

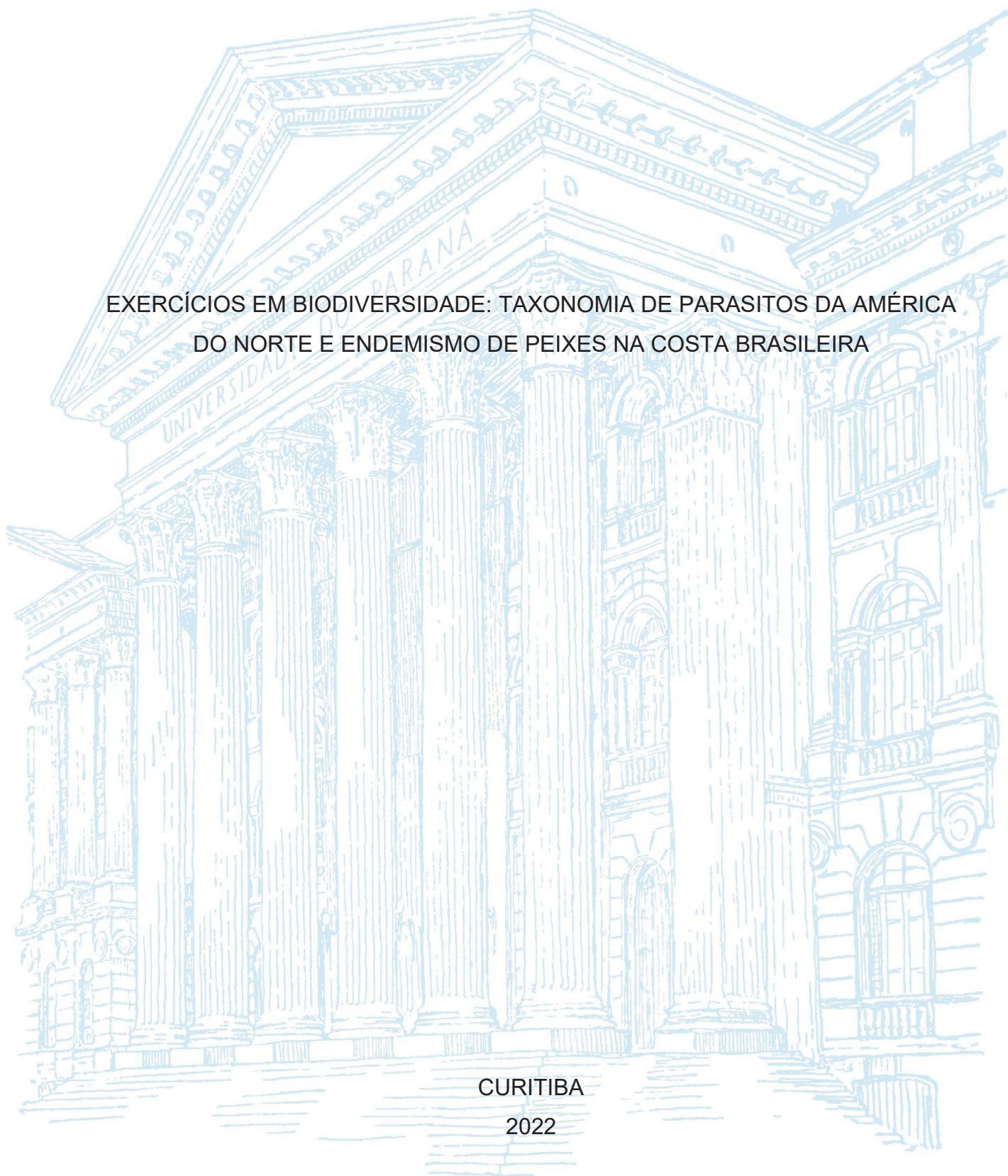
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JULIANA ROSA MATIAS CICCHETO

EXERCÍCIOS EM BIODIVERSIDADE: TAXONOMIA DE PARASITOS DA AMÉRICA
DO NORTE E ENDEMISMO DE PEIXES NA COSTA BRASILEIRA

CURITIBA

2022



JULIANA ROSA MATIAS CICCHETO

EXERCÍCIOS EM BIODIVERSIDADE: TAXONOMIA DE PARASITOS DA AMÉRICA
DO NORTE E ENDEMISMO DE PEIXES NA COSTA BRASILEIRA

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação.

Orientador: Prof. Dr. Walter Antonio Boeger

Coorientador: Dr. Emanuel Luis Razzolini

CURITIBA

2022

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS
BIOLÓGICAS

Ciccheto, Juliana Rosa Matias.

Exercícios em biodiversidade: taxonomia de parasitos da América do Norte e endemismo de peixes na costa brasileira. / Juliana Rosa Matias Ciccheto. – Curitiba, 2022.

1 recurso on-line : PDF.

Orientador: Walter Antonio

Boeger. Coorientador: Emanuel Luis
Razzolini.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação.

1. Morfologia (Animais). 2. Filogenia. 3. Taxonomia. 4. Peixes – América do Norte. 5. Peixes – Brasil. 6. Peixes – Ecologia. 7. Peixes – Parasitos. I.

Bibliotecária: Rosilei Vilas
Boas CRB-9/939



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ECOLOGIA E
CONSERVAÇÃO - 40001016048P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **JULIANA ROSA MATIAS CICCHETO** intitulada: **EXERCÍCIOS EM BIODIVERSIDADE: TAXONOMIA DE PARASITOS DA AMÉRICA DO NORTE E ENDEMISMO DE PEIXES NA COSTA BRASILEIRA**, sob orientação do Prof. Dr. WALTER ANTONIO PEREIRA BOEGER, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 16 de Agosto de 2022.

Assinatura Eletrônica

16/08/2022 13:41:14.0

WALTER ANTONIO PEREIRA BOEGER

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

16/08/2022 15:02:18.0

SIMONE CHINICZ COHEN

Avaliador Externo (FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ)

Assinatura Eletrônica

16/08/2022 13:14:57.0

KARLA MAGALHÃES CAMPIÃO

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Centro Politécnico - Setor de Ciências Biológicas – CURITIBA Paraná – Brasil

CEP 81531980 - Tel: (41) 3361-1595 - E-mail: ecologia@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 215578

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 215578

DEDICATÓRIA

À memória de minhas avós, Aurora Iglesias Ciccheto e Rosa Zanchetti Matias, dedico este trabalho.

Um professor não seria assim nomeado se não tivesse a quem ensinar, cada conhecimento válido que obtemos na vida se dá através de um sábio ensinamento. Hoje reconheço a formação e profissão de um (a) professor (a), mas ousou designar tantos que de formação pouco tiveram, mas de conhecimento muito ensinaram. Em minha vida, os ensinamentos delas permanecerão.

Dedico e dedicarei, durante toda minha trajetória, minhas pesquisas e trabalhos, à elas.

Com muito amor e saudade.

AGRADECIMENTOS

Todo o processo para me tornar candidata à mestra não foi fácil – ainda mais em uma pandemia. Este foi um processo solitário – ainda mais com exigências de distanciamento social durante uma pandemia. Contudo, não teria chegado nem na metade desta trajetória se não estivesse bem acompanhada.

Em muitos momentos precisei relembrar o porquê de minhas escolhas e traçar novamente meus objetivos. Nessas oscilações entre altos e baixos, hoje, ao finalizar este trabalho, sobretudo, me sinto forte; além de me sentir imensamente grata pelas pessoas que estiveram comigo durante este processo. Não por acaso, são justamente essas pessoas que me ajudaram com ideias e questões práticas deste estudo, que me animaram, me permitiram rir e me acolheram.

Uma lista de nomes se torna desnecessária, quando todos estes sabem quem são e o quanto os considero. Ainda assim, essa homenagem se faz justa. Desse modo, por mais que o meu nome esteja em destaque neste documento, é importante frisar que tudo isso se deu graças a uma incrível rede de familiares, amigos e colaboradores ao meu lado. Minha eterna gratidão.

*“Não sei... Se a vida é curta
Ou longa demais pra nós,
Mas sei que nada do que vivemos
Tem sentido, se não tocarmos o coração das pessoas.*

*Muitas vezes basta ser:
Colo que acolhe,
Braço que envolve,
Palavra que conforta,
Silêncio que respeita,
Alegria que contagia,
Lágrima que corre,
Olhar que acaricia,
Desejo que sacia,
Amor que promove.*

*E isso não é coisa de outro mundo,
É o que dá sentido à vida.
É o que faz com que ela
Não seja nem curta,
Nem longa demais,
Mas que seja intensa,
Verdadeira, pura... Enquanto durar.”*

Cora Coralina

Agradeço:

Ao meu orientador, **Dr. Walter Antonio Pereira Boeger**, pela confiança, oportunidade de trabalho em conjunto e por tanto conhecimento profissional e pessoal ofertado. Sou imensamente grata por me aceitar em seu grupo de pesquisa sem nem me conhecer, por encorajar minhas ideias, estimular reflexões, me ensinar tanto e por ser prestativo quando precisei de um direcionamento. Obrigada por ser respeitoso com meu processo de aprendizagem e me ofertar liberdade intelectual. Nunca imaginaríamos viver meu mestrado dessa forma, mas foi gratificante ter conhecido mais sobre seu trabalho e pensamentos. Nessa reta final então, sem palavras para toda a sua ajuda. Obrigada por tudo, inclusive pela possibilidade de coalescência dos peixes, parasitos, genética e biogeografia. Concluo esta dissertação com muito orgulho de ter feito tudo isto ao seu lado. Você é um grande pesquisador (e um pesquisador grande, rsrs) que eu admiro muito.

Ao meu coorientador, **Dr. Emanuel Luis Razzolini**, por sempre estar ali para me ajudar a solucionar problemas, conversar sobre assuntos diversos e servir como fonte de inspiração e conhecimento durante meu mestrado. Não tenho dúvidas que sua ajuda foi imprescindível para que eu estivesse aqui hoje. Muito obrigada por ser tão prestativo e me ensinar tanto, desde as pipetagens até discussões de hipóteses, resultados, artigos, academia e pandemia. Te admiro muito por quem você é e pela forma como trabalha. Tive muita sorte em ter seu suporte e muito privilégio ao aprender contigo. Obrigada por tanto.

Aos meus colegas de laboratório, por serem grandes colaboradores e incentivadores. De forma direta ou indireta, mesmo não tendo o privilégio do convívio diário no mesmo ambiente de trabalho, todos me auxiliaram quando necessitei. Em especial, venho agradecer às professoras **Dra. Karla Campião** e **Dra. Sabrina Araujo**, por servirem de inspiração e serem exemplos de mulheres inteligentes e fortes para mim dentro da academia. O trabalho de vocês é incrível, de um enorme cuidado, dedicação e profissionalismo. Admiro muito vocês! Também agradeço à **Kaitlyn Marie Dalrymple**, **Sofia Feronato**, **Dra. Elvira De Bastiani**, **Msc. Angie Thaisa**, **Msc. Pedro Bolanho**, **Dr. Rafael Baggio**, **Lucimara Silveira Msc. Osmar Freitas**, **Dra. Simone Czarnobai**, **Msc. Gabriel Torres**, **Luís Tovar**, **Msc. Amanda Dudczak** e **Msc. Rafa Euclides** pela amizade e discussões enriquecedoras em seminários ou clubes do livro. Aprendo muito com todos vocês e sinto muito orgulho em fazer parte desse grupo de pesquisa. Obrigada por tudo e contem comigo sempre que precisarem. Quero continuar trabalhando com vocês e aprendendo com cada um.

À banca, professoras **Dra. Karla Campião** (UFPR) e **Dra. Simone Cohen** (IOC/Fio Cruz), e suplente **Dr. Fabricius Domingos** (UFPR), pelas importantes considerações e sugestões. Todo o apoio e colaboração na pesquisa me motivam a continuar construindo uma rede de pessoas que se ajudam! Obrigada pela disponibilidade.

Aos meus queridos pais, **Suely Rosa Matias Ciccheto** e **Geraldo Ciccheto**, pelo imenso apoio ao longo de toda minha vida e carreira acadêmica. Não consigo nem citar tantas oportunidades que me concederam e como sempre estiveram ali por mim, com ternura e acolhimento. Muitas vezes, e ainda hoje, sem nem entender meus objetivos, estão lá por mim, segurando minhas mãos e falando que sou capaz. Obrigada por serem a minha base e por significarem tanto para mim. Eu amo vocês. Também agradeço à **toda minha família**, parentes, tios (as) e primos (as) que sempre me apoiaram e torceram pela minha ida à Curitiba e por esse momento. Sei que posso contar com o apoio de todos e isso é muito importante para mim. Amo muito todos!

Aos meus irmãos, **Julia Rosa Matias Ciccheto** e **João Paulo Rosa Matias Ciccheto**, pela inspiração e apoio de sempre. Pouco sabem eles da minha admiração e apreço pela inteligência, caráter, honestidade e companheirismo. Vocês fazem parte disso comigo mais do que imaginam! Minhas vitórias são parte do que somos. Sou grata por nossa união. Eu amo vocês!!! Também agradeço aos meus cãopanheiros **Banzé** e **Simba** por todo amor e fidelidade em forma de lambidas (e **Belinha**, em memória) e ao **Chico**, o felino mais amado da Babilônia! Também sou imensamente grata às minhas primas-irmãs **Eloisa Picoli** (e **Maria Alice**, nosso presentinho), **Eduarda Aoki**, **Enaíle Aoki**, minha cunhada **Emanuela Piller**, e primos **Gustavo Matias**, **Gabriel Matias**, **Renan Ruas**, **Jhonatan Pelegati** e **João Pedro Delfin** por fazerem parte do meu dia-a-dia mesmo na distância e por toda amizade de sempre.

To my dear **Dra. Elenir Xavier**. Our meetings were always a source of happiness and always flowed as fuel for me. In addition, you were always helping me and giving me love. Your laughter and words of strength brought me out a lot of who I am and who I aspire to be. Thank you for making me feel embraced through Google Meet.

À querida **Coraline Serra**, que me ajuda a superar todas etapas da minha vida com discernimento e cuidado comigo mesma. Sou muito agraciada por todas as nossas reflexões e a forma como você me auxilia no entendimento dos diferentes momentos da minha vida. Te encontrar foi como uma dádiva para mim. Viver esse mestrado “contigo” foi enriquecedor. Obrigada! Mesmo! Que venha o doutorado, rs!

Às minhas companheiras de quarentena, **Msc. Ana Paula Lula Costa** e **Laryssa Peres Negri**. Nunca pensei em ser tão agraciada pela vida com um encontro tão afável e genuíno. Nas pedras fomos capazes de plantar flores. Juntas. Da mesma forma, à **Dra. Lorraine Cavalcante** que tive o prazer de conhecer e ser marcada por amor e saudade. Vocês três foram/são a minha família aqui em Curitiba e nem imaginam o tanto que carregam da minha admiração. Obrigada pela troca e luta. Eu amo vocês.

Aos queridos amigos que ganhei durante minha jornada no mestrado e vivência na Pós-Graduação em Ecologia e Conservação e em outros Programas da Universidade Federal do Paraná: **Msc. Fernando Jeronimo**, **Dr. Tiago Machado**, **Diego Ortiz** (esse já tenho desde a UEM e a vida resolveu ser generosa em colocá-lo em meu caminho novamente, além do **Afonso Oliveira**), **Msc. Bryan Rojas**, **Mayara Rodrigues**, **Msc. Alejandro Restrepo González**, **Afonso Oliveira**, **Msc. Julia Henke**, **Msc. Carlos Daniel Rivadeneira** e **Manuela Twardowschy**. Muito obrigada por compartilharem tantos momentos especiais comigo. Tudo ficou muito mais leve graças à amizade e carinho de vocês. Cada um me ensina, de formas variadas, sobre visões de mundo. Cada experiência compartilhada com vocês vale ouro para mim. Me sinto extremamente grata por tê-los em minha vida e por esses encontros. Desde R.U à Seu Nilson ou discussões científicas e ajudas com análises, vocês são essenciais. Ainda bem que alguns ainda terei junto nos próximos anos. Mas todos levarei para a vida. Contem comigo sempre. Em adendo, agradeço à **Dra. e artista Andrea Cius**, que tive o prazer de conhecer durante a pandemia e virou um amiga inspiradora. Também agradeço ao **Thiago Pauli** e ao **Matheus Carnieri** (meu cunhado) pela ajuda com o vídeo de divulgação da variação do nível do mar e ilustração do meu peixinho do capítulo 1, respectivamente! Obrigada por tamanha prestatividade, o talento e trabalho de vocês auxiliou em deixar meu trabalho ainda mais lindo. Agradeço também ao **Murilo Rocha** por sempre estar disponível para me ensinar e ajudar com dúvidas no ArcGIS.

À minha eterna amiga **Cindy Mayumi Okamoto Luca**, pela inspiração e irmandade. Tantas experiências compartilhadas só fazem com que, cada vez mais, eu te admire pela incrível mulher que você é. Que cresce e é gigante! Obrigada por sempre se fazer presente, aqui e em cada cantinho da minha vida. Só de pensar em ti e na sua força, eu sou renovada. Você é muito mais forte do que pensa! Eu amo você com todo o meu coração.

Ao meu amigo de alma, **Lucas Guanaz**, por literalmente acompanhar todos os meus processos desse mestrado. Ansiedades e aflições a vibrações de felicidade, tudo contigo! Ter você para partilhar meu dia-a-dia é gratificante e reconfortante. Obrigada por ser tão especial para mim e me permitir ser tanto contigo. Eu amo você.

Aos amigos de coração, irmãos da vida: **Newton Claro Junior, Danielle Suemi Narimatsu, Karina Cardoso, Kamila Dosso, Rafael Zanutto Nakata, Erica Cristina Pereira, Lucas Kenzo, Christian Mathias, Msc. William Roca, Msc. Bianca Dal Vesco e Msc. Bruno Mioto** (inclusive pelos helps com o R). Meu muito obrigada pela amizade e carinho. Vocês significam muito na minha vida. Muitos estão comigo desde a infância ou ensino médio e eu os valorizo como meu tesouro. Outros foram chegando ao longo dos anos, mas permanecem comigo e são essenciais. Não sei o que seria da minha vida sem vocês.

Aos meus eternos amigos da Universidade Estadual de Maringá. Aqui, realmente, são muitos nomes a serem citados e lembrados. Mas gostaria de deixar um obrigada especial para meus queridos do **Laboratório de Ictioparasitologia** e do **Laboratório de Biologia Molecular** do Nupélia! Todos são especiais para mim e continuam sendo parceiros e exemplos de uma ciência inspiradora.

Ao querido **Msc. Sylvio Alexandre Biazus Block** por tantas trocas e vivências compartilhadas! Obrigada por sempre falar que eu sou capaz e por incentivar meu caminho na ciência. Tudo que vivi contigo será inesquecível.

À **Universidade Federal do Paraná** e todos os **servidores públicos**. Ao **Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação**, incluindo todos os (as) **professores (as)** e **colegas** de mestrado, **coordenação** e secretaria, esta última formada pela querida **Juliana Leão**. À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES)** pelo apoio financeiro para o desenvolvimento deste projeto (Código de Financiamento 001). Ao **SUS**, pela esperança de vida neste período pandêmico.

Meu muitíssimo obrigada! Nada seria possível sem a colaboração e o apoio de vocês. A verdade é que eu me sinto, além de grata, extremamente privilegiada por acordar todos os dias e me direcionar a perguntas científicas e aos meus estudos/trabalho/pesquisa. Esse caminho não é fácil, viver a ciência (especialmente a brasileira) é viver em uma guerra que vai desde a falta de reconhecimento à sucateamento constante. Mas tudo isso vale a pena ser conquistado e faz sentido ao lado de pessoas como vocês.

Que venham novos projetos, novos trabalhos e jornadas, sempre serei grata e irei levá-los comigo nesse caminho.

“Nothing in life is to be feared, it is only to be understood. Now is the time to understand more, so that we may fear less.”

(Marie Curie)

“The ability to solve complex problems is greatly enriched by having different viewpoints.”

(Elizabeth Blackburn)

RESUMO

Exercícios em biodiversidade une estudos com parasitos de peixes e análises referentes à distribuição de peixes costeiros. Essa dissertação foi dividida em três capítulos, tematicamente separados, que integram questões substanciais referentes à (i) taxonomia morfológica descritiva de duas espécies de parasitos Gyrodactylidae; (ii) filogenias e reconstruções de parentesco entre espécies de Gyrodactylidae com histórias morfológicas homoplásicas; e (iii) padrões de endemismo de peixes na costa brasileira e sua relação com eventos geológicos e climáticos. Nosso objetivo geral é avaliar a biodiversidade através da taxonomia, filogenética e eventos históricos. **No primeiro capítulo**, apresentamos a descrição taxonômica de espécies dos gêneros *Swingleus* Rogers, 1969 e *Fundulotrema* Kritsky & Thatcher, 1977 (Monogenoidea, Gyrodactylidae), parasitos de superfície corporal do peixe *Fundulus heteroclitus* (Linnaeus, 1766) (Cyprinodontiformes, Fundulidae), da Carolina do Sul, Estados Unidos. Apresentamos descrições morfológicas e discussões a partir do status taxonômico atual e aspectos ecológicos dos indivíduos estudados. Propomos uma redescritção para *Swingleus* cf *polyclithroides* e para *Fundulotrema* cf *polyclithroides*. **No segundo capítulo**, analisamos o status filogenético de *Polyclithrum* Rogers, 1967 (Monogenoidea, Gyrodactylidae) em relação à *Swingleus*, *Fundulotrema*, *Macrogyrodactylus* Malmberg, 1956 e *Gyrodactyloides* Bychowsky & Polyanski, 1953. Espécies de parasitos desses gêneros apresentam características congruentes relevantes para a identificação, entretanto, não são agrupados em um clado monofilético. Argumentamos sobre a caracterização filogenética desses parasitos com base na morfologia e sobre caracteres homoplásicos na evolução destes parasitos e em sua história evolutiva. **No terceiro capítulo**, tivemos como objetivo geral examinar a distribuição geográfica e padrão endêmico de espécies de peixes litorâneas brasileiras em bacias hidrográficas costeiras, considerando a influência de eventos históricos, como a flutuação do nível do mar no tempo geológico, com a hipótese de que quanto maior a bacia hidrográfica e menor a largura da plataforma continental, maior será a taxa de endemismo de peixes. Argumentamos a importância da compreensão de eventos históricos para o entendimento dos atuais padrões de endemismo de peixes de água doce costeiros.

Palavras-chave: Descrição morfológica. Filogenia. *Fundulotrema*. Gyrodactylidae. Endemismo. *Polyclithrum*. Pulso de Táxon. *Swingleus*. Taxonomia.

ABSTRACT

Exercises in biodiversity is a thesis that combines studies on fish parasites and analyses of the distribution of coastal fish in Brazil. This project was divided into three chapters, thematically separated, that integrate substantial questions regarding (i) descriptive morphological taxonomy of two parasite species of Gyrodactylidae; (ii) phylogenies and relationship reconstructions between Gyrodactylidae species with homoplastic morphological histories; and (iii) patterns of fish endemism along the Brazilian coast and its relationship with geological and climatic events. Our overall objective is to assess biodiversity through taxonomy, phylogenetics, and historical events. **In the first chapter**, we present the taxonomic description of species of the genera *Swingleus* Rogers, 1969 and *Fundulotrema* Kritsky & Thatcher, 1977 (Monogenoidea, Gyrodactylidae), body surface parasites of the fish *Fundulus heteroclitus* (Linnaeus, 1766) (Cyprinodontiformes, Fundulidae), from South Carolina, United States. We present morphological descriptions and discussions based on the current taxonomic status and ecological aspects of the individuals studied. We propose a redescription for *Swingleus* cf *polyclithroides* and for *Fundulotrema* cf *polyclithroides*. **In the second chapter**, we analyze the phylogenetic status of *Polyclithrum* Rogers, 1967 (Monogenoidea, Gyrodactylidae) in relation to *Swingleus*, *Fundulotrema*, *Macrogryrodactylus* Malmberg, 1956, and *Gyrodactyloides* Bychowsky & Polyanski, 1953. Species of parasites of these genera present congruent characteristics relevant for morphological identification, however, they are not grouped in a monophyletic clade. We discussed about the phylogenetic characterization of these parasites based on morphology and on homoplastic characteristics in the evolution of these parasites and in their evolutionary history. **In the third chapter**, we aimed to examine the geographic distribution and endemic pattern of Brazilian coastal fish species in coastal watersheds, considering the influence of historical events, such as sea-level fluctuation in geological time, hypothesizing that the bigger the size of the watershed and wider the continental shelf extension the bigger the tax of endemics species. We argue the importance of understanding historical events for the comprehension of current patterns of endemism of coastal freshwater fish.

Keywords: Morphological description. Phylogeny. *Fundulotrema*. Gyrodactylidae. Endemism. *Polyclithrum*. Taxon pulse. *Swingleus*. Taxonomy.

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	V
AGRADECIMENTOS.....	VI
EPÍGRAFE	X
RESUMO	XI
ABSTRACT	XII
INTRODUÇÃO GERAL.....	15
CAPÍTULO 1: Species of <i>Swingleus</i> and <i>Fundulotrema</i> (Gyrodactylidae, Monogenoidea) parasites from body surface of <i>Fundulus heteroclitus</i> (Fundulidae, Cyprinodontiformes) in South Carolina, USA	Erro! Indicador não definido.20
Abstract	21
Introduction	21
Material and Methods.....	23
<i>Sampling</i>	23
<i>Morphological Analysis</i>	24
<i>Parasitological Parameters</i>	25
Results	25
<i>Taxonomy</i>	25
<i>Parasitological Parameters</i>	34
Discussion	36
Supplementary Material	39
CAPÍTULO 2: Position of <i>Polyclithrum</i> within Gyrodactylidae (Monogenoidea): Incongruences between morphological and molecular hypotheses	46
Abstract	47
Introduction	47
Material and Methods.....	49
<i>Sampling</i>	49
<i>Morphological Analysis</i>	50
<i>Sequencing</i>	50
<i>Phylogenetic Analysis</i>	51
<i>Morphological Character Analysis</i>	52
Results	53
<i>Molecular Phylogeny</i>	53

<i>Reconstruction of Ancestral States</i>	55
Discussion	57
Supplementary material	60
CAPÍTULO 3: Oscilação do nível do mar, paleodrenagem e Pulso de táxon:	
Prevendo o endemismo de peixes de água doce	63
Resumo	64
Introdução	64
Material e Métodos	67
<i>Obtenção e Organização dos Dados</i>	67
<i>Mapa de Paleodrenagens</i>	68
<i>Análises</i>	69
Resultados	71
Discussão	73
Material Suplementar	79
CONCLUSÃO FINAL	80
REFERÊNCIAS	82

INTRODUÇÃO GERAL

Para a compreensão da história evolutiva e diversificação de organismos, se faz necessário o estudo das relações filogenéticas e processos geológicos que influenciam no parentesco e distribuição de espécies (WEBB et al., 2002; FREELAND, 2005; SVENNING et al., 2015). Análises filogenéticas e biogeográficas de organismos parasitos e de peixes, por exemplo, permitem criar fortes inferências sobre a interação de espécies e sua evolução (BROOKS; MAYDEN; MCLENNAN, 1992; BOEGER; KRITSKY; PIE, 2003; ALBERT; REIS, 2011; BROOKS; AGOSTA, 2012). Para que haja uma clara inspeção quanto estes aspectos, é preciso estudos que nos levem a elucidar a taxonomia de espécies, seu status filogenético e locais de ocorrência.

A lacuna de conhecimento existente quanto à taxonomia de espécies evidencia a demanda em reconhecer informações sobre as espécies para que estudos ecológicos e subsequentes possam ser realizados (WHITTAKER et al., 2005; DALLAS; SANTINI, 2020). A fundamentação sistemática e taxonômica é essencial por si só, mas serve de base para estudos da biodiversidade em distintos aspectos, podendo ser expandida na assimilação de padrões e processos das comunidades biológicas globais (HOBERG et al., 2015).

Além do conhecimento taxonômico e molecular utilizado para a identificação de espécies, importantes para o esclarecimento da diversidade e de suas facetas, se torna necessário desvendar como a biodiversidade atual está estruturada no espaço a partir da história evolutiva que a mesma carrega (WIENS; DONOGHUE, 2004; HOBERG; BROOKS, 2010; BROOKS, HOBERG; BOEGER, 2019). Padrões resultantes de reconstruções históricas e hipóteses filogenéticas auxiliam no reconhecimento da estrutura populacional e distribuição geográfica de espécies, fatores estes interligados com propriedades biológicas e ambientais, conectados em relações estreitas com a trajetória das espécies ao longo do tempo (WIENS; DONOGHUE, 2004; HOBERG; BROOKS, 2010; BAGGIO et al., 2017).

A fim de aprofundar a cerne em torno desses processos e reconstruções, o Paradigma de Estocolmo serve como base para elucidação de princípios evolutivos, resgatando do Darwinismo conceitos prévios que auxiliam na explicação das dinâmicas das interações e da biodiversidade, com enfoque na interação entre parasitos e hospedeiros (ARAUJO et al., 2015, BROOKS; HOBERG; BOEGER et al., 2019). Um dos preceitos do Paradigma é o Pulso de Táxon (do inglês, *Taxon Pulse*), que pode ser considerado como um processo associado com propriedades emergentes putativas derivadas da interação de espécies e das perturbações periódicas do ambiente (ERWIN, 1985; HALAS; ZAMPARO; BROOKS, 2005 HOBERG; BROOKS, 2010).

