

Natalia da Mata Luchetti

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.

Versão aprovada e corrigida de acordo com as sugestões da comissão julgadora em 12 de agosto de 2011, com aval do orientador. O original encontra-se disponível no Instituto de Biociências da USP conforme resolução CoPGR 5890.

Orientador: Dr. Fernando Portella de Luna Marques

São Paulo, 2011

**Revisão taxonômica do gênero *Potamotrygonocestus*
Brooks & Thorson, 1976 (Eucestoda: Tetraphyllidea)**

**Taxonomic revision of the genus *Potamotrygonocestus*
Brooks & Thorson, 1976 (Eucestoda: Tetraphyllidea)**

RESUMO

Membros do gênero *Potamotrygonocestus* (Eucestoda: Tetraphyllidea: Onchobothriidae) são parasitas exclusivos de raias da família Potamotrygonidae, endêmica da região Neotropical. Atualmente, são reconhecidas 7 espécies nominais para o gênero (*P. magdalenensis*, *P. travassosi*, *P. amazonensis*, *P. maura*, *P. fitzgeraldae*, *P. chaoi* e *P. marajoara*), além de duas linhagens não descritas terem sido apontadas na última revisão taxonômica disponível. A taxonomia destes parasitas é tradicionalmente baseada em caracteres morfométricos e sofre com a plasticidade que a estrutura corpórea destes animais apresenta pois acaba dependente da fixação do espécime. Somada à prática comum de basear descrições em um número restrito de espécies coletados em regiões geograficamente isoladas, esta plasticidade corpórea resultou na premissa que estes parasitas apresentam baixa variabilidade morfológica. Neste estudo, foram analisados 1753 espécimes de *Potamotrygonocestus*, coletados amplamente na América do Sul. A análise dos parâmetros morfométricos tradicionalmente utilizados na taxonomia do gênero não mostrou utilidade na diagnose das espécies, porém os parâmetros discretos observados na morfologia do gancho

mostraram-se informativos. Os ganchos são estruturas esclerotizadas cuja forma não depende da fixação do espécime, portanto possuem um enorme potencial para a resolução taxonômica destes parasitas. Baseadas na morfologia do gancho, as espécies de *Potamotrygonocestus* válidas foram redescritas e 4 novas linhagens foram observadas. Dentre todos os táxons observados, apenas *P. chaoi* e *P. marajoara* ainda necessitam o refinamento de sua diagnose, pois não foi possível diferenciá-los através da morfologia do gancho. Assim, uma nova chave de identificação foi proposta para *Potamotrygonocestus*, baseada nos caracteres discretos dos ganchos. Entre os 32 morfotipos de potamotrigonídeos amostrados neste estudo, em apenas 5 não havia infestação por *Potamotrygonocestus*. Estes hospedeiros restringem-se as regiões dos rios Madeira e Purus e a *P. leopoldi* no Xingu. Os padrões de especificidade estrita observados para grupos marinhos que se julga serem próximos a *Potamotrygonocestus* não se refletem no grupo dulcícola, e inclusive mais de uma espécie do gênero foi encontrada em um mesmo indivíduo hospedeiro, fato até então inédito para o gênero.

ABSTRACT

The members of the *Potamotrygonocestus* genus (Eucestoda: Tetraphyllidea: Onchobothriidae) are parasites that infect exclusively the stingrays of the family Potamotrygonidae, which are endemic of the Neotropical region. To date, seven species are recognized for this genus (*P. magdalenensis*, *P. travassosi*, *P. amazonensis*, *P. maura*, *P. fitzgeraldae*, *P. chaoi* and *P. marajoara*) and two undescribed lineages were cited in the last taxonomic revision published. The taxonomy of these parasites is traditionally based on morphometric characters and therefore relies on soft tissue structures whose observed morphology is highly dependent on the fixation method used. This, in addition to the use of a restricted number of specimens from distant localities on taxonomic studies, led researchers to believe in a low morphological variation for the genus. In this study, 1753 *Potamotrygonocestus* specimens were examined from almost all of the South American basins. The traditional morphometric parameters for the genus taxonomy were not useful for species diagnosis, but the discrete parameters from the morphology of the hooks were shown to be informative characters. The hooks are sclerotized structures and its shape is not dependent on the fixation of the specimen, therefore having a great potential to distinguish species. Based on the morphology of the hooks, the *Potamotrygonocestus* nominal species that were recognized were redescrbed and four new lineages were found. Among all the taxa examined, only *P. chaoi* e *P. marajoara* still need a detailed diagnosis, because it was not possible to distinguish these two species based on the morphology of the hooks. Based on the data at hand, an inference key for

