



CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE *JAINUS IOCENSIS* (MONOPISTHOCOTYLEA: DACTYLOGYRIDAE) DA PLANÍCIE DE INUNDAÇÃO DO ALTO RIO PARANÁ

Leonardo de Freitas Chagas¹, Bárbara Scorsim², Wagner Toshio Hasuike³, Ricardo Massato Takemoto⁴, Alessandra Valéria de Oliveira⁵

¹Acadêmico do Curso de Ciências Biológicas, Campus Sede, Universidade Estadual de Maringá (UEM). Bolsista PIBIC/CNPQ-UEM. ra134844@uem.br

²Doutora em Ciências. Pós-doutoranda no programa de Pós-graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais (PEA), Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá (UEM). barbarascorsim@gmail.com

³Doutorando no Programa de Pós-graduação em Biologia Comparada, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá (UEM). hasuike.wt@gmail.com

⁴Doutor. Programa de Pós-graduação em Biologia Comparada e em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá (UEM); Laboratório de Ictioparasitologia, Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura- NUPÉLIA, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá (UEM). takemotorm@nupelia.uem.br

⁵Orientadora, Doutora, Docente vinculada ao Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais (PEA) e ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Ambiental, Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular (DBC), Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura – Nupélia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá (UEM). avoliveira@uem.br

RESUMO

Os parasitos monogenéticos são ectoparasitas, principalmente de brânquias de peixes, de tamanho microscópico e de difícil identificação. Por esse motivo, a análise molecular é atualmente a principal ferramenta para o reconhecimento preciso desses organismos. Este trabalho teve como objetivo identificar e caracterizar morfológica e molecularmente um monogenético parasita de *Salminus brasiliensis* da planície de inundação do alto rio Paraná. As análises realizadas confirmaram a ocorrência de *Jainus iocensis* na região, contribuindo para o conhecimento da fauna parasitária local. A sequência obtida representa o primeiro registro molecular para a espécie, que se agrupou na árvore gênica próximo a *Jainus piava* e *Jainus* sp.

PALAVRAS-CHAVE: Bryconidae; COI mtDNA; Dactylogyridae; *Salminus*.

1 INTRODUÇÃO

A classe Monopisthocotylea, pertencente ao filo Platyhelminthes, caracteriza-se principalmente por reunir ectoparasitos de peixes, que se alojam preferencialmente nas brânquias, mas também podem ser encontrados nas cavidades nasais, boca, pele e barbatanas (Buchmann & Bresciani, 2006; Luque, 2004; Brabec et al., 2023). Entre os problemas causados pelos monogenéticos, destacam-se anorexia, excesso de muco nas brânquias, hemorragias cutâneas, emagrecimento e, em casos mais graves, a morte dos hospedeiros (Luque, 2004; Li et al., 2022). Portanto, o controle parasitário desses organismos é essencial para a proteção dos peixes e para a sustentabilidade do comércio que deles depende.

Dentre os monogenéticos, a família Dactylogyridae destaca-se como a mais estudada, cujos representantes são majoritariamente ectoparasitas de peixes Characiformes (Luque et al., 2017). Um dos gêneros mais relevantes dessa família é *Jainus* Mizelle, Kritsky & Crane, 1968, composto por ectoparasitas preferencialmente de brânquias de peixes neotropicais Characiformes. Entre os hospedeiros, destaca-se o *Salminus brasiliensis*, popularmente denominado como Dourado (Every & Kritsky, 1992), espécie de expressiva importância econômica e ecológica, tanto para a pesca esportiva quanto para a alimentação, frequentemente impactada por infestações desses parasitos.