O Pulso de Táxon trata-se, basicamente, do potencial das espécies em oscilar em diferentes momentos do tempo e espaço, postulando eventos de isolamento e expansão promovidos pela emergência de novas associações e desequilíbrios climáticos (BROOKS et al., 2019). O Pulso de Táxon está interligado com o *Ecological Fitting* (JANZEN, 1985; AGOSTA, 2006; BAGGIO et al., 2017; BROOKS; HOBERG; BOEGER, 2019), um processo resulto da interação entre a flexibilidade dos organismos com a flexibilidade biótica e abiótica ambiental. O *Ecological Fitting* abarca a (a) capacidade, sendo estas informações inerentes das espécies e a (b) oportunidade, atuando como regimes de seleção providos pelo ambiente; Estes aspectos auxiliam na diversificação de espécies e formação de mosaicos complexos de diversidade (JANZ; NYLIN, 2008; HOBERG; BROOKS, 2010; HARVEY et al., 2010, 2012; ARAUJO et al., 2015).

Determinar quais fatores biológicos e físicos promovem a diversificação e organização das espécies no espaço ao longo do tempo é de interesse fundamental de diversas linhas de conhecimento dentro da Biologia, visto que os gradientes ecológicos e as flutuações climáticas contribuem com o aumento ou diminuição da biodiversidade (KAPPELLE; VAN VUUREN; BAAS, 1999; GASTON; SPICER, 2013; MOD et al., 2016; HAUNG et al.,

2019). A busca por padrões dentro dessas variações é uma das grandes expectativas dentro da Ecologia, e o entendimento de processos e mecanismos ecológicos é essencial para o sucesso na detecção de tais padrões (VELLEND, 2005). À vista destes aspectos ferais, este trabalho foi dividido a fim de responder um pouco mais sobre a identificação e sistemática de espécie Gyrodactylidae van Beneden et Hess, 1863 (Platyhelminthes, Monogenoidea) e padrões de endemismo de espécies de peixes costeiros brasileiros influenciados pela variação do nível do mar.

No primeiro e segundo capítulos trabalhamos com espécies Gyrodactylidae. Os parasitos dessa família possuem uma ampla distribuição e parasitam diversos grupos de hospedeiros, sendo facilmente encontrados hospedando peixes (BAKKE; CABLE; HARRIS, 2007). A história evolutiva desses organismos é complexa, principalmente relacionada com a biologia destes indivíduos, que possuem tempo rápido de geração, se reproduzem por hiperiviparidade e possuem alta capacidade de expansão no seu espectro de hospedeiros (CABLE; HARRIS, 2002; BOEGER; KRITSKY; PIE, 2003). Essas características, permitiram, ao longo do tempo, ampla distribuição geográfica e uma grande diversidade morfológica (BOEGER; KRITSKY; PIE, 2003; BOEGER et al., 2021). Pensando nisso, essa pesquisa é conceitualmente dividida no estudo desses parasitos a partir da união do primeiro e segundo capítulo, com o objetivo de elucidação taxonômica e filogenética de parasitos Gyrodactylidae, espécies de *Swingleus* Rogers, 1969, *Fundulotrema* Kritsky & Thatcher, 1977 e *Polyclithrum* Rogers, 1967

No primeiro capítulo, realizamos a descrição de espécimes *Swingleus* e *Fundulotrema* registrados em *Fundulus heteroclitus* (Linnaeus, 1766) (Cyprinodontiformes, Fundulidae), na Carolina do Sul, Estados Unidos. Os espécimes de peixes foram coletados em três distintos sistemas estuarinos de diferentes bacias hidrográficas e os parasitos foram corados com Tricrômico de Gomori e montados em goma de Damar ou clarificados em Gray

Wess, enquanto outros foram montados em Hoyer para a identificação morfológica. Espécimes tipos de estudos prévios com *Swingleus* spp. foram estudados. Realizamos análises de prevalência, intensidade e abundância média, além do teste não paramétrico Kruskal-Wallis para verificarmos a diferença da abundância entre os distintos pontos de coleta para as populações de ambas as espécies estudadas.

No segundo capítulo, avaliamos a morfologia e sequências genéticas de *Polyclithrum* Rogers, 1967 em relação com outros gêneros de Gyrodactylidae, evidenciando *Swingleus*, *Fundulotrema*, *Macrogyrodactylus* Malmberg, 1956, e *Gyrodactyloides* Bychowsky & Polyanski, 1953, os quais foram identificadas anteriormente como um agrupamento monofilético com base em dados morfológicos. Nosso objetivo foi avaliar a relação filogenética desses gêneros usando sequências de rDNA 18S disponíveis no GenBank, além da adição de sequências de *Polyclithrum* sp., *Swingleus* cf *polyclithroides* e *Fundulotrema* cf *prolongis* da Carolina do Sul, EUA, e dados morfológicos de estruturas haptorais, afim de identificar estruturas homoplásicas. Construímos árvores filogenéticas usando os métodos de Máxima Parcimônia, Máxima Verossimilhança e Inferência Bayesiana, além de uma matriz de caracteres morfológicos de estruturais haptorais.

No terceiro capítulo, investigamos sobre peixes costeiros brasileiros com o objetivo de avaliar a taxa de endemismo influenciada por eventos históricos relacionados com a flutuação do nível do mar. O papel da mudança do nível do mar na formação dos padrões de riqueza e diversidade de espécies marinhas marginais e espécies estritamente dulcícolas tem recebido muita atenção (WEITZMAN; VARI, 1988; LUNDBERG et al., 1998; ALBERT; REIS, 2011), mas muito ainda precisa ser investigado acerca dos processos propulsores de endemismo em distintas drenagens hídricas (ALBERT; REIS, 2011; TEDESCO et al., 2012). A história de interconexões entre distintas bacias hidrográficas no Último Máximo Glacial, há aproximadamente 18 mil anos atrás, influenciou, a partir da configuração geológica da

largura da plataforma continental, conexões entre paleodrenagens, o que reflete na distribuição ictia atual ao longo da planície costeira (DIAS et al., 2014, BAGGIO et al., 2017, TSCHÁ et al., 2017, THOMAZ; KNOWLES, 2018, DOLBY et al., 2018). Com dados provenientes do artigo de Tedesco et al. (2017), avaliamos a relação entre o endemismo com o tamanho das mesobacias costeiras e largura da plataforma continental, trabalhando com a hipótese de que quanto maior a área da mesobacia e menor a largura da plataforma, maior o endemismo identificado. Avaliamos essa relação a partir de modelos lineares generalizados.

Exercícios em biodiversidade une importantes estudos em distintas áreas de conhecimento afim de avançar a respeito da diversidade de parasitos e de peixes. Este estudo traz diferentes abordagens aplicadas ao Paradigma de Estocolmo. É necessário reconhecer a biodiversidade para estudá-la e para entender a interação das espécies no meio a partir de suas capacidades e oportunidades, além da compreensão acerca de eventos de Pulso de Táxon dentro da história evolutiva.

Capítulo 1

Artigo elaborado e formatado conforme as normas do periódico científico Systematic Parasitology <<https://www.springer.com/journal/11230>>.

Species of *Swingleus* and *Fundulotrema* (Gyrodactylidae, Monogenoidea) parasites from the body surface of *Fundulus heteroclitus* (Fundulidae, Cyprinodontiformes) in South Carolina, USA

Juliana Rosa Matias Ciccheto¹, Emanuel Luis Razzolini², Isaure De Buron³, Walter A Boeger¹

¹Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Brazil.

² Programá de Pós-Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Brazil.

³ Department of Biology, College of Charleton, USA.

Corresponding author: Juliana R. M. Ciccheto. cicchetojrm@gmail.com. Biological Interactions Laboratory, Universidade Federal do Paraná, P.O. Box 19073, Curitiba, PR 81531-890, Brazil.

Juliana R. M. Ciccheto ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2264-3835>

Emanuel L. Razzolini ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9391-5271>

Isaure De Buron ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5560-3325>

Walter A. Boeger ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6004-2822>

Abstract

Species of *Swingleus* and *Fundulotrema* genera are body surface parasites from mainly Fundulidae species. These parasites are poorly studied and represent a knowledge gap about the exact number of existing species for each genus. We provide a detailed morphological analysis and descriptions of specimens collected from *Fundulus heteroclitus* in estuarine systems of South Carolina, United States of America. In addition, ecological aspects of the parasites were explored. We found differences between the specimens herein studied and those previously described. Despite the contrast, including the MCO structure and the clef shield for both *Swingleus* and *Fundulotrema* specimens, we propose a redescription for *S. cf polyclithroides* and *F. cf prolongis* based on voucher specimens and dissimilarities in these identifications following the method of making slides from previous studies. Besides that, we found a significant difference in *F. cf prolongis* abundance in Charleston, even with a lower sampling effort. There is still much to be understood about these species in morphological and ecological aspects and flaws in the morphological descriptions made previously represent a problem to be better investigated. We recommend further research including molecular characterization of specimens of these species for further identification on a large geographic scale.

Keywords: Description, Fundulidae, South Carolina. United States.

1. Introduction

Gyrodactylidae von Nordmann, 1832 is the most diverse family of the order Gyrodactylidea Byrchowsky, 1937 (Monogenoidea Bychowsky, 1937) with more than 500 species described (Bakke et al. 2007; Boeger et al. 2003; Bychowsky 1957). Most species of this family are hyperviviparous ectoparasites and have a monoxenic life cycle, being transmitted during the pre-adult and adult life stages (Boeger et al. 2003; Cable and Harris 2002). Despite its diversity, the taxonomy and classification of Gyrodactylidae undergoes constant alterations due to their complex evolutionary history and the lack of phylogenies with high representation of some groups and detailed morphological species descriptions (Boeger et al. 2021). These species are distributed among 24 genera (Boeger et al. 2021), including *Swingleus* Rogers, 1969 and *Fundulotrema* Kritsky & Thatcher, 1977. Species of both genera are parasites widely reported from *Fundulus* spp. (Harris and Vogelbein 2006).

Diversity of these genera is still unknown since many proposed species remain questionable. This is especially true for species of *Swingleus* – their respective descriptions

are often based on poor morphological analysis to support their identity. Currently, two species of *Swingleus* (*S. polyclithroides* Rogers, 1969 from *Fundulus grandis* Baird & Girard, 1853 (Rogers 1969) and *S. ancistrus* Billeter, Klink & Mangel, 2000 from *F. majalis* (Walbaum, 1792) (Billeter et al. 2000)) and six species of *Fundulotema* (*F. prolongis* (Hargis, 1955) Kritsky & Thatcher, 1977 from *F. grandis* (Hargis 1955), *F. megacanthus* (Wellborn & Rogers, 1967) Kritsky & Thatcher, 1977 from *F. olivaceus* Storer, 1845 (Wellborn and Rogers 1967), *F. trematoclitrus* (Rogers, 1967) Kritsky & Thatcher, 1977 from *Lucania parva* (Baird & Girard, 1885) (Rogers 1967a), *F. stabieri* (Hathaway & Herlevich, 1973) Kritsky & Thatcher, 1977 from *F. kansae* German, 1895 (Hathaway and Herlevich 1973), *F. foxi* (Rawson, 1973) Kritsky & Thatcher, 1977 from *F. heteroclitus* (Rawson 1973), and *F. porterensis* King & Cone, 2009 for the latter from *F. heteroclitus* (King and Cone 2009) (Kritsky and Thatcher 1977)) are presently known.

Fundulus heteroclitus (Linnaeus, 1766), the focal host of this study and popularly known as mummichog, is found along the coast of Canada and the United States (Page and Burr 2011), and also reported in Europe as an invasive species (Kottelat and Freyhof 2007). *F. heteroclitus* is widely studied as a biological model in several areas of knowledge - genetic, ecological, toxicology and biochemical (e.g., Powers and Schulte 1998; McMillan et al. 2006; Fangue et al. 2009; Whitehead et al. 2017). However, research on parasites of mummichogs is not extensive and there is a large shortage of exploring its parasites at the species level (Harris and Vogelbein 2006). Probably it occurs due to the reduced urgency of taxonomic studies related to parasites without medical importance (Scholz and Choudhury 2014).

Hence, the present study redescribes *Swingleus cf. polyclithroides* Rogers, 1969, and *Fundulotrema cf. prolongis* (Hargis, 1955) Kritsky & Thatcher, 1977 (Gyrodactylidae) from *F. heteroclitus* from the coast of South Carolina, USA. We propose that *S. ancistrus* is a

junior synonym of *S. polyclithroides*, re-evaluate the diagnosis of each respective genus, and present a preliminary analysis of the parasitological parameters for these species in three estuarine systems within the state.

2. Material and methods

2.1 Sampling

Populations of *F. heteroclitus* were sampled between October and November 2017, in three estuarine systems in the state of South Carolina: (1) Winyah Bay, at Baruch Institute of Marine and Coastal Sciences (in Georgetown) (33°20'59.02"N 79°11'46.98"O), (2) Ashley and Cooper rivers (in Charleston) (32°44'46.10"N 79°54'13.41"O), and (3) Waddell Mariculture Center (next to Bluffton) (32°16'46.44"N 80°49'6.27"O) (Fig. 1). The fish were captured with the help of minnow traps and taken to the Grice Marine Laboratory at the College of Charleston, where they were individually processed, along with their parasites. The fish were anesthetized with MS-222 (Tricaine Methane-sulfonate), euthanized by bone marrow destruction, and subsequently washed with hot water (approx. 68°C), which was agitated for a short period of time to release the ectoparasites from the body surface of the hosts' body, as described by Boeger et al. (2021). Subsequently, the fish were removed from the container. The liquid and sediment were separated for fixation of the parasites in molecular-grade ethanol and subsequent screening for counting and morphological analysis. Despite intensive attempts, no sequences were obtained from the available specimens.

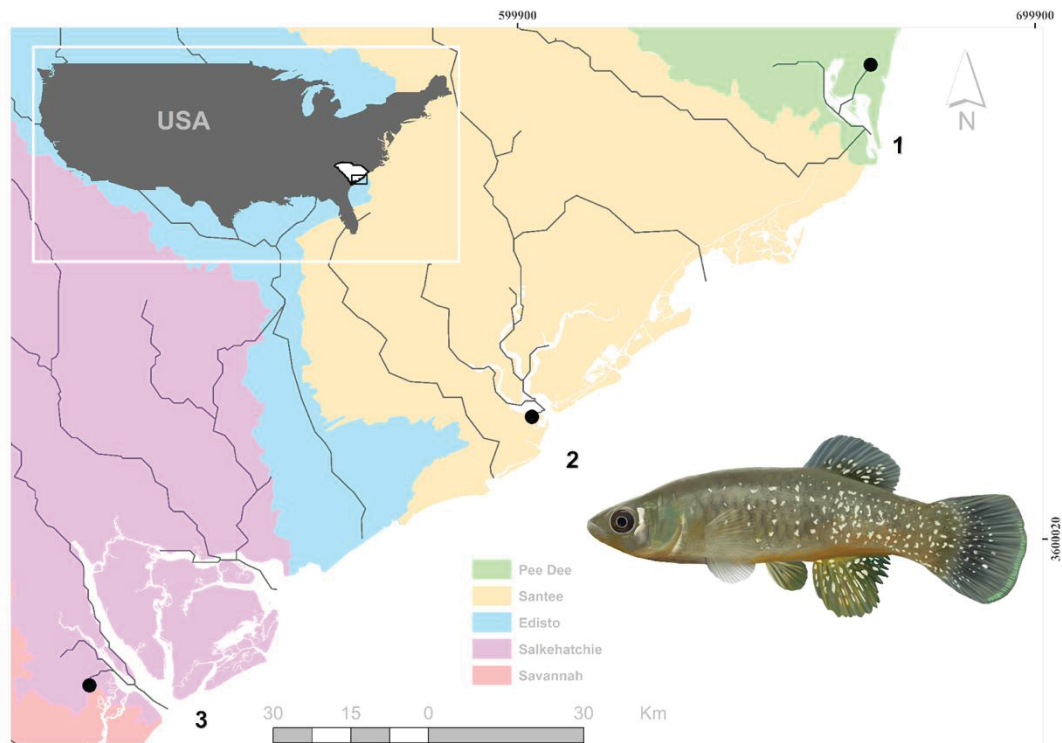


Figure 1. Sampling points of collection of *Fundulus heteroclitus* hosts in estuarine systems of the state of South Carolina, United States: (1) Winyah Bay, at the Baruch Institute for Marine and Coastal Sciences (Georgetown) (Pee Dee watershed); (2) Ashley and Cooper rivers (Charleston) (Santee watershed); and (3) Waddell Mariculture Center (next to Bluffton) (Salkehatchie watershed).

2.3 Morphological analysis

Monogenoid ectoparasites were stained with Gomori's trichrome and mounted in Damar's gum or subjected to clarification in Hoyer's medium for morphological studies (Kritsky et al. 1978). Other were stained in trichrome and mounted and cleared in Gray and Wess' media (Humason 1962) to study details of the haptoral sclerites. Drawings were prepared with an Olympus microscope (B50) coupled with a camera and projector. Specimen measurements were performed with the ImageJ software (Schneider et al. 2012), given in micrometers (μm) - the measurement is presented, followed by the measurement amplitude of the structures and the number of structures in parentheses. In addition, type and voucher specimens of *S. polyclithroides* (USNM 1366025) from *Fundulus grandis* and *S. ancistrus* (USNM 1384051) from *Fundulus heteroclitus* were studied. Voucher specimens of organisms from *Swingleus* and *Fundulotrema* (present study) were deposited in collections in

the USA (HWML, Smithsonian) and Brazil (IOC), according to specific legislation of each country.

2.3 Parasitological parameters

The infracommunity composition was determined and quantified and, later, parasitological parameters were determined as proposed by Bush et al. (1997). The nonparametric analysis of variance (Kruskal-Wallis) was performed to test differences between the abundance of *S. cf. polyclithroides* and *F. cf. prolongis* between the sampling points, in addition to running DunnTest post-hoc test with “bonferroni” correction method. Analysis was made using R 4.0.2 (R Development Core Team, 2020).

3. Results

Taxonomy

Class Monogenoidea Bychowsky, 1937

Subclass Polyonchoinea Bychowsky, 1937

Order Gyrodactylidea Bychowsky, 1937

Gyrodactylidae van Beneden & Hesse, 1863

Swingleus cf. polyclithroides Rogers, 1969

(Figs. 2-5, 13)

Host: *Fundulus heteroclitus* (Linnaeus, 1766), (Fundulidae, Cyprinodontiformes), mummichog.

Localities: South Carolina, United States of America (USA), (1) Winyah Bay, Baruch Institute for Marine and Coastal Sciences (Georgetown), (2) Ashley and Cooper rivers (Charleston), and (3) Waddell Mariculture Center (next to Bluffton).

Location on host: Body surface.

Specimens deposited: -

Description of specimens (based on 15 specimens, 9 stained, 6 cleared): Gyrodactylidae.

Body elongate, divisible into cephalic region, trunk, peduncle, haptor. Body 582 (550-628, n=6) long; 68 (59-80, n=7) wide at level posterior cephalic glands; 108 (85-150, n=6) wide at level of uterus. Eyes absent. Cephalic region composed by two cephalic lobes each one containing spike sensilla. Head organs present, with ducts connected to cephalic glands; cephalic glands unicellular, divided into a pre-pharyngeal group, presenting a small agglomerated unicellular glands and pharyngeal group with larger ovoid cells dorsally and smaller cells ventrally. Pharynx composed of two bulbs, 44 (37-54, n=6) long; anterior bulb muscular with eversible digitiform projections, 30 (22-38, n=6) wide; posterior bulb muscular, glandular, 42 (30-52, n=6) wide. Esophagus short. Two caeca ending blindly, exceeding to midlength between gonads and haptor. Male Copulatory Organ (MCO) ventral, positioned left of central line of body, armed with a large spine with broad base, two spinelets with broad bases and sclerotized expansions. Two groups of gland-like structures cells at level of MCO. Seminal vesicle elliptical, connected to base of MCO. Uterus positioned in central portion of trunk, pre-germarien. Germarium ovate, (23-25, n=2) long, (26-27, n=2) wide. Testis post-germarium, oval, (33-38, n=2) long, (32-36, n=2) wide. Variable syncytial and cellular glands distributed between testis and peduncular bar. Peduncular bar 85 (83-89, n=8) long, 22 (15-27, n=8) wide, lightly sclerotized, small fold on posterior margin, oblong to elongated pits, distributed along anterior margin, striations across the mid-posterior portion. Haptor oval, 168 (117-173, n=8) long, 136 (122-152, n=8) wide, anterior margin muscular, comprising pair of ventral anchors, 16 hooks, superficial bar, complex set of sclerites. Anchors elongate 120 (106-127, n=5) long, 14 (13-17, n=5) wide, with elongate superficial root, 69 (59- 74, n=5) long; knob-shaped deep root; long straight shaft, 68 (64-72, n=5) long; recurved point 22 (19-25, n=5) long; concave accessory bar associated to superficial root (Fig. 13, AS) with posteriorly directed digitiform process. Superficial bar, 37 (29-49, n=8)

long, 11 (9-13, n=8) wide with anterolateral saddle-horn-shaped processes; shield with posterior indentation presenting irregular connectors anteriorly, with thickened lateral margins with longitudinal ridges (Sclerite R1) 61 (53-68, n=8) long, 44 (39-56, n=8) wide. Deep bar absent. Sclerite R2 proximally bifid, not embedded in shield. Anchor filament present. Bilateral lateral winglike bars with distal radial ribs (Fig. 13, LWB), proximal condyle-like, concave articulation, posterior projection with proximal flaps, subterminal pointed processes. Subtriangular accessory bar (Fig. 13, AB), poorly sclerotized, located between radial sclerites and elongate posterior projection of winglike bars. Hooks 16, discontinuously distributed at the margin of haptor; three pairs positioned in anterior region of haptor; five pairs evenly spaced at the posterior margin of haptor; hooks with hooklet composed by short point, straight elongate shaft, toe projecting beyond level of point tip, platform with proximal elevation, base concave; hook shaft long, distally bulbous, with poorly sclerotized tapering process. A comparison of measurements between distinct studies and species are shown in Table 1 (Supplementary Material).

Remarks

Specimens collected during this study depict unique features, including a shield distally cleft and a MCO armed with a large spine two bilateral spines with expanded base and three spinelets. However, despite the above differences, the specimens of *Swingleus* from the mummichogs studies herein are not unquestionably distinct from *S. polyclithroides* and *S. ancistrus*. This is mostly associated with problems with the original descriptions and illustrations of both species previously known. Furthermore, the studied specimens of *S. polyclithroides* and *S. ancistrus* were excessively cleared and did not allow an adequate study of the complete haptoral sclerites. Besides, the proposal of *S. ancistrus* as a new species by Billeter et al. (2000) is also questionable – size differences reported are questionable in

association with the morphological plasticity known for species of Gyrodactylidae, host and locality differences are irrelevant to taxonomical delimitation of species, and many of the features associated with the haptor are prone for misinterpretation in overly cleared specimens (see Figs. 6-8). Hence, *S. ancistrus* is conserved here as a junior synonym of *S. polyclithroides*. The differences in descriptions of the present specimens and that of *S. polyclithroides* are also likely the result of the different methodology in specimen preparation.

Examination of type specimens of *Swingleus* spp. (*S. polyclithroides* and *S. ancistrus*), it was possible to observe, for example, the presence of an accessory bar in the lateral region of the haptor for all species (Figure 6-8). This same structure had already been recorded by Kritsky & Boeger (2003), although it was not reported in the original descriptions of the species of *Swingleus*. The studied specimens described by Kritsky and Boeger (2003) have sclerites R1 and R2, and the R1 sclerites have already been reported in the described species, but without a name for the structure, the same for the R2 sclerites in *S. polyclithroides* (Rogers 1969). The distal clef in the shield, on the other hand, is difficult to be observed in the type specimens and electron scanning images for *S. ancistrus* presented by Billeter et al. (2000) for *S. ancistrus*.

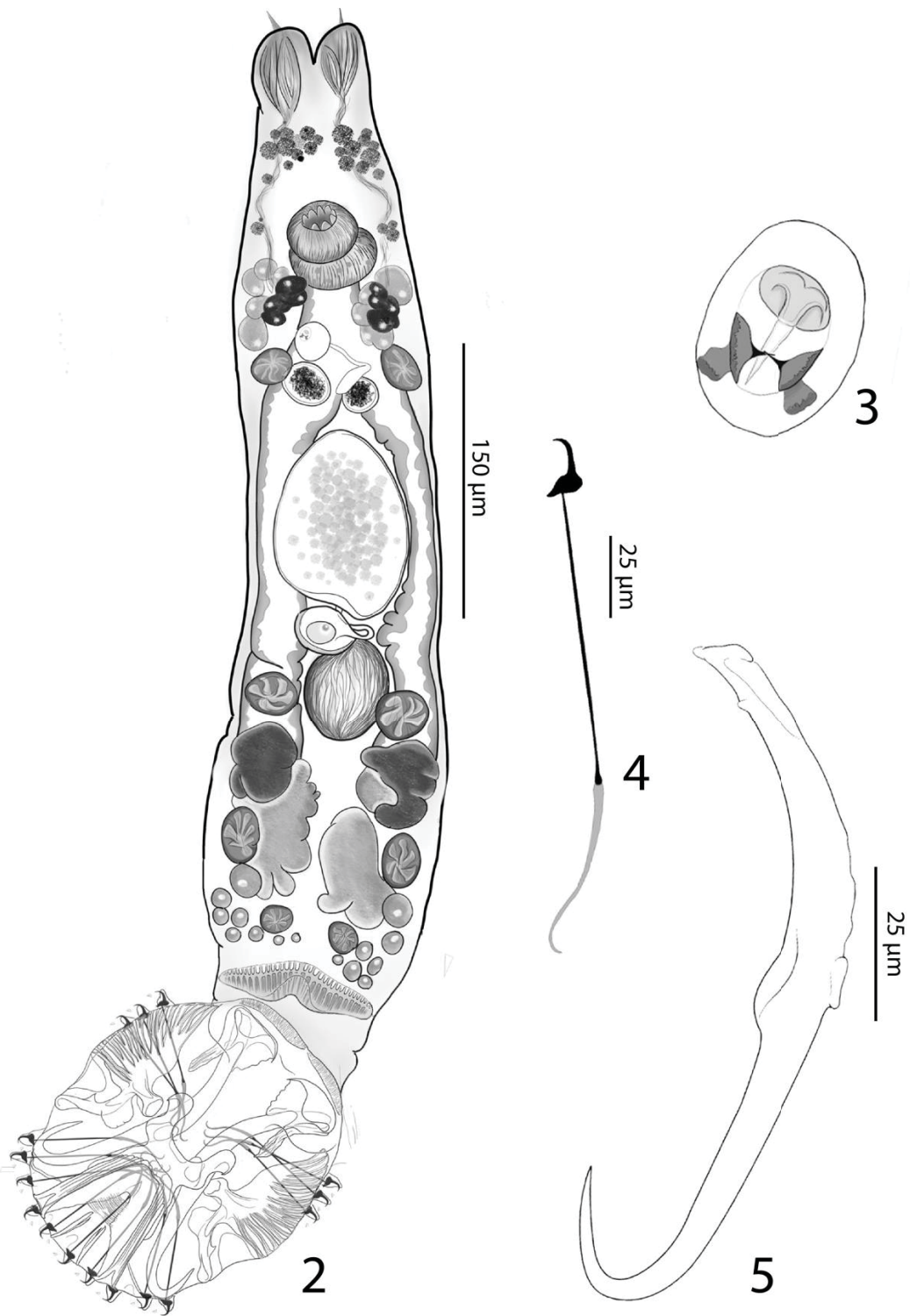


Figure 2-5. *Swingleus cf. polyclithroides*. (Gyrodactylidae) from the body surface of *Fundulus heteroclitus*. (2). Body and haptor, ventral view; (3). Male Copulatory Organ (MCO); (4). Hook; (5). Anchor. Measures in µm.

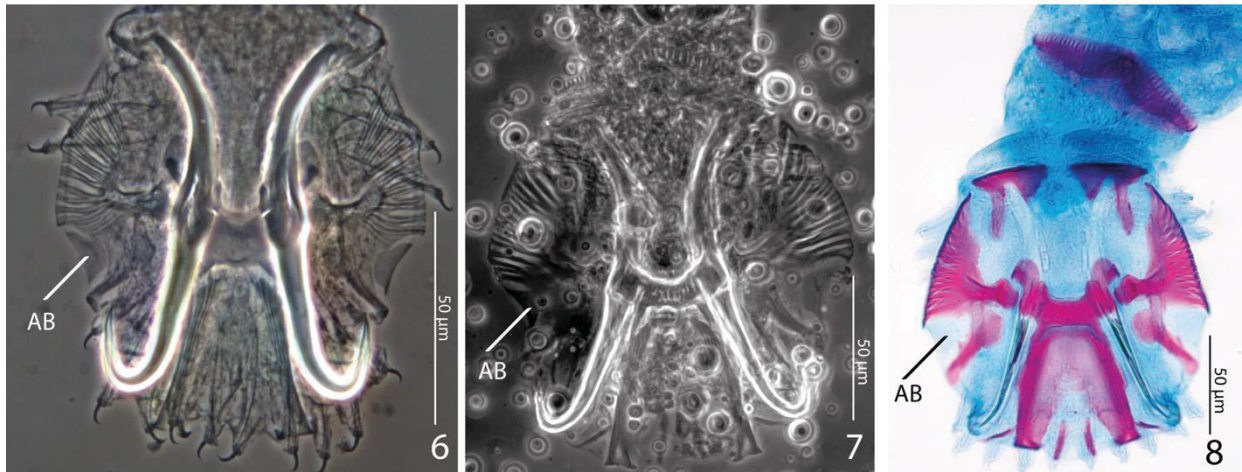


Figure 6-8. Microphotographs of specimens of *Swingleus* spp. cleared (Figs. 6-7) or prepared according to Kritsky et al. (1978) (Fig. 8). **(6).** Paratype of *Swingleus polyclithroides* (USNM 1366025). **(7).** Paratype of *S. ancistrus* (USNM 1384051). **(8).** *Swingleus* cf. *polyclithroides* (this study). AB) Accessory bar.

