seus peixes hospedeiros	35
Tabela 13. Resultados dos parâmetros obtidos pela análise bayesiana para as espécies de Gyrodactylidae	40
Tabela 14. Resultados dos parâmetros obtidos pela análise bayesiana para as espécies de Characiformes	42
Tabela 15. Resultados dos parâmetros obtidos pela análise bayesiana para as espécies de Siluriformes	43
Tabela 16. Matriz de caracteres binários usados na análise de BPA primária para os hospedeiros de Gyrodactylidae obtida a partir do relacionamento filogenético de girodactilídeos e seus hospedeiros	46
Tabela 17. Matriz de caracteres binários usados na análise de BPA secundária para os hospedeiros de Gyrodactylidae obtida a partir do relacionamento filogenético de girodactilídeos e seus hospedeiros	46

RESUMO

Os Gyrodactylidae são animais de grande importância econômica e biológica. É a única família de Monogenoidea a apresentar reprodução por hiperviviparidade, considerada uma inovação-chave em Gyrodactylidae. Essa família é representada por espécies vivíparas e ovíparas. Acredita-se que a origem da família esteja associada à dispersão de um ancestral marinho para um grupo de peixes de água doce da América do Sul. Espécies ovíparas são encontradas apenas na Região Neotropical. A hiperviviparidade é uma característica única do grupo e supostamente confere ao clado vivíparo uma altíssima habilidade de dispersão e troca de hospedeiros, resultando em um grande número de espécies amplamente distribuídas em todos os continentes e oceanos do mundo. Aparentemente, o clado vivíparo representa um agrupamento monofilético, enquanto que as espécies ovíparas formam um grupo parafilético basal. Acredita-se que os Gyrodactylidae vivíparos tenham sofrido uma grande diversificação devido à extensa radiação adaptativa, o que é discutido por vários autores. Outro fator que pode ter contribuído para essa diversificação é a especiação por isolamento periférico seguida de troca de hospedeiros, decorrente da habilidade dos parasitos dispersarem durante toda fase da vida. Se as previsões do modelo de Boeger et al. (2003, 2005) estiverem corretas, espécies ovíparas de Gyrodactylidae devem apresentar uma distribuição restrita (em hospedeiros Loricariidae e outras famílias próximas) e fortemente associada a processo de coespeciação, enquanto que os Gyrodactylidae vivíparos apresentarão um padrão de distribuição mais amplo e com baixa associação com eventos coevolutivos. O objetivo deste trabalho é testar essas hipóteses utilizando análises ecológicas e de coevolução. Esse estudo foi realizado através de um intenso esforço de coleta, em um único trecho do rio Marumbi-PR, Brasil, fornecendo uma amostragem dos principais representantes das famílias de hospedeiros mais comuns da região. O estudo indica que a associação ecológica entre os girodactilídeos e seus hospedeiros esta fortemente relacionada aos processos de coevolução entre essas espécies. A rede de interação de Gyrodactylidae e seus hospedeiros indicam que ocorre uma forte interação entre as espécies do grupo ovíparo de Gyrodactylidae com espécies de Loricariidae, enquanto que as espécies parasitas do clado vivíparo fazem interações com quase todos os representantes das famílias de hospedeiros amostradas. Os resultados das redes de interação entre os girodactilídeos ovíparos e vivíparos corrobora com as hipóteses sobre a diversificação propostas por Boeger et al. (2003). As espécies do grupo ovíparo mostram-se mais aninhadas quando comparadas com o grupo vivíparo, indicando que o grupo ovíparo possui maior número de interações com espécies hospedeiras. A análise de modularidade indica que as espécies do grupo ovíparo mostraram alta especificidade às espécies hospedeiras de Loricariidae, enquanto que, as espécies do clado vivíparo estão distribuídas em hospedeiros de diferentes táxons, mas ao contrário do esperado, mostram um padrão de alta especificidade com seus hospedeiros. A análise de coevolução entre as espécies de Gyrodactylidae e seus hospedeiros, está igualmente congruente à hipótese de Boeger et al. (2003). Para as espécies ovíparas, a congruência com a hipótese está diretamente associada a processos de coespeciação. Enquanto os vivíparos apresentam características que aumentam sua habilidade de colonizar novas linhagens de hospedeiros, eles aparentemente passam por um processo de especialização/adaptação à linhagem do hospedeiro. Esse processo o limita a linhagens hospedeiras mais próximas, as quais compartilham recursos semelhantes (simplesiomorfias) devido à ancestralidade mais recente. Portanto, o cenário observado na estrutura da comunidade de peixes e seus Gyrodactylidae parece estar fortemente relacionado com o processo denominado “ecological fitting”, definido por Brooks e McLennan (2002).

Palavras-chave: Monogenoidea, Gyrodactylidae, Rede de Interação, Associação Ecológica, coevolução.

ABSTRACT

Gyrodactylidae are animals of great economic and biological importance. It is the only family of Monogenoidea to show reproduction by hyperviviparity, considered a key innovation in Gyrodactylidae. This family is represented by oviparous and viviparous species. It is believed that the origin of the family must be associated to dispersion of a marine ancestor to a group of freshwater fish from South America. Oviparous species are found only in the Neotropical region. Hyperviviparity is a unique feature of the group and viviparous clade supposedly results in a high ability of dispersion and host switching, resulting in a large number of species widely distributed in all continents and oceans of the world. Apparently, the viviparous clade represents a monophyletic group, whereas oviparous species form a basal paraphyletic group. It is believed that the viviparous Gyrodactylidae have suffered a great diversification due to the extensive adaptive radiation, which is discussed by several authors. Another factor that may have contributed to this diversification is the speciation by peripheral isolation following host switch, caused by the ability of this parasite group to disperse during the entire life. If the predictions of Boeger et al. (2003, 2005) model are correct, the oviparous Gyrodactylidae species must have a restricted distribution (in Loricariidae hosts and other related families) which is strongly associated to coespeciation processes, whereas the viviparous Gyrodactylidae will present a wider host distribution with limited influence of coevolutionary events. This study aims to test these hypotheses using ecological and coevolutionary analysis. This study was realized through an intensive effort to collect in a single stretch of the Marumbi River-PR, Brazil, providing a sampling of the main representatives of the most common species and host families in the region. The study indicates that the ecological association between gyrodactylids and their hosts is closely related to the coevolution processes among these species. The network of Gyrodactylidae and their hosts indicates that there is a strong interaction between the of oviparous Gyrodactylidae species with Loricariidae species, while the parasites species of viviparous clade interact with almost all representatives of hosts families sampled. The comparative results of the interaction networks between oviparous and viviparous gyrodactylids corroborate the hypotheses of diversification proposed by Boeger et al. (2003). The oviparous species group is more nested when compared with the viviparous, indicating that the species of oviparous group have a higher number of host species interactions. The modularity analysis indicates that the species of the oviparous group show high specificity to host species of Loricariidae, while viviparous species clade are distributed in hosts of different taxa, but opposite to the expectations, show high specificity pattern with their hosts. The coevolution analysis between Gyrodactylidae and their hosts are very consistent with the hypothesis of Boeger et al. (2003). For oviparous species, the congruence with the hypothesis is directly associated with coespeciation processes. While the viviparous have characteristics that increase their ability to colonize new host lineages, they apparently go through a process of specialization / adaptation to the host lineage. This process limits its distribution to closely related hosts species which share similar resources (e.g., symplesiomorphies) due to a recent ancestry. Thus, the structure of the community of fishes and their Gyrodactylidae seems to be strongly influenced by the process termed "ecological fitting", as defined by Brooks and McLennan (2002).

Key-words: Monogenoidea, Gyrodactylidae, Network Interaction, Ecological Association, Coevolution.

INTRODUÇÃO

Monogenoidea representa um grupo de parasitos amplamente distribuído no mundo, encontrados em peixes de água doce, marinhos, vertebrados terrestres e invertebrados. Na América do Sul, são conhecidas 658 espécies de Monogenoidea (Cohen e Kohn, 2008), organizadas em 70 gêneros. Essas espécies ocorrem em 144 espécies de peixes neotropicais (Boeger et al., 2006).

Gyrodactylidae Van Beneden et Hess, 1863 representa um táxon de grande importância entre os Monogenoidea, em função de fatores econômicos e características biológicas. É a única família dentre os Monogenoidea a apresentar reprodução por hiperviviparidade, na qual um verme “mãe” pode carregar em seu útero gerações subsequentes de vermes “filhos” (Cable e Harris, 2002). Muitas de suas espécies são consideradas pragas em pisciculturas. *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1956 é a espécie mais conhecida da família por promover perdas anuais de até 25% nas populações nativas de salmão na Noruega. Essa espécie é um agente patogênico de notificação obrigatória para a OIE (Organização Internacional de Epizootias) (OIE, 2003).

Até a década de 80, Gyrodactylidae incluía apenas espécies vivíparas. Harris (1983) propôs Oogyrodactylidae Harris, 1983 para duas espécies ovíparas de monogenóideos com morfologia similar a dos girodactilídeos vivíparas; desde então, outras espécies ovíparas tem sido descritas (Kritsky e Boeger, 1991; Boeger et al., 1994; Kritsky et al., 2007). Os limites de Gyrodactylidae foram expandidos por Boeger et al. (1994), após análise filogenética que indicou as espécies ovíparas de Oogyrodactylidae como sendo um agrupamento parafilético a Gyrodactylidae, sugerindo que seus membros deveriam ser incluídos em Gyrodactylidae como um agrupamento basal.

Assim, atualmente Gyrodactylidae inclui espécies vivíparas e ovíparas. As espécies ovíparas, aparentemente, estão restritas à região Neotropical e ocorrem principalmente em peixes Loricariidae (Bakke et al., 2002) e em algumas espécies de Pimelodidae (Kritsky et al., 2007), enquanto que as espécies vivíparas possuem uma ampla distribuição em ambientes marinhos e de água doce, parasitando diversos grupos de hospedeiros: Cephalopoda, Amphibia e diversos grupos de peixes ósseos.

Malmberg (1964) apresentou as primeiras propostas de relacionamento filogenético entre os Gyrodactylidae, utilizando informações das estruturas do háptor, órgão copulatório e do sistema excretor. Inicialmente, foram utilizadas somente espécies vivíparas de *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832, as quais o autor dividiu em seis sub-gêneros (Malmberg, 1970). Posteriormente, o autor analisou o desenvolvimento do sistema protonefridial e incluiu em sua proposta, além das espécies de *Gyrodactylus*, outras espécies vivíparas (i.e. *Macrogyrodactylus* Malmberg, 1956, *Polyclithrum* Rogers, 1967, *Isancistrum* De Beauchamp, 1912) e a única espécie ovípara conhecida na época de *Oogyrodactylus* Harris, 1983 (Malmberg, 1998). Nesse mesmo trabalho, o autor sugere que *Macrogyrodactylus* seja uma forma basal de Gyrodactylidae. No entanto, o autor conclui que a viviparidade desenvolveu-se somente uma vez após a evolução de *Macrogyrodactylus*. E propõe que a forma do sistema excretor de *Oogyrodactylus* possa ser uma convergência com espécies vivíparas e que a oviparidade pode representar uma condição primitiva ou ainda, uma reversão secundária na família.

A origem de Gyrodactylidae parece ter sido recente, há aproximadamente 66-100 milhões de anos, possivelmente após a separação do Gondwana, já que a origem de sua espécie ancestral ovípara parece estar relacionada à dispersão de um hospedeiro marinho para Loricariidae, uma família de Siluriformes com distribuição restrita à América do Sul (Boeger e Kritsky, 2001). A distribuição mundial das espécies vivíparas parece, portanto, estar associada com mecanismos não vicariantes, especialmente dispersão, utilizando espécies hospedeiras marinhas como ponte para ultrapassar barreiras biogeográficas (Boeger et al., 2003).

Filogeneticamente, as espécies vivíparas formam um grupo monofilético derivado, contendo clados internos com diferentes suportes (Kritsky e Boeger, 2003). De acordo com o modelo proposto por Boeger et al. (2003), as espécies vivíparas diversificaram devido à sua maior capacidade de realizar troca de hospedeiro, o que facilita a colonização de novos hospedeiros e subsequentemente de novas regiões biogeográficas. O número de espécies do clado vivíparo (aproximadamente 500 espécies) (Bakke et al., 2002) é significativamente maior do que o de seu grupo-irmão ovíparo, com apenas 23 espécies registradas até o momento (Kritsky et al., 2007).

Brooks e McLennan (1993) sugerem que modos de especiação adaptativos ocorrem com maior frequência em monogenóideos do que em outros grupos de parasitos Platyhelminthes. Esses autores acreditam que isso seja um forte exemplo de uma radiação adaptativa. Boeger et al. (2003)

testaram a hipótese de que Gyrodactylidae vivíparos mostram grande diversificação primária como consequência de extensa radiação adaptativa, utilizando os critérios propostos por Brooks e McLennan (1993): (1) o grupo vivíparo contém mais espécies do que seu grupo irmão ovíparo (2) a riqueza de espécies é uma característica derivada dentro do clado mais abundante (vivíparo), (3) um caráter apomórfico presente no grupo mais rico em espécies aumenta o potencial de especiação adaptativa (ou seja, especiação simpátrica ou especiação por isolamento periférico deverá ocorrer), e (4) modos de especiação adaptativa impulsionando o papel dominante na especiação para o grupamento mais ricos em espécies.

Conforme Boeger et al. (2003), a alta taxa de diversificação dos Gyrodactylidae vivíparos está aparentemente associada a caracteres simplesiomórficos e apomórficos (inovações chave), tais como: características simplesiomórficas (1) ectoparasitismo; (2) ciclo de vida monoxênico, permite que esses parasitos completem seu ciclo de vida em uma única espécie de hospedeiro, sem depender de outras espécies de hospedeiros (como é o caso de parasitos heteroxênicos); (3) perda do estágio de oncomiracídio livre, a qual aparentemente resultou no aumento da taxa de sobrevivência da prole, e a capacidade desses animais mudar de hospedeiros (transmissão) múltiplas vezes durante seu ciclo vital através de uma estratégia de transmissão de estágios preadulto/adulto; características apomórficas: (4) desenvolvimento progenético; (5) hiperviviparidade, que aumentou a taxa reprodutiva, na qual no útero de um mesmo “verme-mãe” pode existir de 2-5 gerações de embriões; (6) protogenia; (7) partenogênese; e (8) perda do ovo contendo uma gota de cimento, que representou uma liberação da restrição a grupos de hospedeiros que apresentem superfície rígida na qual o ovo poderia ser fixado (Boeger et al., 2003).

As espécies do agrupamento basal ovíparo de Gyrodactylidae produzem ovo com uma gotícula adesiva perto da ponta do filamento polar proximal. Essa característica é compartilhada com espécies de Udonellidae e Acanthocotylidae (Boeger e Kritsky, 2001). A gotícula adesiva serve para fixar individualmente, ou em grupos, os ovos em superfícies duras de seus hospedeiros, onde ocorre o desenvolvimento embrionário (Kearn, 1986, 1998). Nos Gyrodactylidae ovíparos, a larva eclodida não contém cílios e, portanto, é incapaz de procurar ativamente um novo hospedeiro. Os hospedeiros naturais são geralmente bentônicos e a larva, ou o parasito adulto,

pode mostrar comportamento adaptativo que aumenta a possibilidade de transmissão (Kearn, 1998; Cable e Harris, 2002).

Segundo Boeger et al. (2003), o desenvolvimento da gota adesiva sobre o filamento do ovo em um ancestral comum de Udonellidae, Acanthocotylidae e Gyrodactylidae, aparentemente proporcionou um potencial aumento da sobrevivência e sucesso da prole e, assim, de transmissão entre hospedeiros. No entanto, essa característica provavelmente reduziu a capacidade de dispersão das espécies ovíparas para novos hospedeiros, limitando o espectro de hospedeiros alvos para aqueles com superfícies duras. Essa hipótese é corroborada pelo conjunto limitado de grupos de hospedeiros parasitados por membros dessas famílias de Monogenoidea. Nos táxons, nos quais os ovos são fixados na superfície dura do hospedeiro (udonelídeos e girodactilídeos ovíparos), a mudança de hospedeiro parece ser ainda mais limitada do que em Acanthocotylidae, cujas espécies depositam os ovos em superfícies duras (e.g., grãos de areia ou rochas), não necessariamente associados com o hospedeiro (Macdonald e Llewellyn, 1980; Kearn, 1993). O comportamento de oviposição dos acantocotilídeos aumenta um pouco o espectro de peixes demersais que servem como hospedeiros para o grupo (Myxinidae, Agnatha, Teleostei). Assim, características simpliomórficas de Gyrodactylidae que poderiam representar inovações chave, aparentemente não promovem uma diversificação adaptativa devido à forte restrição para troca de hospedeiros conferidos pela aderência do ovo (Boeger et al., 2003).

Além disso, segundo Bueno-Silva et al. (2011), a capacidade de realizar transmissões múltiplas como adultos associada à viviparidade aumenta a probabilidade de ocorrer especiação simpátrica e especiação por isolamento periférico seguida de troca de hospedeiro (Boeger et al., 2005). Assim, os modos de especiação que devem ter predominado na diversificação histórica do clado vivíparo são adaptativos e não vicariantes (Boeger et al., 2003). A hiperviviparidade é considerada uma inovação-chave e exclusiva de Gyrodactylidae entre os Monogenoidea (Brooks & McLennan, 1993). Essas hipóteses levantam importantes previsões para a evolução e biogeografia histórica/coevolução do grupo (Boeger et al., 2003), as quais vêm sendo gradativamente testadas (Boeger et al., 2005; Bueno-Silva et al., 2011).

Desse modo, para melhor compreender as interações entre as espécies de Gyrodactylidae e seus hospedeiros, esse estudo teve como objetivo avaliar como espécies ovíparas e vivíparas da família utilizam diferentes hospedeiros de uma mesma ictiocenose, com o objetivo e testar

previsões sobre a distribuição das linhagens hospedeiras. Para isso, foi adotada uma modelagem matemática para visualização em forma de redes de interação mutualística. Esse tipo de abordagem vem sendo adotada em muitos estudos de parasitismo em sistemas naturais (Poulin, 2010; Graham et al., 2009; Guimarães et al., 2007). O método de reconstrução de rede tem sido usado para explicar e prever a propagação de doenças parasitárias através de uma ou mais populações de hospedeiros, além de identificar a importância de uma determinada espécie em um sistema ecológico e quais conexões esta mantém com o resto do sistema observado (Poulin, 2010). Essa análise pode informar sobre relações coevolutivas ou de coespeciação dentro de uma comunidade (e.g., parasito-hospedeiro), bem como prever como ela poderá responder a perturbações, tais como a adição de uma espécie por migração ou invasão, ou ainda, sua remoção seguida de uma extinção local (Graham et al., 2009). Nesse tipo de rede de interação, as especializações ecológicas são definidas pelo número de ligações/interações realizadas entre espécies. Em redes ecológicas bipartidas, a frequência de uma interação é medida pelo grau de sua força ou, pode-se definir a interdependência de cada uma das interações no sistema parasito-hospedeiro, além de analisar a distribuição das espécies e riqueza de cada espécie presente nesse conjunto (Poulin, 2010).

As previsões decorrentes do modelo proposto por Boeger et al. (2003, 2005) e complementado por Bueno-Silva et al. (2011) e que serão avaliadas nesse estudo são as seguintes:

1. Por apresentarem ovos com gotas de cimento, a distribuição das espécies ovíparas de Gyrodactylidae estará fortemente limitada a espécies de Loricariidae;
2. Espécies de girodactilídeos vivíparos devem ocorrer em linhagens evolutivas distintas de peixes;
3. Processos de especiação adaptativa devem ser mais comuns na linhagem de Gyrodactylidae vivíparos (i.e. coespeciação) e codivergência será mais comum na linhagem de animais ovíparos.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta de material biológico

Os peixes hospedeiros foram capturados em três excursões realizadas no rio Marumbi, Morretes-PR, Brasil (25°30'32,8"S , 48° 52' 31,3W), em Março e Agosto de 2010 e em Maio de

2011, com auxílio de pesca elétrica. O local foi escolhido por ser de fácil acesso e por conter uma vasta diversidade de espécies de peixes, favorecendo uma amostragem dos principais representantes das famílias mais comuns da região e de Loricariidae (principais hospedeiros do grupo ovíparo). Os espécimes de parasitos foram capturados da seguinte maneira: os hospedeiros foram colocados individualmente em recipientes plásticos. Em seguida, cada espécime de hospedeiro foi sacrificado adicionando água aquecida a 60°C e agitados vigorosamente. A água aquecida é necessária para que ocorra a morte dos parasitos sem que haja contração do corpo. Logo após esse procedimento, a amostra foi separada em dois recipientes: uma parte fixada em etanol 95%, para ser utilizada em procedimentos moleculares, e outra parte fixada em formalina 5%, destinada para procedimentos morfológicos.

No laboratório de Ecologia Molecular e Parasitologia Evolutiva, cada peixe hospedeiro foi identificado com uma numeração de tombamento e, em seguida, uma amostra de tecido de cada espécime (nadadeira ou músculo) foi conservada em tampão hipersalino DMSO/EDTA (Seutin et al., 1991). Após este procedimento, os espécimes hospedeiros foram levados ao Museu do Capão da Imbuia em Curitiba, onde foram identificados pelo Dr. Vinícius Abilhoa.