Considerando as dificuldades de identificação morfológica dos parasitos, principalmente em relação aos estágios larvais devido às suas características pouco distintivas, as ferramentas moleculares atuam como importantes aliados para a correta



identificação dos espécimes (Zago et al., 2020; Hasuike et al., 2024). Por causa da grande diversidade que esse grupo apresenta, ainda desconhecida e inexplorada, o uso de marcadores moleculares junto com a morfologia é útil em estudos taxonômicos e evolutivos na identificação de espécies crípticas (Cohen; Justo; Kohn, 2013; Luque et al., 2017). Com isso o objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização molecular e morfológica de um parasita monogenético de *S. brasiliensis* na planície de inundação do alto rio Paraná.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Exemplares de *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816) (Characiformes: Bryconidae), coletados na planície de inundação do alto rio Paraná, foram triados de acordo com metodologia de Da Graça *et al.* (2018), onde o parasita foi coletado ainda fresco das brânquias e sem uso de álcool ou formaldeído. Após isso, para confirmação do morfotipo, foi realizada observação em lâmina contendo água ultrapura, observando as principais características de identificação taxonômica.

Para a extração de DNA e identificação molecular, os parasitos obtidos foram acondicionados individualmente de acordo com o morfotipo em tubos de 1,5 mL com água Milli-Q, em seguida congelados. A extração do DNA do tecido dos parasitas foi realizada utilizando o kit QIAamp DNA Blood da Qiagen®, seguindo as instruções do fabricante.

Para amplificação do DNA do parasita, foram utilizados primers específicos para a região mitocondrial COI: COI_Mono_5: 5'TAATWGGTGGGKTTTGGTAA-3' e COI_Mono_3: 5'AATGCATMGGAAAAACA-3', utilizando um protocolo adaptado de Plaisance et al. (2008). Os produtos amplificados foram visualizados em gel de agarose 1% e o tamanho dos fragmentos foi estimado com a utilização de um marcador de peso molecular conhecido (DNA Ladder 100pb). Os produtos obtidos da amplificação do DNA foram purificados pelo protocolo de Rosenthal et al. (1993). O sequenciamento foi realizado por uma empresa privada no sequenciador Applied Biosystems® AB-3500, utilizando o kit BigDye® Terminator.

As sequências obtidas foram editadas e alinhadas juntamente com sequências dos bancos de dados genéticos obtidas para o gênero *Jainus*, utilizando os programas BioEdit (Hall, 1999) e o MEGA 11 (Kumar et al., 2016), respectivamente. Foram calculadas as distâncias genéticas p e realizada a construção de uma árvore gênica pelo método de máxima verossimilhança com 1.000 reamostragens de bootstrap. O modelo de substituição de nucleotídeos utilizada foi *Generalized Time-Reversible* com distribuição *Gamma* (GTR+G). As sequências foram selecionadas baseadas na ocorrência dos parasitas em relação ao hospedeiro, sendo que aquelas que comprometiam o tamanho do alinhamento final foram excluídas das análises. *Austrodiplostomum compactum* (MT632474) foi utilizado como grupo externo. O acesso ao patrimônio genético dos espécimes foi autorizado através do Sistema Eletrônico Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e o Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o número A415CDC. A sequência será depositada no banco de dados.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

As análises morfológicas permitiram identificar o espécime analisado como *Jainus iocensis* (Figura 1A) devido ao fato da presença de determinadas características como âncora ventral reduzida em tamanho com membranas esclerotizadas no desenvolvimento da raiz superficial e barra ventral fina e delicada (Figura 1D). Uma outra característica marcante é a possibilidade de parasitar apenas membros da família Bryconidae.

Em relação à árvore gênica (Figura 1E), ocorreu a formação de dois grandes clados, um deles formado por representantes de *Urocleidoides* e *Jainus* e o outro formado por



espécies do gênero *Anacanthorus*. *Jainus iocensis* apresentou valores de distância genética p variando de 55% a 58,2% em relação à espécies de *Anacanthorus*. Já em relação à *Urocleidoides*, os valores de distância variaram de 19% a 24,9%. Dentro do clado de *Urocleidoides*, uma das sequências de *Jainus* disponíveis no banco de dados (*Jainus* sp.) se agrupou juntamente com o *U. sinus*, se separando das demais espécies do mesmo gênero.