species of *Potamotrygonocestus* is proposed based on the morphology of the hooks. Among the 32 potamotrygonids morphotypes obtained for this study, only five were not infected by *Potamotrygonocestus*. These hosts were restricted to the Madeira and Purus basins and for *P. leopoldi* from the Xingu River. The host-specificity observed for the parasite worms of marine elasmobranchs closely related to *Potamotrygonocestus* were not found in this freshwater genus. Additionally, more than one species of *Potamotrygonocestus* were found infecting the same host specimen, an occurrence never noted for this parasite taxon.

INTRODUÇÃO

A taxonomia de diversos parasitas é geralmente baseada no conceito tipológico (ou morfológico) de espécie, uma vez que conceitos de espécies gerados a partir de estudos com vertebrados (e.g. Espécie Biológica segundo Mayr, 1963; *Mate Recognition System* segundo Paterson, 1973, 1978, 1980) não parecem ser amplamente apropriados para este grupo (Kunz, 2002; McCoy, 2003). Para as linhagens de Platyhelminthes parasitas a aplicação deste conceito tipológico é amplamente utilizada, apesar das dificuldades resultantes da fixação de espécimes e da delimitação de estruturas que dependem da flexibilidade da estrutura corpórea destes animais (Mariaux, 1996; Du Preez & Maritz, 2006). A restrição do número de caracteres morfológicos disponíveis nesses organismos (Criscione *et al.*, 2005) combinada com a ausência de estruturas esclerotizadas que mantenham a forma do corpo constante resulta em diagnoses de grupos baseadas em caracteres plásticos. Assim, a delimitação de táxons para estes parasitas não é feita de maneira precisa, necessitando constante revisão.

Entre os platelmintos que exibem modo de vida parasitário, encontramos os membros de Cestoda. Conhecidos popularmente como solitárias, esses platelmintos são parasitas obrigatórios do trato digestivo de vertebrados quando adultos, embora seus estágios larvais ocorram em diversos grupos de invertebrados e vertebrados (Stunkard, 1953). As solitárias são conhecidas há milhares de anos (Hyman, 1951; Stunkard, 1962; Roberts & Janovy Jr., 1996) e diversos estudos documentam sua diversidade e relações de parentesco (e.g. Brooks *et al.*, 1981; Hoberg *et al.*, 1997; Mariaux, 1998; Hoberg *et al.*, 1999; Olson *et al.*, 2001; Waeschenbach *et al.*, 2007; Healy *et al.*, 2009; entre outros). Tradicionalmente, a taxonomia dos cestóideos é baseada em caracteres morfológicos (e.g. Euzet, 1994; Mariaux, 1996; Caira *et al.*, 1999) e por isso sofre com delimitações de táxons não acuradas que podem não refletir grupos monofiléticos. Um exemplo desta prática é a ordem Tetrphyllidea Carus, 1863.

A ordem Tetrphyllidea apresenta a maior diversidade morfológica entre as solitárias. A

maioria de seus adultos é essencialmente parasita de válvulas espirais de elasmobrânquios (Roberts & Janovy Jr., 1996; Caira *et al.*, 1999; Caira & Jensen, 2001). São conhecidas cerca de 800 espécies inseridas em 65 gêneros e em 8 famílias (Euzet, 1994; Caira *et al.*, 2006). A definição de gêneros e espécies dos membros desta ordem é historicamente baseada em observações nos indivíduos adultos (e.g. Euzet, 1994; Caira *et al.*, 1999), pois não há ciclo de vida completo conhecido para nenhum de seus táxons (Caira & Reyda, 2005; Jensen & Bullard, 2010). Revisões recentes para o grupo (e. g. Caira *et al.*, 1999; Hoberg *et al.*, 1999; Olson *et al.*, 2001; Waeschenbach *et al.*, 2007; Healy *et al.*, 2009) indicam a parafilia do táxon, independente se baseadas em técnicas morfológicas ou moleculares. Esta parafilia pode ser resultante das práticas tradicionais de diagnose destes parasitas (i.e. baseadas em caracteres plásticos e inconsistentes) e requer refinamento dos táxons.