Processamento morfológico dos parasitos

Os parasitos fixados em formalina 5% foram utilizados na preparação de lâminas permanentes, usando corante de Tricrômico de Gomori e montados em lâminas com bálsamo do Canadá (Humason, 1979). Essa coloração é utilizada para observação de estruturas moles. Outros espécimes de parasitos foram montados em meio de Hoyer (Humason, 1979), para análise de estruturas esclerotizadas. O estudo morfológico foi realizado com o auxílio de uma câmera digital (Olympus QColor 5) acoplada a um microscópio com contraste de fase e/ou de DIC (Olympus BX 51). As lâminas dos holótipos, parátipos e espécimes testemunhos serão depositadas no Museu Oswaldo Cruz. Os índices de abundância para cada espécie de Gyrodactylidae foram estabelecidos conforme conceitos de Bush et al. (1997).

Processamento Molecular

Extração de DNA

Os parasitos fixados em etanol 95% foram separados para extração de seu DNA total, usando kit DNeasy (Qiagen) adaptado para os monogenóideos. Para cada parasito extraído foi

confeccionado uma lâmina testemunho, onde o háptor (parte posterior do corpo) de cada espécime foi separado do corpo e usado na identificação da espécie. Nas espécies ovíparas, apenas a parte central do tronco foi utilizada na extração de DNA. As estruturas haptorais e o órgão copulatório masculino (OCM), localizado na parte anterior, foram utilizados para montagem das lâminas com meio de Hoyer (Humason, 1979). As amostras de tecido dos peixes hospedeiros foram usadas para extração de DNA total, usando o kit Ez-DNA (Biosystems, Brasil).

Amplificação do DNA

Inicialmente, o fragmento de DNA amplificado para os peixes hospedeiros foi a região controladora do DNA mitocondrial (D-loop), usando os oligonucleotídeos iniciadores L15774M (5' -ACATGAATTGGAGGTATACCAGT- 3') e H16498 (5' -CACCTGAAGTAGGAACCAGATG- 3') (Meyer et al., 1990). Esse fragmento foi escolhido por ser uma região bastante variável e com alta taxa de mutação (Brown et al., 1979). No entanto, a reação em cadeia da polimerase (PCR) não foi positiva para a maioria das espécies hospedeiras e, mesmo quando positiva, apresentou múltiplas bandas inespecíficas para cada amostra. Várias tentativas para padronizar a reação foram feitas, mas poucas amostras apresentaram resultados satisfatórios. Posteriormente, foi testado um novo marcador molecular, o gene mitocondrial citocromo oxidase *b* (*cyt-b*), usando os iniciadores Gludg.1 (5'-TGACCTGAARAACCAAYCGTTG-3') e H16460 (5'-CGAYCTTCGGATTACAAGACCG-3') (Palumbi, 1996). Esse marcador apresentou resultados positivos para a maioria das amostras. A reação de PCR foi otimizada para: 40-50ng de extrato de DNA, 1,5µl de MgCl₂ (50mM), 0,4µl de dNTP (25mM), 2,5µl de PCR-Buffer (10X), 0,5µl de BSA (3 µg/µl), 0,5µl de cada iniciador (50pmoles/µl), 1U de Platinum Taq DNA-polimerase (Invitrogen) e água bidestilada até completar volume final de 25µl. O programa da PCR foi otimizado para: desnaturação inicial à 95° C por 4min, seguidos de 35 ciclos de 94° C por 45s, anelamento à 55° C por 45s, extensão à 72° C por 45s e extensão final à 72° C por 5min.

A amplificação do DNA dos parasitos foi inicialmente realizada com o marcador mitocondrial citocromo oxidase subunidade *II* (*COII*), usando dois pares de iniciadores degenerados COX2F2 (5'-TTTCACTGAGATAAGTCGTAAC-3'), combinado com COX2R (5'-AATAMWKATWGGCATRWAAGARTG-3') e COX2R2 (5'-TTACCGCTTCCYTGAACACG-3') (Bueno-Silva et al., 2011). Entretanto, após várias tentativas para padronizar as reações poucas

espécies apresentaram amplificação positiva, algumas espécies apresentaram bandas não específicas na região desejada e outras não amplificaram apesar das inúmeras tentativas. Sendo assim, foi testado um novo conjunto de oligonucleotídeos localizados na região do espaçador transcrito interno 1 (ITS1) – (ITS2), os iniciadores ITS1 (5'-TTTCCGTAGGTGAACCT-3') e ITS2 (5'-GGTAATCACGCTTGAATC-3') (Ziêtará et al., 2000). Mais uma vez, não foi possível amplificar todas as espécies de Gyrodactylidae. Porém, com esse marcador foi observado que grande parte das espécies que não apresentaram amplificação positiva pertenciam ao clado vivíparo. Como o objetivo do estudo é ter espécies dos dois grupos de Gyrodactylidae para compreender os mecanismos de coevolução, houve a necessidade de encontrar um marcador mais eficiente para amplificar espécies dos dois agrupamentos. Sendo assim, foi testado um novo conjunto de iniciadores localizados na região do 18S do DNA ribossomal, com os iniciadores 18S7f (5'-GCCCTATCAACTTACGATGGTA-3') e 18SF (5'-CCAGCTTGATCC TTCTGCAGGTTACCTAC-3') (Littlewood e Bray, 2001). Esse marcador apresentou resultados satisfatórios para a maioria das espécies dos dois agrupamentos. A reação de PCR foi otimizada para: 10-30ng de extrato de DNA, 1,5µl de MgCl₂ (50mM), 0,4µl de dNTP(25mM), 2,5µl de PCR-Buffer (10x), 0,3µl de cada iniciador (50pmoles/µl), 1U de Platinum Taq DNA-polimerase (Invitrogen) e água bidestilada até completar volume final de 25µl. O programa da PCR foi otimizado para: desnaturação inicial à 95° C por 5min, seguidos de 40 ciclos de 95° C por 45s, anelamento à 55° C por 1min, extensão à 72° C por 1min e extensão final à 72° C por 5min.

A visualização dos produtos amplificados foi realizada por meio de eletroforese em gel de agarose 1,5%, corado com brometo de etídio e revelado em luz ultra-violeta. Os produtos amplificados dos peixes hospedeiros foram purificados com kit Amicon Ultra-0,5, Ultracel-30 (Millipore) e os dos parasitos com kit MinElute (Qiagen).

Os produtos purificados da PCR foram submetidos à reação de sequenciamento, que foi realizada sob as seguintes condições: desnaturação inicial à 95° C por 5min, seguidos de 30 ciclos de 94° C por 45s, anelamento de 55°C (parasitos e hospedeiros) por 45s, extensão à 72° C por 1min. A reação foi otimizada para: 10-20ng de purificado de DNA para os parasitos e 20-40ng para os hospedeiros, 1µl de Buffer (5x) (Applied Biosystems), 1µl de cada iniciador (1,6 pmoles/µl), 1µl de BigDye v3.1 (Applied Biosystems) e água bidestilada até completar volume final de 10µl.

As reações de sequenciamento foram analisadas em um sequenciador automático ABI 3130 (Applied Biosystems). As sequências obtidas foram editadas e alinhadas com o programa Geneious 4.5 (<http://www.geneious.com/>) e comparadas com outras sequências de Gyrodactylidae contidas no banco de dados GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Interações ecológicas

Redes de interações bipartidas foram construídas a partir de uma matriz contendo as espécies de nível trófico inferior (hospedeiros), em linhas, e as espécies de nível trófico superior (parasitos), em colunas. A análise pode ser realizada informando a frequência de interações observadas ou de forma binária (presença ou ausência). Portanto, os dados das interações entre espécies de parasitos e hospedeiros foram inferidos com o programa “R” (R Development Core Team, 2011), usando o pacote “Bipartite” (Dormann et al., 2008). Para medir o grau de interação entre as espécies de Gyrodactylidae do grupo ovíparo e vivíparo e seus hospedeiros foi baseada em uma matriz com os valores de abundância de cada parasito em seu hospedeiro.

Para medir o grau de simetria da distribuição de presença e ausência das espécies de parasitos do grupo ovíparo e vivíparo em seus hospedeiros, foram criadas duas matrizes separando cada grupo. Ou seja, na primeira matriz foi amostrada as espécies ovíparas e seus hospedeiros, enquanto na segunda matriz as espécies vivíparas de Gyrodactylidae e seus hospedeiros. Esses dados foram separados para otimizar a análise dos resultados subsequentes. Para isso, as matrizes foram submetidas ao programa “Aninhado” (Guimarães e Guimarães, 2006). O programa consiste em amostrar o aninhamento geral da rede, representando o quanto as espécies especialistas interagem com um subconjunto de espécies que, por sua vez, interagem com outras generalistas; esse padrão resulta em um aninhamento de interações da rede. O valor de “p” utilizado como padrão foi de “ $p < 0,05$ ”. Esse programa testou os modelos nulos ER e CE descritos a seguir. Em estudos com redes ecológicas, um recurso muito utilizado é a construção de modelos nulos. No modelo aleatório (ER), a matriz é construída baseada na probabilidade de ocorrer interações de forma aleatória. Já para o modelo CE, a construção da matriz é baseada no número de 0 e 1 (ausência e presença) que, em média, é mantido em relação a linhas e colunas da matriz. A análise de modularidade consiste em uma métrica que agrupa espécies em relação às interações que elas realizam. Os módulos gerados pela análise são organizados de forma a agrupar espécies dos dois níveis tróficos que realizam interações entre si. Cada módulo pode ou não realizar interações entre

eles. Para chegar ao número de módulos é necessário calcular o número do grau das espécies. O grau mostra o número de ligações com outros nós da rede (espécies), ou seja, o número de espécies com as quais uma dada espécie interage, pode ser entendido como uma medida de especificidade da espécie. O valor de modularidade varia de 0 a 0,9, sendo que em redes que apresentem valores mais próximos de 0 são totalmente conectadas (ou seja, quanto mais próximo de zero, menor é o número de módulos, uma rede com valor de modularidade zero será representada por um único módulo, onde todas as espécies da rede fazem interações entre si), e as com valores mais próximos de 0,9 representam redes com maior número de módulos. Para calcular o valor de modularidade das redes foi utilizado o programa “Netcarto” (Guimera, 2005 a,b). O índice de especialização da rede (H^2) é uma medida bidimensional derivada do índice de Shannon, a qual descreve o nível de especialização ou de seletividade de toda uma rede bipartida. Esse índice revela em que medida as interações observadas desviam-se do esperado, dada a soma marginal das espécies. Quanto mais seletiva uma espécie, maior é o valor de H^2 para a rede. Quando o índice de proporção das frequências de interação são normalizados, os valores de H^2 (índice de especialização normalizado) podem variar entre 0 (que indica uma rede sem especialização) e 1 (indicando uma rede com especialização completa) (Blüthgen et al., 2006 e 2008). Os valores de abundância das espécies foram inferidos com o programa “R” (R Development Core Team, 2011), usando o pacote “Ecolnet” (Vázquez, 2010).

Métricas ao nível de espécies da rede

A distribuição do grau consiste em um índice que quantifica a frequência de distribuição do número de interações por espécie, ou ainda, a probabilidade de uma espécie interagir com “k” espécies. Essa probabilidade é calculada pela distribuição cumulativa do grau, porque a probabilidade de uma espécie interagir com duas espécies está contida na probabilidade de interagir com três, sendo assim, é possível definir a probabilidade de achar um nó (espécie) com um dado número de interações (Jordano et al., 2003). Segundo Barabasi e Albert (1999), cada vez que uma espécie é introduzida na rede, ela tende a interagir com espécies com mais conexões. Para analisar o índice de especialização das espécies (d') foi utilizado o programa “R” (R Development Core Team, 2011) com os pacotes “Bipartite” (Dormann et al., 2008) e “Ecolnet” (Vázquez, 2010). Esse índice compara a distribuição das interações de uma espécie em relação à

disponibilidade de parceiros. Os valores de “d” equivalem ao valor real e os valores de d’ são os resultados normalizados de “d”. O índice é derivado da distância Kulback-Leiber, e calcula quão fortemente uma espécie desvia de uma amostragem aleatória de interação com parceiros disponíveis. Esse índice varia de 0 (sem especialização) até 1 (especialização perfeita). O programa informa ainda: a dependência de cada espécie na rede, que calcula a frequência relativa de cada interação da rede. Ou seja, o índice é estimado pela frequência relativa em que uma espécie de um nível trófico (inferior ou superior) usa a espécie do outro nível trófico (superior ou inferior), ou ainda, a porcentagem de interações entre as espécies da rede (Bascompte e Jordano, 2007). Além de informar, a força de cada espécie na rede que é equivalente a soma das dependências da mesma na rede (Bascompte et al., 2006).

As análises de aninhamento, modularidade e de especialização da rede (H^2), foram utilizadas para testar a hipótese de diversificação das espécies de Gyrodactylidae. Se o padrão observado para cada análise indicar a restrição das espécies ovíparas em Loricariidae e ampla dispersão das espécies vivíparas nas diferentes famílias amostradas, a hipótese de diversificação de Boeger et al. 2003 será aceita. Se o padrão encontrado for de não restrição das espécies ovíparas ao um grupo hospedeiro, ou pequena dispersão das espécies vivíparas em outras famílias, a hipótese será rejeitada. As análises de especialização da espécie, dependência e força, foram utilizadas para visualizar o papel de cada espécie, tanto de hospedeiro quanto parasito na rede.

Análise filogenética

A análise filogenética dos parasitos baseada na região do 18S DNA ribossomal foi realizada com 14 espécies de Gyrodactylidae ovíparos e 4 espécies de Gyrodactylidae vivíparos. Duas sequências de 18S rDNA de Monogenoidea disponíveis no GenBank foram usadas nessa análise: *Benedenia* sp. (AJ228774) e *Encotyllabe chironemi* Robinson 1961 (AJ228780). Essas sequências foram utilizadas como grupo externo na análise filogenética. A escolha de *Benedenia* e *Encotyllabe chironemi* como grupo externo foi baseada no relacionamento filogenético das espécies com Gyrodactylidae (Olson e Littlewood, 2002). Também foram incluídas na análise duas espécies de *Phanerothecium* (*Phanerothecium* sp.n.3 e *Phanerothecium spinulatum* Kritsky, Vianna & Boeger, 2007) e duas espécies de *Aglaiogyrodactylus* (*Aglaiogyrodactylus conei* Kritsky, Vianna & Boeger, 2007 e *Aglaiogyrodactylus salebrosus* Kritsky, Vianna & Boeger,

2007) sequenciadas com o mesmo gene, porém em um outro estudo realizado no laboratório foram inseridas na análise filogenética dos Gyrodactylidae.

A análise filogenética dos hospedeiros foi baseada em sequências obtidas do gene citocromo oxidase *b* de espécies sequenciadas nesse estudo e disponíveis no GENBANK (Tabela 1). As análises de relacionamento filogenético dos hospedeiros foram separadas para melhor compreender o relacionamento filogenético dos dois principais táxons hospedeiros (Characiformes e Siluriformes) compartilhados pelos Gyrodactylidae. A análise das espécies de Characiformes foi inferida com 8 espécies de 2 famílias (Tabela 2). A análise de Siluriformes foi inferida com 10 espécies sequenciadas no presente estudo das quais duas estão disponíveis no GenBank (Tabela 1), representando 4 famílias (Tabela 2).

Nem todas as espécies de hospedeiros e parasitos coletadas (e que constam nas análises de redes ecológicas) foram utilizadas nas reconstruções filogenéticas por não terem sido produzidas sequências da qualidade necessária para o estudo. Entretanto, com o objetivo de maximizar as unidades parasito-hospedeiros, algumas espécies foram incluídas na análise com base em propostas pré-existentes de seu relacionamento filogenético ou de seu táxon supra-específico (Calcagnotto et al., 2005; Ortí e Meyer, 1997; Alvez-Gomes, 2001; Cramer et al., 2011; Peng et al., 2006). *Synbranchus marmoratus* Bloch, 1795 (Synbranchiformes) foi usada como grupo externo nas duas análises filogenéticas dos hospedeiros.

Tabela 1. Identificação dos hospedeiros utilizados nas análises filogenéticas disponíveis no GenBank sequenciados com *cyt-b*.

Hospedeiro	GenBank	Ordem
<i>Synbranchus marmoratus</i> Bloch, 1795	AY355092	Synbranchiformes
<i>Pimelodella chagresi</i> (Steindachner, 1877)	DQ119466	Siluriformes
<i>Scleromystax barbatus</i> (Quoy & Gaimard, 1824)	GU209687	Siluriformes

Tabela 2. Identificação dos hospedeiros utilizados nas análises filogenéticas sequenciados com *cyt-b* no presente estudo.

Hospedeiros Characiformes	Família
<i>Astyanax jazeeraensis</i> Eigenmann, 1908	Characidae
<i>Astyanax ribeirae</i> Eigenmann, 1911	Characidae
<i>Bryconamericus microcephalus</i> (Miranda Ribeiro, 1908)	Characidae
<i>Characidium lanei</i> Travassos, 1967	Crenuchidae
<i>Characidium pterostictum</i> Gomes, 1948	Crenuchidae
<i>Deuterodon langei</i> Travassos, 1957	Characidae
<i>Mimagoniates microlepis</i> (Steindachner, 1877)	Characidae
<i>Oligosarcus hepsetus</i> (Cuvier, 1829)	Characidae
Hospedeiros Siluriformes	
<i>Acentronichthys leptos</i> Eigenmann & Eigenmann, 1889	Heptapteridae
<i>Ancistrus multispinnis</i> (Regan, 1912)	Loricariidae
<i>Hisonotus leucofrenatus</i> (Miranda Ribeiro, 1908)	Loricariidae
<i>Kronichthys lacerta</i> (Nichols, 1919)	Loricariidae
<i>Pareiorhaphis splendens</i> (Bizerril, 1995)	Loricariidae
<i>Pimelodella pappenheimi</i> Ahl, 1925	Pimelodidae
<i>Rhamdioglanis frenatus</i> Ihering, 1907	Heptapteridae
<i>Rhamdioglanis transfasciatus</i> Miranda Ribeiro, 1908	Heptapteridae
<i>Rineloricaria</i> sp.	Loricariidae
<i>Schizolecis guntheri</i> (Miranda Ribeiro, 1918)	Loricariidae

As sequências de DNA de parasitos e seus hospedeiros foram editadas com os programas BioEdit v.7.0.9 (Hall, 1999) e Geneious v.4.5 (<http://www.geneious.com/>, Drummond et al., 2011). O alinhamento final foi obtido com o programa MAFFT (Misawa e Miyata, 2002), disponível no servidor GUIDANCE (<http://guidance.tau.ac.il/>; Penn et al., 2010). O servidor foi utilizado para orientar na remoção de regiões do alinhamento que apresentaram baixa confiabilidade.

As análises filogenéticas de inferência Bayesiana foram realizadas com o programa MrBayes v3.1.1 (Ronquist e Hueselbeck, 2003), usando 2 corridas paralelas, 4 cadeias, 20 milhões de gerações, “burnin” de 100.000 e com GTR+i+gama como modelo inicial. As filogenias dos hospedeiros e parasitos foram montadas com base nos resultados das análises filogenéticas combinadas (Characiformes e Siluriformes) e com base na literatura (Alvez-Gomes, 2001; Calcagnotto et al., 2005; Cramer et al., 2011; Ortí e Meyer, 1997; Peng et al., 2006). Após analisar

separadamente as filogenias dos hospedeiros, foi produzida manualmente uma filogenia agrupando todas as espécies utilizando o programa Mesquite v.2.7.5 (Maddison e Maddison, 2011, disponível em <http://mesquiteproject.org>). O critério para essa análise foi baseado no conhecimento prévio da posição filogenética das espécies. A partir da filogenia consenso dos hospedeiros foi possível realizar a análise de coevolução das espécies de parasito e seus hospedeiros. As filogenias foram simplificadas para incluir apenas táxons hospedeiros e parasitos que apresentaram interações.

A análise de coevolução foi realizada apenas com as espécies de hospedeiros e parasitos sequenciadas ou que foram introduzidas nas filogenias como indicado acima. A análise de coevolução foi realizada através da Análise de Parcimônia de Brooks (BPA) (Brooks et al., 2001). Cada parasito teve sua história filogenética codificada através de matriz aditiva binária (baseada na filogenia do grupo) que foi otimizada sobre a topologia da hipótese filogenética dos hospedeiros conforme as associações observadas (Brooks, 1981, 1990). Foram consideradas associações primárias e utilizadas na análise de coevolução àquelas compostas por parasitos que apresentaram maior valor de abundância sobre um determinado hospedeiro. Espécies de parasitos encontradas em hospedeiro com valores de abundância menores foram consideradas resultado de dispersão ecológica recente. A filogenia dos parasitos foi tratada como se compreendesse uma série de transformações multiestado completamente polarizada (codificação aditiva binária). Dessa forma, cada táxon parasito passa a ter um código que indica sua identidade e seus ancestrais (e.g., história evolutiva). Após obter esse código para cada táxon parasito, foi montada uma nova matriz com os grupos hospedeiros com base na codificação de seus respectivos parasitos (BPA primária). O índice de consistência resultante da otimização dessa matriz sobre o cladograma dos hospedeiros representa o percentual de congruência entre os cladogramas de parasitos e seus hospedeiros. Hospedeiros com mais de uma espécie de parasito foram considerados espécies independentes para permitir o reconhecimento dos mecanismos responsáveis por essas associações (coespeciação, colonização ou duplicação) (BPA secundária) (Brooks e McLennan, 1991, 1993; Boeger e Kritsky, 1997). A matriz do BPA secundária foi analisada com o programa PAUP* v.4.0 utilizando busca heurística e 500 repetições com sequência de adição de táxons ao acaso.