Fundulotrema cf *prolongis* (Hargis, 1955) Kritsky & Thatcher, 1977

(Figs. 9-12, 14)

Host: *Fundulus heteroclitus* (Linnaeus, 1766), (Fundulidae, Cyprinodontiformes), mummichog.

Other hosts: see Table 2 (Supplementary Material).

Localities: South Carolina, United States of America (USA), (1) Winyah Bay, Baruch Institute for Marine and Coastal Sciences (Georgetown), (2) Ashley and Cooper rivers (Charleston), and (3) Waddell Mariculture Center (next to Bluffton).

Location on host: Body surface.

Specimens deposited: -

Description (based on 16 specimens, 8 stained, 8 cleared): Body elongate, fusiform, divisible into cephalic region, trunk, peduncle, haptor. Body 442 (426-479, n=5) long; 78 (65-91, n=7) at midlength. Cephalic region with two cephalic lobes, each containing single spike sensilla. Eyes absent. Head organs connected to cephalic glands; cephalic glands unicellular, pre-, posterolateral to pharynx; pre-pharyngeal group composed by small oval cells; post-pharyngeal group composed by two types of glands, one group of large cells ventral, one

group of smaller cells, dorsal. Pharynx composed of two bulbs, 33 (31-38, n=5) long; anterior bulb 23 (18-30, n=5) wide, with digitiform eversible projections; posterior bulb 30 (19-30, n=5) wide, muscular, glandular. Esophagus short. Intestinal caeca double, lacking diverticula, ending blindly in posterior trunk. MCO (11, n=1), positioned to left body midline, armed by one central spine with wide base, three distal small spinelets, two laterals larger spinelets with wide base, sclerotized expansion. Seminal vesicle elliptical, connected to MCO. Bilateral prostates posterior to MCO. Uterus in central portion of body. Germarium (16-24, n=2) long, (24-28, n=2) wide, ovate, posterior to uterus. Testis (37, n=1) long, (43, n=1) wide, oval, post-germarium. Peduncular bar 68 (65-71, n=7) long, 18 (16-21, n=7) wide, wide, lightly sclerotized, small fold on posterior margin, oblong to elongated pits, distributed along anterior margin, striations across the mid-posterior portion. Many unicellular and syncytial glands located in region of reproductive organs, peduncle; bilateral mass of syncytial glands lateral to germarium, testis; multiple scattered unicellular glands around end of caeca; elongate unicellular glands with ducts direct towards peduncular bar. Haptor 104 (96-113, n=6) long, (55-68, n=6) wide, subovate, elongate, ventrally concave, length, containing pair of ventral anchors, deep and superficial bars, 16 hooks. Anchor 99 (89-134, n=8) long, 10 (8-14, n=8) wide (at level of deep root); superficial root 53 (47-72, n=8) long; deep root knob-like; point 32 (17-33, n=8) recurved; shaft length 57 (52-77, n=8), slightly curved. Superficial bar 23 (20-27, n=6) long, 7 (6-9, n=6) wide, with mid-anterior knob, anterolateral saddle-horn-shaped processes. Bar shield 38 (35-40, n=6) long, 22 (20-25, n=6) wide, with bilateral anterior constrictions, posterior indentation reaching half-length of shield, sub-medial to lateral longitudinal thickening distally concave with striations (Sclerite R1). Deep bar 18 (15-22, n=6) long, submedial notch. Hooks distributed into two inconspicuous groups at margin of haptor; anterior group composed by three pairs at anterior region of haptor; posterior group composed by five pairs at posterior haptor margin; hooks 56 (44-69,

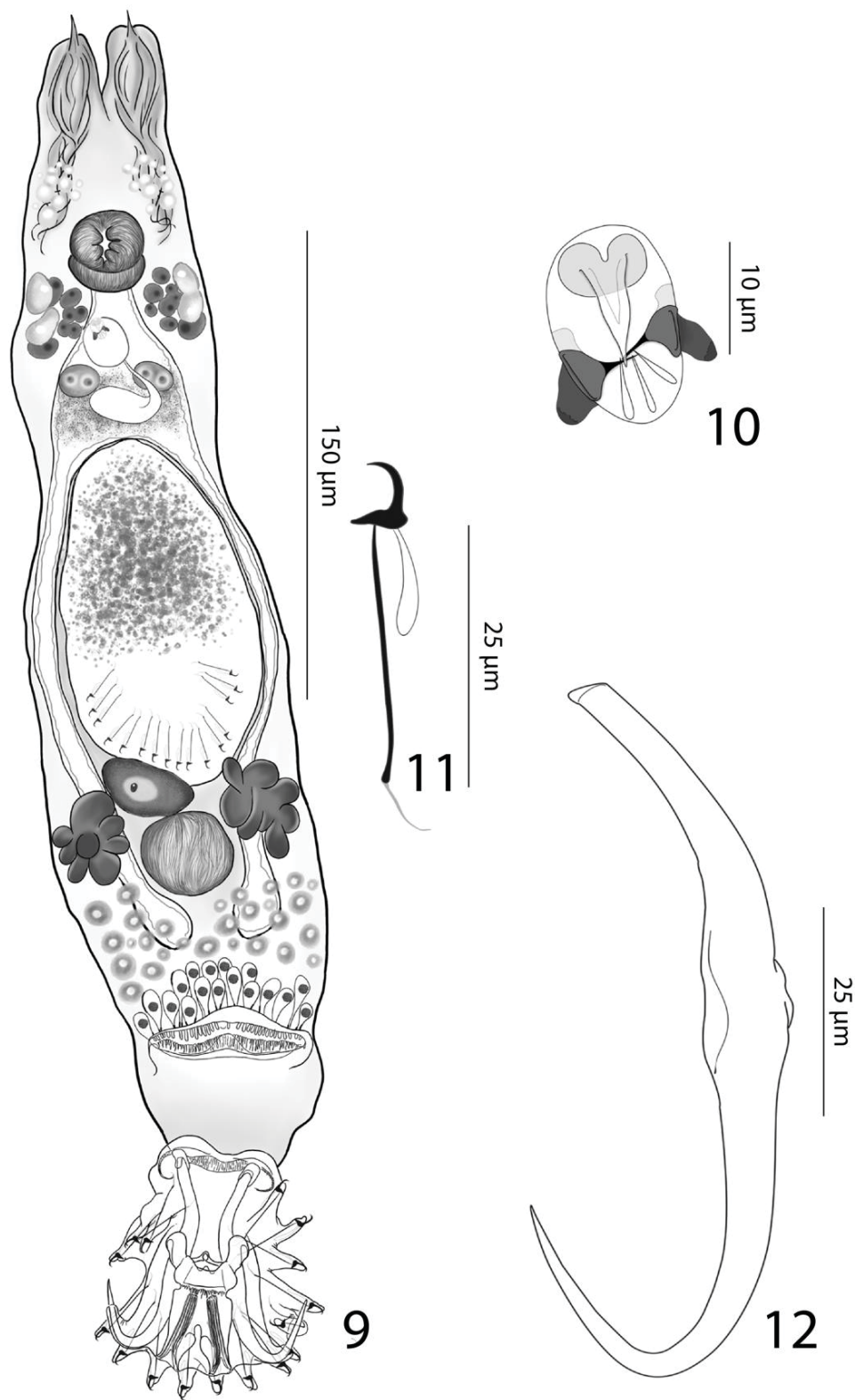
n=8) long; hooks with hooklet composed by evenly curved point and shaft, toe acute projecting beyond level of point tip, platform with proximal elevation, base concave; hook shaft long, distally bulbous, with poorly sclerotized tapering process. A comparison of measurements among distinct studies and species are shown in Table 1 (Supplementary Material).

Remarks

Compared to previous descriptions and illustrations of species presently allocated in *Fundulotrema*, the studied specimens present unique features that could be considered enough to propose a new species. However, many previous descriptions and illustrations (with few exceptions) do not allow an adequate comparison, and this precludes the decision about the delimitation of a putative new species to accommodate the parasites of mummichogs studies herein. Among unique features observed in this study is the armature of the MCO (composed by one spine, two bilateral smaller spines with enlarged base and 3 spinelets) and a cleft on the distal margin of the shield. The later was registered for at least one species through Scanning Electron Microscopy (*F. prolongis* in Cone and Odense (1988) but it was never actually recognized nor described.

F. prolongis is the type species of *Fundulotrema*, proposed by Kritsky and Thatcher (1977) and it was originally described a member of *Gyrodactylus* from *Fundulus grandis* Baird and Girard (see Hargis 1955) and subsequently in *Cyprinodon variegatus* Lacépède (Williams and Rogers 1971). As in the present specimens, the shield clearly presents a distal cleft in *F. porterensis* (see photographs of King and Cone 2009) which suggests that it may indeed be a widespread feature of species of *Fundulotrema* shared with *S. cf. polyclithorides*. The similarities on the general morphology off the haptoral sclerites and, in special, the dorso-anterior process on the superficial bar (see Williams and Rogers 1971) are evidence

296 suggesting that the specimens collected from mummichogs in the present study are members
297 of this family.



298 **Figure 9-12.** *Fundulotrema cf. prolongis* (Gyrodactylidae) from the body surface of *Fundulus heteroclitus*. (9).
299 Body and haptor, ventral view; (10). Male Copulatory Organ (MCO); (11). Hook; (12). Anchor. Measures in
300 µm.
301
302

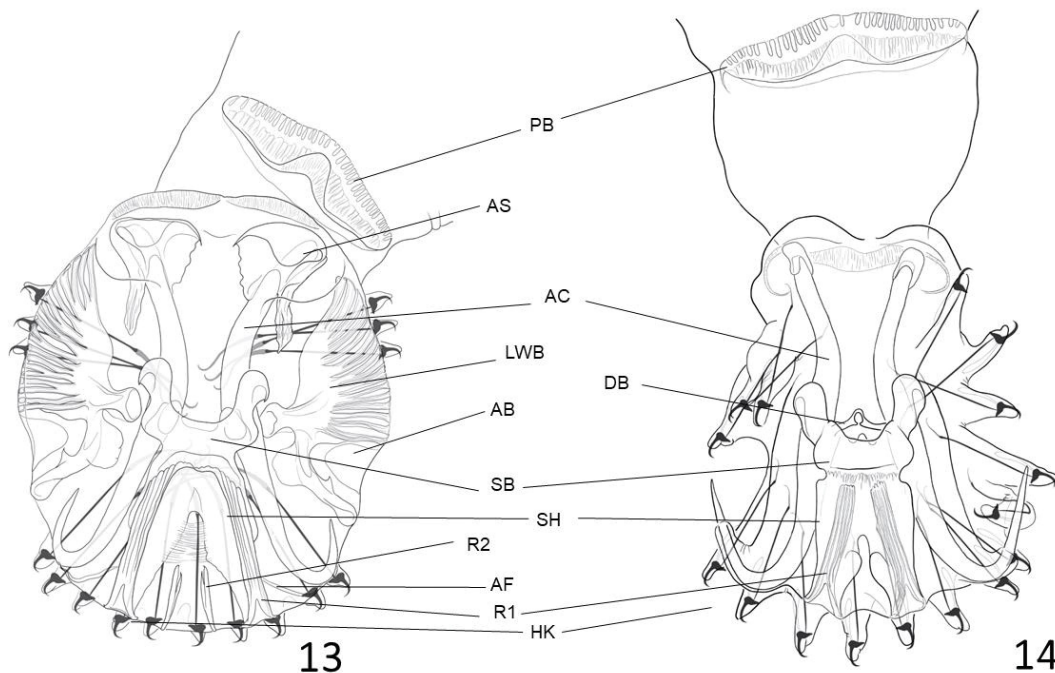


Figure 13-14. Haptor structures (13). *Swingleus cf. polyclithroides*. and (14). *Fundulotrema cf. prolongis*. from *Fundulus heteroclitus*. PB) Peduncular bar; AS) Accessory bar and digitiform process; AC) Anchor; LWB) Lateral winglike bar with radial ribs; DB) Deep bar; AB) Accessory bar; SB) Superficial bar with anterolateral process; SH) Shield; AF) Anchor filament; HK) Hook.

Parasitological parameters

A total of 123 *Fundulus heteroclitus* were collected - 52 in Baruch (Location 1), 14 in Charleston (Location 2), and 48 in Waddell (Location 3) (Fig. 1, 11). We have found 65 individuals of *Swingleus cf. polyclithroides* and 73 individuals of *Fundulotrema cf. prolongis* in those fish. It was recorded 41, 7, and 17 specimens of the *S. cf. polyclithroides* for these localities, respectively; and 42, 19, and 12 specimens of the *F. cf. prolongis*, for these localities, respectively.

Despite the lower sampling effort (n=14), the population of *F. cf. prolongis* from Charleston presented the highest prevalence (Table 1). Mean Intensity values were higher in Baruch for both species, however *F. cf. prolongis* shows the highest value of mean intensity in Waddell. Furthermore, the highest Mean Abundance corresponds to *F. cf. prolongis* in Charleston, with a significant difference for abundance ($p=0.0002552$, Kruskal-Wallis) (Figure 15), with difference between Charleston and Waddell localities ($p=0.0005574195$,

DunnTest). On the other hand, the abundance of *S. cf polyclithroides* does not differ significantly by location.

Table 1. Ecological parameters estimated for different geographic populations of *Fundulus heteroclitus* and parasitic info communities of *Swingleus cf polyclithroides* and *Fundulotrema cf prolongis* (Prevalence (%); Mean intensity $\pm$ Standard deviation; Mean abundance $\pm$ Standard deviation).

	Prevalence (%)		Mean intensity ($\pm$ SD)		Mean abundance ($\pm$ SD)	
	<i>Swingleus cf polyclithroides</i>	<i>Fundulotrema cf prolongis</i>	<i>Swingleus cf polyclithroides</i>	<i>Fundulotrema cf prolongis</i>	<i>Swingleus cf polyclithroides</i>	<i>Fundulotrema cf prolongis</i>
Baruch (1)	36,54	38,46	2,16 ($\pm$ 1,66)	2,10 ($\pm$ 1,21)	0,79 ($\pm$ 1,44)	0,81 ($\pm$ 1,26)
Charleston (2)	28,57	71,43	1,75 ($\pm$ 0,83)	1,90 ($\pm$ 1,48)	0,50 ($\pm$ 0,91)	1,35 ($\pm$ 1,54)
Waddell (3)	20,83	10,42	1,70 ($\pm$ 1,55)	2,40 ($\pm$ 0,80)	0,35 ($\pm$ 0,99)	0,25 ($\pm$ 0,77)

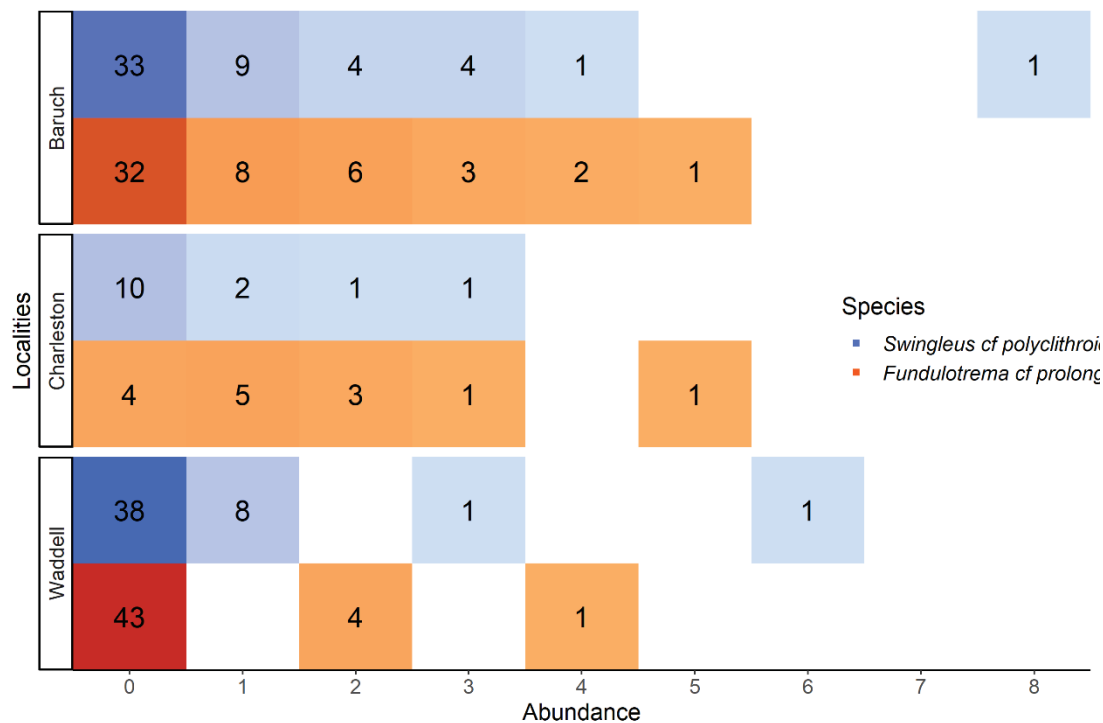


Figure 15. Heat map of the parasitic intensity of infection of *Swingleus cf polyclithroides* and *Fundulotrema cf prolongis*. according to the sampled location and parasites abundance. The number inside the boxes indicates the amount of *Fundulus heteroclitus* analyzed for each abundance value of parasites species.

4. Discussion

Recognition of species of the clade composed by *Swingleus* and *Fundulotrema* (Kritsky and Boeger 2003) is facilitated by the presence of a sclerotized peduncular bar (Hendrix 1994; Hoffman 1998; Kritsky and Boeger 2003; Kritsky and Thatcher 1977), a feature unique within the Gyrodactylidae. Indeed, the shared morphological characteristics between these two genera and similar groups of hosts (mainly *Fundulus* spp.) support the hypothesis of Kritsky and Boeger (2003) (morphology) and Boeger et al. (2021) (molecular) that these genera are sister clades. Species of both genera also present a longitudinal thickening in the plate-like shield with longitudinal ridges and terminating concave (also known as sclerite R1); have similar structure of hooks (with slightly sclerotized portion of shank); a MCO composed by a large spine, two bilateral large spinelets with broad base and variable number of smaller spinelets; and shield with a posterior cleft (but see below).

The differences between species of the genera include the absence of deep bar in species of *Swingleus* (present in *Fundulotrema* spp.) and the presence of numerous diverse accessory bars in species of *Swingleus*. Species of both genera are armed with 16 hooks. While the hooks are distributed in two distinct groups, one anterior with 3 pairs anterior and 5 pairs posterior in the haptor in *Swingleus* spp., Kritsky and Thatcher (1977) diagnosis of *Fundulotrema* spp. indicates that they are arranged radially in the haptor (evenly distributed). However, the specimens of *F. cf. prolongis* studied herein present a hook distribution like that reported and observed herein for *S. cf. polyclithroides* but with anterior and posterior groups that are not as clearly defined (see Fig. 10). This hooks distribution may, in fact, represent another shared feature for *Swingleus* and *Fundulotrema*, since it has been reported for other species of *Fundulotrema* by Cone and Odense (1988).

The morphological analyses of the species of *Swingleus* and *Fundulotrema* from *F. heteroclithrus* reveal individuals with distinct characteristics in comparison with those

anteriorly proposed for these genera. However, many of the original and previous descriptions of species presently allocated in these genera are unprecise and lack adequate illustrations, precluding a robust comparison. On the other hand, our specimens have been prepared using the technique of Kritsky et al. (1978) which reveals details often missed by simple clearing methods (see comparison of cleared types and specimens prepared this way in Fig. 6-8). In fact, the posterior cleft observed in the studied specimens *S. cf. polyclithroides* and *F. cf. prolongis* considered potentially unique for species of these genera are, indeed, visible in many other Gyrodactylidae whenever a careful study is performed (preferable under phase contrast microscopy) or when Kritsky et al. (1978) method is applied. The staining of the sclerotized armature of the haptor facilitated the adequate and more detailed description of haptoral accessory bars and should be applied for gyrodactylids in general. Unfortunately, types deposited in collections were also not adequate to resolve the questions of morphological identity as they were overly cleared (Fig. 6-7).

Many biodiversity studies tend to ignore the vast species diversity and ecological importance of parasitic taxa (Dougherty et al. 2016). Studies based exclusively on morphological identification of parasites need extra care since errors in the identification of new and known species are common when old descriptions are based on poor morphological analysis. This may be directly related to the scarcity of studies that explore these specific genera and other groups of Monogenoidea parasites of small fishes in general (Boeger et al. 2014; Roudnický et al. 2020). However, it becomes another point that makes the specific identification of these underexplored species difficult. This misidentification generates a domino effect can lead to misinterpreted studies on ecological aspects of interactions between host-parasite (Brooks et al. 2014; Hoberg et al. 2015).

The parasitological parameters for *S. cf. polyclithroides* and *F. cf. prolongis* help a little more the understanding of ecological interactions of specimens analyzed herein differ

among the sampled populations of mummichogs from distinct estuaries of the coast of South Carolina. For instance, the prevalence of *F. cf. prolongis* were higher in Charleston. The mean intensity was higher for *F. cf. prolongis* in Waddell. The demographic variability of ecological parameters of parasites in the same host may be related to intrinsic traits of the species, varying even within the same parasite community, depending on the compatibility of interaction (Arneberg et al. 1997; Krasnov et al. 2006; Lambrechts et al. 2006; Patella et al., 2017). The distribution of parasite species may be related also to differences in abiotic and biotic factors (Budischak et al. 2015), which may indicate spatial heterogeneity in the differentiated communities studied. Morphologically, the individuals from the same species did not present distinct structures, so, quite possibly, the difference in ecological parameters may reflect of the local ecological diversity (Poulin 2007).

These parasites are often found on the body surface of fish and are either not recognized or poorly sampled and may be related to studies that focus only on the search for monogenoid parasites in gills Billeter et al. (2000). Other revisions of species, including molecular data, are needed to produce adequate resolutions to the problems in *Swingleus* and *Fundulotrema* taxonomy, as well as to understand more about their biology. As the species of these genera are geographically limited to the Nearctic, we suggest a review of species from the type locations, with the addition of new locations on the coast of the United States and Canada.

Funding This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001.

Declarations

Conflict of interest The authors declare no competing interest.

Ethics approval Collections authorized by the South Carolina Department of Natural Resources to WAB.

Supplementary Material

Table 1. Comparison of measurements of haptoral structures between species of *Swingleus* and *Fundulotrema* previously reported and species recorded in this study. The measurements are presented in μm . The mean value of the measurements is represented, followed by the variation inside parenthesis, and the number of specimens studied. When the number was said that it was for all measurements, we treated that it was for all structures.

	Rogers, 1969	Swingleus ancistrus	Billeter, Klink & Mangel, 2000	This study	(Hargis, 1955) Kritsky & Thatcher, 1977	(Wellborn & Rogers, 1967) Kritsky & Thatcher, 1977	(Rogers, 1967) Kritsky & Thatcher, 1977	(Hathaway & Herlevich, 1973) Kritsky & Thatcher, 1977	(Rawson, 1973) Kritsky & Thatcher, 1977	King & Cone, 2009	This study
	<i>Swingleus polychithroides</i>	<i>Swingleus ancistrus</i>		<i>Swingleus cf polychithroides</i>	<i>Fundulotrema prolongis</i>	<i>Fundulotrema megacanthus</i>	<i>Fundulotrema trematoclitrus</i>	<i>Fundulotrema stableri</i>	<i>Fundulotrema foxi</i>	<i>Fundulotrema portensis</i>	<i>Fundulotrema cf prolongis</i>
Haptor											
Haptor length	109 (105-113) 10	14 (130-154) 20	168 (117-173) 8		81 (76-83) 3	96 (-) 11	57 (45-65) 10	97 (78-120) 3	57 (40-66) 10	100 (75-126) 18	104 (96-113) 6
Haptor width	96 (70-108) 10	126 (110-138) 20	136 (122-152) 8		49 (44-51) 3	88 (-) 11	74 (65-80) 10	90 (58-120) 3	73 (58-82)	149 (110-190) 18	60 (55-68) 6
Maximum distance between superficial bar processes	12 (10-13) 10	54 (41-63) 19	26 (16-35) 8		*	*	*	*	*	*	*
Length superficial bar membrane / Shield Length	46 (24-48) 10	61 (54-63) 20	61 (53-68) 8		-	28 (25-30) 11	25 (24-26) 10	37 (36-40) 3	-	16 (15-18) 18	38 (35-40) 6
Shield width	42 (40-45) 10	59 (52-63) 20	44 (39-56) 8		-	18 (15-23) 11	16 (15-17) 10	38 (36-40) 3	-	-	22 (20-25) 6
Length of lateral winglike bar from articulation with superficial bar to edge of haptor	37 (34-39) 10	47 (44-49) 20	44 (36-52) 8		*	*	*	*	*	*	*
Width of lateral bar from distal mport anteriormost rib to mport posterolaterally directed fingerlike projection	-	99 (94-104) 7	91 (76-104) 8		*	*	*	*	*	*	*
Deep bar length	*	*	*		11 (9-14) 3	17 (15-21) 11	15 (16-16) 10	16 (12-20) 3	-	17 (14-21) 18	18 (15-22) 6
Deep bar projection width of the edge to internal notch freely extended	*	*	*		7 (5-8) 3	(2-3) 11	3 (2-4) 10	-	-	1 (1-2) 18	3 (2-4) 4
Superficial bar length	37 (33-45) 10	47 (43-57) 22	37 (29-49) 8		19 (18-23) 3	26 (24-30) 11	20 (19-21) 10	42 (40-48) 3	19 (17-21) 10	28 (26-31) 18	23 (20-27) 6
Superficial bar width	11 (9-12) 10	11 (9-15) 20	(9-13) 8		6 (5-7) 3	8 (7-9) 11	6 (6-6) 10	-	27 (22-34) 10	19 (17-21) 18	7 (6-9) 6
Superficial bar medial posterior knob directed anteriorly length	*	*	*		-	(3-5) 11	10 (9-11) 10	-	-	-	2 (2-3) 3
Superficial bar anterolateral processes length to the edge of the superficial bar	*	*	*		-	14 (11-16) 11	-	-	-	4 (3-5) 18	8 (8-10) 6
Anchor											
Anchor total length	96 (92-100) 10	115 (104-125) 42	120 (106-127) 5		75 (74-76) 3	76 (71-83) 11	50 (48-51) 10	83 (75-93) 3	44 (39-49) 10	50 (44-55) 18	99 (89-134) 8
Anchor width	10 (9-11) 10	-	14 (13-17) 5		10 (-) 3	-	8 (8-8) 10	11 (9-15) 3	-	-	10 (8-14) 8
Anchor point length	23 (21-25) 10	23 (20-26) 22	22 (19-25) 5		-	26 (24-27) 11	21 (18-23) 10	-	-	22 (22-24) 18	32 (17-33) 8
Anchor superficial root length	-	61 (56-65) 22	69 (59-74) 5		-	-	-	-	-	16 (13-18) 18	53 (47-72) 8
Anchor shaft length	-	67 (60-72) 22	68 (64-72) 5		-	-	-	-	-	37 (33-40) 18	57 (52-77) 8

Hook									
Marginal hook total length	-	-	64 (59-70) 11	41 (-) 2	- (10-11) 11	-	-	31 (30-33) 18	56 (44-69) 8
Marginal hook width	-	5 (5-6) 10	5 (4-6) 11	-	-	-	-	4 (3-4) 18	5 (4-7) 8
Marginal hook shank length	32 (30-33) 10	42 (39-50) 10	39 (37-41) 12	-	30 (29-31) 11	24 (23-26) 10	34 (33-35) 3	-	32 (25-38) 8
Marginal hooklet length	-	-	17 (14-22) 7	-	-	- (6-7) 10	-	-	*
Peduncular bar									
Peduncular bar length	66 (63-69) 10	82 (76-84) 16	85 (83-89) 8	-	32 (29-36) 11	41 (34-44) 10	67 (48-75) 3	53 (45-58)	68 (65-71) 7
Peduncular bar width	19 (18-20) 10	30 (28-32) 16	22 (15-27) 8	-	16 (14-20) 11	10 (8-12) 10	13 (13-14) 3	11 (10-13)	18 (16-21) 7

- Measurements were not presented in the studies.

* Measurements not presented for the reason the structures are not important in the genera.

Peduncular bar is poisoned in peduncle, not haptor and it is an important structure of identification for both genera.