Aproximadamente metade das espécies de tetrafilídeos conhecidas está inserida na família Onchobothriidae (Caira *et al.*, 2006). Os membros desta família são prontamente reconhecidos por possuir ganchos esclerotizados em suas escóleces (Caira & Jensen, 2001) e estão divididos em 16 gêneros (Euzet, 1994; Caira & Jensen, 2009). Parasitas exclusivos de elasmobrânquios (Caira & Jensen, 2001), os oncobotrídeos são essencialmente marinhos, exceto os representantes do gênero *Potamotrygonocestus*. Indivíduos pertencentes a este gênero são parasitas exclusivos de raias da família Potamotrygonidae, endêmica dos sistemas fluviais da América do Sul (Lovejoy *et al.*, 1998; Carvalho *et al.*, 2003; Carvalho & Lovejoy, 2011) e são reconhecidos pela morfologia exclusiva de seus ganchos simples, células glandulares ao redor do vaso deferente e testículos anteriores ao ovário (Marques *et al.*, 2003). Espécimes de *Potamotrygonocestus* apresentam estróbilo acraspédoto, hiperapolítico; quatro botrídeos sésseis não septados, cada um com uma ventosa apical e um par de ganchos simples; poro genital postero-lateral alternado irregularmente, vagina anterior ao saco do cirro; testículos em duas fileiras anteriores ao ovário, vitelária lateral aos testículos, ovário posterior, bilobado em cortes histológicos e útero em forma de saco. Sua estrutura corpórea é simples e é a base de sua taxonomia, já que não há estudos publicados fundamentados em outras fontes de dados (i.e. moleculares ou ecológicos). Tem-se, portanto, a delimitação de espécies para *Potamotrygonocestus* sujeita a artefatos de preparação, o que faz necessária a revisão de seus parâmetros taxonômicos para a diagnose precisa dos táxons.

O gênero *Potamotrygonocestus* foi proposto recentemente e possui um histórico taxonômico simples. Brooks & Thorson (1976) o propuseram para receber *P. magdalenensis*, parasita de *Potamotrygon magdalenae*, endêmica do sistema Magdalena-Atrato na Colômbia. *Potamotrygonocestus travassosi* foi descrita três anos depois (Rego, 1979), seguida por *P. amazonensis* (Mayes, Brooks & Thorson, 1981). A primeira revisão taxonômica para este gênero incluiu uma nova espécie, *P. orinocoensis* Brooks Mayes & Thorson, 1981, mas Marques *et al.*

(2003) a consideraram sinonímia júnior de *P. travassosi* e acrescentaram 3 outras espécies ao gênero: *P. chaoi*, *P. fitzgeraldae* e *P. maurae*. O mais recente trabalho para o gênero foi feito por Luchetti *et al.* (2008), com a redescritção de *P. chaoi* e a descrição de uma nova espécie, *P. marajoara*, parasita de *Plesiotrygon iwamae*. Assim, *Potamostrygonocestus* é representado por 7 espécies válidas. Embora o gênero tenha sido revisto recentemente, ainda restam inconsistências relacionadas à circunscrição e número de linhagens que o compõe, pois há indícios de novas espécies de *Potamostrygonocestus* na revisão sistemática de Marques *et al.* (2003), na qual os autores citam, sem descrever, duas possíveis linhagens.