RESULTADOS

Diversidade de Gyrodactylidae

Foram coletados 395 espécimes de peixes hospedeiros, distribuídos em onze famílias. Loricariidae teve maior representação em número de espécies e indivíduos, seguido de Characidae. As famílias com menos representações de espécies e indivíduos foram: Cichlidae, Gobiidae, Gymnotidae, Poeciliidae, Pimelodidae e Synbranchidae (Tabela 3). Quatro espécimes não puderam ser identificados morfológicamente por estarem muito danificados (Tabela3).

Tabela 3. Lista de espécies de peixes hospedeiros capturados no Rio Marumbi-PR. Os valores de *n* indicam o número de indivíduos coletados.

	Peixes hospedeiros	<i>n</i>	Família	Ordem
1	<i>Acentronichthys leptos</i> Eigenmann & Eigenmann, 1889	8	Heptapteridae	Siluriformes
2	<i>Ancistrus multispinnis</i> (Regan, 1912)	28	Loricariidae	Siluriformes
3	<i>Astyanax janeiroensis</i> Eigenmann, 1908	2	Characidae	Characiformes
4	<i>Astyanax ribeirae</i> Eigenmann, 1911	4	Characidae	Characiformes
5	<i>Australoheros facetus</i> (Jenyns, 1842)	1	Cichlidae	Perciformes
6	<i>Awaous tajasica</i> (Lichtenstein, 1822)	1	Gobiidae	Perciformes
7	<i>Bryconamericus microcephalus</i> (Miranda Ribeiro, 1908)	19	Characidae	Characiformes
8	<i>Characidium lanei</i> Travassos, 1967	79	Crenuchidae	Characiformes
9	<i>Characidium pterostictum</i> Gomes, 1948	67	Crenuchidae	Characiformes
10	<i>Cyphocharax santacatarinae</i> (Fernández-Yépez, 1948)	3	Curimatidae	Characiformes
11	<i>Deuterodon langei</i> Travassos, 1957	10	Characidae	Characiformes
12	<i>Geophagus brasiliensis</i> (Quoy & Gaimard, 1824)	2	Cichlidae	Perciformes
13	<i>Gymnotus pantherinus</i> (Steindachner, 1908)	1	Gymnotidae	Gymnotiformes
14	<i>Hisonotus leucofrenatus</i> (Miranda Ribeiro, 1908)	15	Loricariidae	Siluriformes
15	<i>Kronichthys lacerta</i> (Nichols, 1919)	8	Loricariidae	Siluriformes
16	<i>Mimagoniates microlepis</i> (Steindachner, 1877)	6	Characidae	Characiformes
17	<i>Oligosarcus hepsetus</i> (Cuvier, 1829)	1	Characidae	Characiformes
18	<i>Pareiorhaphis</i> sp.	2	Loricariidae	Siluriformes
19	<i>Pareiorhaphis splendens</i> (Bizerril, 1995)	14	Loricariidae	Siluriformes
20	<i>Pareiorhaphis steindachneri</i> (Miranda Ribeiro, 1918)	1	Loricariidae	Siluriformes
21	<i>Phalloceros alessandrae</i> Lucinda, 2008	3	Poeciliidae	Cyprinodontiformes
22	<i>Pimelodella pappenheimi</i> Ahl, 1925	2	Pimelodidae	Siluriformes
23	<i>Rhamdioglanis frenatus</i> Ihering, 1907	9	Heptapteridae	Siluriformes
24	<i>Rhamdioglanis transfasciatus</i> Miranda Ribeiro, 1908	3	Heptapteridae	Siluriformes
25	<i>Rineloricaria</i> sp.	32	Loricariidae	Siluriformes

	Peixes hospedeiros	n	Família	Ordem
26	<i>Schizolecis guntheri</i> (Miranda Ribeiro, 1918)	53	Loricariidae	Siluriformes
27	<i>Scleromystax barbatus</i> (Quoy & Gaimard, 1824)	16	Callichthyidae	Siluriformes
28	<i>Synbranchus marmoratus</i> Bloch, 1795	1	Synbranchidae	Synbranchiformes
29	Espécimes não identificáveis	4		
	TOTAL	395		

Foram recuperados 500 parasitos da superfície corporal dos hospedeiros, sendo 405 representantes do grupo ovíparo e 95 representando o clado vivíparo (Tabela 4). Todos os parasitos listados pertencem à Gyrodactylidae, totalizando 25 espécies, das quais oito são novas espécies propostas para *Gyrodactylus*, uma nova espécie para *Anacanthocotyle* Kritsky et Fritts, 1970 e dois novos gêneros propostos para o clado vivíparo. Além disso, foram identificadas 14 espécies de parasitos ovíparos; dois novos gêneros e três novas espécies que serão propostas em trabalhos futuros (Tabela 4).

Tabela 4. Lista de espécies de parasitos coletados no Rio Marumbi-PR. Os valores indicam a abundância relativa de cada espécie parasita em seu respectivo hospedeiro. O valor de *n* indica o número de parasitos e hospedeiros coletados.

	Parasitos Ovíparos	Abundância	(n parasitos / n hospedeiro)	Peixe Hospedeiro
1	<i>Agelaiogyrodactylus</i> sp. 1	0,12 0,50	(1 / 8) (1 / 2)	<i>Kronichthys lacerta</i> <i>Pareiorhaphis</i> sp.
2	<i>Agelaiogyrodactylus calamus</i> Kritsky, Vianna & Boeger, 2007	0,20 0,07	(3 / 15) (1 / 14)	<i>Hisonotus leucofrenatus</i> <i>Pareiorhaphis splendens</i>
3	<i>Agelaiogyrodactylus ctenistus</i> Kritsky, Vianna & Boeger, 2007	0,17 0,06 1,21	(5 / 28) (1 / 15) (17 / 14)	<i>Ancistrus multispinnis</i> <i>Hisonotus leucofrenatus</i> <i>Pareiorhaphis splendens</i>
4	<i>Agelaiogyrodactylus forficulatus</i> Kritsky, Vianna & Boeger, 2007	1,25 0,09	(10 / 8) (5 / 53)	<i>Kronichthys lacerta</i> <i>Schizolecis guntheri</i>
5	<i>Agelaiogyrodactylus forficuloides</i> Kritsky, Vianna & Boeger, 2007	5,25 0,05	(42 / 8) (3 / 53)	<i>Kronichthys lacerta</i> <i>Schizolecis guntheri</i>
6	<i>Agelaiogyrodactylus guttus</i> Kritsky, Vianna & Boeger, 2007	0,12 0,01	(1 / 8) (1 / 53)	<i>Kronichthys lacerta</i> <i>Schizolecis guntheri</i>

	Parasitos Ovíparos	Abundância	(n parasitos / n hospedeiro)	Peixe Hospedeiro
7	<i>Aglaiogyrodactylus pedunculatus</i> Kritsky, Vianna & Boeger, 2007	0,03	(1 / 28)	<i>Ancistrus multispinnis</i>
		1,17	(26 / 15)	<i>Hisonotus leucofrenatus</i>
		0,03	(1 / 32)	<i>Rineloricaria</i> sp.
		0,11	(6 / 53)	<i>Schizolecis guntheri</i>
8	Ovíparo Gen.n.1.sp. 1	0,28	(8 / 28)	<i>Ancistrus multispinnis</i>
9	Ovíparo Gen.n.5.sp. 1	1	(1 / 1)	<i>Pareiorhaphis steindachneri</i>
10	<i>Onychogyrodactylus hydaticus</i> Kritsky, Vianna & Boeger, 2007	0,57	(16 / 28)	<i>Ancistrus multispinnis</i>
		0,06	(1 / 15)	<i>Hisonotus leucofrenatus</i>
		0,07	(1 / 14)	<i>Pareiorhaphis splendens</i>
11	<i>Onychogyrodactylus sudis</i> Kritsky, Vianna & Boeger, 2007	4,82	(135/28)	<i>Ancistrus multispinnis</i>
		0,06	(2 / 32)	<i>Rineloricaria</i> sp.
12	<i>Phanerothecium</i> sp.n. 1	2,00	(64 / 32)	<i>Rineloricaria</i> sp.
		0,12	(1 / 8)	<i>Kronichthys lacerta</i>
13	<i>Phanerothecium</i> sp.n. 2	1,43	(46 / 32)	<i>Rineloricaria</i> sp.
14	<i>Phanerothecium spinatus</i> Boeger, Kritsky e Belmont-Jègu 1994	0,15	(5 / 32)	<i>Rineloricaria</i> sp.
	Parasitos Vivíparos	Abundância	(n parasitos / n hospedeiro)	Peixe Hospedeiro
15	<i>Anacanthocotyle</i> sp.n.1	0,25	(1 / 4)	<i>Astyanax ribeira</i>
		0,31	(6 / 19)	<i>Bryconamericus microcephalus</i>
		0,40	(4 / 10)	<i>Deuterodon langei</i>
16	<i>Gyrodactylus</i> sp.n. 1	0,22	(18 / 79)	<i>Characidium lanei</i>
		0,28	(19 / 67)	<i>Characidium pterostictum</i>
17	<i>Gyrodactylus</i> sp.n. 2	2,66	(8 / 3)	<i>Cyphocharax santacatarinae</i>
18	<i>Gyrodactylus</i> sp.n. 3	0,62	(10 / 16)	<i>Scleromystax barbatus</i>
19	<i>Gyrodactylus</i> sp.n. 4	0,12	(2 / 16)	<i>Scleromystax barbatus</i>
20	<i>Gyrodactylus</i> sp.n. 5	0,03	(1 / 28)	<i>Ancistrus multispinnis</i>
21	<i>Gyrodactylus</i> sp.n. 6	2,00	(6 / 3)	<i>Cyphocharax santacatarinae</i>
22	<i>Gyrodactylus</i> sp.n. 7	1,00	(3 / 3)	<i>Cyphocharax santacatarinae</i>
23	<i>Gyrodactylus</i> sp.n. 8	1,07	(15 / 14)	<i>Pareiorhaphis splendens</i>
24	Vivíparo Gen.n.3 sp. 1	0,33	(1 / 3)	<i>Cyphocharax santacatarinae</i>
25	Vivíparo Gen.n.4 sp. 1	0,03	(1 / 28)	<i>Ancistrus multispinnis</i>

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 4, a espécie ovípara *Aglaiogyrodactylus forficuloides* Kritsky, Vianna & Boeger, 2007 apresentou maior abundância entre as espécies ovíparas. A espécie ocorreu com 5,25 de abundância em *Kronichthys lacerta* (Nichols, 1919). Esse parasito também ocorre em *Schizolecis guntheri* (Miranda Ribeiro, 1918), porém em uma abundância de 0,05. A espécie hospedeira *Ancistrus multispinnis* (Regan, 1912) apresentou a maior riqueza de parasitos dentre os hospedeiros analisados. Nesse hospedeiro, foram encontrados 135 espécimes de *Onychogyrodactylus sudis* Kritsky, Vianna & Boeger, 2007, cuja abundância foi igual a 4,82 em *A. multispinnis*. Essa espécie parasita também ocorreu em *Rineloricaria* sp., porém com menor abundância (0,06). Esse resultado revelou a alta especificidade de *O. sudis* ao hospedeiro *A. multispinnis*, embora essa espécie de parasito utilize outra espécie simpátrica (*Rineloricaria* sp.) como um recurso alternativo (Tabela 4). Ao contrário de *A. forficuloides*, que apresentou a maior abundância dentre os parasitos coletados, a espécie *Aglaiogyrodactylus guttus* Kritsky, Vianna & Boeger, 2007 apresentou a menor abundância (0,01), sendo representado por apenas um espécime coletado em *S. guntheri*.

A espécie vivípara com maior abundância foi *Gyrodactylus* sp.n. 2. A espécie ocorreu com uma abundância de 2,66 em *Cyphocharax santacatarinae* (Fernández-Yépez, 1948). Nesse mesmo hospedeiro, foi detectada a ocorrência de mais três espécies vivíparas, *Gyrodactylus* sp.n. 6, com abundância de 2,00, *Gyrodactylus* sp.n. 7, com abundância de 1,00 e vivíparo Gen.n.4 sp1, com abundância de 0,03. As espécies vivíparo Gen.n.4 sp.1 e *Gyrodactylus* sp.n. 5 (ambas com 0,03 de abundância em *A. multispinnis*) foram as menos abundantes dentre as espécies vivíparas.

Durante o processamento morfológico foi detectada a ocorrência da espécie ovípara *Aglaiogyrodactylus pedunculatus* Kritsky, Vianna & Boeger, 2007 em *C. santacatarinae*. Esse hospedeiro é um representante de Curimatidae, uma família de Characiformes. Segundo a literatura não existe ocorrência de espécies ovíparas de Gyrodactylidae em hospedeiros não Loricariidae. A detecção de uma espécie ovípara fora de Loricariidae poderia ser explicada por duas hipóteses: 1) ocorreu troca de hospedeiros durante o processamento em campo; 2) *A. pedunculatus* poderia estar realizando uma eventual troca de hospedeiro acidental durante o momento da coleta, não significando necessariamente uma associação parasito-hospedeiro.

Extração de DNA e Amplificação do DNA

Foi realizada a extração do DNA total de todos os 395 peixes hospedeiros amostrados, obtendo um total de 194 sequências do gene *cyt-b* entre 450 a 1235pb, representando as 27 espécies de hospedeiros (Tabela 5). *Australoheros facetus* (Jenyns, 1842) foi a única espécie hospedeira não sequenciada. Apesar do fragmento do *cyt-b* ter sido amplificado, a produção de sua sequência foi problemática.

Dos parasitos amostrados foram obtidas 28 sequências do gene 18S rDNA para espécies ovíparas, representando 8 espécies válidas, 2 novas espécies de *Phanerothecium* (Tabela 6) totalizando 3 gêneros conhecidos; e 9 sequências para as espécies do grupo vivíparo, representando 2 gêneros conhecidos e 1 novo gênero. Todos os fragmentos de 18S rDNA de espécimes de Gyrodactylidae sequenciados apresentaram sequências entre 680 a 1540pb. Não foram obtidas sequências para as espécies ovíparas *A. guttus* e Ovíparo Gen.n.5.sp. 1. As espécies vivíparas que não tiveram sucesso no sequenciamento foram: *Gyrodactylus* sp.n.3, *Gyrodactylus* sp.n.4, *Gyrodactylus* sp.n.6. Nenhum espécime de *Aglaiogyrodactylus* sp.n. 1, Ovíparo Gen.n.1.sp. 1 e Vivíparo Gen.n.4 sp.1 foram fixados em etanol 95% para permitir sequenciamento.

Tabela 5. Lista dos hospedeiros sequenciados com *cyt-b*, fragmento do mtDNA, indicando o número de sequências obtidas e tamanho (pb) para cada espécie. O valor de *n* representa o número total de hospedeiros coletados em campo.

Sequência obtida	~ pb	Peixe Hospedeiro	N
4	1120pb	<i>Acentronichthys leptos</i>	8
12	1170pb	<i>Ancistrus multispinnis</i>	28
1	1115pb	<i>Astyanax janeiroensis</i>	2
4	1115pb	<i>Astyanax ribeirae</i>	4
0	-	<i>Australohero facetus</i>	1
1	1090pb	<i>Awaous tajasica</i>	1
15	1100pb	<i>Bryconamericus microcephalus</i>	19
20	1125pb	<i>Characidium lanei</i>	79
25	1120pb	<i>Characidium pterostictum</i>	67
1	450pb	<i>Cyphocharax santacatarinae</i>	3
11	1220pb	<i>Deuterodon langei</i>	10
1	1150pb	<i>Geophagus brasiliensis</i>	2
1	640pb	<i>Gymnotus pantherinus</i>	1

Sequência obtida	~ pb	Peixe Hospedeiro	N
1	1050pb	<i>Hisonotus leucofrenatus</i>	15
6	1230pb	<i>Kronichthys lacerta</i>	8
7	1190pb	<i>Mimagoniates microlepis</i>	6
1	1100pb	<i>Oligosarcus hepsetus</i>	1
1	890pb	<i>Pareiorhaphis</i> sp.	2
9	1165pb	<i>Pareiorhaphis splendens</i>	14
1	1030pb	<i>Pareiorhaphis steindachneri</i>	1
1	830pb	<i>Phalloceros alessandrae</i>	3
1	1110pb	<i>Pimelodella pappenheimi</i>	2
9	1112pb	<i>Rhamdioglanis frenatus</i>	9
2	820pb	<i>Rhamdioglanis transfasciatus</i>	3
18	1235pb	<i>Rineloricaria</i> sp.	32
35	1230pb	<i>Schizolecis guntheri</i>	53
5	1040pb	<i>Scleromystax barbatus</i>	16
1	820pb	<i>Synbranchus marmoratus</i>	1

Tabela 6. Lista das espécies de Gyrodactylidae sequenciados com o 18S rDNA, indicando o número de sequências obtidas e tamanho (pb) para cada espécie. O valor de *n* representa o número total de parasitos coletados das amostras fixadas em etanol 95%.

Sequência obtida	~pb	Parasitos Ovíparos	N
2	1465pb	<i>Aglaiogyrodactylus calamus</i>	2
5	1500pb	<i>Aglaiogyrodactylus ctenistus</i>	14
1	750pb	<i>Aglaiogyrodactylus forficulatus</i>	2
3	700pb	<i>Aglaiogyrodactylus forficuloides</i>	28
2	740pb	<i>Aglaiogyrodactylus pedunculatus</i>	15
1	1520pb	<i>Onychogyrodactylus hydaticus</i>	8
1	1490pb	<i>Onychogyrodactylus sudis</i>	95
4	1510pb	<i>Phanerothecium</i> sp.n. 1	12
7	1440pb	<i>Phanerothecium</i> sp.n. 2	24
2	1445pb	<i>Phanerothecium spinatus</i>	5

Sequência obtida	~pb	Parasitas Vivíparos	N
2	680pb	<i>Anacanthocotyle</i> sp.n.1	8
3	1030pb	<i>Gyrodactylus</i> sp.n.1	34
1	1540pb	<i>Gyrodactylus</i> sp.n.2	2
1	870pb	<i>Gyrodactylus</i> sp.n.5	1
1	925pb	<i>Gyrodactylus</i> sp.n.7	3
1	930pb	Vivíparo Gen.n. 3 sp.1	1

Interação ecológica

A rede de interação obtida para as espécies de Gyrodactylidae e seus hospedeiros foi construída através de matriz com valores de abundância de parasito (Tabela 4). A análise indica que existe uma forte interação entre as espécies do grupo ovíparo de Gyrodactylidae com espécies de Loricariidae, e que as espécies parasitas do clado vivíparo fazem interações com quase todos os representantes das famílias de hospedeiros amostradas (Figura 1). Duas espécies de parasitos mostraram maior abundância e uma forte interação com outras duas espécies hospedeiras. *Aglaiogyrodactylus forficuloides* foi a espécie com maior abundância e apresentou forte interação com *K. lacerta*, e *O. sudis* foi a segunda em abundância, apresentando uma forte interação com a espécie hospedeira *A. multispinnis*, indicando um alto grau de especificidade para esses dois girodactilídeos. Espécies de *Phanerothecium* (*Phanerothecium* sp.n. 1, *Phanerothecium* sp.n. 2 e *Phanerothecium spinatus* Boeger, Kritsky e Belmont-Jègu 1994) também apresentaram uma forte interação com *Rineloricaria* sp. A espécie ovípara *A. pedunculatus*, por outro lado, foi a espécie que mais utilizou recursos diferentes. A espécie interage com os loricarídeos *Hisonotus leucofrenatus* (Miranda Ribeiro, 1908), *A. multispinnis*, *Rineloricaria* sp. e *S. guntheri*. A espécie hospedeira mais compartilhada pelas espécies parasitas foi *A. multispinnis*. Esse loricarídeo foi compartilhado pelas espécies ovíparas *Onychogyrodactylus hydaticus* Kritsky, Vianna & Boeger, 2007, *O. sudis*, *Aglaiogyrodactylus ctenistus* Kritsky, Vianna & Boeger, 2007, *A. pedunculatus*, Ovíparo Gen.n.1 sp.1, e pelas espécies vivíparas *Gyrodactylus* sp.n.5 e vivíparo Gen.n.4 sp1.

Anacanthocotyle sp.n. 1 foi a espécie vivípara que mais utilizou hospedeiros diferentes. Essa espécie interagiu com três espécies de Characidae (*Astyanax ribeirae* Eigenmann, 1911, *Bryconamericus microcephalus* (Miranda Ribeiro, 1908) e *Deuterodon langei* Travassos, 1957). A

espécie hospedeira *C. santacatarinae* foi a mais compartilhada pelas espécies do claro vivíparo. Esse hospedeiro interagiu com quatro espécies desse clado (*Gyrodactylus* sp.n.2, *Gyrodactylus* sp.n.6, *Gyrodactylus* sp.n.7 e vivíparo Gen.n.3 sp.1). *Gyrodactylus* sp.n.2 e *Gyrodactylus* sp.n.6 foram as mais abundantes dentre os girodactilídeos vivíparos, ambos compartilhando *C. santacatarinae*.