References

- Billeter, P. A., Klink, M. M., & Mangel, T. K. (2000). A new species of *Swingleus* (Monogenea: Gyrodactylidae) from the mummichog *Fundulus heteroclitus*, in the Delaware bay. *Journal of Parasitology*, 86(6), 1219–1222. [https://doi.org/10.1645/0022-3395\(2000\)086\[1219:ansosm\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1645/0022-3395(2000)086[1219:ansosm]2.0.co;2)
- Hargis, W. J. (1955). Monogenetic Trematodes of Gulf of Mexico Fishes. Part I. the Superfamily Gyrodactyloidea. *The Biological Bulletin*, 108(2), 125–137. <https://doi.org/10.2307/1538429>
- Hathaway, R. P., & Herlevich, J. C. (1973). Gyrodactylus stableri sp. n., with New Host and Locality Records for Species of Gyrodactylus. *The Journal of Parasitology*, 59(5), 801. <https://doi.org/10.2307/3278409>
- King, S. D., & Cone, D. K. (2009). Morphological and molecular taxonomy of a new species of fundulotrema and comments on gyrodactylus stephanus (monogenea: Gyrodactylidae) from fundulus heteroclitus (actinopterygii: Cyprinodontiformes) in Nova Scotia, Canada. *Journal of Parasitology*, 95(4), 846–849. <https://doi.org/10.1645/GE-1901.1>
- Kritsky, D. C., & Thatcher, V. E. (1977). Phanerothecium gen. Nov. and Fundulotrema gen. Nov. Two new genera of viviparous Monogenoidea (Gyrodactylidae), with a description of P. caballeri sp. nov. and a key to the subfamilies and genera of the family. *Excerpta Parasitol Mem Dr Eduardo Caballero y Caballero Inst Biol Publ Esp*, 4, 53–60
- Rawson, M. V. (1973). Two new species of Gyrodactylus (Trematoda: Monogenea) from the Georgia coast. *Proceedings helminth Soc Wash*, 40(2), 180–183
- Rogers, W. A. (1967^a). Six New Species of Gyrodactylus (Monogenea) from the Southeastern U. S. *The Journal of Parasitology*, 53(4), 747–751
- Rogers, W. A. (1969). *Swingleus polychlithroides* Gen. Et sp. n. (Monogenea:Gyrodactylidae) from *Fundulus grandis* Baird and Girard. *Tulane Studies in Zoology and Botany*, 16, 22–25
- Wellborn, T. L., & Rogers, W. A. (1967). Five New Species of *Gyrodactylus* (Trematoda: Monogenea) from the Southeastern U. S. *The Journal of Parasitology*, 53(1), 10–14

Table 2. Data of locality from *Swingleus* and *Fundulotrema* species, fish host, locality, and reference.

Species	Host	Locality	Reference
<i>Swingleus</i>			
<i>Swingleus polyclithroides</i> Rogers, 1969	<i>Fundulus grandis</i> Baird & Girard, 1853	Alabama, USA	Rogers, 1969
	<i>F. majalis</i> (Walbaum, 1792)	New York, USA	Billeter, 1974 Hendrix, 1994
<i>S. cf polyclithroides</i>	<i>Fundulus heteroclitus</i> (Linnaeus, 1766)	South Carolina, USA	This study
<i>S. ancistrus</i> Billeter, Klink & Mangel, 2000	<i>F. majalis</i>	New Jersey, USA	Billeter, 1974
	<i>F. heteroclitus</i>	Delaware, USA	Billeter, Klink & Mangel, 2000
		Maryland, USA	Billeter, Klink & Mangel, 2000 Prikrylová et al., 2013
		New Jersey, USA	Billeter, Klink & Mangel, 2000 Anderson, Sukhdeo, 2010 Anderson, Sukhdeo, 2011 Anderson, Sukhdeo, 2013
		North Carolina, USA	Billeter, Klink & Mangel, 2000
		Virginia, USA	Billeter, Klink & Mangel, 2000
		Georgia, USA	Dunn, 2015 Alferi & Anderson, 2019
<i>Swingleus</i> sp. (not specified)	<i>F. majalis</i>	Virginia, USA	Able, 1976
	<i>Lucania parva</i> (Baird & Girard, 1885)	Virginia, USA	Able, 1976
<i>Fundulotrema</i>			
<i>Fundulotrema prolongis</i> (Hargis, 1955) Kritsky & Thatcher, 1977	<i>Fundulus grandis</i>	Florida, USA	Hargis, 1955
	<i>F. grandis</i>	Alabama, USA	Rogers, 1969 William & Rogers, 1971
	<i>F. grandis</i>	Florida, USA	William & Rogers, 1971
	<i>F. majalis</i>	Virginia, USA	Dillon, 1966
	<i>F. diaphanus</i> (Lesueus, 1817)	Ontario, Canada	Hanek & Fernando, 1971
	<i>F. diaphanus</i>	Nova Scotia, Canada	Cone & Odense, 1988
	<i>F. confluentus</i> Goode & Bean, 1879	Nova Scotia, Canada	Cone & Odense, 1988
	<i>F. confluentus</i>	Ontario, Canada	Dechtiar & Christie, 1988 Hanek & Fernando, 1971
	<i>F. heteroclitus</i>	Massachusetts, USA	Linton, 1940 Hargis, 1955 Williams & Rogers, 1971
	<i>F. heteroclitus</i>	Alabama, USA	Williams & Rogers, 1971
	<i>F. heteroclitus</i>	Georgia, USA	Rawson, 1973 Alferi & Anderson, 2019
	<i>F. heteroclitus</i>	New foundland, Canada	Dickinson & Threlfall, 1975
	<i>F. heteroclitus</i>	Connecticut, USA	Barkman & James, 1979

	<i>F. heteroclitus</i>	Virginia, USA	Lawler, 1982 Harris & Volgelbein, 2006
	<i>F. heteroclitus</i>	Lousiana, USA	Hoffman, 1998
	<i>F. heteroclitus</i>	Delaware, USA	Billeter, Klink & Mangel, 2000
	<i>F. heteroclitus</i>	New Jersey, USA	Bass & Weis, 2009 Anderon & Sukhdeo, 2009 Anderon & Sukhdeo, 2011 Anderon & Sukhdeo, 2013
	<i>F. heteroclitus</i>	New York, USA	Bass & Weis, 2009
	<i>F. heteroclitus</i>	Nova Scotia, Canada	King, 2009
	<i>F. heteroclitus</i>	Kansas, USA	Alfieri & Anderson, 2019
	<i>F. heteroclitus</i>	Maryland, USA	Prikilová et al 2013
	<i>Cyprinodon rubrofluviatilis</i> Fowler, 1916	Kansas, USA	McAllister et al., 2019
	<i>C. rubrofluviatilis</i>	Texas, USA	McAllister et al., 2019
	<i>C. variegatus</i> Lacepede, 1803	Alabama, USA	Williams & Rogers, 1971
<i>F. cf prolongis</i>	<i>F. heteroclitus</i>	South Carolina, USA	This study
<i>F. megacanthus</i> (Wellborn & Roger, 1967) Kritsky & Thatcher, 1977	<i>Fundulus olivaceus</i> (Storer, 1845)	Mississippi, USA	Wellborn & Rogers, 1967
	<i>F. olivaceus</i>	Arkansas, USA	Wellborn & Rogers, 1967
	<i>F. notti</i> Agassiz, 1854)	Alabama, USA	Wellborn & Rogers, 1967
	<i>F. notatus</i> (Rafinesque, 1820)	Illinois, USA	Kritsky & Thatcher, 1977
	<i>F. notatus</i>	Kentucky, USA	Kozel & Whitaaker, 1985
<i>F. trematoclitrus</i> (Rogers, 1967) Kritsky & Thatcher, 1977	<i>Lucania parva</i>	Alabama, USA	Rogers, 1967
<i>F. stableri</i> (Hataway & Herlevich, 1973) Kritsky & Thatcher, 1977	<i>F. kansae</i> German, 1895	Colorado, USA	Hathaway & Herlevich, 1973
<i>F. foxi</i> (Rawson, 1973) Kritsky & Thatcher, 1977	<i>F. heteroclitus</i>	Georgia, USA	Rawson, 1973
	<i>F. waccamensis</i> Hubbs & Raney, 1964	Nova Scotia, Canada	King & Cone, 2009
	<i>F. heteroclitus</i>	North Carolina, USA	Burge & King, 2015
	<i>F. heteroclitus</i>	Delaware, USA	Billeter, Klink & Mangel, 2000
<i>F. porterensis</i> King & Cone, 2009	<i>F. heteroclitus</i>	Nova Scotia, Canada	King, 2009
	<i>F. heteroclitus</i>	Nova Scotia, Canada	King & Cone, 2009
	<i>F. waccamensis</i>	North Carolina, USA	Burge & King, 2015

<i>Fundulotrema</i> sp.	<i>F. heteroclitus</i>	Maryland, USA	Barse, 1998
	<i>F. heteroclitus</i>	Virginia, USA	Harris & Volgelbein, 2006
	<i>F. heteroclitus</i>	New Brunswick, Canada	Blanar, 2011

References

- Able, K. W. (1976). Cleaning behavior in the cyprinodontid fishes: *Fundulus majalis*, *Cyprinodon variegatus*, and *Lucania parva*. *Chesapeake Science*, 17(1), 35–39. <https://doi.org/10.2307/1350575>
- Alfieri, J. M., & Anderson, T. K. (2019). Life-cycle mediated effects of urbanization on parasite communities in the estuarine fish, *Fundulus heteroclitus*. *PLoS ONE*, 14(12), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225896>
- Anderson, T. K., & Sukhdeo, M. V. K. (2010). Abiotic versus biotic hierarchies in the assembly of parasite populations. *Parasitology*, 137(4), 743–754. <https://doi.org/10.1017/S0031182009991430>
- Anderson, Tavis K., & Sukhdeo, M. V. K. (2011). Host centrality in food web networks determines parasite diversity. *PLoS ONE*, 6(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026798>
- Anderson, Tavis K., & Sukhdeo, M. V. K. (2013). Qualitative community stability determines parasite establishment and richness in estuarine marshes. *PeerJ*, 2013(1), 1–14. <https://doi.org/10.7717/peerj.92>
- Barkman, L. L., & James, H. A. (1979). A population study of Monogenetic Trematodes from killifish *Fundulus heteroclitus* (Linnaeus) in Connecticut.
- Barse, A. M. (1998). Gill parasites of mummichogs, *Fundulus heteroclitus* (Teleostei: Cyprinodontidae): Effects of season, locality, and host sex and size. *Journal of Parasitology*, 84(2), 236–244. <https://doi.org/10.2307/3284476>
- Billeter, P. A. (1974). New Host and Locality Records for the Genus *Swingleus* Rogers, 1969. *The Journal of Parasitology*, 60(6), 1041.
- Billeter, P. A., Klink, M. M., & Mangel, T. K. (2000). A new species of *Swingleus* (Monogenea: Gyrodactylidae) from the mummichog *Fundulus heteroclitus*, in the Delaware bay. *Journal of Parasitology*, 86(6), 1219–1222. [https://doi.org/10.1645/0022-3395\(2000\)086\[1219:ansosm\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1645/0022-3395(2000)086[1219:ansosm]2.0.co;2)
- Blanar, C. A., Marcogliese, D. J., & Couillard, C. M. (2011). Natural and anthropogenic factors shape metazoan parasite community structure in mummichog (*Fundulus heteroclitus*) from two estuaries in New Brunswick, Canada. *Folia Parasitologica*, 58(3), 240–248. <https://doi.org/10.14411/fp.2011.023>
- Burge, E. J., & King, S. D. (2015). Parasites of the carolina bay lake-endemic *Fundulus waccamensis* (Waccamaw Killifish). *Southeastern Naturalist*, 14(1), 197–212. <https://doi.org/10.1656/058.014.0115>
- Cone, D. K., & Odense, P. H. (1988). Light and Scanning Electron Microscope Studies of *Fundulotrema prolongis* (Monogenea: Gyrodactylidae) Parasitizing *Fundulus diaphanus* (Cyprinodontidae) in Nova Scotia, Canada, with an Emended Diagnosis of *Fundulotrema*. *Proc. Helminthol. Soc. Wash*, 55(2), 224–228.
- Dechtiar, A. O., & Christie, W. J. (1988). Survey of the parasite fauna of Lake Ontario fishes, 1961 to

1971. *Great Lakes Fish Comm Tech Rep*, 51, 66–95.
- Dickinson, A. B., & Threlfall, W. (1975). Metazoan parasites of *Fundulus heteroclitus* (Linnaeus, 1766) from insular Newfoundland. *Proc. Helm. Soc. Wash.*, 42, 111–116.
- Dillon, W. A. (1966). Provisional list of parasites occurring on *Fundulus* spp. *The Virginia Journal of Science*, 17, 21–31. SERTC non-taxonomic reprints/Platyhelminthes
- Dunn, S. (2015). Parasite Infection Mediates Trait Tradeoffs in *Fundulus heteroclitus*.
- Hanek, G., & Fernando, C. H. (1971). Monogenetic trematodes from the Bay of Quinte area, Ontario. II. Genus *Gyrodactylus* Nordmann, 1832. *Canadian journal of zoology*, 49(10), 1331–1341. <https://doi.org/10.1139/z71-199>
- Hargis, W. J. (1955). Monogenetic Trematodes of Gulf of Mexico Fishes. Part I. the Superfamily Gyrodactyloidea. *The Biological Bulletin*, 108(2), 125–137. <https://doi.org/10.2307/1538429>
- Harris, C. E., & Vogelbein, W. K. (2006). Parasites of mummichogs, *Fundulus heteroclitus*, from the York River, Virginia, U.S.A., with a checklist of parasites of Atlantic coast *Fundulus* spp. *Comparative Parasitology*, 73(1), 72–110. <https://doi.org/10.1654/41716.1>
- Hathaway, R. P., & Herlevich, J. C. (1973). *Gyrodactylus stableri* sp. n., with New Host and Locality Records for Species of *Gyrodactylus*. *The Journal of Parasitology*, 59(5), 801. <https://doi.org/10.2307/3278409>
- Hendrix, S. S. (1994). Marine flora and fauna of the Eastern United States. Platyhelminthes: Monogenea. *NOAA Technical Report NMFS*, 121, 1–106.
- Hoffman, G. L. (1998). *Parasites of North American freshwater fishes* (Cornell Un.).
- King, S. (2009). *Ecology and Taxonomy of Ectoparasites Infecting Sympatric Fundulus heteroclitus, F. diaphanus and their Asexual Hybrid in Two Nova Scotian Lakes*.
- King, S. D., & Cone, D. K. (2009). Morphological and molecular taxonomy of a new species of fundulotrema and comments on *gyrodactylus stephanus* (monogenea: Gyrodactylidae) from *fundulus heteroclitus* (actinopterygii: Cyprinodontiformes) in Nova Scotia, Canada. *Journal of Parasitology*, 95(4), 846–849. <https://doi.org/10.1645/GE-1901.1>
- Kozel, T. R., & Whittaker, F. H. (1985). Research Note - Ectoparasites of the Blackstripe Topminnow, *Fundulus notatus*, from Harrods Creek, Oldham County, Kentucky. *Proc. Helm. Soc. Wash.*, 52(2), 314–315. <http://bionames.org/archive/issn/0018-0130/52/314.pdf>
- Kritsky, D. C., & Thatcher, V. E. (1977). *Phanerothecium* gen. nov. and *Fundulotrema* gen. nov. Two new genera of viviparous Monogeneoidea (Gyrodactylidae), with a description of *P. caballeroi* sp. nov. and a key to the subfamilies and genera of the family. *Excerta Parasitol Mem Dr Eduardo Caballero y Caballero Inst Biol Publ Esp*, 4, 53–60.
- Lawler, A. R. (1982). Deaths of aquarium-held fishes caused by monogenetic trematodes. II *Gyrodactylus* spp. on *Fundulus heteroclitus* (Linnaeus). *Drum and Croaker*, 20, 15–17.
- Linton, E. (1940). Trematodes from fishes mainly from the Woods Hole region, Massachusetts. *Proceedings of the United States National Museum*, 88(3078), 1–172. <https://doi.org/10.5479/si.00963801.88-3078.1>
- McAllister, C. T., Cloutman, D. G., Robison, H. W., & Neely, D. A. (2019). Monogeneoidea (Dactylogyridae, Gyrodactylidae) from Red River Pupfish, *Cyprinodon rubrofluvialis* (Cyprinodontiformes: Cyprinodontidae), from Kansas and Texas, USA. *Acta Parasitologica*, 64(3), 603–611. <https://doi.org/10.2478/s11686-019-00073-5>
- Příkrylová, I., Vanhove, M. P. M., Janssens, S. B., Billeter, P. A., & Huyse, T. (2013). Tiny worms from a mighty continent: High diversity and new phylogenetic lineages of African monogeneans.

- Rawson, M. V. (1973). Two new species of *Gyrodactylus* (Trematoda: Monogenea) from the Georgia coast. *Proceedings helminth Soc Wash*, 40(2), 180–183.
- Rogers, W. A. (1969). *Swingleus polyclithroides* Gen. et sp. n. (Monogenea:Gyrodactylidae) from *Fundulus Grandis* Baird and Girard. *Tulane Studies in Zoology and Botany*, 16, 22–25.
- Santiago Bass, C., & Weis, J. S. (2009). Conspicuous behaviour of *Fundulus heteroclitus* associated with high digenean metacercariae gill abundances. *Journal of Fish Biology*, 74(4), 763–772. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2008.02148.x>
- Wellborn, T. L., & Rogers, W. A. (1967). Five New Species of *Gyrodactylus* (Trematoda: Monogenea) from the Southeastern U. S. *The Journal of Parasitology*, 53(1), 10–14.
- Williams, E. H., & Rogers, W. A. (1971). Two New Species of *Gyrodactylus* (Trematoda: Monogenea) and a Redescription and New Host Record for *G. prolongis* Hargis, 1955. *The Jour*, 57(4), 845–847

Capítulo 2

Artigo elaborado e formatado conforme as normas do periódico científico International Journal for Parasitology <<https://www.journals.elsevier.com/international-journal-for-parasitology>>.

Position of *Polyclithrum* (Gyrodactylidae, Monogenoidea): Incongruences between morphological and molecular hypotheses

Juliana Rosa Matias Ciccheto¹, Emanuel Luis Razzolini², Walter A Boeger¹

¹Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Brazil.

² Programá de Pós-Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Brazil.

Corresponding author: Juliana R. M. Ciccheto. cicchetojrm@gmail.com. Biological Interactions Laboratory, Universidade Federal do Paraná, P.O. Box 19073, Curitiba, PR 81531-890, Brazil.

Juliana R. M. Ciccheto ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2264-3835>

Emanuel L. Razzolini ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9391-5271>

Walter A. Boeger ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6004-2822>

Abstract

Understanding of morphological characters and evolutionary history often needs to be based on studies with precise molecular data that note a kinship relationship between species and changes of morphological structures over time. We investigated this character's variation between the organisms of the genera *Polyclithrum*, *Swingleus*, *Fundulotrema*, *Macrogyrodactylus*, and *Gyrodactyloides*. Specimens of *Polyclithrum* from Mugil cephalis, and *Swingleus* and *Fundulotrema* specimens from *Fundulotrema hetercolitus* were collected from estuarine systems of South Carolina, United States, and analyzed with morphological and molecular proceedings. Phylogenetic trees based on maximum likelihood and Bayesian inference were performed. A character morphological matrix was constructed. *Polyclithrum* did not form a monophyletic clade with any of the cited genera, except for *Gyrodactylus*, while *Swingleus* and *Fundulotrema* were identified as a sister group. Our results indicate an evolutionary convergence of morphological characters of homoplastic origin, which reveals inconsistencies in the molecular results of the phylogenies in comparison with the morphological data. This appears to be a common pathway within the morphological features of Gyrodactylidae within its evolutionary history.

Keywords: Evolutionary history; Homoplasy; Phylogenetic position.

1. Introduction

Gyrodactylidae Van Beneden et Hess, 1863 (Platyhelminthes, Monogeneoidea) is a family of ectoparasites formed by a monophyletic group of viviparous species (Brooks and McLennan, 1992; Cable and Harris, 2002; Bakke et al., 2007; Kritsky and Boeger, 2003). Haptoral structures are widely used in the recognition of these species, together with the understanding of the homology and loss of these structures throughout the evolutionary history of this group (Brooks and Kritsky, 2003; Shinn et al., 2004; Vignon and Sasal 2010; Boeger et al., 2021).

Species of Gyrodactylidae are easily recognized by their hyperviviparity, the presence of 16 hooks, a pair of ventral anchors supported by superficial and deep bars, shield of ventral bar present (eventually absent), Male Copulatory Organ (MCO) bulbous and armed with spines and spinelets, two head organs with a single spike sensilla each (Boeger et al., 2021). Besides the importance of morphological features in the species delimitation and determinations within the family, molecular markers have been used in studies of taxonomy and phylogeny to expand our understanding on the evolution of these characters in this family

(Cunningham, 1997; Matejusová et al., 2001; Zietara and Luumme, 2004, Huyse and Malmberg, 2004; Kuusela et al., 2008; Hahn et al., 2011; Boeger et al., 2021).

Previously phylogenetic analysis based solely on morphology of the Gyrodactylidae considered the close relationship of *Polyclithrum* Rogers, 1967 with *Macrogyrodactylus* Malmberg, 1956, *Gyrodactyloides* Bychowsky & Polyanski, 1953, *Swingleus* Rogers, 1969, and *Fundulotrema* Kritsky & Thatcher, 1977 (Kritsky and Boeger, 2003). Species of these genera share putative apomorphies including the presence of sclerites R1 and R2 sclerites, accessory bars, and hooks distributed unevenly in the haptor (organized in anterior and posterior clusters) (Kritsky and Boeger, 2003). More inclusive relationships in Kritsky and Boeger (2003) and Vianna et al. (2008) based on morphological hypotheses suggested direct relationship of *Polyclithrum* with *Macrogyrodactylus* and *Gyrodactyloides*, within a same clade which shared a common hypothetical ancestor with *Fundulotrema* + *Swingleus*. Additionally, Vianna et al. (2008) considered two newly erected genera as closely related to genera within this clade – *Mormyrogyrodactylus*, considered closely related to *Swingleus* + *Fundulotrema*, and *Diechodactylus*, considered a basal species in the *Polyclithrum* + clade. Figure 1-4 summarizes some of the haptoral features considered homologous by Kritsky and Boeger (2003) *a priori*, some of which supported the putative clade that includes *Polyclithrum* and subordinate relationships.

Species of *Polyclithrum* are characterized by a complex system of haptoral sclerites, including superficial and deep bar, thread-like shield, sclerites R1 and R2, and rib-like sclerites organized bilaterally and radially (Rogers, 1967; Ernst et al., 2000; Kritsky & Boegers, 2003). The genus is presently composed by five species: *P. mugilini* Rogers, 1967 from *Mugil cephalus* Linnaeus, 1758 (Georgia, USA), *P. alberti* Ernst, Whittington e Jones, 2000 from *M. cephalus* (Queensland, Australia), *P. corallense* Ernst, Whittington e Jones, 2000 from *M. cephalus* (Heron Island, Australia), *Polyclithrum boegeri* Ernst, Whittington e

Jones, 2000 from *M. platanus* (Rio de Janeiro, Brazil) e *P. ponticum* Gerasev, Dmitrieva e Gaevskaja, 2002 from *M. cephalus* (Black Sea) (Rogers, 1967; Ernst et al., 2000; Gerasev et al., 2002). In addition, two unidentified species of *Polyclithrum* were reported from Brazilian mullets (Vianna et al., 2007).

Recent molecular phylogenetic analyses (Přikrylová et al., 2013; Boeger et al., 2021) questioned the phylogenetic relationship based on morphological characters and posed questions on the homology of the features used by Kritsky and Boeger (2003) to support the proximity between *Polyclithrum*, *Swingleus*, *Fundulotrema*, *Gyrodactyloides*, *Accessorius*, and *Paragyrodactylus*. Hence, this study evaluates the phylogenetic relationship of *Polyclithrum* using newly produced 18S rDNA sequences and evaluate the homology of similar sclerites of the haptor of the putative clade hypothesized by Kritsky and Boeger (2003).

2. Material and methods

2.1 Sampling

Samplings of *Mugil cephalus* (Linnaeus, 1758) (host of *Polyclithrum* sp.) and *Fundulus heteroclitus* (Linnaeus, 1766) (host of *Swingleus* sp. and *Fundulotrema* sp.) were obtained between October and November 2017, in three estuarine systems in the state of South Carolina: (1) Winyah Bay, at Baruch Institute of Marine and Coastal Sciences (in Georgetown) (33°20'59.02"N 79°11'46.98"O), (2) Ashley and Cooper rivers (in Charleston) (32°44'46.10"N 79°54'13.41"O), and (3) Waddell Mariculture Center (next to Bluffton) (32°16'46.44"N 80°49'6.27"O). The fishes were captured with the help of minnow traps and taken to the laboratory, where they were individually processed along with their parasites. The fish were anesthetized with MS-222 (Tricaine Methanesulfonate), sacrificed by bone marrow destruction, and subsequently washed with hot water (approx. 68°C), which was agitated for a

short period of time to release the ectoparasites from the body surface of the hosts' body, as described Boeger et al. (2021). Subsequently, the fishes were removed from the container. The liquid and sediment were separated for fixation of the parasites in Merck ethanol and subsequent screening for counting and morphological analysis. Ectoparasites were previously identified and preserved in ethanol for further morphological characterization in Brazil.

2.2 Morphological analysis

Monogenoid ectoparasites were stained with Gomori's trichrome and mounted in Dammar's gum or subjected to clarification in Hoyer's medium for morphological studies (Kritsky et al., 1978). Other were stained in trichrome and mounted and cleared in Gray and Wess' media (Humason, 1962) to study details of the haptoral sclerites. Microphotographs of *Polyclithrum* sp., *Swingleus* sp., and *Fundulotrema* sp., and *Macrogyrodactylus* sp. were taken using an Olympus microscope (B50) coupled with a camera. Voucher specimens of *Polyclithrum* sp., *Swingleus* sp., and *Fundulotrema* sp. (present study) were deposited in collections in the USA (HWML, Smithsonian) and Brazil (IOC), according to specific legislation of each country.

2.3 Sequencing

The parasites - fixed in 96% ethanol - were separated for extraction of their total DNA, using the Dneasy kit (Qiagen), adapted for the Monogenoidea. For each parasite extracted, a voucher slide (hologenophore senso Pleijel et al., 2008) was made containing the haptor of each specimen.

The polymerase chain reaction (PCR) was carried out in an Applied Biosystems ProFlex PCR thermocycler (Life Technologies) with the following primer couples: Worm-A (5'-ACGAATGGCTCATTAATCAG-3') and Worm-B (5'-

CTTGTTACGACTTTTACTTCC-3') (Littlewood and Olson, 2014) and contained 20-30 ng of DNA, 2,5 µL of Buffer (10X), 0,4 µL of MgCl₂ [50 mM KCl], 0,3 µL of each primer (50 pmoles), 0,4 µL of dNTPs (25 mM), 0,3 µL of Taq Polymerase Platinum Invitrogen® (5 U), and ultrapure water q.s. 25 µL. The PCR conditions used were initial denaturation at 95° for 5 min, followed by 40 cycles at 95° for 45 s, 48°C for 30 s for *Swingleus* and *Fundulotrema*, and 50°C for *Polyclithrum*, 72 °C for 24 s, and a final cycle at 72°C for 5 min (modified from Hebert et al., 2003).

The PCR products were analyzed on 1,5 % agarose gel, stained with GelRed™ and observed under ultraviolet light. The amplified products of the parasites were purified with PEG 8000 protocol (Amresco Inc., USA) and MiniElute (Qiagen) following the manufacturer's protocol. The purified PCR products were subjected to a sequencing reaction. The sequencing reactions were carried out using the ABI 3700 automated sequencer. The sequencing reactions were performed under the following conditions: ~30 ng of template, 1 µL of BigDye Terminator v 3.0, 1 µL of each Primer (1,6 mol), 1 µL of Buffer (5x) and ultrapure water to complete 10 µL of reaction. Our sequences were edited using Geneious Prime (<https://geneious.com>) and compared to those available in GenBank using BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>).

2.4 Phylogenetic analysis

Sequences from other Gyrodactylidae parasite species deposited in GenBank were added to the analysis (SM, Table 1). Guidance 2 Server was used for alignment of all sequences and removal of questionably aligned columns – only residues with cutoff above 0.038 were retained (99.9% of the residues). A phylogenetic hypothesis based on the Maximum Parsimony (MP) criterion was constructed with PAUP*4.0 (Swofford and Bell, 2017) in Geneious Prime® (version 2022.1.1) (<https://www.geneious.com/>), and bootstrap

values were obtained using FastStep search and 500 replications. Maximum Likelihood (ML) and Bayesian Inference (BI) were done through RaxML v8.2.X (Stamatakis, 2016) and MrBayes 3.2 (Ronquist et al., 2012), respectively. The nucleotide substitution models were inferred using JModelTest (Posada, 2008) based on the Akaike information criterion (AIC). For ML analysis we implemented 100 generations sampled following HKY85+G+I model of substitution, while for BI we used the same model and we implemented MCMC runs for 20 million generations sampled at each 5,000 trees with 10% burn-in. Sequences of species of Oogyrodactylidae were used as outgroup according to the proposal of Boeger et al. (2021).