Sequências do gênero *Jainus* (*Jainus piava* e *Jainus* sp.) disponíveis no banco de dados se agruparam com *J. iocensis*, formando um ramo irmão àquele formado por representantes de *Urocleidoides*. As espécies de *Jainus* apresentaram valores de distância p de 19,3% (*J. piava*) e 18,9% (*Jainus* sp.) em relação à *J. iocensis*, demonstrando que a sequência obtida para o espécime do presente estudo pertence ao gênero *Jainus*, porém uma espécie distinta daquelas disponíveis nos bancos de dados. Ainda, vale ressaltar que esse estudo disponibiliza a primeira sequência parcial do gene COI da espécie.

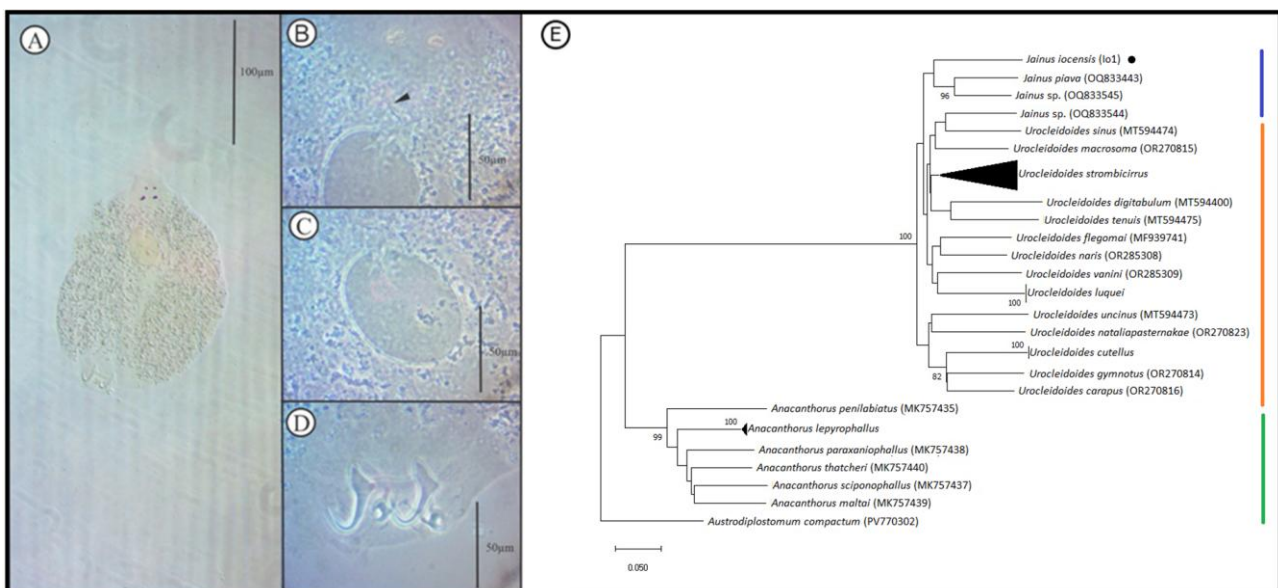


Figura 1. A) *Jainus iocensis*; B) Seta preta: Órgão copulador masculino; C) Ovo; D) Haptor; E) Árvore gênica construída utilizando o método de máxima verosimilhança com 1.000 reamostragens de bootstrap, para o marcador molecular COI. *Austrodiplostomum compactum* (MT632474) foi utilizado como um grupo externo. O gênero *Urocleidoides* está destacado na barra lateral em laranja, *Jainus* em azul e *Anacanthorus* em verde. A sequência obtida no presente estudo está destacada com um círculo. Apenas valores de suporte acima de 80 estão representados.

