Verônica Mantovani Bueno

Delimitação de espécies em *Rhinebothroides* Mayes, Brooks & Thorson, 1981 (Cestoda: Tetraphyllidea) com ênfase no complexo *Rhinebothroides freitasi* (Rego, 1979)

> São Paulo 2010

Verônica Mantovani Bueno

Delimitação de espécies em *Rhinebothroides* Mayes, Brooks & Thorson, 1981 (Cestoda: Tetraphyllidea) com ênfase no complexo *Rhinebothroides freitasi* (Rego, 1979)

Species delimitation in *Rhinebothroides* Mayes, Brooks & Thorson, 1981 (Cestoda: Tetraphyllidea) with emphasis on the *Rhinebothroides freitasi* (Rego, 1979) complex

> Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, na área de Zoologia.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Portella de Luna Marques

São Paulo 2010 Bueno, Verônica Mantovani Delimitação de espécies em *Rhinebothroides* Mayes, Brooks & Thorson, 1981 (Cestoda: Tetraphyllidea) com ênfase no complexo *Rhinebothroides freitasi* (Rego, 1979). *ix*+121p.

Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Zoologia.

1. Parasitologia; 2. Sistemática Molecular; 3. Taxonomia; 4. Helmintologia; 5. Neotropical

Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Zoologia

Comissão Julgadora

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof. Dr. Fernando P. de Luna Marques

Dedico esse trabalho aos meus pais, por todo o apoio e carinho, sempre.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer em primeiro lugar aos meus pais, Luciana Paola Mantovani e Fernando Maciel Bueno por todo apoio, amor, carinho e paciência infindáveis por toda a duração desse trabalho. Sem eles, tenho certeza que eu não teria conseguido realizar tanta coisa. Agradeço também a minha irmã querida, Bárbara Mantovani Bueno, por proporcionar momentos de descontração mesmo estando longe durante a etapa final desse trabalho.

Agradeço especialmente ao meu orientador, Dr. Fernando Portella de Luna Marques, por ter me ensinado tanto e por sempre acreditar na minha capacidade como pesquisadora, mesmo em momentos onde eu mesma não acreditava.

Não posso deixar de agradecer aos meus colegas de laboratório que tornaram esse trabalho possível de ser realizado. Ao Denis Jacob Machado, por ter tido a competência de extrair DNA de animais tão pequenos e por me ajudar (muito) na compilação dos dados moleculares. À colega e amiga Natália da Matta Luchetti, por ter me ensinado tudo o que sei sobre técnicas laboratoriais de morfologia – minhas lâminas também agradecem. À colega Laura Canal, por ter organizado o material para tombo no MZUSP. Ao Prof. Dr. Marcus Vinicius Domingues, por ter sido meu "co-orientador", amigo pra todas as horas e por me ensinar muito sobre taxonomia de parasitas. Ao colega e amigo Mauro Cardoso Júnior, por me aguentar horas e horas falando sobre *Rhinebothroides* e por compartilhar comigo idéias importantes sobre parasitas de elasmobrânquios. Ao colega e amigo Dr. Felipe Martins, que me ajudou com a compreensão de dados moleculares.

Agradeço de coração o trabalho dos técnicos do departamento de Zoologia Ênio Mattos e Eduardo Tadeu Mattos (*in memorian*) por terem me acompanhado em inúmeras sessões de microscopia eletrônica e me ensinado muito sobre técnicas de morfologia. Agradeço especialmente ao bom papo e ao ótimo humor em todos os momentos. Agradeço a Prof. Dra Elisabeth Höfling, por ter me dado a oportunidade de aprender a manusear o microscópio eletrônico, sem isso esse trabalho não teria sido possível. Agradeço o Prof. Dr. Alberto de Freitas Ribeiro, coordenador do Laboratório de Biologia Celular e Microscopia Eletrônica e Confocal por ter me dado a oportunidade de manusear o microscópio eletrônico, o técnico Márcio Valentim Cruz, por ter me ensinado a controlar todos aqueles botões do microscópio eletrônico e ter tido a paciência de me auxiliar sempre que foi necessário e também ao técnico e pesquisador Waldir Caldeira, por ter me auxiliado ao microscópio eletrônico.

Agradeço ao Prof. Dr. Marcelo Carvalho por ter me atendido sempre que necessário e me ensinado tanto sobre taxonomia. Agradeço também a todos os membros do laboratório do Prof. Dr. Marcelo Carvalho, em especial aos pesquisadores João Paulo Capretz Batista da Silva, Tiago Loboda e Mateus da Costa Soares por disponibilizarem literatura pertinente a família Potamotrygonidae e pelas informações taxonômicas supridas, necessárias para a conclusão desse trabalho.

Agradeço a toda a equipe do Laboratório de Sistemática Molecular por toda a ajuda concedida e ao alto astral

sempre presente no laboratório. Em especial, agradeço a pesquisadora Sabrina Barone por ter me passado parte de seu conhecimento sobre edição de sequências nucleotídicas e extração de DNA. Agradeço também a pesquisadora Maíra Concistré por ter ajudado na obtenção de sequências de *Rhinebothroides*. Agradeço também a técnica responsável pelo SSDNA – IQ-USP Luci Deise Navarro pelo sequenciamento das amostras de DNA obtidas.

Agradeço ao pesquisador e amigo Dr. Tiago Sobreira por toda a consultoria computacional concedida durante a fase de análise de dados. Tenho certeza que esse trabalho teria sido muito mais difícil sem sua ajuda.

Agradeço ao curador do Manter Laboratory of Parasitology – Prof. Dr. Scott Lyell Gardner, por ter gentilmente cedido parte do material tipo examinado nesse trabalho. Agradeço também ao curador do U.S. Parasite Collection – Dr. Eric P. Hoberg, por ter emprestado parte do material tipo analisado nesse estudo. Agradecimentos especiais ao curador e curador associado da coleção de parasitologia do Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia" Lic. Fabián Tricárico e Alejandro Tablado pelo empréstimo de parte do material tipo analisado nesse trabalho. E finalmente ao curador Dr. Marcelo Knoff da Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz pelos espécimes emprestados prontamente.

Agradeço à Prof. Dra. Verônica Ivanov, da Universidad de Buenos Aires, por toda a informação concedida sobre espécimes de *Rhinebothroides* coletados na Argentina. Agradeço o Prof. Dr. Florian Reyda pela amizade, por toda ajuda disponibilizada e por algumas das sequências de DNA utilizadas na análise filogenética. Agradeço também a Dr. Claire Healy por algumas das sequências nucleotídicas utilizadas nesse trabalho.

Gostaria de agradecer às secretárias do departamento de Zoologia, em especial às secretárias Luzineia Ongaro Juquer, Maria Lúcia Vieira e Marly Salviano de Almeida por todo apoio durante todas as etapas desse projeto. Agradeço também aos funcionários da secretária de pós-graduação do Instituto de Biociências – USP.

Meus agradecimentos especiais vão aos meus amigos do IB-USP: Max Maronna, Mauro Cardoso Júnior, Marcus Vinicius Domingues, Patrícia Lopes, Mateus da Costa Soares, Talita Zupo, João Paulo (Gordo), Thiago Fernandes, Riviane Garcez, Sabrina Barone, Sabrina Timão, Felipe Martins e Lina Almeida por terem me proporcionado tantas risadas e tantas discussões interessantes sobre biologia. Vocês todos moram no meu coração! Agradeço também às minhas amigas Janice Muriel Cunha e Ilana Fichberg do MZUSP pelo apoio.

Aos meus amigos para toda a vida, que me entendem melhor do que ninguém e me ajudaram bastante a manter uma vida social fora da biologia: André Garcia, Ariel Wollinger, Bianca Temple de Moraes, Bruna Daniel, Carla Machado, Carol Pessini, Dayan Sansone, Karina Vanes, Luciano Andrade, Mariana Zdravca, Natalia Pisani e Tico Volpato.

Em especial, gostaria de agradecer meu namorado, Lula, por todo amor, apoio, paciência, dedicação e amizade durante todo o projeto. Sem isso eu não teria realizado esse trabalho.A realização desse trabalho foi possível graças ao financiamento direto do CNPQ na forma de bolsa de mestrado (Proc. No. 131624/2007-5), e o auxílio individual à pesquisa financiado pela FAPES P(Proc. No. 2008/09436-8) em nome de F.P.L. Marques.

ÍNDICE

Lista de Tabelas		vii
Lista de Figuras		viii
INTRODUÇÃO		1
Diversidade		1
Contexto tax	onômico	2
MATERIAL E MÉI	CODOS	8
Origem e pro	cessamento de material biológico	8
Obtenção de	dados morfológicos	12
Material tipo	e vouchers examinados	14
Obtenção de	dados moleculares	14
Extração, am	plificação e sequenciamento de DNA	18
Análise filog	enética – Justificativa do método adotado	20
Análise filog	enética em POY	21
RESULTADOS		23
Análise filog	enética	23
Análise mort	ológica – Complexo Rhinebothroides freitasi	32
Integração de	e dados moleculares e morfológicos	36
Redescrições	-	40
Rhinebothroi	des venezuelensis	40
Rhinebothrow	des freitasi	48
DISCUSSÃO		56
Delimitação	de espécies em <i>Rhinebothroides</i>	56
Especificida	le Parasitária	65
Relações filo	genéticas de Rhinebothroides e grupos relacionados	71
CONCLUSÕES		81
RESUMO		82
ABSTRACT		83
LITERATURA CIT	ADA	84
ANEXO A		94
ANEXO B		95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Representatividade biogeográfica de hospedeiros amostrada.	10
Tabela 2. Parâmetros morfológicos utilizados.	13
Tabela 3. Material examinado de coleções de referência.	16
Tabela 4. Iniciadores empregados na obtenção de dados moleculares.	19
Tabela 5. Protocolos de amplificação.	19
Tabela 6. Representatividade genômica, taxonômica, biogeográfica e de hospedeiros.	24
Tabela 7. Resultado da análise de congruência.	26
Tabela 8. Hospedeiros infectados por membros do complexo R. freitasi.	35
Tabela 9. Dados morfológicos obtidos para indivíduos de R. venezuelensis.	43
Tabela 10. Dados morfológicos obtidos para indivíduos de R. freitasi.	52

Lista de Figuras

Figura 1. Morfologia geral de <i>Rhinebothroides</i> spp	6
Figura 2. Representatividade biogeográfica das amostras.	9
Figura 3. Regiões de captura de micrografias eletrônicas de varredura.	15
Figura 4. Hipótese filogenética para haplótipos de <i>Rhinebothroides</i> .	31
Figura 5. Plot de sensibilidade para os clados de Rhinebothroides.	33
Figura 6. Plot de sensibilidade para grupos de clados de Rhinebothroides.	34
Figura 7. Caracterização e variação morfológica de Rhinebothroides glandularis	37
Figura 8. Caracterização morfológica de Rhinebothroides scorzai.	38
Figura 9. Caracterização morfológica de <i>Rhinebothroides moralarai</i> .	39
Figura 10. Morfologia de <i>Rhinebothroides venezuelensis</i> .	41
Figura 11. Micrografias eletrônicas de varredura para Rhinebothroides venezuelensis	42
Figura 12. Morfologia de Rhinebothroides freitasi.	50
Figura 13. Micrografias eletrônicas de varredura para Rhinebothroides freitasi.	51
Figura 14. Mapas de distribuição para as espécies de <i>Rhinebothroides</i> .	59
Figura 15. Hipóteses filogenéticas disponíveis para Rhinebothroides.	73
Figura 16. Otimização dos caracteres propostos por Zamparo et al. (1999).	74

Introdução

Diversidade

O parasitismo, associação entre organismos onde o associado obtém recursos advindos do organismo hospedeiro, é uma das formas de vida mais bem sucedidas entre os eucariotos. Essa afirmativa baseia-se na observação de que, praticamente, todos os metazoários de vida livre convivem com pelo menos um organismo associado – *i.e.*, um parasita. Historicamente, acredita-se que o parasitismo em Metazoa evoluiu pelo menos sessenta vezes independentemente durante sua diversificação em nosso planeta (Poulin & Morand, 2000). Consequentemente, esses organismos apresentam alto grau de diversidade tanto específica quanto de ciclos de vida, estratégias de reprodução e dispersão.

Os padrões de diversidade encontrados para parasitas podem estar associados ás características tanto do parasita quanto do hospedeiro. A distribuição da diversidade parasitária entre os táxons hospedeiros não reflete simplesmente a diversidade de espécies do hospedeiro; associações históricas e aspectos ecológicos parecem ser bastante importantes (Poulin & Morand, 2000). Uma possível explicação para o nível de diversificação observado em linhagens parasitárias é o fato de que a especiação simpátrica é muito mais comum em parasitas do que em organismos de vida livre (de Meêus *et al.*, 1998).

Delimitar espécies de parasitas é frequentemente muito difícil devido ao limitado número de caracteres morfológicos exibidos por esses organismos (Criscione *et al.*, 2005). Mesmo quando todas as espécies de parasitas são amostradas em todas as espécies de hospedeiros presentes em uma dada localidade, o reconhecimento acurado das espécies de parasitas encontradas ainda pode ser problemático (Poulin & Morand, 2000). Uma espécie de parasita pode explorar mais de uma espécie de hospedeiro, tendo, por consequência, algumas diferenças morfológicas intraespecíficas de acordo com o hospedeiro parasitado (Poulin & Morand, 2000). Neste caso, ignorar a variabilidade intraespecífica resultaria em uma noção sobrestimada da diversidade de parasitas para esse sistema

(Poulin & Morand, 2000). Por outro lado, linhagens distintas podem ser consideradas como uma única espécie, devido a semelhanças morfológicas, real ou desconhecida, independente do número de hospedeiros nas quais são encontradas. Dentro deste cenário, teríamos o que chamamos de espécies crípticas, as quais não representam a diversidade de linhagens encontradas no sistema.

De forma geral, o uso atual de dados moleculares em sistemática tem resultado na descoberta de muitas espécies crípticas em diversos grupos de Metazoa (Belyaeva & Taylor, 2009; Bickford *et al.*, 2007; Calvo *et al.*, 2009; Daniels *et al.*, 2009; Detwiller *et al.*, 2010; Goodman *et al.*, 2009a; Goodman *et al.*, 2009b; Jousson *et al.*, 2000; Leung *et al.*, 2009; Pfenninger & Schwenk, 2007; Rosas-Valdez *et al.*, 2004). Para grupos representados por linhagens de parasitas, isto não tem sido diferente. Por exemplo, algumas espécies de Cestoda e Nematoda consideradas por muito tempo capazes de parasitar várias espécies de hospedeiros, têm se mostrado, na realidade, constituir complexos de espécies relacionadas, porém distintas, cada uma altamente específica a uma espécie de hospedeiro (Poulin & Morand, 2000; Poulin, 2007). Espécies crípticas, embora muito semelhantes morfologicamente e frequentemente vivendo em simpatria, são entidades historicamente isoladas e deveriam ser consideradas espécies distintas se um dos objetivos da Sistemática é documentar a diversidade de linhagens em nosso planeta. Adicionalmente, nossa compreensão dos mecanismos responsáveis pelos processos de diversificação biológica é dependente do reconhecimento de entidades historicamente isoladas.

Contexto taxonômico

Um grupo particular de Cestoda, primariamente parasitas de elasmobrânquios, os Tetraphyllidea, é particularmente interessante do ponto de vista de sua especificidade e padrões de co-evolução (Caira & Jensen, 2001). Morfologicamente, os tetrafilídeos constituem um dos grupos mais diversificados de cestóideos, especialmente em relação aos seus escoleces e os intrigantes padrões de associação com seus hospedeiros (Caira & Jensen, 2001).

Os parasitas da ordem Tetraphyllidea são atualmente divididos em oito famílias sendo que

2

duas são as mais diversas: os Onchobothriidae e o Phyllobothriidae (Euzet, 1994). Os Onchobothriidae são aqueles tetrafilídeos que apresentam ganchos em seus escoleces, como forma de ancoramento no hospedeiro. Os Phyllobothriidae não apresentam ganchos, seus escoleces lembram a forma de uma folha e, por isso, são assim chamados. Entretanto, evidências contra o monofiletismo de Tetraphyllidea como atualmente definido têm se acumulado (Caira & Jensen, 2001; Euzet, 1994).

Recentemente, Healy *et al.* (2009) propuseram uma nova ordem dentro de Cestoda denominada Rhinebothriidea, em um estudo focado na sub-família Rhinebothriinae Euzet, 1956. O estudo foi baseado em dados morfológicos e moleculares para 58 terminais que demonstram claramente o parafiletismo da ordem Tetraphyllidea e o monofiletismo da subfamília Rhinebothriinae Euzet, 1956. Esses resultados levaram os autores a elevar essa subfamília ao nível de ordem, propondo a ordem Rhinebothriidea. De acordo com Healy *et al.* (2009), os gêneros que compõe a ordem Rhinebothriidea são: *Anthocefalum, Echeneibothrium, Rhabdotobothrium, Rhinebothroides, Scalithrium, Spongiobothrium, Rhodobothium*, além de 4 gêneros e um rhinebothriídeo não descritos.

Dentre os gêneros inseridos atualmente em Rhinebothriidea, *Rhinebothroides* é o foco do presente estudo. Parasitas do gênero *Rhinebothroides* são encontrados apenas em arraias de água doce da família Potamotrygonidae. Os potamotrigonídeos são endêmicos da região Neotropical e formam um grupo hoje representado por aproximadamente 20 espécies, divididas em três gêneros: *Paratrygon* Duméril, 1865, *Potamotrygon* Garman, 1913 e *Plesiotrygon* Rosa, Castello & Thorson, 1987 (Marques, 2000; de Carvalho *et al.* 2003). A origem e diversificação destes organismos tem sido explicada por diversas hipóteses (Marlier, 1967, Brooks *et al.*, 1981b, Brooks, 1992, Lovejoy *et al.*, 1998, Marques, 2000; de Carvalho *et al.*, 2004) que, exceto pelo cenário dispersionista de Marlier (1967), evocam eventos de ingressões marinhas no continente seguidos de especiação após a ocorrência de eventos paleogeográficos distintos em diferentes escalas temporais. Brooks *et al.*

(1981b) foram pioneiros, não somente por propor a primeira hipótese envolvendo eventos de vicariância, mas também por utilizar dados parasitológicos, em propor que o grupo teria se originado durante o Cretáceo (~100 m.a.). Posteriormente, hipóteses (*e.g.* Lovejoy *et al.*, 1998 e Marques 2000) baseadas no relógio molecular de um fragmento de um gene mitocondrial (mtDNA) Citocromo b, contestaram a hipótese de Brooks *et al.* (1981b) e propuseram que ingressões marinhas a partir da região do Caribe no Mioceno (~20 m.a.) resultaram no isolamento do ancestral desses elasmobrânquios devido a alterações no escoamento do paleo-Orinoco-Amazonas (~11m.a.). De Carvalho *et al.* (2004), considerando dados morfológicos para linhagens recentes e extintas de Miliobatiformes, atribui a origem de Potamotrygonidae a eventos mais antigos (*i.e.* Eoceno, ~50 m.a.). Independente da ausência de consenso sobre os eventos que deram origem ao grupo, é certo que os potamotrigonídeos descendem de um ancestral marinho assim como a maior parte de sua fauna de parasitas.

O gênero *Rhinebothroides* foi proposto por Mayes *et al.* (1981) para receber *Rhinebothroides moralarai*, parasita de *Potamotrygon magdalenae* do Rio Magdalena, espécie tipo do gênero; *R. circularisi*, parasita de *Potamotrygon constellata* (*P. circularis* na descrição original) do rio Itacuaí, Atalaia do Norte/AM; e *Rhinebothroides scorzai*, parasita de *Potamotrygon orbignyi*¹ (originalmente identificado como *Paratrygon histrix*) do delta do Orinoco, Venezuela (Lopéz-Neyra & Diaz –Ungriá, 1958). Em comum, essas espécies possuíam botrídios quadrados ao invés de alongados, vesículas seminais internas, abertura do poro genital no mesmo nível do ístmo do ovário e lobos ovarianos assimétricos - resultado da consequente redução do lobo poral (Mayes *et al.*, 1981). Posteriormente, Brooks *et al.* (1981a) fizeram uma revisão taxonômica dos parasitas de potamotrigonídeos e descreveram *Rhinebothroides glandularis* e *Rhinebothroides venezuelensis* parasitas de *Potamotrygon orbignyi*¹ (originalmente identificado como *Potamotrygon histrix*) do delta do Orinoco e reconheceram *Rhinebothrium freitasi* (Rego, 1979), parasita de *Potamotrygon*

¹ A identificação destes hospedeiros foi retificada por Brooks & Amato (1992).

orbignyi (originalmente identificado como *Potamotrygon histrix*)² como membro do gênero *Rhinebothroides*. Mais de uma década depois, Brooks & Amato (1992) descreveram *Rhinebothroides mclennanae* parasita de *Potamotrygon motoro*, próximo a Corumbá, MS, Brasil. Até este momento, *Rhinebothroides* dispunha de sete espécies nominais.

Na mais recente revisão taxonômica de *Rhinebothroides* publicada por Marques & Brooks (2003), das sete espécies reconhecidas para o gênero, três foram consideradas sinonímias júnior: *Rhinebothroides freitasi* = *R. circularisi* e *R. venezuelensis*, e *Rhinebothroides glandularis* = *R. mclennanae*. Dentre as espécies do complexo *Rhinebothroides freitasi* (*sensu* Marques & Brooks, 2003) a sobreposição no número de loculi, dimensões das proglótides grávidas e maduras, saco do cirro, ovário e número de testículos, únicos caracteres propostos para diagnose destas espécies, levaram Marques & Brooks (2003) a justificar a sinonímia proposta. Posteriormente, Ivanov (2004) descreveu *Rhinebothroides campbelli*, parasita de *Potamotrygon motoro*, do rio Colastiné, Santa Fé, Argentina e revalidou a espécie *R. mclennanae*. De acordo com a autora, das 8 espécies nominais disponíveis para *Rhinebothroides*, seis deveriam ser consideradas como válidas.

A ampla distribuição biogeográfica e de hospedeiros exibida por membros do complexo *R*. *freitasi* sugere a presença de equívocos na concepção das espécies nominais disponíveis para o complexo. Adicionalmente, *R. campbelli*, além de apresentar morfologia muito similar a *R. venezuelensis*, não possui nenhum caráter discreto que permita diferenciar esta espécie daquelas hoje atribuídas ao complexo *R. freitasi* (*sensu* Marques & Brooks, 2003). Conclui-se que esta nova espécie faça parte do mesmo complexo e que um estudo mais detalhado seja necessário para refinar a taxonomia de *Rhinebothroides*.

A taxonomia de *Rhinebothroides* tem sido exclusivamente baseada na morfologia de indivíduos adultos (Figura 1A-C), uma vez que as larvas são desconhecidas. Membros de *Rhinebothroides* possuem um escólex anterior (órgão de ancoramento no hospedeiro) e um estróbilo, composto por inúmeras proglótides. O escólex é composto por quatro botrídios

² Uma vez que Potamotrygon histrix é endêmica da bacia do Paraná, deve tratar-se também de P. orbignyi.



Figura 1. Morfologia geral de *Rhinebothroides* spp. A - espécime adulto completo. B - Detalhe do botrídeo sob microscopia óptica. C - morfologia da proglótide madura.

pedunculados com septos marginais e transversais formando lóculos (Fig. 1B) como nos outros membros de Rhinebothriidea (Healy *et al.*, 2009). Cada proglótide possui um aparelho sexual feminino e um masculino (Fig.1C). O aparelho sexual masculino é formado pelos testículos (~20-100), todos conectados ao vaso deferente que se conecta ao órgão copulatório chamado cirro - coberto por estruturas tegumentares chamadas microtríquias - localizado dentro do saco do cirro. A vesícula seminal interna, uma das características diagnósticas de *Rhinebothroides* (Brooks *et al.*, 1981a), está localizada dentro do saco do cirro (Fig. 1C). O aparelho sexual feminino é composto por uma vagina com esfíncter muscular e posteriormente expandida, formando um receptáculo seminal; um ovário assimétrico (diagnóstico de *Rhinebothroides*) formado por dois lobos, um poral e outro aporal, sendo o lobo poral reduzido; um útero tubular e duto uterino; uma glândula de Mehlis; e, inúmeros folículos vitelínicos distribuídos lateralmente em cada proglótide. Tanto a vagina como o cirro entram no átrio genital, o qual se abre ao meio exterior através do poro genital. Os poros genitais estão no primeiro quarto posterior de cada proglótide e se alternam irregularmente.

Ao contrário de outras espécies do gênero, as quais são definidas por possuir diferentes características discretas (presença de células glandulares em *R. glandularis* e *R. mclennanae*; organização dos testículos e vitelária não interrompida ao nível do poro genital em *R. scorzai* e presença de espinitríquias ao invés de filitríquias no cirro de *R. moralarai*) que fogem do plano comum descrito acima, representantes do complexo *R. freitasi* são definidos apenas por pequenas diferenças observadas em dados merísticos e morfométricos extraídos de atributos que estão presentes em todas as espécies nominais do gênero. Em parte, esta é a razão pela qual a história taxonômica das espécies que compõe este complexo tem sido convoluta. Soma-se a isso o fato da maioria das espécies do gênero terem sido descritas com base em um número restrito de espécimes, em geral coletados de uma ou poucas localidades próximas e de uma espécie de hospedeiro.

Diante do cenário atual, fica evidente que a sistemática de Rhinebothroides, em geral, e do

complexo *R. freitasi*, em particular, ainda permanece com inúmeras questões em aberto. Estas se referem ao reconhecimento ou não das espécies nominais incluídas neste complexo, à compreensão dos padrões de variação morfológica dentro do gênero bem como os padrões de especificidade apresentadas pelas espécies atribuídas à *Rhinebothroides*. Neste estudo, partiu-se da premissa de que a inclusão de dados moleculares na sistemática do gênero pode ser útil da delimitação de espécies cuja circunscrição atual é ambígua que, conjugada à reavaliação dos caracteres morfológicos até o presente utilizados na taxonomia do grupo e em posse de uma representatividade biogeográfica sem precedentes, poderá promover os avanços desejados na taxonomia do grupo. Dentro deste contexto, este estudo parte da análise filogenética de diversos haplótipos atribuídos à *Rhinebothroides* com o objetivo de refinar a sistemática deste componente de nossa fauna e compreender melhor suas relações de parentesco e os níveis de variação morfológica exibida por esses organismos, bem como os padrões de especificidade destes parasitas.

Material e Métodos

Coletas, processamento de material biológico, identificação de parasitas

Durante o período de 1995 a 2007, 946 espécimes pertencentes à família Potamotrygonidae foram coletados, representando cerca de 30 espécies potencialmente distintas sendo que aproximadamente 14 espécies ainda devem ser descritas formalmente. Estes hospedeiros foram obtidos utilizando diferentes métodos de captura tais como espinhéis, arpões e redes de arrasto. Os potamotrigonídeos ocorrem nas principais bacias hidrográficas da América do Sul, em rios que drenam para o Oceano Atlântico, com exceção da Bacia do Rio São Francisco, em rios que drenam ao Oceano Atlântico da Mata Atlântica no nordeste e sudeste do Brasil, em parte da Bacia do Rio Paraná e ao sul do Rio La Plata na Argentina (de Carvalho *et al.*, 2003). A representatividade biogeográfica e de hospedeiros das amostras utilizadas nesse estudo está listada na Tabela 1 e representada na Figura 2. Os nomes atribuídos nesse estudo a hospedeiros não descritos segue aqueles utilizados por Marques &



Figura 2. Representatividade biogeográfica das amostras disponíveis para esse estudo. Códigos de coleta seguem aqueles de Marques & Domingues (2006).

Renácia	Suh-haria	Rio	Mimicínia Fstada e País	Latituda	Longitude	Nata da colata
anader	Dun-Duria		trunchion to man for the	Tauman	ANNIGHTAT	Data de coleta
Potamotrygon motoro	Rio Paraguai, São Lourenço	Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana	Barão de Melgaço, Vila Mutum, MT, Brasil	S 16° 17' 55.68"	W 55° 48' 13.32"	Julho, 2006
Potamotrygon brachyura						
Potamotrygon sp_jam	Rio Amazonas, Madeira	Rio Jamari	ltapoã do oeste, RO, Brasil	S 9° 4' 33.96"	W 63° 18' 17.64"	Julho, 2006
Potamotrygon motoro	Rio Solimões, Juruá, Japurá	Rio Purus, Lago Novo	Boca do Acre, AM, Brasil	S 8° 44' 45.6"	W 67° 22' 51.6"	Julho, 2006
Potamotrygon sp_tar1						
Potamotrygon sp_tar2	Rio Solimões, Juruá, Japurá	Rio Tarauacá, Lago Arara	T arau acá, AC, Bras il	S 8° 4' 5.88"	W 70° 43' 4.8"	Julho, 2006
Paratrygon aiereba						
Potamotrygon humerosa	Rio Amazonas, Trombetas, outros	Rio Abacaxis	Borba. Comunidade Maruin. A.M. Brasil	S 4° 16' 58.08"	W 58° 36' 42.48"	Janeiro. 2007
Potamotrygon cf. motoro			~ ~			
Potamotrygon scobina						
Potamotrygon orbignyi	Rio Solimões, Negro, Branco	Rio Branco, Rio Urariquera	Boa Vista, RR, Brasil	N 3° 22' 51.96"	W 60° 35' 44.16"	Fevereiro, 2007
Paratrygon aiereba						
Potamotrygon motoro	Rio Paraonai São Lourenco	Rio Paraonai	Commbá Distr Alhumerane MS Brasil	S 19° 20' 53 16"	W 57° 19' 11 28"	Dezemhro 2003
Potamotrygon castexi						
Potamotrygon motoro						
Potamotrygon falkneri	Rio Paraguai, São Lourenço	Rio Salobra	Miranda, MS, Brasil	S 20° 12' 59.34"	W 56° 29' 42.95"	Julho, 2004
Potamotrygon castexi						
Potamotrygon hystrix						
Potamotrygon sp_tpjl	Rio Amazonas Tanaiós Inruena	Rio Teles Dires	Aniacáe Pousada Santa Rosa MT Brasil	S 8° 46' 45 12"	W 57° 77' 55 44"	Dezembro 2005
Potamotrygon sp_tpj2	and a management a standard and and and and and and and and and an		1 x 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1			1000 to 1000
Potamotrygon sp_tpjl	Rio Amazonas, Tapajós, Juruena	Rio Jamanxin	Novo Progresso, PA, Brasil	S 7° 9' 30.24"	W 55° 25' 55.92"	Dezembro, 2005
Potamotrygon motoro	Rio Paraguai, São Lourenço	Rio Paraguai, Igarapé Padre Inácio	Cáceres, MT, Brasil	S 16° 14' 27.63"	W 57° 47' 8.92"	Junho, 2007
Plesiotrygon iwamae						
Potamotrygon scobina	Rios Meruu. Acará. Guamá. outros	Baía de Maraió. Rio Tocantins	Colares. PA. Brasil	S 0° 55' 34.68"	W 48° 17' 25.44"	Agosto. 2007
Potamotrygon orbignyi						0
Paratrygon aiereba						
Potamotrygon motoro	Rio Meruu, Acamá, Guamá, outros	Baia de Maraió, Rio Arari, Ig. do Urubu	Cachoeira do Arari, PA, Brasil	S 0° 59' 58.2"	W 48° 57' 52.56"	Agosto, 2007
Potamotrygon sp_mar1						
Potamotrygon signata	Rio Parnaíba	Confluência do Rio Poti e Rio Parnaíba	Teresina, PI, Brasil	S 5° 2' 10.68"	W 42° 50' 17.88"	Setembro, 2007

Tabela 1. Representatividade biogeográfica de hospedeiros amostrada no presente estudo. Os nomes atribuídos às espécies não descritas seguem Marques & Domingues (2006).

seguem	
descritas	
es não	
espécie	
los às -	
tribuíc	
omes a	
. Os ne	
estudo	
esente	
a no pr	
ostrada	
ros am	
spedei	
ו de ho	
gráfica	
biogeo	
idade	06).
entativ	les (20
Repres	mingu
(cont.)	& Dc
Tabela 1.	Marques

Esnécie	Sub-bacia	Rio	Município. Estado e País	Latitude	Longitude	Data de coleta
				00 1/1010	100 11 12 00 M	
		Rio Negro, Boca do Rio Demení	Barcelos, AM, Brasil	S 0° 46' 31.8"	W 62° 56' 14.28"	Fevereiro, 2004
Potamotrygon sp. (cururu)		Rio Negro, Rio Demení, Lago Maqui	Barcelos, AM, Brasil	S 0° 42' 42.84"	W 62° 59' 35.88"	Fevereiro, 2004
Potamotrygon sp.		Rio Negro, Comunidade Santo Antônio	Barcelos, AM, Brasil	S 0° 58' 38.64"	W 62° 54' 46.44"	Fevereiro, 2004
Potamotrygon motoro		Rio Negro, Paraná Zamula, Lago Nazaré	Barcelos, AM, Brasil	S 0° 52' 11.28"	W 62° 46' 37.92"	Fevereiro, 2004
Potamotrygon schroederi	Rio Solimões, Negro, Branco	Rio Negro/Paraná do Acuiá	Barcelos, AM, Brasil	S 0° 45' 29.88"	W 62° 55' 14.52"	Fevereiro, 2004
Potamotrygon orbignyi		Rio Negro, Ilha da Mariana, Praia do Meio	Barcelos, AM, Brasil	S 0° 42' 42.84"	W 62° 59' 35.88"	Fevereiro, 2004
Paratrygon aiereba		Rio Negro, Lago do Boiador, Boca do Bafuana	Barcelos, AM, Brasil	S 0° 54' 24.12"	W 62° 58' 21.72"	Janeiro, 2005
		Rio Negro, Rio Cuiuní, Praia do Curupira	Barcelos, AM, Brasil	S 0° 46' 41.88"	W 63° 8' 10.32"	Fevereiro, 2005
		Rio Negro, Rio Arirahá, Boca do Jacaré	Barcelos, AM, Brasil	S 0° 40' 23.16"	W 63° 12' 7.56"	Abril, 2005
Potamotrygon sp_sol						
Potamotrygon motoro	Rio Solimões, Içá, Jandiatuba	Rio Solimões, Ilha do Aramaça	Tabatinga, AM, Brasil	S 4° 20' 16.8"	W 69° 54' 1.08"	Ag os to, 2006
Paratrygon spn						
Potamotrygon motoro						
Potamotrygon humerosa						
Potamotrygon orbignyi	Dio Amazonas Tanaiós Iumana	Dio Tanaiós Comunidada Diané	Santarém DA Bracil	5 70 171 3 87"	W 55° 0' 13 68"	Outhro 2005
Potamotrygon sp_tpjl	אווומבטוומי, יסטקשקי ז משמחות טווו					00000 (00000)
Potamotrygon sp_tpj2						
Paratrygon aiereba						
Paratrygon aiereba						
Potamotrygon sp_tpjl	Rio Amazonas, Tapajós, Juruena	Rio Tapajós, Comunidade Pimental	It aituba, PA, Brasil	S 4° 36' 29.88"	W 56° 16' 22.8"	Outubro, 2005
Potamotrygon sp_tpj2						
Potamotrygon cf. orbignyi						
Potamotrygon sp_toc2	Rio Tocantins, Manuel Alves	Rio Tocantins, confluência do Rio Manuel Alves	Ipueiras, TO, Brasil	S 11° 15' 48.52"	W 48° 26' 56.79"	Junho, 2005
Potamotrygon cf. scobina						
Paratrygon aiereba	Rio Araguaia, Mortes, Javaés	Rio Araguaia, Distrito de Luiz Alves	São Miguel do Araguaia	S 13° 13' 03.04"	W 50° 35' 07.86"	Junho, 2005
Paratrygon aiereba						
Potamotrygon sp_toc3	Rio Araguaia, Mortes, Javaés	Rio Araguaia	Caseara	S 11° 15' 48.52"	W 48° 26' 56.79"	Junho, 2005
Potamotrygon orbignyi						
Potamotrygon leopoldi						
Potamotrygon orbignyi	Rio Amazonas, Xingú, Iriri, Paru	Rio Xingú	São Felix do Xingú, PA, Brasil	S 6° 39' 23.33"	W 51° 59' 56.72"	Julho, 2005
Paratrygon aiereba						
Potamotrygon brachyura	Rio Uruguai, Ijuí, outros	Rio Uruguai	Porto Xavier, RS, Brasil	S 27° 53' 44.75"	W 55° 13' 29.78"	Março, 2005
Potamotrygon motoro	Rio Paraná, Paranapanema	Rio Paraná, Arroyo Javier	Puerto Reconquista, Santa Fé, Argentina	S 29° 13'	W 59° 34'	Fevereiro, 1995

Domingues (2006).

Imediatamente após as coletas, os hospedeiros foram anestesiados e suas válvulas espirais foram removidas, abertas por uma incisão longitudinal e fixadas em formalina 4% a 60 °C ou ETOH 92-100%, para estudos morfológicos e moleculares; respectivamente. Válvulas espirais fixadas em formalina foram posteriormente transferidas para ETOH 70% e triadas em laboratório para a remoção e seleção de parasitas. Aquelas fixadas em ETOH 92-100% foram triadas da mesma forma, porém seus parasitas foram estocados em ETOH 100% e mantidos a -20°C.

Obtenção de dados morfológicos

Preparações totais para microscopia óptica

Exemplares de *Rhinebothroides* foram hidratados em séries alcoólicas regressivas, corados com Hematoxilina de Delafield ou de Mayer, desidratados em séries alcoólicas progressivas, diafanizados em Salicilato de Metila e montados em lâmina e lamínula com Bálsamo do Canadá. Após a montagem, os exemplares foram identificados sob o microscópio óptico e aqueles reconhecidos como membros do complexo *R. freitasi* foram separados para a obtenção de dados morfométricos e merísticos.

Os dados morfológicos foram obtidos com uma ocular micrométrica acoplada a um microscópio óptico Olympus BX-51. Todas as medidas foram obtidas de segmentos terminais maduros (*i.e.* poro genital aberto) e/ou grávidos de forma a permitir a comparação entre indivíduos. As medidas estão todas expressas em micrômetros, exceto se indicado de outra forma. A descrição dos parâmetros morfológicos utilizados estão na Tabela 2.

Microscopia eletrônica de Varredura.

Os espécimes selecionados para microscopia eletrônica de varredura tiveram seus escóleces removidos e o estróbilo montado em lâminas permanentes, como descrito acima, para identificação sob microscopia óptica e atribuição de material testemunho. Os escóleces foram hidratados em séries alcoólicas regressivas, imersos em solução de Tetróxido de Ósmio 1% por aproximadamente

, Da dâ Meteo	
Tamanho total	Medido da extremidade mais anterior do indivíduo (escolex) até o ponto mais posterior (segmento terminal). Aqui foram obtidos dois parâmetros:(1) estróbilo (sem escolex) comprimento total do estróbilo (sem escolex) comprimento total do indivíduo; (2) comprimento total do estróbilo (sem escolex)
Número de segmentos	Número total de segmentos, assim como o número de segmentos imaturos, maduros (poro genital aberto) e grávidos (presença de ovos, degeneração dos órgãos reprodutivos).
Escólex – número de lóculos	Número total de lóculos transversais em cada botrídio.
Escólex – tamanho dos botrídios	Comprimento total, largura total e largura central de cada botrídio.
Segmentos – comprimento	Para segmentos imaturos, maduros e grávidos. A medida foi tomada a partir da extremidade mais anterior do segmento até a mais posterior. Os segmentos utilizados foram sempre os mais posteriores pertencentes a cada estágio do desenvolvimento.
Segmentos – largura	Para segmentos imaturos, maduros e grávidos. A medida foi tomada sempre na altura do poro genital, devido á variação da largura ao longo do segmento. Os segmentos utilizados foram sempre os mais posteriores pertencentes a cada estágio do desenvolvimento.
Segmentos – poro genital	Distância do poro genital em relação à extremidade mais anterior do segmento. Essa medida foi tomada para comparar a posição relativa do poro genital entre indivíduos.
Ovário	O ovário de <i>Rhinebothroides</i> é dividido em dois lobos - poral e aporal - refente à posição em relação ao poro genital. O lobo poral é reduzido devido à posição mais anterior do poro genital. Foram obtidas medidas de comprimento para cada lobo e largura total do ovário, sempre medido na altura do istmo ovariano.
Testículos – número total	A contagem de número total de testículos foi realizada em três segmentos de cada indivíduo, uma vez que foi observada variação entre segmentos de um mesmo indivíduo.
Testículos - tamanho	Foram tomadas medidas de comprimento e largura de cinco testículos por indivíduo.
Saco do Cirro – comprimento	O comprimento do saco do cirro foi tomada a aprtir de sua extremidade mais anterior até a extremidade mais posterior.

Tabela 2. Parâmetros morfológicos utilizados na taxonomia do complexo Rhinebothroides freitasi.

uma hora, desidratados em séries alcoólicas progressivas, submetidos ao ponto crítico no equipamento Balzers CPD 030, montados em suportes de alumínio (*stubs*) e cobertos por ouro no metalizador Balzers SCD 050. Concluída a preparação, esses espécimes foram examinados sob o microscópio eletrônico de varredura no Instituto de Biociências (IB-USP), Zeiss DSM-940. As regiões de captura de imagens seguem aquelas consideradas por Ivanov (2004) com algumas modificações, como ilustrado na Figura 3.

As micrografias foram analisadas com o programa UTHSCSA Image Tool ver. 3.00 (Wilcox *et al.*, 2002). As imagens foram subdividas em quadrantes de 1 µm x 1 µm para análise da densidade de estruturas tegumentares, *i.e.*, microtríquias. Para cada imagem foram selecionados 10 quadrantes aleatoriamente nos quais foi efetuada a contagem de microtríquias. Adicionalmente, foram medidas cinco microtríquias de cada tipo em cada imagem. A terminologia empregada na descrição das microtríquias segue aquela proposta por Chervy (2009).

Material tipo e vouchers examinados

Material tipo e vouchers foram generosamente emprestados pelas seguintes instituições:

HWML, Manter Laboratory of Parasitology, University of Nebraska - Lincoln, Estados Unidos; USNPC, United States National Parasite Collection, Beltsville, Maryland, Estados Unidos; CHIOC, Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil; MACN-Pa, Museo Argentino de Ciencias Naturales, Buenos Aires, Argentina. O material tipo e *vouchers* examinados no presente estudo estão na Tabela 3.

Obtenção de dados moleculares

A seleção dos espécimes buscou representar a diversidade biogeográfica e de hospedeiros das amostras disponíveis. Procurou-se obter sequências de COI e 28S para pelo menos 2 indivíduos para cada morfotipo presente em cada espécie de hospedeiro de uma determinada localidade. Sequências de ITS-1 foram obtidas prioritariamente para espécimes pertencentes ao complexo *R*. *freitasi* para os quais haviam sido obtidas sequências de COI e 28S, embora o mesmo tenha sido



Figura 3. Regiões de captura de micrografias eletrônicas de varredura (modificadas de Ivanov, 2004) utilizadas para os exemplares de *Rhinebothroides*. Legenda: 1 - região central da superfície distal do botrídeo, 4º septo a partir da extremidade posterior, 2 - extremidade posterior da superfície distal do botrídeo, 3 - região central da superfície proximal do botrídeo, 4º septo a partir da extremidade anterior, 4 - extremidade anterior da superfície proximal do botrídeo, 5 - região central da superfície proximal do botrídeo, 7 - região central da superfície proximal do botrídeo, 4º septo a partir da extremidade anterior, 6 - extremidade posterior da superfície proximal do botrídeo, 7 - região central da superfície distal do botrídeo, 4º septo a partir da extremidade anterior, 8 - extremidade anterior da superfície distal do botrídeo, 4º septo a partir da extremidade anterior, 8 - extremidade anterior da superfície distal do botrídeo.

Tabela 3. Material examinado procedentes de coleções de referência e utilizado em descrições originais.

№ de tombo	Espécie	Localidade	Hospedeiro	Categoria	Material
HWML210071	R. glandularis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	espécime completo
HWML210071	R. glandularis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	espécimes incompletos
HWML210071	R. glandularis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	espécime incompleto
HWML210071	R. glandularis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	espécime incompleto
HWML210071	R. glandularis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	espécime incompleto
HWML210071	R. glandularis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	espécime completo
HWML210071	R. glandularis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	espécime incompleto
HWML210071	R. glandularis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	espécime completo
HWML210071	R. glandularis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	espécime completo
HWML21015 ²	R. scorzai	Delta do Rio Orinoco, Venezuela	P. histrix †	voucher	espécime incompleto
HWML21015 ²	R. scorzai	Delta do Rio Orinoco, Venezuela	P. histrix †	voucher	espécime completo
HWML21015 ²	R. scorzai	Delta do Rio Orinoco, Venezuela	P. histrix †	voucher	espécime completo
HWML21015 ²	R. scorzai	Delta do Rio Orinoco, Venezuela	P. histrix †	voucher	vários espécimes imaturos
HWML21015 ²	R. scorzai	Delta do Rio Orinoco, Venezuela	P. histrix †	voucher	espécime incompleto
HWML21015 ²	R. scorzai	Delta do Rio Orinoco, Venezuela	P. histrix †	voucher	espécime incompleto
HWML21015 ²	R. scorzai	Delta do Rio Orinoco, Venezuela	P. histrix †	voucher	proglótides soltas
HWML21015 ²	R. scorzai	Delta do Rio Orinoco, Venezuela	P. histrix †	voucher	espécime incompleto
HWML21015 ²	R. scorzai	Delta do Rio Orinoco, Venezuela	P. histrix †	voucher	espécime imaturo
HWML21015 ²	R. scorzai	Delta do Rio Orinoco, Venezuela	P. histrix †	voucher	3 espécimes imaturos
HWML21014 ²	R. scorzai	Delta do Rio Orinoco, Venezuela	P. histrix †	voucher	espécime incompleto
HWML21014 ²	R. scorzai	Delta do Rio Orinoco, Venezuela	P. histrix †	voucher	segmento grávido
HWML210203	R. circularisi	Rio Itacuai, Atalaia do Norte, Brasil	P. circularis *	parátipo	espécime completo
HWML210203	R. circularisi	Rio Itacuai, Atalaia do Norte, Brasil	P. circularis *	parátipo	espécime completo
HWML210203	R. circularisi	Rio Itacuai, Atalaia do Norte, Brasil	P. circularis *	parátipo	espécime completo
HWML210203	R. circularisi	Rio Itacuai, Atalaia do Norte, Brasil	P. circularis *	parátipo	escólex
HWML210203	R. circularisi	Rio Itacuai, Atalaia do Norte, Brasil	P. circularis *	parátipo	espécime incompleto
HWML210203	R. circularisi	Rio Itacuai, Atalaia do Norte, Brasil	P. circularis *	parátipo	espécime completo
HWML210203	R. circularisi	Rio Itacuai, Atalaia do Norte, Brasil	P. circularis *	parátipo	espécime imaturo
HWML210203	R. circularisi	Rio Itacuai, Atalaia do Norte, Brasil	P. circularis *	parátipo	espécime completo
HWML210203	R. circularisi	Rio Itacuai, Atalaia do Norte, Brasil	P. circularis *	parátipo	espécime completo
HWML210203	R. circularisi	Rio Itacuai, Atalaia do Norte, Brasil	P. circularis *	parátipo	espécime imaturo
HWML210251	R. venezuelensis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	voucher	espécime completo
HWML210251	R. venezuelensis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	voucher	espécime completo
HWML340921	R. venezuelensis	Corumbá, MS, Brasil	P. motoro	voucher	espécime completo
HWML340921	R. venezuelensis	Corumbá, MS, Brasil	P. motoro	voucher	espécime completo
HWML340921	R. venezuelensis	Corumbá, MS, Brasil	P. motoro	voucher	espécime completo
HWML210051	R. venezuelensis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	proglótides soltas
HWML210051§	R. venezuelensis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	espécime incompleto

§ = estróbilo de *Rhinebothroides*, escólex de *Acanthobothrium*; † = hospedeiro originalmente identificado como *P. histrix*, mas retificado em Brooks & Amato (1992) como *P. orbygny*i; # = espécime pertence a *R. glandularis*; * = *P. circularis* é sinônimo júnior de *P. constellata* ou *P. motoro* (de Carvalho *et al.*, 2003). Números referem-se às publicações de: 1, Brooks, Mayes & Thorson (1981); 2, Brooks, Mayes & Thorson (1981) para *R. scorzai*; 3, Mayes, Brooks & Thorson, (1981a - sinonímia junior de *R. freitasi* por Marques & Brooks, 2003); 4, Brooks, Mayes & Thorson, 1981 para *R. moralarai*; 5, Rego (1979); 6, Ivanov (2004); e 7, Brooks & Amato (1992).