2.5 Morphological character analysis

Reconstruction of Ancestral Character States was done in Mesquite 3.70 (Maddison and Maddison, 2021) < <http://www.mesquiteproject.org> > with a morphological matrix constructed based on previous taxonomic accounts on genera and species (Table 1), reconstructed at the phylogeny using Parsimony Ancestral States Reconstruction (ASR) method. Only haptoral structures pertinent to the phylogenetic position of *Polyclithrum* and closely related species as proposed by Boeger and Kritsky (2003) were used, totalizing 12 characters which were strongly based on Kristky & Boeger (2003), and Vianna et al. (2007). The final morphological matrix is in Supplementary Material, Table 2.

Table 1. Selected morphological characteristics used to perform character reconstruction morphology in molecular phylogenies. Numbers in parentheses preceding the definition of a character state refer to respective coding in the matrix (SM, Table 2).

Nº	Character	State
1	Peduncular bar	(0) Absent. (1) (2) Sclerotized. (2) Partially sclerotized.
2	Deep root of anchor	(0) Conspicuous. (1) Knob-like, inconspicuous.
3	Sclerotization at the end of the superficial root of the anchor	(0) Absent. (1) Present.
4	Shield of the superficial bar	(0) Absent. (1) Plate-like. (2) Thread-like.

5	Haptoral sclerite R1	(0) Absent. (1) Present, connected of superficial bar. (2) Present, incorporated into shield. (3) Present, free of superficial bar and shield.
6	Haptoral sclerite R2	(0) Absent. (1) Connected of shield. (2) Free of shield.
7	Anterolateral process of the superficial bar	(0) Absent. (1) Present.
8	Bilateral sclerotized ribs in haptor	(0) Absent. (1) Present.
9	Hook distribution	(0) 14 marginal, 2 central. (1) 16 (8 pairs) marginal, evenly distributed along margin of haptor. (2) 6 (3 pairs) anterior, 10 (5 pairs) on posterior margin of haptor. (3) 8 (4 pairs) anterior, 8 (4 pairs) in posterior lappet dorsal to haptoral cup. (4) 2 (1 pair) anterior, 14 (7 pairs) on posterior margin of haptor. (5) 10 (5 pairs) anterior, 6 (3 pairs) on posterior margin.
10	Superficial and deep bars	(0) 1 superficial, 1 deep. (1) Deep absent. (2) Superficial and deep absent.
11	Accessory anterior bar	(0) Absent. (1) Present.
12	Accessory lateral bar	(0) Absent. (1) Present.

3. Results

3.1 Molecular phylogeny

Sequence of a single specimen of *Polyclithrum* sp. (about 1.200 bp) and two sequences from *Swingleus* cf. *polyclithroides* (about 1.600 bp each) - one from Baruch and the other from Waddell - and two sequences from *Fundulotrema* cf. *prolongis* (about 1.700 bp each) - both from Baruch – were successfully obtained. The taxonomic details of the species determination and morphology are provided by Ciccheto (Chapter 1).

The tree topologies using MP and BI criteria (Fig. 5, B) were identical, with variable support of Bootstrap and Posterior Probability, respectfully. Parsimony reconstruction was greatly unresolved and resulted in 28 Equally Parsimoniously Trees (EPT) with topologies similar to ML and BI but with low bootstrap values for the majority of the branches (Fig 5,

A). The consensus tree and respective values of bootstrap supports many of the clades suggested by ML and BI. In general, groupings close to the root of the phylogeny presented low branch support values in all trees reconstructed with the ML and BI criteria, in especial in the ML tree.

Gyrodactylus von Nordmann, 1832 was recovered non-monophyletic for all criteria (Fig. 5). *Macrogyrodactylus* was recovered as the most basal clade, followed by a well-supported clade composed by species of *Gyrodactyloides* + *Laminiscus* + *Ieredactylus* + *Scleroductus* (clade B, Fig. 5). Subsequently, a clade with African species (but with reduced support) follows (clade C, Fig. 5). *Citharodactylus gagei* appears separate in the sequence (clade D, Fig. 5) followed by a clades containing species of *Gyrodactylus* (clades E, F, H, Fig. 5) with the independent branching of the sequence of the single species of *Diechodactylus* (Clade G, Fig. 5) emerging within this group.

In all phylogenetic reconstruction criteria (MP, ML, BI), sequences of species of *Swingleus* and *Fundulotrema* grouped with previously available sequences of species of the same genera (Clade J, Fig. 5). The clade composed by these species depicts relatively large branch support values but *Swingleus* resulted in a paraphyletic group in BI and ML. The *Fundulotrema* + *Swingleus* clade is sister to species of *Gyrodactylus* sp. from *Astyanax* sp. from Brazil (Fig. 5), a freshwater species from the Neotropical Region.

The single sequence of *Polyclithrum* sp. did not cluster closely to clade J (Fig 5, B) (as suggested by Boeger & Kritsky, 2003 and Vianna, 2007), but as a sister species of a clade containing species of *Gyrodactylus* (*G. rutilensis*, *G. rhodei*, *G. salaris*, *G. gobiensis*, *G. salmonis*) (Fig. 5, Clade J). Clade J and I, however, are sister groups.

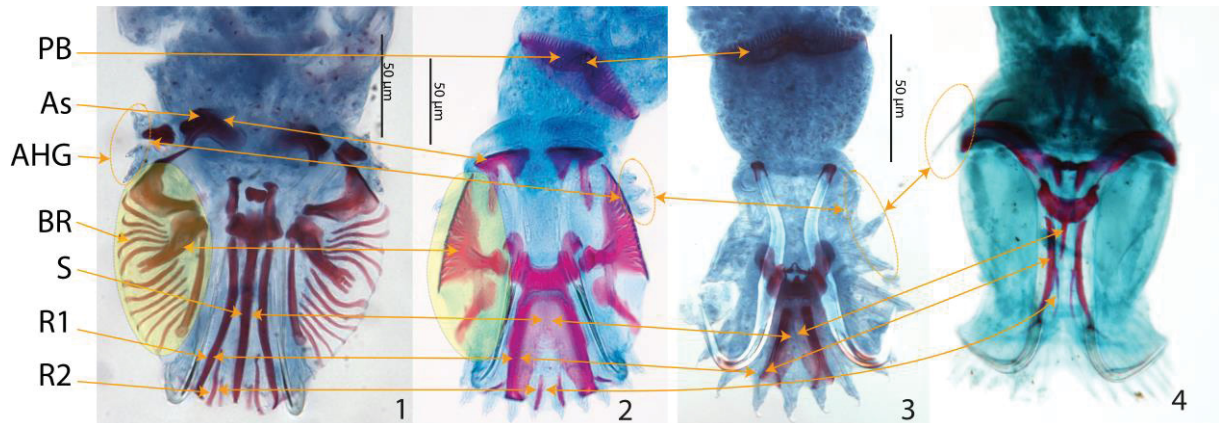


Figure 1-4. (1). *Polyclithrum* sp. from *Mugil cephalus*; (2). *Swingleus* cf. *polyclithroides* from *Fundulus heteroclitus*; (3). *Fundulotrema* cf. *prolongis*. from *Fundulus heteroclitus*; (4). *Macrogyrodactylus* sp. from *Clarias* sp. PB) Peduncular bar; As) Accessory bar – Sclerotization at the end of superficial root of the anchor; AHG) Anterior Hook Grouping; BR) Bilateral ribs; S) Shield.

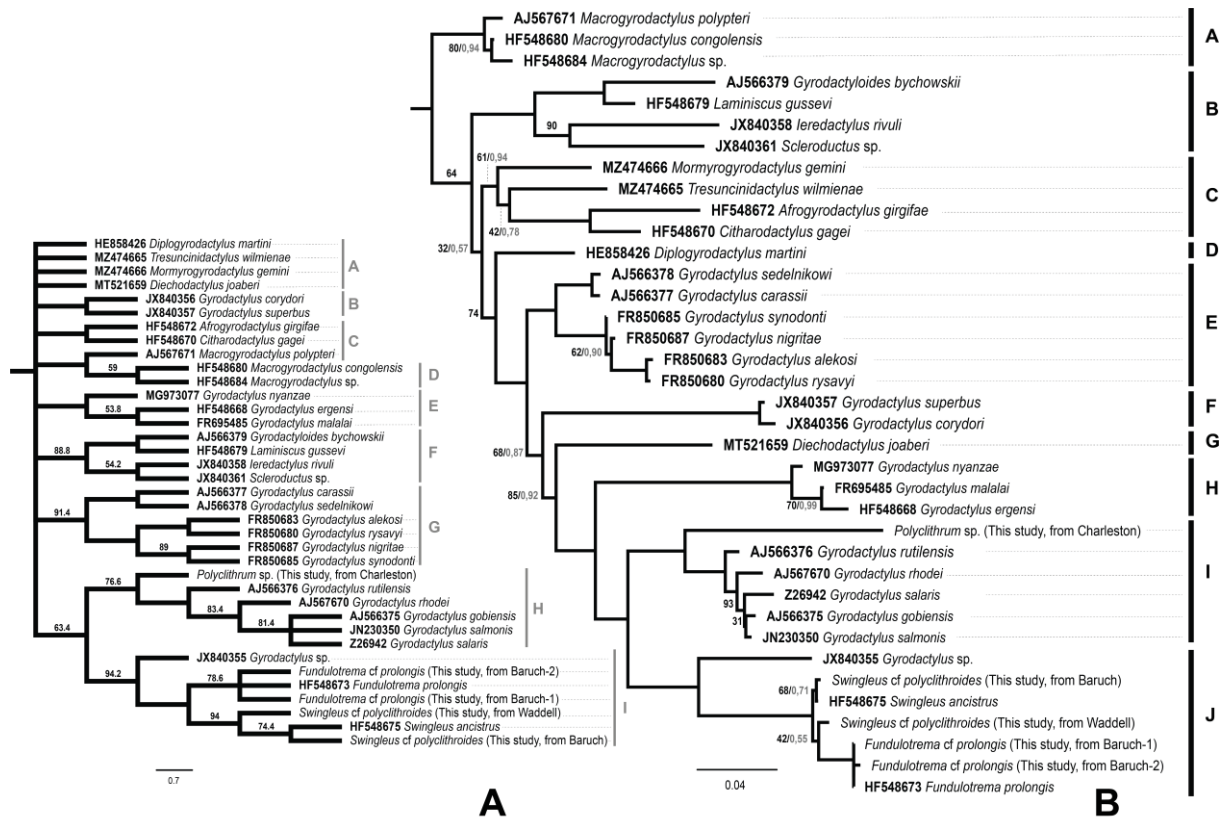


Figure 5. Molecular phylogenies of Gyrodactylidae 18S rDNA fragments estimated by **A)** Maximum Parsimony (MP); and **B)** Maximum Likelihood (ML) and Bayesian Inference (BI). Number on the node is Bootstrap Value (BV) and Posterior Probability Value (PPV), respectively. BV and PPV greater than 95% is omitted from respective branches (same for MP). Of the representatives obtained from the Genbank, the code for verification precedes the species name.

3.2 Reconstruction of ancestral states

The Parsimony Ancestral States Reconstruction (PASR) of selected morphological features onto the ML phylogenetic hypothesis using Mesquite is presented in Figure 6.

Previously considered as putative homologous features (character states) supported by morphological phylogenetic hypotheses (Kritsky and Boeger, 2003; Vianna et al., 2008) were rejected by this process. While some features were, in some instances, reconstructed as synapomorphies, all have recovered one or more independent origins or non-homologous character states within the phylogeny.

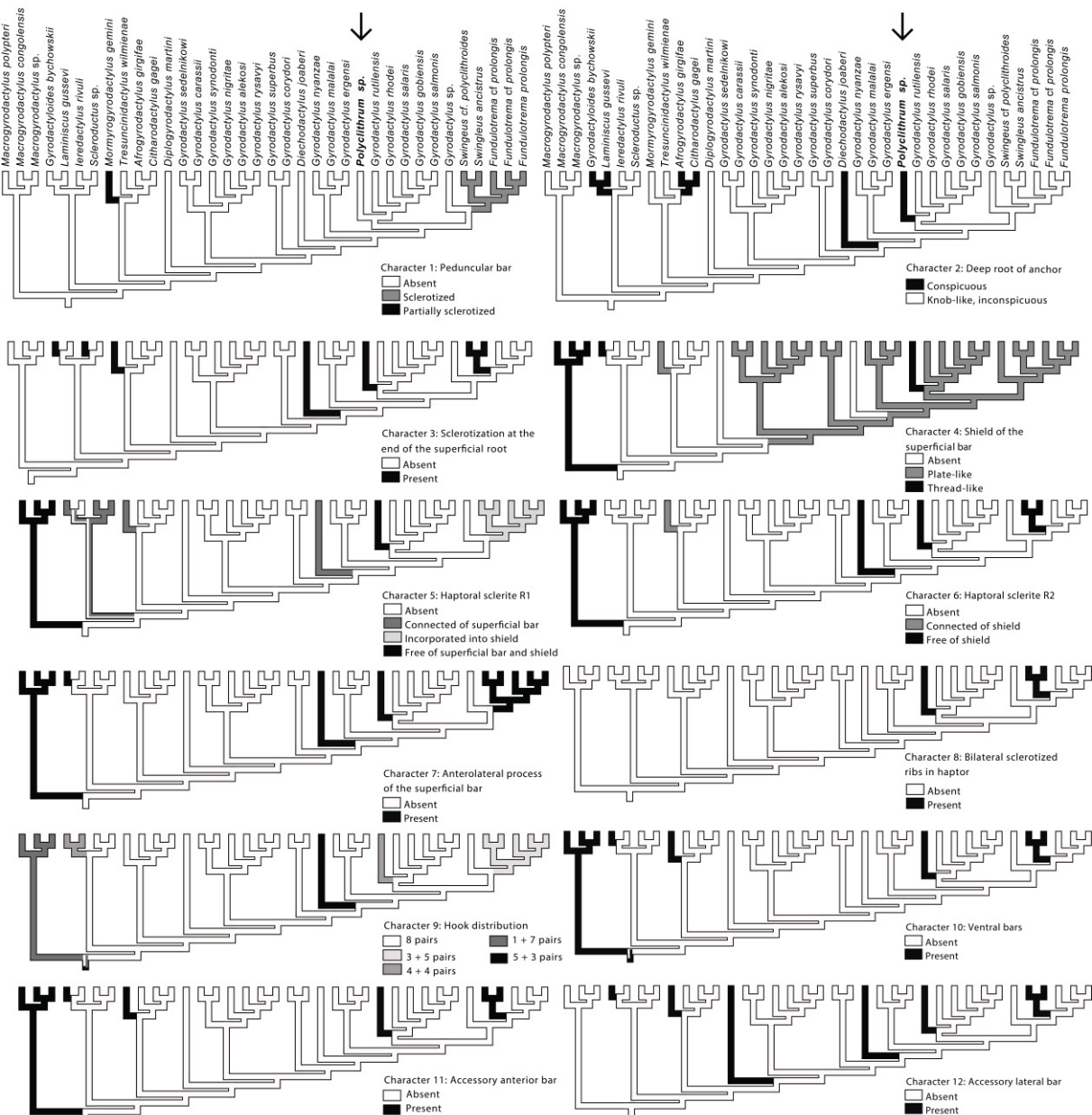


Figure 6. Reconstruction of the history of relevant morphological characters onto the fragment 18S rDNA Maximum Likelihood phylogenetic hypothesis. Arrows indicate the relative position of *Polyclithrum* sp. in the phylogeny.

4. Discussion

In general, the phylogenetic relationship of the genera in both ML and BI trees (Fig. 4-5) is similar to those previously proposed (i.e., Příkrylová et al., 2021, Boeger et al., 2021). The introduction of a sequence of a species of *Polyclithrum* in a revised molecular phylogeny of the Gyrodactylidae revealed a striking scenario on the evolutionary dynamics of morphological features. The disclosed scenario is rich in homoplasious events - mostly representing evolutionary convergence - some were recognized previously by both morphological and molecular phylogenies. This large proportion of homoplasious events may explain the inconsistencies between the morphological and molecular phylogenies (compare the present phylogeny with that of Kritsky and Boeger, 2003 and Vianna et al., 2007).

The resulting phylogeny indicate that *Polyclithrum* sp. does not have a close phylogenetic relationship with *Gyrodactyloides*, *Macrogyrodactylus*, *Swingleus*, and *Fundulotrema*, as suggested by Kritsky and Boeger (2003) and to these with *Mormyrogyrodactylus* and *Citharodactylus* in the analysis by Vianna et al. (2007), based on the morphological characteristics of the genera. *Macrogyrodactylus* is distantly related to *Polyclithrum*, *Swingleus*, and *Fundulotrema*, being basal in the evolution of the family (Fig. 5). The same occurs for the clades that comprise *Gyrodactyloides*, *Mormyrogyrodactylus* and *Citharodactylus* (Fig. 5). Although more proximately related than these genera, the clade of *Swingleus* + *Fundulotrema* (clade J, Fig. 2, B) and *Polyclithrum* are not each other sister groups since they have respectively closer relationship with several species of *Gyrodactylus* (Fig. 5).

The incongruence between morphological and molecular phylogenies appears to be related to the nature of the homologous series proposed by Kritsky and Boeger (2003), which was also the basis for Vianna et al. (2007) hypothesis. Considering solely the limited morphological putative homologous series used by these authors (Table 1, Figure 6),

Polyclithrum shares extensive convergent evolution with the genera proposed as closely related by Kritsky and Boeger (2003) and Vianna et al. (2007). Eleven out of the 12 putative homologous series chosen for this study are reconstructed as homoplasies by PASR, many of them representing multiple independent origins within Gyrodactylidae. The overwhelming amount of homoplasies in the morphological database of the above-cited studies apparently hindered the proposal of morphological phylogenies more compatible to the molecular hypotheses on the phylogenetic relationship of the subordinate clades.

However, while some recovered homoplasies are easily understood due to differences in shape and structure of the initially putative homologous states within a series, others are difficult to recognize as evolutionarily unrelated features. For instance, many features are known to evolved multiple times among Gyrodactylidae (but, some, also among other families of Monogenoidea). Among those are (see Fig. 6); the conspicuousness of the deep root of the anchor and the esclerotization at the tip of the superficial root of the anchor. It is also possible to understand the origin of homoplasies among those groups that depict hooks distributed into anterior and posterior groups but with different pair number in each group (Fig. 4, 6). Other putative homoplasies are fundamental similar but differences are detectable – for instance, the sclerites identified as R1 in *Scleroductus*, *Ieredactylus*, and *Mormyrogyrodactylus* are structurally differente than those in *Macrogyrodactylus*, *Polyclithrum*, *Fundulotrema* and *Swingleus* (Fig. 6).

However, some characters reconstructed as homoplasies are similar on shape and position and poses questions on its developmental and genetic origin. For instance, although reconstructed as homoplasies, the haptoral sclerites named R1 are extremely similar among species of *Macrogyrodactylus* and *Polyclithrum* and also between *Fundulotrema* and *Swingleus* (see Fig. 4, 6). Furthermore, species of *Macrogyrodactylus* and *Polyclithrum* also share a homoplasious sclerite R2 (Fig. 2) that are both morphologically and positionally very

294 alike. But perhaps the most surprising reconstruction as homoplasies are associated to the
295 complex of sclerites associated with the rib-like sclerotized rods in *Polyclitrum* and
296 *Swingleus* (See Fig. 4, 6). Although the sclerites that compose this complex are fused in
297 *Swingleus* and free in *Polyclitrum* they are surprisingly similar in structure and relative
298 position and without a phylogenetic analysis to indicate their homoplasious status, they would
299 be considered unquestionably homologous. Indeed, this what Kritsky and Boeger (2003) and
300 Vianna et al. (2007) proposed initially, but even in their morphological-base phylogeny these
301 structures were revealed as non-homologous.

302 These paradoxid situations, in which even complex structures such as the complex of
303 sclerites associated to the haptoral ribs in species of *Polyclitrum* and *Swingleus* are
304 reconstructed as homoplasious may be the source of observed inconsistencies between
305 morphological and molecular phylogenetic reconstructions. In fact, at least one mechanistic
306 explanation exists and has been suggested by many other groups (Mitsiadis et al., 2006;
307 Cronk, 2009; Collin and Miglietta, 2008). The answer is developmental and likely associated
308 to the retention of the developmental basis for complex structures despite being previously
309 lost in evolution (Cronk, 2009). Hall (2007) further suggests that “It should not be surprising
310 that similar features persist when a feature is present in the nearest common ancestor
311 (homology). Neither should it be surprising to find that different environments or selective
312 pressures can trigger the reappearance of similar features in organisms that do not share a
313 recent common ancestor (homoplasy).” This appear to be the case for the evolutionary
314 pathway of many features in Gyrodactylidae and likely explains the large number of
315 contradictions in the phylogenetic analysis produced independently by morphological and
316 molecular datasets.

317
318 **Acknowledgments** This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento
319 de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001 and collections authorized
320 by the South Carolina Department of Natural Resources to WAB.

Supplementary Material

Table 1. GenBank access numbers for 18S rDNA sequences, added to host and reference for each species.

Species	Host	GenBank Code No.	Reference
<i>Aglaiogyrodactylus ctenistus</i> ¹	Kritsky, Vianna & Boeger, 2007	KX981460	Boeger et al., 2021
<i>Aglaiogyrodactylus forficulatus</i> ¹	Kritsky, Vianna & Boeger, 2007	KX981461	Boeger et al., 2021
<i>Afrogyrodactylus girgisiae</i>	Přikrylová & Luus-Powell, 2016	HF548672	Přikrylová et al., 2013
<i>Citharodactylus gagei</i>	Přikrylová, Shinn & Paladini, 2017	HF548670	Přikrylová et al., 2013
<i>Diechodactylus joaberi</i>	Vianna, Boeger & Silva-Souza, 2008	MT521659	Boeger et al., 2021
<i>Diplogyrodactylus martini</i>	Přikrylová et al., 2009	HE858426	Přikrylová et al., 2013
<i>Fundulotrema prolongis</i>	(Hargis, 1955) Kritsky & Thatcher, 1977	HF548673	Přikrylová et al., 2013
<i>Fundulotrema</i> sp.	Kritsky & Thatcher, 1977	-	This study
<i>Fundulotrema</i> sp.	Kritsky & Thatcher, 1977	-	This study
<i>Gyrodactyloides bychowskii</i>	Albova, 1984	AJ566379	Matejusková et al., 2003
<i>Gyrodactylus aleksi</i>	Přikrylová, Blažek & Vanhove, 2012	FR850683	Přikrylová et al., -
<i>Gyrodactylus carassii</i>	Malmberg, 1957	AJ566377	Matejusková et al., 2003
<i>Gyrodactylus corydori</i>	Bueno-Silva & Boeger, 2009	JX840356	Kritsky et al., 2013
<i>Gyrodactylus ergensi</i>	Přikrylová et al., 2009	HF548668	Přikrylová et al., 2013
<i>Gyrodactylus gobiensis</i>	Glaser, 1974	AJ566375	Matejusková et al., 2003
<i>Gyrodactylus malalai</i>	Přikrylová, Blažek & Gelnar, 2012	FR695485	Přikrylová et al., -
<i>Gyrodactylus nigratae</i>	Přikrylová, Blažek & Vanhove, 2012	FR850687	Přikrylová et al., -
<i>Gyrodactylus nyanzae</i>	Paperna, 1973	MG973077	Vanhove et al., 2018
<i>Gyrodactylus rhodei</i>	Zitnan, 1964	AJ567670	Matejusková et al., 2003
<i>Gyrodactylus rysavyi</i>	Ergens, 1973	FR850680	Přikrylová et al., -
<i>Gyrodactylus rutilensis</i>	Glaser, 1974	AJ566376	Matejusková et al., 2003
<i>Gyrodactylus salaris</i>	Malmberg, 1957	Z26942	Cunningham et al., 1995
<i>Gyrodactylus salmonis</i>	(Yin & Sproston, 1948)	JN230350	Rubio-Godoy et al., 2012
<i>Gyrodactylus sedelnikowi</i>	Gvosdev, 1950	AJ566378	Matejusková et al., 2003
<i>Gyrodactylus</i> sp.	von Nordmann, 1832	JX840355	Kritsky et al., 2013
<i>Gyrodactylus superbus</i>	(Szidat, 1973)	JX840357	Kritsky et al., 2013
<i>Gyrodactylus synodonti</i>	Přikrylová et al., 2012	FR850685	Přikrylová et al., -
<i>Ierodactylus rivuli</i>	Schekle et al., 2011	JX840358	Kritsky et al., 2013
<i>Laminiscus gussevi</i>	(Bychowsky et Polyansky, 1953)	HF548679	Přikrylová et al., 2013
<i>Macrogyrodactylus congolensis</i>	(Prudhoe, 1957)	HF548680	Přikrylová et al., 2013

<i>Macrogyrodactylus polypteri</i> Malmberg, 1970	<i>Polypterus senegalus</i> Cuvier, 1829	AJ567671	Matejusková et al., 2003
<i>Macrogyrodactylus</i> sp. Malmberg, 1957	<i>Heterobranchius bidorsalis</i> Geoffroy Hilaire, 1809	HF548684	Přikrylová et al., 2013
<i>Mormygyrodactylus gemini</i> Luus-Powell et al., 2003	<i>Marcusenius macrolepidotus</i> (Peters, 1852)	MZ474666	Přikrylová et al., 2021
<i>Polyclithrum</i> sp. Rogers, 1967	<i>Mugil cephalus</i> Linnaeus, 1758	-	This study
<i>Sclerodactylus</i> sp. Jara & Cone, 1989	<i>Rhamdia guatemalensis</i> (Günther, 1864)	JX840361	Kritsky et al., 2013
<i>Swingleus ancistrus</i> Billeter, Klink & Mangel, 2000	<i>Fundulus heteroclitus</i> (Linnaeus, 1766)	HF548675	Přikrylová et al., 2013
<i>Swingleus</i> sp. Rogers, 1969	<i>Fundulus heteroclitus</i> (Linnaeus, 1766)	-	This study
<i>Swingleus</i> sp. Rogers, 1969	<i>Fundulus heteroclitus</i> (Linnaeus, 1766)	-	This study
<i>Tresuncinidactylus wilmi</i> Barson & Shinn, 2021	<i>Marcusenius macrolepidotus</i> (Peters, 1852)	MZ47665	Přikrylová et al., 2021

¹ Outgroup taxa.

References

- Boeger, W.A., Kritsky, D.C., Patella, L., Bueno-Silva, M., 2021. Phylogenetic status and historical origins of the oviparous and viviparous gyroductylids (Monogeneoidea, Gyrodactylidae). *Zool. Scr.* 50, 112–124. <https://doi.org/10.1111/zsc.12455>
- Cunningham, C.O., McGillivray, D.M., MacKenzie, K., 1995. Phylogenetic analysis of Gyrodactylus salaris Malmberg, 1957 based on the small subunit (18S) ribosomal RNA gene. *Mol. Biochem. Parasitol.* 71, 139–142. [https://doi.org/10.1016/0166-6851\(95\)00043-Z](https://doi.org/10.1016/0166-6851(95)00043-Z)
- Matejusková, I., Gelnar, M., Verneau, O., Cunningham, C.O., Littlewood, D.T.J., 2003. Molecular phylogenetic analysis of the genus Gyrodactylus (Platyhelminthes: Monogenea) inferred from rDNA ITS region: Subgenera versus species groups. *Parasitology* 127, 603–611. <https://doi.org/10.1017/S0031182003004098>
- Přikrylová, I., Barson, M., Shinn, A.P., 2021. Description of Tresuncinidactylus wilmi gen. et sp. n. (Monogenea: Gyrodactylidae), from the gills of the bulldog, Marcusenius macrolepidotus (Peters) from Lake Kariba, Zimbabwe. *Folia Parasitol. (Praha)*. 68, 1–12. <https://doi.org/10.14411/FP.2021.025>
- Přikrylová, I., Vanhove, M.P.M., Janssens, S.B., Billeter, P.A., Huyse, T., 2013. Tiny worms from a mighty continent: High diversity and new phylogenetic lineages of African monogeneans. *Mol. Phylogenet. Evol.* 67, 43–52. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.12.017>
- Rubio-Godoy, M., Paladini, G., Freeman, M.A., García-Vásquez, A., Shinn, A.P., 2012. Morphological and molecular characterisation of Gyrodactylus salmonis (Platyhelminthes, Monogenea) isolates collected in Mexico from rainbow trout (Oncorhynchus mykiss Walbaum). *Vet. Parasitol.* 186, 289–300. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.11.005>
- Vanhove, M.P.M., Briscoe, A.G., Jorissen, M.W.P., Littlewood, D.T.J., Huyse, T., 2018. The first next-generation sequencing approach to the mitochondrial phylogeny of African monogenean parasites (Platyhelminthes: Gyrodactylidae and Dactylogyridae). *BMC Genomics* 19, 1–16. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4893-5>

Table 2. Character matrix used in the reconstruction of relationships phylogenetics of Gyrodactylidae. The numbers indicate the status of the character, and the order represents the characters (available at Table 1).