A taxonomia do gênero *Potamostrygonocestus* sempre foi baseada principalmente em caracteres merísticos e morfométricos (Brooks & Thorson, 1976; Rego, 1979; Mayes *et al.*, 1981; Marques *et al.*, 2003; Luchetti *et al.*, 2008). A primeira chave de identificação proposta para o gênero (Brooks *et al.*, 1981) foi baseada no comprimento dos ganchos e na morfologia da vitelária, porém a validade diagnóstica destes caracteres foi questionada por Marques *et al.* (2003), que observaram variação no comprimento dos ganchos em populações diferentes de uma mesma espécie (e.g. *P. travassosi*) e dependência do estágio de desenvolvimento para determinar a morfologia da vitelária. Os autores propuseram uma nova chave de identificação com dados discretos, como simetria dos ganchos, porém ainda utilizaram caracteres merísticos para diagnosticar espécies, como número de testículos, prática seguida por Luchetti *et al.* (2008). Apesar do incremento que Marques *et al.* (2003) propuseram para a taxonomia de *Potamostrygonocestus*, os problemas referentes à fixação dos espécimes persistiram, já que a diagnose de espécies permaneceu baseada em caracteres morfologicamente variáveis.

A maioria das espécies de *Potamostrygonocestus* foi descrita com base em um número restrito de exemplares coletados em localidades geograficamente isoladas e distantes, geralmente provindos de poucos espécimes de hospedeiros. Esta prática pode ser exemplificada por *P. travassosi* e *P. amazonensis*, que tem suas descrições baseadas em 5 espécimes cada, de um número indeterminado de hospedeiros coletados em apenas uma localidade (Rego, 1979; Mayes *et al.*, 1981). O isolamento e distância geográfica das coletas em que *Potamostrygonocestus* foram amostrados podem ser a causa da baixa variação morfológica observada em cada linhagem de parasitas. O esforço amostral feito por Marques *et al.* (2003) buscou resolver este problema, porém a subamostragem de algumas regiões geográficas (e.g. região hidrográfica do Paraná-Paraguai) fez com que algumas populações de parasitas permanecessem pouco representadas. A descrição de *P. marajoara* (Luchetti *et al.*, 2008) foi uma exceção para o gênero em relação ao número de helmintos examinados, porém a restrição geográfica de coleta dos hospedeiros (todos provenientes de uma mesma localidade) comprometeu o estudo de uma possível variabilidade intraespecífica dos

parasitas.

A consistência dos caracteres utilizados na taxonomia de *Potamotrygonocestus* nunca foi objeto de discussão em nenhum estudo que abordou o gênero. A definição dos caracteres diagnósticos utilizados e sua importância na delimitação das espécies do gênero seguem a diagnose proposta por Brooks & Thorson (1976) e foram ratificadas na revisão de Marques *et al.* (2003). O emprego dos caracteres merísticos e morfométricos tradicionalmente utilizados admite a inexistência de influência de fatores ecológicos na morfologia destes organismos, prática que deve ser revista devido ao estudo de Randhawa & Poulin (2009). Estes autores mostraram que fatores ecológicos externos influenciam a morfologia de tetrafilídeos, indicando que populações de hospedeiros distintas podem gerar diferenças intraespecíficas nos parasitas. A partir deste estudo, podemos esperar que a ampliação da representatividade biogeográfica das coletas de *Potamotrygonocestus* permita compreender melhor variabilidade intraespecífica para estes parasitas, o que resultaria na necessidade de redefinição de seus caracteres diagnósticos.

Além de helmintos do gênero *Potamotrygonocestus*, outras linhagens de cestóideos podem ser encontradas parasitando potamotrigonídeos: *Acanthobothrium* Van Beneden, 1850; *Rhinebothrium* Linton 1890; *Rhinebothroides* Mayes, Brooks & Thorson, 1981; *Paraoncomegas* Campbell, Marques & Ivanov, 1999; *Anindobothrium* Marques, Brooks & Lasso, 2001 e *Nandocestus* Reyda, 2008 (Marques, 2000; Reyda, 2008). Recentemente, revisões taxonômicas para *Acanthobothrium* (Cardoso Jr., 2010), *Rhinebothrium* (Reyda & Marques, 2011) e *Rhinebothroides* (Bueno, 2010) buscaram o refinamento da taxonomia destes gêneros. Estes trabalhos mostraram que o aumento do número de espécimes examinados, provenientes de localidades amplamente distribuídas e diferentes daquelas onde foram coletados os tipos apresentam grande diversidade morfológica, sendo necessário o emprego de caracteres discretos para a diagnose dos táxons. O refinamento taxonômico apresentado por estes autores também possibilitou que as relações de especificidade parasita-hospedeiro para *Acanthobothrium*, *Rhinebothrium* e *Rhinebothroides* parasitas de potamotrigonídeos fossem revistas, uma vez que a identificação correta dos táxons envolvidos (parasitas e hospedeiros) é essencial para o sucesso destes estudos (Poulin & Morand, 2000; Caira & Jensen, 2001; Reyda & Marques, 2011).