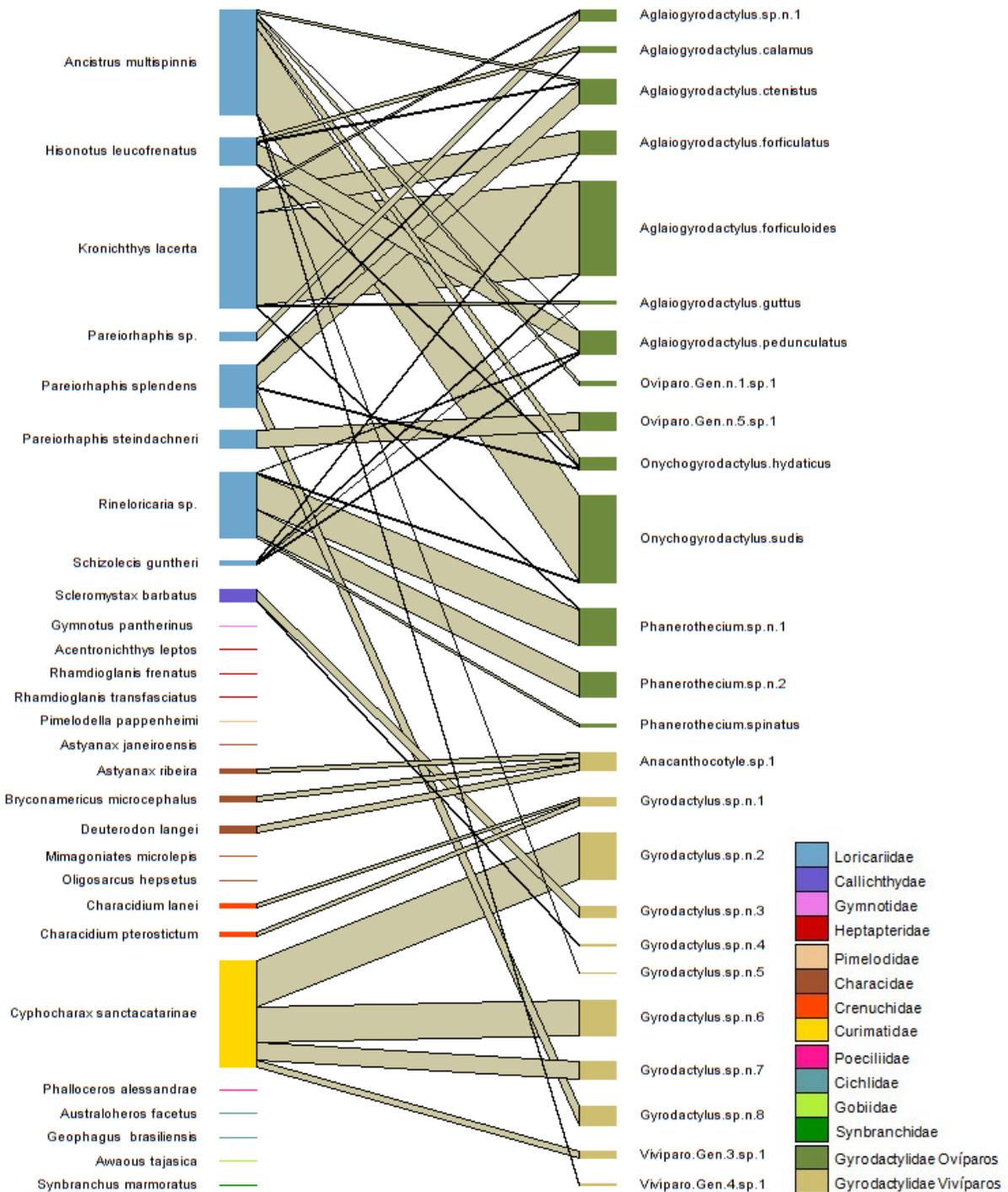


Figura 1. Representação gráfica da rede de interação ecológica das espécies de Gyrodactylidae e seus hospedeiros, mostrando a abundância de cada espécie. Os peixes hospedeiros estão amostrados à esquerda e os parasitos à direita. A largura dos retângulos é proporcional a abundância da interação entre a espécie do parasito e seu hospedeiro. As linhas centrais representam as interações entre parasitos e hospedeiros, a largura da linha é proporcional à abundância do parasito em seu hospedeiro específico. As cores de cada retângulo representam as famílias de cada espécie de hospedeiro e a diferenciação dos grupos de parasitos.

A matriz original do agrupamento de espécies ovíparas e seus hospedeiros mostrou um valor de aninhamento igual a 12,11, enquanto que o valor de aninhamento das espécies do clado vivíparo e seus hospedeiros foi igual 0,00. O valor do agrupamento ovíparo apresentou um valor mais próximo ao modelo nulo “ER” e o valor do clado vivíparo mais próximo do valor do modelo nulo “CE”. Foram realizadas 100 aleatorizações para dois modelos nulos. A matriz do grupo ovíparo foi submetida a dois modelos nulos. O primeiro modelo NODF (ER), apresentou um aninhamento médio para as espécies igual a 13,63, no qual o valor de “p” das matrizes aleatórias foi igual a 0,59. O teste para o segundo modelo nulo NODF (CE) revelou um aninhamento de 14,79, sendo o valor de “p” igual a 0,67. Foram também construídos os modelos nulos para a matriz do clado vivíparo, no qual o valor de aninhamento médio obtido para o modelo NODF (ER) foi de 7,66, sendo o valor de “p” igual a 1,00. Para o modelo NODF (CE), foi encontrado um aninhamento médio de 7,73, sendo o valor de “p” igual a 0,98. A figura 2 mostra como seria a representação gráfica de uma rede com aninhamento perfeito. A representação gráfica dos aninhamentos foi obtida com auxílio do programa “R”, Figura 3 e 4.

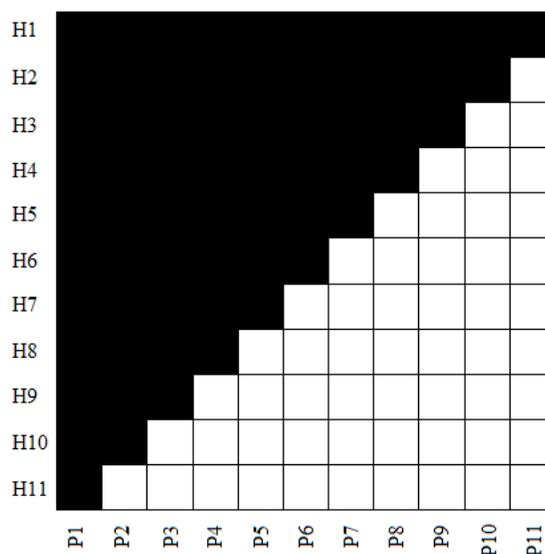


Figura 2. Representação gráfica de uma rede 100% aninhada, para possível comparação das redes obtidas pelos agrupamentos ovíparo e vivíparo.

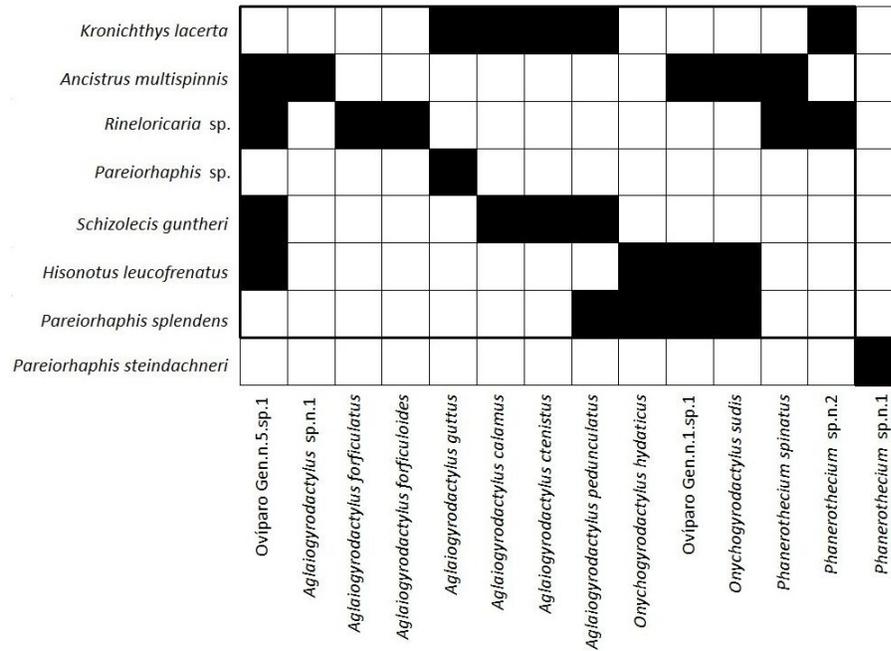


Figura 3. Representação gráfica do melhor aninhamento das espécies ovíparas obtido pelo programa “R” (R Development Core Team, 2011) utilizando o pacote “Bipartite” (Dormann, et al., 2008).

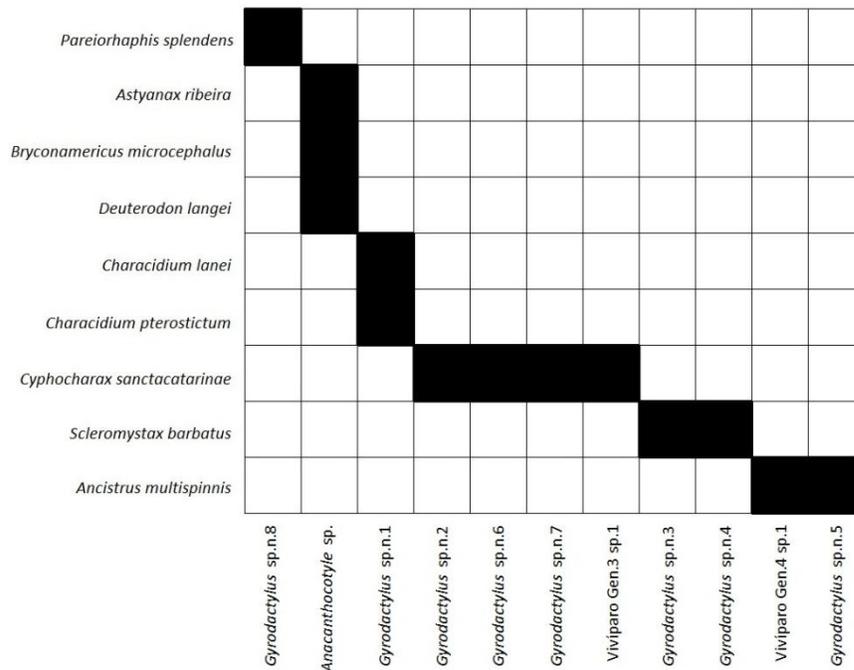


Figura 4. Representação gráfica do melhor aninhamento das espécies vivíparas obtido pelo programa “R” (R Development Core Team, 2011) utilizando o pacote “Bipartite” (Dormann, et al., 2008).

O cálculo de modularidade para o grupo ovíparo apresentou um valor de 0,4821. Esse valor é próximo do esperado para a média de 100 aleatorizações (0,4487 +/- 0,0229). Nessa rede, foram encontrados 4 módulos, cada um com muitas conexões/interações dentro deles e quase todos os módulos apresentaram conexões externas (Figura 5) e (Tabela 7). Apenas o módulo formado pelo loricarídeo *Pareiorhaphis steindachneri* (Miranda Ribeiro, 1918) e Ovíparo Gen.n.5 sp.1 apresentou interação exclusiva. A matriz do clado vivíparo apresentou uma modularidade superior em relação à do grupo ovíparo (0,8061), valor próximo do encontrado para a média de 100 aleatorizações (0,7377 +/- 0,0259). Nessa rede, foram encontrados 6 módulos, entretanto, nenhum apresentou interações com módulos externos (Figura 6) e (Tabela 8).

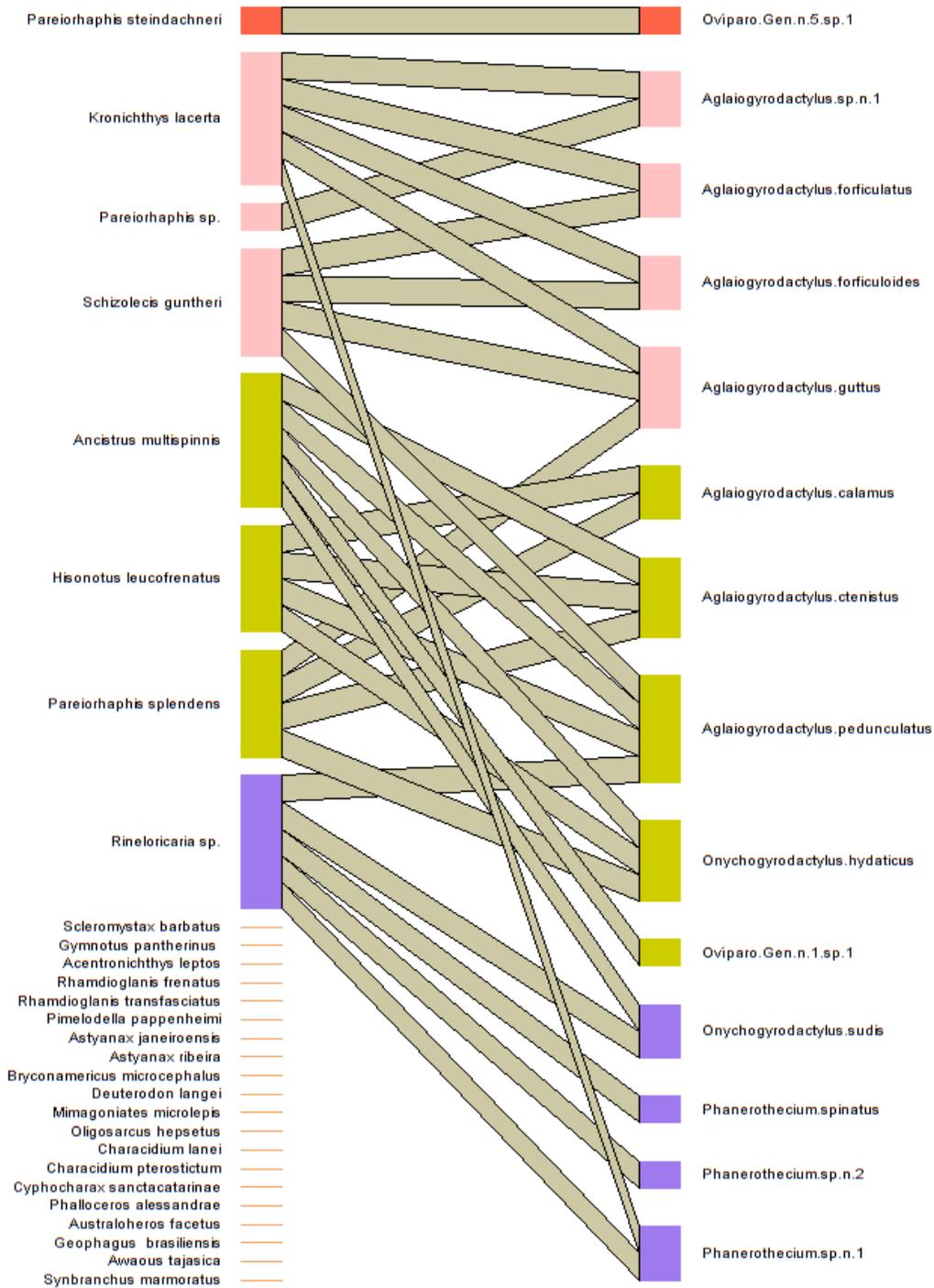


Figura 5. Representação gráfica da rede de interação ecológica dos parasitos ovíparos, com informações de ausência e presença de interações. Os peixes hospedeiros (nível trófico inferior) estão amostrados à esquerda e os parasitos (nível trófico superior) à direita. Todas as espécies hospedeiras que realizam interação com as espécies ovíparas são Loricariidae. As demais espécies amostradas na rede não apresentaram interação com as espécies do grupo ovíparo. A largura dos retângulos é proporcional ao número de interações por espécie. As linhas centrais representam as interações entre parasitos e hospedeiros, a largura da linha é proporcional às interações entre as espécies. As cores de cada retângulo representam os diferentes módulos.

Tabela 7. Demonstração dos módulos apresentados para as espécies do grupo ovíparo com seus respectivos peixes hospedeiros. O vértice representa as espécies que fazem interação na rede. O valor do grau indica o número de interação entre as espécies da rede (vértices). O coeficiente de participação (“P”) indica o quanto uma espécie participa na interação entre módulos (P=0, indica que as interações estão dentro do módulo e “P” tendendo a 1, indica interações fora do módulo).

<i>Vértice</i>	<i>Grau</i>	<i>Participação da conexão entre módulos (P)</i>
<i>Pareiorhaphis steindachneri</i>	1	0,000
Ovíparo Gen.n.5.sp.1	1	0,000
<i>Kronichthys lacerta</i>	5	0,320
<i>Aglaiogyrodactylus</i> sp.n.1	2	0,000
<i>Pareiorhaphis</i> sp.	1	0,000
<i>Aglaiogyrodactylus forficulatus</i>	2	0,000
<i>Schizolecis guntheri</i>	4	0,375
<i>Aglaiogyrodactylus forficuloides</i>	2	0,000
<i>Aglaiogyrodactylus guttus</i>	3	0,444
<i>Pareiorhaphis splendens</i>	4	0,375
<i>Hisonotus leucofrenatus</i>	4	0,000
<i>Aglaiogyrodactylus calamus</i>	2	0,000
<i>Ancistrus multispinnis</i>	5	0,320
<i>Aglaiogyrodactylus ctenistus</i>	3	0,000
<i>Aglaiogyrodactylus pedunculatus</i>	4	0,625
<i>Rineloricaria</i> sp.	5	0,320
Ovíparo Gen.n.1.sp.1	3	0,000
<i>Onychogyrodactylus hydaticus</i>	1	0,000
<i>Onychogyrodactylus sudis</i>	2	0,500
<i>Phanerothecium spinatus</i>	1	0,000
<i>Phanerothecium</i> sp.n.2	1	0,000
<i>Phanerothecium</i> sp.n.1	2	0,500

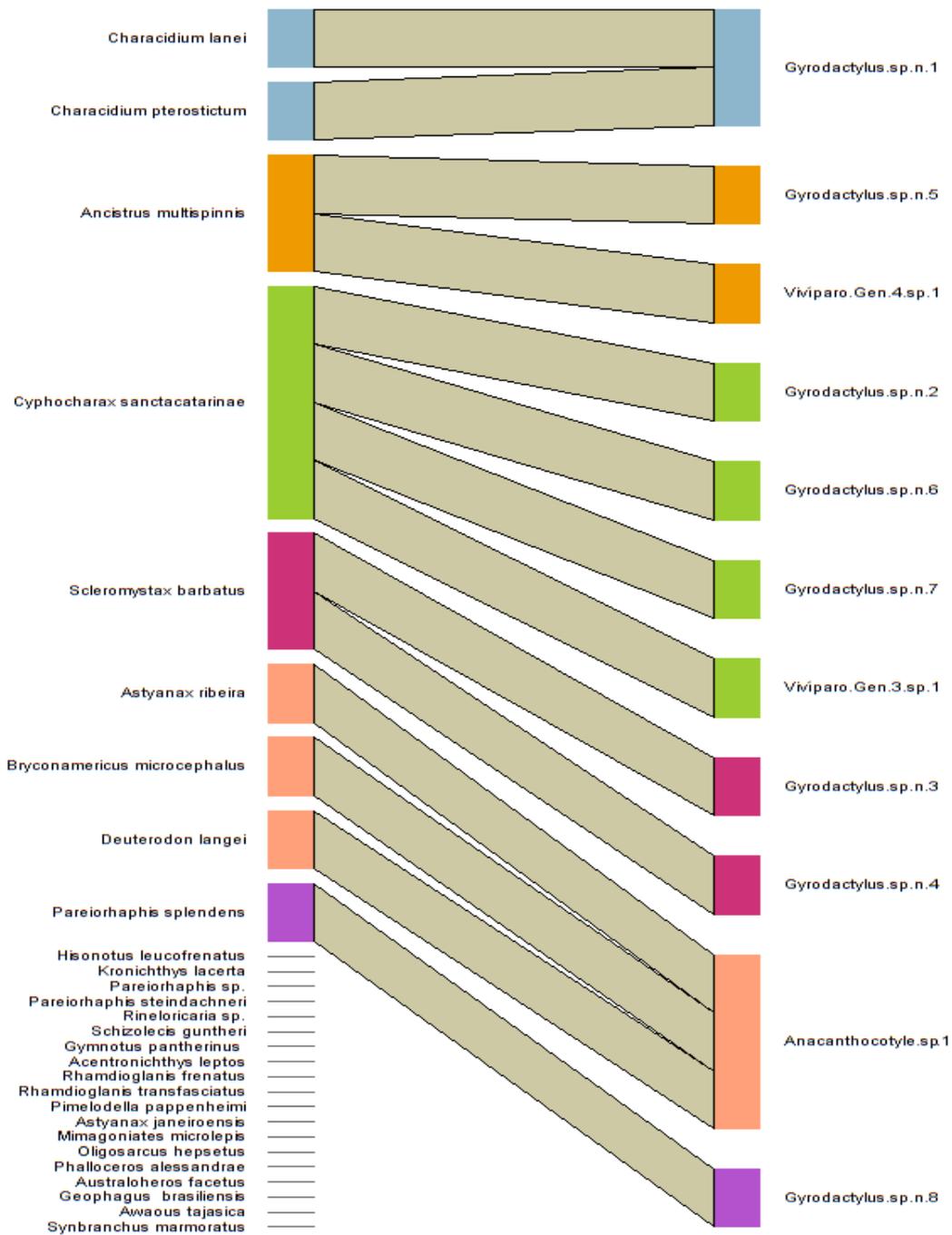


Figura 6. Representação gráfica da rede de interação ecológica dos parasitos vivíparos, com informações de ausência e presença de interações. Os peixes hospedeiros (nível trófico inferior) estão amostrados à esquerda, o primeiro módulo (azul claro) representado por duas espécies de Crenuchidae, o segundo (laranja) por uma espécie de Loricariidae, terceiro (verde) por um Curimatidae, quarto (violeta) por um Callichthyidae, quinto (rosa claro) por três Characidae, e o sexto (roxo) por outra espécie de Loricariidae, enquanto que os parasitos estão amostrados (nível trófico superior) à direita. A largura dos retângulos é proporcional ao número de interações por espécie. As linhas centrais representam as interações entre parasitos e hospedeiros, a largura da linha é proporcional às interações entre essas espécies. As cores de cada retângulo representam os diferentes módulos.