Species	Character state
<i>Agelaiogyrodactylus ctenistus</i> ¹ Kritsky, Vianna & Boeger, 2007	01000 00011 00
<i>Agelaiogyrodactylus forficulatus</i> ¹ Kritsky, Vianna & Boeger, 2007	01000 00011 00
<i>Afrogyrodactylus girgiffae</i> Přikrylová & Luus-Powell, 2016	00000 00010 00
<i>Citharodactylus gagei</i> Přikrylová, Shinn & Paladini, 2017	00000 00010 00
<i>Diechodactylus joaberi</i> Vianna, Boeger & Silva-Souza, 2008	00101 01051 00
<i>Diplogyrodactylus martini</i> Přikrylová et al., 2009	01000 00010 10
<i>Fundulotrema prolongis</i> (Hargis, 1955) Kritsky & Thatcher, 1977	44012 01020 00
<i>Fundulotrema cf. prolongis</i> (Hargis, 1955) Kritsky & Thatcher, 1977	44012 01020 00
<i>Gyrodactyloides bychowskii</i> Albova, 1984	00121 01030 11
<i>Gyrodactylus alekosi</i> Přikrylová, Blažek & Vanhove, 2012	01010 00010 00
<i>Gyrodactylus carassii</i> Malmberg, 1957	01010 00010 00
<i>Gyrodactylus corydori</i> Bueno-Silva & Boeger, 2009	01010 00010 00
<i>Gyrodactylus ergensi</i> Přikrylová et al., 2009	01010 00010 00
<i>Gyrodactylus gobiensis</i> Glaser, 1974	01010 00010 00
<i>Gyrodactylus malalai</i> Přikrylová, Blažek & Gelnar, 2012	01010 00010 00
<i>Gyrodactylus nigratae</i> Přikrylová, Blažek & Vanhove, 2012	01010 00010 00
<i>Gyrodactylus nyanzae</i> Paperna, 1973	01010 00010 00
<i>Gyrodactylus rhodei</i> Zitnan, 1964	01010 00010 00
<i>Gyrodactylus rysavyi</i> Ergens, 1973	01010 00010 00
<i>Gyrodactylus rutilensis</i> Glaser, 1974	01010 00010 00
<i>Gyrodactylus salaris</i> Malmberg, 1957	01010 00010 00
<i>Gyrodactylus salmonis</i> (Yin & Sproston, 1948)	01010 00010 00
<i>Gyrodactylus sedelnikowi</i> Gvosdev, 1950	01010 00010 00
<i>Gyrodactylus</i> sp. von Nordmann, 1832	01010 00010 00
<i>Gyrodactylus superbis</i> (Szidat, 1973)	01010 00010 00
<i>Gyrodactylus synodonti</i> Přikrylová et al., 2012	01010 00010 00
<i>Ieredactylus rivuli</i> Schelkle et al., 2011	01101 00010 00
<i>Laminiscus gussevi</i> (Bychowsky et Polyansky, 1953)	00000 00030 00
<i>Macrogyrodactylus congolensis</i> (Prudhoe, 1957)	01023 21040 01
<i>Macrogyrodactylus polypteri</i> Malmberg, 1970	01023 21040 01
<i>Macrogyrodactylus</i> sp. Malmberg, 1957	01023 21040 01
<i>Mormygyrodactylus gemini</i> Luus-Powell et al., 2003	211111 0010 11
<i>Polyclithrum</i> sp. Rogers, 1967	00123 21130 11
<i>Scleroductus</i> sp. Jara & Cone, 1989	01001 00010 00
<i>Swingleus ancistrus</i> Billeter, Klink & Mangel, 2000	11112 21121 11
<i>Swingleus cf. polyclithrum</i> Rogers, 1969	11112 21121 11
<i>Tresuncinidactylus wilmienae</i> Barson & Shinn, 2021	01000 00010 00

¹ Outgroup taxa.

Capítulo 3

Artigo elaborado e formatado conforme as normas do periódico científico Journal of Biogeography < <https://onlinelibrary.wiley.com/journal/13652699>>.

Oscilação do nível do mar, paleodrenagem e Pulso de Táxon: Prevendo o endemismo de peixes de água doce

Juliana Rosa Matias Ciccheto¹, Emanuel Luis Razzolini², Walter A Boeger¹

¹Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Brazil.

² Programá de Pós-Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Brazil.

Autora correspondente: Juliana R. M. Ciccheto. cicchetojrm@gmail.com. Laboratório de Interações Biológicas, Universidade Federal do Paraná, P.O. Box 19073, Curitiba, PR 81531-890, Brasil.

Juliana R. M. Ciccheto ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2264-3835>

Emanuel L. Razzolini ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9391-5271>

Walter A. Boeger ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6004-282>

Resumo

Documentar e identificar padrões de distribuições de espécies auxilia na elucidação dos fatores subjacentes da especiação e endemismo. A diversidade íctia da costa brasileira foi fortemente influenciada por fatores históricos relacionados à variação do nível do mar no último máximo glacial. Neste contexto, o presente estudo utilizou reconstruções de paleodrenagem e modelos lineares generalizados para a compreensão do endemismo de espécies de peixes litorâneos brasileiros em função do tamanho da plataforma continental litorânea. Avaliamos o endemismo em mesobacias costeiras e encontramos uma relação significativa entre o tamanho da mesobacia hidrográfica e o endemismo, além de uma interação significativa entre as variáveis preditoras área da mesobacia e largura da plataforma continental. Não encontramos uma relação significativa entre endemismo e largura da plataforma. Nossos resultados foram controversos em comparação com estudos anteriores filogeográficos a respeito da taxa de endemismo influenciada por conexões passadas e largura da plataforma continental. Muitos estudos, principalmente relacionados com a diversidade genética de haplótipos de peixes costeiros, encontram a relação de isolamento em locais com uma menor plataforma continental. Acreditamos que estes achados são reflexo de subamostragens quanto à riqueza de espécies, registros de ocorrência e de limitação de dispersão. Acreditamos que mais dados precisam ser adicionados para a confirmação do padrão detectado por estudos anteriores, além de informações extras sobre a estrutura das comunidades de peixes nessas mesobacias costeiras.

Palavras-chave: Costa Brasileira; Último Máximo Glacial; Paleodrenagens; Endemismo; Flutuações do Nível do Mar.

Introdução

Identificar os fatores e processos que determinam os padrões de distribuição de espécies é importante para o entendimento da estrutura da biodiversidade e para previsões quanto ao efeito das mudanças climáticas (Brooks et al., 1992; Ricklefs & Renner, 2012; Svenning et al., 2015). A diversidade e o endemismo de peixes litorâneos brasileiros são impactados por eventos de flutuações climáticas passadas, como os ciclos glaciais no Pleistoceno tardio (Ribeiro, 2006; Leprieur et al., 2011; Dias et al., 2014; Miller et al., 2011). Níveis do mar eustáticos são importantes geradores da diversidade e variação da distribuição de táxons de peixes, tanto a nível de espécie, quanto a nível populacional (Hewitt, 2000; Lima et al., 2017; Baggio et al., 2017).

Estudos anteriores demonstram a influência de eventos geológicos hidrológicos do último máximo glacial e da estrutura geomorfológica costeira na diversidade de peixes (Bermingham & Avise, 1986; Weitzman & Vari, 1988; Lundberg et al., 1998; Bernatchez &

Wilson, 1998; Rundle et al., 2000). Quando o nível do mar regrediu a -120 metros e a foz do rio progrediu por quilômetros na plataforma marinha exposta, conexões entre bacias previamente isoladas deixaram uma marca na biodiversidade aquática global (Martin et al., 1996; Weitzman & Vari, 1988; Lundberg et al., 1998; Thomaz & Knowles, 2018). A conexão entre paleodrenagens e o padrão de expansão das drenagens está diretamente relacionado com o tamanho da plataforma continental (Baggio et al., 2017; Dolby et al., 2018). A regressão do nível do mar e expansão das drenagens costeiras oferece oportunidade aos peixes estritamente dulcícolas dispersarem e, dependendo do tamanho da extensão da plataforma, é possível que peixes costeiros tracem rotas para drenagens em distintas bacias hidrográficas, promovendo contato entre espécies previamente isoladas a partir de novos arranjos dendríticos de rios ao longo da plataforma (Thomaz et al., 2015; Hirschmann et al., 2015; Thomaz et al., 2017). Além da oportunidade de contato, as características intrínsecas das espécies relacionadas com sua capacidade (ex. dispersão, tolerância a níveis salínicos) influenciam no compartilhando de espécies e impulsionam a diversificação (Baggio et al., 2017; Tschá et al., 2017; Brooks et al., 2019).

Este processo cíclico de contato e isolamento está relacionado com o conceito de diversificação por Pulso de Táxon, que é uma das principais premissas deste estudo para a variação de espécies costeiras (Erwin, 1975; 1985; Halas et al., 2005; Baggio et al., 2017). Tais movimentos cíclicos são atualmente aceitos como propulsores da diversidade genética, história demográfica e padrões de distribuição regional de peixes de água doce em todo mundo (por exemplo: Chakona et al., 2013; Pereira et al., 2013; Tagliacollo et al., 2015; Baggio et al., 2017; Tschá et al., 2017; Tschá et al., 2017b). Nesse cenário, os ciclos de regressão e transgressão marinha permitem a conexão (com expansão) e o isolamento das populações de peixes das bacias hidrográficas locais (Albert & Reis, 2011; Unmack et al., 2013). A expansão resulta na mistura de perfis genéticos que se originaram em alopatria

84 durante a transgressão precedente entre as bacias hidrográficas vizinhas (Dias et al., 2014).
85 Transgressões com redução associada de habitat devem resultar em eventos de gargalo, que
86 são impressos no genoma e na estrutura populacional das comunidades local e regional (Tschá
87 et al., 2017).

88 Pensando no fluxo de espécies entre bacias em trechos que apresentam extensão
89 reduzida da plataforma continental adjacente é possível inferir que essas bacias permaneceram
90 desconectadas mesmo durante períodos glaciais e, portanto, apresentam maiores taxas de
91 endemismo (Dias et al., 2014; Baggio et al., 2017). Um dos principais fatores propulsores de
92 especiação e endemismo é o isolamento (Coyne & Orr, 2004; Piorski et al., 2008; Tedesco et
93 al., 2012). Quando comunidades permanecem isoladas por muito tempo, há um aumento da
94 taxa de endemismo (Thomaz et al., 2015; Dolby et al., 2018).

95 O endemismo de peixes tem sido explorado a partir de eventos históricos que podem
96 influenciar esses padrões de distribuição em ecorregiões e a partir da aplicação da
97 biogeografia de ilhas com base em drenagens isoladas (Tedesco et al., 2012; Albert et al.,
98 2020). No entanto, configuração das drenagens representa um contínuo da evolução
99 geomorfológica e climática (Potter, 1997), sendo o endemismo atual de peixes um possível
100 resultado de configurações passadas da paisagem.

101 Levando em conta o episódio de regressão marinha no Último Máximo Glacial
102 (UMG), que resultou em conexões entre paleodrenagens dependendo da largura da
103 plataforma, resolvemos investigar como o endemismo é influenciado pela largura da
104 plataforma continental e pelo tamanho da área das mesobacias costeiras. Nossa hipótese foi
105 de que quanto menor a largura da plataforma e maior a mesobacia hidrográfica, maior a taxa
106 de endemismo de espécies de peixes de água doce. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi
107 compreender se estas variáveis estão interligadas e dar suporte à políticas de conservação com
108 base no reconhecimento de áreas com altos valores de espécies endêmicas.

2. Material e métodos

2.1 Obtenção e organização dos dados

Os dados de composição ictiológica de bacias hidrográficas foram obtidos a partir do banco de dados de Tedesco et al. (2017), com a seleção de espécies de bacias brasileiras. As bacias e os dados de ocorrência das espécies foram agrupados por mesorregiões hidrográficas, segundo o catálogo de metadados da classificação da Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico (ANA) (IBGE, 2021). As mesobacias costeiras selecionadas foram aquelas com dados disponíveis no dataset utilizado, totalizando 17 mesorregiões hidrográficas costeiras incluídas nas análises (do nordeste ao sul: Contas, Doce, Itanhém, Mucuri, São Mateus, Itapecuru, Itapicuri, Paraguaçu, Jaguaribe, Jequitinhonha, Jucu, Itapemirim, Itabapoana, Litoral de Pernambuco e Alagoas, Litoral de São Paulo, Litoral do Paraná e Santa Catarina, Litoral do Rio de Janeiro, Litoral Rio Grande do Norte e Paraíba, Paraíba do Sul, Pato Mirim, Pianco, Piranhas, Açú e Ribeira de Iguape) (Fig. 1, A).

A classificação a partir de mesorregiões foi feita considerando o tamanho da área da bacia e distância entre as drenagens. Não utilizamos dados das macrorregiões hidrográficas do Amazonas, Paraná, São Francisco, Parnaíba e Tocantins-Araguaia devido ao tamanho da bacia e sua posição em relação à costa, além de considerarmos que essas bacias possuem um histórico de padrões de endemismo relacionados com outros fatores históricos, não diretamente relacionados com a variação do nível do mar no último máximo glacial, como capturas de cabeceiras, refúgios biogeográficos, entre outros, relacionadas com a formação geológica local (Albert et al., 2011; Tagliacollo et al., 2015; Albert & Reis, 2020).

No ArcGis 10.4.0, a área das mesobacias foi calculada (km²) e o tamanho da plataforma continental foi calculado (m) a partir da projeção cônica equivalente de Albers. Uma única medida de tamanho de plataforma foi feita por mesobacia com base na drenagem principal da mesorregião considerada. O registro “Species.Name.in.Source” foi utilizado para

contabilização de espécies por local e contagem de espécies endêmicas, usando o pacote Tidyverse (Wickham, 2021). As espécies foram filtradas a partir da classificação como “natives” com o registro “Native.Exotic.Status” e como “freshwater” a partir da Salinity pelo rfishbase (Boettiger et al., 2017), usando o registro Fishbase.Species.Code. A confirmação da validade das espécies foi feita a partir do comando name_backbone_checklist do pacote rgbif (Chamberlain et al., 2022), o endemismo em função do tamanho de área da bacia e da largura da plataforma continental podem ser observados na Figura 2 (A, B). A riqueza de espécies se refere ao número total de espécies nativas presente em uma mesorregião hidrográfica e espécies endêmicas ao número de espécies que ocorrem exclusivamente em uma mesorregião. A organização dos dados foi feita software R (R Core Team, 2021).

2.2 Mapa de paleodrenagens

Dados topográficos e batimétricos fornecem recursos para a reconstrução da exposição da terra e declividade dessas áreas expostas a partir de leitos de rios putativos, bem como limites de vazão e bacias, postulando a paisagem passada exposta durante as regressões marinhas em períodos glaciais (Dias et al., 2014; Thomaz et al., 2018, Thomaz & Knowles, 2020). Os rios antigos (paleodrenagens) que existiam durante os baixos níveis do mar na costa brasileira, foram inferidos a partir da topografia do fundo, modelada pelo modelo de elevação digital (DEM) GEBCO_08 com resolução de 30 arcos e com base em dados batimétricos e topográficos (disponíveis em <http://www.gebco.net/>). As paleodrenagens foram reveladas em ArcGIS v.10.4.0 com ferramentas superficiais e hidrológicas. As imperfeições do raster foram corrigidas através da opção de preenchimento e opção de bacias para identificar as lacunas no DEM. A partir da imagem corrigida, geramos a direção de fluxo e o fluxo acúmulo de raster. Assim, o sistema de drenagem foi reconstruído com o operador de álgebra do mapa com um

limiar de 1000 e 200 pixels. O gráfico da variação do nível do mar foi feito a partir dos dados de Spratt e Lisiecki (2016). (Fig 1, B).

2.3 Análises

As análises foram baseadas na quantidade de espécies endêmicas por mesorregião hidrográfica, nomeadas mesobacias. Modelos lineares generalizados (GLM, com família de distribuição Poisson) foram utilizados para descrever o efeito do tamanho das plataformas continentais e áreas das bacias sobre o valor de endemismo de peixes. Os GLMs foram construídos com diferentes abordagens. Primeiramente, utilizamos como resposta valor bruto de endemismo, onde as variáveis preditoras foram a largura da plataforma e área da mesobacia, incluindo a riqueza como covariável. Em seguida, foram testados modelos entre a relação de endemismo e a riqueza afim de testar se havia uma correlação significativa entre essas variáveis, além de modelos entre a relação de endemismo e a área da mesobacia. Afim remover o efeito da área no endemismo, testamos novos modelos (com família de distribuição Gaussiana) utilizando o percentual de endemismo e área como variável resposta em função da largura da plataforma. Além disso, foram realizadas tentativas a partir dos resíduos entre o endemismo e a área, usando esses resíduos como variável resposta.

Todos os modelos foram testados quanto à distribuição, homogeneidade e *outliers* dos resíduos pelo pacote DHARMA (Hartig & Lohse, 2022). A presença de *outliers* para o endemismo foi testada com a função “identify_outliers) do pacote rstatix (Kassambara, 2021), apenas outliers extremos foram removidos das análises (Itapicuru Praguaçu - ItaP). O fator de inflação da variância das variáveis foi testado com o pacote car, comando vif, e considerados inflados as com valor > 5 (Fox et al., 2019). Foi considerado um nível de significância de 0,05. A seleção de modelos foi baseada no valor de AICc (Burnham et al., 2011) e no valor

Delta-AICc comparando modelos usando o pacote MuMIn (Bartoń, 2022) (SM, Table 2). As análises foram feitas no ambiente de programação R versão 4.1.0 (R Core Team, 2021).

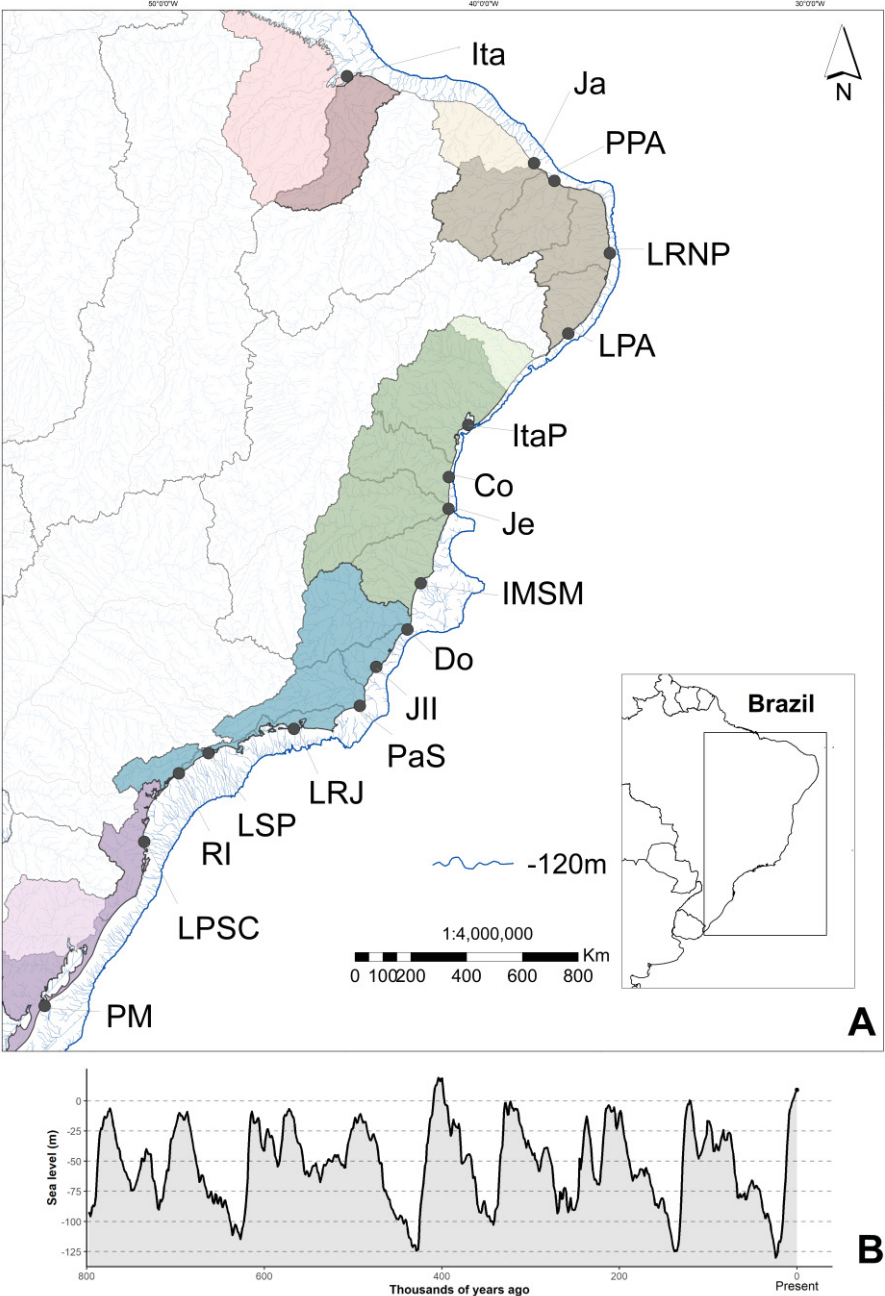


Figura 1. A) Mapa de paleodrenagens da costa brasileira, indicando o tamanho da plataforma continental em -120 m no último máximo glacial e as mesorregiões hidrográficas utilizadas neste estudo; **B)** Variação do nível do mar nos últimos milhares de anos, dados fornecidos por Spratt e Lisiecki (2016). Itaipicuru = Ita, Jaguaribe = Ja, Piancó-Piranhas-Açu = PPA, Litoral do Rio Grande do Norte e Paraíba = LRNP, Litoral de Pernambuco e Alagoas = LPA, Itapicuru Paraguaçu = ItaP, Contas = Co, Jequitinhonha Pardo = Je, Itanhém Mucuri São Mateus = IMSM, Doce = Do, Jucu Itapemirim Itabapoana = JII, Paraíba do Sul = PaS, Litoral do Rio de Janeiro = LRJ, Litoral de São Paulo = LSP, Ribeira de Iguape = RI, Litoral do Paraná e Santa Catarina = LPSC, Patos Mirim = PM.

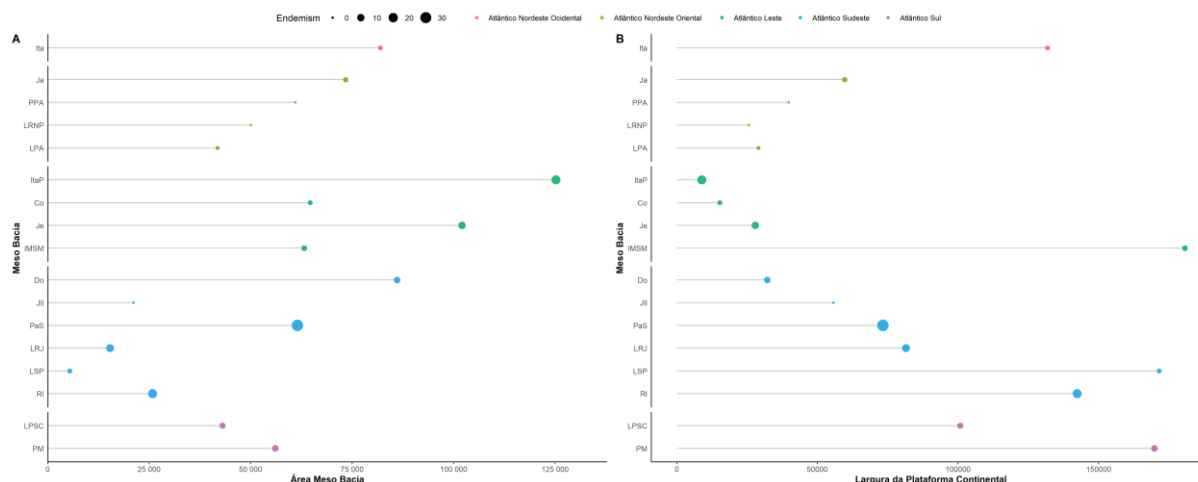


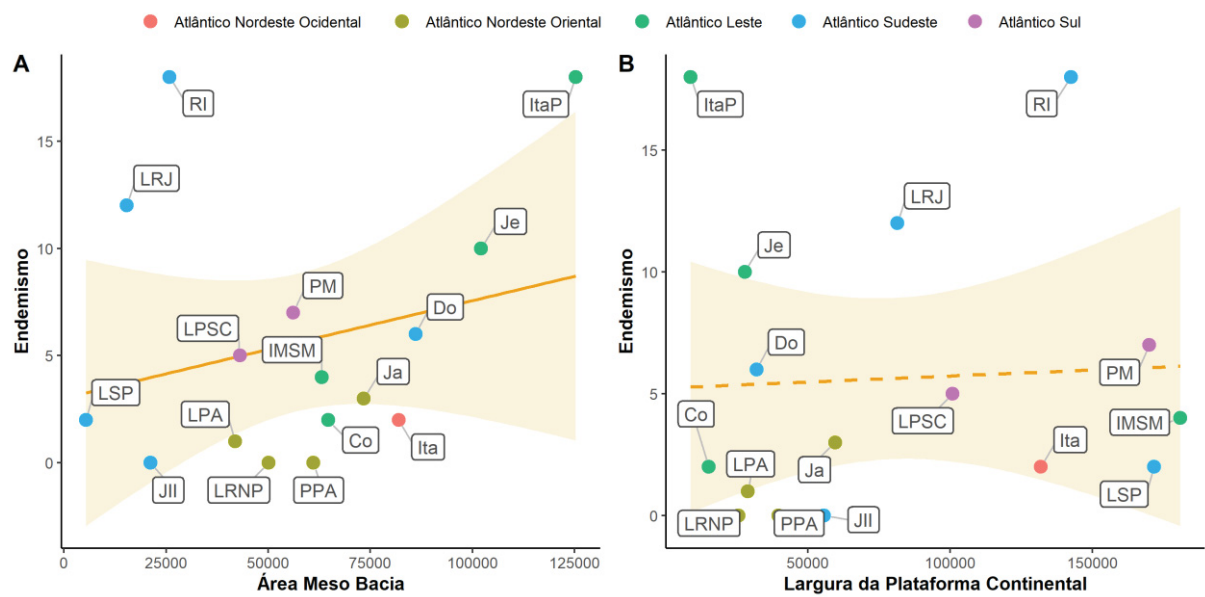
Figura 2. A) Relação entre área e mesobacia; **B)** Relação entre largura da plataforma continental e mesobacia, o tamanho dos pontos indica a quantidade de espécies endêmicas. O tamanho dos pontos indica o endemismo; As cores indicam as macrorregiões hidrográficas; Itapicuru = Ita, Jaguaribe = Ja, Piancó-Piranhas-Açu = PPA, Litoral do Rio Grande do Norte e Paraíba = LRNP, Litoral de Pernambuco e Alagoas = LPA, Itapicuru Paraguaçu = ItaP, Contas = Co, Jequitinhonha Pardo = Je, Itanhém Mucuri São Mateus = IMSM, Doce = Do, Jucu Itapemirim Itabapoana = JII, Paraíba do Sul = PaS, Litoral do Rio de Janeiro = LRJ, Litoral de São Paulo = LSP, Ribeira de Iguape = RI, Litoral do Paraná e Santa Catarina = LPSC, Patos Mirim = PM.

Resultados

Os melhores modelos para a inferência entre a relação do endemismo com as variáveis preditoras foram aqueles em que utilizamos o valor bruto (não corrigido) de endemismo. A riqueza de espécies e área da mesobacia não apresentaram correlação com o endemismo. Foram observadas diferenças significativas na relação entre a variável resposta, endemismo, com a variável preditora área da mesobacia (z value= 2.037, $*p= 0.01$, GLM, distribuição Poisson) (Fig. 3, A). Por outro lado, a relação entre endemismo e largura da plataforma continental não foi significativa (Fig. 3, B), como esperado pela nossa hipótese, a relação não foi observada isoladamente. Foi observada interação significativa entre as variáveis área e largura da plataforma (z value= -4.699, $***p= 0.001$).

No modelo estatístico de interações com o do percentual de endemismo e área em função da largura da plataforma, utilizado com o intuito de remover o efeito da área no endemismo, não foi significativa.

217



218

219

220

221

222

223

224

225

226

227

Figure 3. A) Relação entre área da meso bacia e endemismo; **B)** Relação entre largura da plataforma continental e endemismo. As cores indicam as macrorregiões hidrográficas. Itapecuru = Ita, Jaguaribe = Ja, Piancó-Piranhas-Açu = PPA, Litoral do Rio Grande do Norte e Paraíba = LRNP, Litoral de Pernambuco e Alagoas = LPA, Itapicuru Paraguaçu = ItaP, Contas = Co, Jequitinhonha Pardo = Je, Itanhém Mucuri São Mateus = IMSM, Doce = Do, Jucu Itapemirim Itabapoana = JII, Paraíba do Sul = PaS, Litoral do Rio de Janeiro = LRJ, Litoral de São Paulo = LSP, Ribeira de Iguape = RI, Litoral do Paraná e Santa Catarina = LPSC, Patos Mirim = PM.

228

229

230

231

232

233

234

235

236

237

238

O tamanho da bacia apresentou maior relevância na determinação do endemismo. As maiores bacias amostradas foram as mesobacias Itapecuru Paraguaçu (ItaP), Jequitinhonha Pardo (Je), Doce (Do) e Itapicuri (Ita) (>75.000 km²), enquanto os maiores valores de endemismo foram registrados nas mesobacias ItaP, do Atlântico Nordeste Ocidental e Ribeira do Iguape (RI), do Atlântico Sudeste, seguidos pela mesobacia do Litoral do Rio de Janeiro (LRJ) e Je, ambas do Atlântico Sudeste.