Cestóideos pertencentes à ordem Tetraphyllidea tem sido considerados, por muito tempo, especialistas ou oioxenos (e.g. Williams 1964, 1966, 1968), dentre os quais os membros de Onchobothriidae são apontados como exemplos clássicos deste padrão de especificidade aos seus hospedeiros (Caira & Jensen, 2001). Baseados em sistemas marinhos, os estudos sobre especificidade estrita parecem não ser aplicáveis aos sistemas fluviais que abrigam potamotrigonídeos. Marques *et al.* (2003) e Marques & Brooks (2003) documentaram que algumas

espécies dos gêneros *Potamotrygonocestus* e *Rhinebothroides* são generalistas, porém com a ressalva de que esta condição poderia ser decorrente de falhas na identificação de espécies tanto de parasitas como de hospedeiros, o que tornaria necessária a revisão taxonômica de ambos. Os trabalhos de Cardoso Jr. (2010), Reyda & Marques (2011) e Bueno (2010) mostraram que o refinamento taxonômico dos parasitas confirma o que havia sido documentado por aqueles autores. Baseado nas revisões destes autores, é esperado que o refinamento taxonômico do gênero *Potamotrygonocestus* também possa elucidar suas relações de especificidade com seus hospedeiros, confirmando ou não sua generalidade.

A sugestão de possíveis complexos de espécies devido a subamostragem de regiões biogeográficas como a bacia do Prata e a citação de linhagens não descritas (Marques *et al.*, 2003) para o gênero *Potamotrygonocestus* indicam a necessidade de refinamento na taxonomia do grupo. A delimitação de espécies de maneira não ambígua e independente da fixação dos espécimes é necessária para o gênero, pois assim será possível determinar a relevância da influência de fatores ecológicos na morfologia deste táxon. Além disso, a diagnose inequívoca das espécies de *Potamotrygonocestus* baseada em amostras mais representativas também se faz necessária para esclarecer as relações destes parasitas com seus hospedeiros, conforme foi observado recentemente para outras linhagens de parasitas de potamotrigonídeos (Cardoso Jr., 2010; Reyda & Marques, 2011 e Bueno, 2010). Diante deste contexto, este estudo busca refinar a taxonomia do grupo e elucidar as relações destes parasitas com seus hospedeiros, compreendendo melhor a sistemática deste componente de nossa fauna.

CONCLUSÕES FINAIS

- 11 espécies foram reconhecidas para o gênero *Potamotrygonocestus*, 7 já descritas (*P. magdalenensis*, *P. travassosi*, *P. amazonensis*, *P. maura*, *P. fitzgeraldae*, *P. chaoi* e *P. marajoara*) e 4 novas (*Potamotrygonocestus* sp. nov. 1, *Potamotrygonocestus* sp. nov. 2, *Potamotrygonocestus* sp. nov. 3 e *Potamotrygonocestus* sp. nov. 4).

- Entre os caracteres tradicionalmente utilizados na taxonomia do grupo, a morfologia dos ganchos apresentou-se como a mais consistente, ao passo que dados morfométricos e merísticos possuem pouco valor taxonômico para o grupo.

- A delimitação precisa de *P. chaoi* e *P. marajoara* aguarda a obtenção de novos exemplares de seus

hospedeiro, *Plesiotrygon iwamae*, principalmente da região do Rio Solimões e alto Amazonas.

- Padrões de distribuição e morfologia de microtríquias podem ser taxonomicamente informativos para *Potamotrygonocestus*, porém ainda é necessária a documentação destas estruturas tegumentares para a maioria das espécies do gênero.

- Os padrões de especificidade parasitária das espécies de *Potamotrygonocestus* refletem o padrão generalista encontrado para as demais linhagens de tetrafilídeos parasitas de potamotrigonídeos em contraste com os padrões de alta especificidade encontrados para linhagens marinhas.

