

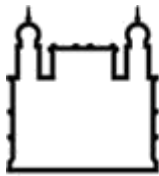
MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Doutorado no Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Saúde

HELMINTOFAUNA DE *Pimelodus blochii* VALENCIENNES, 1840
(SILURIFORMES: PIMELODIDAE) DOS RIOS ACRE E XAPURI, ACRE, BRASIL

PEDRO HERCÍLIO DE OLIVEIRA CAVALCANTE

RIO DE JANEIRO
AGOSTO DE 2017



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Saúde

PEDRO HERCÍLIO DE OLIVEIRA CAVALCANTE

HELMINTOFAUNA DE *Pimelodus blochii* VALENCIENNES, 1840
(SILURIFORMES: PIMELODIDAE) DOS RIOS ACRE E XAPURI, ACRE, BRASIL

Tese apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biodiversidade e Saúde.

Orientadora: Dr^a Cláudia Portes Santos Silva

RIO DE JANEIRO

AGOSTO DE 2017

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Saúde

PEDRO HERCÍLIO DE OLIVEIRA CAVALCANTE

HELMINTOFAUNA DE *Pimelodus blochii* VALENCIENNES, 1840
(SILURIFORMES: PIMELODIDAE) DOS RIOS ACRE E XAPURI,
ACRE, BRASIL

ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. Cláudia Portes Santos Silva

Aprovada em:

EXAMINADORES:

Prof. Dra Rosan Gentile - IOC/Fiocruz

Prof. Dra Beatriz Brener de Figueiredo - UFF

Prof. Dr. Marcos Tavares Dias – EMBRAPA/AP

Prof. Dra Melissa Querido Cárdenas – IOC/Fiocruz – suplente

Prof. Dr. Darcílio Fernandes Baprista - IOC/Fiocruz – suplente

Ficha Catalográfica Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de
Ficha Catalográfica da Biblioteca de Manguinhos/ICICT.

Cavalcante, Pedro Hercílio de Oliveira .

Helmintofauna de *Pimelodus blochii* Valenciennes, 1840 (Siluriformes: Pimelodidae) dos rio Acre e Xapuri, Acre, Brasil / Pedro Hercílio de Oliveira Cavalcante. - Rio de Janeiro, 2017.

xiv, 99 f.; il.

Tese (Doutorado) - Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Biodiversidade e Saúde, 2017.

Orientadora: Cláudia Portes Santos Silva.

Bibliografia: f. 73-86

1. *Pimelodus blochii*. 2. Zoonose. 3. DNA. 4. Atractidae. 5. Nematoda. I. Título.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Dinarte Cavalcante e Maria das Dores, por todos os conselhos, ensinamentos e orientações que foram primordiais para minha educação, e por todos os sacrifícios que passaram ao longo de vários anos para tentar prover, a mim a meu irmão, a melhor formação.

Ao meu irmão, Dennis Cavalcante, que me torrava a paciência me chamando para estudar após um “longo descanso” de 30 min depois do almoço, pois, segundo ele “Os concorrentes estão estudando!”.

A minha querida esposa, Thayna Cavalcante, por ajudar a conduzir nossa família em um caminho com respeito, dignidade, carinho e muito amor. Se não fosse o bastante, ainda nos presenteou com um filho maravilhoso que só nos dá mais alegrias.

Ao meu querido filho João Lucas, que mesmo com apenas 6 meses de idade me ajudou bastante nos momentos de estresse. Ver sua inocência e seu sorriso sem dentes é algo que me fez, e faz, encontrar força (onde eu nunca imaginei que teria) para seguir em frente e fazer o que for preciso em prol de nossa família.

A minha orientadora, Profa. Dra. Cláudia Portes Santos do Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental (LAPSA) do Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, por toda atenção e ensinamentos que me foram dedicados ao longo desses 4 anos. Não posso deixar de agradecer pela franqueza com que foi conduzido todo esse processo e, refletindo sobre tudo, tenho a certeza que essa experiência só me trará enriquecimento pessoal e profissional.

A Dra Aldenice de Nazaré Silva Pereira do Instituto Federal do Acre (IFAC) por ter me incentivado a fazer o doutorado, pelas ajudas nas coletas e pela amizade.