Tabela 3. (cont.) Material examinado procedentes de coleções de referência e utilizado em descrições originais.

Nº de tombo	Espécie	Localidade	Hospedeiro	Categoria	Material
HWML210051	R. venezuelensis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	proglótides grávidas
HWML210051	R. venezuelensis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	espécime completo
HWML210051	R. venezuelensis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	espécime completo
HWML210051	R. venezuelensis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	espécime completo
HWML210061	R. venezuelensis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	espécime completo
HWML210061	R. venezuelensis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	espécime completo
HWML210061	R. venezuelensis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	espécime completo
HWML210061	R. venezuelensis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	espécime completo
HWML210061	R. venezuelensis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	espécime completo
HWML210061	R. venezuelensis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	espécime completo
HWML210061	R. venezuelensis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	espécime completo
HWML202554	R. moralarai	Rio Magdalena, San Cristóbal, Colômbia	P. magdalenae	parátipo	espécime completo
HWML202554	R. moralarai	Rio Magdalena, San Cristóbal, Colômbia	P. magdalenae	parátipo	2 proglótides grávidas
HWML202554	R. moralarai	Rio Magdalena, San Cristóbal, Colômbia	P. magdalenae	parátipo	espécime imaturo
CHIOC31.486b5	R. freitasi	Rio Amazonas, Maicuru, Pará, Brasil	P. histrix †	parátipo	proglótides soltas
CHIOC31.486c⁵	R. freitasi	Rio Amazonas, Maicuru, Pará, Brasil	P. histrix †	parátipo	proglótides soltas imaturas
CHIOC31.486d⁵	R. freitasi	Rio Amazonas, Maicuru, Pará, Brasil	P. histrix †	parátipo	escólex
CHIOC31.486e5	R. freitasi	Rio Amazonas, Maicuru, Pará, Brasil	P. histrix †	parátipo	2 escoleces
CHIOC32.818a1 #	R. venezuelensis	Corumbá, MS, Brasil	P. motoro	voucher	espécime completo
CHIOC32.818b1	R. venezuelensis	Corumbá, MS, Brasil	P. motoro	voucher	espécime completo
CHIOC32.818c1	R. venezuelensis	Corumbá, MS, Brasil	P. motoro	voucher	espécime imaturo
CHIOC32.818d ¹	R. venezuelensis	Corumbá, MS, Brasil	P. motoro	voucher	espécime completo
CHIOC32.818e1	R. venezuelensis	Corumbá, MS, Brasil	P. motoro	voucher	espécime completo
CHIOC32.818f1	R. venezuelensis	Corumbá, MS, Brasil	P. motoro	voucher	espécime completo
USNPC73545 ⁴	R. moralarai	Rio Magdalena, San Cristóbal, Colômbia	P. magdalenae	parátipo	espécime completo
USNPC76362 ³	R. circularisi	Rio Itacuai, Atalaia do Norte, Brasil	P. circularis *	parátipo	espécime completo
USNPC75704 ²	R. scorzai	Delta do Rio Orinoco, Venezuela	P. histrix †	voucher	espécime completo
USNPC757081	R. glandularis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	espécime completo
USNPC757081	R. glandularis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	espécime completo
USNPC757061	R. venezuelensis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	espécime completo
USNPC757061	R. venezuelensis	Delta do Rio Orinoco, perto de Curiapo, Venezuela	P. histrix †	parátipo	espécime completo
USNPC946966	R. campbelli	Rio Colastiné, Santa Fé, Argentina	P. motoro	parátipo	espécime completo
MACN-Pa-412/16	R. campbelli	Rio Colastiné, Santa Fé, Argentina	P. motoro	holótipo	espécime completo
MACN-Pa-412/26	R. campbelli	Rio Colastiné, Santa Fé, Argentina	P. motoro	parátipo	espécime completo
MACN-Pa-412/36	R. campbelli	Rio Colastiné, Santa Fé, Argentina	P. motoro	parátipo	espécime completo
CHIOC32.814b7	R. mclennanae	Corumbá, MS, Brasil	P. motoro	parátipo	espécime completo
CHIOC32.814c7	R. mclennanae	Corumbá, MS, Brasil	P. motoro	parátipo	espécime completo
CHIOC32.814d7	R. mclennanae	Corumbá, MS, Brasil	P. motoro	parátipo	espécime completo
CHIOC32.814e7	R. mclennanae	Corumbá, MS, Brasil	P. motoro	parátipo	espécime completo
CHIOC32.814f7	R. mclennanae	Corumbá, MS, Brasil	P. motoro	parátipo	espécime completo

§ = estróbilo de *Rhinebothroides*, escólex de *Acanthobothrium*; † = hospedeiro originalmente identificado como *P. histrix*, mas retificado em Brooks & Amato (1992) como *P. orbygny*i; # = espécime pertence a *R. glandularis*; * = *P. circularis* é sinônimo júnior de *P. constellata* ou *P. motoro* (de Carvalho *et al.*, 2003). Números referem-se às publicações de: 1, Brooks, Mayes & Thorson (1981); 2, Brooks, Mayes & Thorson (1981) para *R. scorzai*; 3, Mayes, Brooks & Thorson, (1981a - sinonímia junior de *R. freitasi* por Marques & Brooks, 2003); 4, Brooks, Mayes & Thorson, 1981 para *R. moralarai*; 5, Rego (1979); 6, Ivanov (2004); e 7, Brooks & Amato (1992).

feito para alguns exemplares das outras espécies do gênero. Anterior à extração de DNA genômico cada espécime foi fotografado e divido em três partes, das quais o escólex e os segmentos terminais do estróbilo foram destinados à preparação de lâminas, e o restante destinado ao protocolo de extração. A preparação de lâminas permanentes desse material testemunho seguiu o mesmo protocolo adotado na confecção de lâminas permanentes para estudos morfológicos descrito acima e foram depositados em coleções de referência (ver Resultados).

Extração de DNA, polimerase chain reaction (PCR), sequenciamento e análise

Os fragmentos dos espécimes destinados à extração de DNA genômico foram colocados em tubos de 200µl, deixados para secar em temperatura ambiente por aproximadamente 30", lavados em TE duas vezes por 30" – para total remoção de ETOH – e posteriormente submetidos ao protocolo de extração. As extrações foram realizadas utilizando o *kit* InstaGene[™] Matrix (Bio-Rad), seguindo o protocolo do fabricante, exceto pela redução do volume para 30µl ao invés de 100µl.

As regiões amplificadas nesse estudo foram selecionadas de acordo com estudo de Reyda (2007), que considerou as regiões D1-D3 do gene nuclear 28S e um fragmento do gene mitocondrial Citocromo Oxidase sub-unidade I (COI). Segundo o autor, estes genes propiciaram taxas de substituições que permitiram a identificação de espécies para membros de *Rhinebothrium* encontrados em potamotrigonídeos e permite que os dados obtidos neste estudo possam ser analisados em conjunto com os dados de Reyda (2007). Adicionalmente, a região nuclear correspondente ao ITS-1 foi incluída neste estudo na expectativa de obter maior resolução filogenética para determinados clados. Os iniciadores utilizados e os protocolos de PCR são descritos nas Tabelas 4 e 5, respectivamente.

Após a verificação em gel de agarose 2%, as amplificações foram purificadas utilizando o *kit* AMPureTM (Agencourt) e quantificadas utilizando gel de agarose e *low DNA mass ladder* (Invitrogen, Inc.). Posteriormente, as amostras foram amplificadas com o fluóforo BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems), precipitadas segundo instruções do

18

fabricante e submetidas à leitura em um sequenciador ABI 3100 *Genetic Analyzer* no Centro de Sequenciamento do Departamento de Química da USP – IQ/USP, São Paulo.

Fragmento	Nome	Iniciador (primer)
	C1	5'-ACCCGCTGAATTTAAGCAT-3'
295	D2	5'-TGGTCCTTTCAAGAC-3'
285	Rob2	5'-CACGYACTRTTTACTCTC-3'
	LSU-330F	5'-CAAGTACCGTGAGGGAAAGTT-3'
601	nLCO	5'-TTTACTYTRGAYCATAAGCGT-3'
COI	Sean2	5'-AAGCAGAACCAAATTTACGAT-3'
	ITS-1A	5'-GATACAAGGTTTCCGTAGGTG-3'
1151	ITS-R3A	5'-GAGCCGAGTGATCCACC-3'

Tabela 4. Iniciadores empregados na obtenção de dados moleculares.

Tabela 5. Protocolos de amplificação utilizados na obtenção de sequências nucleotídicas.

Fragmento		28S			28S			CO1			ITS1	
primers	C1+Rob	2 ou LSU-3	330F+D2		C1+D2		1	nLCO+Sean	2	ITS	S-1A+ITS-F	3A
	tempo	$T(^{\circ}C)$	n° ciclos	tempo	T (°C)	n° ciclos	tempo	$T(^{\circ}C)$	n° ciclos	tempo	T (°C)	n° ciclos
denaturação inicial	5'	94	1	4'	94	1	2'	94	1	5'	94	1
denaturação	30"	94	35	30"	94	35	30"	94/94	10/25	30"	94	35
anelamento	30"	60	35	30"	60	35	1'	48/50	10/25	30"	50	35
extensão	40"	72	35	1'30"	72	35	1'20"	72/72	10/25	1'30"	72	35
extensão final	7'	72	1	7'	72	1	7'	72	1	7'	72	1

Sequências contíguas foram montadas e editadas usando o programa Consed/PhredPhrap (Ewing & Green, 1998; Ewing *et al.*, 1998; Gordon *et al.*, 1998; Gordon *et al.*, 2001). As sequências de COI foram alinhadas com o auxílio do programa Clustal W (Thompson *et al.*, 1994) implementado no programa BioEdit (Hall, 1999), e traduzidas para verificação da presença de *stop códons*. As sequências de 28S e ITS-1 foram analisadas utilizando o algoritmo de otimização direta (Wheeler, 1996) implementado no programa POY versão 4.1.2 (Váron *et al.*, 2009), descrito detalhadamente abaixo. Esse é um dos algoritmos utilizados na reconstrução de árvores sob homologia dinâmica (Wheeler, 1996; 2001), especialmente para os marcadores sujeitos a alinhamento (não codificadores).

Análise filogenética – Justificativa do método adotado

O resultado de uma análise filogenética baseada em dados moleculares é dependente do alinhamento das sequências (Aagesen, 2005). Tradicionalmente, análises filogenéticas desse tipo de dados são feitas em duas etapas distintas. Inicialmente, um alinhamento múltiplo das sequências é efetuado com programas como Clustal W (Thompson *et al.*, 1994) e que subsequentemente, é submetido à inferência filogenética independente do critério de otimização escolhido (*e.g.* máxima verossimilhança, análise bayesiana e/ou parcimônia). Morrison & Ellis (1997) demonstraram empiricamente o quanto o resultado das reconstruções filogenéticas é mais sensível aos diferentes regimes de custos/algoritmos de alinhamento do que ao critério de otimização aplicado. Desta forma, o alinhamento deve ser considerado uma etapa fundamental em estudos filogenéticos.

Alguns autores argumentam que topologia e alinhamento são dependentes, uma vez que todos os programas disponíveis para alinhamento múltiplo dependem de árvore guia na escolha dos pares que são alinhados sequencialmente (Lake, 1991; Phillips *et al.*, 2000; Wheeler, 1995, 1996, 2003; Aagesen, 2005). Na expectativa de acomodar buscas de topologias e alinhamento em um único processo computacional, Wheeler (1996) desenvolveu o algoritmo de otimização direta, que elimina um dos passos das análises tradicionais, utilizando sequências desalinhadas na reconstrução de hipóteses filogenéticas resultado do exame concomitante de topologias e alinhamento. Consequentemente, esse método elimina a dependência do alinhamento de uma única árvore guia (gerada frequentemente por algoritmos fenéticos tais como *Neighbor Joining* ou UPGMA) e o tratamento inconsistente de INDELs (inserções/deleções) (Wheeler, 1996; Aagesen, 2005).

Alinhamentos são também dependentes de funções de custo para transversões, transições e INDELs (*e.g.* inserções e/ou deleções). Esses regimes de custo são arbitrários, uma vez que seus valores e/ou razões só podem ser obtidos com base em uma topologia pré-existente (Wheeler, 1995; 1996). Desta forma, a análise sob diferentes regimes de custo se torna crucial em reconstruções filogenéticas para que se possa avaliar a dependência das topologias ou parte delas em relação a parâmetros de alinhamento. Com essa finalidade, é fundamental que diferentes matrizes de custo sejam implementadas para o mesmo conjunto de dados e as topologias resultantes sejam então comparadas para avaliar a estabilidade de clados diante de diferentes parâmetros de alinhamento (*i.e.* análise de sensibilidade; Wheeler, 1995; Giribet, 2001). A avaliação da congruência entre os bancos de dados é feita através do cálculo do ILD (*Incongruence Length Difference*, Mickevich & Farris, 1981) para cada um dos parâmetros de alinhamento implementados na análise, de forma a detectar o regime de custo que minimiza eventos de homoplasia entre as partições (porém veja Aagesen *et al.*, 2005; Dowton & Austin, 2002; Ramirez, 2006).

Análise filogenética em POY

Partições de fragmentos sujeitos a alinhamento (*i.e.*, 28S e ITS-1), bem como a análise simultânea de todos os dados (*i.e.*, 28S, ITS-1 e COI, este último sob homologia estática), foram submetidos à análise cladística utilizando o algoritmo de otimização direta sob o critério de otimização de parcimônia implementado no programa POY versão 4.1.2 (Váron *et al.*, 2009). As análises em POY foram realizadas no *cluster* do Departamento de Zoologia – IB/USP utilizando 16 processadores INTEL® CoreTM 2 Quad - totalizando 64 CPUs com 3.2 GHz. A análise cladística parcial do COI foi efetuada em TNT (Goloboff *et al.*, 2008), no qual a busca da topologia mais parcimoniosa foi obtida após 1000 adições aleatórias, mantendo o máximo de 10 topologias por réplica submetidas ao refinamento pelo algoritmo de TBR.

As análises em POY consideraram vários regimes de custo de alinhamento (*i.e.* custo para *gaps*, transversões e transições), de forma a detectar clados sensíveis a tais funções de custo (análise de sensibilidade *sensu* Wheeler, 1995 e Giribet, 2001). Tradicionalmente, análises de sensibilidade aplicam as mesmas funções de custo a todas as partições incluídas na análise (Wheeler & Hayashi, 1998; Frost *et al.*, 2001, Edgecombe & Giribet, 2009; Giribet, 2001; Giribet & Edgecombe, 2006; Giribet *et al.*, 2001), assumindo implicitamente que a maior congruência de caracteres está neste espaço de parâmetros. Não há evidências empíricas que suportem essa premissa, ao contrário,

sabemos que diferentes regiões do genoma exibem taxas de substituição distintas sugerindo que o mais apropriado, dentro do contexto de análise de sensibilidade, seria aplicar funções de custo distintas para cada marcador incluído na análise; refinando assim o espaço de parâmetros considerado.

Foram adotados 9 parâmetros de alinhamento nos quais os custos de substituição entre transições e transversões variaram na proporção de 1:1, 1:2 e 2:1 e a razão de custo entre INDELs e substituições variaram na proporção de 1:1, 2:1 e 4:1, respectivamente. Adicionalmente, foi implementado o custo de 4xINDELs para *gaps* de abertura (*i.e. affine gaps*) uma vez que a implementação de custos diferenciados para *gap* de abertura parece aumentar empiricamente a congruência de caracteres (Aagesen, 2005). Todas as combinações entre parâmetros e partições foram avaliadas, gerando um espaço de 243 parâmetros de alinhamento (nove parâmetros para 28S e ITS-1 e três parâmetros para COI, uma vez que este último não está sujeito a INDELs).

Para as análises parciais, foram realizadas 400 adições aleatórias (comando: build(400), cada uma mantendo uma única topologia sujeita à refinamento pelo algoritmo TBR (comando: swap()). As buscas foram efetuadas considerando a seguinte sequência de comandos: leitura das partições de 28S e ITS-1 (read()), implementação das funções de custo individuais levando em consideração custos distintos para abertura e extensão de regiões de *gaps* (transform ((names:("*.fas"), tcm:"matriz_de custo"),gap_opening:N)), submissão de dados pré-alinhados de COI e implementação de custo (read(prealigned:("coi.fas",tcm:"matriz_de_custo"))), definição do ponto de enraizamento (set(root:"AF286930_Litobothrium_janovyi")), e busca de topologias pela construção de 120 árvores de Wagner (Wagner, 1961) refinadas pelo algoritmo de TBR (comandos: build(120), swap()), seleção da(s) topologia(s) mais curta(s) (select()) e arquivos de saídas (report()). Exemplo dos *scripts* utilizados tanto nas análises parciais como nas totais pode ser visto no Anexo A.

Após a busca e diagnose para cada parâmetro, a hipótese de trabalho foi escolhida com base

22

na congruência de caracteres expresso pela métrica denominada ILD (*Incongruence Length Difference*, Mickevich & Farris, 1981), dentro do contexto de análise de congruência (*sensu* Wheeler, 1995 e Giribet, 2001). O cálculo de ILD utilizado nesse estudo segue a fórmula determinada por Wheeler & Hayashi (1998), na qual ILD=(custo da análise simultânea - somatória das análises parciais)/custo da análise simultânea). O ILD foi calculado para todos os 243 parâmetros testados e aquele com o menor ILD (combinação de parâmetros que maximiza a congruência entre os diferentes bancos de dados) foi selecionado.

A compilação dos resultados da análise de sensibilidade (*sensu* Wheeler, 1995 e Giribet, 2001) foi realizada com o programa Cladescan (Sanders, 2009) e a edição das árvores foi feita em Figtree v. 1.2.3 (Rembaut, 2007). A topologia contendo comprimento de ramos aproximados foi gerada com o programa PAUP* (Swofford, 2002) após a transformação dos alinhamentos implícitos produzidos em POY em um arquivo no formato NEXUS no qual foi implementada uma aproximação dos regimes de custo utilizados durante as buscas (Anexo B).

Resultados

Análise filogenética

Ao todo, 250 espécimes de *Rhinebothroides* foram submetidos aos protocolos de extração de DNA genômico, dos quais 62 foram selecionados para análise cladística de acordo com o sucesso na obtenção de sequências nucleotídicas para os marcadores contemplados neste estudo. Adicionalmente, 21 terminais foram incluídos na análise como grupo-externo, cujas sequencias foram obtidas dos estudos de Healy (2006) e Reyda (2007). A lista completa de todos os terminais utilizados na análise, bem como sua identificação, hospedeiro, local de coleta e marcadores obtidos está na Tabela 6.

As funções de custo implementadas nos parâmetros de alinhamento, o custo das topologias obtidas para a análise simultânea e as parciais, e os valores de ILD estão expressos na Tabela 7.

Tabela 6. Representatividade genômica, taxonômica, biogeográfica e de hospedeiros das amostras utilizadas neste estudo.

Espécie*	Hospedeiro‡	Localidade	C01	28S£	STI	Voucher§	Cód. mol†
Litoboth winn ian anni	Aloniae superviliosue	2.4.4.4.4.4.4.4.4.4.4.4.4.4.4.4.4.4.4.4		4 1700/010			
	Viup ins supercinosus	INIEX ICO		AF28095U			
Litobothrium amplifica	Alopias pelagicus	México		AF286931			
Rhinebothrium megacanthocephalus	Himantura chaophraya	Rio Kinabatangan, Sabah, Malásia	•	FJ177120		LRP 3901; LRP ####	CH10; CH70
Scalithrium sp.	Dasvatis longus	Golfo da Califórnia. Baja Califórnia. México	•	FJ177133		LRP 3895: LRP ####	CH04. CH75
Rhinebothrium paratrygoni	Potamotrygon falkneri	Rio Salobra. Miranda. MS. Brasil	•	•		MZUSP 6214	, m
Rhinebothrium sp2	Potamotrygon motoro	Rio Salobra, Miranda, MS, Brasil	•			MZUSP 6210	5
Rhinebothrium sp2	Potamotrygon falkneri	Rio Salobra, Miranda, MS, Brasil	•	•		MZUSP 6211	9
Rhinebothrium copianullum	Paratrygon aiereba	Madre de Dios. Boca Manu, Peru		•		MZUSP 5963	15
Rhinebothrium copianullum	Paratrygon aiereba	Madre de Dios. Boca Manu. Peru				MZUSP 5964	16
Rhinebothrium sp1	Paratrygon aiereba	Madre de Dios. Boca Manu, Peru	•	•		MZUSP 5968	17
Rhinebothrium sp1	Paratrygon aiereba	Madre de Dios, Boca Manu, Peru	•	•		MZUSP 5962	18
Rhinebothrium sp1	Paratrygon aiereba	Madre de Dios, Boca Manu, Peru	•	EI177130		LRP 3930	19 (COI)
Rhinebothrium sp1	Paratrygon aiereba	Rio Tocantins, Rio Paranã, Paranã, TO, Brasil	•	•		MZUSP 5973	25
Rhinebothrium sp1	Paratrygon aiereba	Rio Tocantins, Rio Paranã, Paranã, TO, Brasil	•	•		MZUSP 5974	26
Rhinebothrium sp1	Paratrygon aiereba	Rio Araguaia, São Miguel do Araguaia, GO, Brasil	•	•		MZUSP 5976	28
Rhinebothrium sp1	Paratrygon aiereba	Rio Xingú, São Félix do Xingú, PA, Brasil	•	•		MZUSP 5979	31
Rhinebothrium sp1	Potamotrygon leopoldi	Rio Xingú, São Félix do Xingú, PA, Brasil	•	•		MZUSP 5980	32
Rhinebothrium sp3	Paratrygon aiereba	Rio Negro, Barcelos, AM, Brasil	•	•		MZUSP 5972	35
Rhinebothrium sp1	Potamotrygon sp_tpj2	Rio Teles Pires, Apiacás, MT, Brasil	•	•		MZUSP 5958	38
Rhinebothrium sp4	Paratrygon aiereba	Rio Negro, Barcelos, AM, Brasil	•	•		sem voucher	41
Rhinebothrium sp4	Paratrygon aiereba	Rio Negro, Barcelos, AM, Brasil	•	•		MZUSP 6144	42
Rhinebothrium spn	Potamotrygon orbignyi	Baia de Marajó, Rio Arari, Ig. do Urubu, Cahoeira do Arari, PA, Brasil	•	•		MZUSP 6659	R014
Rhinebothrium spn	Potamotrygon orbignyi	Baia de Marajó, Rio Arari, Ig. do Urubu, Cahoeira do Arari, PA, Brasil	•	•		MZUSP 6660	R015
Rhinebothrium spn	Potamotrygon orbignyi	Baia de Marajó, Rio Arari, Ig. do Urubu, Cahoeira do Arari, PA, Brasil	•	•		MZUSP 6661	R016
Rhinebothrium spn	Potamotrygon orbignyi	Baia de Marajó, Rio Arari, Ig. do Urubu, Cahoeira do Arari, PA, Brasil	•	•		MZUSP 6662	R018
Rhinebothrium spn	Potamotrygon orbignyi	Baia de Marajó, Rio Arari, Ig. do Urubu, Cahoeira do Arari, PA, Brasil	•	•		MZUSP 6663	R019
R. scorzai	Potamotrygon sp_marl	Baia de Marajó, Rio Arari, Ig. do Urubu, Cahoeira do Arari, PA, Brasil	•	•	•	MZUSP 6644	R01
R. scorzai	Potamotrygon sp_marl	Baia de Marajó, Rio Arari, Ig. do Urubu, Cahoeira do Arari, PA, Brasil			•	MZUSP 6645	R03
R. scorzai	Potamotrygon sp_marl	Baia de Marajó, Rio Arari, Ig. do Urubu, Cahoeira do Arari, PA, Brasil	•		•	MZUSP 6646	R04
R. scorzai	Potamotrygon sp_marl	Baia de Marajó, Rio Arari, Ig. do Urubu, Cahoeira do Arari, PA, Brasil	•	•	•	MZUSP 6647	R05
R. scorzai	Potamotrygon sp_marl	Baia de Marajó, Rio Arari, Ig. do Urubu, Cahoeira do Arari, PA, Brasil	•	•	•	MZUSP 6648	R06
R. scorzai	Potamotrygon motoro	Baia de Marajó, Rio Arari, Ig. do Urubu, Cahoeira do Arari, PA, Brasil	•	•	•	MZUSP 6649	R07
R. scorzai	Potamotrygon motoro	Baia de Marajó, Rio Arari, Ig. do Urubu, Cahoeira do Arari, PA, Brasil	•	•	•	MZUSP 6650	R08
R. scorzai	Potamotrygon motoro	Baia de Marajó, Rio Arari, Ig. do Urubu, Cahoeira do Arari, PA, Brasil	•	•	•	MZUSP 6651	R09
R. scorzai	Potamotrygon motoro	Baia de Marajó, Rio Arari, Ig. do Urubu, Cahoeira do Arari, PA, Brasil	•	•	•	MZUSP 6652	R012
R. glandularis	Potamotrygon motoro	Rio Purus, Lago Novo, Boca do Acre, AM, Brasil	•	•	•	MZUSP 6670	R030
R. glandularis	Potamotrygon motoro	Rio Purus, Lago Novo, Boca do Acre, AM, Brasil	•	•	•	MZUSP 6671	R031
R. glandularis	Potamotrygon sp_tpj1	Rio Jamanxin, Novo Progresso, PA, Brasil	•	•	•	MZUSP 6672	R035
R. glandularis	Potamotrygon sp_tpj1	Rio Jamanxin, Novo Progresso, PA, Brasil	•	•	•	MZUSP 6673	R036
R. glandularis	Potamotrygon sp_tpj1	Rio Jamanxin, Novo Progresso, PA, Brasil	•	•	•	MZUSP 6674	R046
R. glandularis	Potamotrygon sp_tpj1	Rio Jamanxin, Novo Progresso, PA, Brasil	•	•	•	MZUSP 6675	R047
R. glandularis	Potamotrygon motoro	Rio Solimões, Ilha do Aramaça	•	•	•	MZUSP 6676	R048

* = A identificação dos espécimes com numeração "R" foi feita a partir dos *vouchers* confeccionados para cada espécime. Os nomes usados não representam necessariamente espécies válidas. ‡ = Espécies de hospedeiro ainda em fase de descrição seguem a codificação usada em http://www.ib.usp.br/hpc/ (Marques & Domingues, 2006). § = LRP – *Laurence R. Penner Purasite Collection* da University of Connecticut – Storrs; MZUSP – Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo. † = Código molecular – códigos múltiplos referem-se aos espécimes utilizados para COI e 28S respectivamente. Códigos com numeração iniciada em R indicam seqüências obtidas neste estudo. £ = Sequências obtidas do GenBank aparecem com seus respectivos números de acesso.

Tabela 6. (cont.) Representatividade genômica, taxonômica, biogeográfica e de hospedeiros das amostras utilizadas neste estudo.

