



NOVAS PERSPECTIVAS SOBRE A FILOGEOGRAFIA DE *Aylacostoma* SPIX, 1827 (GASTROPODA: HEMISINIDAE) DA BACIA DO RIO PARANÁ

Mayara Destro Passere ¹, Alessandra Valéria de Oliveira ²

¹ Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais – PEA, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá/PR. Bolsista CAPES. mayarapassere@gmail.com

² Orientadora, Doutora, Docente no Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais – PEA, Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura – Nupélia, Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá/PR. avoliveira@uem.br

RESUMO

Espécies de Hemisinidae têm sido estudadas devido aos seus hábitos e estratégias reprodutivas, incluindo as espécies de *Aylacostoma*, nativas da América do Sul. Embora o número de estudos esteja aumentando, ainda são escassos os registros de *Aylacostoma* spp., principalmente em estudos envolvendo as informações moleculares das espécies. Atualmente, dados moleculares do marcador mitocondrial COI estão disponíveis para três espécies de *Aylacostoma* distribuídas na bacia do rio Paraná: *A. brunneum*, *Aylacostoma* sp. e *A. chloroticum*. Considerando que os estudos filogeográficos possibilitam o conhecimento sobre a diversidade genética das populações, aspecto importante para a conservação, o principal objetivo deste estudo foi fornecer novas informações sobre o padrão filogeográfico de três espécies: *A. brunneum*, *Aylacostoma* sp. e *A. chloroticum*. As análises foram baseadas em sequências parciais da região mitocondrial COI das três espécies provenientes de diferentes localidades. Com base em 81 sequências obtidas do GenBank e no presente estudo, foram identificados oito haplótipos entre as populações analisadas, sendo que seis haplótipos compreendem a espécie *A. chloroticum*. Alguns desses haplótipos foram específicos a determinadas localidades. Este é o primeiro estudo filogeográfico de *Aylacostoma* a incluir dados moleculares de populações naturais de *A. chloroticum* e *Aylacostoma* sp. provenientes da bacia do alto rio Paraná, Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: COI; Conservação; DNA mitocondrial; Diversidade genética; Haplótipos.

1 INTRODUÇÃO

As espécies de *Aylacostoma* Spix, 1827 (família Hemisinidae), nativas da América do Sul, foram inicialmente registradas por Hylton Scott (1953, 1954) na Argentina e no Paraguai (Cuezco, 2009; Glaubrecht e Neiber, 2019). No Brasil, estima-se que aproximadamente 30 espécies sejam encontradas com ampla distribuição (Simone, 2006). Algumas espécies do gênero são consideradas extintas, como *Aylacostoma guaraniticum* (Hylton Scott, 1953) e *Aylacostoma stigmaticum* Hylton Scott, 1954 (Peso et al., 2013a, b). No entanto, apenas *Aylacostoma chloroticum* Hylton Scott, 1954, *Aylacostoma brunneum* Vogler & Peso, 2014 e *Aylacostoma* sp., registradas na bacia do rio Paraná, possuem dados moleculares disponíveis provenientes de estudos que utilizaram o marcador molecular da região mitocondrial do citocromo c oxidase subunidade I (COI) (Vogler, 2012; Vogler et al., 2014, 2015; Onaca et al., 2019; Passere et al., 2022; Paganini et al., 2025).

Na década de 1990, foi criado o “Projeto *Aylacostoma*” para a conservação ex situ das espécies de *Aylacostoma* no baixo rio Paraná, uma vez que o enchimento do reservatório de Yacyretá inundou as áreas de ocorrência de três espécies: *A. guaraniticum*, *A. stigmaticum* e *A. chloroticum* (Vogler et al., 2012, 2014, 2015). Atualmente, apenas *A. chloroticum* e *A. brunneum* fazem parte do projeto (Peso et al., 2013a, b). No Brasil, há registros de populações naturais de *A. chloroticum* e de uma espécie não identificada, registrada como *Aylacostoma* sp. (Paganini et al., 2025), nos rios Ivaí e Paraná, na bacia do alto rio Paraná. Essas espécies foram objetos de estudos moleculares anteriores nessas regiões (Onaca et al., 2019; Passere et al., 2022; Paganini et al., 2025).

O conhecimento acerca da diversidade genética e a estrutura populacional é essencial para a conservação, uma vez que estudos filogeográficos facilitam a compreensão de como a variabilidade genética de populações naturais vem sendo



impactada pela perda e fragmentação de habitat (Clark e Richardson, 2002; Lydeard et al., 2004). Estudos envolvendo a filogeografia de *Aylacostoma* spp. ainda são escassos, com apenas um trabalho realizado por Vogler et al. (2015) que apresenta informações relevantes sobre a diversidade genética de populações ex situ de *A. brunneum* e *A. chloroticum*.