A largura da plataforma continental é extensa na região das Mesobacias Itanhém Mucuri São Mateus (IMSM), Litoral de São Paulo (LSP), Patos Mirim (PM), Ribeira de Iguape (RI), Litoral do Paraná e Santa Catarina (LPSC) e Ita (>100.000 m), sendo que o endemismo foi alto em RI (18 espécies endêmicas). Percebemos que o endemismo foi relativamente alto em locais com a largura da plataforma continental curta, como ItaP e Je.

239 **Discussão**

240 Usando uma abordagem a partir de modelos lineares generalizados, encontramos uma
241 relação significativa entre o endemismo e o tamanho da área das mesorregiões hidrográficas.
242 Nossas observações, no entanto, corroboram parcialmente com as hipóteses propostas.
243 Encontramos endemismo altos em áreas hidrográficas maiores e essa relação foi mais
244 importante no endemismo, como esperado. Por outro lado, não encontramos relação entre o
245 número de espécies endêmicas e a largura da plataforma.

246 A relação riqueza-área é altamente reconhecida dentro da Ecologia, inclusive em
247 sistemas aquáticos (Albert & Reis, 2020). O mesmo ocorre com a relação riqueza-endemismo
248 (Vari, 1988; Weitzman et al., 1988; Bizerril, 1994; Buckup, 2011). Entretanto, não
249 detectamos relação entre o número de espécies por mesorregião e número de espécies
250 endêmicas. Apesar disso, existe uma relação significativa quanto ao número de espécies
251 endêmicas e área. Essa relação parece esperada dentro da proporção documentada entre
252 número de espécies e endemismo em regiões hidrográficas periféricas, que se dá de forma
253 inversamente proporcional (Hubert & Renno, 2006; Albert & Reis, 2020). Essa relação entre
254 um percentual maior de endemismo em regiões costeiras é reconhecida como uma
255 consequência da variação do nível do mar e eventos de isolamento contínuos no passado,
256 possíveis propulsores de endemismo (Dias et al., 2014; Baggio et al., 2017; Albert & Reis,
257 2020).

258 Apesar dos nossos resultados não apresentarem uma relação significativa entre
259 endemismo e largura da plataforma continental, estudos filogeográficos sugerem que eventos
260 históricos deixaram assinaturas na biodiversidade de água doce ao longo da costa brasileira a
261 nível populacional (e.x: Beheregaray et al., 2002; Hubert et al., 2007; Pereira et al., 2012;
262 Pereira et al., 2013; Thomaz et al., 2015; Tschá et al., 2017; Baggio et al., 2017; Tschá et al.,
263 2017; Thomaz & Knowles, 2018; Abreu et al., 2020; Argolo et al., 2020; Pio & Carvalho,

2021; Barreto et al., 2022). A discrepância entre esses estudos e os resultados desse estudo sugerem que a diversidade e endemismo sejam mais difíceis de serem explicados a nível de comunidade em comparação com a diversidade de haplótipos em populações, principalmente pela dificuldade de identificação de espécies crípticas (Fišer et al., 2018). Além disso, a oscilação lateral de rios (e subsequentes conexões com bacias vizinhas), e outros processos biogeográficos podem mascarar a relação esperada entre largura da plataforma e endemismo (Albert & Reis, 2011).

Mesobacias associadas a plataformas menos extensas, tal como Itapicuru Paraguaçu (ItaP), Jequitinhonha Pardo (Je) e Doce (Do), apresentaram altos valores de endemismo, mas esse resultado parece estar diretamente relacionado com a área das mesobacias em questão, ao invés do tamanho da plataforma. Algumas mesobacias ao nordeste do país, diferente do esperado, apresentaram baixo endemismo ainda que com a ausência de conexão entre paleodrenagens. No entanto, as paleodrenagens, a partir do escoamento dos rios, não representam as únicas formas de conexão e troca de espécies entre bacias adjacentes. Essas trocas também podem estar relacionadas com a formação de lagunas (Di Dario et al., 2013; Guimarães et al., 2020), as quais interligam rios em distintos locais da plataforma (Villwock, 1984; Villwock & Tomazelli, 1995).

Essas lagunas, muitas mais recentes (~8 mil anos atrás), não são facilmente detectadas em batimetrias e sistemas de identificação do terreno por serem áreas temporárias e de fácil aterramento. No entanto, lagunas costeiras são importantes para a formação de habitats costeiros (Dolby et al., 2021), principalmente na região sul do país, mas são comuns em toda a plataforma (Guimarães et al., 2020). Portanto, esse cenário pode estar relacionado ao baixo endemismo em mesobacias do Atlântico Nordeste Ocidental.

Na costa brasileira, a plataforma continental altera sua extensão, aumentando sua largura, próxima à mesobacia Itanhém Mucuri São-Mateus (IMSM), no Atlântico Leste. As

289 áreas mais extensas são localizadas na plataforma continental imediatamente à frente das
290 mesobacias mais ao sul. IMSM está localizada na região de maior largura de plataforma,
291 mesobacias próximas, localizadas ao sul, apesar de possuírem uma plataforma continental
292 larga, possuem um alto endemismo, como a mesobacia Litoral do Rio de Janeiro (LRJ) e
293 Ribeira do Iguape (RI).

294 Apesar de possuir a plataforma continental larga, a mesobacia Litoral do Rio de
295 Janeiro (LRJ) possui regiões com distintas larguras de plataforma em sua extensão, visto a
296 acentuação da costa brasileira nessa região. Fica evidente que a largura da plataforma
297 continental nas áreas vizinhas a uma bacia é importante para favorecer conexões dendríticas
298 entre bacias adjacentes. O que pode estar relacionado com o número de espécies endêmicas
299 na região. A reconstrução das paleodrenagens sugere que a mesobacia LRJ não teve conexões
300 com bacias vizinhas (1000 px, Fig. 1).

301 Portanto, a ausência de conexão entre paleodrenagens inferidas não é o único fator
302 gerador de endemismo de peixes (Vari, 1988; McDowall, 2004). Bacias mais ao sul, com uma
303 extensa plataforma, apresentaram um endemismo elevado, tais como as bacias do Ribeira de
304 Iguape (RI) e Pato Mirim (PM). Além da formação de paleodrenagens, o isolamento de
305 populações e o surgimento de espécies endêmicas também pode ser resultado de relações
306 simpátricas locais dependendo da biologia das espécies e condições ecológicas (Waters &
307 Burridge, 2016; Baggio et al., 2017; Thomaz & Knowles, 2020; Guimarães et al., 2020). A
308 região sul também é reconhecida pelo seu endemismo relacionado à história geológica local, o
309 que pode estar associado com o isolamento entre subprovíncias biogeográficas e
310 características geomorfológicas locais (Camelier & Zanata, 2014).

311 Além disso, esse endemismo pode estar relacionado com espécies restritas à
312 ecorregiões e com tolerâncias e capacidades de dispersão específicas (Albert & Reis, 2011;
313 Baggio et al., 2017; Pio & Carvalho, 2021), tais como a baixa vagilidade e comportamento

reprodutivo (Tschá et al., 2017; Baggio et al., 2017; Thomaz & Knowles, 2020). O esperado é que as espécies que residem mais próximas à costa tenham tido uma maior oportunidade de dispersarem por paleodrenagens, quando combinadas à capacidade inerente de dispersão e a oportunidade de conexão (Baggio et al., 2017; Brooks et al., 2019). Algumas espécies ficam restritas a suas ecorregiões ou condições ecológicas, sendo que a biologia da espécie pode agir como uma barreira de dispersão, mesmo quando a oportunidade de transitar entre bacias foi possível (Tedesco et al., 2012; Radinger & Wolter, 2014; Hirschmann et al., 2015; Thomaz et al., 2015; Thomaz et al., 2020; Guimarães et al., 2020).

A falta de estudos referentes ao limite de dispersão de espécies, subamostragens e mesmo a relação entre espécies crípticas e suas diferenças genéticas são variantes importantes para análises baseadas na riqueza de espécies (Vari & Weitzman, 1990; Tedesco et al., 2017; Albert & Reis, 2020). A necessidade de estudos taxonômicos e entendimento da história de vida das espécies é fundamental para a compreensão de suas características e capacidades ecológicas. Igualmente importante é a incorporação de dados de ocorrência de espécies em bacias costeiras não amostradas no presente estudo (Jaguaribe, Vaza-Barris, Litoral do Ceará, Mearim e Gurupi). A inclusão desses dados mais pode incrementar a robustez da análise e confirmar se esse padrão é encontrado além dos dados aqui utilizados.

Os dados utilizados não contemplam toda a informação existente para as mesobacias costeiras brasileiras. Eles não incluem dados de ocorrência para peixes em todas microbacias inclusas nas mesobacias amostradas (SM, Fig. 1). Quando transformamos a área de microbacias com ocorrência de dados para porcentagem de área amostrada, com base na área total das mesobacias, observamos que apenas nove, entre as 17 mesobacias estudadas, apresentavam mais de 50% dos dados de amostragem. Acreditamos que o uso de um conjunto de dados atualizados poderia auxiliar na investigação dos fatores macroecológicos e evolutivos que influenciam o grau de endemismo (Tonella et al., 2022).

Entender como processos históricos moldaram a diversidade ainda é um desafio e compreender a resposta das diferentes espécies à diferentes condições ecológicas também exige um laborioso detalhamento das condições ambientais e aspectos biológicos, além do reconhecimento das espécies envolvidas. No entanto, identificar padrões gerais de como as comunidades biológicas respondem a condições ambientais e interações pode ser valioso para estudos onde visamos a conservação de espécies raras, por exemplo (Myers et al., 2000; Moritz, 2002; Brooks et al., 2006). É esperado que com o aumento do nível do mar, progressão esperada em estudos que visam a resposta dessa variação a partir do aquecimento global (Wright et al., 2019; Lionello et al., 2021), o isolamento entre drenagens e bacias hidrográficas aumente, impedindo o fluxo entre populações e trocas de espécies entre comunidades adjacentes.

Encontramos relação entre tamanho da área e espécies endêmicas, fatores estes que podem ser considerados de importância para tomadas de decisões em conservação de espécies e manutenção da biodiversidade aquática (Hermoso & Clavero, 2011; Hill et al., 2021). Assim, é necessário avaliar continuamente o valor da conservação em maiores escalas para a maximização da biodiversidade de forma sustentável (Carr et al., 2017; Bem-Hasan & Christensen, 2019). Dentre as análises subsequentes seria importante incluir dados sobre a composição e o compartilhamento de espécies entre diferentes bacias e a relação filogenética entre essas espécies. Acreditamos que clados de peixes com maior capacidade de dispersão e maior tolerância à distintos níveis de salinidade estarão presentes com maior frequência em bacias adjacentes, com comunidades mais semelhantes. Por outro lado, peixes com menor capacidade de dispersão, postura de ovos e menor tolerância a salinidades variáveis estarão mais restritos às suas bacias, ainda que a oportunidade de dispersão a partir das paleodrenagens tenha sido prevalente no passado.

363 Informações como essas são essenciais para a compreensão das comunidades locais e
364 regionais e endemismo. Concluimos que o tamanho da área possui uma forte relação com o
365 endemismo, sendo relacionado com a riqueza e, consequentemente, com o número de
366 espécies endêmicas e essa relação foi mais importante que a largura da plataforma.
367 Acreditamos que as mesorregiões com alto endemismo, apesar do tamanho da plataforma,
368 possuem importantes exceções a serem consideradas para estudos posteriores, com uma maior
369 amostragem de espécies.

370

371 **Agradecimentos** O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de
372 Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento
373 001.

Material Suplementar

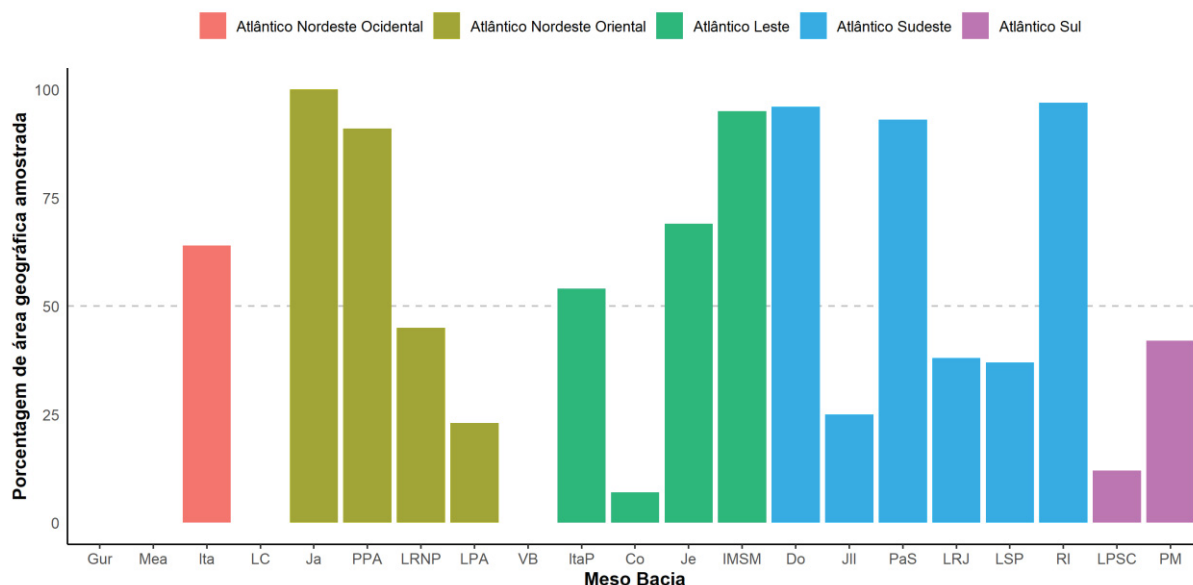


Figura 1. Porcentagem de informação disponível referente à amostragem de áreas de bacias hidrográficas para cada Meso Bacia com base nos dados disponíveis a partir de Tedesco et al. (2017). Áreas sem informação não foram adicionadas nas analyses (Gur, Mea, LC, VB). A linha pontilhada indica 50% de informação. As cores indicam as macrorregiões hidrográficas. Gur = Gurupi, Mea = Mearim, Itapecuru = Ita, LC = Litoral do Ceará, Jaguaribe = Ja, Piancó-Piranhas-Açu = PPA, Litoral do Rio Grande do Norte e Paraíba = LRNP, Litoral de Pernambuco e Alagoas = LPA, VB = Vaza-Barris, Itapicuru Paraguaçu = ItaP, Contas = Co, Jequitinhonha Pardo = Je, Itanhém Mucuri São Mateus = IMSM, Doce = Do, Jucu Itapemirim Itabapoana = JII, Paraíba do Sul = PaS, Litoral do Rio de Janeiro = LRJ, Litoral de São Paulo = LSP, Ribeira de Iguape = RI, Litoral do Paraná e Santa Catarina = LPSC, Patos Mirim = PM.

1 CONCLUSÃO GERAL

2
3 Os três trabalhos apresentados nessa dissertação representam distintos exercícios para
4 aprofundamento do conhecimento em biodiversidade e são importantes em suas respectivas
5 áreas de conhecimento. No primeiro capítulo, ao explorar espécies de parasitos
6 Gyrodactylidae nos deparamos com descrições taxonômicas errôneas ou insuficientes para
7 comparação e identificação dos espécimes aqui estudados. Concluímos que a identificação
8 correta de espécies é um dos pontos cruciais para o registro da biodiversidade e interação
9 entre espécies. No segundo capítulo, apresentamos dados que contrastam estudos anteriores a
10 partir da comparação entre morfologia e dados moleculares de espécies. A família
11 Gyrodactylidae é muito diversificada, mas algumas características morfológicas identificadas
12 em alguns gêneros são convergentes, ainda que a relação filogenética entre essas espécies seja
13 distante – grupos não monofiléticos. Características homoplásicas são mais comuns na
14 evolução e revelam a complexa história evolutiva do grupo. Concluímos que estudos de
15 relações morfológicas em espécies, muitas vezes, precisam ser baseados em dados
16 moleculares, tendo em vista a diversidade do grupo e a existência de elementos genéticos de
17 reversão a partir de características de pressão seletiva semelhantes. No terceiro capítulo,
18 fornecemos subsídios para ampliar as discussões a respeito do papel do tamanho da
19 plataforma continental e da área hidrográfica na diversificação e endemismo de peixes. Muito
20 ainda precisa ser explorado nesse aspecto e pretendemos continuar explorando esses dados em
21 estudos subsequentes, ampliando a amostragem de informações de endemismo e comunidades
22 íctias para uma futura publicação. Contudo, com este estudo, concluímos a importância de
23 compreender a biodiversidade a partir da ótica histórica para o entendimento da configuração
24 espacial das espécies. Os processos que moldaram as comunidades, como o Pulso de Táxon,
25 auxiliam na formação de um mosaico complexo da biodiversidade, e a resposta das espécies
26 diante essas mudanças nos dão sutis direções respostas lteriores diante variações climáticas.

- 27 Identificar, entender a relação filogenética das espécies e sua distribuição no espaço são
- 28 importantes questões na Ecologia e revelam a complexidade da biodiversidade.

REFERÊNCIAS

- Abreu, J.M.S., Saraiva, A.C.S., Albert, J.S., Piorski, N.M., 2020. Paleogeographic influences on freshwater fish distributions in northeastern Brazil. *J. South Am. Earth Sci.* 102. <https://doi.org/10.1016/j.jsames.2020.102692>
- Agosta, S.J., 2006. On ecological fitting, plant-insect associations, herbivore host shifts, and host plant selection. *Oikos* 114, 556–565. <https://doi.org/10.1111/j.2006.0030-1299.15025.x>
- Albert, J.S., Reis, R., 2011. Historical biogeography of Neotropical freshwater fishes, Univ of Ca. ed.
- Araujo, S.B.L., Braga, M.P., Brooks, D.R., Agosta, S.J., Hoberg, E.P., Von Hartenthal, F.W., Boeger, W.A., 2015. Understanding host-switching by ecological fitting. *PLoS One* 10, 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139225>
- Argolo, L.A., López-Fernández, H., Batalha-Filho, H., Affonso, P.R.A. de M., 2020. Unraveling the systematics and evolution of the ‘*Geophagus*’ *brasiliensis* (Cichliformes: Cichlidae) species complex. *Mol. Phylogenet. Evol.* 150, 106855. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2020.106855>
- Arneberg, P., Skorpning, A., Read, A.F., 1997. Is Population Density a Species Character? Comparative Analyses of the Nematode Parasites of Mammals. *Oikos* 80, 289–300.
- Baggio, R.A., Stoiev, S.B., Spach, H.L., Boeger, W.A., 2017. Opportunity and taxon pulse: the central influence of coastal geomorphology on genetic diversification and endemism of strict estuarine species. *J. Biogeogr.* 44, 1626–1639. <https://doi.org/10.1111/jbi.12934>
- Bakke, T.A., Cable, J., Harris, P.D., 2007. The Biology of Gyrodactylid Monogeneans: The “Russian-Doll Killers.” *Adv. Parasitol.* 64. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(06\)64003-7](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(06)64003-7)
- Barreto, S.B., Knowles, L.L., Mascarenhas, R., Affonso, P.R.A.M., Batalha-Filho, H., 2022. Drainage rearrangements and in situ diversification of an endemic freshwater fish genus from north-eastern Brazilian rivers. *Freshw. Biol.* 67, 759–773.
- Bartón, K., 2022. Package “MuMIn” - Multi-Model Inference.
- Beheregaray, L.B., Sunnucks, P., Briscoe, D.A., 2002. A rapid fish radiation associated with

- the last sea-level changes in southern Brazil: The silverside *Odontesthes perugiae* complex. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* <https://doi.org/10.1098/rspb.2001.1838>
- Ben-Hasan, A., Christensen, V., 2019. Vulnerability of the marine ecosystem to climate change impacts in the Arabian Gulf—an urgent need for more research. *Glob. Ecol. Conserv.* 17, e00556. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2019.e00556>
- Bermingham, E., Avise, J.C., 1986. Molecular Zoogeography of Freshwater Fishes in the Southeastern United States. *Genetics* 113, 939–965. <https://doi.org/10.1093/genetics/113.4.939>
- Bernatchez, L., Wilson, C.C., 1998. Comparative phylogeography of Nearctic and Palearctic fishes. *Mol. Ecol.* 7, 431–452. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1998.00319.x>
- Billeter, P.A., Klink, M.M., Mangel, T.K., 2000. A new species of *Swingleus* (Monogenea: Gyrodactylidae) from the mummichog *Fundulus heteroclitus*, in the Delaware bay. *J. Parasitol.* 86, 1219–1222. [https://doi.org/10.1645/0022-3395\(2000\)086\[1219:ansosm\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1645/0022-3395(2000)086[1219:ansosm]2.0.co;2)
- Bizerril, C.R.S.F., 1994. Análise taxonômica e biogeográfica da ictiofauna de água doce do leste brasileiro. *Acta Biol. Leopoldensia* 16, 51–80.
- Boeger, W.A., Ferreira, R.C., Vianna, R.T., Patella, L., 2014. Neotropical monogenoidea 59. *Polyonchoineans* from *Characidium* spp. (Characiformes: Crenuchidae) from Southern Brazil. *Folia Parasitol. (Praha)*. 61, 120–132. <https://doi.org/10.14411/fp.2014.010>
- Boeger, W.A., Kritsky, D.C., Patella, L., Bueno-Silva, M., 2021. Phylogenetic status and historical origins of the oviparous and viviparous gyrodactylids (Monogenoidea, Gyrodactylidea). *Zool. Scr.* 50, 112–124. <https://doi.org/10.1111/zsc.12455>
- Boeger, W.A., Kritsky, D.C., Pie, M.R., 2003. Context of diversification of the viviparous Gyrodactylidae (Platyhelminthes, Monogenoidea). *Zool. Scr.* 32, 437–448. <https://doi.org/10.1046/j.1463-6409.2003.00130.x>
- Boettiger, C., Chamberlain, S., Temple, D., Wainwright, P., Boettiger, M.C., 2017. Package ‘*rfishbase*’.
- Breheny, P., Burchett Maintainer, W., 2020. Package “visreg” - Visualization of Regression Models.

- Brooks, D.R., Agosta, S.J., 2012. Children of time: The extended synthesis and major metaphors of evolution. *Zoologia* 29, 497–514. <https://doi.org/10.1590/S1984-46702012000600002>
- Brooks, D.R., Hoberg, E.P., Boeger, W.A., 2019. *The Stockholm Paradigm: Climate change and emergent disease*, Chicago an. ed.
- Brooks, D.R., Hoberg, E.P., Boeger, W.A., Gardner, S.L., Galbreath, K.E., Herczeg, D., Mejía-Madrid, H.H., Rácz, S.E., Dursahinhan, A.T., 2014. Finding them before they find Us: Informatics, parasites, and environments in accelerating climate change. *Comp. Parasitol.* 81, 155–164. <https://doi.org/10.1654/4724b.1>
- Brooks, D.R., Mayden, R.L., McLennan, D.A., 1992. Phylogeny and biodiversity: Conserving our evolutionary legacy. *Trends Ecol. Evol.* 7, 55–59. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(92\)90107-M](https://doi.org/10.1016/0169-5347(92)90107-M)
- Brooks, T.M., Mittermeier, R.A., Da Fonseca, G.A.B., Gerlach, J., Hoffmann, M., Lamoreux, J.F., Mittermeier, C.G., Pilgrim, J.D., Rodrigues, A.S.L., 2006. Global biodiversity conservation priorities. *Science* (80-.). 313, 58–61. <https://doi.org/10.1126/science.1127609>
- Buckup, P.A., 2011. The eastern Brazilian shield. *Hist. Biogeogr. Neotrop. Freshw. Fishes* 1907, 203–210. <https://doi.org/10.1525/california/9780520268685.003.0012>
- Budischak, S.A., Sakamoto, K., Megow, L.C., Cummings, K.R., Urban, J.F., Ezenwa, V.O., 2015. Resource limitation alters the consequences of co-infection for both hosts and parasites. *Int. J. Parasitol.* 45, 455–463. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2015.02.005>
- Burnham, K.P., Anderson, D.R., Huyvaert, K.P., 2011. AIC model selection and multimodel inference in behavioral ecology: Some background, observations, and comparisons. *Behav. Ecol. Sociobiol.* <https://doi.org/10.1007/s00265-010-1029-6>
- Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M., Shostak, A.W., 1997. Parasitology Meets Ecology on Its Own Terms: Margolis et al. Revisited. *J. Parasitol.* 83, 575. <https://doi.org/10.2307/3284227>
- Bychowsky, B.E., 1957. *Monogenetic trematodes, their systematics and phylogeny*, Akad. Nauk. ed. English translation by the American Institute of Biological Science, Washington.

- Cable, J., Harris, P.D., 2002. Gyrodactylid developmental biology: Historical review, current status and future trends. *Int. J. Parasitol.* 32, 255–280. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(01\)00330-7](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(01)00330-7)
- Cable, J., Harris, P.D., Tinsley, R.C., Lazarus, C.M., 1999. Phylogenetic analysis of *Gyrodactylus* spp. (Platyhelminthes: Monogenea) using ribosomal DNA sequences. *Can. J. Zool.* 77, 1439–1449. <https://doi.org/10.1139/cjz-77-9-1439>
- Camelier, P., Zanata, A.M., 2014. Biogeography of freshwater fishes from the Northeastern Mata Atlântica freshwater ecoregion: Distribution, endemism, and area relationships. *Neotrop. Ichthyol.* 12, 683–698. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20130228>
- Carr, M.H., Robinson, S.P., Wahle, C., Davis, G., Kroll, S., Murray, S., Schumacker, E.J., Williams, M., 2017. The central importance of ecological spatial connectivity to effective coastal marine protected areas and to meeting the challenges of climate change in the marine environment. *Aquat. Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst.* 27, 6–29. <https://doi.org/10.1002/aqc.2800>
- Chamberlain, S., Oldoni, D., Barve, V., Desmet, P., Geffert, L., Mcglinn, D., Ram, K., Sei, R., Waller, J., 2022. Package “rgbif” - Interface to the Global Biodiversity Information Facility API.
- Collin, R., Miglietta, M.P., 2008. Reversing opinions on Dollo’s Law. *Trends Ecol. Evol.* 23, 602–609. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2008.06.013>
- Cone, D.K., Odense, P.H., 1988. Light and Scanning Electron Microscope Studies of *Fundulotrema prolongis* (Monogenea: Gyrodactylidae) Parasitizing *Fundulus diaphanus* (Cyprinodontidae) in Nova Scotia, Canada, with an Emended Diagnosis of *Fundulotrema*. *Proc. Helminthol. Soc. Wash* 55, 224–228.
- Costa, J.B.S., Bemerguy, R.L., Hasui, Y., Borges, M. da S., 2001. Tectonics and paleogeography along the Amazon river. *J. south Am. Earth Sci.* 14, 335–347.
- Coyne, J.A., Orr, A.H., 2004. Species: Reality and concepts. *Speciation*.
- Cronk, Q.C.B., 2009. Evolution in reverse gear: The molecular basis of loss and reversal. *Cold spring Harb. Symp. Quant. Biol.* LXXIV, 259–266.
- Cunningham, C.O., 1997. Species Variation within the Internal Transcribed Spacer (ITS) Region of *Gyrodactylus* (Monogenea: Gyrodactylidae) Ribosomal RNA Genes. *J.*

Parasitol. 83, 215–219.

- Dallas, T.A., Santini, L., 2020. The influence of stochasticity, landscape structure and species traits on abundant–centre relationships. *Ecography* (Cop.). <https://doi.org/10.1111/ecog.05164>
- Dario, F. Di, Petry, A.C., Maia, M., Pereira, D.S., Mincarone, M.M., Agostinho, L.S., Camara, E.M., Caramaschi, É.P., Britto, M.R. De, 2013. An update on the fish composition (Teleostei) of the coastal lagoons of the Restinga de Jurubatiba National Park and the Imboassica Lagoon, northern Rio de Janeiro State. *Acta Limnol. Bras.* 25, 257–278.
- Dias, M.S., Oberdorff, T., Hugueny, B., Leprieur, F., Jézéquel, C., Cornu, J.F., Brosse, S., Grenouillet, G., Tedesco, P.A., 2014. Global imprint of historical connectivity on freshwater fish biodiversity. *Ecol. Lett.* 17, 1130–1140. <https://doi.org/10.1111/ele.12319>
- Dolby, G.A., 2021. The hidden landscape: Evidence that sea-level change shaped the present population genomic patterns of marginal marine species. *Mol. Ecol.* 30, 1357–1360. <https://doi.org/10.1111/mec.15826>
- Dolby, G.A., Ellingson, R.A., Findley, L.T., Jacobs, D.K., 2018. How sea level change mediates genetic divergence in coastal species across regions with varying tectonic and sediment processes, *Molecular Ecology*. <https://doi.org/10.1111/mec.14487>
- Dougherty, E.R., Carlson, C.J., Bueno, V.M., Burgio, K.R., Cizauskas, C.A., Clements, C.F., Seidel, D.P., Harris, N.C., 2016. Paradigms for parasite conservation. *Conserv. Biol.* 30, 724–733. <https://doi.org/10.1111/cobi.12634>
- Ernst, I., Whittington, I.D., Jones, M.K., 2000. Three new species of *Polyclithrum* Rogers, 1967 (Gyrodactylidae: Monogenea) from mugilid fishes from Australia and Brazil, with a redescription of *P. mugilini* Rogers, 1967. *Syst. Parasitol.* <https://doi.org/10.1023/A:1006285425710>
- Erwin, T.L., 1985. The taxon pulse: a general pattern of lineage radiation and extinction among carabid beetles. *Taxon. phylogeny Biogeogr. beetles ants* 437–472.
- Erwin, T.L., Ball, G.E., Whitehead, D.R., Halpern, A.L., 1976. *Caribid Beetles: Their Evolution, Natural History and Classification*.