R. genetleric Promorygon motor Bes Solutions. The dot Ammerg. Tablingta, AM WX139 6637 R. genetleric Promorygon motor Bes Solutions. The dot Ammerg. Tablingta, AM WX139 663 R. genetleric Promorygon motor Bes Solutions. The dot Ammerg. Tablingta, AM WX139 663 R. genetleric Promorygon motor Bes Solutions. The dot Ammerg. Tablingta, AM WX139 663 R. genetleric Promorygon motor Bes Solutions. The dot Ammerg. Tablingta, AM WX139 663 R. fording Promorygon motor Bes Solutions. The solution of the dot Ammerg. Tablingta, AM WX139 663 R. fording Promorygon actionation Bes Solutions. The solution of the dot Ammergan of the dot Amme	Espécie*	Hospedeiro [‡]	Localidade	50	28S£	STI	Vouchers	Cod. mol7
R. Manuality Distancy for mono- standing Solutions, link of Annuer, Tabulati, AM Solutions, link of Annuer, link and Annuer, Tabulati, AM Solutions, link of Annuer, link and Annuer, Tabulati, AM Solutions, link of Annuer, link and li	R alandularis	Dotamotingon motoro	Rio Solimões Ilha do Aramaca Tahatinga AM				211SP 6677	R049
Galandiaries Prosections Description motion Description Description motion Description motion <thdescriptin< th=""> Descriptin Descript</thdescriptin<>	N. gununum .		$\mathbf{x}_{1} \in \mathbf{y}_{1} = \mathbf{x}_{1} $					
Construction Description Rest of control Rest of control <threst control<="" of="" th=""> Rest of control<td>R. glandularis</td><td>Potamotrygon motoro</td><td>Kio Solimões, Ilha do Aramaça, Tabatinga, AM</td><td>•</td><td>•</td><td>2 •</td><td>AZUSP 66/8</td><td>000</td></threst>	R. glandularis	Potamotrygon motoro	Kio Solimões, Ilha do Aramaça, Tabatinga, AM	•	•	2 •	AZUSP 66/8	000
Concretedenci Commonycor mutori Robindises, Illa do Aramaça, Tabaling, AM MZU39 folse Cyrenal Cyrenal direct Donomycor mutori Robindises, Illa do Aramaça, Tabaling, AM MZU39 folse Cyrenal Cyrenal Donomycor mutori Robindises, Illa do Aramaça, Tabaling, AM MZU39 folse Cyrenal Donomycor mutori Robindises Promonycor mutori Robindises MZU39 folse Cyrenal Donomycor mutori Robindises Promonycor mutori Robindises MZU39 folse Cyrenal Donomycor mutori Robindises Promonycor mutori Robindises MZU39 folse Cyrenal Donomycor mutori Robindises Robindises Robindises MZU39 folse Cyrenal Robindises Promomycor mutori Robindises Robindises RU209 folse Cyrenal Robindises Promomycor mutori Robindises RU209 folse RU209 folse Cyrenal Robindises Promomycor mutori Robindises RU209 folse RU209 folse Cyrenal Robindin Promomycor mutori Robindise <td>R. venezuelensis</td> <td>Potamotrygon motoro</td> <td>Rio Solimões, Ilha do Aramaça, Tabatinga, AM</td> <td>•</td> <td>•</td> <td>2</td> <td>AZUSP 6664</td> <td>R051</td>	R. venezuelensis	Potamotrygon motoro	Rio Solimões, Ilha do Aramaça, Tabatinga, AM	•	•	2	AZUSP 6664	R051
Cyncreacterias Commonycym morons Res Stimutes, Thabail Marcial Marcial Cyntrast Cynanoryson morons Rescues, AM, Baail Marcial Marcial Marcial Cyntrast Commonycon my crienter, in an anno, Novo Regro, Barcelos, AM, Baail Robiner, an anno, Novo Regro, Barcelos, AM, Baail Marcial Mar	R. venezuelensis	Potamotrygon motoro	Rio Solimões, Ilha do Aramaça, Tabatinga, AM			2	VZUSP 5950	R052
Expension Expension <t< td=""><td>R. venezuelensis</td><td>Potamotrygon motoro</td><td>Rio Solimões, Ilha do Aramaça, Tabatinga, AM</td><td></td><td></td><td></td><td>AZUSP 6666</td><td>R053</td></t<>	R. venezuelensis	Potamotrygon motoro	Rio Solimões, Ilha do Aramaça, Tabatinga, AM				AZUSP 6666	R053
Liptund Distant/space Rownlygen wit/moder Rownly	R. freitasi	Potamotrygon sp_tpj1	Rio Jamanxin, Novo Progresso, PA, Brasil	•)		AZUSP 6687	R054
Interfactor Distribution Result MILLSP Form <	R. freitasi	Potamotrygon schroederi	Rio Negro, Barcelos, AM, Brasil	•		2	AZUSP 6688	R077
Distribution Distribution Rest Marcel <	Rhineboth roides sp	Potamotrygon spn (cururu)	Rio Negro, Barcelos, AM, Brasil	•	•	2	AZUSP 6653	R091
<i>frietasi Daumanggan pri (curum)</i> Rosen, Barcal MXL13P 665 Rhinebontraites sp <i>Paumanggan pri (curum)</i> Ros Nagro, Barcelos, AM, Brasil MXL13P 665 Rhinebontraites sp <i>Paumanggan pri (curum)</i> Rosen, Barcelos, AM, Brasil MXL13P 665 Rhinebontraites sp <i>Paumanggan pri (curum)</i> Rosen, Barcelos, AM, Brasil MXL13P 665 Rhinebontraites sp <i>Paumanggan stirracteri</i> Rosen, Barcelos, AM, Brasil MXL13P 665 Referitasi <i>Paumanggan stirracteri</i> Rosen, Barcelos, AM, Brasil MXL13P 665 Referitasi <i>Paumanggan stirracteri</i> Rosen, Barcelos, AM, Brasil MXL13P 667 Referitasi <i>Paumanggan stirracteri</i> Rosen, Barcolo, AM, Brasil MXL13P 667 Referitasi <i>Paumanggan stirracteri</i> Rosen, Manad, MS, Brasil MXL13P 667 Referitasi <i>Paumanggan maturo</i> Ros Saloha, Mirada, MS, Brasil MXL13P 667 Referitasi <i>Paumanggan maturo</i> Ros Saloha, Mirada, MS, Brasil MXL13P 667 Referitasi <i>Paumanggan </i>	Rhineboth roides sp	Potamotrygon spn (cururu)	Rio Negro, Barcelos, AM, Brasil	•	•	2	AZUSP ۶۶۵۴	R092
Dimension Dimension Rest Mail	R. freitasi	Potamotrygon spn (cururu)	Rio Negro, Barcelos, AM, Brasil	•	•	2	AZUSP 6689	R093
Burnobninde sy montanis Potamorygen syn (curran) (curran) Ro Negro, Barcelos, AM, Basal MULLS 6653 Burnobninde sy montanis Potamorygen syn (curran) (curran) Ro Negro, Barcelos, AM, Basal MULLS 6653 Burnobninde sy printis Potamorygen syn (curran) Ro Negro, Barcelos, AM, Basal MULLS 6653 Relation Potamorygen structurin Ro Negro, Barcelos, AM, Basal MULLS 6693 MULLS 6693 Relation Potamorygen structurin Ro Negro, Barcelos, AM, Basal MULLS 6693 MULLS 6693 Relation Potamorygen structurin Ro Negro, Barcelos, AM, Basal MULLS 6693 MULLS 6603 Relation Potamorygen structurin Ro Negro, Barcelos, AM, Basal MULLS 6603 MULLS 6603 Relation Potamorygen structurin Ro Negro, Multan, Baria de Melgaço, MT, Basal MULLS 6603 Relation Potamorygen structurin Ro Solubrit, Mittanal, MS, Barasi MULLS 6603 MULLS 6603 Relation Potamorygen structurin Ro Nuture ou Lego Chá Muriana, Baria de Melgaço, MT, Basal MULLS 6603 Relation Potamorygen structurin Ro Nuture ou Lego Chá Muriana, Baria de Melgaço, MT, Basal MULLS 6603 <td>Rhinebothroides sp</td> <td>Potamotrygon spn (cururu)</td> <td>Rio Negro, Barcelos, AM, Brasil</td> <td>•</td> <td>•</td> <td>2</td> <td>AZUSP 6655</td> <td>R094</td>	Rhinebothroides sp	Potamotrygon spn (cururu)	Rio Negro, Barcelos, AM, Brasil	•	•	2	AZUSP 6655	R094
R Datamany gan (runnu) Rio Negro. Barcelos, AM. Brasil MULUSP 6663 R/interior Potamany gan (runnu) Rio Negro. Barcelos, AM. Brasil MULUSP 6693 R/interior Potamany gan (runnu) Rio Negro. Barcelos, AM. Brasil MULUSP 6693 R/interior Potamany gan schroederi Rio Negro. Barcelos, AM. Brasil MULUSP 6695 R/interior Potamany gan schroederi Rio Negro. Barcelos, AM. Brasil MULUSP 6695 R/interior Potamany gan schroederi Rio Negro. Barcelo, une Rio Negro. Barcelo, une NULUSP 6695 R/interior Potamany gan schroederi Rio Negro. MT. Brasil MULUSP 6695 R/interior Potamany gan schroederi Rio Negro. MT. Brasil MULUSP 6695 R/interior Rio Multun ou Lagoa Chá Mariana, Baraio de Melgaço. MT. Brasil MULUSP 6695 R/interior Rio Multun ou Lagoa Chá Mariana, Baraio de Melgaço. MT. Brasil MULUSP 6695 R/interior Rio Multun ou Lagoa Chá Mariana, Baraio de Melgaço. MT. Brasil MULUSP 6695 R/interior Potamony gan mortor Rio Salobr. Miranda, MS. Brasil MULUSP 6695 R/interior Potamony gan de Melgaço. MT. Brasil	Rhinebothroides sp	Potamotrygon spn (cururu)	Rio Negro, Barcelos, AM, Brasil	•	•	2	AZUSP 6656	R095
Rhindonbrides spPointonyson reflorationRio Negro, Barcelos, AM, BasaiMZUSP 6603R. FrittaiPointonyson schroederiRio Negro, Barcelos, AM, BasaiMZUSP 6603R. eviczatelovaisPointonyson barchynaRio Muum ou Lagoa Chá Mariana, Baráo de Melgaço, MT, BasaiMZUSP 6603R. eviczatelovaisPointonyson parchynaRio Muum ou Lagoa Chá Mariana, Baráo de Melgaço, MT, BasaiMZUSP 6603R. eviczatelovaisPointonyson parchynaRio Muum ou Lagoa Chá Mariana, Baráo de Melgaço, MT, BasaiMZUSP 6603R. FrietaiPointonyson parchynaRio Muum ou Lagoa Chá Mariana, Baráo de Melgaço, MT, BasaiMZUSP 6603R. FrietaiPointonyson parchynaRio Muum ou Lagoa Chá Mariana, Baráo de Melgaço, MT, BasaiMZUSP 6603R. FrietaiPointonyson parchynaRio Muum ou Lagoa Chá Mariana, Baráo de Melgaço, MT, BasaiMZUSP 6603R. FrietaiPointonyson parchynaRio Muum ou Lagoa Chá Mariana, Baráo de Melgaço, MT, BasaiMZUSP 6603R. FrietaiPointonyson parchynaRio Muum ou Lagoa Chá Mariana, Baráo de Melgaço, MT, BasaiMZUSP 6603R. FrietaiPointonyson parchynaRio Muum ou Lagoa Chá Mariana, Baráo de Melgaço, MT, BasaiMZUSP 6603R. Frietai <td>R. moralarai</td> <td>Potamotrygon spn (cururu)</td> <td>Rio Negro, Barcelos, AM, Brasil</td> <td>•</td> <td>•</td> <td>2</td> <td>AZUSP 6657</td> <td>R096</td>	R. moralarai	Potamotrygon spn (cururu)	Rio Negro, Barcelos, AM, Brasil	•	•	2	AZUSP 6657	R096
E freitasiDenomygon schrederiRis Negro. Barcelos. AM. BrasilMZUSP 6603R. FreitasiPoamorygon schrederiRio Negro. Barcelos. AM. BrasilMZUSP 6603R. FreitasiPoamorygon schrederiRio Negro. Barcelos. AM. BrasilMZUSP 6603R. FreitasiPoamorygon schrederiRio Negro. Barcelos. AM. BrasilMZUSP 6603R. StreitasiPoamorygon schrederiRio Negro. Barcelos. AM. BrasilMZUSP 6603R. StreitasiPoamorygon schrederiRio Negro. Barcelos. AM. BrasilMZUSP 6603R. verezetensisPoamorygon schrederiRio Salobra. Miranda, MS. BrasilMZUSP 6603R. FreitasiPoamorygon fallerriRio Salobra. Miranda, MS. BrasilMZUSP 6603R. FreitasiPoamorygon fallerriRio Salobra. Miranda, MS. BrasilMZUSP 6603R. FreitasiPoamorygon fallerriRio Salobra. Miranda, MS. BrasilMZUSP 6603R. FreitasiPoamorygon fadrynaRio Muum ou Lago Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT. BrasilMZUSP 6603R. FreitasiPoamorygon fadrynaRio Muum ou Lago Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT. BrasilMZUSP 6603R. FreitasiPoamorygon fadrynaRio Muum ou Lago Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT. BrasilMZUSP 6603R. FreitasiPoamorygon mooroRio Muum ou Lago Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT. BrasilMZUSP 6603R. FreitasiPoamorygon mooroRio Muum ou Lago Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT. BrasilMZUSP 6603R. FreitasiPoamorygon mooroRio Muum ou Lago Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT. BrasilMZUSP 6603R. Freita	Rhinebothroides sp	Potamotrygon spn (cururu)	Rio Negro, Barcelos, AM, Brasil	•		2	AZUSP 6658	R097
R. frictusi Doumorygen schreederi Rio Neiron Rio Neiron Rio Neiron Microson Microson <th< td=""><td>R. freitasi</td><td>Potamotrygon schroederi</td><td>Rio Negro, Barcelos, AM, Brasil</td><td>•</td><td>•</td><td>2</td><td>AZUSP 6690</td><td>R101</td></th<>	R. freitasi	Potamotrygon schroederi	Rio Negro, Barcelos, AM, Brasil	•	•	2	AZUSP 6690	R101
R. freitasiPotamorrygon schroederiRio Negro, Barcelos, AM, BrasilMZUSP 6693R. freitasiPotamorrygon bruchyuraRio Mutum ou Lagoa Chi Mariana, Barcio de Melgaço, MT, BrasilMZUSP 6693R. freitasiPotamorrygon motoroRio Salobra, Miranda, MS, BrasilMZUSP 6604R. tenezaclensisPotamorrygon motoroRio Salobra, Miranda, MS, BrasilMZUSP 6605R. tenezaclensisPotamorrygon motoroRio Salobra, Miranda, MS, BrasilMZUSP 6605R. tenezaclensisPotamorrygon motoroRio Salobra, Miranda, MS, BrasilMZUSP 6605R. tenezaclensisPotamorrygon fallereriRio Salobra, Miranda, MS, BrasilMZUSP 6605R. tenezaclensisPotamorrygon fallereriRio Salobra, Miranda, MS, BrasilMZUSP 6605R. freitasiPotamorrygon fallereriRio Mutum ou Lagoa Chi Mariana, Baraio de Melgaço, MT, BrasilMZUSP 6605R. freitasiPotamorrygon motoroRio Mutum ou Lagoa Chi Mariana, Baraio de Melgaço, MT, BrasilMZUSP 6605R. freitasiPotamorrygon motoroRio Mutum ou Lagoa Chi Mariana, Baraio de Melgaço, MT, BrasilMZUSP 6605R. freitasiPotamorrygon motoroRio Mutum ou Lagoa Chi Mariana, Baraio de Melgaço, MT, Bras	R. freitasi	Potamotrygon schroederi	Rio Negro, Barcelos, AM, Brasil	•	•	2	AZUSP 6691	R102
K freitati Potamorygon brachyna Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSP 6679 R glandularis Potamorygon motoro Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSP 6669 R venezuelensis Potamorygon motoro Rio Sulohra, Miranda, MS, Brasil MZUSP 669 R venezuelensis Potamorygon motoro Rio Sulohra, Miranda, MS, Brasil MZUSP 669 R freitasi Potamorygon motoro Rio Sulohra, Miranda, MS, Brasil MZUSP 669 R freitasi Potamorygon motoro Rio Sulohra, Miranda, MS, Brasil MZUSP 669 R freitasi Potamorygon fallorri Rio Sulohra, Miranda, MS, Brasil MZUSP 669 R freitasi Potamorygon fallorri Rio Sulohra, Miranda, MS, Brasil MZUSP 669 R freitasi Potamorygon fallorri Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSP 669 R freitasi Potamorygon frachynar Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSP 669 R freitasi Potamorygon motoro Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSP 669 R freitasi Potamorygon motoro Rio Mariana, NS, Brasil	R. freitasi	Potamotrygon schroederi	Rio Negro, Barcelos, AM, Brasil	•	•	2	AZUSP 6692	R103
R. glandularis Potamorygon brachywa Rio Matiana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSF 6667 R. verezedensis Potamorygon motoro Rio Salobra, Miranda, MS, Brasil MZUSF 6668 MZUSF 6669 R. verezedensis Potamorygon motoro Rio Salobra, Miranda, MS, Brasil MZUSF 6669 MZUSF 6669 R. freitasi Potamorygon motoro Rio Salobra, Miranda, MS, Brasil MZUSF 6660 MZUSF 6660 R. freitasi Potamorygon fudberri Rio Salobra, Miranda, MS, Brasil MZUSF 6660 MZUSF 6660 R. freitasi Potamorygon brachywa Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSF 6660 R. freitasi Potamorygon prachywa Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSF 6660 R. freitasi Potamorygon prachyma Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSF 6660 R. freitasi Potamorygon prachyma Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSF 6660 R. freitasi Potamorygon prachyma Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSF 6660 R. freitasi Potamorygon prachyma Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço,	R. freitasi	Potamotrygon brachyura	Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil	•	•	2	AZUSP 6693	R108
R. verezuelensis Potamorrygon motoro Ris Salobra, Miranda, MS. Brasil MZUSF 6665 R. verezuelensis Potamorrygon falberi Ris Salobra, Miranda, MS. Brasil MZUSF 6665 R. freitasi Potamorrygon falberi Ris Salobra, Miranda, MS. Brasil MZUSF 6665 R. freitasi Potamorrygon falberi Ris Salobra, Miranda, MS. Brasil MZUSF 6665 R. freitasi Potamorrygon falberi Ris Salobra, Miranda, MS. Brasil MZUSF 6665 R. freitasi Potamorrygon falberi Ris Salobra, Miranda, MS. Brasil MZUSF 6665 R. freitasi Potamorrygon falberi Ris Matiana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSF 6656 R. freitasi Potamorrygon falberi Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSF 6665 R. freitasi Potamorrygon falberi Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSF 6669 R. freitasi Potamorrygon propinacity Nitranda, Sarail Barail MZUSF 6665 R. glandularis Potamorrygon propinacity Nitranda Barail Barail MZUSF 6665 R. glandularis Potamorrygon propinacity Nitranda Ris Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil	R. glandularis	Potamotrygon brachyura	Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil	•	•	2	AZUSP 6679	R109
R. verezuelensis Potamotrygon motoro Rio Salobra, Miranda, MS, Brasil MZUSP 6696 R. freitasi Potamotrygon fultareri Rio Salobra, Miranda, MS, Brasil MZUSP 6696 R. freitasi Potamotrygon fultareri Rio Salobra, Miranda, MS, Brasil MZUSP 6696 R. freitasi Potamotrygon fultareri Rio Salobra, Miranda, MS, Brasil MZUSP 6696 R. freitasi Potamotrygon brachyura Rio Muum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSP 6696 R. freitasi Potamotrygon brachyura Rio Muum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSP 6669 R. freitasi Potamotrygon brachyura Rio Muum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSP 6669 R. freitari Potamotrygon motoro Rio Muum ou Lago Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSP 6669 R. glandularis Potamotrygon motoro Rio Muum ou Lago Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSP 6669 R. glandularis Potamotrygon motoro Rio Muum ou Lago Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSP 669 R. glandularis Potamotrygon motoro Rio Muum ou Lago Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSP 669 R. glandularis<	R. venezuelensis	Potamotrygon motoro	Rio Salobra, Miranda, MS, Brasil	•	•	2	AZUSP 6667	R116
R. freitasiPotamotrygon falkareriRio Salobra, Miranda, MS. BrasilMZUSP 6603R. freitasiPotamotrygon falkareriRio Salobra, Miranda, MS. BrasilMZUSP 6603R. freitasiPotamotrygon brachyuraRio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT. BrasilMZUSP 6603R. freitasiPotamotrygon brachyuraRio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT. BrasilMZUSP 6603R. freitasiPotamotrygon brachyuraRio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT. BrasilMZUSP 6603R. freitasiPotamotrygon motorRio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT. BrasilMZUSP 6603R. jandularisPotamotrygon motorRio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT. BrasilMZUSP 6603R. jandularisPotamotrygon motorRio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT. BrasilMZUSP 6608R. jandularisPotamotrygon motorRio Purus, Lago Novo, Boca do Acre, AM, BrasilMZUSP 6608R. glandularisPotamotrygon motorRio Purus, Lago Novo, Boca do Acre, AM, BrasilMZUSP 6608R. glandularisPotamotrygon motorRio Purus, Lago Novo, Boca do Acre, AM, BrasilMZUSP 6608R. glandularisPotamotrygon motorRio Teles Pires, AM, BrasilMZUSP 6606R. glandularisPotamotrygon motorRio Teles Pires, AM, BrasilMZUSP 6608R. glandularisPotamotrygon motorRio Teles Pires, AM, BrasilMZUSP 6608R. glandularisPotamotrygon motorRio Teles Pires, AM, BrasilMZUSP 6608R. glandularisPotamotrygon motorRio T	R. venezuelensis	Potamotrygon motoro	Rio Salobra, Miranda, MS, Brasil	•		2	AZUSP 6668	R117
R. freitasiPotamotrygon falkneriRio Salobra, Miranda, MS, BrasilMZUSP 6695R. freitasiPotamotrygon harchyuraRio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, BrasilMZUSP 6695R. glandularisPotamotrygon harchyuraRio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, BrasilMZUSP 6609R. freitasiPotamotrygon harchyuraRio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, BrasilMZUSP 6609R. freitasiPotamotrygon harchyuraRio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, BrasilMZUSP 6669R. freitasiPotamotrygon motoroRio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, BrasilMZUSP 6669R. glandularisPotamotrygon motoroRio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, BrasilMZUSP 6683R. glandularisPotamotrygon motoroRio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, BrasilMZUSP 6683R. glandularisPotamotrygon motoroRio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, BrasilMZUSP 6683R. glandularisPotamotrygon motoroRio Prus, Lago Novo, Boca do Acre, AM, BrasilMZUSP 6683R. glandularisPotamotrygon motoroRio Prus, Lago Novo, Boca do Acre, AM, BrasilMZUSP 6693R. glandularisPotamotrygon motoroRio Teles Pires, Apiads, MT, BrasilMZUSP 6693R. glandularisPotamotrygon motoroRio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6693R. freitasiPotamotrygon motoroRio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6693R. freitasiPotamotrygon p_loc2Rio Tocantins, co	R. freitasi	Potamotrygon falkneri	Rio Salobra, Miranda, MS, Brasil	•		2	AZUSP 6694	R_{11A}
R. freitasi Potamorygon brachyura Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSP 6690 R. glandularis Potamorygon brachyura Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSP 6680 R. glandularis Potamorygon brachyura Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSP 6680 R. glandularis Potamorygon motro Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSP 6681 Ribinebohtmides sp Potamorygon motro Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSP 6683 R. glandularis Potamorygon motro Rio Mutum ou Lago Chá Mariana, Baráo de Melgaço, MT, Brasil MZUSP 6683 R. glandularis Potamorygon motro Rio Manuel Alves, Ibrasil MZUSP 6683 MZUSP 6683 R. glandularis Potamorygon motro Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil MZUSP 6683 MZUSP 6664 R. freitasi Potamorygon motro Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil MZUSP 6663 MZUSP 6697 R. freitasi Potamorygon motro Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil MZUSP 6697 MZUSP 6696 R. freitasi Potamorygon motro Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil MZUSP 6700 MZUSP 66702	R. freitasi	Potamotrygon falkneri	Rio Salobra, Miranda, MS, Brasil	•	•	2	AZUSP 6695	R119
R. glandularis Potamotrygon brachyura Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSP 6680 R. freitasi Potamotrygon brachyura Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSP 6680 R. freitasi Potamotrygon motoro Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSP 6683 R. glandularis Potamotrygon motoro Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil MZUSP 6683 R. glandularis Potamotrygon motoro Rio Jamanxin, Novo Progresso, PA, Brasil MZUSP 6683 MZUSP 6683 R. freitasi Potamotrygon motoro Rio Jamanxin, Novo Boca do Acre, AM, Brasil MZUSP 6683 MZUSP 6683 R. freitasi Potamotrygon motoro Rio Purus, Lago Novo, Boca do Acre, AM, Brasil MZUSP 6683 MZUSP 6683 R. freitasi Potamotrygon motoro Rio Purus, Lago Novo, Boca do Acre, AM, Brasil MZUSP 6693 MZUSP 6693 R. freitasi Potamotrygon motoro Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil MZUSP 6603 R. freitasi Potamotrygon motoro Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil MZUSP 6701 R. freitasi Potamotrygon motoro Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil </td <td>R. freitasi</td> <td>Potamotrygon brachyura</td> <td>Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil</td> <td>•</td> <td>•</td> <td>2</td> <td>AZUSP 6696</td> <td>R121</td>	R. freitasi	Potamotrygon brachyura	Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil	•	•	2	AZUSP 6696	R121
R. freitasiPotamotrygon brachyuraRio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, BrasilMZUSP 6697R. freitasiPotamotrygon motoroRio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, BrasilMZUSP 6683R. glandularisPotamotrygon motoroRio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, BrasilMZUSP 6683R. glandularisPotamotrygon motoroRio Mutum ou Lagoa Co Acre, AM, BrasilMZUSP 6683R. glandularisPotamotrygon motoroRio Purus, Lago Novo, Boca do Acre, AM, BrasilMZUSP 6683R. freitasiPotamotrygon motoroRio Purus, Lago Novo, Boca do Acre, AM, BrasilMZUSP 6683R. freitasiPotamotrygon motoroRio Purus, Lago Novo, Boca do Acre, AM, BrasilMZUSP 6683R. freitasiPotamotrygon motoroRio Teles Prices, Apiacás, MT, BrasilMZUSP 6685R. freitasiPotamotrygon motoroRio Teles Prices, Apiacás, MT, BrasilMZUSP 6685R. freitasiPotamotrygon motoroRio Teles Prices, Apiacás, MT, BrasilMZUSP 6685R. freitasiPotamotrygon motoroRio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6700R. freitasiPotamotrygon motogon motoroRio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6700R. freitasiPotamotrygon motogon motogon motogon motogon motogonRio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6700R. freitasiPotamotrygon motogon motogon motogon motogon motogon motogon motogon motogonRio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6700R. freitasiPotamotrygon motogo	R. glandularis	Potamotrygon brachyura	Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil	•	•	2	AZUSP 6680	RITT
Rhinebothroides spPotamotrygon motoroRio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, BrasilMZUSP 6660R. glandularisPotamotrygon sp_pijRio Jamaxin, Novo Progresso, PA, BrasilMZUSP 66681R. glandularisPotamotrygon motoroRio Purus, Lago Novo, Boca do Acre, AM, BrasilMZUSP 66683R. glandularisPotamotrygon motoroRio Purus, Lago Novo, Boca do Acre, AM, BrasilMZUSP 6668R. glandularisPotamotrygon motoroRio Purus, Lago Novo, Boca do Acre, AM, BrasilMZUSP 6668R. glandularisPotamotrygon ppljRio Teles Pires, Apiacás, MT, BrasilMZUSP 6668R. freitasiPotamotrygon poc2Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6668R. freitasiPotamotrygon poc2Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6665R. freitasiPotamotrygon poc2Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6700R. freitasiPotamotrygon poc2Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6700R. freitasiPotamotrygon poc2Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6700R. freitasiPotamotrygon poc2Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6700R. freitasiPotamotrygon poc2Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6700R. freitasiPotamotrygon poc2Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6700R. freitasiPotamotrygon poc2 <t< td=""><td>R. freitasi</td><td>Potamotrygon brachyura</td><td>Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil</td><td>•</td><td>•</td><td>2</td><td>AZUSP 6697</td><td>R123</td></t<>	R. freitasi	Potamotrygon brachyura	Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil	•	•	2	AZUSP 6697	R123
R. glandularisPotamotrygon sp_pjlRio Jamanxin, Novo Progresso, PA, BrasilMZUSP 6681R. glandularisPotamotrygon motoroRio Purus, Lago Novo, Boca do Acre, AM, BrasilMZUSP 6683R. glandularisPotamotrygon motoroRio Purus, Lago Novo, Boca do Acre, AM, BrasilMZUSP 6683R. freitasiPotamotrygon motoroRio Purus, Lago Novo, Boca do Acre, AM, BrasilMZUSP 6683R. freitasiPotamotrygon sp_pjlRio Teles Pires, Apiacás, MT, BrasilMZUSP 6683R. freitasiPotamotrygon sp_pilRio Teles Pires, Apiacás, MT, BrasilMZUSP 6683R. glandularisPotamotrygon sp_pilRio Teles Pires, AniasilMZUSP 6683R. glandularisPotamotrygon sp_poc2Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipuerias, TO, BrasilMZUSP 6683R. freitasiPotamotrygon sp_for2Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipuerias, TO, BrasilMZUSP 6700R. freitasiPotamotrygon sp_for2Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipuerias, TO, BrasilMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon sp_for2Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipuerias, TO, BrasilMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon sp_for2Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipuerias, TO, BrasilMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon sp_for2Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipuerias, TO, BrasilMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon sp_for2Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipuerias, TO, BrasilMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon sp_for2Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipuerias, TO, Brasi	Rhineboth roides sp	Potamotrygon motoro	Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana, Barão de Melgaço, MT, Brasil	•	•	2	AZUSP 6669	R129
R. glandularisPotamotrygon motoroRio Purus, Lago Novo, Boca do Acre, AM, BrasilMZUSP 6682R. glandularisPotamotrygon motoroRio Purus, Lago Novo, Boca do Acre, AM, BrasilMZUSP 6683R. freitasiPotamotrygon sp_pilRio Teles Pires, Apiacás, MT, BrasilMZUSP 6683R. freitasiPotamotrygon sp_pilRio Teles Pires, Apiacás, MT, BrasilMZUSP 6683R. glandularisPotamotrygon sp_toc2Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6683R. glandularisPotamotrygon sp_toc2Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6685R. glandularisPotamotrygon scobinaRio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6700R. freitasiPotamotrygon scobinaRio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6700R. freitasiPotamotrygon scobinaRio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon scobinaRio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon scobinaRio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon scobinaRio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon sp_toc2Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon sp_toc2Rio Tocantins, conf. do Ringú, São Félix do Xingú,	R. glandularis	Potamotrygon sp_tpjl	Rio Jamanxin, Novo Progresso, PA, Brasil	•	•	2	AZUSP 6681	R186
R. glandularisPotamotrygon motoroRio Purus, Lago Novo, Boca do Acre, AM, BrasilMZUSP 6683R. freitasiPotamotrygon $y_{-1}pc2$ Rio Teles Pires, Apiacás, MT, BrasilMZUSP 6683MZUSP 6683R. glandularisPotamotrygon $y_{-1}pc2$ Rio Tecantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6686R. glandularisPotamotrygon $y_{-1}pc2$ Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6686R. grandularisPotamotrygon $y_{-1}pc2$ Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6700R. freitasiPotamotrygon $y_{-1}pc2$ Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6700R. freitasiPotamotrygon $y_{-1}pc2$ Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6700R. freitasiPotamotrygon $y_{-1}pc2$ Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon $y_{-1}pc2$ Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon $y_{-1}pc2$ Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon $y_{-1}pc2$ Rio Tocantins, conf. do Ringú, São Félix do Xingú, São Félix do Xingú, São Félix do Xingú, Sao Félix do Xingú, Sao Félix do Xingú, Sao Félix do Xingú, PasilMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon leopoldiRio Xingú, São Félix do Xingú, PasilMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon neopoldiRio Xingú, São Félix do Xingú, São Félix do Xingú, São Félix do Xingú, Sáo Félix do Xingú, PasilM	R. glandularis	Potamotrygon motoro	Rio Purus, Lago Novo, Boca do Acre, AM, Brasil	•	•	2	AZUSP 6682	R199
R. freitasiPotamotrygon $y_{-}pjl$ Rio Teles Pires, Apiacás, MT, BrasilMZUSP 6698R. glandularisPotamotrygon y_{-loc2} Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6684R. glandularisPotamotrygon y_{-loc2} Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6685R. freitasiPotamotrygon orbignyiRio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6700R. freitasiPotamotrygon y_{-loc2} Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6700R. freitasiPotamotrygon y_{-loc2} Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6701R. freitasiPotamotrygon y_{-loc2} Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon y_{-loc2} Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon y_{-loc2} Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon y_{-loc2} Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon y_{-loc2} Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon y_{-loc2} Rio Tocantins, conf. do Ringú, São Félix do Xingú, São Félix do Xingú, São Félix do Xingú, Sáo Félix do Xingú, Pa, BrasilMZUSP 6703R. freitasiPotamotrygon leopoldiRio Xingú, São Félix do Xingú, Pa, BrasilMZUSP 6703R. freitasiPotamotrygon motoro <td>R. glandularis</td> <td>Potamotrygon motoro</td> <td>Rio Purus, Lago Novo, Boca do Acre, AM, Brasil</td> <td>•</td> <td>•</td> <td>2</td> <td>AZUSP 6683</td> <td>R201</td>	R. glandularis	Potamotrygon motoro	Rio Purus, Lago Novo, Boca do Acre, AM, Brasil	•	•	2	AZUSP 6683	R201
R. glandularisPotamotrygon y_{-loc2} Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6684R. glandularisPotamotrygon orbignyiRio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6700R. freitasiPotamotrygon orbignyiRio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6700R. freitasiPotamotrygon scobinaRio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6700R. freitasiPotamotrygon y_{-loc2} Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6701R. freitasiPotamotrygon y_{-loc2} Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon y_{-loc2} Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon y_{-loc2} Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon y_{-loc2} Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon y_{-loc2} Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6693R. freitasiPotamotrygon leopoldiRio Xingú, São Félix do Xingú, PA, BrasilMZUSP 6693R. freitasiPotamotrygon neopoldiRio Nerro, Barselas AM BrasilMZUSP 6703R. freitasiPotamotrygon motoroRio Nerro, BarselasMZUSP 74, FotasilR. freitasiPotamotrygon motoroRarselasMZUSP 74, Fotasil	R. freitasi	Potamotrygon sp_tpjl	Rio Teles Pires, Apiacás, MT, Brasil	•	•	2	AZUSP 6698	R209
R. glandularis Potamotrygon orbignyi Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil MZUSP 6685 R. freitasi Potamotrygon scobina Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil MZUSP 6700 R. freitasi Potamotrygon scobina Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil MZUSP 6700 R. freitasi Potamotrygon scobina Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil MZUSP 6701 R. freitasi Potamotrygon sp_toc2 Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil MZUSP 6702 R. freitasi Potamotrygon sp_toc2 Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil MZUSP 6702 R. freitasi Potamotrygon sp_toc2 Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil MZUSP 6703 R. glandularis Potamotrygon sp_toc2 Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil MZUSP 6703 R. freitasi Potamotrygon leopoldi Rio Xingú, São Félix do Xingú, PA, Brasil MZUSP 6703 MZUSP 6603 R. freitasi Potamotrygon leopoldi Rio Xingú, São Félix do Xingú, PA, Brasil MZUSP 6603 MZUSP 6603 R. freitasi Potamotrygon leopoldi Rio Xingú, São Félix do Xingú, PA, Brasil MZUSP 6603	R. glandularis	Potamotrygon sp_toc2	Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil	•		2	AZUSP 6684	R237
R. freitasiPotamotrygon scobinaRio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMMZUSP 6700R. freitasiPotamotrygon sp_toc2Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMMZUSP 6701R. freitasiPotamotrygon sp_toc2Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon sp_toc2Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6702R. glandularisPotamotrygon sp_toc2Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6702R. freitasiPotamotrygon sp_toc2Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, BrasilMZUSP 6703R. freitasiPotamotrygon neopoldiRio Xingú, São Félix do Xingú, PA, BrasilMZUSP 6703R. freitasiPotamotrygon leopoldiRio Xingú, PA, BrasilMZUSP 6703R. freitasiPotamotrygon leopoldiRio Xingú, PA, BrasilMZUSP 6703R. freitasiPotamotrygon neopoldiRio Nevro Barcelas AM BrasilMZUSP 6703R. freitasiPotamotrygon motoroRio Nevro Barcelas AM BrasilMZUSP 6703	R. glandularis	Potamotrygon orbignyi	Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil	•		2	AZUSP 6685	R238
R. freitasi Potamotrygon sp_loc2 Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil M M MZUSP 6701 R. freitasi Potamotrygon sp_loc2 Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil M M MZUSP 6702 R. glandularis Potamotrygon sp_loc2 Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil M M MZUSP 6702 R. glandularis Potamotrygon sp_loc2 Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil M MZUSP 6703 R. freitasi Potamotrygon leopoldi Rio Xingú, São Félix do Xingú, PA, Brasil M MZUSP 6703 R. freitasi Potamotrygon leopoldi Rio Xingú, PA, Brasil M M MZUSP 6703 R. freitasi Potamotrygon leopoldi Rio Xingú, PA, Brasil M M MZUSP 6699 R. freitasi Potamotrygon neopoldi Rio Xingú, PA, Brasil M M MZUSP 6699	R. freitasi	Potamotrygon scobina	Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil	•	•	2	AZUSP 6700	R239
R. freitasi Potamotrygon yp_loc2 Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil M M MZUSP 6702 R. glandularis Potamotrygon yp_loc2 Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil M MZUSP 6703 R. glandularis Potamotrygon yp_loc2 Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil M MZUSP 6703 R. freitasi Potamotrygon leopoldi Rio Xingú, São Félix do Xingú, PA, Brasil M MZUSP 6703 R. freitasi Potamotrygon leopoldi Rio Xingú, São Félix do Xingú, PA, Brasil M MZUSP 6703 R. freitasi Potamotrygon leopoldi Rio Xingú, São Félix do Xingú, PA, Brasil M MZUSP 6699 R. freitasi Potamotrygon leopoldi Rio Xingú, PA, Brasil M MZUSP 6699	R. freitasi	Potamotrygon sp_toc2	Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil	•	•	2	AZUSP 6701	R241
R. glandularis Potamotrygon sp_toc2 Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil MZUSP \$7AF R. glandularis Potamotrygon leopoldi Rio Xingú, São Félix do Xingú, PA, Brasil MZUSP 6703 R. freitasi Potamotrygon leopoldi Rio Xingú, São Félix do Xingú, PA, Brasil MZUSP 669 R. freitasi Potamotrygon leopoldi Rio Xingú, São Félix do Xingú, PA, Brasil MZUSP 669 R. freitasi Potamotrygon leopoldi Rio Xingú, São Félix do Xingú, PA, Brasil MZUSP 669 R. freitasi Potamotrygon leopoldi Rio Xingú, São Félix do Xingú, PA, Brasil MZUSP 670	R. freitasi	Potamotrygon sp_toc2	Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil	•	•	2	AZUSP 6702	R242
R. freitasi Potamotrygon leopoldi Rio Xingú, São Félix do Xingú, PA, Brasil M M MZUSP 6703 R. freitasi Potamotrygon leopoldi Rio Xingú, São Félix do Xingú, PA, Brasil M MZUSP 6699 Rhinebothroides so Potamotrygon motoro Rio Neuro Barrelos AM Brasil M MZUSP 6699	R. glandularis	Potamotrygon sp_toc2	Rio Tocantins, conf. do Rio Manuel Alves, Ipueiras, TO, Brasil	•		2	AZUSP チタハチ	R243
R. freitasi Potamotrygon leopoldi Rio Xingú, São Félix do Xingú, PA, Brasil O O A MZUSP 6699 Rhinebothroides so Potamotrygon motoro Rio Neuro Barrelos AM Brasil	R. freitasi	Potamotrygon leopoldi	Rio Xingú, São Félix do Xingú, PA, Brasil	•	•	2	AZUSP 6703	R245
Rhinebothroides so Potamotrygon motoro Ric Nearo Barcelos AM Brasil	R. freitasi	Potamotrygon leopoldi	Rio Xingú, São Félix do Xingú, PA, Brasil	•	•	2	AZUSP 6699	R247
	Rhinebothroides sp	Potamotrygon motoro	Rio Negro, Barcelos, AM, Brasil	•	•	2	AZUSP ۶۷・۴	R249
Rhinebothroides sp Potamotrygon motoro Rio Negro, Barcelos, AM, Brasil \bullet MZUSP 6705	Rhinebothroides sp	Potamotrygon motoro	Rio Negro, Barcelos, AM, Brasil	•	•	2 •	AZUSP 6705	R250

* = A identificação dos espécimes com numeração "R" foi feita a partir dos *vouchers* confeccionados para cada espécime. Os nomes usados não representam necessariamente espécies válidas. ‡ = Espécies de hospedeiro ainda em fase de descrição seguem a codificação usada em http://www.ib.usp.br/hpc/ (Marques & Domingues, 2006). § = LRP – *Laurence R. Penner Parasite Collection* da University of Connecticut – Storrs; MZUSP – Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo. † = Código molecular – códigos múltiplos referem-se aos espécimes utilizados para COI e 28S respectivamente. Códigos com numeração iniciada em R indicam seqüências obtidas neste estudo. £ = Sequências obtidas do GenBank aparecem com seus respectivos números de acesso.

Parâmetro	ITS-1	parcial ITS-1	28S	parcial 28S	CO1	parcial CO1	∑ parciais	Total	ILD
1	m۱۱۱	381	m111	644	m111	878	1903	1947	0.02260
2	m111	381	m۱۱۱	644	m112	1375	2400	2452	0.02121
3	m111	381	m111	644	m121	1203	2228	2280	0.02281
4	m111	381	m112	3111	m111	878	2373	2503	0.05194
5	m111	381	m112	1114	m112	1375	2870	3010	0.04651
6	m111	381	m112	1114	m121	1203	2287	2837	0.04900
7	m111	381	m121	986	m111	878	2245	2370	0.05274
8	m111	381	m121	986	m112	1375	2742	2872	0.04526
٩	m111	381	m121	986	m121	1203	2570	2705	0.04991
10	m111	381	m211	836	m111	878	2095	2220	0.05631
11	m111	381	m۲ ነ ነ	836	m112	1375	2592	2728	0.04985
12	m111	381	m211	836	m121	1203	2420	2556	0.05321
13	m111	381	m212	1466	m111	٨٧٨	2725	2995	0.09015
14	m111	381	m212	1466	m112	1375	3222	3503	0.08022
15	m111	381	m212	1466	m121	1203	3050	3333	۰.۰۸٤۹۱
16	m111	381	m221	1354	m111	878	2613	2882	0.09334
17	m111	381	m221	1354	m112	1375	3110	3391	0.08287
18	m111	۳۸۱	m221	1354	m121	1203	2938	3218	0.08701
19	m111	381	m411	1165	m111	878	2424	2689	0.09855
20	m111	381	m411	1170	m112	1375	2921	3198	0.08662
21	m111	381	m411	1165	m121	1203	2749	3026	0.09154
22	m111	381	m412	2069	m111	878	۳۳۲۸	3861	0.13805
23	m111	381	m412	2069	m112	1375	3825	4371	0.12491
24	m111	381	m412	2069	m121	1203	3653	4199	0.13003
۲٥	m111	381	m421	2001	m111	878	3260	3799	0.14188
26	m111	381	m421	2001	m112	1375	3757	4311	0.12851
27	m111	381	۳٤۲۱	2001	m121	1203	3585	4135	0.13301
28	m112	682	m111	644	m111	878	2204	2173	-0.01427
29	m112	682	m111	644	m117	1375	2701	2679	-0.00821
30	m112	682	m111	644	m121	1203	2529	2506	-0.00918
31	m112	682	m112	1114	m111	878	2674	۲۷۳۳	0.02159
32	m112	682	m112	1114	m112	1375	3171	3241	0.02160
33	m112	682	m112	1114	m121	1203	2999	3069	0.02281
34	m	682	m121	986	m111	8/8	2546	2601	0.02115
35	m112	682	m121	986	m112	1375	3043	3106	0.02028
36	m112	682	m121	981	m121	1203	2871	2937	0.02247
37	m112	682	m211	830	m111	8/8	2396	2449	0.02164
38	m112	082	m211	830	m112	13/5	F A 4 F	2958	0.02197
39	m112	082	m211	830	m121	1203	2721	2/80	0.02333
40	m112	002	m212	1400	m112	0/0	3020	5227 7777	0.00229
40	m112	602	m212	1400	m121	1202	2222	2565	0.03727
42	m112	682	m221	1354	m111	279	2014	2115	0.00003
45	m112	682	m221	1354	m112	1375	2914	3628	0.00455
44	m112	682	m221	1254	m121	14.m T010	3330	3452	0.05901
45	m112	682	m411	1165	m111	878	2725	2924	0.06806
40	m112	682	m411	1165	m112	1375	3222	3434	
48	m112	682	m411	1165	m121	1203	3050	3261	0.06470
49	m112	682	m412	2069	m111	878	3629	4097	0.11423
50	m112	747	m412	2069	m112	1375	4126	4609	0.10479
51	m112	682	m412	2069	m121	1203	3954	4435	0.10846
52	m112	682	m421	2001	m) \ \	878	3561	4034	0.11725
53	m112	682	m421	2001	m112	1375	4058	4547	0.10754
54	m112	682	m421	2001	m121	1203	3886	٤٣٧١	0.11096
55	m121	653	m111	644	m111	878	2175	2136	-0.01826
56	m121	653	m111	644	m112	1375	2672	2641	-0.01174
57	m۱۲۱	653	m111	644	m121	1203	2500	2472	-0.01133
58	m121	653	m112	1114	m111	878	2645	2701	0.02073
59	m121	653	m112	3111	m112	1375	3142	3207	0.02027
60	m121	653	m112	1114	m121	1203	2970	3037	0.02206
61	m121	653	m121	986	m111	878	401V	2567	0.01948

Tabela 7. Resultado da análise de congruência: parâmetros, custos relativos de alinhamento, comprimento de topologias parciais e totais e valores de ILD. Parâmetro em cinza exibe o menor ILD.

Parâmetro	ITS-1	parcial ITS-1	28S	parcial 28S	CO1	parcial CO1	∑ parciais	Total	ILD
62	m121	653	m121	986	m112	1375	3014	3070	0.01824
63	m121	653	m121	986	m121	1203	2842	2904	0.02135
64	m121	653	m211	836	m111	878	2367	2421	0.02230
65	m121	653	m211	836	m112	1375	2864	2926	0.02119
66	m121	653	m211	836	m121	1203	2692	2758	0.02393
67	m121	653	m212	1466	m111	878	2997	3206	0.06519
68	m121	653	m212	1466	m112	1375	3494	3716	0.05974
69	m121	653	m212	1466	m121	1203	3322	3544	0.06264
70	m121	653	m221	1354	m111	878	2885	3095	0.06785
71	m121	653	m221	1354	m112	1375	3382	3602	0.06108
72	m121	653	m221	1354	m121	1203	3210	3433	0.06496
73	m121	653	m411	1165	m111	878	2696	2900	0.07034
74	m121	653	m411	1165	m112	1375	3193	3409	0.06336
75	m121	653	m411	1165	m121	1203	3021	3238	0.06702
76	m121	653	m412	2069	m111	878	3600	4081	0.11786
77	m121	653	m412	2069	m112	1375	4097	4589	0.10721
78	m121	653	m412	2069	m121	1203	3925	4419	0.11179
79	m121	653	m421	2001	m111	878	3532	4012	0.11964
80	m121	653	m421	2001	m112	1375	4029	4519	0.10843
81	m121	653	m421	2001	m121	1203	3857	4352	0.11374
82	m211	576	m111	644	m111	878	2098	2066	-0.01549
83	m211	576	m111	644	m112	1375	2595	2571	-0.00933
84	m211	576	m111	644	m121	1203	2423	2398	-0.01043
85	m211	576	m112	1114	m111	878	2568	2623	0.02097
86	m211	576	m112	1114	m112	1375	3065	3129	0.02045
87	m211	576	m112	1114	m121	1203	2893	2957	0.02164
88	m211	576	m121	986	m111	878	2440	2489	0.01969
89	m211	576	m121	986	m112	1375	2937	2991	0.01805
90	m211	576	m121	986	m121	1203	2765	2824	0.02089
91	m211	576	m211	836	m111	878	2290	2339	0.02095
92	m211	576	m211	836	m112	1375	2787	2847	0.02107
93	m211	576	m211	836	m121	1203	2615	2675	0.02243
94	m211	576	m212	1466	m111	878	2920	3115	0.06260
95	m211	576	m212	1466	m112	1375	3417	3623	0.05686
96	m211	576	m212	1466	m121	1203	3245	3453	0.06024
97	m211	576	m221	1354	m111	878	2808	3002	0.06462
98	m211	576	m221	1354	m112	1375	3305	3514	0.05948
99	m211	576	m221	1354	m121	1203	3133	3338	0.06141
100	m211	576	m411	1165	m111	878	2619	2809	0.06764
101	m211	576	m411	1165	m112	1375	3116	3318	0.06088
102	m211	576	m411	1165	m121	1203	2944	3146	0.06421
103	m211	576	m412	2069	m111	878	3523	3981	0.11505
104	m211	576	m412	2069	m112	1375	4020	4491	0.10488
105	m211	576	m412	2069	m121	1203	3848	4319	0.10905
106	m211	576	m421	2001	m111	878	3455	3920	0.11862
107	m211	576	m421	2001	m112	1375	3952	4431	0.10810
108	m211	576	m421	2001	m121	1203	3780	4255	0.11163
109	m212	1055	m111	644	m111	878	2577	2408	-0.07018
110	m212	1055	m111	644	m112	1375	3074	2915	-0.05455
111	m212	1055	m111	644	m121	1203	2902	2742	-0.05835
112	m212	1055	m112	1114	m111	878	3047	2974	-0.02455
113	m212	1055	m112	1114	m112	1375	3544	3482	-0.01781
114	m212	1055	m112	1114	m121	1203	3372	3311	-0.01842
115	m212	1055	m121	986	m111	878	2919	2841	-0.02746
116	m212	1055	m121	986	m112	1375	3416	3345	-0.02123
117	m212	1055	m121	986	m121	1203	3244	3179	-0.02045
118	m212	1055	m211	836	m111	878	2769	2690	-0.02937
119	m212	1055	m211	836	m112	1375	3266	3199	-0.02094
120	m212	1055	m211	836	m121	1203	3094	3027	-0.02213
121	m212	1055	m212	1466	m111	878	3399	3465	0.01905
122	m212	1055	m212	1466	m112	1375	3896	3975	0.01987
123	m212	1055	m212	1466	m121	1203	3724	3803	0.02077

Tabela 7. (cont.) Resultado da análise de congruência: parâmetros, custos relativos de alinhamento, comprimento de topologias parciais e totais e valores de ILD. Parâmetro em cinza exibe o menor ILD.
Parâmetro	ITS-1	parcial ITS-1	28S	parcial 28S	CO1	parcial CO1	∑ parciais	Total	ILD
124	m212	1055	m221	1354	m111	878	3287	3353	0.01968
125	m212	1055	m221	1354	m112	1375	3784	3866	0.02121
126	m212	1055	m221	1354	m121	1203	3612	3690	0.02114
127	m212	1055	m411	1165	m111	878	3098	3164	0.02086
128	m212	1055	m411	1165	m112	1375	3595	3672	0.02097
129	m212	1055	m411	1165	m121	1203	3423	3501	0.02228
130	m212	1055	m412	2069	m111	878	4002	4337	0.07724
131	m212	1055	m412	2069	m112	1375	4499	4847	0.07180
132	m212	1055	m412	2069	m121	1203	4327	4675	0.07444
133	m212	1055	m421	2001	m111	878	3934	4272	0.07912
134	m212	1055	m421	2001	m112	1375	4431	4785	0.07398
135	m212	1055	m421	2001	m121	1203	4259	4609	0.07594
136	m221	1038	m111	644	m111	878	2560	2376	-0.07744
137	m221	1038	m111	644	m112	1375	3057	2881	-0.06109
138	m221	1038	m111	644	m121	1203	2885	2712	-0.06379
139	m221	1038	m112	1114	m111	878	3030	2940	-0.03061
140	m221	1038	m112	1114	m112	1375	3527	3446	-0.02351
141	m221	1038	m112	1114	m121	1203	3355	3276	-0.02411
142	m221	1038	m121	986	m111	878	2902	2809	-0.03311
143	m221	1038	m121	986	m112	1375	3399	3312	-0.02627
144	m221	1038	m121	986	m121	1203	3227	3146	-0.02575
145	m221	1038	m211	836	m111	878	2752	2660	-0.03459
146	m221	1038	m211	836	m112	1375	3249	3167	-0.02589
147	m221	1038	m211	836	m121	1203	3077	2996	-0.02704
148	m221	1038	m212	1466	m111	878	3382	3444	0.01800
149	m221	1038	m212	1466	m112	1375	3879	3954	0.01897
150	m221	1038	m212	1466	m121	1203	3707	3782	0.01983
151	m221	1038	m221	1354	m111	878	3270	3333	0.01890
152	m221	1038	m221	1354	m112	1375	3767	3840	0.01901
153	m221	1038	m221	1354	m121	1203	3595	3670	0.02044
154	m221	1038	m411	1165	m111	878	3081	3138	0.01816
155	m221	1038	m411	1165	m112	1375	3578	3647	0.01892
156	m221	1038	m411	1165	m121	1203	3406	3476	0.02014
157	m221	1038	m412	2069	m111	878	3985	4322	0.07797
158	m221	1038	m412	2069	m112	1375	4482	4829	0.07186
159	m221	1038	m412	2069	m121	1203	4310	4659	0.07491
160	m221	1038	m421	2001	m111	878	3917	4253	0.07900
161	m221	1038	m421	2001	m112	1375	4414	4759	0.07249
162	m221	1038	m421	2001	m121	1203	4242	4592	0.07622
163	m411	947	m111	644	m111	878	2469	2303	-0.07208
164	m411	947	m111	644	m112	1375	2966	2808	-0.05627
165	m411	947	m111	644	m121	1203	2794	2635	-0.06034
166	m411	947	m112	1114	m111	878	2939	2861	-0.02726
167	m411	947	m112	1114	m112	1375	3436	3367	-0.02049
168	m411	947	m112	1114	m121	1203	3264	3195	-0.02160
169	m411	947	m121	986	m111	878	2811	2731	-0.02929
170	m411	947	m121	986	m112	1375	3308	3233	-0.02320
1/1	m411	947	m121	986	m121	1203	3136	3065	-0.02316
172	m411	947	m211	836	m111	8/8	2661	2577	-0.03260
1/3	m411	947	m211	836	m112	1375	3158	3087	-0.02300
1/4	m411	947	m211	836	m121	1203	2986	2913	-0.02506
1/5	m411	947	m212	1466	m111	8/8	3291	3352	0.01820
170	m411	947	m212	1466	m112	13/5	3788	3860	0.01865
170	m411	947	m212	1466	m121	1203	3010	3688	0.01952
1/8	m411	947	m221	1354	m111	8/8	31/9	3238	0.01822
1/9	m411	94/	m221	1354	m112	13/5	36/6	3/51	0.01999
180	m411	947	m221	1354	m121	1203	3504	35/4	0.01959
181	m411	947	m411	1105	mill	8/8	2990	3048	0.01903
182	m411	947	m411	1165	m112	13/5	348/	355/	0.01968
183	m411	947	m411	1102	m121	1203	3315	3384	0.02039
184	m411	94/	m412	2069	m111	8/8	3894	4221	0.07747
192	m411	947	m412	2069	m112	1312	4391	4/30	0.0/10/

Tabela 7. (cont.) Resultado da análise de congruência: parâmetros, custos relativos de alinhamento, comprimento de topologias parciais e totais e valores de ILD. Parâmetro em cinza exibe o menor ILD.

Parâmetro	ITS-1	parcial ITS-1	28S	parcial 28S	CO1	parcial CO1	∑ parciais	Total	ILD
186	m411	947	m412	2069	m121	1203	4219	4557	0.07417
187	m411	947	m421	2001	m111	878	3826	4155	0.07918
188	m411	947	m421	2001	m112	1375	4323	4667	0.07371
189	m411	947	m421	2001	m121	1203	4151	4491	0.07571
190	m412	1774	m111	644	m111	878	3296	2880	-0.14444
191	m412	1774	m111	644	m112	1375	3793	3387	-0.11987
192	m412	1774	m111	644	m121	1203	3621	3212	-0.12733
193	m412	1774	m112	1114	m111	878	3766	3440	-0.09477
194	m412	1774	m112	1114	m112	1375	4263	3948	-0.07979
195	m412	1774	m112	1114	m121	1203	4091	3776	-0.08342
196	m412	1774	m121	986	m111	878	3638	3311	-0.09876
197	m412	1774	m121	986	m112	1375	4135	3817	-0.08331
198	m412	1774	m121	986	m121	1203	3963	3647	-0.08665
199	m412	1774	m211	836	m111	878	3488	3156	-0 10520
200	m412	1774	m211	836	m112	1375	3985	3665	-0.08731
200	m412	1774	m211	836	m121	1203	3813	3494	-0.09130
201	m412	1774	m212	1466	m111	878	4118	3030	-0 04784
202	m412	1774	m212	1466	m112	1375	4615	4440	-0 03941
205	m/12	1774	m212	1466	m121	1203	4015	4440	-0.03941
204	m/12	1774	m221	1354	m111	270	4006	3022	0.04100
205	m/12	1774	m221	1354	m112	1375	4000	1335	-0.04814
200	m/12	1774	m221	1254	m121	1202	4303	4333	-0.03875
207	m/12	1774	m/11	1165	m111	1205	4331 2017	2622	-0.04111
200	m/12	1774	m411	1105	m112	0/0	JOI7 4214	JUJZ 4141	-0.03094
209	m412	1774	m411	1105	m121	1202	4314	4141 2060	-0.04176
210	m412	1774	m411 m412	1105	m121	1205	4142	4000	-0.04559
211	m412 m412	1774	m412 m412	2009	m112	0/0	4/21 5010	40UZ	0.01067
212	m412	1774	m412	2009	m121	1202	5210	5512	0.01770
215	m/12	1774	m421	2009	m111	1205	4652	J140 4741	0.01029
214	m/12	1774	m421	2001	m112	1275	5150	4/41 5252	0.01050
215	m/12	1774	m421	2001	m121	1202	4079	5076	0.01901
210	m/121	1761	m111	644	m111	878	3283	28/18	-0 15274
217	m421	1761	m111	644	m112	1375	3780	2040	0.12701
210	m421	1761	m111	644	m121	1203	3608	3182	-0 13388
220	m421	1761	m112	1114	m111	878	3753	3414	-0.09930
220	m421	1761	m112	1114	m112	1375	4250	3020	-0.08418
221	m421	1761	m112	1114	m121	1203	4078	3750	-0.08747
222	m421	1761	m121	986	m111	878	3625	3280	-0 10518
225	m421	1761	m121	986	m112	1375	4122	3783	-0.08961
224	m421	1761	m121	986	m121	1203	3050	3617	-0.00207
225	m421	1761	m211	836	m111	878	3475	3134	-0 10881
220	m421	1761	m211	836	m112	1375	3972	3639	-0 09151
222	m421	1761	m211	836	m121	1203	3800	3470	-0 00510
220	m421	1761	m212	1466	m111	878	4105	3917	-0 04800
220	m421	1761	m212	1466	m112	1375	4602	4426	-0 03977
230	m421	1761	m212	1466	m121	1203	4430	4254	-0 04137
231	m421	1761	m221	1354	m111	878	3003	3803	-0 04996
232	m421	1761	m221	1354	m112	1375	4490	4315	-0 04056
233	m421	1761	m221	1354	m121	1203	4318	4141	-0 04274
234	m421	1761	m411	1165	m111	878	3804	3613	-0 05286
235	m421	1761	m411	1165	m112	1375	4301	4120	-0 04393
230	m421	1761	m411	1165	m121	1203	4129	3951	-0 04505
237	m421	1761	m412	2060	m111	878	4708	4701	0 01737
230	m421	1761	m412	2005	m112	1375	5205	5301	0 01811
235	m421	1761	m412	2009	m121	1203	5033	5120	0.01872
240	m421	1761	m421	2005	m111	878	4640	4730	0.01002
241	m421	1761	m421	2001	m112	1375	5137	5239	0 01947
243	m421	1761	m421	2001	m121	1203	4965	5066	0.01994

Tabela 7. (cont.) Resultado da análise de congruência: parâmetros, custos relativos de alinhamento, comprimento de topologias parciais e totais e valores de ILD. Parâmetro em cinza exibe o menor ILD.

Observa-se que o resultado dos cálculos de ILD apresenta valores negativos, o que a priori sugere que os custos de algumas análises parciais referem-se a topologias sub-ótimas, pois valores negativos de ILD resultam quando o custo na análise simultânea é menor que a soma das parciais. Diante deste resultado, as análises parciais foram executadas 3 vezes na expectativa de reduzir o custo dessas topologias, o que não ocorreu. Outra possibilidade seria que a quantidade de dados lacunares para alguns terminais é responsável pelo comportamento não usual desta métrica. Neste sentido, foi feita uma re-análise dos dados excluindo 28 terminais que apresentavam dados lacunares (dados não apresentados) na expectativa de eliminar valores negativos para ILD. Os resultados desta análise sugerem que a proporção de dados lacunares não afeta os valores do conjunto de parâmetros com ILD negativo, pois 100% daqueles parâmetros continuaram a exibir ILD negativo e em 49.2% dos parâmetros a redução do número de terminais resultou em valores de ILD menores que anteriormente. Observa-se que para o conjunto de parâmetros nos quais as mesmas funções de custo são aplicadas às três partições de dados não ocorrem valores negativos de ILD. A presença de valores negativos, desta forma, permanece inexplicada e pode decorrer de alguma propriedade desta métrica decorrente da combinação de parâmetros distintos para cada uma das partições ou algum erro no código de POY.

Neste estudo optou-se por obedecer à lógica da análise de congruência na qual a escolha do conjunto de parâmetros de alinhamento é baseada no menor valor de ILD, pois ele expressa a redução/aumento de eventos de homoplasias em decorrência da análise simultânea de partições de diferentes origens sob determinados conjuntos de parâmetros. De acordo com os resultados apresentados na Tabela 7, o parâmetro 217 exibe o menor valor de ILD. Neste parâmetro foram aplicados custos para abertura de *gaps*, extensões de *gap*, transversões e transições na proporção de 4:4:2:1, 4:1:1:1 e 1:1 para ITS-1, 28S e COI, respectivamente.

A análise filogenética sob este regime de custo resultou em 18 topologias igualmente parcimoniosas. O consenso estrito destas árvores mantém a estrutura cladística básica da Figura 4.



Figura 4. Hipótese filogenética para haplótipos de *Rhinebothroides* (clados A-E) baseada na otimização direta de 28S, ITS-1 e COI. Topologia representa uma dentre 18 topologias produzida pelo parâmetro 217. Comprimento dos ramos são aproximados (ver Material e Métodos). *Parasita de ambiente dulcícola da Malásia. ** Parasita de ambiente marinho da costa da Califórnia. Clados I e II são membros do gênero *Rhinebothrium*, parasitas de potamotrigonídeos.