Tabela 8. Demonstração dos módulos para as espécies do grupo vivíparo com seus respectivos peixes hospedeiros. O vértice representa as espécies que fazem interação na rede. O valor do grau indica o número de interação entre as espécies da rede (vértices). O coeficiente de participação (“P”) indica o quanto uma espécie participa na interação entre módulos (P=0, indica que as interações estão dentro do módulo e “P” tendendo a 1, indica interações fora do módulo).

<i>Vértice</i>	<i>Grau</i>	<i>Participação da conexão entre módulos (P)</i>
<i>Astyanax ribeirae</i>	1	0,000
<i>Anacanthocotyle</i> sp.n.1.	3	0,000
<i>Bryconamericus microcephalus</i>	1	0,000
<i>Deuterodon langei</i>	1	0,000
<i>Characidium lanei</i>	1	0,000
<i>Gyrodactylus</i> sp.n.1	2	0,000
<i>Characidium pterostictum</i>	1	0,000
<i>Cyphocharax santacatarinae</i>	4	0,000
<i>Gyrodactylus</i> sp.n.2	1	0,000
<i>Scleromystax barbatus</i>	2	0,000
<i>Gyrodactylus</i> sp.n.3	1	0,000
<i>Gyrodactylus</i> sp.n.4	1	0,000
<i>Ancistrus multispinnis</i>	1	0,000
<i>Gyrodactylus</i> sp.n.5	1	0,000
<i>Gyrodactylus</i> sp.n.6	1	0,000
<i>Gyrodactylus</i> sp.n.7	1	0,000
<i>Pareiorhaphis splendens</i>	1	0,000
<i>Gyrodactylus</i> sp.n.8	1	0,000
Vivíparo Gen.n.3.sp.1	1	0,000
Vivíparo Gen.n.4.sp.1	1	0,000

Os valores do índice de especialização normalizado (H2’) para o grupo ovíparo foi igual a 0,903, enquanto, o clado vivíparo apresentou um valor igual a 1,000. Esses valores indicam que as espécies vivíparas estão mais especializadas aos seus hospedeiros do que as espécies ovíparas. O padrão de especialização dos dois agrupamentos foi observado nas representações gráficas de modularidade (Figura 5 e 6), no qual pode-se visualizar uma maior especificidade entre as espécies vivíparas e seus hospedeiros. O mesmo padrão foi visualizado para as espécies ovíparas, mas estas demonstram algumas interações não especializadas, o que poderia explicar o valor de H2’ um pouco mais baixo para esse grupo.

Métricas para espécies da rede

O índice de especialização da espécie (d') foi calculado para o agrupamento ovíparo e vivíparo. As espécies ovíparas que apresentaram maior índice de especialização com seus hospedeiros (valor 1 ou próximo) foi Ovíparo Gen.n5 sp.1 (1,0) e *O. sudis* (0,831) (Tabela 9). A espécie que apresentou índice de especialização mais próximo de zero (sem especialização) foi *A. guttus* (0,208) e *O. hydaticus* (0,273) (Tabela 9). As espécies do clado vivíparo que apresentaram maior valor de especialização, foram *Gyrodactylus* sp.n.1 (1,0), *Gyrodactylus* sp.n.8 (1,0) e *Anacanthocotyle* sp.n.1 (1,0); as espécies com menor índice de especialização (próximo a zero), foram Vivíparo.gen3 sp.1 (0,129) e *Gyrodactylus* sp.n.7 (0,197) (Tabela 10). Esse valor tão baixo de especialização da espécie Vivíparo Gen.n.3 sp.1 pode estar sendo influenciado pela sua baixa abundância em um hospedeiro compartilhado por outras espécies como ocorre em *C. santacatarinae*.

Tabela 9. Índice de especialização da espécie (d') para a rede do grupo ovíparo. Os valores de d' próximo a 1 indicam especialização da espécie e valores próximos a zero indicam não especialização. Os valores apresentados em negrito referem-se as espécies com maior valor de especialização e os valores sublinhados indicam as espécies com menor valor de especialização.

Espécies do nível trófico superior	d'
Ovíparo Gen.n.5 sp.1	1,000
<i>Aglaiogyrodactylus</i> sp.n.1	0,777
<i>Aglaiogyrodactylus forficulatus</i>	0,396
<i>Aglaiogyrodactylus forficuloides</i>	0,796
<i>Aglaiogyrodactylus guttus</i>	<u>0,208</u>
<i>Aglaiogyrodactylus calamus</i>	0,479
<i>Aglaiogyrodactylus ctenistus</i>	0,759
<i>Aglaiogyrodactylus pedunculatus</i>	0,815
<i>Onychogyrodactylus hydaticus</i>	<u>0,273</u>
Ovíparo Gen.n.1 sp.1	0,292
<i>Onychogyrodactylus sudis</i>	0,831
<i>Phanerothecium spinatus</i>	0,347
<i>Phanerothecium</i> sp. n.2	0,649
<i>Phanerothecium</i> sp.n.1	0,650

Tabela 10. Índice de especialização da espécie (d') para a rede do clado vivíparo, Os valores de d' próximo a 1 indicam especialização da espécie e valores próximos a zero indicam não especialização. Os valores apresentados em negrito referem-se às espécies com maior valor de especialização e os valores sublinhados indicam as espécies com menor valor de especialização.

Espécies do nível trófico superior	d'
<i>Gyrodactylus</i> sp.n.1	1,000
<i>Gyrodactylus</i> sp.n.5	0,870
Vivíparo, Gen.n.4 sp.1	0,870
<i>Gyrodactylus</i> sp.n.2	0,352
<i>Gyrodactylus</i> sp.n.6	0,287
<i>Gyrodactylus</i> sp.n.7	<u>0,197</u>
Vivíparo Gen.n.3 sp.1	<u>0,129</u>
<i>Gyrodactylus</i> sp.n.3	0,934
<i>Gyrodactylus</i> sp.n.4	0,568
<i>Anacanthocotyle</i> sp.n.1	1,000
<i>Gyrodactylus</i> sp.n.8	1,000

Os valores de dependência e força de cada espécie na rede foram calculados para as matrizes de ovíparos (Tabela 11) e vivíparos (Tabela 12). Os parasitos do clado vivíparo apresentaram maior força de interação do que os parasitos do grupo ovíparo. Os valores de força calculados para as espécies dos agrupamentos ovíparo e vivíparo estão representados em gráficos para melhor visualização do resultado (Figura 7 e 8). As espécies ovíparas que apresentaram maior valor de dependência aos seus hospedeiros foram: Ovíparo Gen.n.5 sp.1 com espécies de loricarídeo *P. steindachneri* (dependência igual a 1), Ovíparo Gen.n.1 sp.1 com *A. multispinnis* (dependência igual a 1), *Phanerothecium* sp.n.2 e *P. spinatus* (dependência igual a 1) com loricarídeo *Rineloricaria* sp. As espécies ovíparas com menor valor de dependência foram *A. forficuloides* com *S. guntheri* (dependência igual a 0,009), e *O. sudis*, com *Rineloricaria* sp. (dependência igual a 0,012) (Tabela 11 e Figura 7).

As espécies ovíparas com maior força na rede foram *A. pedunculatus*, com valor igual a 1,221, e *Aglaiogyrodactylus* sp.n.1, com 1,017. As espécies *P. spinatus* e Ovíparo Gen.n.1 sp.1 apresentam menos força na rede (0,040 e 0,047) (Tabela 12 e Figura 8).

As espécies vivíparas que apresentaram maior valor de dependência na rede foram: *Gyrodactylus* sp.n.5 e Vivíparo Gen.n.4 sp.1 com *A. multispinnis* (dependência igual a 1), *Gyrodactylus* sp.n.2, *Gyrodactylus* sp.n.6, *Gyrodactylus* sp.n.7 e Vivíparo Gen.n.3 sp.1, com *C. santacatarinae* (dependência igual a 1), *Gyrodactylus* sp.n.3 e *Gyrodactylus* sp.n.4 com *Scleromystax barbatus* (Quoy & Gaimard, 1824) (dependência igual a 1) e *Gyrodactylus* sp.n.8 com *Pareiorhaphis splendens* Bizerril, 1995 (dependência igual a 1). A espécie vivípara com menor valor de dependência foi *Anacanthocotyle* sp.n.1 com os hospedeiros *A. ribeirae* (dependência igual a 0,260) e *B. microcephalus* (dependência igual a 0,322) (Tabela 12 e Figura 8).

As espécies vivíparas *Anacanthocotyle* sp.n.1 e *Gyrodactylus* sp.n.1 apresentaram maior força na rede (3,00 e 2,00). A espécie Vivíparo Gen.n.3 sp.1 apresentou menor força na rede (força igual a 0,055), seguido de *Gyrodactylus* sp.n.4 com força igual a 0,162 (Tabela 12 e Figura 8).

Tabela 11. Valores de dependência e força entre as espécies do grupo ovíparo e seus peixes hospedeiros. O valor de dependência ilustra o grau de interação entre estas espécies e a força ilustra a soma das dependências entre as espécies dessa rede ecológica. Os valores destacados em negrito indicam parasitos com maior dependência e força. Valores sublinhados indicam parasitos com menos dependência e força.

	<i>Pareiorhaphis steindachneri</i>	<i>Kronichthys lacerta</i>	<i>Pareiorhaphis</i> sp.	<i>Schizolecis guntheri</i>	<i>Ancistrus multispinnis</i>	<i>Hisonotus leucofenatus</i>	<i>Pareiorhaphis splendens</i>	<i>Rineloricaria</i> sp.	FORÇA
Ovíparo Gen.n.5 sp.1	1	0	0	0	0	0	0	0	1,000
<i>Agelaiogyrodactylus</i> sp.n.1	0	0,193	0,806	0	0	0	0	0	1,017
<i>Agelaiogyrodactylus forficulatus</i>	0	0,932	0	0,067	0	0	0	0	0,528
<i>Agelaiogyrodactylus forficuloides</i>	0	0,990	0	<u>0,009</u>	0	0	0	0	0,957
<i>Agelaiogyrodactylus guttus</i>	0	0,923	0	0,076	0	0	0	0	0,055
<i>Agelaiogyrodactylus calamus</i>	0	0	0	0	0	0,740	0,259	0	0,186
<i>Agelaiogyrodactylus ctenistus</i>	0	0	0	0	0,118	0,041	0,840	0	0,965

	<i>Pareiorhaphis steindachneri</i>	<i>Kronichthys laeerta</i>	<i>Pareiorhaphis</i> sp.	<i>Schizolepis guntheri</i>	<i>Arctistrus multispinis</i>	<i>Hisonotus leucofrenatus</i>	<i>Pareiorhaphis splendens</i>	<i>Rineloricaria</i> sp.	FORÇA
<i>Aglaiogyrodactylus pedunculatus</i>	0	0	0	0,082	0,022	0,873	0	0,022	1,221
<i>Onychogyrodactylus hydaticus</i>	0	0	0	0	0,814	0,087	0,100	0	0,189
Ovíparo Gen.n.1 sp.1	0	0	0	0	1	0	0	0	<u>0,047</u>
<i>Onychogyrodactylus sudis</i>	0	0	0	0	0,987	0	0	<u>0,012</u>	0,837
<i>Phanerothecium spinatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	<u>0,040</u>
<i>Phanerothecium</i> sp.n.2	0	0	0	0	0	0	0	1	0,389
<i>Phanerothecium</i> sp.n.1	0	0,056	0	0	0	0	0	0,943	0,562

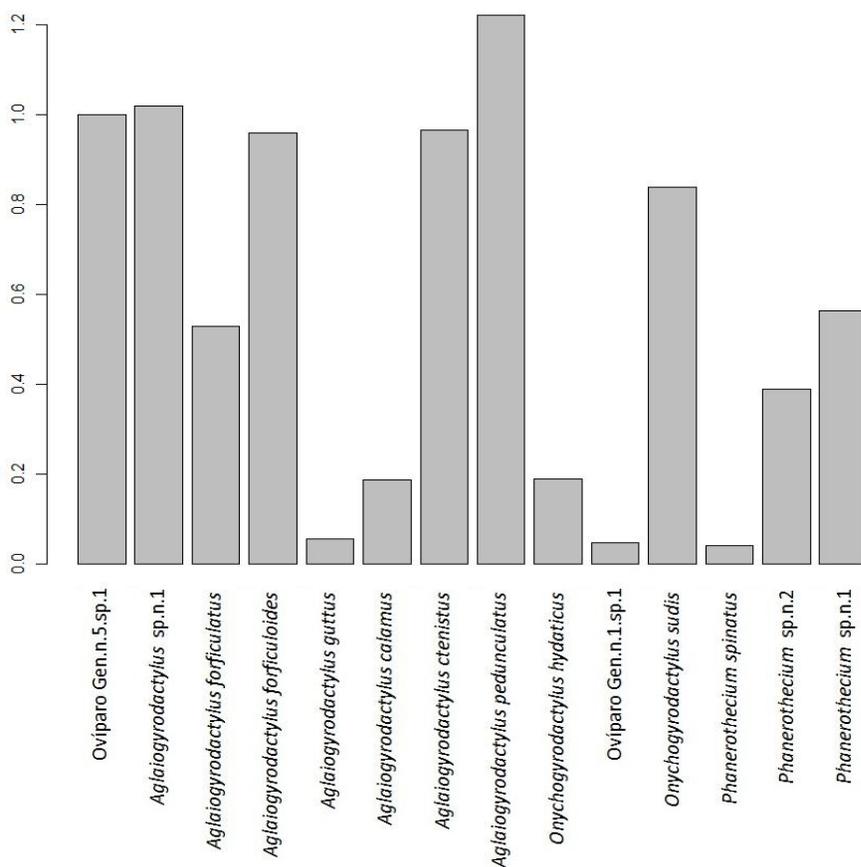


Figura 7. Representação gráfica da força para cada espécie ovípara na rede de interação. Cada coluna representa uma espécie de parasito e o tamanho das barras a soma dos valores de dependência de cada uma das espécies na rede.

Tabela 12. Valores de dependência e força entre as espécies do clado vivíparo e seus peixes hospedeiros. O valor de dependência ilustra o grau de interação entre estas espécies e a força ilustra a soma das dependências entre as espécies dessa rede ecológica. Os valores destacados em negrito indicam parasitos com maior dependência e força. Valores sublinhados indicam parasitos com menos dependência e força.

	<i>Characidium lanei</i>	<i>Characidium pterostictum</i>	<i>Ancistrus multispinus</i>	<i>Cyphocharax santacatarinae</i>	<i>Scleromystax barbarus</i>	<i>Asyanax ribeira</i>	<i>Bryconamericus microcephalus</i>	<i>Deuterodon langiei</i>	<i>Pareiorhaphis splendens</i>	FORÇA
<i>Gyrodactylus</i> sp.n.1	0,440	0,560	0	0	0	0	0	0	0	2,000
<i>Gyrodactylus</i> sp.n.5	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0,500
Vivíparo Gen.n.4 sp.1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0,500
<i>Gyrodactylus</i> sp.n.2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0,444
<i>Gyrodactylus</i> sp.n.6	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0,333
<i>Gyrodactylus</i> sp.n.7	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0,166
Vivíparo Gen.n.3 sp.1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	<u>0,055</u>
<i>Gyrodactylus</i> sp.n.3	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0,837
<i>Gyrodactylus</i> sp.n.4	0	0	0	0	1	0	0	0	0	<u>0,162</u>
<i>Anacanthocotyle</i> sp.n.1	0	0	0	0	0	<u>0,260</u>	<u>0,322</u>	0,416	0	3,000
<i>Gyrodactylus</i> sp.n.8	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1,000

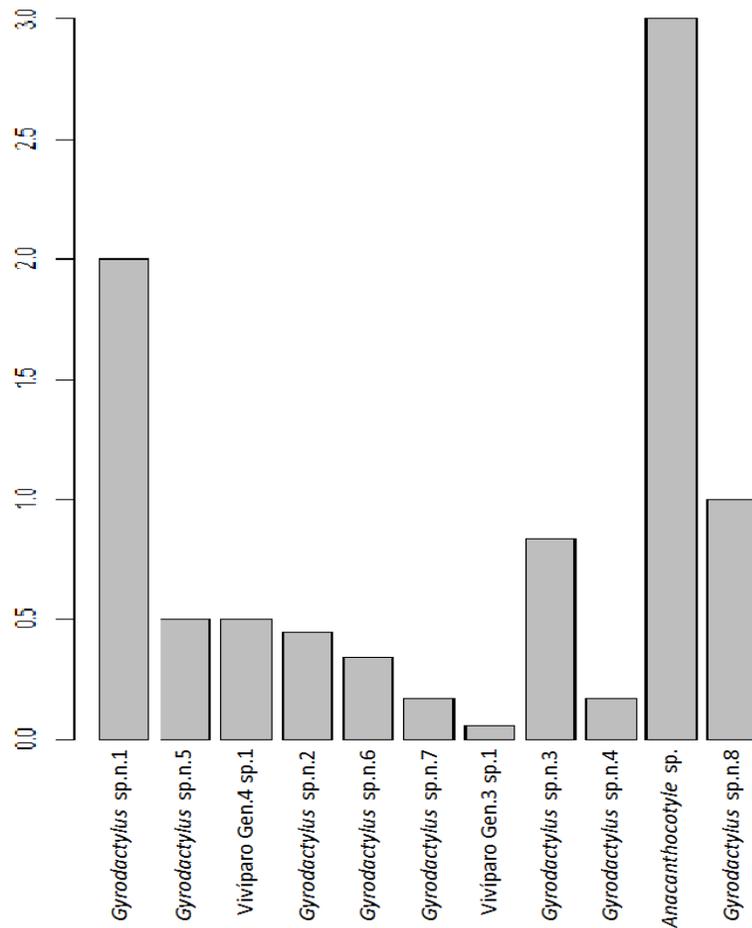


Figura 8. Representação gráfica da força para cada espécie vivípara na rede de interação. Cada coluna representa uma espécie de parasito e o tamanho das barras a soma dos valores de dependência de cada uma das espécies na rede.

Análise filogenética

As análises filogenéticas das espécies de Gyrodactylidae e dos seus hospedeiros foram modeladas apenas com sequências que apresentaram alta qualidade e com tamanho maior a 500pb. Todas as sequências que não apresentaram informações nucleotídicas confiáveis e menores que 500pb não foram consideradas nas análises.

A filogenia baseada em dados moleculares das espécies ovíparas e vivíparas de Gyrodactylidae (Figura 10) apresenta, em geral, elevado suporte de ramos. Os clados de Gyrodactylidae ovíparos e vivíparos ficam claramente separados, com suportes de ramos relativamente baixos (75 e 67%). As espécies ovíparas apresentaram-se separadas por dois clados.

O primeiro clado é formado pelas espécies de *Phanerothecium* (*Phanerothecium* sp.n.2, *Phanerothecium* sp.n. 3, *P. spinatus* e *P. spinulatum*), que apresentam-se agrupadas com suporte de ramo de 88%, juntamente com uma espécie de *O. sudis* e duas espécies ovíparas não identificadas. Enquanto o segundo clado apresenta-se formado pelas espécies de *Aglaiogyrodactylus* (*A. calamus*, *A. pedunculatus*, *A. ctenistus*, *A. conei*, *A. salebrosus*, *A. forficulatus* e *A. forficuloides*), suportado por 51%. Juntamente com as espécies de *A. calamus* e *A. pedunculatus*, encontra-se outro representante de *Onychogyrodactylus*, *O. hydaticus*, com um suporte de 99%.

As espécies vivíparas *Gyrodactylus* sp.n. 1, *Gyrodactylus* sp.n. 5, *Gyrodactylus* sp.n. 7, *Gyrodactylus* sp.n. 2, apresentam-se em um único clado com um suporte de 67%.

De acordo com os resultados obtidos pela análise Bayesiana e analisados pelo programa Tracer v.1.5 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/>) das espécies de Gyrodactylidae, o tamanho efetivo da amostra (ESS) está em 768,228. Esse valor está bastante acima do mínimo indicado de 100 (Tabela 13). Os parâmetros com valores de média, densidade posterior (HPD) e tamanho efetivo da amostra estão apresentados na Tabela 13. A análise Bayesiana indica a existência de seis tipos de substituição nucleotídica para 18S rDNA (Figura 9).