BIBLIOGRAFIA

Adamson, M.L. & Caira, J.N. 1994. Evolutionary factors influencing the nature of parasite specificity. *Parasitology* 109: S85-S95.

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* (Natterer) (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) from Southwestern Brazil, including *Rhinebothroides mclennanae* n.sp. (Tetraphyllidea: Phyllobothriidae), and a Revised Host-Parasite Checklist for Helminths Inhabiting Neotropical Freshwater Stingrays. *The Journal of Parasitology* 78: 393-398.

Brooks, D.R., Mayes, M.A. & Thorson, T.B. 1981. Systematic Review of Cestodes Infecting Freshwater Stingrays (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) Including Four New Species from Venezuela. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 48: 43-64.

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., Thorson, T.B. & Mayes, M.A. 1981. Fresh Water Stingrays (Potamotrygonidae) and their Helminth Parasites: Testing Hypotheses of Evolution and Coevolution. In: *Advances in Cladistics*. New York: Columbia University Press; p.148- 175.

Bueno, V. M. 2010. Delimitação de espécies em *Rhinebothroides* Mayes, Brooks & Thorson, 1981 (Cestoda: Tetraphyllidea) com ênfase no complexo *Rhinebothroides freitasi* (Rego, 1979). Dissertação de Mestrado pela Universidade de São Paulo.

Caira, J.N. & Jensen, K. 2001. An investigation of the co-evolutionary relationships between onchobothriid tapeworms and their elasmobranch hosts. *International Journal of Parasitology* 31: 960-975.

Caira, J.N. & Jensen, K. 2009. Erection of a new onchobothriid genus (Cestoda: Tetraphyllidea) and the description of five new species from whaler sharks (Carcharhinidae). *Journal of Parasitology* 95:924-940.

Caira, J.N., Jensen, K. & Healy, C.J. 1999. On the phylogenetic relationships among tetraphyllidean,

- Iecanicephalidean and diphyllidean tapeworm genera. *Systematic Parasitology* 42: 77-151.
- Caira, J. N., Jensen, K. & Healy C.J. (Eds.). 2006. The Global Cestode Database. Disponível na World Wide Web em: <https://web2.uconn.edu/tapeworm/index.php> [31\05\2011].
- Caira, J.N. & Orringer, D.J. 1995. Additional Information on the Morphology *Potamotrygonocestus magdalenensis* (Tetraphyllides: Onchobotriidae) from the Freshwater Stingray *Potamotrygon magdalenae* in Colombia. *Journal of the helminthological Society of Washington* 62: 22-26.
- Caira, J.N., Reyda, F.B., 2005. Helminth parasites. Eucestoda (true tapeworms). In: Rohde, K. (Ed.), *Marine Parasitology*. CAB International, Wallingford, pp. 92–104.
- Cardoso Jr., M. 2010. Taxonomia das linhagens de *Acanthobothrium* van Beneden, 1850 (Eucestoda: Tetraphyllidea) parasitas de Potamotrygonidae (Chondrichthyes: Myliobatiformes). Dissertação de Mestrado pela Universidade de São Paulo.
- Carvalho, M.R., Lovejoy, N.R., Rosa, R. 2003. Family Potamotrygonidae (River stingrays). In: Reis, R.E., Kullander, S.O. & Feeraris Jr., C.J. (orgs). EDUPCRS. 22-28.
- Carvalho, M.R & Lovejoy, N.R. 2011. Morphology and phylogenetic relationships of a remarkable new genus and two new species of Neotropical freshwater stingrays from the Amazon basin (Chondrichthyes: Potamotrygonidae). *Zootaxa* 2776: 13-48.
- Chervy, L. 2009. Unified terminology for cestode microtriches: a proposal from the International Workshop on Cestode Systematics in 2002-2008. *Folia Parasitologica* 56: 199-230.
- Criscione, C.D., Poulin, R. & Blouin, M. 2005. Molecular ecology of parasites: elucidating ecological and microevolutionary processes . *Molecular Ecology* 14: 2247-2257.
- Du Preez, L.H. & Maritz, M.F. 2006. Demonstrating morphometric protocols using polystome marginal hooklet measurements. *Systematic Parasitology* 63: 1-15.
- Euzet, L. 1994. Order Tetraphyllidea Carus, 1863. In: Khalil, L.F., Jones, A. & Bray, R.A. (Eds.). Cambridge, CAB International. p. 149-194.
- Fyler, C.A. 2011. An Extremely Hyperapolytic *Acanthobothrium* Species (Cestoda: Tetraphyllidea) from the Japanese Wobbegong, *Orectolobus japonicus* (Elasmobranchii: Orectolobiformes) in Taiwan. *Comparative Parasitology* 78: 4-14.
- Healy, C. J. 2006. A revision of selected Tetraphyllidea (Cestoda): *Caulobothrium*, *Rhabdobothrium*, *Rhinebothrium*, *Scalithrium* and *Spongiobothrium*. Tese de Doutorado pela University of Connecticut. Storrs, Connecticut, EUA.
- 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* 3: 497-511.
- Hoberg, E.P., Mariaux, J., Justine, J.-L., Brooks, D.R. & Weekes, P.J. 1997. Phylogeny of the orders of the Eucestoda (Cercomeromorphae) based on comparative morphology: historical perspectives and a new working hypothesis. *Journal of Parasitology* 83: 1128-1147.
- Hoberg, E.P., Gardner, S.L. & Campbell, R.A. 1999. Systematics of the Eucestoda: advances toward a new phylogenetic paradigm, and observations on the early diversification of tapeworms and vertebrates). *Systematic Parasitology* 42: 1-12.