A todos do LAPSA: Maralina, Vanessa, Ana Carolina, Ana Cristina, Everton, Danielle, Ronaldo, Karina, Lucas, Viviane e Aline por toda paciência e disposição em ajudar.

Ao Sr Roberto Ferreira, pescador do município de Xapuri/AC/Brasil, pela presteza em conseguir os espécimes e assim agilizando o andamento da pesquisa.

A todos os professores do Programa de Biodiversidade e Saúde pela formação acadêmica.

Ao Instituto Oswaldo Cruz (IOC) por toda a estrutura fornecida para o desenvolvimento da pesquisa.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Acre (IFAC) por propiciar minha qualificação como professor através do Termo de Cooperação nº 004/2012 IFAC/IOC.

Este projeto teve apoio financeiro do Convênio IOC e IFAC, do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Acre (FAPAC).

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

HELMINTOFAUNA DE *Pimelodus blochii* VALENCIENNES, 1840
(SILURIFORMES: PIMELODIDAE) DOS RIOS ACRE E XAPURI, ACRE,
BRASIL

RESUMO

TESE DE DOUTORADO EM BIODIVERSIDADE E SAÚDE

Pedro Hercílio de Oliveira Cavalcante

A fauna de peixes no estado do Acre representa 10,7% de todas as espécies de peixes registradas no Brasil, mas, apesar disso, há poucos estudos de parasitos de peixes nesta área. A recente expansão da piscicultura no Acre induz a necessidade de estudos helmintológicos em uma das espécies de peixes mais consumidas na região, o *Pimelodus blochii* (Pimelodidae). O presente trabalho teve por objetivo estudar a diversidade de endohelminhos de *Pimelodus blochii* dos rios Xapuri e Acre, visando : i) identificar e caracterizar o perfil morfológico de espécies de nematódeos; ii) caracterizar o perfil genético das espécies da família Atractidae; iii) avaliar e comparar os índices parasitários dos helmintos de *P. blochii* dos dois rios em diferentes épocas do ano e iv) identificar a presença de espécies de helmintos com caráter zoonótico, determinando potenciais riscos do consumo de *P. blochii* pela população local. Como resultados do presente estudo duas novas espécies foram descritas: *Orientattractis* n. sp. como a primeira ocorrência desse gênero na América do Sul e uma nova espécie de *Philometroides*, proposta com base na morfologia, ultraestrutura e localização no hospedeiro (estômago), sendo a terceira espécie do gênero descrita na América do Sul. Uma chave de espécies de *Philometroides* ocorrendo em peixes das Américas é apresentada. Também foram referidos *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) *pimelodus* e *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) *rarus* em nova distribuição geográfica com dados morfológicos, ultraestruturais e genéticos. Por fim, a fauna helmintológica de *P. blochii* foi estudada com ênfase nas comunidades de parasitos encontrados nos dois rios nas estações de chuva e na de estiagem, para avaliar diferenças entre os rios e identificar espécies de nematódeos que pudessem apresentar riscos à saúde da população. O total de parasitos coletados nos dois rios incluíram: *P. (S.) pimelodus*, *P. (S.) rarus*, *R. rondoni*, *Cucullanus* sp., *Anisakis* sp., *Hysterothylacium* sp., *Contracaecum* sp., *Rhabdochona* sp., Pharyngodonidae gen. sp., Cystidicolidae gen. sp., Nematoda gen. sp., cistos de Acanthocephala e Trematoda gen. sp., além das novas espécies de *Orientattractis* e *Philometroides*. O rio Xapuri apresentou maior diversidade com significativa variação na sazonalidade, contrastando com rio Acre. Larvas com potencial zoonótico como *Anisakis* sp. e *Hysterothylacium* sp. foram encontradas nos peixes dos dois rios, mas a baixa prevalência e abundância indicam que não há risco de zoonose emergente proveniente do pescado na região.