As análises filogenéticas das sequências de *cyt-b* das espécies representantes de Characiformes (Figura 12) e Siluriformes (Figura 14) foram consistentes com as análises de relacionamento filogenético encontradas na literatura (Alvez-Gomes, 2001; Calcagnotto et al., 2005; Cramer et al., 2011; Ortí e Meyer, 1997; Oliveira et al., 2001; Peng et al., 2006).

A filogenia baseada em dados moleculares das espécies representantes de Characiformes apresentou suportes de ramos (probabilidade posterior) bastante elevados (Figura 12). As espécies de Crenuchidae (*C. pterostictum* e *C. lanei*) apresentam-se em um clado distinto, com um suporte de ramo de 100%. Enquanto as espécies de Characidae apresentam-se agrupadas em dois clados, um contendo as espécies *B. microcephalus* e *Mimagoniates microlepis* (Steindachner, 1877) com um suporte de 100%, e um segundo com as espécies *D. langei*, *Astyanax janeiroensis* Eigenmann, 1908, *A. ribeirae* e *Oligosarcus hepsetus* (Cuvier, 1829), igualmente suportado em 100%. *Deuterodon langei*, apresenta-se como espécie irmã das espécies de *Astyanax* e *Oligosarcus*. Os parâmetros analisados pelo programa Tracer v.1.5 (média, densidade posterior (HPD) e tamanho efetivo) das espécies de Characiformes estão apresentados na Tabela 14. O tamanho efetivo da

amostra (ESS) do valor de verossimilhança ficou acima de 100 (ESS = 382). Os valores resultantes da análise Bayesiana para os tipos de substituições nucleotídicas do *cyt-b* para as espécies de Characiformes indicam quatro taxas de mutação distintas (Figura 11).

A hipótese filogenética para as espécies de Siluriformes apresentou elevado suporte de ramo (100%) (Figura 14). A posição de *S. barbatus* não é consistente com as hipóteses disponíveis para os Siluriformes e esse resultado é, portanto, considerado um artefato. Sendo assim, a posição filogenética da espécie foi definida de acordo com a literatura. Os demais Siluriformes foram separados em dois clados, ambos com suportes elevados. O primeiro clado com suporte de ramo de 100% apresentou as espécies de Pimelodidae (*Pimelodella pappenheimi* Ahl, 1925 e *Pimelodella chagresi* (Steindachner, 1877)), juntamente com as espécies de Heptapteridae (*Acentronichthys leptos* Eigenmann & Eigenmann, 1889, *Rhamdioglanis frenatus* Ihering, 1907 e *Rhamdioglanis transfasciatus* Miranda Ribeiro, 1908), sendo *A. leptos* grupo irmão das espécies de *Rhamdioglanis*. O segundo clado suportado em 98%, com as espécies de Loricariidae (*A. multispinnis*, *H. leucofrenatus*, *Rineloricaria* sp., *S. guntheri*, *K. lacerta* e *P. splendens*). *Ancistrus multispinnis* mostra-se como grupo irmão de *H. leucofrenatus* + *Rineloricaria* sp. suportado em 100%. Enquanto, *S. guntheri* apresenta-se como grupo irmão de *K. lacerta* + *P. splendens*, com suporte de ramo de 97%. Os parâmetros da análise Bayesiana, analisados pelo programa Tracer v.1.5 (média, densidade posterior (HPD) e tamanho efetivo da amostra), estão apresentados na Tabela 15. O tamanho efetivo da amostra (ESS) para o valor de verossimilhança foi ligeiramente maior do que o valor aceitável recomendado (ESS = 124). A análise indica ainda a existência de quatro tipos de substituição nucleotídica para esse conjunto de espécies (Figura 13). A partir desse cladograma, foi produzida a filogenia simplificada dos hospedeiros (Figura 15) com apenas as espécies hospedeiras que interagiram com espécies de Gyrodactylidae, e assim, fundamentar a análise de coevolução.

Coevolução

A BPA (Análise de Parcimônia de Brooks) primária de coevolução dos Gyrodactylidae e seus hospedeiros, baseada em dados moleculares apresentou um índice de consistência de 93% entre as respectivas topologias. Foram consideradas na análise de coevolução apenas as espécies hospedeiras que apresentaram interação com espécies de Gyrodactylidae (Tabela 16). De acordo

com a filogenia apresentada na figura 16, podemos observar que todas as espécies ovíparas de Gyrodactylidae são encontradas exclusivamente em loricarídeos. As espécies vivíparas, por outro lado, foram encontradas em espécies de *Characidium* e *Cyphocharax* e em três espécies vivíparas de Loricariidae.

A BPA (Análise de Parcimônia de Brooks) secundária (Figura 16), utilizando a matriz aditiva binária (Tabela 17), mostrou-se altamente congruente com a filogenia dos hospedeiros e completamente congruente aos módulos (codificados por cores na figura) apresentados nas redes dos girodactilídeos ovíparas e vivíparas. A análise separou claramente, ainda, as associações de Loricariidae e girodactilídeos ovíparas, enquanto que o agrupamento de associações envolvendo girodactilídeos vivíparas apresentou relações com espécies de Loricariidae, Crenuchidae e Curimatidae.

A interpretação putativa do relacionamento histórico entre hospedeiros e parasitos é apresentada na Figura 17. Todas as espécies de Gyrodactylidae estão identificadas com as cores dos módulos apresentados nas figuras 5 das espécies ovíparas e figura 6 das espécies vivíparas. Mais uma vez, podemos observar que todas as espécies ovíparas de Gyrodactylidae são encontrados exclusivamente em Loricarídeos. Os relacionamentos indicados pelos módulos de espécies ovíparas de Gyrodactylidae foram considerados decorrentes de processos não adaptativos associados a processos de coespeciação. Mesmo associações interpretadas como oriundas de processos dispersivos recentes ocorrem dentro de um mesmo módulo e dentro de um mesmo clado de espécies hospedeiras. A consideração de eventos de duplicação e extinção foram usados para explicar a distribuição de parasitos ovíparas em seus hospedeiros. Processos de extinção são, provavelmente, bastante comuns nos rios da região de estudos considerando a instabilidade do sistema ao longo do ano.

A história coevolutiva dos sistemas parasito-hospedeiros que envolvem espécies vivíparas é significativamente distinta. Como as filogenias mais recentes sugerem que os hospedeiros basais das espécies vivíparas são Siluriformes, a origem do clado vivíparo na presente análise foi definida dentro desse clado hospedeiro. Portanto, a origem do clado vivíparo é associada, necessariamente, com um evento de dispersão, assim como a origem da maioria das espécies vivíparas incluídas na análise. Em apenas um caso, *Gyrodactylus* sp.n.2 e *Gyrodactylus* sp.n.7, a diversificação parece associada a um grupo de hospedeiro, *C. santacatarinae*, por um processo

aparente de duplicação (especiação simpátrica). As espécies vivíparas, ao contrário das espécies ovíparas de Gyrodactylidae, estão limitadas em distribuição aos seus hospedeiros e não utilizam de forma sistemática outros hospedeiros em simpatria e sintopia.

Tabela 13. Resultados dos parâmetros obtidos pela análise bayesiana para as espécies de Gyrodactylidae.

<i>Parâmetros</i>	<i>Média</i>	<i>95% HPD lower</i>	<i>95% upper</i>	<i>Effective sample size (ESS)</i>
LNL	-5236,441	-5250,509	-5223,387	768,228
TL	1,398	1,231	1,557	769,796
r(A<->C)	9,216E-2	6,6152E-2	0,1184	1332
r(A<->G)	0,265	0,2222	0,3078	1158,052
r(A<->T)	0,142	0,1116	0,1699	1185,899
r(C<->G)	4,233E-2	2,4153E-2	5,9699E-2	1128,843
r(C<->T)	0,381	0,3305	0,433	1194,733
r(G<->T)	7,691E	5,4252E-2	9,7186E-2	1332
pi (A)	0,271	0,248	0,2935	1316,99
pi (C)	0,2	0,1794	0,2199	1122,14
pi (G)	0,256	0,2308	0,2756	1272,58
pi (T)	0,273	0,2533	0,2963	1332
Alpha	0,562	0,4421	0,6795	1268,472

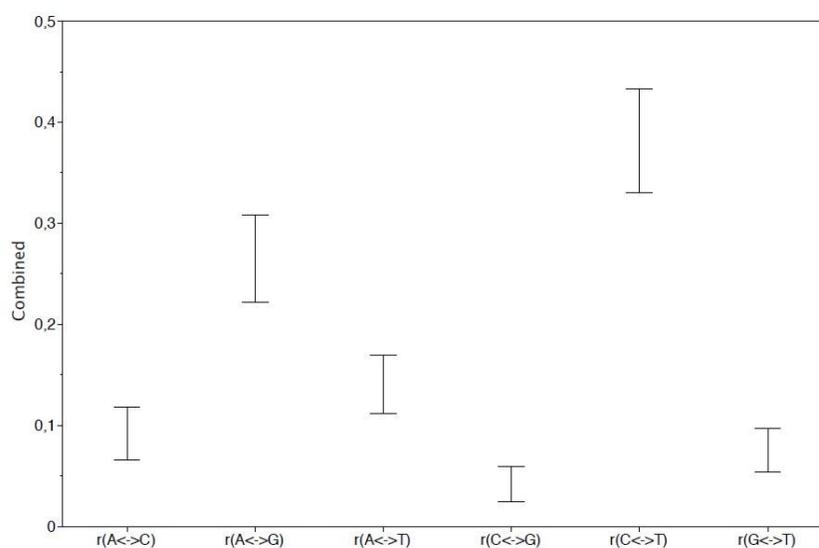


Figura 9. Representação gráfica dos tipos de substituição de nucleotídeos para as espécies apresentadas na filogenia de Gyrodactylidae. As barras indicam a média de cada substituição.

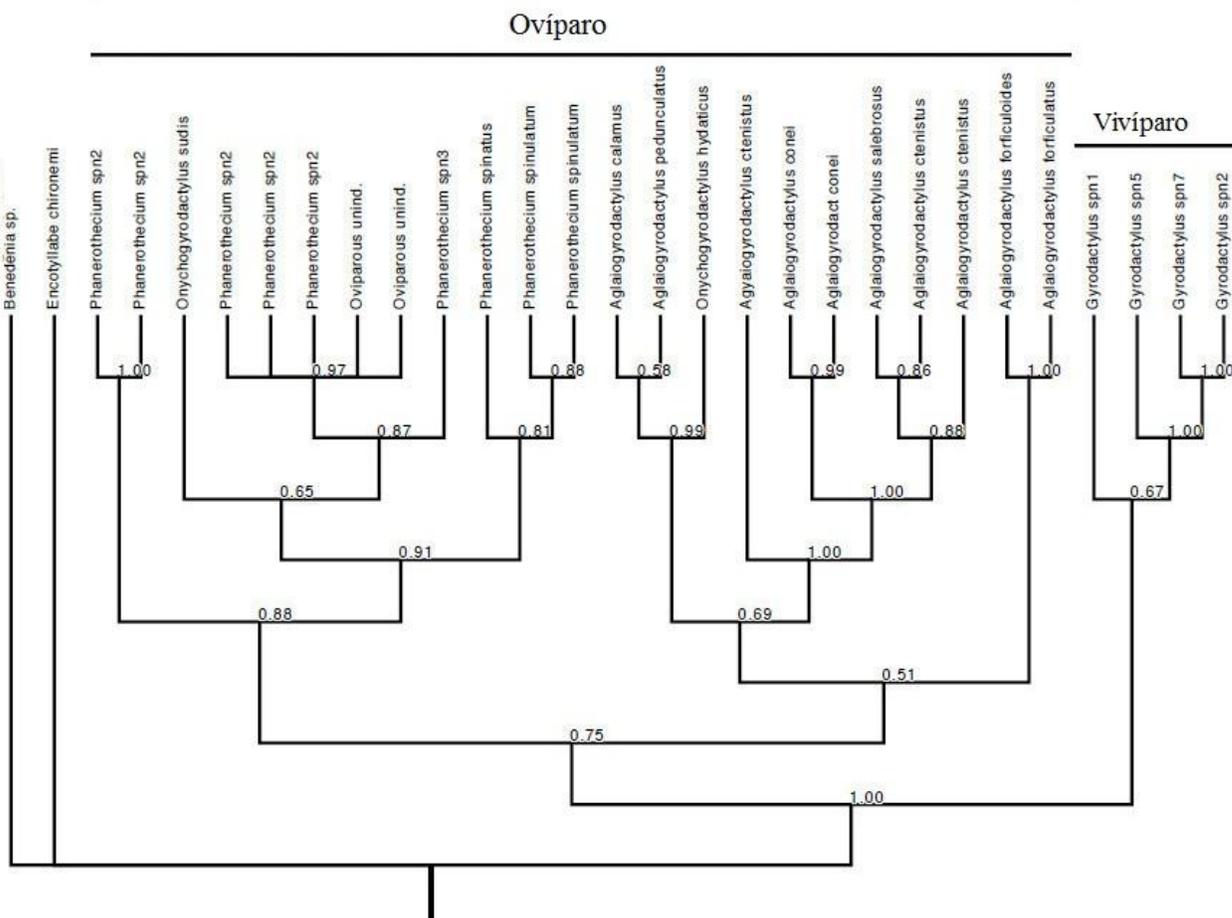


Figura 10. Filogenia das espécies ovíparas e vivíparas de Gyrodactylidae, baseada em dados moleculares de 18S rDNA.

Tabela 14. Resultados dos parâmetros obtidos pela análise bayesiana para as espécies de Characiformes.

<i>Parâmetros</i>	<i>Média</i>	<i>95% HPD lower</i>	<i>95% upper</i>	<i>Effective sample size (ESS)</i>
LNL	-6225,777	-6233,4	-6218,241	382
TL	3,052	2,529	3,529	290,45
r(A<->C)	7,85E-2	4,9796E-2	0,1025	262,882
r(A<->G)	0,267	0,2004	0,3214	382
r(A<->T)	8,681E-2	5,8139E-2	0,1111	349,57
r(C<->G)	2,537E-2	4,008E-3	4,6005E-2	334,626
r(C<->T)	0,512	0,4392	0,5688	382
r(G<->T)	3,081E-2	6,336E-3	5,2519E-2	308,411
pi (A)	0,277	0,2557	0,3031	265,207
pi (C)	0,32	0,3005	0,3391	367,687
pi (G)	0,123	0,105	0,1427	350,478
pi (T)	0,279	0,2602	0,2975	336,581
Alpha	0,804	0,4701	1,000	382

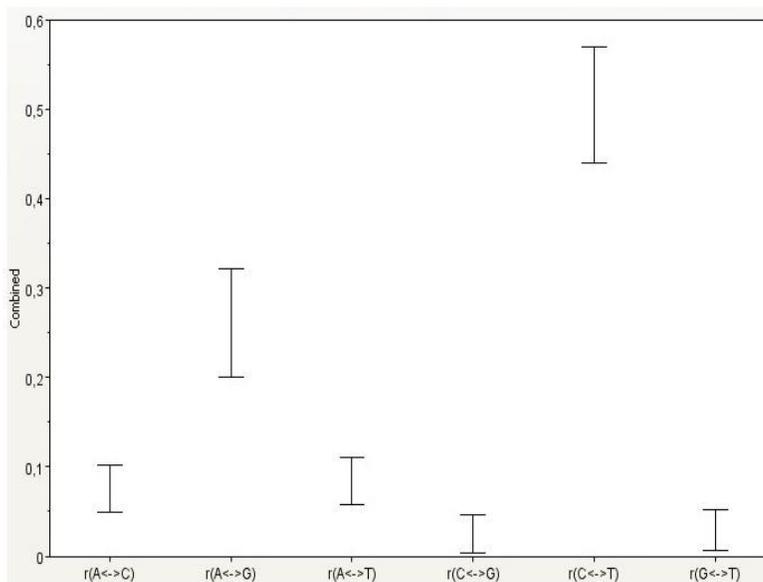


Figura 11. Representação gráfica dos tipos de substituição de nucleotídeos para as espécies apresentadas na filogenia de Characiformes. As barras indicam a média de cada substituição.

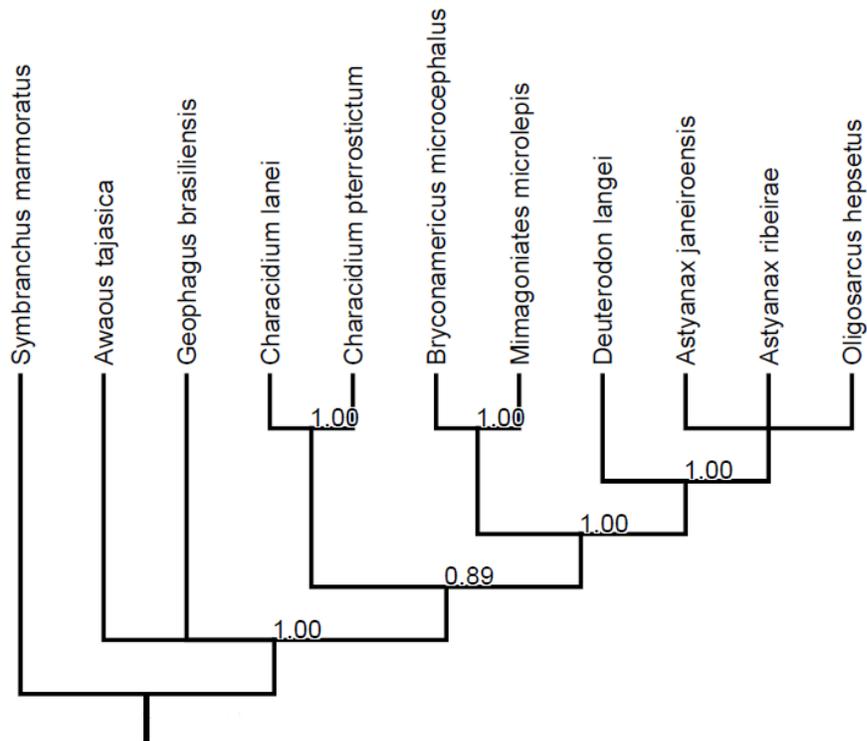


Figura 12. Filogenia das espécies de Characiformes, baseando-se em dados moleculares de *cyt b* (mtDNA).

Tabela 15. Resultados dos parâmetros obtidos pela análise bayesiana para as espécies de Siluriformes.

<i>Parâmetros</i>	<i>Média</i>	<i>95% HPD lower</i>	<i>95% upper</i>	<i>Effective sample size (ESS)</i>
LNL	-7452,317	-7460,389	-7445,935	124
TL	3,001	2,599	3,38	91,695
r(A<->C)	0,102	8,263E-2	0,1238	109,702
r(A<->G)	0,306	0,2537	0,3537	118,733
r(A<->T)	7,846E-2	6,05E-2	0,1002	94,01
r(C<->G)	3,063E-2	8,636E-3	4,7938E-2	107,01
r(C<->T)	0,448	0,3973	0,4986	106,298
r(G<->T)	3,538E-2	1,2297E-2	5,6482E2	69,268
pi (A)	0,29	0,2733	0,3184	124
pi (C)	0,335	0,3153	0,3553	78,184
pi (G)	0,112	9,8346E-2	0,1253	124
pi (T)	0,263	0,2485	0,2834	124
Alpha	0,282	0,2448	0,3178	124

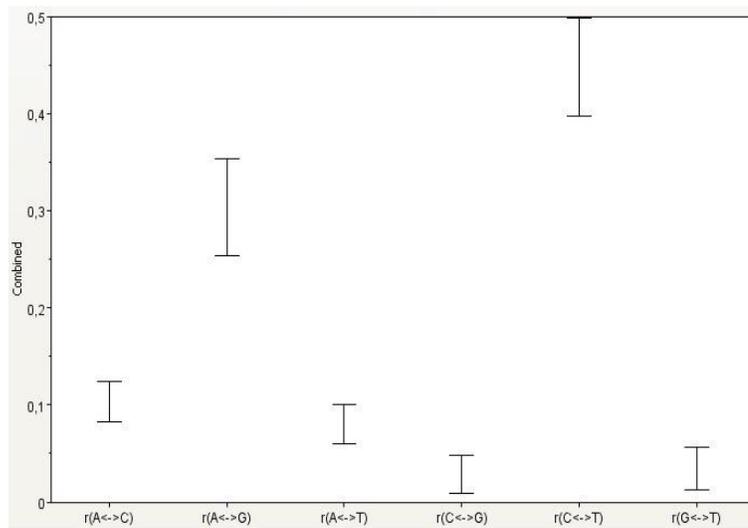


Figura 13. Representação gráfica dos tipos de substituição de nucleotídeos para as espécies apresentadas na filogenia de Siluriformes. As barras indicam a média de cada substituição.