Esta topologia foi escolhida ao acaso dentre as 18 árvores e ilustra o comprimento aproximado dos ramos relativos ao número de transformações.

A análise de sensibilidade para os clados dentro de Rhinebothroides apresentou resultados bastante interessantes. Os clados A, B, C e D foram recuperados em 100% no espaço de parâmetros, representada pelas porcentagens indicadas em seus respectivos ramos (Fig. 4) e os diagramas de Navajo (ou plotagens de sensibilidade) na Figura 5. Por outro lado, o clado E se apresentou mais sensível aos regimes de custo implementados, sendo recuperado em 72,2% do espaço de parâmetros (Figs. 4 e 5). Clados mais inclusivos apresentaram maior sensibilidade ao conjunto de parâmetros imposto. O clado composto pelos grupos (A+B) foi recuperado em 92,1% do espaco de parâmetros analisado, mostrando baixa sensibilidade a parâmetros de alinhamento (Figs. 4 e 6). Por outro lado, o grupo composto pelos clados (C+D) foi recuperado em 22,4% do espaço de parâmetros e o grupo contendo os clados (C+D+E) está presente em 36,8% dos parâmetros analisados (Figs. 4 e 6), mostrando alta sensibilidade ás funções de custo de alinhamento. A monofilía do gênero Rhinebothroides também se mostrou sensível aos regimes de custo de alinhamento, sendo recuperada em 27,7% das árvores obtidas na análise (Figs. 5 e 6). As topologias nas quais Rhinebothroides se mostrou parafilético frequentemente incluíam o clado composto por membros de Rhinebothrium neotropicais de água doce (clado I, Fig. 4). Por fim, a monofilía dos Rhinebothriidea em potamotrigonídeos não foi recuperada na análise, o que não corrobora os resultados obtidos por Reyda (2007).

Análise morfológica – complexo <u>Rhinebothroides freitasi</u>

Dos 602 hospedeiros examinados nesse estudo, 219 válvulas espirais estavam infectadas por membros do gênero *Rhinebothroides*, das quais aproximadamente 50% estavam infectadas por membros do complexo *R. freitasi*. A lista completa das espécies de hospedeiros infectados por membros desse complexo, assim como suas respectivas localidades e datas de coleta estão na Tabela 8. Vinte e cinco espécies potencialmente distintas de potamotrigonídeos foram examinadas,



Figura 5. *Plot* de sensibilidade (ou diagrama de Navajo, sensu Wheeler, 1995 e Giribet, 2001) para os clados atribuídos às espécies de *Rhinebothroides*. Em "Mapa de parâmetros" estão representados os regimes de custo implementados na análise filogenética. Para cada parâmetro, temos o regime de custo para ITS-1, 28S e CO1, nesta ordem. O parâmetro selecionado pela análise de congruência aparece em cinza. Quadrados em preto representam a presença do clado em 100% das topologias, tons de cinza representam a presença dos mesmos em frequências menores que 100%, quadrados brancos representam a ausência do clado para o respectivo conjunto de parâmetros.



Figura 6. *Plot* de sensibilidade (ou diagrama de Navajo, sensu Wheeler, 1995 e Giribet, 2001) para combinações dos clados atribuídos às espécies de *Rhinebothroides*. Quadrados em preto representam a presença do clado em 100% das topologias, tons de cinza representam a presença dos mesmos em frequências menores que 100%, quadrados brancos representam a ausência do clado para o respectivo conjunto de parâmetros.

Espécie	Sub-bacia	Rio	Município, Estado e País	Latitude	Longitude	Data de coleta
Potamotrygon motoro Potamotrygon brachyura	Rio Paraguai, São Lourenço	Rio Mutum ou Lagoa Chá Mariana	Barão de Melgaço, Vila Mutum, MT, Brasil	S 16° 17' 55.67"	W 55° 48' 13.32"	Julho, 2006
Potamotrygon sp_jam	Rio Amazonas, Madeira	Rio Jamari	Itapoã do Oeste, RO, Brasil	S 9° 4' 33.96"	W 63° 18' 17.64"	Julho, 2006
Potamotrygon motoro	Rio Solimões, Juruá, Japurá	Rio Purus, Lago Novo	Boca do Acre, AM, Brasil	S 8° 44' 45.6"	W 67° 22' 51.60"	Julho, 2006
Potamotrygon sp_tar1 Potamotrygon sp_tar2	Rio Solimões, Juruá, Japurá	Rio Tarauacá, Lago Arara	Tarau acá, AC, Brasil	S 8° 4' 5.88"	W 70° 43' 4.80"	Julho, 2006
Potamotrygon humerosa	Rio Amazonas, Trombetas, outros	Rio Abacaxis	Borba, Comunidade Maruin, AM, Brasil	S 4° 16' 58.08"	W 58° 36' 42.48"	Janeiro, 2007
Potamotrygon scobina	Rio Solimões, Negro, Branco	Rio Branco, Rio Urariquera	Boa Vista, RR, Brasil	N 3° 22' 51.96"	W 60° 35' 44.16"	Fevereiro, 2007
Potamotrygon motoro	Rio Paraguai, São Lourenço	Rio Paraguai	Corumbá, Distr. Albuquerque, MS, Brasil	S 19° 20' 53.16"	W 57° 19' 11.28"	Dezembro, 2003
Potamotrygon motoro Potamotrygon falkneri	Rio Paraguai, São Lourenço	Rio Salobra	Miranda, MS, Brasil	S 20° 12' 59.34"	W 56° 29' 42.95"	Julho, 2004
Potamotrygon sp_tpj1 Potamotrygon sp_tpj2	Rio Amazonas, Tapajós, Juruena	Rio Teles Pires	Apiacás, Pousada Santa Rosa, MT, Brasil	S 8° 46' 45.12"	W 57° 27' 55.44"	Dezembro, 2005
Potamotrygon sp_tpj1	Rio Amazonas, Tapajós, Juruena	Rio Jamanxin	Novo Progresso, PA, Brasil	S 7° 9' 30.24"	W 55° 25' 55.92"	Dezembro, 2005
Potamotrygon motoro	Rio Paraguai, São Lourenço	Rio Paraguai, Igarapé Padre Inácio	Cáceres, MT, Brasil	S 16° 14' 27.63"	W 57° 47' 8.92"	Junho, 2007
Potamotrygon motoro Potamotrygon sp_mar1	Rio Meruu, Acamá, Guamá, outros	Baia de Marajó, Rio Arari, Ig. do Urubu	Cachoeira do Arari, PA, Brasil		W 48° 57' 52.56"	Agosto, 2007
Potamotrygon signata	Rio Parnaíba	Confluência do Rio Poti e Rio Parnaíba	Teresina, PI, Brasil	S 5° 2' 10.68"	W 42° 50' 17.88"	Setembro, 2007
		Rio Negro, Boca do Rio Demení	Barcelos, AM, Brasil	S 0° 46' 31.8"	W 62° 56' 14.28"	Fevereiro, 2004
		Rio Negro, Rio Demení, Lago Maqui	Barcelos, AM, Brasil	S 0° 42' 42.84"	W 62° 59' 35.88"	Fevereiro, 2004
Potamotrygon sp.		Rio Negro, Comunidade Santo Antônio	Barcelos, AM, Brasil	S 0° 58' 38.64"	W 62° 54' 46.44"	Fevereiro, 2004
Potamotrygon motoro		Rio Negro, Paraná Zamula, Lago Nazaré	Barcelos, AM, Brasil	S 0° 52' 11.28"	W 62° 46' 37.92"	Fevereiro, 2004
Potamotrygon schroederi	Rio Solimões, Negro, Branco	Rio Negro/Paraná do Acuiá	Barcelos, AM, Brasil	S 0° 45' 29.88"	W 62° 55' 14.52"	Fevereiro, 2004
Potamotrygon orbignyi		Rio Negro, Ilha da Mariana, Praia do Meio	Barcelos, AM, Brasil	S 0° 42' 42.84"	W 62° 59' 35.88"	Fevereiro, 2004
Potamotrygon sp. (cururu)		Rio Negro, Lago do Boiador, Boca do Bafuana	Barcelos, AM, Brasil	S 0° 54' 24.12"	W 62° 58' 21.72"	Janeiro, 2005
		Rio Negro, Rio Cuiuní, Praia do Curupira Rio Negro, Rio Arirahá, Boca do Jacaré	Barcelos, AM, Brasil Barcelos, AM, Brasil	S 0° 46' 41.88" S 0° 40' 23.16"	W 63° 8' 10.32" W 63° 12' 7.56"	Fevereiro, 2005 Abril, 2005
Potamotrygon sp_sol Potamotrygon motoro	Rio Solimões, Içá, Jandiatuba	Rio Solimões, Ilha do Aramaça	Tabatinga, AM, brasil	S 4° 20' 16.8"	W 69° 54' 1.08"	Agosto, 2006
Potamotrygon motoro						
Potamotrygon humerosa	Rio Amazonas, Tapajós, Juruena	Rio Tapajós, Comunidade Piauí	Santarém, PA, Brasil	S 2° 17' 3.84"	W 55° 0' 13.68"	Outubro, 2005
Potamotrygon orbignyi						
Potamotrygon sp_tpj1	Rio Amazonas, Tapajós, Juruena	Rio Tapajós, Comunidade Pimental	Itaituba, PA, Brasil	S 4° 36' 29.88"	W 56° 16' 22.8"	Outubro, 2005
Potamotrygon sp_toc2 Potamotrygon cf. scobina	Rio Tocantins, Manuel Alves	Rio Tocantins, confluência do Rio Manuel Alves	Ipueiras, TO, Brasil	S 11° 15' 48.52"	W 48° 26' 56.79"	Junho, 2005
Potamotrygon leopoldi	Rio Amazonas, Xingú, Iriri, Paru	Rio Xingú	São Felix do Xingú, PA, Brasil	S 6° 39' 23.33"	W 51° 59' 56.72"	Julho, 2005
Potamotrygon brachyura	Rio Uruguai, Ijuí, outros	Rio Uruguai	Porto Xavier, RS, Brasil	S 27° 53' 44.75"	W 55° 13' 29.78"	Março, 2005
Potamotrygon motoro	Rio Paraná, Paranapanema	Rio Paraná, Arroyo Javier	Puerto Reconquista, Santa Fé, Argentina	S 29° 13'	W 59° 34'	Fevereiro, 1995

coletados em 14 sub-bacias foram analisadas, das quais 19 se apresentaram infestadas por membros do complexo de interesse em 13 sub-bacias (Tabela 8). Membros do complexo *R. freitasi* não foram encontrados na sub-bacia dos Rios Araguaia, Mortes e Javaés (Tabela 8).

A análise morfológica de representantes deste complexo permitiu o reconhecimento de dois morfotipos distintos. A comparação com o material tipo disponível para as espécies nominais pertencentes ao complexo *R. freitasi* mostrou que um dos morfotipos encontrados apresenta características coerentes com os conceitos de *R. venezuelensis* e *R. campbelli* e o outro apresenta características coerentes com os conceitos de *R. freitasi* e *R. circularisi*.

Integração de dados moleculares e morfológicos

Atualmente existem 8 espécies nominais para *Rhinebothroides*, das quais 6 são consideradas válidas. A comparação do material tipo disponível para essas espécies nominais com os *vouchers* moleculares e/ou representantes das populações de *Rhinebothroides* incluídas na análise cladística possibilitou identificar 5 clados que apresentam caracteres morfológicos consistentes (clados A, B, C, D e E; Fig. 4)

Membros do clado A são caracterizados por espécimes que possuem células glandulares próximas à região da vagina (Figura 7A-E). Existem duas espécies nominais para espécimes de *Rhinebothroides* com essa característica singular: *R. glandularis* e *R. mclennanae*, ambas consideradas válidas.

Membros do clado B são caracterizados por espécimes que apresentam proglótides robustas, testículos organizados em 3 fileiras ao invés das 1-2 observadas em outras espécies do gênero e folículos vitelínicos não interrompidos ao nível do poro genital (Figura 8A-C). Existe apenas uma espécie nominal que apresenta esse conjunto de características: *R. scorzai*.

Membros do clado C são caracterizados por espécimes que apresentam microtríquias que lembram espinhos no cirro (espinitríquias), facilmente visualizadas ao microscópio óptico (Figura 9A-D). Outros membros do gênero apresentam filitríquias cobrindo toda a extensão do órgão



Figura 7. Caracterização morfológica e variação morfológica da região posterior do ovário de *Rhinebothroides* glandularis. A - Espécime adulto completo. B - Detalhe da proglótide de *R. glandularis* (a seta indica a posição das células glandulares próximas ao poro genital). C - Ovário em H, espécime do médio Rio Negro. D - Ovário em H, espécime do Rio Teles Pires. E - Ovário em A, espécime do Rio Solimões.



Figura 8. Caracterização morfológica de *Rhinebothroides scorzai*. A - Espécime adulto completo. B - Detalhe do estróbilo (seta indica a condição craspedota). C - Segmento maduro mostrando a organização dos testículos (seta indica a não interrupção da vitelária ao nível do poro genital).



Figura 9. Caracterização morfológica de *Rhinebothroides moralarai*. A - Espécime adulto completo. B - Segmento maduro no qual retângulo indica a região do saco do cirro. C - Detalhe da região do saco do cirro (seta indica a presença de espinitríquias no cirro). D - Detalhe do cirro (seta indica espinitríquias no cirro).

copulatório, também visíveis ao microscópio óptico. Existe uma espécie nominal com essa característica dentro do gênero: *R. moralarai*.

Baseado no conceito de *R. freitasi* de Marques & Brooks (2003), este nome deveria ser atribuído aos espécimes incluídos nos clados D e E (Fig. 4), o que, de acordo com a topologia apresentada implica da parafilía desta espécie. Adicionalmente, o clado D poderia representar a mais recente espécie descrita para o gênero, *R. campbelli*. Essa constatação levou a busca de diagnose morfológica para esses clados e re-exame do material tipo de *R. campbelli* e das espécies nominais incluídas na sinonímia de *R. freitasi*. Considerou-se também o reconhecimento de dois morfotipos para membros desses dois clados, cada um deles associado a duas espécies nominais.

De acordo com as observações resultantes deste estudo, o clado D inclui representantes que possuem características coerentes com os conceitos de *R. venezuelensis* e *R. campbelli* e o clado E inclui representantes que apresentam características coerentes com os conceitos de *R. freitasi* e *R. circularisi*, refletindo os dois morfotipos encontrados na análise morfológica. Com base nesses dados, as decisões taxonômicas adotadas são:

REDESCRIÇÕES

Rhinebothroides venezuelensis Brooks, Mayes & Thorson, 1981

Figuras 10A-E e 11A-E; Tabela 9

Sinonímias: Rhinebothroides freitasi (Rego, 1979) (em parte); Rhinebothroides campbelli Ivanov 2004, (nova sinonímia).

Redescrição: (Baseada em 107 preparações completas, 15 parátipos e 11 *vouchers* de *R*. *venezuelensis* (Tabela 3), holótipo e 3 parátipos de *R. campbelli* (Tabela 3) e 8 escóleces observadas sob MEV.) Estróbilo acraspedoto, apolítico, 2.8–30.8 mm de comprimento, com 5–29 segmentos. Proglótides divididas em região posterior e anterior por um estrangulamento no 1/3-1/4 posterior dos segmentos terminais e subterminais. Escoléx com quatro botrídios bilobados e pedunculados, com 425,7–1188,0 de comprimento total, lobo anterior com 198,0–910,8 de largura e lobo posterior



Figura 10. Morfologia de *Rhinebothroides venezuelensis*. A - Espécime adulto completo (MZUSP 6493). B - Detalhe do botrídeo no escólex (MZUSP 6488). C e D - Segmentos maduros, note variação na morfologia do lobo poral (MZUSP 6495 e 6493 respectivamente). E - Segmento grávido, após degeneração do ovário, vitelária e testículos (MZUSP 6489).



Figura 11. Micrografias eletrônicas de varredura para *Rhinebothroides venezuelensis*. A - escoléx (MZUSP 6635). B - Microtríquias na região proximal (MZUSP 6616). C - Microtríquias na região distal (MZUSP 6616). D - Complexo ciliar presente na região distal (MZUSP 6616). E - Detalhe da estrutura dos dois tipos de microtríquias, espinitríquias gladiadas e filitríquias aciculares (MZUSP 6629).

	Tamanhc	(mm)		N° seg	mentos			botr	rídios		
População	total 6	strobilo to	otal imat	uros n	naduros grá	ívidos Nº ló	culos CP total	LG ani	terior	LG posterior	LG central
Rios Paraná, Paraguai, Salobra, Mutum. N=62	3,58 - 15,09	3,14 - 14,46	7 - 20 5	- 17	1 - 2	0 - 2 62 -	- 86 445,5 -	960,3 247,5	: - 594,0	207,9 - 445,5	188,1 - 376,2
Rios Solimões,Tarauacá, Tapajós. N=45	3,09 - 22,98	2,79 - 22,44 {	3 - 27 6	- 22	1 - 2	0 - 6 62	- 80 425,7 -	1188,0 198,0) - 485,1	158,4 - 435,6	148,5 - 415,8
	Š	gmentos imatu	ros		Sec	mentos madu	ros		segmen	tos grávidos	
População	СР	LG	poro geni	ital C	Ę.	ГG	poro genital	СР	LG	d	oro genital
Rios Paraná, Paraguai, Salobra, Mutum. N=62	346,5 - 1762,2	99,0 - 485,1	99 , 0 - 3 [,]	46,5	663,3 - 2801,7	198,0 - 495,0	148,5 - 495,0	1306,8 - 32(07,6 2	27,7 - 524,7	277,2 - 514,8
Rios Solimões,Tarauacá, Tapajós. N=45	495,0 - 1534,5	128,7 - 564,3	99,0 - 32	26,7	683,1 - 2306,7	138,6 - 594,0	168,3 - 405,9	1425,6 - 351	14,5 1.	78,2 - 564,3	267,3 - 544,5
		ovário				testículo:	s	saco do	, cirro		
População	lobo poral	lobo aporal	LG istr	om	N° total	СР	ГG	CP			
Rios Paraná, Paraguai, Salobra, Mutum. N=62	99,0 - 316,8	346,5 - 1485,	0 99,0) - 237,6	28 - 58	26,2 - 72,4	34,6 - 71,1	89,1 - 2	:77,2		
Rios Solimões,Tarauacá, Tapajós. N=45	99,0 - 247,5	386,1 - 1287,	0 79,2	2 - 267,3	25 - 57	30,9 - 59,3	24,9 - 66,9	108,9 - 2	207,9		

s coletados de R. venezuelensis para cada população referente a cada um dos sub-clados obtidos na análise filogenéti	= largura; e N = número de espécimes analisados.
letados de R. ven	rgura; e N = nún
oara indivíduos co	primento; $LG = l_i$
icos obtidos j	la: $CP = com$
los morfológi	lares. Legend
la 9. Dad	s molecul
abe	sopt

com 158,4–673,2 de largura, contendo lóculos marginais e transversais, 62–86 lóculos transversais por botrídio, lóculos marginais nem sempre visíveis. Superfície distal dos botrídios coberta por espinitríquias gladiadas, 0,58-1,14 de comprimento, com aproximadamente 5-13 microtríquias/µm², interespaçadas por filitríquias aciculares pequenas de difícil visualização (Fig. 11). Superfície proximal dos botrídios coberta por espinitríquias gladiadas, 1,11-1,72 de comprimento, com aproximadamente 3-8 microtríquias/µm², interespaçadas por filitríquias aciculares com 0,33 de comprimento (Fig. 11). Proglótides imaturas mais largas do que longas; proglótides maduras com 663,3–2801,7 de comprimento e 138,6–752,4 de largura. Testículos redondos, distribuídos em dois campos separados pelo útero, cada campo com 1-2 colunas irregulares, restritos à região anterior do segmento, 25–62 testículos por segmento, 26,2–86,5 de comprimento, 24,9–93,9 de largura. O saco do cirro está posicionado a 1/5 da região posterior do segmento, com 89,1-277,2 de comprimento; contendo um cirro eversível coberto por microtríquias e vesícula seminal interna. Vesícula seminal externa funde-se ao saco do cirro próximo a terminação poral, se estende por todo o comprimento do saco do cirro fundindo-se ao vaso deferente próximo a extremidade posterior da proglótide e coberta por células fortemente coradas por toda sua extensão. Átrio genital raso, desprovido de microtríquias. Poros genitais alternados irregularmente. Vagina anterior ao saco do cirro, variando de pouco enrolada a semi-reta. Esfíncter vaginal e receptáculo seminal presentes. Ovário bilobado em visão frontal e em forma de X em cortes transversais, próximo à extremidade posterior da proglótide; lobos assimétricos; lobo aporal com 346,5 - 1485,0 de comprimento, se estendendo à região médio-anterior do segmento, sobrepondo alguns testículos; lobo poral com 99,0-356,4 de comprimento, se estendendo até nível do istmo ovariano. Ovário com 79.2-356,4 de largura na altura do istmo ovariano. Folículos vitelínicos laterais, vitelária se estendendo do nível da glândula de Mehlis até próximo da extremidade anterior da proglótide, interrompida próximo ao poro genital. Proglótides grávidas com 1306,8-4712,4 de comprimento e 178,2-742,5 de largura, desprovidas de gônadas. Útero em forma de saco, com divertículos laterais.

Sumário Taxonômico

Hospedeiro-tipo: Potamotrygon orbignyi (Castelnau, 1855)

Local de infecção: válvula espiral.

Localidade-tipo: Delta do Orinoco, próximo a Curiapo, Venezuela.

Localidades adicionais: Rio Orinoco, próximo a Los Castillos; região do Lago Maracaibo, próximo a El Congo e Represa Tulé; Rio Cachirí, Zulia, Venezuela; Rio Salobra, Miranda, MS (S20°12'59.34", W56°29'42.95"); Rio Paraguai, Corumbá, Distr. de Albuquerque, MS (S19°20'53.1594", W57°19'11.28"); Rio Mutum, Barão de Melgaço, MT (S16°17'55.6794", W 55°48'13.3194"); Rio Purus, Lago Novo, Boca do Acre, AM (S8°44'45.6", W67°22'51.6"); Rio Tarauacá, Lago Arara, Tarauacá, AC (S8°4'5.88", W70°43'4.8"); Rio Paraguai, Igarapé Padre Inácio, Cáceres, MT (S16°14'27.63", W57°47'8.92"); Rio Solimões, Ilha do Aramaça, Tabatinga, AM (S4°20'16.8", W69°54'1.08"); Rio Tapajós, Comunidade Pimental, Itaituba, PA (S4°36'29.8794", W56°16'22.8"); Rio Paraná, Arroyo Javier, Puerto Reconquista, Santa Fé, Argentina (S29°13', W59°34').

Hospedeiros adicionais: Potamotrygon yepezi, P. motoro, novos registros: P. sp_tar1, P. sp_tar2, P. sp_tpj1, P sp_sol.

Material examinado: *R. venezuelensis*: *vouchers* HWML 21025 (2 espécimes completos), HWML 34092 (3 espécimes completos), CHIOC 32.818a-f (5 espécimes completos, 1 espécime imaturo), parátipos HWML 21005 (3 espécimes completos, proglótides soltas, proglótides grávidas e 1 espécime incompleto), HWML 21006 (7 espécimes completos), USNPC 75706 (2 espécimes completos). *R. campbelli*: holótipo MACN-Pa 412/1, parátipos MACN-Pa 412/2-3, USNPC 94696. Detalhes do material tipo examinado estão na Tabela 3. Preparações totais adicionalmente examinadas, 107 espécimes no total, depositadas no Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo sob os números MZUSP 6488 – 6515 e *vouchers* de MEV sob os números MZUSP 6597, 6598, 6616, 6617, 6628, 6629, 6633, 6635.

Comentários

Brooks et al. (1981a), na descrição original da espécie, informaram que R. venezuelensis possuía estróbilo craspedoto, 20-30 segmentos e lobo ovariano aporal não se estendendo até a metade anterior da proglótide. Na ocasião, os autores não discutem as similaridades e/ou diferenças entre R. venezuelensis e R. freitasi, pois naquele momento R. freitasi era considerado membro de Rhinebothrium. Na descrição original de Rhinebothrium freitasi, Rego (1979) apresenta uma ilustração da proglótide na qual não há folículos vitelínicos pré-ovarianos. Quando Brooks et al. (1981a) transferiram R. freitasi para Rhinebothroides, estes autores utilizaram a ausência de folículos vitelínicos pré-ovarianos como característica diagnóstica desta espécie. Marques & Brooks (2003) argumentaram que, embora os folículos vitelínicos pré-ovarianos não tivessem sido observados na proglótide ilustrada por Rego (1979), eles estavam presentes em outras proglótides livres no material tipo (parátipo CHIOC 31.486b). O exame de espécimes adicionais atribuídos a R. freitasi coletados no presente estudo revelou a presença de folículos vitelínicos pré-ovarianos. Marques & Brooks (2003) também encontraram dificuldades em determinar a condição do estróbilo acraspedota e craspedota utilizada pra distinguir R. freitasi e R. venezuelensis, respectivamente. Segundo estes autores, a série tipo de R. freitasi consistia de proglótides livres e observaram uma variação intraespecífica para esse caráter na série tipo de R. venezuelensis que foi atribuída aos níveis de relaxamento destes vermes durante a fixação. Com relação à morfologia geral do ovário, Marques & Brooks (2003) não consideraram a extensão dos lobos ovarianos como característica diagnóstica entre essas duas espécies e discutiram apenas a variação intraespecífica encontrada na extensão do lobo poral ovariano de R. freitasi (Marques & Brooks, 2003:998, Fig. 3). Outros atributos merísticos e morfométricos apresentaram sobreposição entre as populações estudadas o que levou estes autores a proporem que R. freitasi fosse considerado sinonímia sênior de R. venezuelensis.

Ivanov (2004), subsequentemente, descreveu uma nova espécie de Rhinebothroides em

Potamotrygon motoro coletado no Rio Paraná em Santa Fé, Argentina – *R. campbelli* – e comparou a extensão do lobo poral ovariano nesta espécie com *R. freitasi* (*sensu* Marques & Brooks, 2003) no intuito de diferenciá-las. Segundo a autora, a lobo poral ovariano em *R. campbelli* se estende até a margem posterior do saco do cirro enquanto que em *R. freitasi*, este se estende até o nível mediano do saco do cirro. No entanto, a autora interpretou os desenhos de Marques & Brooks (2003:998, Fig. 3) erroneamente, assumindo que se referiam à proglótides em estágios diferentes do desenvolvimento em um mesmo indivíduo. A ilustração apresentada por Marques & Brooks (2003:998, Fig. 3) foi obtida de uma única lâmina contendo 15 proglótides livres (parátipo CHIOC 31.486b) das quais eles ilustraram um segmento imaturo (Marques & Brooks, 2003:998, Fig. 3A) e dois segmentos maduros (Marques & Brooks, 2003:998, Figs. 3B e C) mostrando as diferentes condições do lobo poral encontradas na série tipo. Conclui-se que a extensão do lobo poral em *R. freitasi* é um caráter variável e deve ser considerado com cautela na taxonomia desta espécie.

Outro caráter tradicionalmente utilizado na taxonomia de *Rhinebothroides* é a extensão relativa do lobo aporal ovariano. Ivanov (2004) comparou este caráter entre *R. freitasi*, *R. venezuelensis* e *R. campbelli* baseando-se nas descrições originais de *R. freitasi* e *R. venezuelensis*, e o exame de um parátipo desta última (USNPC 75706). A descrição original de *R. venezuelensis* sugere que o lobo aporal ovariano nesta espécie nunca se estende além do nível mediano do segmento, o que também nunca ocorre em *R. freitasi* (Brooks *et al.*, 1981a; Rego, 1979). A partir destas observações, Ivanov (2004) considerou que a extensão do lobo aporal ovariano além do nível mediano da proglótide é um caráter diagnóstico para *R. campbelli*. No entanto, dos 15 parátipos e 11 *vouchers* de *R. venezuelensis* examinados neste estudo (Tabela 3), 6 apresentam lobo aporal se estendendo até a metade anterior do segmento (HWML 34092, 2 *vouchers*; HWML 21006, 2 *vouchers* e CHIOC 32818d,e). Adicionalmente, dos 3 parátipos e o holótipo de *R. campbelli* examinados (Tabela 3), 1 parátipo (MACN-Pa 412-2) apresenta lobo aporal que não se estende até a metade anterior do segmento. Estas observações revelam que as descrições originais omitiram a

variação morfológica intraespecífica exibida por este caráter e questionam seu valor taxonômico na diagnose de *R. campbelli* proposta por Ivanov (2004).

Os membros do gênero *Rhinebothroides* possuem um estrangulamento no 1/3-1/4 posterior do segmento, o qual divide a proglótide em duas regiões. O exame de aproximadamente 400 espécimes de *Rhinebothroides* revelou uma forte relação entre a posição do estrangulamento e a extensão do lobo aporal ovariano. A posição dos testículos também é definida pela posição do estrangulamento uma vez que eles nunca são observados na região posterior ao estrangulamento da proglótide. Nos espécimes nos quais o lobo aporal ovariano se estende anteriormente ao estrangulamento da proglótide, este pode ou não sobrepor-se aos testículos posteriores. Consequentemente, naqueles espécimes nos quais o lobo aporal ovariano está confinado à região posterior ao estrangulamento, o lobo não se sobrepõe aos testículos. Esta constatação sugere uma nova interpretação para a posição relativa da extremidade anterior do lobo aporal ovariano em referência ao estrangulamento da proglótide ao invés da inconsistente sobreposição aos testículos e o alcance do meio do segmento.

Os espécimes de *R. venezuelensis* e *R. campbelli* apresentam o lobo ovariano aporal se estendendo além do estrangulamento da proglótide, enquanto que espécimes de *R. freitasi* apresentam lobo aporal ovariano confinado à região posterior ao estrangulamento. O exame de mais de 100 espécimes considerados como membros de *R. venezuelensis* provenientes de 9 localidades e 5 espécies de hospedeiros mostrou sempre a mesma condição do lobo aporal ovariano.

A morfologia do lobo poral ovariano em *R. venezuelensis* e *R. campbelli* também é similar. Em ambas, o lobo poral ovariano se estende anteriormente até o nível do istmo ovariano, mesmo que, em alguns exemplares atribuídos a *R. freitasi* ele pode ou não se estender anteriormente além do nível do istmo ovariano, como ressaltado e ilustrado por Marques & Brooks (2003). Os valores merísticos e morfométricos obtidos para *R. venezuelensis* e *R. campbelli* mostraram sobreposição, tornando a distinção entre essas duas espécies impossível quando dependente destes caracteres. Desta forma considero que *R. venezuelensis* seja considerada uma espécie válida e sinonímia sênior de *R. campbelli*.

Rhinebothroides freitasi (Rego, 1979) Brooks, Mayes & Thorson, 1981

Figuras 12A-E e 13A-E; Tabela 10.

Sinonímias: Rhinebothrium freitasi Rego, 1979; Rhinebothroides circularisi Mayes, Brooks & Thorson, 1981.

Redescrição: (Baseado em 280 preparações totais, 11 parátipos de R. circularisi (Tabela 3), 4 parátipos de R. freitasi (Tabela 3) e 38 escóleces observadas sob MEV) Estróbilo acraspedoto, apolítico, 1,96-37,09 mm de comprimento, com 5-29 segmentos. Proglótides divididas em região posterior e anterior por um estrangulamento no 1/3-1/4 posterior dos segmentos terminais e subterminais. Escoléx com quatro botrídios bilobados e pedunculados, com 277,2-1296,9 de comprimento total, lobo anterior com 168,3-831,6 de largura e lobo posterior com 108,9 - 891,0 de largura, contendo lóculos marginais e transversais, 50-98 lóculos transversais por botrídio, lóculos marginais nem sempre visíveis. Superfície distal dos botrídios coberta por espinitríquias gladiadas, 0,72-1,37 de comprimento, com aproximadamente 4-19 microtríquias/µm², interespaçadas por filitríquias aciculares pequenas de difícil visualização (Fig. 13). Superfície proximal dos botrídios coberta por espinitríquias gladiadas, 0,88-1,77 de comprimento, com aproximadamente 2-11 microtríquias/µm², interespaçadas por filitríquias aciculares, 0,23-0,46 de comprimento (Fig. 13). Proglótides imaturas mais largas do que longas; proglótides maduras com 574,2-4276,8 de comprimento e 148,5-861,3 de largura. Testículos redondos, distribuídos em dois campos separados pelo útero, cada campo com 1-2 colunas irregulares, restritos à região anterior do segmento, 22-86 testículos por segmento, com 22,23-106,2 de comprimento e 24,7-111,2 de largura. O saco do cirro está posicionado a 1/5 da região posterior do segmento, com 79,2-337 de comprimento; contendo um cirro eversível coberto por microtríquias e vesícula seminal interna. A vesícula seminal externa se funde ao saco do cirro próximo a terminação poral, se estende por todo o comprimento do saco



Figura 12. Morfologia de *Rhinebothroides freitasi*. A - Espécime adulto completo (MZUSP 6528). B - Detalhe do escólex (MZUSP 6528). C e D - Segmentos maduros, note variação na morfologia do lobo poral (MZUSP 6533 e 6528, respectivamente). E - Segmento grávido após degeneração do ovário, vitelária e testículos (MZUSP 6529).



Figura 13. Micrografias eletrônicas de varredura para *Rhinebothroides freitasi*. A - escólex (MZUSP 6641). B - microtríquias na região distal (MZUSP 6608). C - microtríquias na região proximal (MZUSP 6615). D - complexos ciliares na região distal (MZUSP 6641). E - estrutura dos dois tipos de microtríquias: espínitríquias gladiadas e filitríquias aciculares (MZUSP 6608).

dados moleculares. Leg	jenda: CP = co	omprimento; Lo	G = largu	ra; e N = nú	mero de espéc	imes analisa	pulaçao ic ados.				011103 114 4114	
	Taman	ho (mm)		N° S(egmentos					botrídios		
População	total	estrobilo	total	imaturos	maduros	grávidos	Nº Ióculos	s CP total	Γ	G anterior	LG posterior	LG central
Rios Paraná, Paraguai, Salobra, Mutum, Uruguai. N=45	3,92 - 38,51	3,43 - 37,09	8 - 23	6 - 20	1 - 2	0 - 4	56 - 98	584,1 - 1	296,9	326,7 - 831,6	247,5 - 891,(178,2 - 643,5
Rios Amazonas, Solimões, Tocantins, Xingú, Negro, Branco, Tapajós, Parnalba. N≡235	2,16 - 25,48	1,96 - 24,84	5 - 29	4 - 25	1 - 2	0 - 5	50 - 88	277,2 - 1	217,7 1	168,3 - 673,2	108,9 - 673,	2 128,7 - 643,5
	s S	segmentos ims	aturos		Ō	egmentos r	naduros			segmer	ntos grávido:	
População	СР	ГG	poro (genital	CP	ГG	por	o genital	СР	ΓC	G	ooro genital
Rios Paraná, Paraguai, Salobra, Mutum, Uruguai. N=45	653,4 - 3455	.,1 148,5 - 742 <u>.</u>	5 148,	5 - 762,3	960,3 - 4276,	8 237,6 - 1	861,3 23	37,6 - 772,2	1683,0	- 6019,2 2	00,9 - 900,9	316,8 - 871,2
Rios Amazonas, Solimões, Tocantins, Xingú, Negro, Branco, Tapajós, Parnalba. N=235	227,7 - 3633,	,3 89,1 - 722,	7 79,2	2 - 693,0	574,2 - 4098,	6 148,5	722,7 14	l8,5 - 801,9	970,2 -	4920,3 1	78,2 - 811,8	207,9 - 910,8
		ováric				testi	ículos		saco	do cirro		
População	lobo poral	lobo aporal	ΓŪ	a istmo	N° total	СР	ГG		СР			
Rios Paraná, Paraguai, Salobra, Mutum, Uruguai. N=45	128,7 - 495,	0 336,6 - 11(38,8	118,8 - 504,9	39 - 86	25,7 - 7	76,3	42,7 - 86,7	118,8	3 - 316,8		
Rios Amazonas, Solimões, Tocantins, Xingú, Negro, Branco, Tapajós, Parnaíba. N=235	79,2 - 514,8	3 168,3 - 10!	59,3	89,1 - 415,8	22 - 70	24,2 – 1	06,2	24,7 – 111,2	79,2	- 336,6		

 Tabela 10. Dados morfológicos obtidos para indivíduos coletados de R. venezuelensis para cada população referente a cada um dos sub-clados obtidos na análise filogenética dos dados moleculares. Legenda: CP = comprimento: TG = larourar e N - número de análizationa de

do cirro fundindo-se ao vaso deferente próximo a extremidade posterior da proglótide e é coberta por células fortemente coradas por toda sua extensão. O átrio genital é raso, desprovido de microtríquias. Os poros genitais alternados irregularmente. Vagina anterior ao saco do cirro, variando de pouco enrolada a semi-reta. Esfíncter vaginal e receptáculo seminal presentes. Ovário bilobado em visão frontal e em forma de X em cortes transversais, próximo à extremidade posterior da proglótide; lobos assimétricos; lobo aporal com 168,3-1108,8 de comprimento, se estendendo anteriormente até o nível do estrangulamento do segmento; lobo poral com 79,2-514,8 de comprimento e se estende anteriormente além do nível do istmo ovariano na maioria dos espécimes. Ovário com 89,1-544,5 de largura na altura do istmo. Folículos vitelínicos laterais, vitelária se estendendo do nível da glândula de Mehlis até próximo da extremidade anterior da proglótide, interrompida próximo ao poro genital. Proglótides grávidas com 970,2 –6019,2 de comprimento por 178,2-990,9 de largura, desprovidas de gônadas. Útero em forma de saco, com divertículos laterais.

Sumário Taxonômico

Hospedeiro-tipo: Potamotrygon orbignyi (Castelnau, 1855)

Local de infecção: válvula espiral.

Localidade-tipo: Rio Amazonas, Maicuru, Pará, Brasil.

Localidades adicionais: Lago Maracaibo, Venezuela; Rio Salobra, Miranda, MS (S20°12'59.34", W56°29'42.95"); Rio Mutum, Barão de Melgaço, MT (S16°17'55.6794", W 55°48'13.3194"); Rio Jamari, Itapoã do Oeste, RO (S9°4'33.96", W63°18' 17.64"), Rio Purus, Lago Novo, Boca do Acre, AM (S8°44'45.6", W67°22'51.6"); Rio Abacaxis, Borba, Com. Maruin, AM (S4°16'58.0794", W58°36'42.48"); Rio Urariquera, Boa Vista, RR (N3°22'51.9594", W60°35'44.1594"); Rio Teles Pires, Apiacás, Pousada Santa Rosa, MT (S8°46'45.1194", W57°27'55.44"); Rio Jamanxin, Novo Progresso, PA (S 7°9'30.24", W55°25'55.92"), Rio Paraguai, Igarapé Padre Inácio, Cáceres, MT (S16°14'27.63", W57°47'8.92"); Baía de Marajó, Rio Arari, Ig. do Urubu, Cachoeira do Arari, PA (S0°59'58.2", W48°57'52.5594"); Confluência dos Rios Poti e

Parnaíba, Teresina, PI (S5°2'10.6794", W42°50'17.8794"); Rio Negro, Barcelos, AM (múltiplas localidades, ver Tabela 8); Rio Solimões, Ilha do Aramaça, Tabatinga, AM (S4°20'16.8", W69°54'1.08"); Rio Tapajós, Com. Piauí, Santarém, PA (S2°17'3.84", W55°0' 13.6794"); Rio Tocantins, confluência do Rio Manual Alves, Ipueiras, TO (S11°15'48.52", W48°26'56.79"); Rio Uruguai, Porto Xavier, RS (S27°53'44.75", W55°13' 29.78").

Hospedeiros adicionais: Potamotrygon constellata, P. motoro, P. yepezi, P. falkneri, P. henlei, P. leopoldi, P. schroederi, P. scobina; novos registros: P. brachyura, P. signata, P. sp_jam, P. sp_tpj1, P. sp_tpj2, P. sp_mar1, P. sp (cururu), P. sp (Rio Negro), P. sp_sol, P. humerosa, P. sp_toc2.

Material examinado: *R. circularisi*: parátipos HWML 21020 (6 espécimes completos, 1 incompleto, 2 imaturos, 1 escoléx), USNPC 76362 (1 espécime completo). *R. freitasi*: CHIOC 31.486b-e (proglótides soltas, proglótides imaturas, 1 lâmina contendo uma escólex e 1 lâmina contendo 2 escóleces). Detalhes do material tipo examinado estão na Tabela 3. Preparações totais adicionalmente examinadas, 280 espécimes no total, estão depositadas no Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo sob os números MZUSP 6516-6596 e *vouchers* de MEV sob os números MZUSP 6599-6615, 6618-6627, 6630-6634, 6636-6643.

Comentários

Na mais recente revisão do gênero *Rhinebothroides*, Marques & Brooks (2003) consideraram *R. circularisi*, parasita de *Potamotrygon circularis* (=*P. motoro* ou *P. constellata*, de Carvalho *et al.*, 2003) e *R. venezuelensis*, parasita de *Potamotrygon orbignyi*, ambas originalmente coletadas no Delta do Rio Orinoco, Venezuela, como sinonímias júnior de *R. freitasi*. Ao examinar o material tipo das três espécies nominais, Marques & Brooks (2003) reportaram que os dados morfométricos e merísticos destas espécies exibiam variação intraespecífica com sobreposição, impedindo que os mesmos fossem utilizados na diagnose destas espécies nominais, especialmente no número de testículos e o formato do lobo poral ovariano. Estas foram as observações utilizadas

por esses autores para propor as sinonímias de R. freitasi.

No entanto, esses autores ignoraram a posição relativa do lobo aporal ovariano em relação ao estrangulamento da proglótide e argumentaram que esse caráter apresenta variação morfológica intraespecífica como observado para o lobo poral ovariano. No presente estudo *R. circularisi* foi considerada sinônimo júnior de *R. freitasi*, baseado na reinterpretação de alguns caracteres, no exame da série tipo destas espécies e no exame de 280 espécimes coletados em 16 localidades provenientes de 16 espécies de hospedeiros.

Até o presente momento, *R. freitasi* é uma espécie nominal diagnosticada principalmente pela ausência de caracteres discretos. Outros membros do gênero apresentam características únicas, como por exemplo, a presença de células glandulares em torno do poro genital (*e.g. R. glandularis* e *R. mclennanae*), vitelária não interrompida ao nível do poro genital e segmentos relativamente robustos (*e.g. R. scorza*i) ou microtríquias que lembram espinhos no cirro (*e.g. R. moralarai*). Nenhuma característica discreta, como aquelas que garantem a diagnose destas espécies, foi até o presente identificada em membros de *R. freitasi*. No entanto, o exame da série tipo de *R. freitasi* e *R. venezuelensis* revelou uma característica importante relacionada à posição relativa da extremidade anterior do lobo aporal do ovário. Em *R. freitasi*, o lobo aporal do ovário nunca transcende o limite do estrangulamento da proglótide e está, portanto, restrito a região posterior do segmento. *Rhinebothroides freitasi* difere de *R. venezuelensis* justamente na extensão do lobo aporal do ovário, sendo que em *R. venezuelensis* este ultrapassa o nível do estrangulamento. Adicionalmente, o lobo poral de *R. venezuelensis* se estende até o nível do istmo ovariano, enquanto que em *R. freitasi* o lobo poral pode ou não ultrapassar o nível do istmo do ovário podendo alcançar o nível mediano do saco do cirro.

Os dados merísticos e morfométricos não aparentam conter informação taxonômica para estas espécies nominais (Tabelas 9 e 10). A obtenção destes dados para aproximadamente 400 espécimes revelou que estes atributos morfológicos exibem variabilidade intraespecífica que resulta

55

em sobreposição de valores, principalmente em relação ao tamanho dos indivíduos e de seus órgãos reprodutivos. Diante disso, *R. freitasi* é considerada como uma espécie válida dentro do gênero *Rhinebothroides*.

Discussão

Delimitação de espécies em <u>Rhinebothroides</u>: dados moleculares e morfológicos

A compreensão dos mecanismos responsáveis pela diversificação biológica só é possível diante do reconhecimento de linhagens historicamente isoladas. No entanto, o reconhecimento destas linhagens históricas não é trivial, pois depende da disponibilidade de material biológico representativo e, muitas vezes, do uso de ferramentas que permitam acessar o conteúdo informativo de diferentes fontes de dados. A conjunção entre dados morfológicos e moleculares têm apresentado resultados valiosos para a sistemática de vários grupos de Metazoa (ver referências na Introdução). Este estudo deve ser considerado mais um exemplo desta abordagem, pois pela primeira vez na história taxonômica de *Rhinebothroides* as espécies são definidas pela circunscrição morfológica e molecular de grupos monofiléticos.

Atualmente existem 8 espécies nominais dentro do gênero *Rhinebothroides*, das quais 5-6 são consideradas válidas. No entanto, algumas práticas taxonômicas adotadas até o momento têm resultado na descrição de espécies baseadas em caracteres equívocos. Hoje, estes caracteres não permitem a diagnose de algumas espécies em posse de amostras de diferentes regiões e hospedeiros. Tradicionalmente, os estudos taxonômicos em *Rhinebothroides* têm se baseado em um número restrito de espécimes, em geral coletados de apenas uma espécie de hospedeiro de uma ou poucas localidades próximas (Brooks *et al.*, 1981a; Brooks & Amato, 1992; Mayes *et al.*, 1981; Ivanov, 2004). A representatividade biogeográfica destes estudos aliada à quantidade de espécimes disponível a esses autores são, em parte, responsáveis pela formulação de conceito de espécies nominais circunscritas por caracteres que hoje se questiona seu valor taxonômico. Evidencia-se que

a pouca disponibilidade de material biológico não permitiu a muitos autores avaliar de maneira adequada a variabilidade morfológica intra/interespecífica exibida por esses organismos. A compreensão desta variabilidade morfológica, que somente foi possível após o exame de aproximadamente 400 exemplares provenientes de 6 bacias hidrográficas e 28 hospedeiros, sugere que caracteres uma vez considerados discretos, são parte de um contínuo que inviabiliza totalmente seu uso em diagnoses – um problema que já havia sido identificado por Marques & Brooks (2003) e usado para justificar algumas sinonímias no gênero.