Hyman, L.H. 1951. Class Cestoda. The Invertebrates: Platyhelminthes and Rhynchocoela, The acoelomate Bilateria. Volume II. Mc Graw-Hill Book Company, Inc. New York.311-417.

Jensen, K. & Bullard, S.A. 2010. Characterization of a diversity of tetraphyllidean and Rhinebothriidean cestode larval types, with comments on host associations and life-cycles. *International Journal for Parasitology* 40: 889-910.

Kunz, W. 2002. When is a parasite species a species? *TRENDS in Parasitology* 18: 121-124.

Lacerda, A.C.F., Takemoto, R.M. & Pavanelli, G.C. 2008. Digenea, Nematoda, Cestoda and Acanthocephala, parasites in Potamotrygonidae (Chondrichthyes) from the upper Paraná River floodplain, states of Paraná and Mato Grosso do Sul, Brasil. *Ckeck List* 4: 115-122.

Lacerda, A.C.F., Takemoto, R.M. & Pavanelli, G.C. 2009. Ecology of endoparasites of the fluvial stingray *Potamotrygon falkneri* (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) from the upper Paraná river floodplain, Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 69: 297-303.

Loboda, T. & Carvalho, M.R. Em preparação. Taxonomic revision of *Potamotrygon motoro* (Müller & Henle, 1841) in the Paraná-Paraguay basin with description of two new species of ocellated potamotrygonids (Chondrichthyes: Myliobatiformes: Potamotrygonidae)

Lovejoy, N.R., Bermingham, E., Andrew, P. 1998. Marine Incursion into South America. *Nature* 396: 421-422.

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 (Myliobatoidea: Potamotrygonidae) and a redescription of *Potamotrygonocestus chaoi* Marques, Brooks & Araújo, 2003 . *Systematic Parasitology* 70: 131-145.

Lymbery, A.J. 1989. Host Specificity, Host Range and Host Preference. *Parasitology Today* 5: 298.

Mariaux, J. 1996. Cestode Systematics: Any Progress? *International Journal for Parasitology* 26: 231-243.

Mariaux, J. 1998. A Molecular Phylogeny of the Eucestoda. *The Journal of Parasitology* 84: 114-124.

Marques, F.P.L. 2000. Evolution of Neotropical Freshwater Stingrays and Their Parasites: Taking Into Account Space and Time. Ph.D. Dissertation, University of Toronto.

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: 994-1017.

Marques, F.P.L., Brooks, D.R. & Araújo, M.L.G. 2003. Systematic and phylogeny of *Potamotrygonocestus* (Platyhelminthes, Tetraphyllidea, Onchobothriidae) with descriptions of three new species from freshwater potamotrygonids (Myliobatoidei, Potamotrygonidae). *Zoologica Scripta* 32: 367-396.