Ferramentas moleculares em conjunto com análises morfológicas têm sido usadas para melhorar a compreensão do status taxonômico de diversos grupos de monogenéticos (Zago et al., 2020; Yamada et al., 2023; Hasuike et al., 2024; Hasuike et al., 2025). Entretanto, para *Jainus*, os estudos são recentes (Yamada et al., 2023), com isso, a carência de sequências disponíveis no banco de dados dificulta análises mais aprofundadas, não permitindo o esclarecimento de algumas questões filogenéticas, por exemplo. No entanto, acreditamos que essas questões relacionadas à *Jainus* apresentam grande potencial para ser elucidada em estudos futuros, com a possível inclusão de sequências de DNA de mais espécies do gênero.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos, as análises morfológicas confirmaram a identificação de *Jainus iocensis* na planície de inundação do alto Rio Paraná, contribuindo



para a compreensão da fauna parasitária no local. Ressalta-se também que a sequência obtida no presente estudo é a primeira sequência parcial do gene COI para a espécie.

REFERÊNCIAS

BRABEC, Jan et al. The evolution of endoparasitism and complex life cycles in parasitic platyhelminths. **Current Biology**, v. 33, n. 19, p. 4269-4275. e3, 2023.

BUCHMANN, Kurt; BRESCIANI, José. Monogenea (phylum Platyhelminthes). In: **Fish diseases and disorders. Volume 1: Protozoan and metazoan infections**. Wallingford UK: Cabi, p. 297-344, 2006.

COHEN, Simone Chinicz; JUSTO, M. C. N.; KOHN, Anna. **South American Monogenoidea parasites of fishes, amphibians and reptiles**. 2013.

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

EVERY, LR Van; KRITSKY, D. C. Neotropical Monogenoidea. 18. *Anacanthorus* Mizelle and Price, 1965 (Dactylogyridae, Anacanthorinae) of Piranha (Characoidea, Serrasalmidae) from the Central Amazon, their phylogeny, and aspects of host-parasite coevolution. **Journal of the Helminthological Society of Washington**, v. 59, n. 1, p. 25-51, 1992.

HALL, Tom A. et al. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In: **Nucleic acids symposium series**. 1999. p. 95-98.

HASUIKE, W. T. et al. A new species of *Urocleidoides* Mizelle & Price 1964 (Monogenea: Dactylogyridae) parasite of *Hemiodus orthonops* Eigenmann & Kennedy, 1903 (Hemiodontidae) from the upper Paraná River floodplain. **Journal of Helminthology**, v. 98, p. e5, 2024.

HASUIKE, W. T. et al. Morphology and molecular characterization of a new species of *Tereancistrum* parasite from the gills of *Brycon nattereri*. **Journal of Helminthology**, v. 99, p. e32, 2025.

KUMAR, Sudhir; STECHER, Glen; TAMURA, Koichiro. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. **Molecular biology and evolution**, v. 33, n. 7, p. 1870-1874, 2016.

LI, Wenxiang et al. Seasonal dynamics of *Dactylogyirus* species (Monogenea: Dactylogyridae) on wild and farmed goldfish (*Carassius auratus*): implication for prevention of dactylogyriasis. **Aquaculture Reports**, v. 26, p. 101327, 2022.

LUQUE, José Luis. Biologia, epidemiologia e controle de parasitos de peixes. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n. 1, p. 161-165, 2004.



LUQUE, José Luis et al. Helminth parasites of South American fishes: current status and characterization as a model for studies of biodiversity. **Journal of helminthology**, v. 91, n. 2, p. 150-164, 2017.

PLAISANCE, Laetitia et al. Colonization of Pacific islands by parasites of low dispersal ability: phylogeography of two monogenean species parasitizing butterflyfishes in the South Pacific Ocean. **Journal of Biogeography**, v. 35, n. 1, p. 76-87, 2008.

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

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

ZAGO, Aline Cristina et al. Seven new species of Urocleidoides (Monogenea: Dactylogyridae) from Brazilian fishes supported by morphological and molecular data. **Parasitology Research**, v. 119, n. 10, p. 3255-3283, 2020.