A abrangência biogeográfica e de hospedeiros das amostras disponíveis para este estudo permitiu obter dados morfológicos e um padrão filogenético baseado em dados moleculares para diversas populações do gênero que propicia a um esquema taxonômico para *Rhinebothroides* robusto. A conjunção destes dados permitiu a melhor compreensão dos limites de variação morfológica das linhagens de *Rhinebothroides*, principalmente no que se refere àqueles caracteres tradicionalmente utilizados na taxonomia do grupo.

O contraste entre padrões topológicos e parâmetros morfométricos sugere que muitos dos caracteres utilizados tradicionalmente na taxonomia de *Rhinebothroides* (*e.g.*, número de testículos e número lóculos em cada botrídio) exibem padrões de variação desconsiderados anteriormente. Um exemplo que sustenta essa asserção é ilustrado pelo padrão de variação morfológica exibida pelos membros do clado C (Fig. 4). Este clado, aqui considerado *R. moralarai*, é formado por haplótipos com distância igual ou pouco superior a zero, portanto exibindo baixa divergência molecular para ITS-2, 28S e COI, amostrados de uma única região biogeográfica, médio Rio Negro. Esta espécie foi originalmente descrita como *Rhinebothrium moralarai*, parasita de *Potamotrygon magdalenae*, do Rio Magdalena, Colômbia (Brooks & Thorson, 1976). Brooks *et al.* (1981a) consideraram que esta espécie possui 45-47 lóculos em cada botrídio e 54-71 testículos por segmento e utilizou estes caracteres para diferenciar esta espécie das demais espécies do gênero. Marques & Brooks (2003) registraram esta espécie para o médio Rio Negro como parasita de uma espécie ainda não descrita

de Potamotrygon (Figura 14A). De acordo com esses autores, espécimes de *R. moralarai* encontrados no Rio Magdalena possuem 51-63 lóculos em cada botrídio e 55-63 testículos por segmento, ao passo que aqueles provenientes do Rio Negro possuem 49-55 e 43-69, respectivamente. Embora não tenha sido possível incluir haplótipos de *R. moralarai* do Rio Magdalena neste estudo, esse clado demonstra que a coesão molecular dos haplótipos do Rio Negro é seguida de considerável variação morfológica para parâmetros uma vez creditados como taxonomicamente relevantes. Vale ressaltar que estes e outros atributos morfométricos e merísticos encontrados para *R. moralarai* se sobrepõem àqueles reportados para *R. glandularis* e *R. freitasi* em Marques & Brooks (2003:1003).

O mesmo padrão de congruência entre estrutura cladística e variação morfológica é exibida por membros do clado B, aqui atribuídos à R. scorzai. Este clado inclui haplótipos obtidos da Ilha de Marajó, mas provenientes de duas espécies de hospedeiros, Potamotrygon motoro e Potamotrygon sp marl (uma espécie não descrita do gênero). Esta espécie foi originalmente descrita como parasita de P. orbignyi do delta do Orinoco (Fig. 14A) por Lopéz-Neyra & Diaz-Ungriá (1958), que registraram a presença de 60-80 lóculos por botrídio e 86-98 testículos por segmento. Brooks et al. (1981a) registraram esta espécie para outros dois hospedeiros no delta do Orinoco, Paratrygon aiereba e Potamotrygon motoro. Posteriormente, Marques & Brooks (2003) registraram esta espécie para P. motoro e P. orbignyi no baixo Amazonas - Ilha de Marajó. No entanto, é muito provável que o registro de Marques & Brooks (2003) para P. orbignyi deva ser atribuído à espécie ainda não descrita de Potamotrygon, a mesma para as quais obtivemos nossas amostras moleculares. Se considerarmos os dados obtidos por Marques & Brooks (2003) para R. scorzai provenientes do baixo Amazonas, os membros do clado B possuem 63-127 lóculos por botrídio e 65-98 testículos. A inclusão dos limites inferiores e posteriores obtidos pelo re-exame do material atribuído a R. scorzai por Brooks et al. (1981a) e pela descrição original de Lopéz-Neyra & Diaz-Ungriá (1958) provenientes do Orinoco estenderia a amplitude de variação desses parâmetros



Figura 14. Mapas de distribuição para as espécies de *Rhinebothroides* reconhecidas neste estudo. A - Distribuição de *R. scorzai* (vermelho) e *R. moralarai* (amarelo). B - Distribuição de *R. glandularis*. C - Distribuição de *R. venezuelensis*. D - Distribuição de *R. freitasi*. Setas indicam a localidade tipo para cada espécie.

merísticos para 60-127 lóculos por botrídio e 59-98 testículos (veja Marques & Brooks, 2003:1017; Apêndice IV). Mesmo desconsiderando o impacto na amplitude destes parâmetros ao levar em consideração a população do Orinoco, uma vez que não foi possível incluir representantes desta população na análise cladística apresentada neste estudo, é evidente que a variação morfológica do clado B espelha aquela encontrada para o clado C. Esta observação sugere que estes atributos morfológicos têm pouco, ou nenhum, valor taxonômico para estas espécies.

Para os exemplos acima, embora tenhamos demonstrado a inutilidade de dados morfométricos e merísticos na diagnose destas espécies, ainda restam caracteres morfológicos que servem para identificar membros destes clados. Membros de *Rhinebothroides moralarai* (clado C) são caracterizados pela presença de espinitríquias no cirro, enquanto que outras espécies do gênero apresentam filitríquias no órgão copulatório (Figs. 4 e 9). Comparada com as demais espécies do gênero, membros de *R. scorzai* (Clado B) apresentam segmentos robustos, estróbilo craspedoto, testículos organizados em três fileiras e ausência de interrupção da vitelária ao nível do poro genital (Fig. 8). A presença de atributos morfológicos inequívocos para os membros destes clados explica em parte, porque, dentre as demais espécies atribuídas à *Rhinebothroides*, estas duas espécies possuem um histórico taxonômico mais simples em relação às demais. Adicionalmente, demonstra a congruência de dados moleculares com a morfologia destes haplótipos.

Um exemplo mais complexo, tanto taxonomicamente, quanto em relação a padrões de distribuição (Fig. 14B) e variação morfológica e molecular pode ser observado para os membros do clado A (Figs. 4 e 7). Todos os membros desse clado possuem células glandulares próximas à região do poro genital em conformidade com a morfologia de duas espécies nominais, *R. glandularis* e *R. mclennanae*. Destas, Marques & Brooks (2003) consideram *R. mclennanae* sinonímia júnior de *R. glandularis*, ao passo que Ivanov (2004) considera ambas espécies válidas. *Rhinebothroides glandularis* foi descrita por Brooks *et al.* (1981a), parasita de *Potamotrygon orbignyi* (identificado como *P. histrix* na descrição original) do delta do Orinoco, Venezuela. *Rhinebothroides mclennanae*

foi descrita por Brooks & Amato (1992), parasita de *P. motoro* coletado próximo a Corumbá, Mato Grosso do Sul, Brasil. A sinonímia de Marques & Brooks (2003) foi justificada pela observação de que os dados merísticos e morfométricos considerados para diagnosticar estas espécies exibiam sobreposição impedindo a circunscrição precisa entre estas espécies nominais com base nestes caracteres. Um ano mais tarde, Ivanov (2004) sugeriu que estas espécies poderiam ser diferenciadas pela morfologia do ovário, argumentando que em membros de *R. mclennanae* o ovário tem formato de "A" invertido enquanto que em *R. glandularis* essa estrutura tem forma de "H".

O exame da estrutura cladística para os haplótipos atribuídos a este complexo *R*. *mclennanae/R. glandularis* revela dois sub-clados, cada um restrito à regiões biogeográficas para as quais estas duas espécies nominais foram originalmente descritas (*i.e.* Bacias do Prata e Orinoco/Amazônica). De acordo com o conceito de *R. mclennanae* de Brooks & Amato (1992) e Ivanov (2004), esta espécie está restrita à Bacia do Prata (*i.e.*, Paraná e Paraguai) e parasitam uma única espécie de potamotrigonídeo, *Potamotrygon motoro*. Marques & Brooks (2003), por sua vez, acreditam que *R. glandularis* está amplamente distribuída pela Bacia Amazônica e Orinoco, além de um registro para o Rio Paraguai proveniente do material utilizado na descrição de *R. mclennanae*, parasitando pelo menos seis espécies distintas de potamotrigonídeos. Desta forma, poder-se-ia argumentar que cada um desses sub-clados correspondem a uma dessas espécies nominais, cada qual restrita a uma bacia hidrográfica.

A dicotomia entre haplótipos morfologicamente semelhantes obtidos das bacias Amazônica e do Prata não é singular para este clado. Este padrão é também observado nos clados D e E (Fig. 4, discutidos detalhadamente abaixo). Marques & Brooks (2003) já haviam demonstrado que os caracteres merísticos e morfométricos utilizados na diagnose destas espécies nominais apresentavam sobreposição, porém eles não consideraram a morfologia do ovário como potencial caráter diagnóstico. O exame dos parátipos de *R. glandularis* (Tabela 3) revelam que, de fato, as extremidades posteriores dos lobos ovarianos não estão em contato, diferindo do que se observa nos parátipos de *R. mclennanae* os quais aparentam estar em contato ou até mesmo fundidos (Tabela 3). Portanto, baseando-se apenas na limitada série tipo destas duas espécies nominais, teríamos um caráter morfológico que identificaria cada um dos sub-clados encontrados no clado A. No entanto, tal congruência está limitada a esses exemplares.

Caso a morfologia do ovário seja de fato diagnóstica para essas espécies nominais, esperaríamos encontrar um padrão congruente com a estrutura cladística do clado A. A previsão seria de que encontraríamos consistência morfológica nos ovários de indivíduos pertencentes às bacias Amazônica e do Prata, assumindo que, embora espécimes do Orinoco não tenham sido contempladas neste estudo, os haplótipos Amazônicos representam a espécie nominal *R. glandularis*. Estas expectativas se diluem ao constatar que, da mesma forma que muitos atributos morfométricos e merísticos, a forma do ovário é variável entre os exemplares confinados a cada uma dessas bacias hidrográficas.

Embora a resolução taxonômica do complexo *R. glandularis/R. mclennanae* esteja além do escopo deste estudo, uma análise preliminar revela que a morfologia do ovário não é consistente dentro do grupo, se apresentando em forma de "A" invertido na maior parte dos espécimes examinados. Representantes obtidos dos mesmos hospedeiros e localidades que os haplótipos Amazônicos apresentaram variação na morfologia do ovário como demonstrado na Figura 7A-E. Apesar de não ter sido possível a inclusão de representantes da fauna do médio Rio Negro para esse clado, espécimes em conformidade com a morfologia de *R. glandularis/R. mclennanae* obtidos dessa região foram examinados e constatou-se a presença de ambas variações morfológicas para o ovário (Fig. 7C). Embora este complexo mereça um estudo mais detalhado, o que se pode afirmar no momento é que não possuímos nenhum caráter morfológico que possa ser utilizado para diagnosticar membros de cada um destes sub-clados, sugerindo que o clado A deva ser considerado uma única espécie nominal, que por prioridade receberia o nome de *R. glandularis.*

Os haplótipos de Rhinebothroides venezuelensis (clado D, Fig. 4) e R. freitasi (clado E, Fig.

4) exibem estrutura cladística similar àquela observada para *R. glandularis*, no sentido de apresentarem sub-clados restritos às bacias hidrográficas do Amazonas e do Prata. O conceito de *R. venezuelensis* adotado neste estudo inclui a espécie nominal *R. campbelli*, descrita por Ivanov (2004) como parasita de *P. motoro* do Rio Paraná. Desta forma, poderia ser argumentado que cada um destes sub-clados correspondem a uma espécie nominal. No entanto o conceito de espécie adotado neste estudo requer a obtenção de um grupo monofilético baseado em dados moleculares que apresente coerência morfológica. Neste sentido, como foi discutido acima (ver Comentários, página 27), membros do clado D apresentam lobo aporal ovariano que se estende além do estrangulamento médio-posterior da proglótide. Outros atributos morfológicos, como caracteres morfométricos e merísticos, não são passíveis de utilização na diagnose destas populações. Por exemplo, indivíduos do Paraná não diferem daqueles que ocorrem na bacia Amazônica quanto ao número de segmentos (7-20 vs. 8-27), número de testículos (28-58 vs. 25-57) e número de lóculos no botrídio (62-86 vs. 62-80), entre outros caracteres (veja Tabela 9). Com base nestas observações, este estudo reconhece apenas uma espécie para esse clado, *R. venezuelensis* (ver seção Resultados e na Tabela 9).

O mesmo raciocínio é adotado para justificar a validade de *R. freitasi*. A comparação entre o material tipo disponível para *R. freitasi* e *R. circularisi* e os haplótipos representantes dos terminais incluídos no clado E demonstrou que estes exemplares formam um grupo morfologicamente coeso, mesmo diante da existência de dois sub-clados com haplótipos restritos às bacias do Prata e Amazônica. A exemplo do que fora observado em outros casos similares acima, não há atributos merísticos e/ou morfométricos que permita distinguir estas populações (ver seção Resultados e Tabela 10). Desta forma, embora o conceito de *R. freitasi* proposto por Marques & Brooks (2003) inclua erroneamente *R. venezuelensis*, este estudo corrobora a idéia inicialmente proposta por esses autores de que *R. circularisi* deva ser considerada sinonímia júnior de *R. freitasi*.

A estruturação cladística dos haplótipos das espécies distribuídas pelas bacias Amazônica e
do Prata (*i.e.*, *R. glandulares*, *R. venezuelensis* e *R. freitasi*, Fig. 14) sugere segregação e divergência molecular entre indivíduos destas populações. Isto pode explicar a variabilidade morfológica exibida pelos indivíduos representantes destas populações. Embora os dados morfométricos e merísticos não se apresentem como caracteres inequívocos na delimitação das espécies reconhecidas no presente estudo, alguns atributos morfológicos mostraram-se congruentes com a topologia e permitiu identificar algumas das espécies nominais. Deste exercício, observa-se que a conjunção de dados moleculares e morfológicos possibilitou resolver alguns problemas taxonômicos em *Rhinebothroides*. Os resultados deste estudo indicam que das 8 espécies nominais disponíveis atualmente para o grupo, a topologia revela 5 clados para os quais é possível observar características morfológicas diagnósticas congruentes com o material tipo de 5 espécies nominais. Diante desta congruência entre clados e coesão morfológica, este estudo considera 5 espécies como válidas.

Os resultados obtidos nesse estudo questionam os caracteres morfológicos tradicionalmente utilizados na taxonomia do gênero *Rhinebothroides*. Fica evidente que indivíduos coletados em bacias hidrográficas diferentes são em geral atribuídos a espécies diferentes, provavelmente devido a pequenas variações morfológicas intraespecíficas decorrentes da diminuição ou ausência temporária de fluxo gênico entre essas populações. Observa-se que a tomada exaustiva de dados merísticos e morfométricos de espécimes restritos a apenas um hospedeiro e uma localidade não permite a avaliação acurada da variabilidade morfológica encontrada nesses organismos e esta prática é responsável por grande parte dos equívocos taxonômicos em *Rhinebothroides*. Este estudo sugere que o exame de espécimes provenientes de diferentes populações é essencial para a avaliação desta variabilidade e que o uso de dados morfológicos em conjunção com dados moleculares pode levar a identificação de caracteres morfológicos mais consistentes para a taxonomia de *Rhinebothroides*. De maneira geral, estudos que contemplam grande representatividade biogeográfica e de hospedeiros e utilizam dados moleculares de diferentes origens aliados a dados morfológicos, podem revelar não só a existência de espécies crípticas como também nos permitir compreender melhor a variação

intraespecífica de caracteres utilizados na taxonomia destes grupos. O corolário desta prática é a sinonímia de espécies nominais propostas na ausência da compreensão dos padrões de variação do grupo.

Especificidade parasitária

O espectro de espécies de hospedeiros utilizado por um parasita em cada um dos estágios de seu ciclo de vida é uma de suas características evolutivas mais fundamentais (Poulin, 2007). Diante da diversidade de linhagens de Metazoa com hábitos parasitários, espera-se que cada uma delas exiba graus de especificidade distintos. Parasitas podem ser específicos a uma espécie de hospedeiro (alto grau de especificidade), a um estágio do ciclo de vida do hospedeiro (*e.g.*, nematodas do gênero *Gyrinicola*, parasitam apenas girinos, mas pode infectar até 5 famílias diferentes de anuros; Adamson, 1981; Adamson & Caira, 1994), a uma região específica do trato digestivo (e.g., membros de Oxyurida, Adamson & Caira, 1994) ou a um certo número de hospedeiros proximamente relacionados filogeneticamente (Poulin, 2007).

A especificidade parasitária pode ser vista como o resultado da combinação entre eventos históricos e condições ecológicas atuais (Adamson & Caira, 1994; Jex *et al.*, 2006; Randhawa *et al.*, 2007; Poulin, 2007; Poulin & Keeney, 2007). A ocorrência de uma espécie de parasita em mais de uma espécie de hospedeiro pode indicar a permanência de uma linhagem de parasita após eventos de especiação no hospedeiro que resultam da continuidade de fluxo gênico entre as populações de parasitas nos diferentes hospedeiros (Brant & Orti, 2003). Este padrão de infecção (ou distribuição) também pode ser o resultado da colonização de novos hospedeiros (Poulin, 2007). Entretanto, a ocorrência de uma espécie de parasita em apenas uma espécie de hospedeiro sugere eventos de co-divergência (Page & Charleston, 1998), onde a diversificação da linhagem parasita também pode ser simpátrica, ou seja, dentro de uma mesma espécie de hospedeiro, resultando na diversificação da linhagem parasita independente da diversificação da linhagem hospedeira. Observa-se que a

detecção desses eventos de associação histórica é possível somente diante da disponibilidade de hipóteses filogenéticas para ambas as linhagens (parasitas e hospedeiros) de forma a tornar possível a avaliação da congruência entre essas hipóteses. Para identificar os processos responsáveis pela associação entre parasitas e hospedeiros, é essencial que as entidades taxonômicas participantes sejam bem conhecidas para que estudos comparativos dentro de um contexto histórico (*i.e.* considerando filogenias) estejam livres de artefatos taxonômicos que possam obscurecer os padrões e processos responsáveis pela diversificação do sistema. Ao mesmo tempo, fatores ligados tanto à ecologia do hospedeiro quanto à do parasita podem ter um papel importante na manutenção da especificidade. Quando hospedeiros simpátricos são ecologicamente bastante similares, o número de hospedeiros utilizados por uma mesma linhagem parasita pode ser bastante alto (Adamson & Caira, 1994), o que resulta em baixos níveis de especificidade.

Muitos estudos em tetrafilídeos parasitas de elasmobrânquios, especialmente marinhos, têm revelado que esses organismos exibem alto grau de especificidade parasitária (Caira & Jensen, 2001; Healy, 2006; Fyler, 2009). Consequentemente, a maioria de suas espécies possui padrão de especificidade oioxênica (*sensu* Euzet & Combes, 1980), ou seja, a espécie é encontrada em apenas uma espécie de elasmobrânquio. Healy (2006), por exemplo, que considerou os padrões de especificidade em várias espécies de filobothriídeos de diversas partes do mundo, acredita que a maioria das espécies de Phyllobothriidae marinhos exibe especificidade oioxênica. No entanto, a autora lista poucas exceções de espécies que parasitam duas espécies de elasmobrânquio (*e.g., Scalithrium magniphallum, Rhinebothrium ditesticulum, R. urobatidium, R. chilensis e R. flexile*). O estudo de Caira & Jensen (2001), centrado na relação entre onchobothriídeos e seus hospedeiros, sugere que os altos níveis de especificidade observados para membros deste grupo não é resultado de eventos de co-divergência. A incongruência entre as hipóteses filogenéticas de hospedeiros e parasitas, embora tenhamos hipóteses preliminares sobre as relações de parentesco para membros de Elasmobranchii e Onchobothriidae (Caira & Jensen, 2001), demonstra que outros eventos de

associação histórica são responsáveis pela especificidade oioxênica observada para esses parasitas. Campbell & Beveridge (2002) reporta que das 33 espécies do gênero *Acanthobothrium* que parasitam elasmobrânquios da costa australiana, 26 foram registradas para apenas uma espécie de hospedeiro, porém duas delas (*i.e.*, *A. robertsoni* e *A. adlardi*) foram encontradas em oito espécies de elasmobrânquios. Essas observações sugerem que, de maneira geral, representantes marinhos de Tetraphyllidea exibem alto grau de especificidade, embora essa regra não se aplique a todas as espécies. *Acanthobothrium*, em especial, é o gênero mais diverso dentro de Onchobothriidae, ocorrendo em todas as ordens de elasmobrânquios amostrados para o grupo até o momento (Caira & Jensen, 2001). Não é surpresa que as diferentes linhagens dentro de um gênero tão diversificado apresentem diferentes graus de especificidade.

Diferentemente dos padrões comuns encontrados em tetrafilídeos parasitas de elasmobrânquios marinhos, os tetrafilídeos que parasitam as arraias de água doce da América do Sul aparentam ser generalistas. Para os membros do gênero *Potamotrygonocestus*, por exemplo, são reconhecidas apenas 7 espécies parasitando 14 espécies de hospedeiros (Marques *et al.* 2003; Luchetti *et al.*, 2008). Reyda & Marques (em prep.) reconheceram quatro espécies de *Rhinebothrium* para 16 espécies de potamotrigonídeos. O mesmo padrão foi encontrado por Cardoso Jr. (em preparação) que reconhece 5 espécies de *Acanthobothrium* parasitando 25 espécies de arraias de água doce. Assumindo que estes autores documentaram de forma adequada a diversidade dos respectivos grupos em potamotrigonídeos, tudo indica que os padrões de especificidade em tetrafilídeos restritos aos sistemas fluviais Neotropicais diferem do que tem sido documentado para o ambiente marinho.

Por outro lado, essa discrepância poderia representar artefatos taxonômicos resultantes de erros amostrais. Atualmente, são reconhecidas ~ 900 espécies de tetrafilídeos (Caira, 2010) para aproximadamente 300 espécies de elasmobrânquios, embora apenas 1/3 da diversidade deste grupo de hospedeiros tenha sido examinada até o momento (Nelson, 2006, Caira, com. pess.). A

representatividade amostral de potamotrigonídeos utilizada nos estudos citados acima, no entanto, abrange pelo menos 2/3 da diversidade do grupo (Marques & Domingues, 2006; de Carvalho *et al.*, 2003, Deynat, 2006). Portanto, não se pode descartar a possibilidade de que os padrões observados para o sistema marinho não diferem daquele encontrado no sistema fluvial Neotropical, mas que são resultado do relativo baixo esforço amostral que caracteriza os estudos no sistema marinho.

Membros de Rhinebothroides exibem o mesmo padrão observado para outros tetrafilídeos encontrados em potamotrigonídeos. Os resultados obtidos neste estudo sugerem que membros deste gênero exibem especificidade estenoxênica (especificidade ao nível de gênero do hospedeiro, sensu Euzet & Combes, 1980). Com exceção de R. scorzai, que parasita quatro espécies de hospedeiros, incluindo Paratrygon aiereba, todas as outras espécies do gênero parecem infestar apenas membros do gênero Potamotrygon. Rhinebothroides moralarai é registrado para dois hospedeiros, R. glandularis e R. venezuelensis já foram coletados em seis e sete hospedeiros, respectivamente, e R. freitasi possui o maior número de registros, 20 hospedeiros. O número elevado de espécies de hospedeiro para R. freitasi é uma das razões pelas quais se acreditava que essa espécie se tratava de um complexo. À medida que novas espécies de hospedeiros são amostradas, a expectativa seria que novas espécies de parasitas também seriam encontradas, o que não ocorreu para membros de Rhinebothroides até o momento. O padrão observado indica que os potamotrigonídeos provavelmente apresentam hábitos ecológicos bastante similares, permitindo às espécies de tetrafilídeos a colonização de novos hospedeiros com frequência. Adicionalmente, a diversificação de linhagens dentro de Potamotrygonidae parece não ter sido acompanhada pela diversificação das linhagens parasitas, resultando no padrão de distribuição encontrado para membros de Rhinebothroides.

As três espécies de *Rhinebothroides* para as quais há um número elevado de hospedeiros – *R. glandularis, R. venezuelensis* e *R. freitasi* – apresentam também distribuição biogeográfica ampla, incluindo rios das Bacias Amazônica e do Prata (Marques & Brooks, 2003; esse estudo).

Aparentemente, essa ampla distribuição só é possível pelo fato destas espécies terem sido capazes de colonizar um número maior de espécies de hospedeiro. A distribuição biogeográfica e de hospedeiros de *R. venezuelensis* é um caso ilustrativo. Esta espécie é encontrada somente nas válvulas espirais de *Potamotrygon motoro* na Bacia do Prata. No entanto, sua distribuição na Bacia Amazônica não abrange somente esta espécie. *Rhinebothroides venezuelensis* também é amostrada em espécies de potamotrigonídeos com distribuição restrita a essa bacia como *P. orbignyi*, além de quatro espécies não descritas de *Potamotrygon*. Das espécies em fase de descrição, duas ocorrem no Rio Tarauacá, uma no Rio Tapajós e outra no Alto Solimões, esta última vivendo em simpatria com *P. motoro*. A capacidade de colonização de múltiplos hospedeiros resulta, portanto, na expansão da distribuição biogeográfica desta linhagem parasita.

A recuperação de padrões de especificidade parasitária dependem do conhecimento taxonômico tanto pra os parasitas como para seus respectivos hospedeiros e o entendimento dos processos que geram esses padrões dependem do conhecimento filogenético de ambas entidades. Nosso conhecimento destes dois componentes (*i.e.*, conhecimento taxonômico e filogenético) é incipiente. No entanto, assumindo que os padrões de especificidade de tetrafilídeos marinhos não estão relacionados com nenhum artefato taxonômico, e que de fato difere do que observamos em potamotrigonídeos, estes podem estar relacionados tanto com a história como com a diversidade de habitats ocupados pelos diferentes hospedeiros. A diversidade de linhagens de elasmobrânquios encontrada no sistema marinho é sem dúvida muito maior do que aquela observada para o sistema fluvial na América do Sul (Lovejoy, 1996; de Carvalho *et al.*, 2004; Nelson, 2006). Consequentemente, a diversidade de habitats ocupados por essas linhagens também é superior àquela utilizada por potamotrigonídeos. Uma vez que elasmobrânquios de água doce ocupam um espectro menor de habitats, as oportunidades de colonização de novos hospedeiros pelas linhagens parasitas podem se tornar mais frequentes (Adamson & Caira, 1994, Poulin, 2007). Fatores históricos também poderiam ser responsáveis pelos padrões diferenciados observados nesses dois

sistemas. Quando comparada às linhagens marinhas, a diversificação das linhagens de potamotrigonídeos é recente (Lovejoy *et al.*, 1998) em comparação com as linhagens marinhas (Heinecke *et al.*, 2009), o que em parte poderia responder pelos baixos níveis de especificidade observados para os parasitas desse sistema; assumindo que quanto mais longo for o tempo de associação entre parasitas e hospedeiros, maior será a especificidade. No entanto, alguns estudos tem questionado essa premissa, cujos resultados indicam inexisitir tendência ao generalismo ou a altos graus de especificidade em relação ao tempo de associação (Poulin *et al.*, 2006). Associações históricas podem resultar em diferentes graus de especificidade mesmo em parasitas proximamente relacionados filogeneticamente (Poulin *et al.*, 2006). Sendo assim, fatores ecológicos devem influenciar a diversificação e os padrões de especificidade em parasitas de especificidade em parasitas de especificidade em parasitas de especificidade em parasitas proximamente relacionados filogeneticamente (Poulin *et al.*, 2006). Sendo assim, fatores ecológicos devem

Existe ainda a possibilidade de que os padrões de especificidade encontrados para esses dois sistemas sejam na verdade similares, e que as divergências observadas atualmente sejam reflexo do esforço amostral disponível para cada um deles. A representatividade amostral deste estudo inclui uma família bastante diversificada de elasmobrânquios, cujas espécies estão amplamente distribuídas no continente e frequentemente encontram-se vivendo em simpatria. Estudos abordando a fauna parasitária de hospedeiros marinhos são caracterizados por coletas dispersas pelo planeta, sem a centralização de esforços na amostragem em um grupo particular de hospedeiro e/ou a preocupação de obter um número representativo de determinada espécie (parasita e/ou hospedeiro). Esta estratégia oportunista, pulveriza as amostras de parasitas em inúmeros táxons que representam, de forma geral, a diversidade de elasmobrânquios que se conhece até o momento, sem que estas amostras possam fornecer dados sobre a variabilidade das espécies de parasitas e pode determinar os padrões de especificidade reconhecidos para este sistema. Para testar essa possibilidade, é necessário amostrar um grupo de elasmobrânquios marinhos com algumas características similares ao que encontramos em potamotrigonídeos, isto é, um grupo monofilético, com razoável diversidade que apresente algumas linhagens vivendo em simpatria.

Relações filogenéticas de Rhinebothroides e grupos relacionados

As relações filogenéticas da ordem Tetraphyllidea têm recebido nos últimos anos considerável atenção por parte dos parasitologistas que, por um lado, buscam compreender os processos históricos responsáveis pelas associações com seus hospedeiros e os níveis de especificidade exibidos por membros deste grupo (Caira et al., 2001; Caira & Jensen, 2001) e/ou, por outro, procuram propor esquemas taxonômicos mais adequados diante do acúmulo de evidências que apontam para a para/polifilía da própria ordem, bem como seus grupos internos (Olson et al., 1999; Caira et al., 2001; Caira & Jensen, 2001; Healy et al., 2009). Com estes objetivos, diversas hipóteses filogenéticas foram geradas para o grupo nas últimas décadas, baseadas em dados morfológicos (Caira et al., 2001) e moleculares (Olson et al., 1999; Healy et al., 2009). Comuns a todas essas hipóteses são a para/polifilía da ordem e o reconhecimento de que a classificação dos níveis ordinais e subordinais dentro de Cestoda (Khalil et al., 1994) requer revisão. Dentro deste contexto, a divisão de Tetraphyllidea em oito famílias proposta por Euzet (1994) tem sido frequentemente contestada (mesmo que implicitamente), devido a constante resolução polifilética de Onchobothriidae e Phyllobothriidae, duas famílias mais diversas da ordem. Na expectativa de acomodar os resultados destas investigações e propor esquemas taxonômicos cada vez mais congruentes com relações de parentesco, Healy et al. (2009) propuseram a elevação da subfamília Rhinebothriinae, cujos membros consistentemente resultam em um grupo monofilético, ao nível de ordem. Segundo estes autores, nesta nova ordem devem ser inseridas espécies que apresentem botrídios pedunculados em seu escólex, representados pelos gêneros Anthocephalum, Echeneibothrium, Rhabdotobothrium, Rhinebothrium, Rhinebothroides, Scalithrium, Spongiobothrium, Rhodobothium, além de 4 gêneros e um rhinebothriídeo não descritos.

Embora haja suporte molecular e sinapomorfias morfológicas putativas para Rhinebothriidea, a circunscrição e/ou *status* monofilético de seus gêneros ainda aguarda

refinamento. Dentro deste contexto, o gênero *Rhinebothrium* talvez seja a entidade taxonômica que mereça maior atenção devido à evidente polifilía do gênero e a associação de várias de suas espécies com outros gêneros atribuídos à Rhinebothriidea, incluindo *Rhinebothroides*.

Associação filogenética entre membros de *Rhinebothrium* e *Rhinebothroides* tornou-se evidente desde os estudos de Reyda (2007), focados na taxonomia e relações filogenéticas entre membros de *Rhinebothrium* parasitas de potamotrigonídeos. Posteriormente, Healy *et al.* (2009) apresentaram hipóteses filogenéticas para membros de Phyllobothriidae, incluindo representantes de *Rhinebothroides* e *Rhinebothrium* marinhos e dulcícolas. Embora ambos os estudos indiquem a polifilía de *Rhinebothrium*, a baixa representatividade taxonômica em suas filogenias impediu decisões taxonômicas que resultassem na fragmentação do conceito atual de *Rhinebothrium* em dois ou mais gêneros. Isso se deve ao fato de que estudos recentes têm procurado obter melhor resolução filogenética para a ordem Tetraphyllidea (Healy *et al.*, 2009. Olson *et al.*, 1999; Caira & Jensen, 2001) e grupos relacionados (Caira *et al.*, 2001), na expectativa de refinar sua taxonomia com base em grupos naturais (*i.e.* gêneros) ainda são escassos, exceto pelos estudos de Reyda (2007) para *Rhinebothrium* e Brooks e colaboradores (Brooks *et al.*, 1981a; Brooks & Amato, 1992; Zamparo *et al.*, 1999) os quais propuseram hipóteses para as relações de parentesco entre membros de *Rhinebothrides*.

A monofilía do gênero *Rhinebothroides* não foi demonstrada até o momento, embora a presença de lobos ovarianos assimétricos seja considerada uma sinapomorfia putativa para o grupo (Mayes *et al.*, 1981; Marques & Brooks, 2003). Neste estudo, a monofilía de *Rhinebothroides* foi recuperada em 27,7% do espaço de parâmetros analisado, sugerindo que este clado é bastante dependente de parâmetros arbitrários de alinhamento. A parafilía de *Rhinebothroides* é resultado da inserção do clado I (Fig. 4) junto às suas linhagens, um clado representado por espécies de *Rhinebothrium* parasitas de potamotrigonídeos.

Este é o primeiro estudo que utiliza dados moleculares para abordar as relações filogenéticas entre as linhagens do gênero Rhinebothroides. Atualmente existem 3 hipóteses filogenéticas para os membros deste gênero (Figuras 15A-C). A primeira delas foi proposta por Brooks et al. (1981a) baseada em 7 caracteres morfológicos e postulava a existência de dois clados irmãos dentro do gênero (Fig. 15A). Em um deles, R. circularisi era basal a (R. moralarai + R. venezuelensis) e no outro R. scorzai era basal a (R. freitasi + R. glandularis). Posteriormente, Brooks & Amato (1992) reavaliaram as relações de parentesco de Rhinebothroides considerando 9 caracteres morfológicos e a inserção da nova espécie descrita na publicação, R. mclennanae. A topologia apresentada pelos autores não difere, em essência, daquela proposta por Brooks et al. (1981a), exceto pela posição da espécie recém descrita como espécie irmã de R. glandularis (Fig. 15B); uma vez que ambas compartilham a presença de células glandulares próximas a região do poro genital (Figs. 7B e 15). Finalmente, Zamparo et al. (1999), a partir da descrição da suposta espécie-irmã de Rhinebothroides (Pararhinebothroides hobergi, parasita de Urobatis tumbesensis), re-avaliaram a polarização dos caracteres utilizados por Brooks & Amato (1992) e apresentaram uma topologia que pouco difere daquela obtida anteriormente (Brooks & Amato, 1992), exceto pela posição de R. scorzai, que resultou basal ao clado (R. circularisi(R. moralarai+ R. venezuelensis)) (Fig. 15C).



Figura 15. Hipóteses filogenéticas disponíveis para *Rhinebothroides*. A. Hipótese proposta por Brooks *et al.* (1981a). B. Hipótese apresentada por Brooks & Amato (1992). C. Relações filogenéticas definidas por Zamparo *et al.* (1999). D. Hipótese filogenética baseada em dados moleculares realizada neste estudo.

O resultado obtido neste estudo não corrobora as hipóteses propostas anteriormente. Apenas o clado composto por *R. moralarai* e *R. venezuelensis* foi recuperado nas topologias propostas anteriormente (Fig. 15A-D). Essas discrepâncias, como veremos abaixo, muito provavelmente estão relacionadas com os caracteres morfológicos utilizados por estes autores. Tais caracteres foram codificados na ausência de informações que permitissem avaliar a variabilidade interespecífica de cada terminal gerando estados de caráter que não podem ser justificados com base no que se sabe atualmente sobre a morfologia das espécies válidas atribuídas ao gênero.



Figura 16. Otimização dos caracteres propostos por Zamparo *et al.* (1999). 1 – vaso deferente: 0, vaso deferente não expandido; 1, vaso deferente expandido formando a vesícula seminal externa. 2 – lobos ovarianos: 0, lobos ovarianos simétricos; 1, lobos ovarianos assimétricos. 3 – distribuição da vitelária: 0, vitelária interrompida ao nível do poro genital; 1, vitelária não interrompida ao nível do poro genital. 4 – lobo poral do ovário: 0, lobo poral se estende além da margem posterior do saco do cirro; 1, lobo poral se estende até a margem posterior do saco do cirro. 5 – células glandulares próximas ao poro genital: 0, ausentes; 1, presentes. 6 – condição do estróbilo: 0, acraspedoto; 1, craspedoto. 7 – número de testículos por proglótide: 0, média de 39-45; 1, média de 31; 2, média de 53-55; 3, média de 77-80. 8 – número de lóculos por botrídio: 0, 69-79; 1, 49-59; 2, 41-45. 9 – comprimento máximo do saco do cirro: 0, 300 – 400 µm; 1, menor que 200 µm; 2, maior que 500 µm.

A otimização da matriz de dados morfológicos na topologia proposta por Zamparo *et al.* (1999)¹ pode ser utilizada para discutir alguns dos caracteres escolhidos por esses autores, bem

¹ Esta hipótese é aqui adotada como referência uma vez que ela representa a última versão da matriz de dados de Brooks *et al.* (1981a). A otimização de caracteres apresentados por Zamparo *et al.* (1999:538, Figura 5) está errada, o que foi verificado após a otimização da matriz usando os parâmetros de *default* de TNT (versão 1.1, Goloboff *et al.*, 2000). Desta forma, a discussão apresentada aqui é baseada nesta reanálise dos dados cuja distribuição de caracteres na topologia é apresentada na Figura 16.

como revelar alguns possíveis motivos das discrepâncias topológicas entre dados morfológicos e moleculares (Figs. 15A-D e 16). Como foi discutido acima, o único componente comum entre estas hipóteses é a estreita relação de parentesco entre *R. venezuelensis* e *R. moralarai*. De acordo com a otimização de caracteres morfológicos, estas duas espécies compartilham a presença de 49-59 lóculos por botrídio (caráter 8_{11} de Zamparo *et al.*, 1999) e comprimento máximo do saco do cirro menor que 200 µm de comprimento (caráter 9_{11}). A codificação destes caracteres se torna inadequada quando se observa os resultados obtidos por estudos morfológicos baseados em amostras biológicas mais abrangentes biogeograficamente. A análise morfológica realizada por Marques & Brooks (2003) e por este estudo revela que representantes de *R. moralarai* e *R. venezuelensis* apresentam comprimento máximo do saco do cirro de 550 µm (Marques & Brooks, 2003:1016) e 277 µm (Tabela 9) respectivamente. O número de lóculos por botrídio encontrado para essas duas espécies nominais por Marques & Brooks (2003:1016) e este estudo (Tabela 9) também difere daquela reportada por Zamparo *et al.* (1999), sendo 49-63 para *R. moralarai* e 62-86 para *R. venezuelensis*. Vale ressaltar que os valores obtidos para esses caracteres por Marques & Brooks (2003:1010) e este estudo (Tabela 9 e 10) se sobrepõem para todas as espécies nominais do gênero.

De certa forma, as topologias morfológicas concordam com os dados moleculares no que diz respeito os complexo *Rhinebothroides glandulares*. Neste estudo, foi assumido que *R. glandularis* é sinônimo júnior de *R. mclennanae*. Esta última espécie nominal, resulta como grupo-irmão de *R. glandularis* na topologia apresentada por Zamparo *et al.* (1999) por compartilharem a presença de células glandulares na região do poro genital (caráter $5_{(11)}$) – que são conspicuamente coradas durante o processo de preparação de lâminas histológicas – e estróbilo craspedoto (caráter $6_{(11)}$). No entanto, enquanto a presença destas células glandulares é incontestável e evidentemente exclusiva para estas espécies nominais, a condição de estrobilização é questionável. Marques & Brooks (2003) argumentaram que a interpretação da condição do estróbilo é difícil nestes organismos e depende do grau de relaxamento dos espécimes decorrente da fixação do material biológico. A análise morfológica realizada neste trabalho revelou que todas as espécies de *Rhinebothroides* apresentam condição acraspedota, com exceção de *R. scorzai*. Esse caráter, portanto, é uma autapomorfia para essa espécie. Adicionalmente, segundo Zamparo *et al.* (1999), *R. mclennanae* possui como autapomorfia a presença de 31 testículos em média (caráter $7_{(1)}$). Sem entrar no mérito da codificação proposta para números de testículos propostas para esses autores², Marques & Brooks (2003:1003, Fig. 7) já demonstraram que para todas as populações de *R. glandularis* há sobreposição de valores para esse caráter. Desta forma, os dados de Zamparo *et al.* (1999) não justificam a manutenção de *R. mclennanae* como uma espécie válida de *Rhinebothroides*. O único caráter pertinente a estas espécies nominais que não apresenta problemas de codificação é a presença de células glandulares na região do poro genital, considerada aqui uma autapomorfia para *R. glandularis*.

Ao contrário das espécies nominais do complexo *R. glandularis*, as hipótese filogenéticas baseadas em dados morfológicos consistentemente sugerem uma certa distância filogenética entre *R. freitasi* e *R. circularisi*, sendo que a primeira foi considerada no presente estudo como sinonímia sênior da segunda. De acordo com dados morfológicos, *R. freitasi* sempre resultou basal ao clado (*R. mclennanae+R. glandularis*) ao passo que *R. circularisi* sempre resultou basal ao clado (*R. mclennanae+R. glandularis*) ao passo que *R. circularisi* sempre resultou basal ao clado (*R. venezuelensis+R. moralarai*) (Fig. 16). Segundo os dados morfológicos de Zamparo *et al.* (1999), o clado (*R. circularisi* (*R. venezuelensis+R. moralarai*)) é sustentado pelo fato de que nestas espécies o lobo poral ovariano não se estende além da margem posterior do saco do cirro (caráter 4_{111}) e a presença de 53-55 testículos por proglótide em média (caráter 7_{121}). Como foi discutido anteriormente, a codificação do caráter 7 é problemática. Quando avaliamos a forma pela qual o caráter pertinente à posição relativa do lobo poral ovariano foi codificada, encontramos problemas da mesma natureza. Marques & Brooks (2003) justificaram a sinonímia de *R. circularisi* e *R. freitasi* com base na observação de variação intraespecífica para esse caráter em *R. freitasi*

Zamparo *et al.* (1999) sugerem os seguintes estados para o caráter 7: 0 = média de 39-45 testículos por proglótide; 1 = média de 31 testículos por proglótide; 2 = média de 53-55 testículos por proglótide; 3 = média de 77-80 testículos por proglótide.

(Marques & Brooks, 2003:998, Fig. 3) ao passo que este estudo revela variação intraespecífica para o comprimento do lobo poral ovariano para *R. venezuelensis* e *R. freitasi* (Figs. 10 e 12). Temos, portanto que a consistência deste caráter é observada apenas em representantes de *R. moralarai*.

Em outra parte da topologia baseada em dados morfológicos (Fig. 16), o clado (R. freitasi (R. mclennanae+R. glandularis)) é sustentado pela ausência de interrupção da vitelária perto do poro genital (caráter 3_{121}). No entanto, Zamparo *et al.* (1999) aparentemente codificaram erroneamente este caráter. As observações realizadas por Marques & Brooks (2003) revelaram que apenas R. scorzai exibe esse caráter e, embora a morfologia de R. scorzai não tenha sido estudada em detalhes no presente estudo, o exame preliminar de novos espécimes e da série tipo de todas as espécies nominais de *Rhinebothroides* corroboram as observações de Marques & Brooks (2003). Conclui-se que o posicionamento de R. freitasi e R. circularisi resultam de caracteres morfológicos inadequadamente definidos e/ou codificados.

A espécie nominal *R. circularisi* distancia-se ainda mais de *R. freitasi* pela posição basal de *R. scorzai* relativa ao clado (*R. circularisi* (*R. venezuelensis+R. moralarai*)) (Fig. 16) nas filogenia baseadas em dados morfológicos. Esta parte da topologia é sustentada pela presença de 77-80 testículos por proglótide (caráter $7_{[3]}$), 41-45 lóculos por botrídio (caráter $8_{[2]}$) e saco do cirro maior que 500 µm (caráter $9_{[2]}$). Nenhum destes caracteres possui codificação justificada pelas variações encontradas para estes atributos morfológicos dentro de *Rhinebothroides* (Marques & Brooks, 2003). Desta forma, tanto a posição de *R. scorzai*, bem como a distância filogenética entre R. *circularisi* e *R. freitasi* não possui suporte morfológico confiável.

Os trabalhos realizados por esses autores deram início aos estudos de tetrafilídeos parasitas de potamotrigonídeos. São trabalhos exploratórios que se propuseram a documentar a diversidade parasitária desse sistema. Consequentemente, a codificação dos caracteres utilizados na taxonomia de *Rhinebothroides* foi baseada em um número limitado de indivíduos e populações. Adicionalmente, as relações filogenéticas do gênero com os demais grupos dentro de Tetraphyllidea

eram ainda completamente desconhecidas.

Trabalhos recentes mostram que Rhinebothroides está proximamente relacionado a membros de Rhinebothrium (Healy et al., 2009, Reyda, 2007), principalmente das linhagens de água doce. A topologia apresentada na Figura 4 recupera esta associação (clado I, Fig. 4). Healy et al. (2009) incluíram alguns espécimes de ambientes dulcícolas de várias partes do mundo, sendo dois deles parasitas de potamotrigonídeos: um espécime de Rhinebothroides e um espécime de Rhinebothrium, ambos coletados no Rio Madre de Dios, Peru (referidos como Rhinebothroides cf. freitasi e Rhinebothrium sp.8 em Healy et al., 2009). Como resultado, os espécimes da América do Sul formaram um clado, no qual o espécime de Rhinebothrium dulcícola se mostrou mais proximamente relacionado ao espécime de Rhinebothroides do que aos seus congêneres marinhos (Healy, 2006; Healy; et al., 2009; Reyda, 2007). Este é somente um dentre inúmeros clados que apontam para a polifilía de Rhinebothrium. A associação entre linhagens de Rhinebothrium (clado I, Fig. 4) e Rhinebothroides parasitas de potamotrigonídeos foi obtida em 100% do espaço de topologias analisado neste estudo, sugerindo que este clado independe de parâmetros arbitrários de alinhamento. A polifilía de Rhinebothrium, como encontrada nesse estudo (Fig. 4), bem como o que observou Healy et al. (2009), deixa claro que algumas linhagens de filobothriídeos atualmente atribuídas a Rhinebothrium deveriam ser alocadas em outros gêneros. Nesse contexto, as associações entre os clados de Rhinebothroides e Rhinebothrium (clado I) de água-doce sugerem que seus representantes poderiam ser alocados em um único gênero, independente das diferenças morfológicas observadas. No entanto, membros de Rhinebothroides são diagnosticados morfologicamente pela presença de lobos ovarianos assimétricos, uma característica que não está presente em nenhum membro de *Rhinebothrium*. Consequentemente, a expansão do conceito atual de Rhinebothroides para acomodar algumas linhagens de Rhinebothrium resultaria na perda do único caráter que serve como diagnose morfológica para Rhinebothroides. Decisões taxonômicas supra-específicas estão além do escopo deste trabalho e aparentam ser prematuras neste momento

em decorrência da representatividade taxonômica de linhagens marinhas neste estudo filogenético.