Dessa maneira, o principal objetivo do presente estudo foi fornecer novas informações sobre a filogeografia de três espécies de *Aylacostoma*, sendo este o primeiro estudo a incluir dados moleculares de populações naturais provenientes da bacia do alto rio Paraná, Brasil, especificamente dos rios Ivaí e Paraná.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

As análises foram baseadas em sequências parciais da região mitocondrial COI de populações de três espécies de *Aylacostoma* (*A. brunneum*, *Aylacostoma* sp. e *A. chloroticum*) de diferentes localidades (ex situ e in situ). As sequências foram obtidas do GenBank provenientes de estudos anteriores desenvolvidos por Vogler et al. (2014), Passere et al. (2022) e Paganini et al. (2025) (N = 69), e no presente estudo (N = 12), totalizando 81 sequências (*A. brunneum* = 6, *Aylacostoma* sp. = 5 e *A. chloroticum* = 70).

Os gastrópodes obtidos no presente estudo foram coletados no ano de 2023 na porção do baixo rio Ivaí próximo ao município de Engenheiro Beltrão (Ivailândia) no Paraná/BR (n = 3); na planície de inundação do alto rio Paraná em Taquarussu no Mato Grosso do Sul/BR (n = 4) e em Porto Rico no Paraná/BR (n = 5). As coletas foram realizadas utilizando puçás e captura manual. Os gastrópodes coletados foram armazenados em sacos plásticos e transportados até o Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura (Nupélia) da Universidade Estadual de Maringá - UEM. Tecidos da região do pé foram armazenados em microtubos de 1,5 mL contendo etanol absoluto para posterior extração de DNA.

O DNA dos gastrópodes foi extraído utilizando o Kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega®), seguindo as instruções do fabricante e quantificado em espectrofotômetro. Para a PCR, foi utilizado um termociclador e a reação foi realizada com 1,25 U de Taq DNA polimerase (5 U/μL, Ludwig Biotecnologia), Tampão 10X (100 mM Tris-HCl pH 8,5; 500 mM KCl), 1,5 mM de MgCl₂, 0,1 mM de cada dNTP, 0,1 μM de cada primer, DNA molde (10 ng) e água Milli-Q para um volume final de 25 μL. Para amplificação foram utilizados primers específicos para a região mitocondrial COI (LCO1490 e HCO2198). Os produtos amplificados foram verificados em gel de agarose 1%, purificados e sequenciados. O acesso ao patrimônio genético foi autorizado pelo Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado – SisGen (A62DC1E).

As sequências obtidas foram editadas manualmente utilizando o programa BioEdit. Após edição e inclusão das demais sequências das espécies de *Aylacostoma*, o alinhamento foi realizado pelo programa MEGA7 a partir do algoritmo de alinhamentos múltiplos CLUSTAL W. O programa DnaSP foi utilizado para caracterização das sequências e dos haplótipos. A rede de haplótipos foi construída utilizando o programa Hapsolutely utilizando o algoritmo median-joining.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

As sequências COI dos 81 espécimes de *Aylacostoma* analisados apresentaram um alinhamento final de 624 pb, com 47 sítios variáveis. Foram encontrados oito haplótipos distintos para as espécies de *Aylacostoma*. Para *A. brunneum* foi identificado um único haplótipo (Hap_1), assim como para *Aylacostoma* sp. (Hap_2). Já para *A. chloroticum* foram identificados seis haplótipos (Hap_3, Hap_4, Hap_5, Hap_6, Hap_7 e Hap_8). O Hap_3 foi



o haplótipo que compreendeu o maior número de espécimes de *A. chloroticum* (N = 50), enquanto os haplótipos Hap_7 e Hap_8 foram compostos por apenas uma sequência cada.

Além de ser o haplótipo que apareceu com maior frequência entre os espécimes de *A. chloroticum*, o Hap_3 também foi o haplótipo presente em todas as localidades analisadas, exceto em Porto Rico/PR. Os haplótipos Hap_4, Hap_5, Hap_7 e Hap_8 ocorreram em apenas uma localidade, sendo exclusivos das regiões de Ríó Beach (baixo rio Paraná), Doutor Camargo (rio Ivaí), Taquarussu e Porto Rico (alto rio Paraná), respectivamente. Os haplótipos pertencentes a *A. brunneum* e *Aylacostoma* sp., por terem sido amostrados apenas no baixo rio Paraná e rio Ivaí, são únicos dessas regiões (Figura 1). Dessa maneira, os resultados indicam um padrão filogeográfico no grupo e é fundamental que a conservação deste gastrópode seja prioridade em toda a sua área de ocorrência, pois existem populações únicas para determinadas localidades, reforçando o que foi encontrado por Vogler et al. (2015) no baixo rio Paraná. Para as populações brasileiras do alto rio Paraná, existem pelo menos quatro haplótipos exclusivos dessas regiões, além de uma espécie desconhecida registrada até o momento apenas no rio Ivaí (Paganini et al., 2025).