- Fangue, N.A., Podrabsky, J.E., Crawshaw, L.I., Schulte, P.M., 2009. Countergradient variation in temperature preference in populations of killifish *Fundulus heteroclitus*. *Physiol. Biochem. Zool.* 82, 776–786. <https://doi.org/10.1086/606030>
- Fišer, C., Robinson, C.T., Malard, F., 2018. Cryptic species as a window into the paradigm shift of the species concept. *Mol. Ecol.* 27, 613–635. <https://doi.org/10.1111/mec.14486>
- Freeland, J., 2005. *Molecular Ecology*. Open Univ.
- Gaston, K.J., Spicer, J.I., 2013. *Biodiversity, an introduction*, John Wiley. ed, Biological Conservation. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2004.07.009>
- Gerasev, P.I., Dmitrieva, E. V., Gaevskaia, A. V., 2002. *Policlithrum ponticum* sp. n. (Monogenea: Gyrodactylidae: Polyclithrinae) from *Mugil cephalus* from the Black Sea and problems of suprageneric systematics of the gyrodactylids. *Parazitologiya* 6, 396–404.
- Guimarães, T. de F.R., Petry, A.C., Hartz, S.M., Becker, F.G., 2021. Influence of past and current factors on the beta diversity of coastal lagoon fish communities in South America. *J. Biogeogr.* 48, 639–649. <https://doi.org/10.1111/jbi.14029>
- Hahn, C., Bakke, T.A., Bachmann, L., Weiss, S., Harris, P.D., 2011. Morphometric and molecular characterization of *Gyrodactylus teuchis* Lautraite, Blanc, Thiery, Daniel & Vigneulle, 1999 (Monogenea: Gyrodactylidae) from an Austrian brown trout population. *Parasitol. Int.* <https://doi.org/10.1016/j.parint.2011.08.016>
- Halas, D., Zamparo, D., Brooks, D.R., 2005. A historical biogeographical protocol for studying biotic diversification by taxon pulses. *J. Biogeogr.* 32, 249–260. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2004.01147.x>
- Hall, B.K., 2007. Homoplasy and homology: Dichotomy or continuum? *J. Hum. Evol.* 52, 473–479. <https://doi.org/10.1016/j.jhevol.2006.11.010>
- Hargis, W.J., 1955. Monogenetic Trematodes of Gulf of Mexico Fishes. Part I. the Superfamily Gyrodactyloidea. *Biol. Bull.* 108, 125–137. <https://doi.org/10.2307/1538429>
- Hargis, W.J., 1954. Monogenetic trematodes of some Gulf of Mexico Fishes. Dr. Diss. Ser.
- Harris, C.E., Vogelbein, W.K., 2006. Parasites of mummichogs, *Fundulus heteroclitus*, from the York River, Virginia, U.S.A., with a checklist of parasites of Atlantic coast *Fundulus*

- spp. Comp. Parasitol. 73, 72–110. <https://doi.org/10.1654/41716.1>
- Hartig, F., Lohse, L., 2022. Package “DHARMA” - Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level / Mixed) Regression Models.
- Harvey, J.A., Biere, A., Fortuna, T., Vet, L.E.M., Engelkes, T., Morriën, E., Gols, R., Verhoeven, K., Vogel, H., Macel, M., Heidel-Fischer, H.M., Schramm, K., van der Putten, W.H., 2010. Ecological fits, mis-fits and lotteries involving insect herbivores on the invasive plant, *Bunias orientalis*. Biol. Invasions 12, 3045–3059. <https://doi.org/10.1007/s10530-010-9696-9>
- Harvey, J.A., Ximénez de Embún, M.G., Bukovinszky, T., Gols, R., 2012. The roles of ecological fitting, phylogeny and physiological equivalence in understanding realized and fundamental host ranges in endoparasitoid wasps. J. Evol. Biol. 25, 2139–2148. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2012.02596.x>
- Hathaway, R.P., Herlevich, J.C., 1973. *Gyrodactylus stableri* sp. n., with New Host and Locality Records for Species of *Gyrodactylus*. J. Parasitol. 59, 801. <https://doi.org/10.2307/3278409>
- Hendrix, S.S., 1994. Marine flora and fauna of the Eastern United States. Platyhelminthes: Monogenea. NOAA Tech. Rep. NMFS 121, 1–106.
- Hermoso, V., Clavero, M., 2011. Threatening processes and conservation management of endemic freshwater fish in the Mediterranean basin: A review. Mar. Freshw. Res. 62, 244–254. <https://doi.org/10.1071/MF09300>
- Hewitt, G., 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. Nature 405, 907–913.
- Hill, M.J., White, J.C., Biggs, J., Briers, R.A., Gledhill, D., Ledger, M.E., Thornhill, I., Wood, P.J., Hassall, C., 2021. Local contributions to beta diversity in urban pond networks: Implications for biodiversity conservation and management. Divers. Distrib. 27, 887–900. <https://doi.org/10.1111/ddi.13239>
- Hirschmann, A., Malabarba, L.R., Thomaz, A.T., Fagundes, N.J.R., 2015. Riverine habitat specificity constrains dispersion in a Neotropical fish (Characidae) along Southern Brazilian drainages. Zool. Scr. 44, 374–382. <https://doi.org/10.1111/zsc.12106>
- Hoberg, E.P., Agosta, S.J., Boeger, W.A., Brooks, D.R., 2015. An integrated parasitology: Revealing the elephant through tradition and invention. Trends Parasitol. 31, 128–133.

<https://doi.org/10.1016/j.pt.2014.11.005>

- Hoberg, E.P., Brooks, D.R., 2010. Beyond vicariance: Integrating taxon pulses, ecological fitting and oscillation in evolution and historical biogeography, in: Morand, S., Krasnov, B.R. (Eds.), The Biogeography of Host–Parasite Interactions. p. 288. <https://doi.org/10.1525/bio.2011.61.11.12>
- Hoffman, G.L., 1998. Parasites of North American freshwater fishes, Cornell Un. ed.
- Huang, S., Meijers, M.J.M., Eyres, A., Mulch, A., Fritz, S.A., 2019. Unravelling the history of biodiversity in mountain ranges through integrating geology and biogeography. J. Biogeogr. <https://doi.org/10.1111/jbi.13622>
- Hubert, N., Duponchelle, F., Nuñez, J., Rivera, R., Bonhomme, F., Renno, J.F., 2007. Isolation by distance and Pleistocene expansion of the lowland populations of the white piranha *Serrasalmus rhombeus*. Mol. Ecol. 16, 2488–2503. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03338.x>
- Hubert, N., Renno, J.F., 2006. Historical biogeography of South American freshwater fishes. J. Biogeogr. 33, 1414–1436. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2006.01518.x>
- Humason, G.L., 1962. Animal Tissue Techniques. Anim. Tissue Tech.
- Huyse, T., Malmberg, G., 2004. Molecular and morphological comparisons between *Gyrodactylus ostendicus* n. sp. (Monogenea: Gyrodactylidae) on *Pomatoschistus microps* (Krøyer) and *G. harengi* Malmberg, 1957 on *Clupea harengus* membras L. Syst. Parasitol. 58, 105–113. <https://doi.org/10.1023/B:SYPA.0000029423.68703.43>
- IBGE, 2021. Bacias e Divisões Hidrográficas do Brasil. Rio de Janeiro.
- Janz, N., Nylin, S., 2008. The oscillation hypothesis of host-plant range and speciation. Spec. Speciation, Radiat. Evol. Biol. Herbiv. Insects 203–215. <https://doi.org/10.1525/california/9780520251328.003.0015>
- Janzen, D.H., 1985. On Ecological Fitting. Oikos 45, 308. <https://doi.org/10.2307/3565565>
- Kappelle, M., Van Vuuren, M.M.I., Baas, P., 1999. Effects of climate change on biodiversity: A review and identification of key research issues. Biodivers. Conserv. <https://doi.org/10.1023/A:1008934324223>
- King, S., 2009. Ecology and Taxonomy of Ectoparasites Infecting Sympatric *Fundulus*

heteroclitus, *F. diaphanus* and their Asexual Hybrid in Two Nova Scotian Lakes.

- Kottelat, M., Freyhof, J., 2007. Handbook of European freshwater fishes, Publications Kottelat. Berlin. <https://doi.org/10.1643/OT-08-098a.1>
- Krasnov, B.R., Stanko, M., S., K.I., Mosansky, L., Shenbrot, G.I., Hawlena, H., Morand, S., 2006. Aggregation and species coexistence in fleas parasitic on small mammals. *Ecography (Cop.)*. 29.
- Kritsky, D.C., Boeger, W.A., 2003. Phylogeny of the Gyrodactylidae and the Phylogenetic status of *Gyrodactylus* Nordmann, 1832 (Platyhelminthes: Monogeneoidea). *Taxon. Ecol. Evol. Metazoan parasites* 2, 37–58.
- Kritsky, D.C., Leiby, P.D., Kayton, R.J., 1978. A Rapid Stain Technique for the Haptorial Bars of *Gyrodactylus* Species (Monogenea). *J. Parasitol.* 64, 172–174.
- Kritsky, D.C., Thatcher, V.E., 1977. *Phanerothecium* gen. nov. and *Fundulotrema* gen. nov. Two new genera of viviparous Monogeneoidea (Gyrodactylidae), with a description of *P. caballeroi* sp. nov. and a key to the subfamilies and genera of the family. *Excerta Parasitol Mem Dr Eduardo Caballer. y Caballer. Inst Biol Publ Esp* 4, 53–60.
- Lambrechts, L., Fellous, S., Koella, J.C., 2006. Coevolutionary interactions between host and parasite genotypes. *Trends Parasitol.* 22, 12–16. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2005.11.008>
- Leprieur, F., Tedesco, P.A., Hugueny, B., Beauchard, O., Dürr, H.H., Brosse, S., Oberdorff, T., 2011. Partitioning global patterns of freshwater fish beta diversity reveals contrasting signatures of past climate changes. *Ecol. Lett.* 14, 325–334. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01589.x>
- Lima, S.M.Q., Berbel-Filho, W.M., Araújo, T.F.P., Lazzarotto, H., Tatarenkov, A., Avise, J.C., 2017. Headwater capture evidenced by paleo-rivers reconstruction and population genetic structure of the armored catfish (*Pareiorhaphis garbei*) in the Serra do Mar mountains of southeastern Brazil. *Front. Genet.* 8, 1–8. <https://doi.org/10.3389/fgene.2017.00199>
- Lionello, P., Barriopedro, D., Ferrarin, C., Nicholls, R.J., Orlić, M., Raicich, F., Reale, M., Umgiesser, G., Voudoukas, M., Zanchettin, D., 2021. Extreme floods of Venice: Characteristics, dynamics, past and future evolution (review article). *Nat. Hazards Earth Syst. Sci.* 21, 2705–2731. <https://doi.org/10.5194/nhess-21-2705-2021>

- Littlewood, D.T.J., Olson, P.D., 2014. Small subunit rDNA and the Platyhelminthes: signal, noise, conflict and compromise, in: Interrelationships of the Platyhelminthes. pp. 262–278.
- Lundberg, J.G., Marshall, L.G., Guerrero, J., Horton, B., Malabarba, M.C.S.L., Wesselingh, F., 1998. The stage for neotropical fish diversification a history of tropical south american rivers. *Phylogeny Classif. Neotrop. Fishes* 603.
- Maddison, W.P., Maddison, D.R., 2021. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis.
- Martin, L., Suguio, K., Flexor, J.M., Dominguez, J.M.L., Bittencourt, A.C.S.P., 1996. Quaternary Sea-level History and Variation in Dynamics along the Central Brazilian Coast: Consequences on Coastal Plain Construction, 3rd ed, Anais da Academia Brasileira de Ciencias.
- Matejusová, I., Gelnar, M., McBeath, A.J.A., Collins, C.M., Cunningham, C.O., 2001. Molecular markers for gyrodactylids (Gyrodactylidae: Monogenea) from five fish families (Teleostei). *Int. J. Parasitol.* 31, 738–745. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(01\)00176-X](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(01)00176-X)
- McDowall, R.M., 2004. Ancestry and amphidromy in island freshwater fish faunas. *Fish Fish.* 5, 75–85. <https://doi.org/10.1111/j.1467-2960.2004.00138.x>
- McMillan, A.M., Bagley, M.J., Jackson, S.A., Nacci, D.E., 2006. Genetic diversity and structure of an estuarine fish (*Fundulus heteroclitus*) indigenous to sites associated with a highly contaminated urban harbor. *Ecotoxicology* 15, 539–548. <https://doi.org/10.1007/s10646-006-0090-4>
- Meinilä, M., Kuusela, J., Zietara, M., Lumme, J., 2002. Primers for amplifying ~820 bp of highly polymorphic mitochondrial COI gene of *Gyrodactylus salaris*. *Hereditas* 137, 72–74. <https://doi.org/10.1034/j.1601-5223.2002.1370110.x>
- Miller, K.G., Mountain, G.S., Wright, J.D., Browning, J. V, 2011. Sea level and ice volume variations from continental margin and deep-sea isotopic records. *Oceanography* 24, 40–53. <https://doi.org/10.5670/oceanog.2011.26>
- Mitsiadis, T.A., Caton, J., Cobourne, M., 2006. Waking-up the sleeping beauty: Recovery of the ancestral bird odontogenic program. *J. Exp. Zool. Part B Mol. Dev. Evol.* 306, 227–

233. <https://doi.org/10.1002/jez.b.21094>

- Mod, H.K., Heikkinen, R.K., le Roux, P.C., Wisz, M.S., Luoto, M., 2016. Impact of biotic interactions on biodiversity varies across a landscape. *J. Biogeogr.* 43, 2412–2423. <https://doi.org/10.1111/jbi.12794>
- Moritz, C., 2002. Strategies to protect biological diversity and the evolutionary processes that sustain it. *Syst. Biol.* 51, 238–254. <https://doi.org/10.1080/10635150252899752>
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Fonseca, G.A.B., Kent, J., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403, 853–858. <https://doi.org/10.1080/21564574.1998.9650003>
- Page, L.M., Burr, B.M., 2011. Peterson field guide to freshwater fishes of North America north of Mexico, Houghton M. ed.
- Patella, L., Brooks, D.R., Boeger, W.A., 2017. Phylogeny and ecology illuminate the evolution of associations under the Stockholm paradigm: *Aglaiogyrodactylus* spp. (Platyhelminthes, Monogeneoidea, Gyrodactylidae) and species of Loricariidae (Actinopterygii, Siluriformes). *Vie Milie* 67, 91–102.
- Pereira, T.L., Santos, U., Schaefer, C.E., Souza, G.O., Paiva, S.R., Malabarba, L.R., Schmidt, E.E., Dergam, J.A., 2013. Dispersal and vicariance of *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Teleostei, Erythrinidae) populations of the Brazilian continental margin. *J. Biogeogr.* 40, 905–914. <https://doi.org/10.1111/jbi.12044>
- Pio, N.L., Carvalho, T.P., 2021. Evidence on the paleodrainage connectivity during Pleistocene: Phylogeography of a hypoptopomatine endemic to southeastern Brazilian coastal drainages. *Neotrop. Ichthyol.* 19, 1–15. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2020-0128>
- Piorski, N.M., Sanches, A., Carvalho-Costa, L.F., Hatanaka, T., Carrillo-Avila, M., Freitas, P.D., Galetti, P.M., 2008. Contribution of conservation genetics in assessing neotropical freshwater fish biodiversity. *Brazilian J. Biol.* 68, 1039–1050. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842008000500011>
- Pleijel, F., Jondelius, U., Norlinder, E., Nygren, A., Oxelman, B., Schander, C., Sundberg, P., Thollessen, M., 2008. Phylogenies without roots? A plea for the use of vouchers in molecular phylogenetic studies. *Mol. Phylogenet. Evol.* 48, 369–371.

<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.03.024>

- Posada, D., 2008. jModelTest: Phylogenetic model averaging. *Mol. Biol. Evol.* 25, 1253–1256. <https://doi.org/10.1093/molbev/msn083>
- Potter, P.E., 1997. The Mesozoic and Cenozoic paleodrainage of South America: a natural history. *J. South Am. Earth Sci.* 10, 331–344. [https://doi.org/10.1016/S0895-9811\(97\)00031-X](https://doi.org/10.1016/S0895-9811(97)00031-X)
- Poulin, R., 2007. Are there general laws in parasite ecology? *Parasitology* 134, 763–776. <https://doi.org/10.1017/S0031182006002150>
- Powers, D.A., Schulte, P.M., 1998. Evolutionary adaptations of gene structure and expression in natural populations in relation to a changing environment: A multidisciplinary approach to address the million-year saga of a small fish. *J. Exp. Zool.* 282, 71–94. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-010x\(199809/10\)282:1/2<71::aid-jez11>3.0.co;2-j](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-010x(199809/10)282:1/2<71::aid-jez11>3.0.co;2-j)
- Přikrylová, I., Barson, M., Shinn, A.P., 2021. Description of *Tresuncinidactylus wilmienae* gen. et sp. n. (Monogenea: Gyrodactylidae), from the gills of the bulldog, *Marcusenius macrolepidotus* (Peters) from Lake Kariba, Zimbabwe. *Folia Parasitol. (Praha)*. 68, 1–12. <https://doi.org/10.14411/FP.2021.025>
- Přikrylová, I., Vanhove, M.P.M., Janssens, S.B., Billeter, P.A., Huyse, T., 2013. Tiny worms from a mighty continent: High diversity and new phylogenetic lineages of African monogeneans. *Mol. Phylogenet. Evol.* 67, 43–52. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.12.017>
- Radinger, J., Wolter, C., 2014. Patterns and predictors of fish dispersal in rivers. *Fish Fish.* 15, 456–473. <https://doi.org/10.1111/faf.12028>
- Rawson, M. V, 1973. Two new species of *Gyrodactylus* (Trematoda: Monogenea) from the Georgia coast. *Proc. helminth Soc Wash* 40, 180–183.
- Ribeiro, A.C., 2006. Tectonic history and the biogeography of the freshwater fishes from the coastal drainages of eastern Brazil: an example of faunal evolution associated with a divergent continental margin. *Neotrop. Ichthyol* 4, 225–246. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252006000200009>
- Ricklefs, R.E., Renner, S.S., 2012. Global correlations in tropical tree species richness and abundance reject neutrality. *Science* 80, 335, 464–467.

<https://doi.org/10.1126/science.1215182>

- Rogers, W.A., 1969. *Swingleus polyclithroides* Gen. et sp. n. (Monogenea: Gyrodactylidae) from *Fundulus grandis* Baird and Girard. Tulane Stud. Zool. Bot. 16, 22–25.
- Rogers, W.A., 1967a. *Polyclithrum mugilini* gen. et sp. n. (Gyrodactylidae: Polyclithrinae Subfam. n.) from *Mugil cephalus* L. J. Parasitol. 53, 274–276.
- Rogers, W.A., 1967b. Six New Species of *Gyrodactylus* (Monogenea) from the Southeastern U. S. J. Parasitol. 53, 747–751.
- Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D.L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M.A., Huelsenbeck, J.P., 2012. Mrbayes 3.2: Efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. Syst. Biol. 61, 539–542. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>
- Roudnický, P., Potěšil, D., Zdráhal, Z., Gelnar, M., Kašný, M., 2020. Laser capture microdissection in combination with mass spectrometry: Approach to characterization of tissue-specific proteomes of *Eudiplozoon nipponicum* (Monogenea, Polyopisthocotylea). PLoS One 15, e0231681. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231681>
- Rundle, S.D., Bilton, D.T., Shiozawa, D.K., 2000. Global and regional patterns in lotic meiofauna. Freshw. Biol. 44, 123–134. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2427.2000.00593.x>
- Schneider, C.A., Rasband, W.S., Eliceiri, K.W., 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. Nat. Methods 9, 671–675.
- Scholz, T., Choudhury, A., 2014. Parasites of freshwater fishes in North America: Why so neglected? J. Parasitol. 100, 26–45. <https://doi.org/10.1645/13-394.1>
- Shinn, A.P., Hansen, H., Olstad, K., Bachmann, L., Bakke, T.A., 2004. The use of morphometric characters to discriminate specimens of laboratory-reared and wild populations of *Gyrodactylus solaris* and *G. thymalli* (Monogenea). Folia Parasitol. (Praha). 51, 239–252. <https://doi.org/10.14411/fp.2004.029>
- Soares Júnior, A.V., Hasui, Y., Costa, J.B.S., Machado, F.B., 2011. Evolução do rifteamento e paleogeografia da margem Atlântica Equatorial do Brasil: Triássico ao Holoceno. Geociencias 30, 669–692.

- Spratt, R.M., Lisiecki, L.E., 2016. A Late Pleistocene sea level stack. *Clim. Past* 12, 1079–1092. <https://doi.org/10.5194/cp-12-1079-2016>
- Stamatakis, A., 2014. RAxML. Manual/tutorial 1–5.
- Svenning, J.C., Eiserhardt, W.L., Normand, S., Ordonez, A., Sandel, B., 2015. The Influence of Paleoclimate on Present-Day Patterns in Biodiversity and Ecosystems. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 46, 551–572. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-112414-054314>
- Swofford, D.L., Bell, C.D., 2017. PAUP* Manual.
- Tagliacollo, V.A., Roxo, F.F., Duke-Sylvester, S.M., Oliveira, C., Albert, J.S., 2015. Biogeographical signature of river capture events in Amazonian lowlands. *J. Biogeogr.* 42, 2349–2362. <https://doi.org/10.1111/jbi.12594>
- TEAM, R., 2021. Core. R: A language and environmental for statistical computing (Version 4.0.5) [Computer software]. R Found. Stat. Comput.
- Tedesco, P.A., Beauchard, O., Bigorne, R., Blanchet, S., Buisson, L., Conti, L., Cornu, J.F., Dias, M.S., Grenouillet, G., Hugueny, B., Jézéquel, C., Leprieur, F., Brosse, S., Oberdorff, T., 2017a. Data Descriptor: A global database on freshwater fish species occurrence in drainage basins. *Sci. Data* 4, 1–6. <https://doi.org/10.1038/sdata.2017.141>
- Tedesco, P.A., Leprieur, F., Hugueny, B., Brosse, S., Dürr, H.H., Beauchard, O., Busson, F., Oberdorff, T., 2012. Patterns and processes of global riverine fish endemism. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 21, 977–987. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2011.00749.x>
- Thomaz, A.T., Knowles, L.L., 2020. Common barriers, but temporal dissonance: Genomic tests suggest ecological and paleo-landscape sieves structure a coastal riverine fish community. *Mol. Ecol.* 29, 783–796. <https://doi.org/10.1111/mec.15357>
- Thomaz, A.T., Lacey Knowles, L., 2018. Flowing into the unknown: Inferred paleodrainages for studying the ichthyofauna of brazilian coastal rivers. *Neotrop. Ichthyol.* 16, 1–13. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20180019>
- Thomaz, A.T., Malabarba, L.R., Bonatto, S.L., Knowles, L.L., 2015. Testing the effect of palaeodrainages versus habitat stability on genetic divergence in riverine systems: Study of a Neotropical fish of the Brazilian coastal Atlantic Forest. *J. Biogeogr.* 42, 2389–2401. <https://doi.org/10.1111/jbi.12597>

- Thomaz, A.T., Malabarba, L.R., Knowles, L.L., 2017. Genomic signatures of paleodrainages in a freshwater fish along the southeastern coast of Brazil: Genetic structure reflects past riverine properties. *Heredity* (Edinb). 119, 287–294. <https://doi.org/10.1038/hdy.2017.46>
- Tonella, L.H., et al., 2022. NEOTROPICAL FRESHWATER FISHES: A dataset of occurrence and abundance of freshwater fishes in the Neotropics. *Ecology*. <https://doi.org/10.1002/ecy.3713>
- Tschá, Marcel K., Bachmann, L., Abilhoa, V., Boeger, W.A., 2017. Past connection and isolation of catchments: The sea-level changes affect the distribution and genetic variability of coastal freshwater fishes. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 190, 31–39. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2017.02.030>
- Tschá, M. K., Baggio, R.A., Marteleto, F.M., Abilhoa, V., Bachmann, L., Boeger, W.A., 2017. Sea-level variations have influenced the demographic history of estuarine and freshwater fishes of the coastal plain of Paraná, Brazil. *J. Fish Biol.* 90, 968–979. <https://doi.org/10.1111/jfb.13211>
- Unmack, P.J., Hammer, M.P., Adams, M., Johnson, J.B., Dowling, T.E., 2013. The role of continental shelf width in determining freshwater phylogeographic patterns in south-eastern *Australian pygmy perches* (Teleostei: Percichthyidae). *Mol. Ecol.* 22, 1683–1699. <https://doi.org/10.1111/mec.12204>
- Vari, R.P., Weirzman, S.H., 1990. A review of phylogenetic biogeography of the freshwater fishes of South America. *Vertebr. Trop.* 381–393.
- Vellend, M., 2010. Conceptual synthesis in community ecology. *Q. Rev. Biol.* 85, 183–206. <https://doi.org/10.1086/652373>
- Vellend, M., 2005. Species diversity and genetic diversity: Parallel processes and correlated patterns. *Am. Nat.* 166, 199–215. <https://doi.org/10.1086/431318>
- Vianna, R.T., Boeger, W.A., Silva-Souza, A.T., 2008. Neotropical Monogenoidea. 52. *Diechodactylus joaberi* n. g., n. sp. from the banded knifefish *Gymnotus carapo* (Gymnotiformes: Gymnotidae) in southeastern Brazil. *Syst. Parasitol.* 69, 45–50. <https://doi.org/10.1007/s11230-007-9107-5>
- Vianna, R.T., Boeger, W.A., Thatcher, V.E., 2007. Filogenia e biogeografia histórica dos Gyrodactylidae (Monogenoidea): morfologia, moléculas e evidencia total. Tese - Univ.

Fed. do Paraná 295.

- Vignon, M., Sasal, P., 2010. The use of geometric morphometrics in understanding shape variability of sclerotized haptor structures of monogeneans (Platyhelminthes) with insights into biogeographic variability. *Parasitol. Int.* 59, 183–191. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2010.01.006>
- VILLWOCK, J.A., 1984. Geology of the Coastal Province of Rio Grande do Sul, Southern Brazil. A Synthesis. *Pesqui. em Geociências* 16, 5. <https://doi.org/10.22456/1807-9806.21711>
- Villwock, J.A., Tomazelli, L.J., 1995. Geologia costeira do Rio Grande do Sul. *Notas técnicas* 8, 1–45.
- Waters, J.M., Burrige, C.P., 2016. Fine-scale habitat preferences influence within-river population connectivity: A case-study using two sympatric New Zealand Galaxias fish species. *Freshw. Biol.* 61, 51–56. <https://doi.org/10.1111/fwb.12675>
- Webb, C.O., Ackerly, D.D., McPeck, M.A., Donoghue, M.J., 2002. Phylogenies and community ecology. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 33, 475–505. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.33.010802.150448>
- Weitzman, S.H., Vari, R.P., 1988. Miniaturization in south american fishes; an overview and discussion. *Proc. Biol. Soc. Washingt.*
- Weitzman, S.H., Vari, R.P., 1988. Miniaturization in south american fishes; an overview and discussion. *Proc. Biol. Soc. Washingt.*
- Wellborn, T.L., Rogers, W.A., Wellborn, T.L., Rogers, W.A., 2016. Five new species of *Gyrodactylus* (Trematoda: Monogenea) from the Southeastern U. S. *The Jour. of Parasitol.* 53, 10–14.
- Whitehead, A., Clark, B.W., Reid, N.M., Hahn, M.E., Nacci, D., 2017. When evolution is the solution to pollution: Key principles, and lessons from rapid repeated adaptation of killifish (*Fundulus heteroclitus*) populations. *Evol. Appl.* 10, 762–783. <https://doi.org/10.1111/eva.12470>
- Whittaker, R.J., Araújo, M.B., Jepson, P., Ladle, R.J., Watosn, J.E., Willis, K.J., 2005. Conservation Biogeography assessment and prospect. *Divers. Distrib.* 11, 3–23.

- Wickham, H., 2021. Package “tidyverse” - Easily Install and Load the “Tidyverse.”
- Wiens, J.J., Donoghue, M.J., 2004. Historical biogeography , ecology and species richness 19. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2004.09.011>
- Williams, E.H., Rogers, W.A., 1971. Two New Species of *Gyrodactylus* (Trematoda: Monogenea) and a Redescription and New Host Record for *G. prolongis* Hargis, 1955. J. Parasitol. 57, 845. <https://doi.org/10.2307/3277811>
- Wright, L.D., Syvitski, J.P.M., Nichols, C.R., 2019. Sea level rise: Recent trends and future projections, Coastal Research Library. Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-75453-6_3
- Zietara, M.S., Lumme, J., 2004. Comparison of molecular phylogeny and morphological systematics in fish parasite genus *Gyrodactylus* Nordmann, 1832 (Monogenea, Gyrodactylidae). Zool. Pol. 49, 5–28.