Independente da cautela taxonômica adotada neste estudo, os resultados apresentados têm impacto imediato nos protocolos de inferência biogeográficas de Brooks *et al.* (1981b, e autores subsequentes) que utilizaram dados parasitológicos para propor hipóteses de colonização do sistema fluvial Neotropical e relações de parentesco entre potamotrigonídeos e linhagens de elasmobrânquios marinhos. Brooks *et al.* (1981b) consideraram as linhagens dulcícolas de *Rhinebothrium* e *Rhinebothroides*, e consequentemente suas relações de parentesco com tetrafilídeos marinhos, como linhagens distintas e não relacionadas entre si. Para cada um destes gêneros foi derivado um cladograma de área independente. Os resultados deste estudo sugerem que os membros de água doce de *Rhinebothrium* e *Rhinebothroides* formam um único clado e portando uma única peça de evidência biogeográfica.

O uso de dados parasitológicos para inferir a biogeografia histórica de potamotrigonídeos tem sofrido críticas nos últimos anos. O trabalho pioneiro de Brooks *et al.* (1981b) foi severamente criticado (Caira 1990, 1994), especialmente com respeito a clareza da metodologia aplicada e suas respectivas inferências biogeográficas (Lovejoy, 1997, Lovejoy *et al.*,1998; Marques, 2000). Os padrões de colonização propostos por Brooks *et al.* (1981b) não são corroborados pela hipótese filogenética proposta por Lovejoy (1996). Lovejoy (1997) observa que a metodologia empregada pelos autores na reconstrução do cladograma de áreas não foi especificada na publicação, gerando dúvidas com relação às inferências decorrentes desta hipótese. Brooks *et al.* (1981b) postula a monofilía de Potamotrygonidae baseando-se na recuperação da monofilía dos diversos grupos de helmintos por eles utilizados. Lovejoy (1997) ressalta que a monofilía do grupo não deveria se basear somente na monofilía de seus parasitas e sua distribuição biogeográfica. O padrão filogenético encontrado por Brooks *et al.* (1981b) poderia ser o resultado de múltiplos cenários co-evolutivos possíveis que assumem diferentes eventos de associação histórica, como por exemplo a colonização de novos hospedeiros (*i.e. host-switching*) e extinção (Lovejoy, 1997).

A taxonomia da maior parte dos grupos de helmintos utilizados por Brooks *et al.* (1981b) ainda está sendo refinada em decorrência de novos estudos que contemplam o exame de novos esforços de coleta e documentação da fauna de tetrafilídeos parasitas de potamotrigonídeos (*e.g.*, Cardoso Jr., em preparação, para *Acanthobothrium*; Marques *et al.*, 2003, Luchetti *et al.*, 2008 e Luchetti, em preparação para *Potamotrygonocestus*; Reyda, 2007, para *Rhinebothrium*; Healy, 2006, Healy *et al.*, 2009, para *Rhinebothrium* e Rhinebothriinae). Desta forma, é desejável que tenhamos uma melhor compreensão da diversidade destes grupos antes que possamos contemplá-los em análises biogeográficas.

Este é primeiro trabalho que contemplou o uso de dados moleculares e morfológicos na sistemática de *Rhinebothroides*. A análise morfológica realizada neste trabalho revela que a variabilidade intraespecífica encontrada nos diferentes caracteres é muito maior do que se acreditava. Os resultados aqui apresentados questionam as práticas taxonômicas tradicionais que se valem do uso de caracteres morfológicos que se apresentaram contínuos de posse de amostras mais representativas e propõe a circunscrição de espécies com base em grupos monofiléticos que apresentem coesão morfológica definida por características discretas. Como consequência, são reconhecidas apenas cinco das oito espécies nominais já descritas para o gênero. Os resultados indicam que linhagens dulcícolas de *Rhinebothrium* são filogeneticamente próximas de *Rhinebothroides*, e que a adequação da taxonomia de *Rhinebothrium* poderá implicar na re-diagnose de *Rhinebothroides* no futuro. A compreensão das relações entre essas duas linhagens e dos membros de Phyllobothriidae depende de maior representatividade taxonômica em estudos filogenéticos e somente após a obtenção de hipóteses filogenéticas mais representativas essas mudanças taxonômicas devem ser implementadas.

Conclusões

- Pela primeira vez na história taxonômica de *Rhinebothroides* as espécies são definidas pela circunscrição morfológica e molecular de grupos monofiléticos.
- A conjunção destes dados morfológicos e moleculares permitiu a melhor compreensão dos limites de variação morfológica das linhagens de *Rhinebothroides*, principalmente no que se refere àqueles caracteres tradicionalmente utilizados na taxonomia do grupo.
- As espécies de *Rhinebothroides* consideradas válidas (*i.e.*, *R. glandularis*, *R. freitasi*, *R. moralarai*, *R. scorzai* e *R. venezuelensis*) neste estudo, foram definidas pela congruência morfológica entre representantes de 5 clados recuperados pela análise filogenética de dois genes nucleares (ITS-1 e 28S) e um gene mitocondrial e o material tipo disponível para 8 espécies nominais do gênero.
- A filogenia de *Rhinebothroides* apresentada difere das hipóteses anteriores baseadas em dados morfológicos em decorrência de codificação inadequada de caracteres morfológicos que não contemplaram os níveis de variação morfológica encontradas neste grupo.
- A forte associação filogenética entre membros de *Rhinebothroides* e *Rhinebothrium* parasitas de potamotrigonídeos sugere que o status taxonômico deste gênero deverá ser revista. Para tanto, é necessário que haja uma hipótese filogenética para Phyllobothriidae que possua maior representatividade taxonômica do que os estudos disponíveis até o momento.
- Membros de *Rhinebothroides* exibem um padrão de baixa especificidade ao hospedeiro, quando comparado aos padrões de especificidade observados em parasitas de elasmobrânquios marinhos.
 Esse padrão é congruente com outros grupos de helmintos parasitas de potamotrigonídeos (*i.e.*, *Acanthobothrium*, *Potamotrygonocestus* e *Rhinebothrium*).
- Os diferentes padrões de especificidade observados para parasitas de elasmobrânquios marinhos e potamotrigonídeos podem ser um artefato amostral dos grupos marinhos ou o resultado dos diferentes níveis de diversidade ecológica entre estes dois sistemas.

Resumo

Membros do gênero Rhinebothroides são parasitas exclusivos de potamotrigonídeos, elasmobrânquios de água doce endêmicos da região Neotropical. Atualmente, seis espécies são reconhecidas para este gênero dentre as oito espécies nominais disponíveis. A taxonomia de Rhinebothroides é convoluta, pois a maioria de suas espécies são diagnosticadas por caracteres morfométricos e merísticos definidos por estudos que desconsideram a variabilidade intraespecífica destas linhagens. A ampla distribuição de algumas espécies, bem como seus padrões generalistas de especificidade – padrão este discrepante em relação à tetrafilídeos marinhos – sugere a existência de complexos de espécies que requerem melhor refinamento taxonômico. Este estudo visa refinar a taxonomia de um destes complexos - Rhinebothroides freitasi, no qual estão inseridas outras 3 especies nominais (R. campbelli, R. circularisi, R. venezuelensis) cujas circunscrições são ambíguas. Neste estudo, partiu-se da premissa de que a conjunção de dados moleculares e morfológicos pode elucidar a taxonomia deste complexo. Com este objetivo, dados moleculares para os genes 28S, ITS-1 e COI foram compilados para 57 haplótipos de Rhinebothroides representando todas as espécies válidas para o gênero e a ampla distribuição biogeográfica no gênero nas bacias hidrográficas brasileiras. A otimização direta das sequências nucleotídicas destes haplótipos concatenadas com outros 26 terminais que incluem linhagens de tetrafilídeos marinhos e de água doce, resultou em cinco clados de Rhinebothroides que possuem morfologia congruente com a série tipo de cinco espécies nominais. Desta forma, este estudo reconhece cinco espécies de R. glandularis, R. freitasi, R. moralarai, R. scorzai e R. Rhinebothroides como válidas: venezuelensis. Dentre as espécies do complexo R. freitasi, os dados morfológicos compilados para ~ 400 indivíduos permitiu delimitar os níveis de variabilidade morfológica de R. freitasi e R. venezuelensis. A representatividade biogeográfica e de hospedeiros contemplada neste estudo revela que, ao contrário das linhagens de tetrafilídeos marinhos, membros de Rhinebothroides possuem baixa especificidade aos seus hospedeiros.

Abstract

Members of Rhinebothroides are parasites of the Neotropical freshwater stingrays of the family Potamotrygonidae. To date, six species are recognized for the genus within which there are eight nominal species available. The taxonomy of Rhinebothroides is confusing, since most of its species are currently diagnosed by morphometric and meristic characters that have been defined by studies that disregarded the intraspecific variability of its lineages. The widespread distribution of some species, as well as their relaxed host specificity – pattern which differs from what has been documented for marine tetraphyllideans - suggests the existence of species complexes that require taxonomic refinement. This study aims at refining the taxonomy of one of these complexes -Rhinebothroides freitasi, in which are included other three nominal species (R. campbelli, R. circularisi, R. venezuelensis) circumscribed ambiguously. In this study, it has been assumed that the combination of molecular and morphological data can shed some light on the taxonomic status of this complex. Within this framework, molecular data were compiled for 28S, ITS-1, and COI for 57 haplotypes of *Rhinebothroides* representing all currently valid species within the genus and their biogeographical distribution along the major Brazilian river basins. The direct optimization of nucleotide sequences from these haplotypes, simultaneously analised with 26 terminals which included marine and freshwater lineages of tetraphyllideans, generated a phylogenetic hypothesis that recognized five major clades within Rhinebothroides. Each of these clades are morphologically congruent with the type series of five nominal species. Therefore, this study recognizes five valid species within Rhinebothroides: R. glandularis, R. freitasi, R. moralarai, R. scorzai, and R. venezuelensis. Within the R. freitasi complex, the compiled morphological data for ~ 400 specimens provided a robust assessment of intraspecific variability for R. freitasi and R. venezuelensis. The biogeographic and host extensive sampling available for this study reveals that members of *Rhinebothroides* show low host specificity, as opposed to the marine tetraphyllidean lineages.

Literatura Citada

- Aagesen, L. 2005. Direct optimization, affine gap costs, and node stability. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 36: 641-653.
- Aagesen, L.; Pettersen, G. & Seberg, O. 2005. Sequence length variation, indel costs, and congruence in sensitivity analysis. *Cladistics* 21: 15-30.
- Adamson, M.L. 1981. Development and transmission of *Gyrinicola batrachiensis* (Walton, 1929) Adamson, 1981 (Pharynngononidae, Oxyuroidea). *Canadian Journal of Zoology* 59: 1351-1367.
- Adamson, M.L. & Caira, J.N. 1994. Evolutionary factors influencing the nature of parasite specificity. *Parasitology* 109: S85-S95.
- Belyaeva, M. & Taylor, D.J. 2009. Cryptic species within the *Chydorus sphaericus* species complex (Crustacea: Cladocera) revealed by molecular markers and sexual stage morphology. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 50: 534-546.
- Bickford, D.; Lohman, D.J.; Sodhi, N.S.; Ng, P.K.L.; Meier, R.; Winker, K.; Ingram, K.K. & Das, I. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 23: 148-155.
- Brant, S.V. & Ortí, G. 2003. Evidence for gene flow in parasitic nematodes between two host species of shrews. *Molecular Ecology* 12: 2853-2859.
- Brooks, D.R. 1992. Origins, diversification, and historical structure of the helminth fauna inhabiting neotropical freshwater stingrays (Potamotrygonidae). *Journal of Parasitology* 78: 588-595.
- Brooks, D.R. & Amato, J.F.R. 1992. Cestode parasites in *Potamotrygon motoro* (Matterer)
 (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) from Southwestern Brazil, including *Rhinebothroides mclennanae* n. sp. (Tetraphyllidea: Phyllobothriidae), and a revised host-parasite checklist for helminths inhabiting neotropical freshwater stingrays. *Journal of Parasitology* 78: 393–398.
- Brooks, D.R. & Thorson, T.B. 1976. Two tetraphyllidean cestodes from the freshwater stingray *Potamotrygon magdalenae* Duméril, 1852 (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) from Colombia.

Journal of Parasitology 62: 943–947.

- Brooks, D.R.; Mayes, M.A. & Thorson, T.B.. 1981a. Systematic review of cestodes infecting freshwater stingrays (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) including four new species from Venezuela. *Proceeding of the Helminthological Society of Washington* 48: 43–64.
- Brooks, D.R.; Thorson, T.B. & Mayes. M.A. 1981b. Freshwater stingrays (Potamotrygonidae) and their helminth parasites: Testing hypotheses of evolution and coevolution. *In*: Advances in cladistics: Proceedings of the first meeting of the Willi Hennig Society, V. A. Funk and D. R. Brooks, (eds.). New York Botanical Garden, New York, p. 147-175.
- Caira, J. N. 1990. Metazoan parasites as indicators of elasmobranch biology. *In*: Elasmobranchs as living resources: Advances in the biology, ecology, systematics, and behavior, and the status of the fisheries, NOAA Technical Report 90, H. L. Pratt, Jr., S. H. Gruber and T. Taniuchi, (eds.). p. 71-96.
- Caira, J.N. 1994. Parascript: Paragon or parody. Review of Parascript: Parasites and the Language of Evolution, by D. R. Brooks and D. A. McLennan. *BioScience* 44: 771-773.
- Caira, J.N. & Jensen, K. 2001. An investigation of the co-evolutionary relationships between onchobothriid tapeworms and their elasmobranch hosts. *International Journal for Parasitology* 31: 960-975.
- Caira, J.N. 2010. Tetraphyllidea *In*: Global Cestode Database. <u>http://web2.uconn.edu/tapeworm/index.php</u>. Acessado em Janeiro/Fevereiro, 2010.
- Caira, J.N.; Jensen, K. & Healy, C.J. 2001. Interrelationships among tetraphyllidean and lecanicephalidean cestodes. *In*: Interrelationships of the Platyhelminthes, Littlewood, D.T.J. & Bray, R. (eds.). Taylor & Francis, London, p. 135-158.
- Calvo, M.; Templado, J.; Oliverio, M. & Machordom, A. 2009. Hidden Mediterranean biodiversity: molecular evidence for a cryptic species complex within the reef building vermetid gastropod Dendropoma petraeum (Mollusca: Caenogastropoda). *Biological Journal of the Linnean Society*

- Campbell, R.A. & Beveridge, I. 2002. The genus *Acanthobothrium* (Cestoda: Tetraphyllidea:Onchobothriidae) parasitic in Australian elasmobranch fishes. *Invertebrate Systematics* 16: 237-344.
- Cardoso Jr., M. em preparação. Diversidade do gênero *Acanthobothrium* van Beneden, 1850, parasitas de potamotrigonídeos (Myliobatiformes, Potamotrygonidae). Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo.
- Chervy, L. 2009. Unifed terminology for cestode microtriches: a proposal from the International Workshops on Cestode Systematics in 2002–2008. *Folia Parasitologica* 56(3): 199-230.
- Criscione, C.D.; Poulin, R. & Blouin, M.S. 2005. Molecular ecology of parasites: elucidating ecological and microevolutionary processes. *Molecular Ecology* 14: 2247-2257.
- Daniels, S.R.; Picker, M.D.; Cowlin, R.M. & Hamer, M.L. 2009. Unravelling evolutionary lineages among South African velvet worms (Onychophora: Peripatopsis) provides evidence for widespread cryptic speciation. *Biological Journal of the Linnean Society* 97: 200-216.
- de Carvalho, M. R.; Lovejoy, N.R. & Rosa, R.S. 2003. Family Potamotrygonidae (River Stingrays). *In*: Check list of the freshwater fishes of South and Central America, R. E. Reis, S. O. Kullander,
 C. J. Ferraris, Jr (Organizadores). EDIPUCRS, Porto Alegre, Brasil, p. 22-28.
- de Carvalho, M.R.; Maisey, J.G. & Grande, L. 2004. Freshwater stingrays of the Green River formation of Wyoming (early eocene), with the description of a new genus and species and an analysis of its phylogenetic relationships (Chondrichthyes: Myliobatiformes). *Bulletin of the American Museum of Natural History* 284, 136pp.
- de Meeûs, T.; Michalakis, Y. & Renaud, F. 1998. Santa Rosalia revisited: or why are there so many kinds of parasites in 'The Garden of Earthly Delights'? *Parasitology Today* 14: 10-13.
- Detwiller, J.T.; Bos, D.H. & Minchella, D.J. (*in press*). Revealing the secret lives of cryptic species: Examining the phylogenetic relationships of echinostome parasites in North America. *Molecular*

Phylogenetics and Evolution. 10pp. doi:10.1016/j.ympev.2010.01.004.

- Deynat, P. 2006. *Potamotrygon marinae* n. sp., une nouvelle espéce de raies d'eau douce de Guyane (Myliobatiformes, Potamotrygonidae). *Comptes Rendus Biologies*. 329: 483-493.
- Dowton, M. & Austin, A.D. 2002. Increased congruence does not necessarily indicate increased phylogenetic accuracy the behavior of the Incongruence Length Difference Test in mixed-model analyses. *Systematic Biology* 51(1): 19-31.
- Edgecombe,G.D. & Giribet, G. 2009. Phylogenetics of scutigeromorph centipede Myriapoda: Chilopoda) with implications for species delimitation and historical biogeography of the Australian and New Caledonian faunas. *Cladistics* 25: 406-427.
- Euzet, L. and Combes, C. 1980. Les problemes de l'espece chez les animaux parasites. *In*: Les problemes de l'espece dans le regne animal. *Memoirs de la Societe Zoologique de France*. 3: 239-285.
- Euzet, L. 1994. Order Tetraphyllidea Carus, 1863. *In*: Keys to the cestode parasites of vertebrates, L.F. Khalil, A. Jones and R. A. Bray, (eds.). CAB International, Wallingford, Inglaterra, p. 149-194.
- Ewing, B. & Green, P.1998. Basecalling of automated sequencer traces using phred. II. Error probabilities. *Genome Research* 8: 186-194
- Ewing, B.; Hillier, L.; Wendl, M. & Green, P.1998. Basecalling of automated sequencer traces using phred. I. Accuracy assessment. *Genome Research* 8: 175-185.
- Frost, D.R.; Rodrigues, M.T.; Grant, T. & Titus, T.A. 2001. Phylogenetics of the lizard genus *Tropidurus* (Squamata: ropiduridae: Tropidurinae): direct optimization, descriptive efficiency, and sensitivity analysis of congruence between molecular data and morphology. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 21(3): 352-371.
- Fyler, C.A. 2009. Systematics, biogeography and character evolution in the tapeworm genus Acanthobothrium van Beneden, 1850. Tese de Doutorado. University of Connecticut. Storrs, Connecticut, EUA. xiii+182pp.

- Giribet, G. 2001. Exploring the behavior of POY, a program for direct optimization of molecular data. *Cladistics* 17: 60–70.
- Giribet, G. & Edgecombe, G.D. 2006. Conflict between datasets and phylogeny of centipedes: an analysis based on seven genes and morphology. *Proceedings of the Royal Society B* 273: 531–538.
- Giribet, G.; Edgecombe, G.D. & Wheeler, W.C. 2001. Arthropod phylogeny based on eight molecular loci and morphology. *Nature* 413: 157-161.
- Goloboff, P.A.; Farris, J.S. & Nixon, K.C. 2008. TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics* 24: 774–786.
- Goodman, S.M.; Maminira, C.P.; Bradman, H.M.; Christidis, L.; & Appleton, B. 2009b. The use of molecular phylogenetic and morphological tools to identify cryptic and paraphyletic species: examples from the diminutive long-fingered bats (Chiroptera: Miniopteridae: Miniopterus) on Madagascar. *American Museum Novitates* 3669: 1-34.
- Goodman, S.M.; Maminira, C.P.; Weyeneth, N.; Bradman, H.M.; Christidis, L.; Ruedi, M. & Appleton, B. 2009a. The use of molecular and morphological characters to resolve the taxonomic identity of cryptic species: the case of *Miniopterus manavi* (Chiroptera, Miniopteridae). *Zoologica Scripta* 38: 339-363.
- Gordon, D.; Abajian, C. & Green P. 1998. Consed: A graphical tool for sequence finishing. *Genome Reasearch* 8: 195-202.
- Gordon, D.; Desmarais, C. & Green, P. 2001. Automated finishing with Autofinish. *Genome Research* 11: 614-625.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis. Program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acid Symposium* 41: 95-98.
- Healy, C.J. 2006. A revision of selected Tetraphyllidea (Cestoda): *Caulobothrium*, *Rhabdotobothrium*, *Rhinebothrium*, *Scalithrium*, and *Spongiobothrium*. Tese de Doutorado.

University of Connecticut. Storrs, Connecticut, EUA. xiv+327pp.

- Healy, C.J.; Caira, J.N.; Jensen, K.; Webster, B.L. & Littlewood, D.T.J. 2009. Proposal for a new tapeworm order, Rhinebothriidea. *International Journal for Parasitology* 39: 497-511.
- Heinicke, M.P.; Naylor, G.J.P. & Hedges, S.B. 2009. Cartilaginous fishes (Chondrichthyes). *In*: The timetree of life. Hedges S. B. & Kumar S. (eds.) Oxford University Press, New York. pp 320-327.
- Ivanov, V.A. 2004. A new species of *Rhinebothroides* Mayes, Brooks & Thorson, 1981 (Cestoda: Tetraphyllidea) from the ocellate river stingray in Argentina, with amended descriptions of two other species of the genus. *Systematic Parasitology* 58: 159–174.
- Jex, A.R.; Schneider, M.A. & Cribb, T.H. 2006. The importance of host ecology in thelastomatoid (Nematoda: Oxyurida) host specificity. *Parasitology International* 55:169-174.
- Jousson, O.; Bartoli, P. & Pawlowski, J. 2000. Cryptic speciation among intestinal parasites (Trematoda: Digenea) infecting sympatric host fishes (Sparidae). *Journal of Evolutionay Biology* 13; 778-785.
- Khalil, L.F., Jones, A. & Bray, R.A. (eds.), 1994. Keys to the Cestode Parasites of Vertebrates. CAB International, Wallingford, U.K.
- Lake, J.A. 1991. The order of sequence alignment can bias the selection of tree topology. *Molecular Biology and Evolution* 8(3): 378-385.
- Leung, T.L.F.; Keeney, D.B. & Poulin, R. 2009. Cryptic species complexes in manipulative echinostomatid trematodes: when two become six. *Parasitology* 136: 241-252.
- Lopéz-Neyra, C. R. & Díaz-Ungría, C. 1958. Cestodes de Venezuela.V. Cestodes de Vertebrados Venezolanos (segunda nota). *Nova Cientia* 23: 1–41.
- Lovejoy, N.R. 1996. Systematics of myliobatoid elasmobranchs: with emphasis on the phylogeny and historical biogeography of neotropical freshwater stingrays (Potamotrygonidae: Rajiformes). *Zoological Journal of the Linnean Society* 117: 207-257.

Lovejoy, N.R. 1997. Stingrays, parasites, and Neotropical biogeography: a closer look at Brooks et

al.'s hypotheses concerning the origins of Neotropical freshwater rays (Potamotrygonidae). *Systematic Biology* 46: 218-230.

- Lovejoy, N.R; Bermingham, E. & Martin, A.P. 1998. Marine incursion into South America. *Nature* 396: 421-422.
- Luchetti, N.M. em preparação. Sistemática de *Potamotrygonocestus* Brooks & Thorson, 1976 (Eucestoda: Tetraphyllidea), parasitas de potamotrigonídeos (Myliobatiformes, Potamotrygonidae). Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo.
- Luchetti, N.M.; Marques, F.P.L. & Charvet-Almeida, P. 2008. A new species of *Potamotrygonocestus* Brooks & Thorson, 1976 (Eucestoda: Tetraphyllidea) from *Plesiotrygon iwamae* Rosa, Castello & Thorson (Mylliobatoidea: Potamotrygonidae) and a redescription of *Potamotrygonocestus chaoi* Marques, Brooks & Araujo, 2003. *Systematic Parasitology* 70: 131-142.
- Marlier, G. 1967. Ecological studies on some lakes of the Amazon Valley. Amazoniana 1: 91-115.
- Marques, F. P. L. 2000. Evolution of Neotropical freshwater stingrays and their parasites: Taking into account space and time. Tese de Doutorado, University of Toronto, Ontario, Canada, xx+322 pp.
- Marques, F.P.L. & Brooks, D.R. 2003. Taxonomic Revision of *Rhinebothroides* (Eucestoda: Tetraphyllidea: Phyllobothriidae), parasites of Neotropical freshwater stingrays (Rajiformes: Myliobatoidei: Potamotrygonidae). *Journal of Parasitology* 89(5): 994-1017.
- Marques, F.P.L. & Domingues, M. V. (Eds.). 2006. *In*: Banco de dados do Laboratório Helmintologia Evolutiva, Universidade de São Paulo. Acessado múltiplas vezes no endereço <u>http://www.ib.usp.br/hpc</u>.
- Marques, F.P.L.; Brooks, D.R. & Araújo, M.L.G. 2003. Systematics and phylogeny of *Potamotrygonocestus* (Platyhelminthes: Neodermata: Eucestoda: Tetraphyllidea: Onchobothriidae) with descriptions of three new species from freshwater potamotrygonids

(Myliobatoidei: Potamotrygonidae). Zoologia Scripta 32: 367-396.

- Mayes, M. A., Brooks, D.R. & Thorson, T.B. 1981. Two new tetraphyllidean cestodes from *Potamotrygon circularis* Garman (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) in the Itacuaí River, Brazil. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 48: 38–42.
- Mickevich, M.F. & Farris, J.S. 1981. The implications of congruence in *Menidia*. *Systematic Zoology* 30: 351-370.
- Morrison, D.A. & Ellis, J.T. 1997. Effects of nucleotide sequence alignment on phylogeny estimation: a case study of 18s rDNAs of Apicomplexa. *Molecular Biology and Evolution* 14: 428–441.
- Nelson, J. S. 2006. Fishes of the World. Quarta edição. John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey. 601 pp.
- Olson, P.D.; Ruhnke, T.R.; Sanney, J. & Hudson, T. 1999. Evidence for host-specific clades of tetraphyllidean tapeworms (Platyhelminthes: Eucestoda) revealed by analysis of 18S ssrDNA. *International Journal for Parasitology* 29: 1465-1476.
- Page, R.D.M. & Charleston, M.A. 1998. Trees within trees: phylogeny and historical associations. *Trends in Ecology & Evolution* 13: 356-359.
- Pfenninger, M. & Schwenk, K. 2007. Cryptic animal species are homogeneously distributed among taxa and biogeographical regions. *BMC Evolutionary Biology* 7: 121.
- Phillips, A.; Janies, D. & Wheeler, W.C. 2000. Multiple sequence alignment in phylogenetic analysis. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 16(3): 317–330.
- Poulin, R. & Keeney, D.B. 2007. Host specificity under molecular and experimental scrutiny. *TRENDS in Parasitology* 24: 24-28.
- Poulin, R. & Morand, S. 2000. The Diversity of Parasites. *The Quarterly Review of Biology* 75(3): 277-293.
- Poulin, R. 2007. Evolutionary Ecology of Parasites. Princeton University Press, New Jersey,

x+332p.

- Poulin, R.; Krasnov, B.R.; Shenbrot, G.I.; Mouillot, D. & Khokhlova, I.S. 2006. Evolution of host specificity in fleas: Is it directional and irreversible? *International Journal for Parasitology* 36: 185-191.
- Ramirez, M.J. 2006. Further problems with the incongruence length difference test: "hypercongruence" effect and multiple comparisons. *Cladistics* 22: 289-295.
- Randhawa, H.S.; Saunders, G.W. & Burt. M.D.B. 2007. Establishment of the onset of host specificity in four phyllobothriid tapeworm species (Cestoda: Tetraphyllidea) using a molecular approach. *Parasitology* 134:1291-1300.
- Rego, A. A. 1979. Contribuição ao conhecimento dos helmintos de raias fluviais Paratrygonidae.Revista Brasileira de Biologia 39: 879–890.
- Rembaut, A. 2007. Figtree v1.3.1. *In <u>http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/</u>. Acessado em Dezembro, 2009.*
- Reyda, F.B. 2007. Patterns of diversity and host specificity in the cestodes Neotropical freshwater stingrays. Tese de Doutorado. University of Connecticut. Storrs, Connecticut, EUA. xiv+217pp.
- Reyda, F.B. & Marques, F.P.L. em preparação. Species boundaries in Neotropical freshwater lineages of *Rhinebothrium* (Eucestoda: Tetraphyllidea) parasites of Potamotrygonidae (Rajiformes: Myliobatoidei).
- Rosas-Valdez, R.; Choudhury, A.; Ponce de Léon, G.P. 2004. Phylogenetic analysis on genera of Corallobothriinae (Cestoda: Proteocephalidea) from North American ictalurid fishes, using partial sequences of the 28S ribosomal gene. *Journal of Parasitology* 90: 1123-1127.
- Sanders, J. 2009. Program note: Cladescan, a program for automated phylogenetic sensitivity analysis. Cladistics 25: 1-3.
- Swofford, D.L. 2002. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods), 4.0 edn, Sinauer, Sunderland, MA.

- Thompson, J.D.; Higgins, D.G. & Gibson, T.J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22(22): 4673-4680.
- Varón, A.; Vinha, L.S.; & Wheeler, W.C. 2009. POY version 4: phylogenetic analysis using dynamic homologies. *Cladistics* 25: 1-14.
- Wagner, W. H., Jr. 1961. Problems in the classification of ferns. *In*: "Recent Advances in Botany I," Univ. of Toronto Press, Toronto. pp. 841–844.
- Wheeler, W.C. 1995. Sequence alignment, parameter sensitivity, and the phylogenetic analysis of molecular data. *Systematic Biology* 44(3): 321-331.
- Wheeler, W.C. 1996. Optimization alignment: The end of multiple sequence alignment in phylogenetics? *Cladistics* 12: 1-9.
- Wheeler, W.C. 2001. Homology and the optimization of DNA sequence data. Cladistics 17: 3-11.
- Wheeler, W.C. 2003. Implied alignment: a synapomorphy-based multiple-sequence alignment method and its use in cladogram search. *Cladistics* 19: 261-268.
- Wheeler, W.C. & Hayashi, C.Y. 1998. The phylogeny of the extant Chelicerate orders. *Cladistics* 14: 173-192.
- Wilcox, D., Dove, B., McDavis, D., & Greer, D. (1995–2002). Freeware distribuído por http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/dowload.html.
- Zamparo, D., Brooks, D.R. & Barriga, R. 1999. Pararhinebothroides hobergi n. gen. n. sp.
 (Eucestoda: Tetraphyllidea) in Urobatis tumbesensis (Chondrichthyes: Myliobatiformes) from
 Coastal Ecuador. Journal of Parasitology 85: 534-539.

ANEXO A

Modelo de comandos de execução (scripts) utilizados em POY

```
(* This is parameter set 1: its=mll1 and lsu=mll1 *)
read("ssu_aln_trm.fas")
transform ((names:("ssu_aln_trm.fas"), tcm:"mll1"),gap_opening:2)
read("lsu_aln_trm.fas")
transform ((names:("lsu_aln_trm.fas"), tcm:"mll1"),gap_opening:2)
set(root:"h06_Litobothrium_janovyi")
build(64)
swap()
select()
report("alignment_par_1.ia",ia,"consensus_par_1",graphconsensus,"trees_par_1.tre",trees:
(nomargin),"trees_par_1.txt",asciitrees,"scores_par_1.sts",treestats)
exit()
```

ANEXO B

Arquivo em formato NEXUS para computar comprimentos de ramos em uma das 18 topologias

geradas em POY

#NEXUS [Veronica M. Bueno, Fevereiro de 2010] begin data: dimensions ntax=83 nchar=1905; format datatype=dna matchchar=. gap=- interleave missing=N; options gapmode=newstate; MATRIX r094 rhoides negro spnGGGAACTGCTATGTAACCTCT---C--GGACCGCTGGTCATGG-TGGTCCACAACC-ATTTCGGTGGGGTGCCTATTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGTCGTGGCAGCTTAACTGCTGTCACGGCA-TCGGCCAGTCCACACCGGAGCGGCAATGCAGTACATGTGCCGGAAGGTATGTGTGCAAGGTATAAGAT-A-TTGGCACCACCATATGCCTACGCCCCACTATGCGCCCTTGTCTTTTACACTTACCAGGTAGTGTGTGAGT----------GTACGCGTGTTGGTGTAT-TCCGGCACAAGTGCTACTATTACT----ACTA--- ${\tt TCTGTGCAAAACGCGTGGTCGGCATTAACTTGTCG-ACTGTGCGCGGGTTCTCATGAGCGTGGTTGGCTATCTT--}$ GGATTGCCACTCCACTCGAAGTCCAGCATTGAGTATGGTTT- ${\tt TGCAGCCCAAAGCGGGTGGTAAACTCCAATCCAAGGCTAAATACTAGCACGAGTCCGATAGCAAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGTACTTTGAA$ ${\tt GAGAGAGTAAAACAGTACGTGAAACCGCATGCAGGTAAACGGGTGGCGTCAAGCTGCACGCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTGTC-$ TATGCGCTTG-CGTATGAATGGGCCAGAGTAGGGCG----TGGTAGTCCGCTGGAAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG--GAGCCGGGTGGAAGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTGGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--GCCGTCGTG--TGTTGC---G---ATGTGGGTGCTCTCGTGGTCTGGCCGGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTGCGCAAAGAAATTTTTAGAGCCTTATTATAATGTTATAAGTACTGAT TATGCGGTTTGTCTGATTTAAATTTAACTCGTTTAAAAGCATTAAGTGCTTGATTGTTGTTGTTACCTTCTATCGTTTTTTAGTAATAAGCATGTGTTTAGG **GTGTCTAGTATTTTTAGCTCTATTAATTTTTATCTGTACTTTGTATACTGCCTTTAGTGGTAGTTTGGCGTCTCGAAGGTCAATAATTTTATGGGC** 19Rhinebothrium_sp_1_worm_3 ****** NNNNNNNNNNNNNNNNNGGAAGAGCCCAGCACCGAAGCCTGCGGTAGCTTTACTGTTAGGCAATGTGGTGTTTGGGTCGGCCGCGCGGGATTGCCA CTCCACTCGAAGTCCAGCATTGAGTATGGTTT-TGCAGCCCAAAGTGGGTGGTAAACTCCAACGCTAAATACTAGCACGAGTCCGATAGCAAACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGTACTTTGAA ${\tt GAGAGAGTAAACAGTACGTGAAACCGCATGCAGGTAAACGGGTGGCGTCAAGCTGCACGCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTAGT-$ TATGCGCTTG-CGTGTCAACAGGCCAGAGTAAGGCG----TGGTAGACCGCTGGAAGACAGTGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG---TTTAGCCGGGTGGACGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTTGGGCCTACTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--GCCGTCGTA---GT---T--- ${\tt GCCAATATGGGTGCTCTGGTGGTCTGGCTGGGTGCCGGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTACGCAAAGAAATTTTTGGAGCCGTACTATAATGTTATTAGTAC$ r015 Rfulbrighti marajo orbignyi ****** NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGCCTGCGGTAGTTTTACTGTTAGGCAATGTGGTGTTTGGGCCGGCTCGCAGGATTGCCA ATTCAGCCGGTTAGAGTGTAGT-TATGCGCTTG-CGTGTCGAACGGCCAGTGTAAGATT----TGTTGGGCCATCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GTCGTCCTA--

TC-

TGTTATAAATTTTTAATTACTAATCATGGTATTATTATGATTTTCTTTTTTATAATGCCTATTTTAATCGGCGGGGTTTGGTAACTATTTAATACCCTTGT ${\tt TAGCGGGGTTATCTGATTTAAAATTTGCCACGTTTAAAAAGCATTGAGTGCTTGACTTTTACTGCCCCTCTGTGGTTTTTTTGTTAATAAGTATGTGTCTTGG$ TGCTGGTATTGGTTTGGACCTTTTATCCTCCCTTATCTTCCGTGGCTTTTGAGGGCAGTAAGGGTGTTGATTTTTTAATGTTTTCTTTGCATTTAGCGGGG GTGTCTAGAATTTTTAGTTCTATAAATTTTATCTGTACCTTGTATACTGCTTTTAGCGGTAGGTTATCCTCACGCGGTTCTATTATTTTGTGGGTC r049 gld uppersol mot GGGAACCGCTATGTAATCTAT---CTGGGACTGCCCGTCATGG-

TGGTCCAAAACCCGTTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCTTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCTGTTGTGGCAACTTAACTGCTGTCACAACAACCGGCCAGT CCACACCGGAGCGGCATATTAGTACACGTGTCA-AAG---CGTGTGCAAGGTATAAGAACA-

TTGGCACTACCATATGCCTACGCCCCGCTATGCGCCCTTGTCTTTTACACTTACCATACGGATAGTGTGTATGT-----------GT--GTGTGTTAGTGTAT-

GCTAGCATTACTACTACTG------------

GCCTGGGTGCCATTGCGTCTTGTGCAGAGCCTGGAAGAGCCCAGCACCGAAGCCTGCGGTAGCTTTACTGTTAGGCAATGTGGTGTTTGGGCCGGCTCGCG GGGTTGCCACTCCACTCGAAGTCCAGCATTGAGTATGGTTT-

 ${\tt TGCAGCCCAAAGTGGGTGGTAAACTCCATCCAAGGCTAAATACTAGCACGAGTCCGATAGCAAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGTACTTTGAA$

TATGCGCTTG-CGTATCAAAGGGCCAGAGTAAGGCG---TGGTAGTCCGCTGGAAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----T-

AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGGAGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GGTGGACACCACGACCGGTGGAACTGCCAGTCTGCTATGGTCAAGTCGTGTTCGGTTGGTCCTTGT-GGCTAGCTGGGCGCGCAT---CACGGGCAAATT-GCCGTCGTA---

GGGTGGTCTGGTGGGCCATAGTGGTAAGAATAACTGTGCAGGGCACCGGAGTTTTCGGCCTCAAACGCAGCCAGGCATGCACGCTAGTAGTGT-----TG---C--TG---

ATGTGGGTGCTCTCGTGGTCTGCCTGGTGCCGGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTACGCAAAGAAATTTTTGGAGCCTTACTATAATGTGATTAGTACGGAT TGTTATAATTTTTAATTACTAAACATGGTATTATAATGATTTTCTTTTTTATAATGCCTATTTTAATAGGGGGGGTTTGGTAATTATTTAATTCCTCTAT ${\tt TAAGGGGTTTGTCTGATTTAAATTTAACCTCGTTTAAAAGCACTGAGTGCTTGGTTGCTTTTACCTTCTGCTGTATTCTTAGTCATTAGAATGTGCTTAGG$ ${\tt TGCTGGTATAGGTTGAACTTTTTATCCTCCTTTGTCTTCTAGTGTTTTTGAGGGTAGTAGGGTGTAGATTTTTTAATGTTTTCATTGCATTTGGCCGGT$ ${\tt GTCTCTAGTATATTTAGTTCTATTAATTTTATATGTACATTGTACACTGCTTTTAGTGGTAGGTTGGCTTCTCGTAGTTCAATTGTATTATGAGC$ r199 gld lagonovo mot GGGAACCGCTATGTAATCTAT---CTGGGACTGCCCGTCATGG-

TGGTCCAAAAACCCGTTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCTTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCTGTTGTGGCAACTTAACTGCTGTCACAACAACCGGCCAGT CCACACCGGAGCGGCATATTAGTACACGTGTCA-AAG---CGTGTGCAAGGTATAAGAACA-

TTGGCACTACCATATGCCTACGCCCCGCTATGCGCCCTTGTCTTTTACACTTATCATACGGATAGTGTGTATGT-----------GT--GTGTGTTAGTGTAT-

GCTAGCATTACTACTACTG------

NNNTTGCCACTCCACTCGAAGTCCAGCATTGAGTATGGTTT-

TGCAGCCCAAAGTGGGTGGTAAACTCCAACGACTAAATACTAGCACGAGTCCGATAGCAAACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGTACTTTGAA GAGAGAGTAAAACAGTACGTGAAACCGCATGCAGGTAAACGGGTGGCGTCAAGCTGCACGCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTAGT-

TATGCGCTTG-CGTATCAAAGGGCCAGAGTAAGGCG----TGGTAGTCCGCTGGAAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----T-

AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGGAGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GCCGTCGTA---

TG---C--TG---

ATGTGGGTGCTCTCGTGGTCTGCCTGGTGCCCGGGTCTGATTGTCGTGTCGCCTACGCAAAGAAATTTTTTGGAGCCTTACTAATAATGTGATTAGTACAGAT ${\tt TGTTATAATTTTCTGATTACTAAACATGGTATTATAAATGATTTTCTTTTTTATAATGCCTATTTTAAAAGGGGGGGTTTGGTAACTATTTAAATTCCTTTAT$ ${\tt TAAGAGGGTTTGTCCGATTTAAATTTGCCTCGTTTAAAAGCTTTGAGTGCTTGATTGCTTTTACCTTCTGCTGTATTTTTAGTGATTAGTATGTGTTTAGG$ ${\tt TGCTGGTATAGGTTGAACTTTCTATCCTCCTTTGTCTTCTAGTGTTTTTGAGGGTAGTAGAGGTGTAGACTTTTTAATGTTTTCATTACATTTGGCCGGT$ GTTTCTAGTATATTTAGTTCTATTAATTTTATATGTACTTTGTATACTGCCTTTAGTGGTAGGTTGGCTTCTCGTAGTTCAATTGTATTATGAGC GGGAACTGCTATGTAACCTCT--C--GGACTGCCCGTCATGG-TGGTCCACAACCr247 frt xingu leop

ATTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGTCGTGGCAACTTAACTGCTGTCACGGCAATCGGCCAGTCCACACCGGAGCG GCAATCCAGTACATGTGCCGCAAGGTACGTGTGCGAGGTATAAGAA-A-

-----GTACGCGTGTTGGTGTAA-

GCCGGCACTAGTGCTACTATTACT---

----АСТА--- ${\tt TCTGTGCAAAAACGCATGGTCGGCATTAACTTGTTCGACTGTGTGCGGTTCTCATGAGCGTGGTTGGCTATCTT---}$

GGATTGCCACTCCACTCGAAGTCCAGCATTGAGTATGGTTT-

TGCAGCCCAAAGCGGGTGGTAAACTCCAACGGCTAAATACTAGCACGAGTCCGATAGCAAACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGTACTTTGAA ${\tt GAGAGAGTAAACAGTACGTGAAACCGCATGCAGGTAAACGGGTGGCGTCAAGCTGCACGCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTATC-$

TATGCGCTTG-CGTATAAATGGGCCAGAGTAAGGCG----TGGTAGTCCGCTGGTAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----C-AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTGGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GCCGTCGTA--

TG---C---G---

ATGTGGGTGCTCTCGTGGTCTGCCTGGTGCCGGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTGCGCAAAGAAATTTTTGGAGCCTTACTATAATGTTATAAGTACAGAT

TGTTATAAATTTTTAATTACTAATCACGGTATTATAATGATTTTCTTTTTTATAATGCCTATTTTAATCGGTGGATTTGGCAATTATTTAATTCCTTTGT TATGTGGTTTATCTGATTTAAATTTACCTCGGTTAAAAGCATTGAGTGCTTGATTATTATTGCCTTCTGCTGTTTTTTAGTAATAAGTATGTGTTTAGG GGCAGGGGTAGGTTGGACTTTTTACCCCCCCTTTATCTTCAAGTTTATTTGAGGGTAGGAAGGGGGGTAGATTTTTTAATGTTTTCTTTACATTTAGCAGGA GTTTCTAGTATTTTAGTTCTATAAATTTTATTTGCACTCTATATACTGCTTTTAGTAGTAGTTTGGCGTCTCGAAGTTCGATAATATTATGGGC r06 scorzai marajo spmar1 GGGAACTGCTATGTA-CAACAATACTCGGACCGCTCGTCATAG-TGGTCTGCTACC-

ATTTCGGTGGGGTGCCTATTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGCTGCGGCCACCGCCACAGGAGGGCCAGTCCACACCGGAGCG

GCAAACCAGTACTATTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGCTGCGGCAACTTAACTGCTGCCACAGGAGGCCAGTCCACCGGAGCG

ATTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGTCGTGGCAACTTAACTGCTGTCACGGCAATCGGCCAGTCCACCGGAGCG GCAATCCAGTACATGTGCCGCAAGGTACGTGTGCGAGGTATAAGAA-A-

TTGGCACCACCATATGCCCTACGCCCCACTATGCGCCCTTGTCTTTTACACTTATCATACAGGTAGTGTGTGAGT-----GTACGCGTGTTGGTGTAA-

GCCGGCACTAGTGCTACTATTACT----ACTA---

TCTGTGCAAAACGCATGGTCGGCATTAACTTGTTCGACTGTGTGCGGTTCTCATGAGCGTGGTTGGCTATCTT--

 ${\tt TATGCGCTTG-CGTATAAATGGGCCAGAGTAAGGCG----TGGTAGTCCGCTGGCAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----C-AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--$

ATTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGTCGTGGCAACTTAACTGCTGTCACGGCCAGTCCACCACCGGAGCG GCAATCCAGTACATGTGCCGCAAGGTACGTGTGCGAGGTATAAGAA-