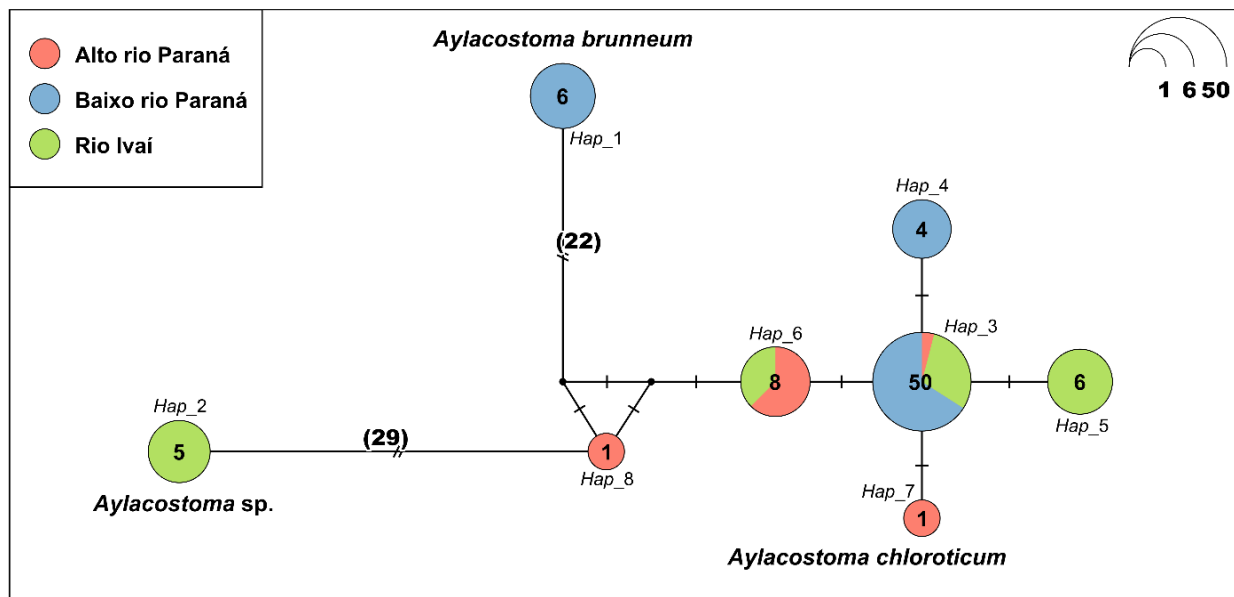


Figura 1: Rede de haplótipos representando todos os haplótipos encontrados para os espécimes de *Aylacostoma* da bacia do rio Paraná. O tamanho dos círculos é proporcional ao número de espécimes de cada haplótipo e os números dentro de cada círculo correspondem ao número de sequências. Os números entre parênteses indicam o número de mutações.

O conhecimento sobre a distribuição geográfica da maioria das espécies do gênero ainda é incompleto, inclusive em sua área de ocorrência nativa, o que evidencia o déficit Wallaceano em relação ao grupo (Hortal et al., 2015). Assim, essa lacuna de conhecimento impacta diretamente as estimativas sobre a extensão de ocorrência das espécies, como pode ser observado para *A. chloroticum*, que é nativo na América do Sul e possui a maioria dos registros na literatura restritos à bacia do rio Paraná (Vogler, 2012; Onaca et al., 2019; Passere et al., 2022; Diniz Filho et al., 2023).

Portanto, como sugerido por Vogler et al. (2015), todos os oito haplótipos de *Aylacostoma* spp. identificados na bacia do rio Paraná necessitam de atenção especial a fim de que a preservação dessas populações aconteça e, principalmente, seja possível compreender como a diversidade genética está distribuída geograficamente ao longo dessa



bacia, identificando possíveis áreas de endemismo para o gênero (Lydeard et al., 2004; Vogler et al., 2015).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este é o primeiro estudo filogeográfico a incluir populações naturais de *Aylacostoma* sp. e *A. chloroticum* da bacia do alto rio Paraná, no Brasil, indicando a presença de haplótipos exclusivos em regiões específicas e demonstrando a necessidade de medidas para conservar as populações naturais em seus locais de ocorrência.