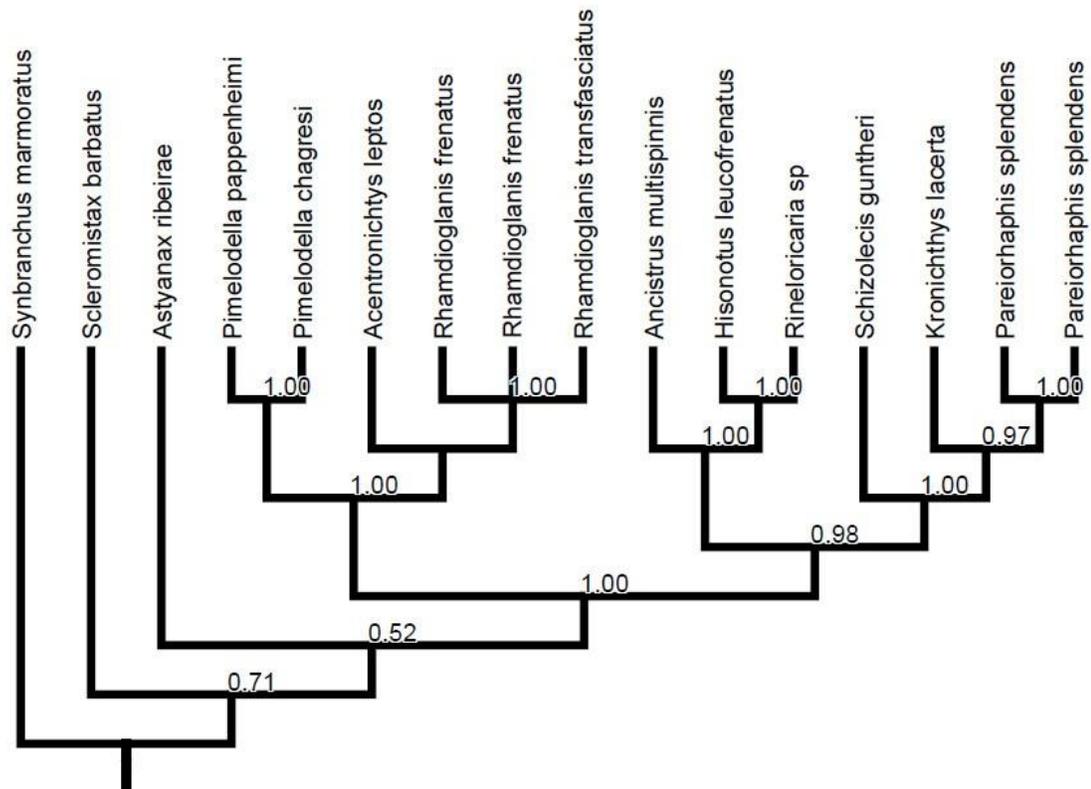


Figura 14. Relacionamento filogenético das espécies de Siluriformes, baseando-se em dados moleculares de *cyt-b* (mtDNA).

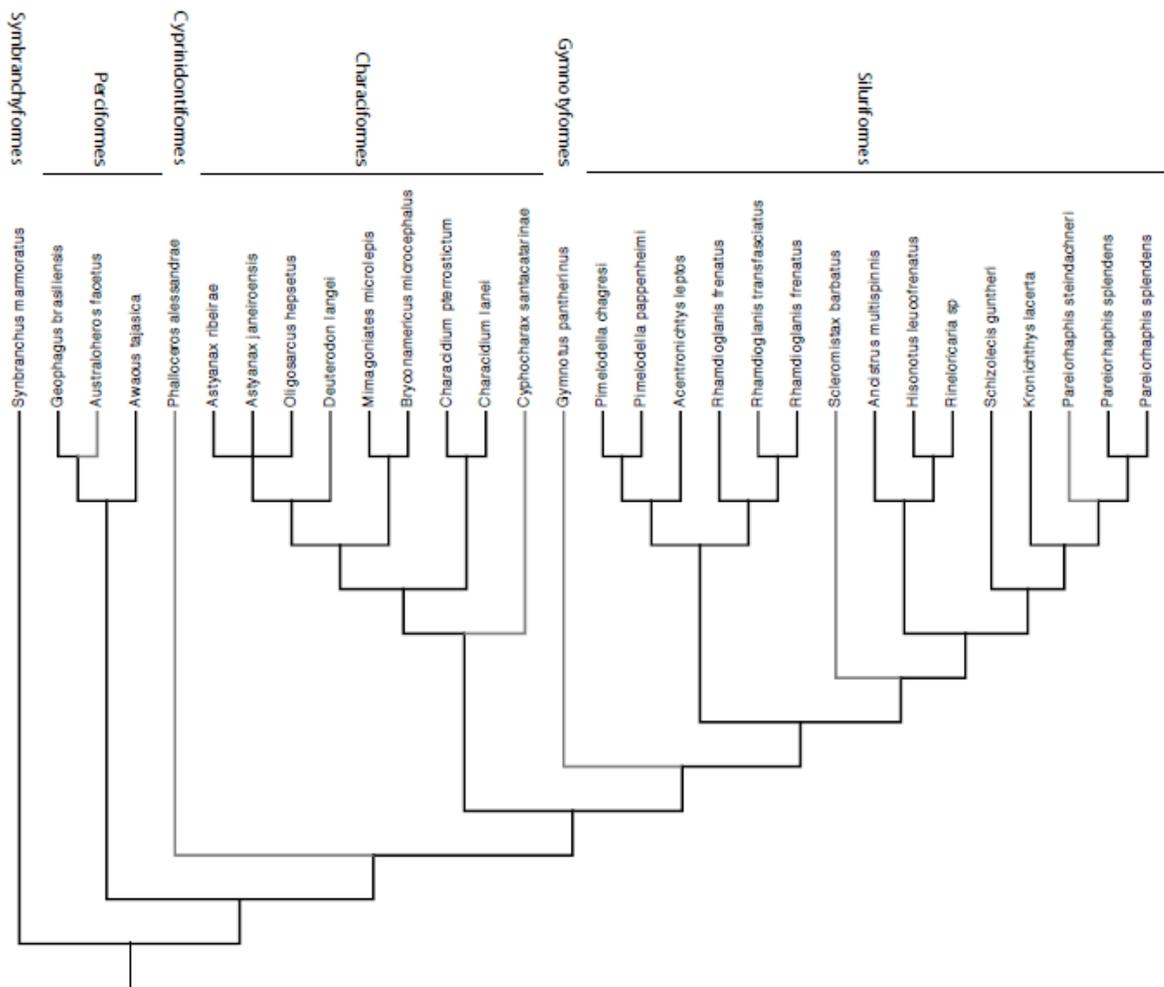


Figura 15. Relacionamento filogenético simplificado das espécies hospedeiras baseada em dados moleculares de *cyt-b* (mtDNA) e pela literatura. As espécies com linha cinza tiveram seu relacionamento filogenético baseado na literatura.

Tabela 16. Matriz de caracteres binários usados na análise de BPA primária para os hospedeiros de Gyrodactylidae obtida a partir do relacionamento filogenético de girodactilídeos e seus hospedeiros.

Hospedeiros	Codificação binária																													
	2	5	6	7	8	9	11	12	13	22	23	27	28	29	30	31	32	33	34	35	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54
<i>Characidium pterostictum</i>	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
<i>Characidium lanei</i>	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
<i>Cyphocharax santacatarinae</i>	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1
<i>Ancistrus multispinnis</i>	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0
<i>Hisonotus leucofrenatus</i>	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0
<i>Rineloricaria</i> sp	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0
<i>Schizolecis guntheri</i>	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Kronichthys lacerta</i>	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pareiorhaphis splendens</i>	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabela 17. Matriz de caracteres binários usados na análise de BPA secundária para os hospedeiros de Gyrodactylidae obtida a partir do relacionamento filogenético de girodactilídeos e seus hospedeiros.

Hospedeiros	Codificação binária																													
	2	5	6	7	8	9	11	12	13	22	23	27	28	29	30	31	32	33	34	35	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54
<i>Characidium pterostictum</i> + <i>Gyro.</i> spn1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	
<i>Characidium lanei</i> + <i>Gyro.</i> spn1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	
<i>Cyphocharax santacatarinae</i> + <i>Gyro.</i> spn2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	
<i>Cyphocharax santacatarinae</i> + <i>Gyro.</i> spn7	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	
<i>Ancistrus multispinnis</i> + <i>O. sudis</i>	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ancistrus multispinnis</i> + <i>O. hydaticus</i>	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ancistrus multispinnis</i> + <i>Gyro.</i> spn5	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	
<i>Hisonotus leucofrenatus</i> + <i>A. calamus</i>	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hisonotus leucofrenatus</i> + <i>A. pedunculatus</i>	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Rineloricaria</i> sp. + <i>Phanerothecium</i> spn2	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Rineloricaria</i> sp. + <i>P. spinatus</i>	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Schizolecis guntheri</i> + <i>A. forficulatus</i>	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Kronichthys lacerta</i> + <i>A. forficuloides</i>	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pareiorhaphis splendens</i> + <i>A. ctenistus</i>	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

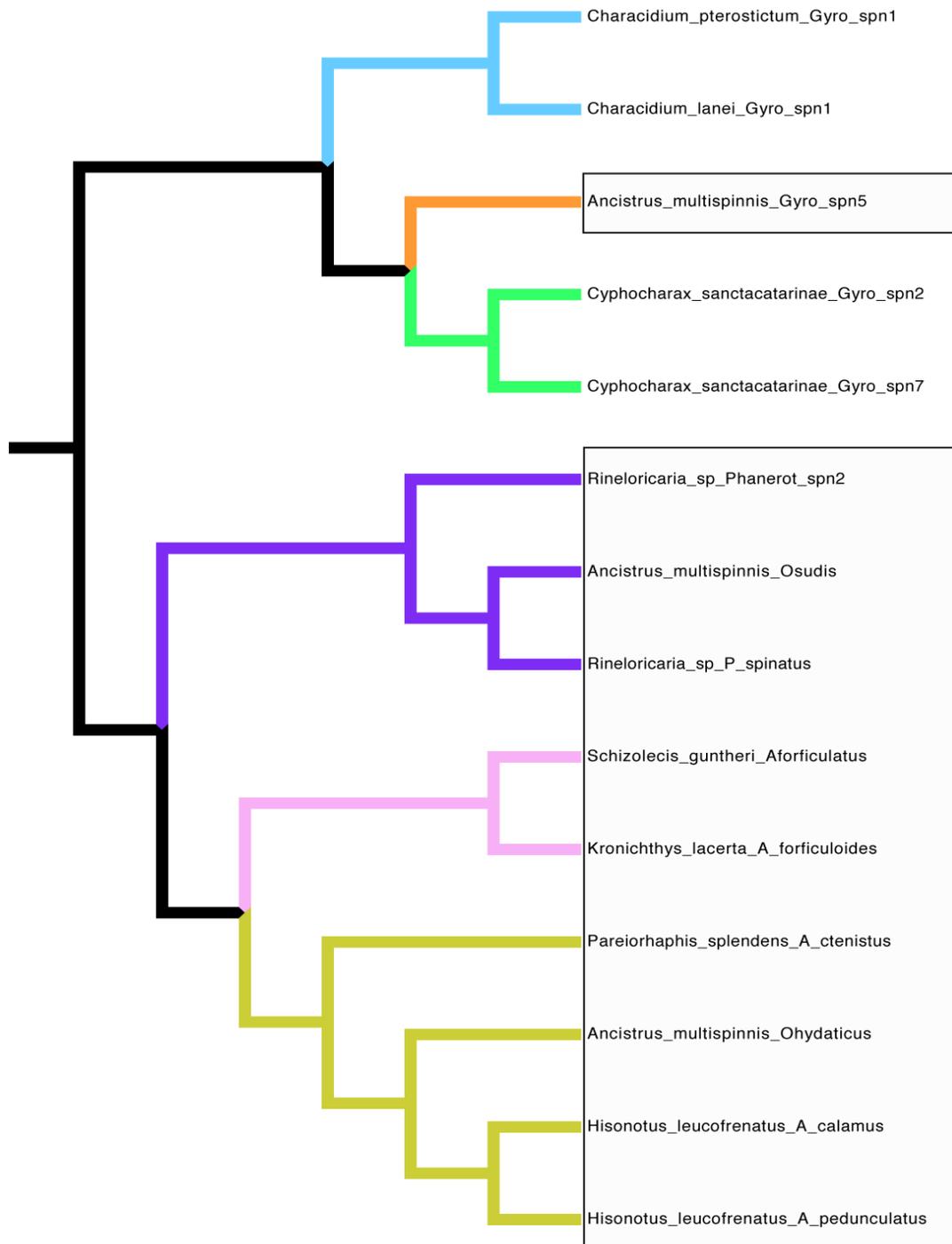


Figura 16. Reconstrução filogenética das espécies de Gyrodactylidae e seus hospedeiros, baseando-se nos caracteres binários, inferidos na Análise de Parsimonia de Brooks (BPA) secundária. As cores dos ramos representam as cores dos módulos das espécies de girodactílídeos ovíparos e vivíparos. Retângulos indicam associações de parasitos com espécies de Loricariidae.

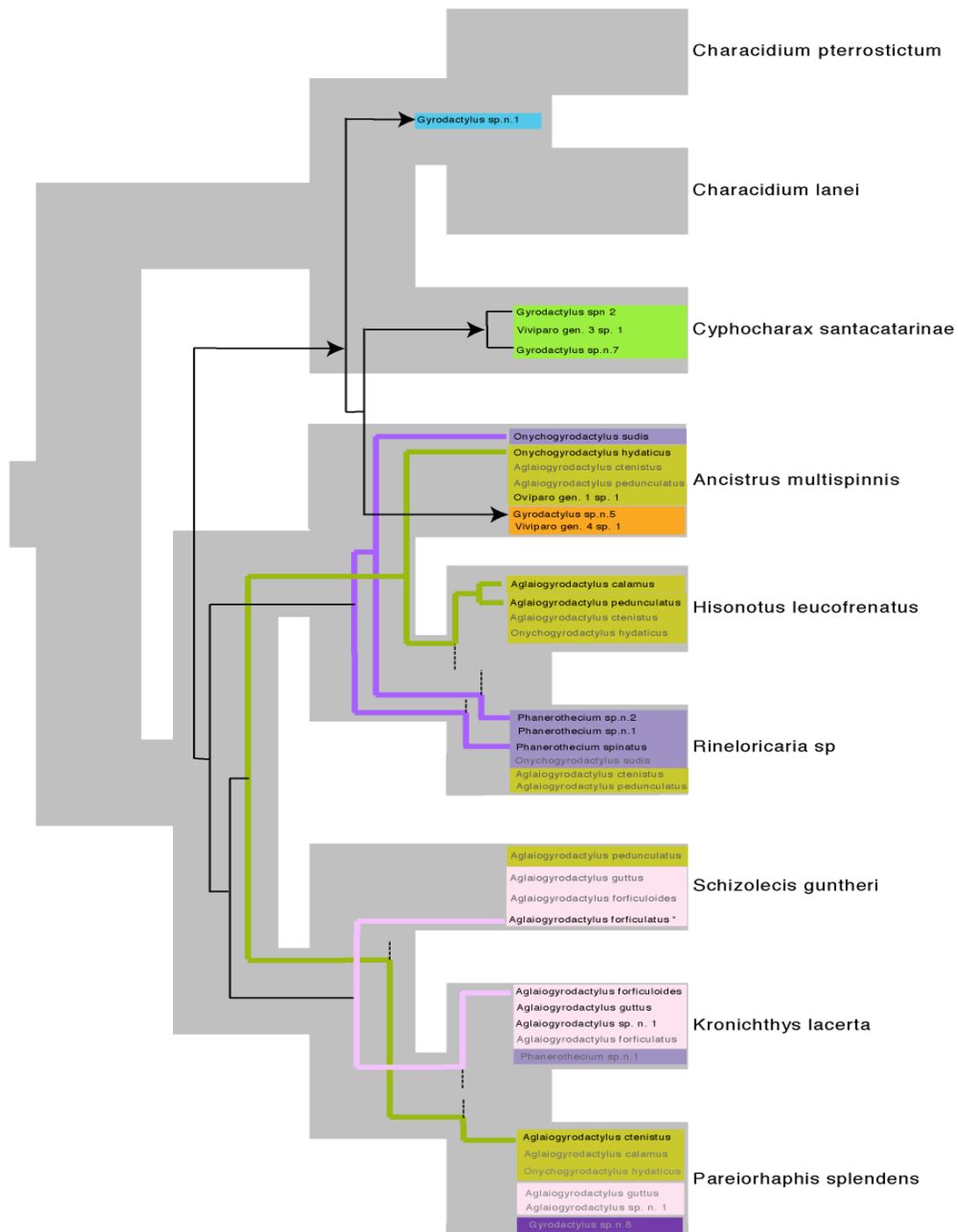


Figura 17. Reconstrução hipotética do relacionamento histórico das espécies de Gyrodactylidae e seus hospedeiros. As linhas em cinza representam a filogenia dos hospedeiros, e sobreposto em linhas sólidas apresenta-se a filogenia dos Gyrodactylidae. A cor das linhas da filogenia dos parasitos e dos retângulos corresponde as cores dos módulos resultantes da análise de modularidade (figura 5 e 6). Linhas tracejadas indicam extinção. Os girodactilídeos destacados em negrito indicam espécies com maior abundância no hospedeiro em questão; apenas aquelas usadas na análise são táxons terminais dos respectivos cladogramas. Girodactilídeos em cinza indicam espécies com menos abundância no hospedeiro e são considerados como resultado de dispersão recente.

DISCUSSÃO

O baixo número de sequências obtidas pelo gene 18S rDNA, deve-se a grande quantidade de testes realizados com os outros iniciadores, pois nesse processo foi gasto muito material genético disponível. Parte desse problema deve-se a grande dificuldade de obter volumes e concentrações de DNA suficientes durante o processo de extração total desses parasitos. No entanto, o principal desafio nesse trabalho foi a grande dificuldade de encontrar um marcador eficiente para amplificar tantas espécies de agrupamentos diferentes e principalmente produzir sequências com qualidade. Segundo Meinilä et al, (2004) a taxa de evolução para espécies de Gyrodactylidae vivíparos estimada para o gene *COI* foi de 13,7%. Essa grande variabilidade entre as espécies suporta a dificuldade de encontrar um iniciador universal que seja eficiente na amplificação de espécies representantes dos dois grupos de Gyrodactylidae. Uma solução para este problema poderá ser a síntese de iniciadores específicos para gêneros e/ou espécies em alguns casos.

A rede de interação de Gyrodactylidade e seus hospedeiros indica que ocorre uma forte interação entre as espécies do grupo ovíparo de Gyrodactylidae com espécies de Loricariidae, enquanto que as espécies parasitas do clado vivíparo fazem interações com quase todos os representantes das famílias de hospedeiros amostradas.

Girodactilídeos ovíparos mantêm relacionamento praticamente apenas com espécies de Loricariidae, exceto casos considerados eventuais (espécies de Pimelodidae). Entretanto, o padrão de interação observado entre as espécies do clado vivíparo e seus hospedeiros foi contrário a esse. Essas espécies vivíparas fazem interação com representantes de Loricariidae, Callichthyidae, Characidae, Curimatidae e Crenuchidae. Os resultados das redes de interação entre os girodactilídeos ovíparos e vivíparos corrobora com as previsões oriundas das hipóteses sobre a diversificação propostas por Boeger et al. (2003). Como sugerido por esses autores, existe claramente uma restrição das espécies ovíparas a parasitar hospedeiros Loricariidae, provavelmente vinculada à disponibilidade de uma superfície corporal rígida para fixação do ovo com a gotícula de cimento. Suporte adicional para essa hipótese existe no fato de que espécies ovíparas de girodactilídeos puderam utilizar como hospedeiros, mesmo com valores de abundância baixos, diversas outras espécies de hospedeiros loricarídeos, mas apenas eventualmente (e aparentemente, acidentalmente) foram encontradas sobre peixes de outras famílias.

De fato, os dois modelos nulos gerados para testar o aninhamento do grupo ovíparo e clado vivíparo indicaram maior valor para as espécies do grupo ovíparo. Indicando que as espécies desse grupo possuem maior número de interações com espécies hospedeiras amostradas no sistema estudado quando comparadas com as espécies do clado vivíparo. Apesar do valor de aninhamento do grupo ovíparo ser um pouco mais elevado do que o vivíparo, não podemos avaliar o quão aninhado encontram-se as espécies desses grupos. Sabe-se que o aninhamento é usado para medir o grau em que as espécies especialistas (com poucas interações) interagem com subconjuntos de espécies generalistas, ou seja, uma espécie de parasito que interage com apenas uma espécie hospedeira ou no máximo duas. Portanto, o padrão encontrado na figura 2, mostra um agrupamento de espécies especialistas ligado a um agrupamento de espécies generalistas. O problema é que o padrão de aninhamento não está muito definido para relações parasito-hospedeiro vertebrado (Graham et al., 2009). Estudos recentes analisaram a distribuição de especialização em redes de parasitos-hospedeiros de pulgas e roedores e redes de metazoários e peixes (Vazquez et al., 2005). Segundo esses autores os resultados sugerem que os padrões de interação entre metazoários parasitos de peixes e seus hospedeiros, e entre pulgas e seus hospedeiros mamíferos, são altamente assimétricos, ou seja, parasitas especialistas tendem a parasitar as espécies hospedeiras com alta riqueza de parasitismo, enquanto espécies hospedeiras com baixa riqueza de parasitas ser parasitados por espécies parasitas generalistas. Os resultados do presente estudo são consistentes com a hipótese de que este padrão de interação é uma consequência do fato de que as espécies mais abundantes tendem a ter mais ligações do que espécies raras. Assim, a estrutura observada nessas redes de interação pode ser um epifenômeno da abundância de espécies de subjacente distribuição (Vazquez et al., 2005).