AATTGGCACCACCATATGCCCTACGCCCCACTATGCGCCCTTGTCTTTTACACTTATCATACAGGTAGTGTGTGGGGT-----GTACGCCCGCGTGTGGTGTAT-

GCCGGCACTAGTGCTACTATGACT----ACTA---

TCTGTGCAAAACGCATGGTCGGCATTAACTTGTTCGACTGTGCGGTTCTCATGAGCGTGGTTGGCTATCTT--

r030_gld_lagonovo_mot GGGAACCGCTATGTAATCTAT---CTGGGACTGCCCGTCATGG-

TGGTCCAAAACCCGTTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCTTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCTGTTGTGGCAACTTAACTGCTGTCACAACAACCGGCCAGT CCACACCGGAGCGGCATATTAGTACACGTGTCA-AAG---CGTGTGCAAGGTATAAGAACA-

GCTAGCATTACTACTACTG-----

AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGGAGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

ATTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGGTCGCCAGTCGTGGCAACTTAACTGCTGTCACGGCAATCGGCCAGTCCACACCGGAGCG GCAATCCAGTACATGTGCCGCAAGGTACGTGTGCGAGGTATAAGAA-A-

TTGGCACCACCATATGCCCTACGCCCCACTATGCGCCCTTGTCTTTTACACTTATCATACAGGTAGTGTGTGAGT-----GTACGCGTGTGGTGTAA-

GCCGGCACTAGTGCTACTATTACT-----ACTA---

 ${\tt TCTGTGCAAAACGCATGGTCGGCATTAACTTGTTCGACTGTGTGCGGTTCTCATGAGCGTGGTTGGCTATCTT--}$

TATGCGCTTG-CGTATAAATGGGCCAGAGTAAGGCG----TGGTAGTCCGCTGGTAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----C-

AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTGGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GGGTAGTCTACTGGAAGACAGTGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGACGTG----C-GTACCGGGTGGAAGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTTGGGCCATCTAGCCGGTGCACTTTCTCCCGT--

GGGTGGTCTGGGCTACAGTGGTAAGAATAACTGTGCAGGGCATCGGAGTTCTCGGCCTCAATTGCAGTCGGCATGCACGCTAGAAGTGT-----GA---TTG-G---

ATTTCGGTGGGGTGCCTATTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGCTGCGGCAACTTAACTGCTGCCACAGGAGAGGGCCAGTCCACACCGGAGCG GCAAACCAGTACATGTGTCGCAAG---CGTGTGCAAGGTATAAGAA-A-

GAGAGAGTAAACAGTACGTGAAACCGCATGCAGGTAAACGGGTGGCGTCAAGCTGCACGCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTAGA-TATGCGCTTG-CGTATCGAAGGGCCAGAGTAAAGCGCGCGTGGTAGTCCGCTGGAAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----T-AAGCCGGGTGGAAGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGCGGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

TATGCGCTTG-CGTGTCGACAGGCCAGAGTAAGGCG----TGGTAGACCGCTGGAAGACAGTGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----

TTTAGCCGGGTGGACGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTTGGGCCTACTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

TATGCGCTTG-CGTGTCAACAGGCCCAAAGTAAGGCG----TGGTAGACCGCTGGAAGACAGTGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGGATGTG----

TTTAGCCGGGTGGACGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTTGGGCCTACTAACCGGTGCACTTTCTCTGT--

TGGTCCAAAAACCCGTTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCTTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCTGTTGTGGCAACTTAACTGCTGTCACAACAACCGGCCAGT CCACACCGGAGCGGCATATTAGTACACGTGTCA-AAG---CGTGTGCAAGGTATAAGAACA-

GCTAGCATTACTACTACTACTG------

TCTGTGCAAAACGCATGGAGAGCATTAACTTGCTGTACCGTGTGTGGGTTCTCATGAGCGTACTTGGTTACCTT--

TGGTAGTCCGCTGGAAGACAGCGGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----T-AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGGAGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--
GGGTAGTCCGCTGGAAGACAGTGGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----T-GTACCGGGCGGAAGCCGGAGCACGCTGCCTGTC--TGTTGGGCTGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

ATTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGTCGTGGCAACTTAACTGCTGTCACGGCAATCGGCCAGTCCACACCGGAGCG GCAATCCAGTACATGTGCCGCAAGGTACGTGTGCGAGGTATAAGAA-A-

TTGGCACCACCATATGCCCTACGCCCCACTATGCGCCCTTGTCTTTTACACTTATCATACAGGTAGTGTGTGAGT-----GTACGCGTGTTGGTGTAA-

GCCGGCACTAGTGCTACTATTACT-----ACTA---

TCTGTGCAAAAACGCATGGTCGGCATTAACTTGTTCGACTGTGTGCGGTTCTCATGAGCGTGGTTGGCTATCTT--

AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTGGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

ATTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGTCGTGGCAACTTAACTGCTGTCACGGCAATCGGCCAGTCCACACCGGAGCG GCAATCCAGTACATGTGCCGCAAGGTACGTGTGCGAGGTATAAGAA-

AATTGGCACCACCATATGCCCTACGCCCCACTATGCGCCCTTGTCTTTTACACTTATCATACAGGTAGTGTGTGGGGT------GTACGCGTGTTGGTGTAT-

GCCGGCACTAGTGCTACTATGACT----ACTA---

 ${\tt TCTGTGCAAAACGCATGGTCGGCATTAACTTGTTCGACTGTGTGCGGTTCTCATGAGCGTGGTTGGCTATCTT--}$

TATGCGCTTG-CGTATAAATGGGCCAGAGTAAGGCG----TGGTAGTCCGCTGGTAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----C-AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTGGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

 $\label{eq:construct} a transformed construction of the trans$

r243 gld toc toc2 GGGAACCGCTATGTAATCTAT---CTGGGACTGCCCGTCATGG-

TGGTCCAAAAACCCGTTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCTTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCTGTTGTGGCAACTTAACTGCTGTCACAACAACCAGCCGGCCAGT CCACACCGGAGCGGCATATTAGTACACGTGTCA-AAG---CGTGTGCAAGGCATAAGAACA-

-----GT--GTGTGTTAGTGTAT-

 ${\tt TCTGTGCAAAACGCATGGAGAGCATTAACTTGCTGTACCGTGTGTGGTTCTCATGAGCGTACTTGGTTACCTT--}$

****** ****** ${\tt TAATGTGATTAGTACAGATTGTTACAATTTTCTGATTACTAAACATGGTATTATAATGATTTTCTTTTTATAATGCCTATTTTAATAGGAGGGTTTTGGT$ AACTATTTAATTCCTTTATTAAGGGGGTTTGTCCGATTTAAATTTGCCTCGATTAAAAGCCTTGGGTGCTTGGTTGCTTTTACCTTCTGCTGTATTCTTAG ${\tt TGATTAGTATGTGTTTAGGTGCTGGTATAGGTTGAACTTTTTATCCTCCTTTGTCTTCTAGTGTTTTTGAGGGTAGTAAGGGTGTAGACTTTTTGATGTT$ ATTGTATTATGAGC

r123 frt cuiaba brac GGGAACTGCTATGTAACCTCT---C--GGACTGCCGGTCATGG-TGGTCCACAACC-

ATTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGGTCGCCAGTCGTGGCAACTTAACTGCTGTCACGGCAATCGGCCAGTCCACACCGGAGCG GCAATCCAGTACATGTGCCGCAAGGTACGTGTGCGAGGTATAAGAA-

-----GTACGCGTGTTGGTGTAT-

GCCGGCACTAGTGCTACTATGACT----ACTA---

 ${\tt TCTGTGCAAAAACGCATGGTCGGCATTAACTTGTTCGACTGTGTGCGGTTCTCATGAGCGTGGTTGGCTATCTT--}$

GGATTGCCACTCCACTCGAAGTCCAGCATTGAGTATGGTTT-

 ${\tt TGCAGCCCAAAGCGGGTGGTAAACTCCATCCAAGGCTAAATACTAGCACGAGTCCGATAGCAAACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGTACTTTGAA$ ${\tt GAGAGAGTAAAACAGTACGTGAAACCGCATGCAGGTAAACCGGGTGGCGTCAAGCTGCACGCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTATC-$

TATGCGCTTG-CGTATAAATGGGCCAGAGTAAGGCG---TGGTAGTCCGCTGGTAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----C-

AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTGGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GCCGTCGTA---

ATTCCTTTATTGTGTGGCCTGTCAGATTTAAATTTACCACGTTTAAAAGCATTGAGTGCTTGATTGTTACTGCCTTCTGCAGTTTTTTTGATAATAAGAA TGTGTTTAGGGGCAGGGATAGGTTGAACTTTTTATCCACCTTTATCTTCAAGTTTATTTGAAGGGAGTAAGGGTGTAGATTTTTTGATGTTTTCATTACA TGAGC

r238_gld_toc_orb GGGAACCGCTATGTAATCTAT---CTGGGACTGCCCGTCATGG-

 ${\tt TGGTC} CAAAACCCGTTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCCTTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCTGTTGTGGCAACTTAACTGCTGTCACAACAACCGGCCAGT$ CCACACCGGAGCGGCATATTAGTACACGTGTCA-AAG---CGTGTGCAAGGCATAAGAACA-

TTGGCACTACCATATGCCTACGCCCCGCTATGCGCCCTTGTCTTTTACACTTACCATACGGATGGTGTGTATGT------

-----GT--GTGTGTTAGTGTAT-

 ${\tt TCTGTGCAAAAACGCATGGAGAGCATTAACTTGCTGTACCGTGTGTGGTTCTCATGAGCGTACTTGGTTACCTT--}$

TAATGTGATTAGTACAGATTGTTACAATTTTCTGATTACTAAACATGGTATTATAATGATTTTCTTTTTATAATGCCTATTTTAAAAGGGGGGGTTTGGT ${\tt AACTATTTAATTCCTTTATTAAGGGGGTTTGTCCGATTTAAATTTGCCTCGATTAAAAGCCTTGGGTGCTTGGTTGCTTTTACCTTCTGCTGTATTCTTAG$ TGATTAGTATGTGTTTAGGTGCTGGTATAGGTTGAACTTTTTATCCTCCTTTGTCTTCTAGTGTTTTTGAGGGGTAGTAGGGTGTAGACTTTTTGATGTT ATTGTATTATGAGC

r237 gld toc toc2 GGGAACCGCTATGTAATCTAT---CTGGGACTGCCCGTCATGG-

 ${\tt TGGTC} {\tt CAAAAACCC} {\tt GTTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCCTTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCTGTTGTGGCAACTTAACTGCTGTCACAACAACCGGCCAGT$ CCACACCGGAGCGGCATATTAGTACACGTGTCA-AAG---CGTGTGCAAGGCATAAGAACA-

----GT--GTGTGTTAGTGTAT-

GCTAGCATCACTACTACTG------

TCTGTGCAAAACGCATGGAGAGCATTAACTTGCTGTACCGTGTGTGGTTCTCATGAGCGTACTTGGTTACCTT--

AIIGIAIIAIGAGC

ATTTCGGTGGGGTGCCTATTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGTCGTGGCAGCTTAACTGCTGTCACGGCA-

-----GTACGCGTGTTGGTGTAT-

TCCGGCACAAGTGCTACTATTACT-----

TCTGTGCAAAACGCGTGGTCGGCATTAACTTGTCG-ACTGTGCGCGGTTCTCATGAGCGTGGTTGGCTATCTT--

----АСТА---

GAGCCGGGTGGAAGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTGGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GGCTAGTCCACTGGAAGACAGTGGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGGTGGGAGCCCGGAGCACGCTAGCCGTC--TGTTGGGCCATCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

03Rhinebothrium paratrygoni

TATGCGCTTG-CGTGTCAACAGGCCAGTGTAAGGCG----TGGTAGTCCACTGGAAGACAGTGGGCCCTGCCGCAAGGCGGGGGATGTG----T-

AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACACTATCCGTCC-TAGGGGGGCCTACTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GTGT----GT---T---

 ${\tt CTGTTATGTGGGTTGTCTGACCTGAATTTACCACGTTTAAAAGCTTTAAGGGCTTGGTTGCTTTTACCGTCTACAGTTTTTCTTATTACGAGTATGTGTTT$ AGGGGTGTCTAGAATTTTTAGTTCTATTAATTTTATATGCACCTTATACACAGGCTTTTAGTGGGAGATTGGCTTCCCGTAGATCTATAATTCTTTGGGC r201 gld lagonovo mot GGGAACCGCTATGTAATCTAT---CTGGGACTGCCCGTCATGG-

TGGTCCAAAACCCGTTTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCTTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCTGTTGTGGCAACTTAACTGCTGTCACAACAACCGGCCAGT CCACACCGGAGCGGCATATTAGTACACGTGTCA-AAG---CGTGTGCAAGGTATAAGAACA-

-GT--GTGTGTTAGTGTAT-

NNNTTGCCACTCCACTCGAAGTCCAGCATTGAGTATGGTTT-

TGCAGCCCAAAGTGGGTGGTAAACTCCATCCAAGGCTAAATACTAGCACGAGTCCGATAGCAAACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGTACTTTGAA ${\tt GAGAGAGTAAACAGTACGTGAAACCGCATGCAGGTAAACGGGTGGCGTCAAGCTGCACGCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTAGT-$

TATGCGCTTG-CGTATCAAAGGGCCAGAGTAAGGCG----TGGTAGTCCGCTGGAAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----T-

AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGGAGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GCCGTCGTA---

TG---C--TG-

ATGTGGGTGCTCTCGTGGTCTGCCTGGTGCCGGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTACGCAAAGAAATTTTTGGAGCCTTACTATAATGTGATTAGTACAGAT ${\tt TGTTATAATTTTCTGATTACTAAACATGGTATTATAATGATTTTCTTTTTTATAATGCCTATTTTAATAGGGGGGGTTTTGGTAACTATTTAAATTCCTTTAT$ ${\tt TAAGAGGGTTTGTCCGATTTAAATTTGCCTCGTTTAAAAGCTTTGAGTGCTTGATTGCTTTTACCTTCTGCTGTATTTTTAGTGATTAGTATGTGTTTAGG$ ${\tt TGCTGGTATAGGTTGAACTTTCTATCCTCCTTTGTCTTCTAGTGTTTTTGAGGGTAGTAAGGGTGTAGACTTTTTAATGTTTTCATTACATTTGGCCGGT$ ${\tt GTTTCTAGTATATTTAGTTCTATTAATTTTATATGTACTTTGTATACTGCCTTTAGTGGTAGGTTGGCTTCTCGTAGTTCAATTGTATTATGAGC$ r052 vnz uppersol mot GGGAACTGCTATGTAACCTCT---C--GGACCGCTGGTCATGG-TGGTCCACAACC-

ATTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGTCGTGGCAACTTAACTGCTGTCGCGGCAATCGGCCAGTCCACACCGGAGCG GCAATGCAGTACATGTGTCGGAAGGCACGTGTGCGAGGTATAAGAA-A-

-----GTACGCGTGTTGGTGTAT-

GCCGGCACAAGTGCTACTATTACT----ACTA---

 ${\tt TCTGTGCAAAAACGCATGGTCGGCATTGACTTGTTGTACTGTGCGCGGGTTCTCATGAGCGTGGTTGGCTATCTTTTGCCTGGTAGCCGATGCGTCTTGTGC$ AGTTCTGGAAGAGCCCAGCACCGAAGCCTGCGGCAGGTTTGCTGTTAGGCAATGTGGTGTTTGGGTCGGCTCGCGGGATTGCCACTCCACTCGAAGTCCA GCATTGAGTATGGTTT-

 ${\tt TGCAGCCCAAAGCGGGTGGTAAACTCCAATGCTAAATACTAGCACGAGTCCGATAGYAAACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGTACTTTGAA$ ${\tt GAGAGAGTAAACAGTACGTGAAACCGCATGCAGGTAAACGGGTGGCGTCAAGCTGCACGCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTATC-$

TATGCGCTTG-CGTATAAAAGGGCCAGAGTAAGGCG----TGGTAGTCCGCTGGCAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----T-AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTGGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GCCGTCGTA---

TG---C---G--

ATGTGGGTGCTCTCGTGGTCTGCCTGGTGCCGGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTGCGCAAAGAAATTTTTAGAGCCTTATTATAATGTTATTAGTACAGAT ${\tt TGTGTGGGTTTGTCGGATTTAAATCTACCTCGCTTGAAAGCATTAAGTGCTTGGTTGTTACTGCCTTCTGCAGTTTTTTTAGTAATTAGTATGTGTTTGGG$ ${\tt AGCAGGTATAGGTTGGACTTTTTATCCTCCTCTTTTTCAAGTTTATTTGAGGGTAGAAAGGGTGTAGATTTTTTGATGTTTTCATTACATTTGGCGGGA$ r050 gld uppersol mot GGGAACCGCTATGTAATCTAT---CTGGGACTGCCCGTCATGG-

TGGTCCAAAACCCGTTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCTTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCTGTTGTGGCAACTTAACTGCTGTCACAACAACCGGCCAGT CCACACCGGAGCGGCATATTAGTACACGTGTCA-AAG---CGTGTGCAAGGTATAAGAACA-

-----GT--GTGTGTTAGTGTAT-

GCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTAGT-TATGCGCTTG-CGTATCAAAGGGCCAGAGTAAGGCG--

TGGTAGTCCGCTGGAAGACAGCGGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----T-AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGGAGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GCCGTCGTA---

TG---C--TG---

 ${\tt ATGTGGGTGCTCTCGTGGTCTGCCTGGTGCCGGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTACGCAAAGAAATTTTTGGAGCCTTACTATAATGTGATTAGTACGGAT$ ${\tt TGTTATAATTTTTAAATTACTAAACATGGTATTATAAATGATTTTCTTTTTATAATGCCTATTTTAAAAGGGGGGGTTTGGTAATTATTTAAATTCCTCTAT$ TAAGGGGTTTGTCTGATTTAAATTTACCTCGTTTAAAAGCACTGAGTGCTTGGTTGCTTTTACCTTCTGCTGTATTCTTAGTCATTAGAATGTGCTTAGG ${\tt TGCTGGTATAGGTTGAACTTTTTATCCTCCTTTGTCTTCTAGTGTTTTTGAGGGTAGTAGAGTGTAGATTTTTTAATGTTTTCATTGCATTTGGCCGGT$ GTCTCTAGTATATTTAGTTCTATTAATTTTATATGTACTTTGTACACTGCTTTTAGTGGTAGGTTGGCTTCTCGTAGTTCAATTGTATTATGAGC

r186 gld jamanxim tpj1GGGAACCGCTATGTAATCTAT---CTGGGACTGCCCGTCATGG-

TGGTCCAAAAACCCGTTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCTTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCTGTTGTGGCAACTTAACTGCTGTCACAACAACCAGCCGGCCAGT CCACACCGGAGCGGCATATTAGTACACGTGTCA-AAG---CGTGTGCAAGGTATAAGAACA-

-GT--GTGTGTTAGTGTAT-

GCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTAGT-TATGCGCTTG-CGTATCAAAGGGCCAGAGTAAGGCG----

TGGTAGTCCGCTGGAAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----T-AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--

TGGAGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GCCGTCGTA--

тд---с--тд---

ATGTGGGTGCTCTCGTGGTCTGGCCGGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTACGCAAGAATTTTTTGGAGCCTTATTATAATGTGATTAGTACAGAT ${\tt TGTTATAATTTTCTGATTACCAAACATGGTATTATAATGATTTTCTTTTTTATAATGCCTATCTTAATAGGGGGGGTTTGGTAATTATTTAATTCCCTTAT$ ${\tt TAAGGGGTTTGTCCGATTTAAAACTTGCCTCGTTTAAAAGCCTTGAGTGCTTGATTGCTTTTACCTTCTGCTGTATTTTTAGTGATTAGTATGTGTTTAGG$ ${\tt TGCTGGTATAGGTTGAACTTTCTATCCTTCCTTTGTCTTCTAGTGTTTTTGAGGCGAGTAAGGGTGTAGACTTTTTAATGTTTTCATTGCATTTGGCTGGT$ **GTTTCTAGTATATTTAGTTCTATTAATTTTATATGTACTTTGTATACTGCCTTTAGTGGTAGGTTGGCTTCTCGTAGTTCAATTGTATTATGAGC**

r095_rhoides_negro_spnGGGAACTGCTATGTAACCTCT---C--GGACCGCTGGTCATGG-TGGTCCACAACC-

ATTTCGGTGGGGTGCCTATTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGTCGTGGCAGCTTAACTGCTGTCACGGCA-

TCGGCCAGTCCACCGGAGCGGCAATGCAGTACATGTGCCGGAAGGTATGTGCGCAAGGTATAAGAT-A-

-----GTACGCGTGTTGGTGTAT-

TCCGGCACAAGTGCTACTATTACT-----ACTA---TCTGTGCAAAACGCGTGGTCGGCATTAACTTGTCG-ACTGTGCGCGGTTCTCATGAGCGTGGTTGGCTATCTT--

GGATTGCCACTCCACTCGAAGTCCAGCATTGAGTATGGTTT-

 ${\tt TGCAGCCCAAAGCGGGTGGTAAACTCCATCCAAGGCTAAATACTAGCACGAGTCCGATAGCAAACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGTACTTTGAA$ ${\tt GAGAGAGTAAACAGTACGTGAAACCGCATGCAGGTAAACGGGTGGCGTCAAGCTGCACGCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTGTC-$ TATGCGCTTG-CGTATGAATGGGCCAGAGTAGGGCG----TGGTAGTCCGCTGGAAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----T-

GCCGTCGTG---

TGTTGC---G---

ATGTGGGTGCTCTCGTGGTCTGGCCGGGTCTGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTGCGCAAAGAAATTTTTAGAGCCTTATTATAATGTTATAAGTACTGAT ${\tt TATGCGGTTTGATTTAAAATTTAACTCGTTTAAAAAGCATTAAGTGCTTGATTGTTGTTGTTACCTTCTATCGTTTTTTAGTAATAAGCATGTGTTTAGG$ r016 Rfulbrighti marajo orbignyi

****** ATTCAGCCGGTTAGAGTGTAGT-TATGCGCTTG-CGTGTCGAACGGCCAGTGTAAGATT----

GGCTAGTCCACTGGAAGACAGTGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGG-TGTG----T-GTACCGGGTGGAAGCCGGAGCACGCTAGCCGTC--

TGTTGGGCCATCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

CGGTGAACGGCGTTGACGTGCTCTT-----CCCAGGGTATGTCTTCGTGATATCGGTAACCGGTTGTCTTAACGGCCTTGCCTTACGATTGTTCCA-GTCGTCCTA--

тс----

 ${\tt GTGTGGGTGCTCTCGTGGCCTGCCTGGTGCCGAGTCTGATTGTCGTGTTGCCTGCGCAAAGAAATTTTTAGAGCCGTATTATAAAGTAATTAAAAGAAATTAAAAGTAAATTAAAAGTAAATTAAAAGTAATTAAAAGTAATTAAAAGTAATTAAAAGTAATTAAAAGTAATTAAAAGTAATTAAAAGTAATTAAAAGTAATTAAAAGTAATTAAAAGTAATTAAAAGTAATTAAAAGTAATTAAAAGTAATTAAAAGTAATTAAAAGTAA$ TGTTATAAATTTTTAAATTACTAATCATGGCATTATTATGATTTTCTTTTTTATAATGCCTATTTTAAATCGGCGGGGTTTGGTAATTATTTAATACCCCTTGT ${\tt TAGCAGGGTTATCTGATTTAAAATTTGCCACGTTTAAAAAGCGTTGAGTGCTTGACTTTTACTGCCCCTCTGTAGTTTTTTTGTTAATAAGTATGTGTCTTGG$ ${\tt GTGTCTAGAATTTTTAGTTCTATAAATTTTTATCTGTACCTTGTATACTGCTTTTAGCGGTAGGTTATCCTCACGTGGTTCTATTATTTTGTGGTC$ 16Rhinebothrium copianullum worm 2

TATGCGCTTG-CGTGTCGACAGGCCAGAGTAAGGCG----TGGTAGACCGCTGGAAGACAGTGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----TTTAGCCGGGTGGACGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTTGGGCCTACTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

ATTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGGTCGCCAGTCGTGGCAACTTAACTGCTGTCACGGCAATCGGCCAGTCCACACCGGAGGG GCAATGCAGTACATGTGTCGGAAGGCACGTGTGCGAGGTATAAGAA-A-

TTGGCACCGCCATATGCCCTACGCCCCACTATGCGCCCCTTGTCTTTTACACTTACCATACAGGTAGTGTGTGAGT-----GTACGCGTGTGGTGTAT-

GCCGGCACAAGTGCTACTATTACT-----ACTA---

GCCGGCACAAGTGCTACTATTACT----ACTA---

ATTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGGTCGCCAGTCGTGGCAACTTAACTGCTGTCACGGCAATCGGCCAGTCCACACCGGAGCG GCAATCCAGTACATGTGCCGCAAGGTGCCGTGTGCGAGGTATAAGAA-

AATTGGCACCACCATATGCCCTACGCCCCACTATGCGCCCTTGTCTTTTACACTTATCATACAGGTAGTGTGTGAGT-----GTACGCGTGTGGTGTAT-

GCCGGCACTAGTGCTACTATGACT----ACTA---

TCTGTGCAAAACGCATGGTCGGCATTAACTTGTTCGACTGTGTGCGGTTCTCATGAGCGTGGTTGGCTATCTT--

GCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTATC-TATGCGCTTG-CGTATAAATGGGCCAGAGTAAGGCG----

TGGTAGTCCGCTGGTAGACAGCGGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----C-AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTGGGGCCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GGTGGACACCACGACCGGTGGAACTGCCAGTCTGCTGGTGGTCAAGTCGTGTTCGGTTGGTCCTTGT-GGCGAACTGGGCCGGAT---CACGGGGCAACCT-TGGTGAACGGCGTTGATGTGCCCTC------GGGTATGTCTTCGTGTTATCGGTAGCCAGTTGTCTTA-CGGGCCTGCCTTGCGATTGTTCTA-SCC-TCGTA---GGGTGGTCTGGTGGGCCCATGGTGGTAGAAT--

 $\label{eq:construct} a construct that a construct that$

05Rhinebothrium_sp_2_worm_2

AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACACTATCCGTCCCTGGGGGGGCACCTTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

--GT---T--GTGT---

GCCTATGTGGGTGCTCTGGTGGTCTGGCTGGGTGCCGGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTGCGCAAAGAAATTTTTAGAACCCTATTATAATGTGATTAGGAC ${\tt CTGTTATGTGGGTTGTCTGACCTGAATTTACCACGTTTAAAAGCTTTAAGGGCTTGGTTGCTTTTACCGTCTACAGTTTTTCTTATTACGAGTATGTGTTT$ AGGGGTGTCTAGAATTTTTAGCTCTATTAATTTTTATATGCACCTTATACACAGCTTTTAGTGGGAGATTGGCTTCCCGTAGATCTATAATTCTTTGGGC r102 frt negro schr GGGAACTGCTATGTAACCTCT---C--GGACTGCCCGTCATGG-TGGTCCACAACC-

atttcggtggggtgcctacttgccctatactcccaggcgtgctcgccagtcgtggcaacttaactgctgtcacggcaatcggccagtccacgccggagcg GCAATCCAGTACATGTGCCGCAAGGTACGTGTGCGAGGTATAAGAA-A-

-----GTACGCGTGTTGGTGTAA-

GCCGGCACTAGTGCTACTATTACT----ACTA---

TCTGTGCAAAACGCATGGTCGGCATTAACTTGTTCGACTGTGTGCGGTTCTCATGAGCGTGGTTGGCTATCTT--

NNNTTGCCACTCCACTCGAAGTCCAGCATTGAGTATGGTTT-

TGCAGCCCAAAGCGGGTGGTAAACTCCATCCAAGGCTAAATACTAGCACGAGTCCGATAGCAAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGTACTTTGAA ${\tt GAGAGAGTAAACAGTACGTGAAACCGCATGCAGGTAAACCGGGTGGCGTCAAGCTGCACGCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTATC-$

TATGCGCTTG-CGTATAAATGGGCCAGAGTAAGGCG----TGGTAGTCCGCTGGTAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----C-AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTGGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GGTGGACACCACGACCGGTGGAACTGCCAGTCTGCTGGGCCAAGTCGTGTTCGGTTCGTCCTTGT-GGCGAACTGGGCGCGAT---CACGGGCAACCT-GCCGTCGTA--

GGGTGGTCTGGTGGGCCATGGTGGTAAGAATAACTGTGCAGGGCACCGGAGTGTTCGGCCTCAAATGCAGCCAGGCATGCACGCTAGTAGTGT-----TG---C---G---

 ${\tt TGCAGGAATAGGTTGGACTTTTTATCCTCCTTTATCTTCTAGTTTATCTGAAGGTAGAAAGGGTGTAGATTTTTTAATGTTTTCTCTACATTTGGCAGGA$ ${\tt GTTTCTAGTATTTTAGTTCTATAAAATTTTATTTGTACTTTATATACTGCTTTTAATGGTAGTTTAGCATCTCGAAGTTCGATAGTGTTATGATC$ r035_gld_jamanxim_tpj1GGGAACCGCTATGTAATCTAT---CTGGGACTGCCCGTCATGG-

TGGTCCAAAACCCGTTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCTTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCTGTTGTGGCAACTTAACTGCTGTCACAACAACCGGCCAGT CCACACCGGAGCGGCATATTAGTACACGTGTCA-AAG---CGTGTGCAAGGTATAAGAACA-

TTGGCACTACCATATGCCTACGCCCCGCTATGCGCCCTTGTCTTTTACACTTACCATACGGATAGTGTGTATGT----------GT--GTGTGTTAGTGTAT-

GCTAGCATTACTACTACTG------

 ${\tt TCTGTGCAAAACGCATGGAGAGCATTAACTTGCTGTACCGTGTGGGTTCTCATGAGCGTACTTGGTTACCTT--}$

GCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTAGT-TATGCGCTTG-CGTATCAAAGGGCCAGAGTAAGGCG----

TGGAGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GCCGTCGTA--

TG---C--TG---

NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNAGTGGTTTTCTTTTTATAATGCCTATCTTAATAGGGGGGGTTTGGTAATTATTTAATTCCCTTAT TAAGGGGTTTGTCCGATTTAAACTTGCCTCGTTTAAAAGCCTTGAGTGCTTGATTGCTTTTACCTTCTGCTGTATTTTTAGTGATTAGTATGTGTTTAGG TGCTGGTATAGGTTTGAACTTTCTATCCTTCCTTTGTCTTCTAGTGTTTTTGAGGGGGAGTAAGGGTGTAGACTTTTTAATGTTTTCATTGCATTTGGCTGGT GTTTCTAGTATATTTAGTTCTATTAATTTTATATGTACTTTGTATACTGCCTTTAGTGGTAGGTTGGCTTCTCGTAGTTCAATTGTATTATGAGC 26Rhinebothrium sp 1 worm 12

****** NNNNNNNNNNNNNNNNNGGAAGAGCCCAGCACCGAAGCCTGCGGTAGCTTTACTGTTAGGCAATGTGGTGTTTGGGTCGGCCGCGCGGGATTGCCA CTCCACTCGAAGTCCAGCATTGAGTATGGTTT-

 ${\tt TGCAGCCCAAAGTGGGTGGTAAACTCCATCCAAGGCTAAATACTAGCACGAGTCCGATAGCAAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGTACTTTGAA$ ${\tt GAGAGAGTAAACAGTACGTGAAACCGCATGCAGGTAAACGGGTGGCGTCAAGCTGCACGCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTAGT-$

TATGCGCTTG-CGTGTCAACAGGCCAGAGTAAGGCG----TGGTAGACCGCTGGAAGACAGTGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG--

TTTAGCCGGGTGGACGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTTGGGCCTACTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GCCGTCGTA---

GT---T--

GCCAATATGGGTGCTCTGGTGGTCTGGCTGGGTGCCGGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTACGCAAAGAAATTTTTAGAGCCGTACTATAATGTTATTAGTAG

ATTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGTCGTGGCAACTTAACTGCTGTCGCGGCAATCGGCCAGTCCACACCGGAGCG GCAATGCAGTACATGTGTCGGAAGGCACGTGTGCGAGGTATAAGAA-A-

TTGGCACCACCATATGCCCTACGCCCCACTATGCGCCCTTGTCTTTTACACTTACCATACAGGTAGTGTGTGAGT-----GTACGCGTGTTGGTGTAT-

GCCGGCACAAGTGCTACTATTACT-----ACTA---

TCTGTGCAAAACGCATGGTCGGCATTGACTTGTTGTACTGTGCGCGGGTTCTCATGAGCGTGGTTGGCTATCTTTTGCCTGGTAGCCGATGCGTCTTGTGC AGAGCTGGAAGAGCCCAGCACCGAAGCCTGCGGCAGGTTTGCTGTTAGGCAATGTGGTGTTTGGGTCGGCTCGCGGGATTGCCACTCCACTCGAAGTCCA GCATTGAGTATGGTTT-

TATGCGCTTG-CGTATAAAAGGGCCAGAGTAAGGCG----TGGTAGTCCGCTGGCAGACAGCGGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG-----

AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

ATTTCGGTGGGGTGCCTATTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGCTGCGGCAACTTAACTGCTGCCACAGCAGGGGCCAGTCCACACCGGAGCG GCAAACCAGTACATGTGTCGCAAG---CGTGTGCAAGGTATAAGAA-A-

CCCTAACAACTATAACTATA---

TATGCGCTTG-CGTGTCAACAGGCCAGAGTAAGGCG----TGGTAGACCGCTGGAAGACAGTGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----

TTTAGCCGGGTGGACGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTTGGGCCTACTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

TGGTCCAAAACCCGTTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCTTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCTGTTGTGGCAACTTAACTGCTGTCACAACAACGGCCAGT CCACACCGGAGCGGCATATTAGTACACGTGTCA-AAG---CGTGTGCAAGGTATAAGAACA-

TTGGCACTACCATATGCCTACGCCCCGCTATGCGCCCCTTGTCTTTTACACTTATCATACGGATAGTGTGTATGT------

-----GT--GTGTGTTAGTGTAT-

GCTAGCATTACTACTACTG-----

AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGGAGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GGGTAATCTGCTGGTAAACAGCAGGCTCAGCCGCAAGGTTGGGATATG----T-GTACCGGGTGGTTGCCGGAGCATGTTACCCGTC--

TGTTGGACCACCTAGCCGGTGCACTTCCTCTGTTTGGTGAACACCACGACCGGTGGTATTGCCAGTCTGCTATAGTCAAGTCGTGTTCAGCTGGTACTTG T-GCTAGTTGGATTGCGATGATCACAGGCAAATT-CGGTGAACGGTGTAGAGGTGTT--T-----

AGATGGCCTGGTGGATTATGGTGGTAAGAATAACTGTGCAAGGCACCGGAGTTATCGGTCTCTAATGCAGCCTACATGCACGCTACAAGTGA-----AC-----ATG-

TATGCGCTTG-CGTGTCAACAGGCCAGTGTAAGGCG----TGGTAGTCCACTGGAAGACAGTGGGCCCTGCCGCAAGGCGGGGATGTG----T-

AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACACTATCCGTCC-TAGGGGGGCCTACTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GGTGGACACCACGACCGGTGGAACTGCCAGTCTGCTATGGTCAAGTCGTGTTCG-TTGGTCCTTGT-GGCTAACTGGGTGCGAT---CACGGGCAAATT-TGGCGAACGGCGTTGACGTGCTCTC------

r092_rhoides_negro_spnGGGAACTGCTATGTAACCTCT---C--GGACCGCTGGTCATGG-TGGTCCACAACC-

ATTTCGGTGGGGTGCCTATTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGTCGTGGCAGCTTAACTGCTGTCACGGCA-

TTGGCACCACCATATGCCCTACGCCCCACTATGCGCCCTTGTCTTTTACACTTACCATACAGGTAGTGTGTGAGT------GTACGCGTGTGGTGTAT-

TCCGGCACAAGTGCTACTATTACT----ACTA---

TCTGTGCAAAACGCGTGGTCGGCATTAACTTGTCG-ACTGTGCGCGGGTTCTCATGAGCGTGGTTGGCTATCTT--

GCCTGGTAGTCAATGCGTCTTGTGCAGAGCTGGAAGAGCCCAGCACCGAAGCCTGCGGCAGGTTTGCTGTTAGGCAATGTGGTGTTTGGGTCGGCTCGCG

GGATTGCCACTCCACTCGAAGTCCAGCATTGAGTATGGTTT-

TATGCGCTTG-CGTATGAATGGGCCAGAGTAGGGCG----TGGTAGTCCGCTGGAAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----T-

GCCGTCGTG-

TGTTGC---G---

 ${\tt ATGTGGGTGCTCTCGTGGTCTGCCTGGTGCCGGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTGCGCAAAGAAATTTTTAGAGCCTTATTATAATGTTATAAGTACTGAT$ TATGCGGGTTTGTCTGATTTAAATTTACCTCGTTTAAAAGCATTAAGTGCTTGATTGTTGTTACCTTCTATCGTTTTTTAGTAATAAGCATGTGTTTAGG GTGTCTAGTATTTTAGCTCTATTAATTTTATCTGTACTTTGTATACTGCCTTTAGTGGTAGTTTGGCGTCTCGAAGGTCAATAATTTTATGGGC r046_gld_jamanxim_tpj1GGGAACCGCTATGTAATCTAT---CTGGGACTGCCCGTCATGG-

TGGTCCAAAACCCGTTTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCTTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCTGTTGTGGCAACTTAACTGCTGTCACAACAACCGGCCAGT CCACACCGGAGCGGCATATTAGTACACGTGTCA-AAG---CGTGTGCAAGGTATAAGAACA-

TTGGCACTACCATATGCCTACGCCCCGCTATGCGCCCTTGTCTTTTACACTTACCATACGGATAGTGTGTATGT-----------GT--GTGTGTTAGTGTAT-

------GCTAGCATTACTACTACTG------

GCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTAGT-TATGCGCTTG-CGTATCAAAGGGCCAGAGTAAGGCG----

TGGTAGTCCGCTGGAAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----T-AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGGAGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GCCGTCGTA---

GGGTGGTCTGGTGGGCCATAGTGGTAAGAATAACTGTGCAGGGCACCGGAGTTTTCGGCCTCAAACGCAGCCAGGCATGCACGCTAGTAGTGT-----ТG---С--ТG---

ATGTGGGTGCTCTCGTGGTCTGCCTGGTGCCGGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTACGCAAAGAATTTTTTGGAGCCTTATTATAATGTGATTAGTACAGAT ${\tt TGTTATAATTTTCTGATTACCAAACATGGTATTATAATGATTTTCTTTTTTATAATGCCTATCTTAATAGGGGGGGTTTGGTAATTATTTAATTCCCTTAT$ TAAGGGGTTTGTCCGATTTAAAACTTGCCTCGTTTAAAAAGCCTTGAGTGCTTGATTGCTTTTACCTTCTGCTGTATTTTTAGTGATTAGTATGTGTTTAGG ${\tt TGCTGGTATAGGTTGAACTTTCTATCCTTCCTTTGTCTTCTAGTATTTTTGAGGGGGAGTAAGGGTGTAGACTTTTTAATGTTTTCATTGCATTTGGCTGGT$ ${\tt GTTTCTAGTATATTTAGTTCTATTAATTTTATATGTACTTTGTATACTGCCTTTAGTGGTAGGTTGGCTTCTCGTAGTTCAATTGTATTATGAGC$

42Rhinebothrium_sp_4_worm_3

****** NNNNNNNNNNNNNNNNNGGAAGAGCCCAGCACCGAAGCCTGCGGTAGCTTTACTGTTAGGCAATGTGGTGTTTGGGTCGGCCGCGCGGGATTGCCA CTCCACTCGAAGTCCAGCATTGAGTATGGTTT-

 ${\tt TGCAGCCCAAAGTGGGTGGTAAACTCCATCCAAGGCTAAATACTAGCACGAGTCCGATAGCAAACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGTACTTTGAA$ TATGCGCTTG-CGTGTCGACAGGCCAGAGTAAGGCG---

TGTTGGGCCTACTAGCCGGTGCACTTACTCTCT--

GGTGGACACCACGACCGGTGGGACTGCCAGTCTGCTATGGTCAATTCGTGTTCGGTTGGTCCTTGT-GGCTTACTGGGTGCGAT---CACGGGCGAACAGTGGCGAACGGCGTTGACGTGCTCTC---TTGA----

 ${\tt GGGTGTGTCTTCGTGTTATCGGTAGCCAGTCGTCTTAACGGACCTGCCGTTGTTCTA-GCCGTCGTA---}$

GGGTGGTCTGGTGGACCTTAGTGGTAGGAATAACTGTGCAGGGCACCGGAGTTGTCGGCCTCAAATGCGGCCAGCATGCACGCTAGTAGTGT-GT---T---

GCCCATGTGGGTGCTCGCGTGGCCTGGCTGGCCGGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTACGCAAAGAAATTTTTGGAGCCTTATTACAATGTTATAAGAAC ${\tt CGGTGTTTTCAAGTATTTTTAGTTCTATAAAACTTTATTTGTACATTATACACTGCTTTTACTAATAGATTAGCTTCACGTAGAAGCATAATTTTATGATC$ r122 gld cuiaba brac GGGAACCGCTATGTAACTTCT---CTCGGACTGCCCGTCATGG-

TGGTCCAAAACCCGTTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCTTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGTTGTGGCAACTTAACTGCTGTCACAACAATCGGCCAGT CCACACCGGAGCGGCATATTAGTACACGTGTGA-AAG---CGTGTGCAAGGTATAAGAACA-

TTGGCACTACCATATGCCCTACGCCCCACTATGCGCCCTTGTCTTTTACACTTATCATACGGATAGTCTGTATGT-----------GT--GTGTGTTAGCGTAT-

GCTAGCATTACTACTACTG------

GCCTGGGTGCCATTGCGTCTTGTGCAGAGCCTGGAAGAGCCCAGCACCGAAGCCTGCGGTAGCTTTACTGTTAGGCAATGTGGTGTTTGGGCCGGCTCGCG GGATTGCCACTCCACCCGAAGTCCAGCATTGAGTATGGTAT-

TGCAGCCCAAAGTGGGTGGTAAACTCCAACGACTAAATACTAGCACGAGTCCGATAGCAAACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGTACTTTGAA

TATGCGCTTG-CGTATCAAAGGGCCAGAGTAAGGCG----TGGTAGTCCGCTGGAAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----T-

AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGGAGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GCCGTCGTA---

TTGGCACCACCATATGCCCTACGCCCCACTATGCGCCCCTTGTCTTTTACACTTATCATACAGGCAGTGTGTGAGT-----GTACGCGTGTTGGTGTAA-

 ${\tt TCTGTGCAAAAACGCATGGTCGGCATTAACTTGTTCGACTGTGTGCGGTTCTCATGAGCGTGGCTTGGCTATCTT--}$

TATGCGCTTG-CGTATAAATGGGCCAGAGTAAGGCG----TGGTAGTCCGCTGGTAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----C-AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTGGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GGTGGACACCACGACCGGTGGAACTGCCAGTCTGCTGGGGCCCAGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--GGTGGACACCACGACCGGTGGAACTGCCAGTCTGCTGTGGGCCAAGTCGTGTTCGGTTCGTCCTTGT-GGCGAACTGGGCGCGCGAT---CACGGGCAACCT-

r054_frt_jamanxim_tpj1GGGAACTGCTATGTAACCTCT---C--GGACTGCCCGTCATGG-TGGTCCACAACC-

ATTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGGTCGCCAGTCGTGGCAACTTAACTGCTGTCACGGCAATCGGCCAGTCCACACCGGAGCG GCAATCCAGTACATGTGCCGCAAGGTACGTGTGCGAGGTATAAGAA-A-

TTGGCACCACCATATGCCCTACGCCCCACTATGCGCCCCTTGTCTTTTACACTTATCATACAGGTAGTGTGTGAGT-----GTACGCGTGTGGTGTAA-

GCCGGCATTAGTGCTACTATTACT----ACTA---

 ${\tt TCTGTGCAAAAACGCATGGTCGGCATTAACTTGTTCGACTGTGTGCGGTTCTCATGAGCGTGGTTGGCTATCTT--}$

38Rhinebothrium_sp_1_worm_20

TTTAGCCGGGTGGACGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTTGGGCCTACTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

AGGAATTTCTAGTATTTTTAGGTCTATTAAATTTATTTGTACTTTGTATACTGCTTTTAGTGATAGTTTAGCATCACGTAGTTGTATTATATTATGATC 35Rhinebothrium_sp_3_worm_2

TATGCGCTTG-CGTGTCAACAGGCCAGAGTAAGGCG----TGGTAGACCGCTGGAAGACAGTGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----

TTTAGCCGGGTGGACGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTTGGGCCTACTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

 ${\tt TATGCGCTTG-CGTGTCAACAGGCCAGAGTAAGGCG----TGGTAGACCGCTGGAAGACAGTGGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG-----}\\$

TTTAGCCGGGTGGACGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTTGGGCCTACTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

TATGCGCTTG-CGTGTCAACAGGCCAGAGTAAGGCG----TGGTAGACCGCTGGAAGACAGTGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----

TTTAGCCGGGTGGACGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTTGGGCCTACTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

ATTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGTCGTGGCAACTTAACTGCTGTCACGGCAATCGGCCAGTCCACACCGGAGCG GCAATCCAGTACATGTGCCGCAAGGTACGTGTGCGAGGTATAAGAA-A-

TTGGCACCACCATATGCCCTACGCCCCACTATGCGCCCTTGTCTTTTACACTTATCATACAGGCAGTGTGTGAGT-----GTACGCGTGTGGTGTAA-

GCCGGCACTAGTGCTACTATTACT----ACTG---

 ${\tt TCTGTGCAAAAACGCATGGTCGGCATTAACTTGTTCGACTGTGTGCGGTTCTCATGAGCGTGGTTGGCTATCTT--}$

NNNTTGCCACTCCACTCGAAGTCCAGCATTGAGTATGGTTT-

TGCAGCCCAAAGCGGGTGGTAAACTCCATCCAAGGCTAAATACTAGCACGAGTCCGATAGCAAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGTACTTTGAA ${\tt GAGAGAGTAAAACAGTACGTGAAACCGCATGCAGGTAAACGGGTGGCGTCAAGCTGCACGCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTATC-$