Marques, F.P.L. & Domingues, M. V. (Eds.). 2006. In: Banco de dados do Laboratório Helminologia Evolutiva, Universidade de São Paulo. Disponível na World Wide Web em: <http://www.ib.usp.br/hpc> [31/05/2011].

- 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.
- Mayr, E. 1963. *Animal Species and Evolution*. Cambridge, Belknap Press.
- McCoy, K.D. 2003. Sympatric speciation in parasites – what is sympatry? *Trends in Parasitology* 19: 400-404.
- Olson, P.D., Littlewood, D.T., Bray, R.A. & Mariaux, J. 2001. Interrelationships and Evolution of the Tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda) . *Molecular Phylogenetics and Evolution* 19: 443-467.
- Paterson, H.E.H. 1973. Animal species studies. *Journal of Royal Society of Western Australian* 56: 31-36.
- Paterson, H.E.H. 1978. More evidence against speciation by reinforcement. *South African Journal of Science* 74: 369-371.
- Paterson, H.E.H. 1980. A comment on 'mate recognition systems'. *Evolution* 34: 330-331.
- Poulin, R. 1992. Determinants of host-specificity in parasites of freshwater fishes. *International Journal of Parasitology* 22: 753-758.
- Poulin, R. & Morand, S. 2000. The Diversity of Parasites. *The Quarterly Review of Biology* 75: 277-293.
- Randhawa, H.S. & Poulin, R. 2009. Determinants and consequences of interspecific body size variation in tetraphyllidean tapeworms. *Oecologia* 161: 759-769.
- 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.
- Reyda, F.B. 2007. Patterns of diversity and host specificity in the cestodes of Neotropical freshwater stingrays. PhD Dissertation University of Connecticut, Storrs, Connecticut.
- Reyda, F.B. 2008. Intestinal helminths of freshwater stingrays in southeastern Peru, and a new genus and two new species of cestode. *Journal of Parasitology* 94: 684-699.
- Reyda, F.B. & Marques, F.P.L. 2011. Diversification and species boundaries of *Rhinebothrium* (Cestoda; Rhinebothriidea) in South American freshwater stingrays (Batoidea; Potamotrygonidae). *PLoS ONE* 6(8): e22604. doi:10.1371/journal.pone.0022604
- Roberts, L & Janovy Jr., J. 1996. *Foundations of Parasitology*. Dubuque, Wm.C. Brown Publishers. 659p.
- Shibuya, A. 2009. Morfologia funcional dos mecanismos de alimentação em raias Myliobatoidei, com ênfase em espécies de Potamotrygonidae do médio rio Negro. Tese de Doutorado pelo Instituto

Nacional de Pesquisas da Amazônia.

Stunkard, H.W. 1953. Life Histories and Systematics of Parasitic Worms. *Systematic Zoology* 2: 7-18.

Stunkard, H.W. 1962. The Organization, Ontogeny, and Orientation of the Cestoda. *The Quarterly Review of Biology* 37: 23-34.

Waeschenbach, A., Webster, B.L., Bray, R.A. & Littlewood, D.T.J. 2007. Added resolution among ordinal level relationships of tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda) with complete small and large subunit nuclear ribosomal RNA genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 45: 311-325.

Wilcox, D., Dove, B., McDavis, D., Greer, D. 1995-2002. Disponível na Word Wide Web em: <http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/itdesc.html> [06/06/2011].

Williams, H.H. 1964. Some new and Little Known Cestodes from Australian Elamobranchs with a Brief Discussion on Their Possible Use in Problems of Host Taxonomy. *Parasitology* 54: 737-748.

Williams, H.H. 1966. The ecology, functional morphology and taxonomy of *Echeineibothrium* Beneden, 1849 (Cestoda: Tetrphyllidea), a revision of the genus and comments on *Discobothrium* Beneden, 1870, *Pseudanthobothrium* Baer, 1956, and *Phormobothrium* Alexander, 1963. *Parasitology* 56: 227-285.

Williams, H.H. 1968. The taxonomy, ecology and host-specificity of some Phyllobothriidae (Cestoda: Tetrphyllidea), a critical revision of *Phyllobothrium* Beneden, 1849 and comments on some allied genera. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 786: 231-307.