De acordo com os resultados apresentados para análise de modularidade, foi possível observar que as espécies do clado vivíparo estão distribuídas em hospedeiros de diferentes táxons amostrados no estudo, mas ao contrário do esperado, essas espécies apresentaram um padrão de grande interação dentro de seus módulos, não ocorrendo interação com módulos externos, indicando que, apesar de bem distribuídas elas mostram um padrão de alta especificidade com seus hospedeiros (Figura 6). Por outro lado, as espécies do grupo ovíparo mostraram alta especificidade às espécies hospedeiras de Loricariidae (*K. lacerta*, *S. guntheri*, *H. leucofrenatus*, *A. multispinnis*, *Rineloricaria* sp., *Pareiorhaphis* sp. e *P. splendens*) (Figura 5). Mais uma vez, foi

possível observar que o padrão de distribuição das espécies ovíparas está restrita a um determinado grupo de hospedeiros, mas, além disso, a análise indicou que apesar dessa restrição, há um grande compartilhamento entre essas espécies de hospedeiro com seus parasitos ovíparas. A análise representa uma corroboração adicional à hipótese de Boeger et al. (2003) de restrição dessas espécies a hospedeiros que oferecem um recurso comum. Pode-se observar que a distribuição dos módulos foi condizente com a defendida por Boeger et al. (2003), mostrando que existe um ampla distribuição de hospedeiros, e uma grande especificidade com cada espécies hospedeira encontradas nos módulos.

Os valores de dependência e força das espécies ovíparas e vivíparas de Gyrodactylidae refletem o resultado observado nas redes de interações, indicando que as espécies que apresentaram maior dependência na rede fazem interações com apenas uma espécie hospedeira, logo sua dependência a um único recurso torna-se muito grande. Enquanto, que espécies que interagem com mais de uma espécie hospedeira tendem a diminuir sua dependência, ou seja, quanto mais recursos diferentes a espécie utilizar, menos dependente ela será de uma única espécie (Tabela 9 e 10). Logo, as espécies de Gyrodactylidae que possuem mais força na rede são as que utilizam mais recursos combinado com a abundância de cada parasito.

A análise filogenética das espécies de Gyrodactylidae indica a separação das espécies ovíparas, com um suporte de 75% e espécies vivíparas com 67% de suporte de ramo. A filogenia indica com suporte de 88% um agrupamento das espécies de *Phanerothecium* e um segundo agrupamento para espécies de *Agelaiogyrodactylus* (51%). As espécies de *O. sudis* e *O. hydaticus*, apresentam-se separadas entre esses agrupamentos; *O. sudis* apresenta-se no agrupamento das espécies de *Phanerothecium* com suporte de ramo de 65% e *O. hydaticus* apresenta-se juntamente com espécies de *Agelaiogyrodactylus* com suporte de ramo de 99%, sugerindo que *Onychogyrodactylus* não representa um agrupamento monofilético. Não é o objetivo desse estudo resolver essa dúvida taxonômica, mas o problema deverá ser abordado em estudo subsequente.

As análises filogenéticas dos hospedeiros Siluriformes e Characiformes apresentaram-se congruente a filogenias encontradas na literatura (Alvez-Gomes, 2001; Calcagnotto et al., 2005; Cramer et al., 2011; Ortí e Meyer, 1997; Oliveira et al., 2001; Peng et al., 2006).

A análise de coevolução entre as espécies de Gyrodactylidae e seus hospedeiros mostraram-se igualmente congruentes com hipótese de Boeger et al.(2003), mas as evidências geradas aqui

permitem uma expansão do modelo de diversificação proposto por esses autores. Processos adaptativos prevaleceram na reconstrução coevolutiva dos Gyrodactylidae vivíparos, explicando a atual distribuição das espécies analisadas como sendo resultado de processos de troca de hospedeiros. A distribuição primária dos Gyrodactylidae ovíparos (considerando hospedeiros primários aqueles nos quais um determinado parasito apresenta maiores valores de abundância), entretanto, parece ser resultado de processos vicariantes (e.g. coespeciação) apesar de eventos de duplicação e extinção serem necessários.

Como proposto em diversos estudos, linhagens vivíparas apresentam um elevado potencial de troca de hospedeiros, incluindo aparentemente eventos entre peixes de grupos evolutivos e taxonômicos distintos, como Characiformes e Siluriformes. Esses parasitos, entretanto, parecem ser bastante limitados no uso de outros recursos (hospedeiros sintópicos) para a manutenção de sua população local. Exceto por *Gyrodactylus* sp. n. 1 que ocorre em duas espécies de *Characidium*, nenhuma outra espécie vivípara foi coletada em mais do que uma espécie hospedeira. Ou seja, eles apresentam especificidade parasitária elevada. Ao contrário, os Gyrodactylidae ovíparos, apesar de estarem como grupo limitado aos Loricariidae (no presente estudo, pelo menos) são bastante eficientes no uso de recursos compatíveis (hospedeiros sintópicos), desde que da mesma família. Um exemplo de espécie de ampla distribuição é *A. pedunculatus*, que foi coletada em quatro espécies distintas de loricarídeos no local de estudo.

A congruência entre a análise de redes ecológicas e a análise de coevolução, especialmente observada no cladograma gerado pela análise de BPA secundária, permite criar um cenário fundamental para a compreensão dos processos de diversificação dos dois grupos de Gyrodactylidae, os quais parecem se diferenciar em sua essência. A congruência entre as duas análises para o clado formado por girodactilídeos vivíparos é decorrente do fato de que todos os módulos são pequenos e incluem uma espécie de parasito e uma espécie de hospedeiro, em um caso, duas espécies irmãs (*Characidium* spp.). No caso das espécies ovíparas, a congruência é diretamente associada a processos de coespeciação. Enquanto os parasitos vivíparos apresentam características fundamentais para maximizar sua habilidade de colonizar novas linhagens de hospedeiros (vide Boeger et al., 2003, 2005; Bueno-Silva et al., 2011), eles aparentemente passam por um processo de especialização/adaptação a linhagem do hospedeiro que o limita em termos de uso de recursos representado por hospedeiros de linhagens mais distantes. Mesmo que o presente

estudo tenha sido desenvolvido em um pequeno trecho de rio, no qual os componentes da ictiocenose apresentam elevada proximidade ou contato físico, as espécies vivíparas não apresentaram-se capazes de parasitar outras espécies hospedeiras.

As espécies ovíparas, por outro lado, mesmo limitadas em distribuição devido às características de seu ovo, diversificam primariamente pelo processo de coespeciação. Apesar delas também estarem envolvidas em processos de especialização aos seus hospedeiros, esses representam recursos fundamentalmente semelhantes devido a sua ancestralidade recente. Portanto, espécies de hospedeiros do grupo, que representam recursos semelhantes, provavelmente representam recursos adequados para as espécies vivíparas, mesmo que em proporções menores do que a sua linhagem hospedeira “primária”. Esse cenário é plenamente compatível com conceitos mais atuais sobre o relacionamento de parasito-hospedeiros denominado de “ecological fitting”, definido por Brooks e McLennan (2002). Como observado para as comunidade composta por anuros e trematódeos estudada por Brooks et al. (2006), a estrutura da comunidade de peixes e seus Gyrodactylidae estudadas aqui parecem ser fortemente determinadas pelo processo de “ecological fitting”. Segundo o autor, um parasito pode ser ecologicamente especializado e ainda trocar de hospedeiro, ou seja, se o recurso é generalizado em muitas espécies hospedeiras, então o parasito pode tirar vantagem dessa característica e estabelecer uma nova associação especializada sem o custo de envolver novas habilidades.

BIBLIOGRAFIA

- Alvez-Gomes, J. A., 2001. The evolution of electroreception and bioelectrogenesis in teleost fish: a phylogenetic perspective. *Journal of Fish Biology*, v.58, p.1489–1511.
- Bakke, T. A.; Harris, P. D.; Cable, J., 2002. Host specificity dynamics: observations on gyrodactylid monogeneans. *International Journal for Parasitology*, v.32, p.281-308.
- Barabási, A - L.; Albert, R., 1999. Emergence of scaling in random networks. *Nature*, London, v.399, p.130.
- Bascompte, J.; Jordano P.; Olesen J. M., 2006. Asymmetric coevolutionary networks facilitate biodiversity. *Science*, v.312, p.431-433.
- Bascompte J.; Jordano P., 2007. Plant-Animal Mutualistic Networks - The Architecture of Biodiversity. *ARES maintenance Science*, p.567-593.
- Blüthgen, N.; Menzel, F.; Blüthgen, N., 2006. Measuring specialization in species interaction networks. BMC [BioMed Central] *Ecology*, v.6, p.9.
- Blüthgen, N.; Fründ, J.; Vázquez, P.; Menzel, F., 2008. What do interaction network metrics tell us about specialization and biological traits. *Ecology*, v.89 (12), p.3387-3399.
- Boeger, W. A.; Kritsky, D. C.; Belmont-Jégu, E., 1994. Neotropical Monogenoidea. 20. Two new species of oviparous Gyrodactylidea (Polyonchoinea) from loricariid catfishes (Siluriformes) in Brazil and the phylogenetic status of Oeogyrodactylidae Harris, 1983. *Journal of the Helminthological Society of Washington*, v.61, p.34–44.
- Boeger, W. A.; Kritsky, D. C., 1997. Neotropical Monogenoidea. 32. *Cacatuocotyle paranaensis* n.g., n.sp. (Dactylogyridae, Ancyrocephalinae) from *Characidium* spp. (Teleostei, Characidae) from the States of Paraná, Brazil. *Systematic Parasitology*, v.36, p.277-289.
- Boeger, W. A.; Kritsky, D. C., 2001. Phylogenetic relationships of the Monogenoidea. In D. T. J. Littlewood & R. A. Bray (Eds) *Interrelationships of the Platyhelminthes*, London: Taylor & Francis, p.92–102.
- Boeger, W. A.; Kritsky, D. C.; Pie, M. R., 2003. The context of diversification of the viviparous Gyrodactylidae. *Zoologica Scripta*, v.32(5), p.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). *Journal Parasitol*, v.91, p.1000-1007.
- Boeger, W. A.; Vianna, R. T.; Thatcher, V. E., 2006. Monogenoidea. Capitulo 3. In: Aquatic Biodiversity in Latin America. Vol. 1. Amazon fish parasites (Second 9 edition), Vernon E. Thatcher. Eds. Joachim Adis, Jorge R. Arias, Guillermo Rueda-Delgado e Karl Matthias Wantzen. *Pensoft Series Faunisticas*. Sofia- Moscow, p.42-116
- Brooks, D. R., 1981. Hennig's parasitological method: a proposed solution. *Systematic Zoology*, v.30, p.229-249.
- Brooks, D. R., 1990. Parsimony analysis in historical biogeography and coevolution: methodological and theoretical update. *Systematic Zoology*, v.42, p.14-30.
- Brooks, D. R.; McLennan, D., 1991. Phylogeny, Ecology, and Behavior: A Research Program in Comparative Biology. *University of Chicago Press*, Chicago, 434 p.
- Brooks, D. R.; McLennan, D. A., 1993. Comparative study of adaptative radiations with an example using parasitic flatworms (Platyhelminthes: Cercomeria). *The American Naturalist*, v.142, p.755-778.
- Brooks D. R.; Van Veller, M. G. P.; McLennan, D. A., 2001. How to do BPA, really. *Journal of Biogeography*, v.28, p.345-358.
- Brooks, D. R.; McLennan, D. A., 2002. The nature of diversity: an evolutionary voyage of discovery. *University of Chicago Press*, Chicago. 668p.
- Brooks, D.; León-Règagnon, V.; McLennan, D.; Zelmer D., 2006. Ecological fitting as a determinant of the community structure of platyhelminth parasites of anurans. *Ecology*, v.87(7), p.S76-S85.
- Brown, W. M.; George, Jr. M.; Wilson, A. C., 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v.76, p.1967-1971.
- Bueno-Silva, M.; Boeger, W. A.; Pie, M. R., 2011. Choice matters: Incipient speciation in *Gyrodactylus corydori* (Monogenoidea: Gyrodactylidae). *International Journal for Parasitology*, v.41, p.657-667.

- Bush, A. O.; Lafferty, K. D. L.; Lotz, J. M.; Shostak, A. W., 1997. Parasitology meets ecology on terms: Margolis et al. Revisited. *Journal Parasitol*, v.83, p.575-583.
- Cable, J.; Harris, P. D., 2002. Gyrodactylid developmental biology: historical review, current status and future trends. *International Journal for Parasitology*, v.32, p.255–280.
- Calcagnotto, D.; Schaefer, S. A.; Desalleb, R., 2005. Relationships among characiform fishes inferred from analysis of nuclear and mitochondrial gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v.36, p.135–153.
- Cramer, C. A.; Bonatto, S. L.; Reis, R. E., 2011. Molecular phylogeny of the Neoplecostominae and Hypoptopomatinae. *Molecular Phylogenetics and Evolution* v.59, p.43–52.
- Dormann, C. F.; Gruber, B.; Fründ, J., 2008. Introducing the bipartite package: analysing ecological networks. *R News*, v.8(2), p.8–11.
- Drummond, A. J.; Ashton, B.; Buxton, S.; Cheung, M.; Cooper, A.; Duran, C.; Field, M.; Heled, J.; Kearse, M.; Markowitz, S.; Moir, R.; Stones-Havas, S.; Sturrock, S.; Thierer, T.; Wilson, A., 2011. Geneious v5.4, Available from <http://www.geneious.com/>.
- Graham, S. P.; Hassan, H. K.; Burkett-Cadena, N. D.; Guyer C.; Unnasch, T. R., 2009. Nestedness of Ectoparasite-Vertebrate Host Networks. *PLoS ONE*, v.4(11), p.78-73.
- Guimarães, P. R. Jr.; Guimarães, P., 2006. Improving the analyses of nestedness for large sets of matrices. *Environmental Modelling & Software*, v.21, p.1512–1513.
- Guimarães, P. R. Jr.; Rico-Gray, V.; Oliveira, P. S.; Izzo, T. J.; dos Reis, S. F.; Thompson, J. N., 2007. Interaction intimacy affects structure and coevolutionary dynamics in mutualistic networks. *Current Biology*, v.17, p.1797-1803.
- Guimera, R.; Amaral, L. A. N., 2005a. Cartography of complex networks: modules and universal roles. *Journal of Statistical Mechanics: Theory and Experiment*, v.1, P02001.
- Guimera, R.; Amaral, L. A. N., 2005b. Functional cartography of complex metabolic networks. *Nature*, v.433, p.895–900.
- Hall, T. A., 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Er*, v.41, p.95-98.

- Harris, P. D., 1983. The morphology and life cycle of the oviparous *Oögyrodactylus farlowellae* gen. et sp. n. (Monogenea, Gyrodactylidea). *Parasitology*, v.87, p.405–420.
- Humason, L., 1979. *Animal Tissue Techniques*. W.H. Freeman and Company, 4th ed. San Francisco, p.661.
- Jordano, P.; Bascompte, J.; Olesen, M., 2003. Invariant properties in coevolutionary networks of plant–animal interactions. *Ecology Letters*, v.6, p.69–81.
- Kearn, G. C., 1986. The eggs of monogeneans. *Advances in Parasitology*, v.25, p.175–273.
- Kearn, G. C., 1993. A new species of the genus *Enoplocotyle* (Platyhelminthes: Monogenea) parasitic on the skin of moray eel *Gymnothorax kidako* in Japan, with observations on hatching and the oncomiracidium. *Journal of Zoology*, London, v.229, p.533–544.
- Kearn, G. C., 1998. Ecological and genetic evidence for clonal reproduction in *Gyrodactylus gasterostei* Glaser, 1974. *International Journal for Parasitology*, v.28, p.1595–1607.
- Kritsky, D. C.; Boeger, W. A., 1991. Neotropical Monogenea. 16. New species of oviparous Gyrodactylidea with proposal of *Nothogyrodactylus* gen. n. (Oogyrodactylidae). *Journal of the Helminthological Society of Washington*, v.58, p.7–15.
- Kritsky, D. C.; Boeger, W. A., 2003. Phylogeny of the Gyrodactylidae and the phylogenetic status of *Gyrodactylus* Nordmann, 1832 (Platyhelminthes: Monogenoidea). In Combes C. & Jourdan, J. (Eds) *Taxonomie, écologie et évolution des métazoaires parasites. Taxonomy, ecology and evolution of metazoan parasites* (Livre hommage à Louis Euzet). Tome 2. PUP Perpignan: p.37–58.
- Kritsky, D. C.; Vianna, R. T.; Boeger, A., 2007. Neotropical Monogenoidea. 50. Oviparous gyrodactylids from loricariid and pimelodid catfishes in Brazil, with the proposal of *Phanerothecioides* n. g., *Onychogyrodactylus* n. g. and *Agelaiogyrodactylus* n. g. (Polyonchoinea: Gyrodactylidea). *Syst. Parasitol*, v.66, p.1–34.
- Littlewood, D. T. J; Bray, R. A., 2001. Interrelationships of the Platyhelminthes. *The Systematics Association Special*, v.60, p.1–356.
- Macdonald, S.; Llewellyn, J., 1980. Reproduction in *Acanthocotyle greeni* n. sp. (Monogenea) from the skin of *Raia* spp. at Plymouth. *Journal of the Marine Biology Association of the United Kingdom*, 60, p.81–88.

- Maddison, W. P.; Maddison, D. R., 2011. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.75 <http://mesquiteproject.org>.
- Malmberg, G., 1964. Taxonomical and Ecological Problems in *Gyrodactylus* (Trematoda, Monogenea). In: Ergens, R. & Ryssavy, L. (Eds) Parasite worms and aquatic condition. *Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences*. p.205-226.
- Malmberg, G., 1970. The excretory systems and the marginal hooks as a basis for the systematic of *Gyrodactylus* (Trematoda, Monogenea). *Arkiv for Zoologi*, v.23, p.1-235.
- Malmberg, G., 1998. On the evolution within the family Gyrodactylidae (Monogenea). *International Journal for Parasitology*, v.28, p.1625-1635.
- Meinilä, M.; Kuusela, J.; Ziêtara, M. S.; Lumme, J., 2004. Initial steps of speciation by geographic isolation and host switch in salmonid pathogen *Gyrodactylus salar* (Monogenea: Gyrodactylidae). *International Journal for Parasitology*, v.34, p.515–526.
- Meyer, A.; Kocher, T. D.; Basasibwaki, P., 1990. Monophyletic origin of victoria cichlid fish suggested by mitochondrial DNA sequences. *Nature*, v.347, p.550-553.
- Misawa, K.; Miyata, K., 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform (NucleicAcids Res.30:3059-3066).
- Oie, 2003. International aquatic animal health code — fish, molluscs and crustaceans, 6th edn. *Office International des Epizooties, Paris*.
- Oliveira, C.; Avelino, G. S.; Abe, K. T.; Mariguela, T. C.; Benine, R. C.; Ortí, G., 2011. Phylogenetic relationships within the speciose family Characidae (Teleostei: stariophysi: Characiformes) based on multilocus analysis and extensive ingroup sampling. *Evolutionary Biology*, v.11, p.275.
- Olson, P. D.; Littlewood, D. T. J., 2002. Phylogenetics of the Monogenea – evidence from a medley of molecules. *International Journal for Parasitology*, v.32(3), p.233–244.
- Ortí, G.; Meyer, A., 1997. The radiation of characiform fishes and the limits of resolution of mitochondrial ribosomal DNA sequences. *Systematic Biology*, v.46(1), p.75-100.
- Palumbi, S. R., 1996. Nucleic acids II: The polymerase chain reaction. In: Hillis D.M., Moritz C., Mable B.K. (eds) Molecular systematics. *Sinauer Associates, Inc*, p. 205–247.
- Poulin, R., 2010. Network analysis shining light on parasite ecology and diversity. *Trends in Parasitology*, v. 26 (10), p.492-498.

- Penn, O.; Privman, E.; Ashkenazy, H.; Landan, G.; Graur, D.; Pupko, T., 2010. GUIDANCE: a web server for assessing alignment confidence scores. *Nucleic Acids Research*, Jul 1; 38 (Web Server issue):W23-W28; doi: 10.1093/nar/gkq443.
- Peng, Z.; He, S.; Wang, J.; Wang, W., Diogo, R., 2006. Mitochondrial molecular clocks and the origin of the major *Otocephalan clades* (Pisces: Teleostei): A new insight. *Gene*, v.370, p.113–124.
- R Development Core Team, 2011. R: A Language and Environment for Statistical Computing. *R Foundation for Statistical Computing, Vienna*.
- Ronquist, F.; Huelsenbeck, J. P., 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference undermixed models. *Bioinformatics*: v.19, p.1572-1574.
- Seutin, G.; White, B. N.; Boag, P. T., 1991. Preservation of avian blood and tissue samples for DNA analyses. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne de Zoologie*, v.69, p.82-90.
- Vázquez, D. P.; Poulin, R.; Krasnov, B. R.; Shenbrot, G. I., 2005. Species abundance and the distribution of specialization in host-parasite interaction networks. *Journal of Animal Ecology*, v.74, p.946-955.
- Vázquez, D. P., 2010. Miscellaneous functions for analysis of ecological interaction Networks. Package ecolnet v.0, p.1-4.
- Ziêtara, M. S.; Arndt, A.; Geets, A.; Hellemans, B.; Volckaert, F. A. M., 2000. The nuclear rDNA region of *Gyrodactylus arcuatus* and *G. branchicus* (Monogenea: Gyrodactylidae). *Journal of Parasitology*, v.86, p.1368-1373.