TATGCGCTTG-CGTATAAATGGGCCAGAGTAAGGCG----TGGTAGTCCGCTGGTAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----C-

AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTGGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GGTGGACACCACGACCGGTGGAACTGCCAGTCTGCTGGGCCAAGTCGTGTTCGGTTCGTCCTTGT-GGCGAACTGGGCGCGAT---CACGGGCAACCT-GCCGTCGTA--

TG---C---G----

ATGTGGGTGCTCTCGTGGTCTGCCTGGTGCCGGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTGCGCAAAGAAATTTTTGGAGCCTTATTATAACGTTATTAGTACAGAT ${\tt TGTTATAAATTTTTAAATTACTAACCATGGTATTATAAATGATTTTCTTTTTATAATGCCTATTTTAAATAGGTGGTTTTGGTAATTATTTAAATTCCTTTGT$ TATGTGGTTTATCTGACTTAAATTTACCTCGTTTAAAAGCATTGAGTGCTTGATTGTTATTGCCTTCTGCTGCTGTTTTTTAGTAATAAGTATGTGTTTAGG AGCAGGGATAGGCTGGACTTTTTATCCTCCTTTATCTTCGAGTTTATTTGAGGGTAGAAAGGGTGTAGATTTTTTAATGTTTTCTTTGCACTTAGCAGGA GTTTCTAGTATTTTAGCTCTATAAATTTTATTTGTACTTTATACACCGCTTTTAGTGGTAGTTTGGCGTCTCGAAGTTCGATAATATTATGGGC r048 gld uppersol mot GGGAACCGCTATGTAATCTAT---CTGGGACTGCCCGTCATGG-

 ${\tt TGGTCCAAAACCCGTTTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCCTTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCTGTTGTGGCAACTTAACTGCTGTCACAACAACCGGCCAGT$ CCACACCGGAGCGGCATATTAGTACACGTGTCA-AAG---CGTGTGCAAGGTATAAGAACA-

TTGGCACTACCATATGCCTACGCCCCGCTATGCGCCCTTGTCTTTTACACTTACCATACGGATAGTGTGTATGT------------GTGTGTTAGTGTAT-

GCTAGCATTACTACTACTG--

 ${\tt GCCTGGGTGCCATTGCGTCTTGTGCAGAGGCTGGAAGAGCCCAGCACCGAAGCCTGCGGTAGCTTTACTGTTAGGCAATGTGGTGTTTGGGCCGGCTCGCG$ GGGTTGCCACTCCACTCGAAGTCCAGCATTGAGTATGGTTT-

TGCAGCCCAAAGTGGGTGGTAAACTCCAACGCTAAAATACTAGCACGAGTCCGATAGCAAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGTACTTTGAA ${\tt GAGAGAGTAAACAGTACGTGAAACCGCATGCAGGTAAACGGGTGGCGTCAAGCTGCACGCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTAGT-$

TATGCGCTTG-CGTATCAAAGGGCCAGAGTAAGGCG---TGGTAGTCCGCTGGAAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----T-

AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGGAGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GCCGTCGTA---

GGGTGGTCTGGTGGGCCATAGTGGTAAGAATAACTGTGCAGGGCACCGGAGTTTTCGGCCTCAAACGCAGCCAGGCATGCACGCTAGTAGTGT-----TG---C--TG--

ATGTGGGTGCTCTCGTGGTCTGCCTGGTGCCGGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTACGCAAGAAATTTTTGGAGCCTTACTATAATGTGATTAGTACGGAT ${\tt TGTTATAATTATTAATTACTAAACATGGTATTATAAATGATTTTCTTTTTATAATGCCTATTTTAAATAGGGGGGGTTTGGTAATTATTTAATTCCTCTAT$ ${\tt TGCTGGTATAGGTTGAACTTTTTATCCTTCCTTTGTCTTCTAGTGTTTTTGAAGGTAGTAGGTGTAGATTTTTTAATGTTTTCATTGCATTTGGCCGGT$ **GTCTCTAGTATATTTAGTTCTATTAATTTTATATGTACTTTGTACACTGCTTTTAGTGGTAGGTTGGCTTCTCGTAGTTCAATTGTATTATGAGC**

GGGAACTGCTATGTAACCTCT---C--GGACCGCTGGTCATGG-TGGTCCACAACCr117 vnz salob mot

ATTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGGTCGCCAGTCGTGGCAACTTAACTGCTGTCACGGCAATCGGCCAGTCCACACCGGAGCG GCAATGCAGTACATGTGTCGGAAGGCACGTGTGCGAGGTATAAGAA-A-

-----GTACGCGTGTTGGTGTAT-

GCCGGCACAAGTGCTACTATTACT----ACTA---

GTTTATCAGATTTAAAATTTGCCTCGTTTAAAAAGCATTAAGTGCTTGGTTGTTATTACCTTCTGCAGTTTTTTTAATAATAAGTATGTGCTTGGGAGCAGG AATAGGTTGGACTTTTTATCCTCCCTTTATCTTCAGTTTATTTGAAGGTAGAAAGGGGGTAGATTTTTTGATGTTTTCGTTACATTTAGCAGGGGTTTCT AGTATTTTTAGTTCTATAAATTTTATTTGTACTCTGTACACTGCTTTTAGGGGGTAGTTTAGCATCTCGGAGTTCTATAGTATTATGGGC r04_scorzai_marajo_spmar1

 ${\tt CGCCAGCTGCGGCAACTTAACTGCTGCCACAGCAAGAGGCCAGTCCACACCGGAGCGGCAAACCAGTACATGTGTCGCAAG---}$ CGTGTGCAAGGTATAAGAA-A-

-TGCGTGCGTGTTGGTATGTAGGTGTGCTGGTGTAT-ACCAGCATTACTACTACTACTACTGCTACCACCACCACCACCAC------

TACTACTACTACTACTA---

GCATTGAGTATGGTTT-

TGCAGCCCAAAGTGGGTGGTAAACTCCATCCAAGGCAAAATACTAGCACGAGTCCGATAGCAAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGTACTTTGAA GAGAGAGTAAACAGTACGTGAAACCGCATGCAGGTAAACGGGTGGCGTCAAGCTGCACGCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTAGT-

 ${\tt TATGCGCTTG-CGTATCGAAGGGCCAGAGTAAAGCGCGCGTGGTAGTCCGCTGGAAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----T-AAGCCGGGTGGAAGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGCGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--$

TTGGCACCACCATATGCCCTACGCCCCACTATGCGCCCCTGTCTTTTACACTTATCATACAGGTAGTGTGTGAGT-----GTACGCGTGTGGTGTAA-

GCCGGCACTAGTGCTACTATTACT-----ACTG---

 ${\tt TCTGTGCAAAACGCATGGTCGGCATTGACTTGTTCGACTGTGTGCGGTTCTCATGAGCGTGGTTGGCTATCTT--}$

AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTGGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

TATGCGCTTG-CGTGTCAACAGGCCAAAGTAAGGCG----TGGTAGACCGCTGGAAGACAGTGGGCCCTGCCACAAGGTGGGGATGTG-----

TTTAGCCGGGTGGACGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTTGGGCCTACTAACCGGTGCACTTTCTCTGT--

ATTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGGTCGCCAGTCGTGGCAACTTAACTGCTGTCACGGCAATCGGCCAGTCCACACCGGAGCG GCAATCCAGTACATGTGCCGCAAGGTACGTGTGCGAGGTATAAGAA-A-

TTGGCACCACCATATGCCCTACGCCCCGCTATGCGCCCTTGTCTTTTACACTTATCATACAGGTAGTGTGTGAGT-----GTACGCGTGTGGTGTAA-

GCCGGCACTAGTGCTACTATTACT----ACTA---

GGCTAGTCCACTGGAAGACAGTGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGG-TGTG----T-GTACCGGGTGGAAGCCGGAGCACGCTAGCCGTC--

TGTTGGGCCATCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

TTGGCACCACCATATGCCCTACGCCCCACTATGCGCCCCTGTCTTTTACACTTATCATACAGGTAGTGTGTGAGT-----GTACGCGTGTGTGAA-

GCCGGCACTAGTGCTACTATTACT-----ACTG---

TATGCGCTTG-CGTATAAATGGGCCAGAGTAAGGCG----TGGTAGTCCGCTGGCAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----C-AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTGGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GGTGGACACCACGACCGGTGGAACTGCCAGTCTGCTGGGCCAAGTCGTGTTCGGTTGGTCCTTGT-GGCGAACTGGGCGCGCGAT---CACGGGCAACCT-

TGGTCCAAAACCCGTTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCTTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGTTGTGGCAACTTAACTGCTGTCACAACAATCGGCCAGT CCACACCGGAGCGGCATATTAGTACACGTGTGA-AAG---CGTGTGCAAGGTATAAGAACA-

TTGGCACTACCATATGCCCTACGCCCCACTATGCGCCCTTGTCTTTTACACTTATCATACGGATAGTCTGTATGT------GT--GTGTGTTTAGCGTAT-

TGGAGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

r014 Rfulbrighti marajo orbignyi

 ${\tt CTTCACTCGAAGTCCAGCATTGAGTATGGTCCACTGGATTTGGCCCAGAGAGGGGTGAAAGGCCCGTACGGGTGGAGGTTTCAGACAAGTGAGGCAATTCA$ ATTCAGCCGGTTAGAGTGTAGT-TATGCGCTTG-CGTGTCGAACGGCCAGTGTAAGATT----

GGCTAGTCCACTGGAAGACAGTGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGG-TGTG----T-GTACCGGGTGGAAGCCGGAGCACGCTAGCCGTC--

TGTTGGGCCATCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GGTGGACACCACGACCGGTGGTACTGCCAGTCTGCTATGGTCAAGTCGTATTCGGTTGGTCCTTGT-GGCCTACTGGGTGCGAT---CACGGACAAACT-GTCGTCCTA---

тс-----

 ${\tt TGTTATAAATTTTTAAATTACTAATCATGGTATTATTATGATTTTCTTTTTTATAATGCCTATTTTAAATCGGCGGGTTTTGGTAATTATTTAATACCCTTGT$ ${\tt TAGCGGGGGTTATCTGATTTAAAATTTGCCACGTTTAAAAAGCGTTGAGTGCTTGACTTTTACTGCCCCTCTGTGGTTTTTTTGTTAATAAGTATGTGTCTTGG$ TGCTGGTGGTTGGATCGACCTTTTATCCTCCCCTTATCTTCTGTGGCCTTTTGAGGGCAGTAAGGGTGTTGATTTTTTAATGTTTTCTTTGCATTTAGCGGGG **GTGTCTAGAATTTTTAGTTCTATAAATTTTATCAGTACCTTGTATACTGCTTTTAGCGGTAGATTATCCTCACGCGGTTCTATTATTTTGTGGTC** r103 frt negro schr GGGAACTGCTATGTAACCTCT---C--GGACTGCCCGTCATGG-TGGTCCACAACC-

atttcggtggggtgcctacttgccctatactcccaggcgtgctcgccagtcgtggcaacttaactgctgtcacggcaatcggccagtccacaccggagcg GCAATCCAGTACATGTGCCGCAAGGTACGTGTGCGAGGTATAAGAA-A-

-----GTACGCGTGTTGGTGTAA-

GCCGGCACTAGTGCTACTATTACT---

----АСТА---TCTGTGCAAAACGCATGGTCGGCATTAACTTGTTCGACTGTGTGCGGTTCTCATGAGCGTGGTTGGCTATCTT--

GCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTGTC-TATGCGCTTG-CGTATGAATGGGCCAGAGTAAGGCG--

TGGTAGTCCGCTGGCAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----T-AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GGTGGACACCACGACCGGTGGAACTGCCAGTCTGCTGGTGGTCGTGTTCGGTTGGTCCTTGT-GGCGAACTGGGCGCGAT---CACGGGCAACCT-GCCGTCGTA--

TG---G---

ATGTGGGTGCTCTCGTGGTCTGCCTGGTGCCGGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTGCGCAAAGAAATTTTTGGAGCCTTATTATAATGTTATTAGCTCAGAT AGCAGGAATAGGTTGGACTTTTTATCCTCCTTTATCTTCTAGTTTATCTTGAAGGTAGAAAGGGTGTAGATTTTTTAATGTTTTCTCTACATTTGGCAGGA ${\tt GTTTCTAGTATTTTAGTTCTATAAAATTTTATTTGTACTTTATATACTGCTTTTAGTAGTAGTAGTATCTCGAAGTTCGAAGTTCGATAGTGTTGTGATCTGTAGTAGTAGTAGTAGTAGTTCGAAGTTGTGTGAAGTTGTGAGTGAGTGTGGAAGTTGTGAGTGAGTGTGGAAGTTGTGAGTTGTGAGTTGTGAGTGGAAGTTGTGGAAGTTGGAAGTTGGAAGTTGGAAGTTGGAAGTTGGAAGTTGGAAGTTGGAAGTTGGAAGTTGGAAGTTGGAAGTTGGAAGGAAGTGGAAGGAAGTGGAAGTGGAAGTGGAAGGAAGGAAGGAAGTGGAAGGAGGAAGGAAGGAAGGAAGGAAGGAAGGAAGGAAGGAAGGAAGGAAGGAAGGAAGGAAGGAAGGAG$ r249 rhoides negro orbGGGAACTGCTATGTAACCTCT---C--GGACTGCCCGTCATGG-TGGTCCACAACC-

ATTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGTCGTGGCAACTTAACTGCTGTCACGGCAATCGGCCAGTCCACACCGGAGCG GCAATCCAGTACATGTGCCGCAAGGTACGTGTGCGAGGTATAAGAA-A-

-----GTACGCGTGTTGGTGTAA-

GCCGGCACTAGTGCTACTATTACT--------АСТА---

NNNNNNGGAAGAGCCCAGCACCGAAGCCTGCGGCAGGTTTGCTGTTAGGCAATGTGGTGTTTGGGTCGGCTCGCGGGATTGCCACTCCACTCGAAGTCCA GCATTGAGTATGGTTT-

 ${\tt TGCAGCCCAAAGCGGGTGGTAAACTCCATCCAAGGCTAAATACTAGCACGAGTCCGATAGCAAACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGTACTTTGAA$ ${\tt GAGAGAGTAAAACAGTACGTGAAACCGCATGCAGGTAAACCGGGTGGCGTCAAGCTGCACGCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTATC-$

TATGCGCTTG-CGTATAAATGGGCCAGAGTAAGGCG---TGGTAGTCCGCTGGCAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----C-

AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTGGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--GGTGGACACCACGACCGGTGGAACTGCCAGTCTGCTGGGCCAAGTCGTGTTCGGTTCGTCCTTGT-GGCGAACTGGGCGCGAT---CACGGGCAACCT-

GCCGTCGTA-

GGGTGGTCTGGTGGGCCATGGTGGTAAGAATAACTGTGCAGGGCACCGGAGTGTTCAGCCTCAAATGCAGCCAGGCATGCACGCTAGTAGTGT-----TG---C---G---

ATGTGGGTGCTCTCGTGGTCTGCCTGGTGCCGGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTGCGCAAAGAAATTTTTGGAGCCTTATTATAATGTTATTAGTGCAGAT ${\tt TGTGTGGGTTATCTGATCTAAATTTACCTCGTTTAAAAGCATTGAGTGCTTGATTGTTACTGCCTTCCGCTGTTTTTTAGTAACAAGTATGTGTTTAGG$ AGCGGGAGTAGGATTGAACTTTTTATCCTCCTTTATCTTCGAGTTTATTTGAGAGTAGAAAGGGTGTGGATTTTTTAATGTTTTCTTTACATTTAGCAGGA r051_vnz_uppersol_mot GGGAACTGCTATGTAACCTCT---C--GGACCGCTGGTCATGG-TGGTCCACAACC-

ATTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGGTCGCCAGTCGTGGCAACTTAACTGCTGTCGCGGCAATCGGCCAGTCCACACCGGAGCG GCAATGCAGTACATGTGTCGGAAGGCACGTGTGCGAGGTATAAGAA-A-

TTGGCACCACCATATGCCCCACCACTATGCGCCCCTTGTCTTTTACACTTACCATACAGGTAGTGTGTGGAGT-----------GTACGCGTGTTGGTGTAT-

GCCGGCACAAGTGCTACTATTACT----ACTA---

 ${\tt TTTAGCCGGGTGGACGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTTGGGCCTACTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--}$

ATTTCGGTGGGGTGCCTATTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGCTGCGGCAACTTAACTGCTGCCACAGCAAGAGGGCCAGTCCACACCGGAGCG GCAAACCAGTACATGTGTCGCAAG---CGTGTGCAAGGTATAAGAA-A-

TACTACTACTACTACTA---

TATGCGCTTG-CGTATCGAAGGGCCAGAGTAAAGCGCGCGTGGTAGTCCGCTGGAAGACAGCGGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----T-AAGCCGGGTGGAAGCCGGGAGCACGCTATCCGTC--TGCGGGGCCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

TATGCGCTTG-CGTGTCGACAGGCCAGAGTAAGGCG----

 ${\tt TGGTAGTCGCTGGAAGACAGTGGGCCCTGCCGCGAGGTGGGGGATGTGCTTTTTTGTGCCCGGGTGGAAGCCGGAGCACGCTATCCGTC--$ TGTTGGGCCTACTAGCCGGTGCACTTACTCTCT--

 ${\tt GGTGGACACCACGACCGGTGGGACTGCCAGTCTGCTATGGTCAAGTCGTGTTCGGTTGGTCCTTGT-GGCTTACTGGGTGCGAT---}$ CACGGGCGAACAGTGGCGAACGGCGTTGACGTGCTCTC---TTGA-

GGGTGTGTCTTCGTGTTATCGGTAGCCAGTCGTCTTAACGGACCTGCCTTGCGGTTGTTCTA-GCCGTCGTA---

GGGTGGTCTGGTGGACCTTAGTGGTAGGAATAACTGTGCAGGGCACCGGAGTTGTCGGCCTCAAATGCGGCCAGCATGCACGCTAGTAGTGT-----GT---T---

 ${\tt GCCCATGTGGGTGCTCGCGTGGCCTGGCTGGCCGGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTACGCAAAGAAATTTTTAGAACCTTACTATAATGTTATAAGAAC$ TGGAGTTTCAAGTATTTTAGTTCTATAAAAATTTATCTGCACGTTATATACTGCCTTTACGGATAGTTTAGCTTCACGTAGAAGAATAGTTTTATGATC AF286931 Litobothrium amplifica

****** NNNNNNNNNNNNNNNNNNGGAATAGCCCAGCACCGAAGCCTGCGGCAGTTTTGCTGTTAGGCAATGTGGTGTTTGGGTCGGCTTATGGGATTGCCA ${\tt ctccactcgaagtccagcattgagtatggtcccctggattggcccagagagggtgaaaggcccgtacgagtggatgtatcagacatgtaaggcaatgtaaggcaatgtaaggggtaagggtaagggtaagggtaagggtaagggtaagggtaagggtaggatgtaagggtaggatgtaagggtaggatgtaagggtaggatgtaagggtaggatgtaagggtaggatgtaagggtaggatgtaagggtaggatgtaagggtaggatgtaagggtaggatgtaggatgtaggatgtaggatgtaggatgtaagggtaggatgtaagggtaggatggatgtaggatgtaggatgtaggatgtaggatgtaggatgtaggatgtaggatgtaggatggatgtaggatgtaggatgtaggatgtaggatgtaggatgtaggatgga$ ATTCAGTCGGCTAGGATGTAGTGTGTGTGCGCCTGGCGCATCGAGAGGCCAGAGTAAGATT---

GGGTGATCTGCTGGGAAACAGCAGGCTCAGCCTTACGGTTGAGATATG----T-GTACCGGGTGGTTGCCGGAGCATGTCACTCGTC--TGTTGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTCCTCTGTT-

 ${\tt GGTGAACACCACGGCCGGTGGTATTGCCAGTCTGCCATAGTCAAGTCGTGTTCAGTTGGTGCTCGCCAGTTGGATTGCGATGATCACAGGCAAATT-$ GTCGTCGCT---

AGATGGCCTGGTGGATTATGGTGGTAAGAATAACTGTGCAAGGCACCGGAGTTCTCGGTCTCTAATGCAACCTACATGCACGCTACAAGTGA-----C-----ATG-

GGGAACTGCTATGTAACAACAATACTCGGACCGCTCGTCATAG-TGGTCTGCTACCr01 scorzai marajo spmar1

ATTTCGGTGGGGTGCCTATTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGCTGCGGCAACTTAACTGCTGCCACAGGAGGGCCAGTCCACACCGGAGCG GCAAACCAGTACATGTGTCGCAAG---CGTGTGCAAGGTATAAGAA-A-

-TGCGTGCGTGTTGGTATGTAGGTGTGCTGGTGTAT-GCCAGCATTACTACTACTACTACTACCACCACCACCACCAC---

TACTACTACTACTACTA--

NNNNNNGGAAGAGCCCAGCACCGAAGCCTGCGGTAGCTTTACTGTTAGGCAATGTGGTGTTTGGGCCGGCTCGCGGGATTGCCACTCCAACTCGAAGTCCA GCATTGAGTATGGTTT-

 ${\tt TGCAGCCCAAAGTGGGTGGTAAACTCCATCCAAGGCTAAATACTAGCACGAGTCCGATAGCAAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGTACTTTGAA$

TATGCGCTTG-CGTATCGAAGGGCCAGAGTAAAGCGCGCGCGTGGTAGTCCGCTGGAAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----T-AAGCCGGGTGGAAGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGCGGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GGTGGACACCACGACCGGTGGAACTGCCAGTCTGCTATGGTCAAGTCGTGTTCGGTTGGTCCTTGT-GGCGAACTGGGCGCGAT---CACGGGCAAATT-

GCCGTCGTA--

--G---T---

ATGTGGGTGCTCTCGTGGTCTGCCTGGTGCCGGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTACGCAAAGAAATTTTTAGAACCTTACTAATGTTATTAGTACTGAT ${\tt TATGTGGTTTATCTGATTTAAACTTACCACGTTTAAACGCGCCTTAGTGCTTGGTTACTTTTACCTTCTGTGTTATTTTAGTTATAAGAATGTGTTTAGG$ GGCTGGGGTAGGTTGAACTTTTTATCCTCCCCTAGCTTCCAGTGCATTTGAGGGGAGTAAGGGTGTAGACTTTTTAATGTTTTCTTTACACTTAGCGGGG GTTTCTAGAATTTTTAGCTCTATTAATTTTATTTGTACTTTACACACTGCCTTTAGGGGTAATTTAGCTTCTCGTAGTTCTATTGTATTATGGGC

r07 scorzai marajo motGGGAACTGCTATGTAACAACAATACTCGGACCGCTCGTCATAG-TGGTCTGCTACC-

ATTTCGGTGGGGTGCCTATTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGCTGCGGCAACTTAACTGCTGCCACAGAGAGGCCAGTCCACACCGGAGCG GCAAACCAGTACATGTGTCGCAAG---CGTGTGCAAGGTATAAGAA-A-

--CGTGTTGGTATGTAGGTGTGCTGGTGTAT-GCCAGTATTACTACTACTACTACTACCACCACCACCAC--

NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGGAAGAGCCCAGCACCGAAGCCTGCGGTAGCTTTACTGTTAGGCAATGTGGTGTTTGGGCCGGCTCGCGGG ATTGCCACTCCACTCGAAGTCCAGCATTGAGTATGGTTT-

TGCAGCCCAAAGTGGGTGGTAAACTCCATCCAAGGCTAAATACTAGCACGAGTCCGATAGCAAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGTACTTTGAA

TATGCGCTTG-CGTATCGAAGGGCCAGAGTAAAGCGCGCGTGGTAGTCCGCTGGAAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG---

AAGCCGGGTGGAAGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGCGGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

 ${\tt GGTGGACACCACGACCGGTGGAACTGCCAGTCTGCTATGGTCAAGTCGTGTTCGGTTGGTCCTTGT-GGCGAACTGGGCGCGAT---CACGGGCAAATT--CACGGCCAAATT---CACGGCCAAATT---CACGGCCAAATT---CACGGCCAAATT---CACGGCCAAATT---CACGGCCAAATT----CACGGCCAACTGCACTGCAACTGCAACTGCAAC$ GCCGTCGTA--

--G---T---

 ${\tt ATGTGGGTGCTCTCGTGGTCTGCCTGGTGCCGGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTACGCAAAGAAATTTTTAGAACCTTACTAATGTTATTAGTACTGAT$ TATGTGGTTTATCTGATTTAAACTTACCACGTTTAAACGCGCGCTTAGTGCTTGGTTACTTTTACCTTCTGTGTTATTTTAGTTATAAGAATGTGTTTAGG GGCTGGGGTAGGTTGAACTTTTTATCCTCCCTTAGCTTCCAGTGCATTTGAGGGGAGTAAGGGTGTAGACTTTTTAATGTTTTCTTTACACTTAGCGGGG GTTTCTAGAATTTTTAGCTCTATTAATTTTATTTGTACTTTACACACTGCCTTTAGGGGTAATTTAGCTTCTCGTAGTTCTATTGTATTATGGGC

GGGAACTGCTATGTAACAACAATACTCGGACCGCTCGTCATAG-TGGTCTGCTACCr03 scorzai marajo spmar1

ATTTCGGTGGGGTGCCTATTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGCTGCGGCAACTTAACTGCTGCCACAGGAGGGCCAGTCCACACCGGAGCG GCAAACCAGTACATGTGTCGCAAG---CGTGTGCAAGGTATAAGAA-A-

GTGCGTGCGTGTTGGTATGTAGGTGTGCTGGTGTAT-

NNNNNNGGAAGAGCCCAGCACCGAAGCCTGCGGTAGCTTTACTGTTAGGCAATGTGGTGTTTGGGCCGGCTCGCGGGATTGCCACTCCACTCGAAGTCCA GCATTGAGTATGGTTT-

 ${\tt TGCAGCCCAAAGTGGGTGGTAAACTCCATCCAAGGCTAAATACTAGCACGAGTCCGATAGCAAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGTACTTTGAA$ ${\tt GAGAGAGTAAACAGTACGTGAAACCGCATGCAGGTAAACGGGTGGCGTCAAGCTGCACGCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTAGT-$

TATGCGCTTG-CGTATCGAAGGGCCAGAGTAAAGCGCGCGTGGTAGTCCGCTGGAAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----T-

AAGCCGGGTGGAAGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGCGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

 ${\tt GGTGGACACCACGACCGGTGGAACTGCCAGTCTGCTATGGTCAAGTCGTGTTCGGTTGGTCCTTGT-GGCGAACTGGGCGCGAT---CACGGGCAAATT--CACGGCCAAATTAA$ GCCGTCGTA---

-G---T--

ATGTGGGTGCTCTCGTGGTCTGCCTGGTGCCGGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTACGCAAAGAAATTTTTAGAACCTTACTAATGTTATTAGTACTGAT ${\tt TATGTGGTTTATCTGATTTAAACTTACCACGTTTAAACGCGCCTTAGTGCTTGGTTACTTTTACCTTCTGTGTTATTTTAGTTATAAGAATGTGTTTAGG$ GGCTGGGGTAGGTTGAACTTTTTATCCTCCCCTAGCTTCCAGTGCATTTGAGGGGAGTAAGGGTGTAGACTTTTTAATGTTTTCTTTACACTTAGCGGGG **GTTTCTAGAATTTTTAGCTCTATTAATTTTATTTGTACTTTACACACTGCCTTTAGGGGTAATTTAGCTTCTGTAGTTCTATTGTATTATGGGC** r121 frt cuiaba brac GGGAACTGCTATGTAACCTCT---C--GGACTGCCGGTCATGG-TGGTCCACAACC-

ATTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGGTCGCCAGTCGTGGCAACTTAACTGCTGTCACGGCAATCGGCCAGTCCACACCGGAGCG GCAATCCAGTACATGTGCCGCAAGGTACGTGTGCGAGGTATAAGAA-

-----GTACGCGTGTTGGTGTAT-

GCCGGCACTAGTGCTACTATGACT----ACTA---

TCTGTGCAAAACGCATGGTCGGCATTAACTTGTTCGACTGTGTGCGGTTCTCATGAGCGTGGTTGGCTATCTT--

GCCTGGTAGTCGATGCGTCTTGTGCAGAGCTGGAAGAGCCCAGCACCGAAGCCTGCGGCAGGTTTGCTGTTAGGCAATGTGGTGTTTGGGTCGGCCCGCGC GGATTGCCACTCCACTCGAAGTCCAGCATTGAGTATGGTTT-

 ${\tt TGCAGCCCAAAGCGGGTGGTAAACTCCATCCAAGGCTAAATACTAGCACGAGTCCGATAGCAAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGTACTTTGAA$ ${\tt GAGAGAGTAAACAGTACGTGAAACCGCATGCAGGTAAACGGGTGGCGTCAAGCTGCACGCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTATC-$

TATGCGCTTG-CGTATAAATGGGCCAGAGTAAGGCG----TGGTAGTCCGCTGGTAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----C-AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTGGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GCCGTCGTA---

TG---C---G--

 ${\tt TGTGTGGCCTGTCAGATTTAAATTTACCACGTTTAAAAGCATTAAGTGCTTGATTGTTACTGCCTTCTGCAGTTTTTTTGATAATAAGTATGTGTTTAGG$ ${\tt GGCAGGAATAGGTTGAACTTTTTATCCACCTTTATCTTCAAGTTTATTTGAAGGGAGTAAGGGTGTAGATTTTTTGATGTTTTCATTACATTTGGCTGGT$

r097 rhoides negro spnGGGAACTGCTATGTAACCTCT---C--GGACCGCTGGTCATGG-TGGTCCACAACC-

ATTTCGGTGGGGTGCCTATTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGTCGTGGCAGCTTAACTGCTGTCACGGCA-

TCGGCCAGTCCACACCGGAGCGGCAATGCAGTACATGTGCCGGAAGGTATGTGTGCAAGGTATAAGAT-A-

-----GTACGCGTGTTGGTGTAT-

TCCGGCACAAGTGCTACTATTACT----ACTA--- ${\tt TCTGTGCAAAACGCGTGGTCGGCATTAACTTGTCG-ACTGTGCGCGGGTTCTCATGAGCGTGGTTGGCTATCTT--}$

****** ****** **AATTATTTAATTCCCTTATTATGCGGTTTGTCTGATTTAAATTTACCTCGTTTAAAAGCATTAAGTGCTTGATTGTTGTTACCTTCTATCGTTTTTTAG** ${\tt TTCTCTACATTTGGCTGGTGTGTCTAGTATTTTTAGCTCTATTAATTTTATCTGTACTTTGTATACTGCCTTTAGTGGTAGTTTGGCGTCTCGAAGGTCA$ ATAATTTTATGGGC

r101 frt negro schr GGGAACTGCTATGTAACCTCT--C--GGACTGCCCGTCATGG-TGGTCCACAACC-

atttcggtggggtgcctacttgccctatactcccaggcgtgctcgccagtcgtggcaacttaactgctgtcacggcaatcggccagtccacaccggagcg

GCAATCCAGTACATGTGCCGCAAGGTACGTGTGCGAGGTATAAGAA-A-

-----GTACGCGTGTTGGTGTAA-

GCCGGCACTAGTGCTACTATTACT--------АСТА---

GCATTGAGTATGGTTT-

 ${\tt TGCAGCCCAAAGCGGGTGGTAAACTCCATCCAAGGCTAAATACTAGCACGAGTCCGATAGCAAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGTACTTTGAA$ ${\tt GAGAGAGTAAAACAGTACGTGAAACCGCATGCAGGTAAACGGGTGGCGTCAAGCTGCACGCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTATC-$

TATGCGCTTG-CGTATAAATGGGCCAGAGTAAGGCG----TGGTAGTCCGCTGGTAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGGATGTG---AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTGGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT-

GGTGGACACCACGACCGGTGGAACTGCCAGTCTGCTGGGCCAAGTCGTGTTCGGTTCGTCCTTGT-GGCGAACTGGGCGCGAT---CACGGGCAACCT-GCCGTCGTA--

TG---G---

ATGTGGGTGCTCTCGTGGTCTGCCTGGTGCCGGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTGCGCAAAGAAATTTTTGGAGCCTTATTATAATGTTATTAGCTTAGAT AGCAGGAATAGGTTGGACTTTTTATCCTCCTTTATCTTCTAGTTTATCTTGAAGGTAGAAAGGGTGTAGATTTTTTAATGTTTTCTCTACATTTGGCAGGA ${\tt GTTTCTAGTATTTTAGTTCTATAAAATTTTATTTGTACTTTATATACTGCTTTTAGTGGTAGTTTAGCATCTCGAAGTTCGATAGTGTTATGATC$ GGGAATTTGTATGTAACAACAATACTCGGCCCGCTCGTCATAG-TGGTCTGCTACCr05 rhoides marajo spmar1

ATTTCGGTGGGGTGCCTATTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGCTGCGGCAACTTAACTGCTGCCACAGGAGGCCAGTCCACACCGGAGCG GCAAACCAGTACATGTGTCGCAAG---CGTGTGCAAGGTATAAGAA-A-

-TG--TGCGTGTTGGTATGTAGGTGTGCTGGTGTAT-GCCAGCATTACTACTACTACTACTACCACCACCACCACCACCAC------

TACTACTACTACTACTACTA---

NNNNNGGAAGAGCCCAGCACCGAAGCCTGCGGTAGCTTTACTGTTAGGCAATGTGGTGTTTGGGCCGGCTCGCGGGATTGCCACTCCACTCGAAGTCCA GCATTGAGTATGGTTT-

 ${\tt TGCAGCCCAAAGTGGGTGGTAAACTCCATCCAAGGCTAAATACTAGCACGAGTCCGATAGCAAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGAAAAGTACTTTGAA$ GAGAGAGTAAACAGTACGTGAAACCGCATGCAGGTAAACGGGTGGCGTCAAGCTGCACGCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTAGT-TATGCGCTTG-CGTATCSAAGGGCCAGAGTAAAGCGCGCGTGGTATTCCGCTGGAAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----T-

AAGCCGGGTGGAAGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGCGGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

 ${\tt GGTGGACACCACGACGGTGGAACTGCCAGTCTGCTATGGTCAAGTCGTGTTCGGTTGGTCCTTGT-GGCGAACTGGGCGCGAT---CACGGGCAAATTAA$ TGGTGAACGGCGTTGATGTGCCCTC------GGGTGCGTCTTCGTGCTATCGGTAGCCAGTTGTCTTAACGGGCCCTGCCTTACGATTGTTCTA-GCCGTCGTA---

--G---T---

ATGTGGGTGCTCTCGTGGTCTGCCTGGTGCCGGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTACGCAAAGAAATTTTTAGAACCTTACTAATGTTATTAGTACTGAT GGCTGGGGTAGGTTGAACTTTTTATCCTCCCTTAGCTTCCAGTGCATTTGAGGGGAGTAAGGGTGTAGACTTTTTAATGTTTTCTTTACACTTAGCGGGG GTTTCTAGAATTTTTAGCTCTATTAATTTTATTTGTACTTTACACACTGCCTTTAGGGGTAATTTAGCTTCTCGTAGTTCTATTGTATTATGGGC r091_rhoides_negro_spnGGGAACTGCTATGTAACCTCT---C--GGACCGCTGGTCATGG-TGGTCCACAACC-

ATTTCGGTGGGGTGCCTATTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCAGTCGTGGCAGCTTAACTGCTGTCACGGCA-

TCGGCCAGTCCACACCGGAGCGGCAATGCAGTACATGTGCCGGAAGGTATGTGTGCAAGGTATAAGAT-A-

TTGGCACCACCATATGCCCCACCACTATGCGCCCCTTGTCTTTTACACTTACCATACAGGTAGTGTGTGGAGT-----------GTACGCGTGTTGGTGTAT-

TCCGGCACAAGTGCTACTATTACT---

----АСТА---

 ${\tt TCTGTGCAAAACGCGTGGTCGGCATTAACTTGTCG-ACTGTGCGCGGTTCTCATGAGCGTGGTTGGCTATCTT--}$

NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGTACTTTGAAGAGAGAGAGAGAGAGACAGTACGTGAAACCGCATGCAGGTAAACGGGTGGCGTCAAGCTGCAC GCCCAGAGGATTCAGCCGGTTAGAGTGTGTC-TATGCGCTTG-CGTATGAATGGGCCAGAGTAGGGCG----

TGGTAGTCCGCTGGAAGACAGCGGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----T-GAGCCGGGTGGAAGCCGGAGCACGCTATCCGTC--

TGTGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

GGTGGACACCACGACCGGTGGAACTGCCAGTCTGCTGGTCGAGTCGTGTTCGGTTGGTCCTTGT-GGCTAGCTGGGCGCGCGAT---CACGGGCAACCT-GCCGTCGTG---

TGTTGC---G---

ATGTGGGTGCTCTCGTGGTCTGCCTGGTGCCGGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTGCGCAAAGAAATTTTTAGAGCCTTATTATAATGTTATAAGTACTGAT ${\tt TATGCGGTTTGATCTGATTTAAAATTTAACTCGTTTAAAAAGCATTAAGTGCTTGATTGTTGTTGTTACCTTCTATCGTTTTTTAGTAATAAGCATGTGTTTAGG$ **GTGTCTAGTATTTTAGCTCTATTAATTTTATCTGTACTTTGTATACTGCCTTTAGTGGTAGTTTGGCGTCTCGAAGGTCAATAATTTTATGGGC**

r047_gld_jamanxim_tpj1GGGAACCGCTATGTAATCTAT---CTGGGACTGCCCGTCATGG-

TGGTCCAAAACCCGTTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCTTATACTCCCAGGCGTGCTCGCCTGTTGTGGCAACTTAACTGCTGTCACAACAACCGGCCAGT CCACACCGGAGCGGCATATTAGTACACGTGTCA-AAG---CGTGTGCAAGGTATAAGAACA-

TTGGCACTACCATATGCCTACGCCCCGCTATGCGCCCTTGTCTTTTACACTTACCATACGGATAGTGTGTATGT-----------GT--GTGTGTTAGTGTAT-

GCTAGCATTACTACTACTACTG---

TCTGTGCAAAACGCATGGAGAGCATTAACTTGCTGTACCGTGTGTGGTTCTCATGAGCGTACTTGGTTACCTT--

 ${\tt GCCTGGGTGCCATTGCGTCTTGTGCAGAGGCTGGAAGAGCCCAGCACCGAAGCCTGCGGTAGCTTTACTGTTAGGCAATGTGGTGTTTGGGCCGGCTCGCG$

GGGTTGCCACTCCACTCGAAGTCCAGCATTGAGTATGGTTT-

TATGCGCTTG-CGTATCAAAGGGCCAGAGTAAGGCG----TGGTAGTCCGCTGGAAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----T-AAGCCGGGTGGAGCACGCTATCCGTC--TGGAGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

ATGTGGGTGCTCTCGTGGTCTGCCTGGTGCCGGGTCTGATTGTCGTGTTGCCTACGCAAAGAATTTTTTGGAGCCTTATTATAATGTGATTAGTACAGAT TGTTATAATTTTCTGATTACCAAACATGGTATTATAAAGATTTTCTTTTTTATAATGCCTACTAAAGGGGGGGTTTGGTAATTATTTAAATGCCTAT TAAGGGGTTTGTCCGATTTAAACTTGCCTCGTTTAAAAGCCTTGAGTGCTTGATTGCTTTTAACTGCGTGTATTTTTAGTGATTAGTATGTGTTTAGG TGCTGGTATAGGTTGAACTTTCTATCCTCCTCTTGTCTTCTAGTGGTTTTTGAGGGGAGGAGAAGGGTGTAGACTTTTTAATGTTTTCATTGCATTTGGCTGGT GTTTCTAGTATATTTAGTTCTATTATATGTACTTTGTATTCTTTTGAAGCCTTTAGTGGTAGGGTGGGCTTCGCTGTAGTTCAATTGTATTATGAGC r129 rhoides cuiaba mot GGGAACTGCTATGTAACCTCT---C--GGACCGCTGGTCATGGTCGACCACAACC-

ATTTCGGTGGGGTGCCTACTTGCCCTATACTCCCAGGCGTGGTCGCCAGTCGTGGCAACTTAACTGCTGTCACGGCCAGTCCACACCGGAGCG GCAATGCAGTACATGTGTCGGAAGGCACGTGTGCGAGGTATAAGAA-A-

TTGGCACCGCCATATGCCTACGCCCCACTATGCGCCCTTGTCTTTTACACTTACCATACAGGTAGTGTGTGAGT-----GTACGCGTGTTGGTGTAT-

GCCGGCACAAGTGCTACTATTACT----ACTA----

TCTGTGCAAAACGCATGGTCGGCATTAACGTGTTGTACTGTGCGCGGGTTCTCATGAGCGTGGTTGGCTATCTTTTGCCTGGTAGCCGATGCGTCTTGTGC AGAGCTGGAAGAGCCCAGCACCGAAGCCTGCGGCAGGTTTGCTGTTAGGCAATGTGGTGTTTGGGTCGGCTCGCGGGGATTGCCACTCCACTCGAAGTCCA GCATTGAGTATGGTTT-

TATGCGCTTG-CGTATAAAAGGGCCAGAGTAAGGCG----TGGTAGTCCGCTGGCAGACAGCGGGCCCTGCCGCAAGGTGGGGATGTG----T-AAGCCGGGTGGATGCCGGAGCACGCTATCCGTC--TGTGGGGGCCGTCTAGCCGGTGCACTTTCTCTGT--

, end;

begin assumptions;

	usertype m421_lsu = 5						
	[transversions 2 transitions						1]
		a	С	g	t -		
	[a]	•	1	2	1	8	
	[c]	1	•	1	2	8	
	[d]	2	1	•	1	8	
	[t]	1	2	1	•	8	
	[-]	8	8	8	8	•	
	;						
usertype m4x421_lsu = 5							
	[transversions			2 transitions			1]
		a	С	g	t -		
	[a]	•	1	2	1	32	
	[C]	1	•	1	2	32	
	[g]	2	1	•	1	32	
	[t]	1	2	1	•	32	
	[-]	32	32	32	32	•	
	;						
	usertype m4x111_its = 5						
	[transversions			2 tra	1]		
		a	С	g	t -		
	[a]	•	1	1	1	4	
	[c]	1	•	1	1	4	
	[d]	1	1	•	1	4	
	[t]	1	1	1	•	4	
	[-]	4	4	4	4		

end; ctype m4x111_its:22 26 44 57 178 182 204 206 343 490; ctype m421_lsu:523-1471; ctype m4x421 lsu:633 923 960 1007 1012 1052 1087 1155 1173 1188 1288 1298;

```
Begin trees;
[the tree]
       tree from poy
                        =
                            [&R]
                                    (AF286930 Litobothrium janovyi, (AF286931 Litobothrium amplifica,
tree
((r016 Rfulbrighti marajo orbignyi,(r019 Rfulbrighti marajo orbignyi,
(r015_Rfulbrighti_marajo_orbignyi,
(r018 Rfulbrighti marajo orbignyi,r014 Rfulbrighti marajo orbignyi))),
((CH4_Scalithrium_sp_LRP3895,CH10_Rhinebothrium_megacanthocephalus_LRP3901),
(((05Rhinebothrium_sp_2_worm_2,(06Rhinebothrium_sp_2_worm_3,03Rhinebothrium_paratrygoni)),
((42Rhinebothrium_sp_4_worm_3,41Rhinebothrium_sp_4_worm_2),
((16Rhinebothrium_copianullum_worm_2,15Rhinebothrium_copianullum_worm_1),
(32Rhinebothrium_sp_1_worm_18,(31Rhinebothrium_sp_1_worm_17,(28Rhinebothrium_sp_1_worm_14,
((19Rhinebothrium_sp_1_worm_3,(18Rhinebothrium_sp_1_worm_2,17Rhinebothrium_sp_1_worm_1)),
(38Rhinebothrium_sp_1_worm_20,(26Rhinebothrium_sp_1_worm_12,
(35Rhinebothrium_sp_3_worm_2,25Rhinebothrium_sp_1_worm_11)))))))),(((r07_scorzai_marajo_mot,
(r05_rhoides_marajo_spmar1,((r04_scorzai_marajo_spmar1,r01_scorzai_marajo_spmar1),
(r03_scorzai_marajo_spmar1,(r012_scorzai_marajo_spmar1,(r09_scorzai_marajo_mot,
(r08_scorzai_marajo_mot,r06_scorzai_marajo_spmar1))))))),
((r122_gld_cuiaba_brac,r109_gld_cuiaba_brac),((r048_gld_uppersol_mot,
(r050_gld_uppersol_mot,r049_gld_uppersol_mot)),((r030_gld_lagonovo_mot,(r199_gld_lagonovo_mot,
(r201_gld_lagonovo_mot,r031_gld_lagonovo_mot))),((r237_gld_toc_toc2,
(r243 gld toc toc2,r238 gld toc orb)),(r186 gld jamanxim tpj1,
((r046_gld_jamanxim_tpj1,r036_gld_jamanxim_tpj1),
(r047_gld_jamanxim_tpj1,r035_gld_jamanxim_tpj1))))))),((((("r097
                                                                      Rhinebothroides
                                                                                          Rio
                                                                                                  Negro
Potamotrygon sp.", "r096 Rhinebothroides Rio Negro Potamotrygon sp."), ("r091 Rhinebothroides Rio
Negro Potamotrygon sp.", ("r095 Rhinebothroides Rio Negro Potamotrygon sp.", ("r094 Rhinebothroides
             Potamotrygon sp.", "r092 Rhinebothroides Rio Negro Potamotrygon sp.")))),
Rio
     Negro
((r129_rhoides_cuiaba_mot,(r117_vnz_salob_mot,r116_vnz_salob_mot)),(r052_vnz_uppersol_mot,
(r053_vnz_uppersol_mot,r051_vnz_uppersol_mot)))),((r108_frt_cuiaba_brac,(r119_frt_salob_flk,
(r121_frt_cuiaba_brac,(r123_frt_cuiaba_brac,r118_frt_salob_flk)))),((r239_frt_toc_scob,
(r209_frt_tp_tpj1,r054_frt_jamanxim_tpj1)),((r102_frt_negro_schr,(r077_frt_negro_schr,
(r103 frt negro schr,r101 frt negro schr))),((r250 rhoides negro spn,
(r249_rhoides_negro_orb,r093_frt_negro_spn)),((r247_frt_xingu_leop,r245_frt_xingu_leop),
(r242_frt_toc_toc2, r241_frt_toc_toc2)))))))))))));
End;
```