REFERÊNCIAS

- CLARK, S. A.; RICHARDSON, B. J. Spatial analysis of genetic variation as a rapid assessment tool in the conservation management of narrow-range endemics. **Invertebrate Systematics**, v. 16, p. 583–587, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1071/IT01041>. Acesso em: 10 jul. 2025.
- CUEZZO, M. G. Mollusca Gastropoda. In: DOMÍNGUEZ, E.; FERNÁNDEZ, H. R. (eds.). **Macroinvertebrados bentônicos sudamericanos - Sistemática y biología**. Tucumán: Fundación Miguel Lillo, 2009. p. 595–629.
- DINIZ-FILHO, J. A. F. *et al.* Macroecological links between the Linnean, Wallacean, and Darwinian shortfalls. **Frontiers of Biogeography**, v. 15, p. e59566, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.21425/F5FBG59566>. Acesso em: 10 jul. 2025.
- GLAUBRECHT, M.; NEIBER, M. T. Hemisinidae Fischer & Crosse, 1891. In: LYDEARD, C.; CUMMINGS, K. S. (eds.). **Freshwater mollusks of the world: a distribution atlas**. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2019. p. 51–55.
- HORTAL, J. *et al.* Seven shortfalls that beset large-scale knowledge of biodiversity. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 46, p. 523–549, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-112414-054400>. Acesso em: 10 jul. 2025.
- HYLTON SCOTT, M. I. El género *Hemisinus* (Melaniidae) en la costa fluvial argentina (Mol. Prosobr.). **Physis**, v. 20, n. 59, p. 438–443, 1953.
- HYLTON SCOTT, M. I. Dos nuevos melánidos del Alto Paraná (Mol. Prosobr.). **Neotropica**, v. 1, n. 3, p. 45–48, 1954.
- LYDEARD, C. *et al.* The global decline of nonmarine mollusks. **BioScience**, v. 54, p. 321–330, 2004. Disponível em: [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2004\)054\[0321:TGDONM\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2004)054[0321:TGDONM]2.0.CO;2). Acesso em: 10 jul. 2025.
- ONACA, F. M. T. *et al.* Molecular characterization and identification of digenean larval stages in *Aylacostoma chloroticum* (Prosobranchia: Thiaridae) from a neotropical floodplain. **Journal of Helminthology**, v. 94, p. e73, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0022149X19000725>. Acesso em: 10 jul. 2025.
- PAGANINI, M. A. J. *et al.* Record of an unknown species of *Aylacostoma* (Gastropoda: Hemisinidae) evidenced by molecular data. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v.



47, n. 1, p. e74736, 2025. Disponível em:
<https://doi.org/10.4025/actascibiolsoci.v47i1.74736>. Acesso em: 10 jul. 2025.

PASSERE, M. D. *et al.* Identification and molecular characterization of digenean trematode parasites of *Aylacostoma chloroticum* (Gastropoda: Thiaridae) from a Neotropical Basin. **Parasitology Research**, v. 121, p. 3653–3661, 2022. Disponível em:
<https://doi.org/10.1007/s00436-022-07692-4>. Acesso em: 10 jul. 2025.

PESO, J. G.; MOLINA, M. J.; ROJAS, C. C. *Aylacostoma guaraniticum* (Hylton Scott, 1953): antecedentes de la especie. **Amici Molluscarum**, v. 21, p. 39–42, 2013a.

PESO, J. G.; ROJAS, C. C.; MOLINA, M. J. *Aylacostoma stigmaticum* Hylton Scott, 1954: antecedentes de la especie. **Amici Molluscarum**, v. 21, p. 43–46, 2013b.

SIMONE, L. R. L. **Land and freshwater mollusks of Brazil: An illustrated inventory on the Brazilian Malacofauna, including neighbor regions of the South America, respect to the terrestrial and freshwater ecosystem**. São Paulo: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, 2006.

VOGLER, R. E. *et al.* Threatened Neotropical mollusks: analysis of shape differences in three endemic snails from High Paraná River by geometric morphometrics. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, v. 83, p. 1045–1052, 2012. Disponível em:
<https://doi.org/10.7550/rmb.26165>. Acesso em: 10 jul. 2025.

VOGLER, R. E. *et al.* Threatened gastropods under the evolutionary genetic species concept: redescription and new species of the genus *Aylacostoma* (Gastropoda: Thiaridae) from High Paraná River (Argentina–Paraguay). **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 172, p. 501–520, 2014. Disponível em:
<https://doi.org/10.1111/zoj.12179>. Acesso em: 10 jul. 2025.

VOGLER, R. E. *et al.* A phylogeographical perspective on the ex situ conservation of *Aylacostoma* (Thiaridae, Gastropoda) from the High Paraná River (Argentina-Paraguay). **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 174, p. 487–499, 2015. Disponível em:
<https://doi.org/10.1111/zoj.12250>. Acesso em: 10 jul. 2025.

VOGLER, R. E. *Aylacostoma chloroticum* Hylton Scott, 1954: antecedentes de la especie. **Amici Molluscarum**, v. 20, p. 43–46, 2012.