Palavras-chave: helmintos, peixes, morfologia, ultraestrutura, genética

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

HELMINTH FAUNA OF *Pimelodus blochii* VALENCIENNES, 1840
(SILURIFORMES: PIMELODIDAE) OF THE RIVERS ACRE AND XAPURI,
ACRE, BRAZIL

ABSTRACT

PhD THESIS IN BIODIVERSIDADE E SAÚDE

Pedro Hercílio de Oliveira Cavalcante

The fish fauna in the State of Acre represents 10.7% of all fish species recorded from Brazil, but, despite this, there are few fish parasite studies in this area. The recent expansion of fish farming in Acre prompted a need for helminthological studies of the most commonly consumed fish species in the area, *Pimelodus blochii* (Pimelodidae). The objective of the present work was to study the diversity of *Pimelodus blochii* endohelminths of the Xapuri and Acre rivers, aiming to: i) identify and characterize the morphological profile of the nematodes species; ii) characterize the genetic profile of species of the Family Atractidae; iii) evaluate and compare the parasitic indexes of helminths of *P. blochii* from the two rivers in different seasons and iv) identify the presence of helminths' species with zoonotic potential presenting risk for local consumers *P. blochii*. As results of the present study two new species were described: *Orientattractis* n. sp. as the first occurrence of this genus in South America and a new species of *Philometroides*, proposed based on the morphology, ultrastructure and location in the host (stomach), being the third species of the genus described in South America. A key of species of *Philometroides* occurring in fish from the Americas was provided. *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) *pimelodus* and *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) *rarus* were also referred to in a new geographical distribution with morphological, ultrastructural and genetic data. Finally, the helminthological fauna of *P. blochii* was studied with emphasis on the parasite communities found in the two rivers in rain and drought seasons, to evaluate differences between rivers and to identify species of nematodes with zoonotic potencial. The total parasites collected in the two rivers included: *P. (S.) pimelodus*, *P. (S.) rarus*, *Cucullanus* sp., Nematoda gen. sp., *R. rondoni*, *Anisakis* sp., *Hysterothylacium* sp., *Contraecum* sp., *Rhabdochona* sp., *Pharyngodonidae* gen. sp., *Cystidicolidae* gen. sp., Acanthocephala cysts, Trematoda gen. sp, apart from the new species of *Orientattractis* and *Philometroides*. The Xapuri River presented greater diversity with significant variation in the seasonality, contrasting with Acre River. Larvae potentially zoonotic as *Anisakis* sp. and *Hysterothylacium* sp. were found in both rivers but the low prevalence and abundance indicates that there is no risk of emergent zoonosis from fish in the region.

Key-words: helminths, fish, morphology, ultrastructure, genetics

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1.1 A importância dos estudos ictioparasitológicos	2
1.2 Rios Acre e Xapuri	3
1.3 Modelo de Estudo.....	5
2. JUSTIFICATIVA.....	7
3. OBJETIVOS.....	8
3.1 Objetivo geral	8
3.2 Objetivos específicos	8
4. CAPÍTULO 1.....	9
4.1 INTRODUÇÃO	10
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	11
4.2.1 Análise genética	11
4.3 RESULTADOS	13
4.3.1 Dados morfológicos e ultraestruturais.....	13
4.3.2 Dados genéticos	17
4.3.3 Dados morfológicos e ultraestruturais.....	19
4.3.4 Dados genéticos	23
4.3.5 Árvore filogenética de Cosmocercoidea.....	23
4.4 DISCUSSÃO	24
5. CAPÍTULO 2.....	29
5.1 INTRODUÇÃO	30
5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	31
5.3 RESULTADOS.....	32
5.4 DISCUSSÃO	33
6. CAPÍTULO 3.....	41
6.1 INTRODUÇÃO	42
6.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	42
6.2.1 Análise Genética.....	43
6.3 RESULTADOS.....	44
6.3.1 Ultraestrutura	47
6.3.2 Análise Genética.....	47
6.4 DISCUSSÃO	54
7. CAPÍTULO 4.....	57
7.1 INTRODUÇÃO	58
7.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	59
7.3 RESULTADOS.....	61

7.4 DISCUSSÃO	69
8. CONCLUSÕES.....	72
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73
ANEXOS.....	87

ÍNDICE DE FIGURAS

- Fig. 1 Mapa de localização geográfica do estado do Acre. Fonte: Adaptado do Plano estadual de recursos hídricos do Acre, 2012..... 4
- Fig. 2 Localização geográfica dos rios Acre e Xapuri, no município de Xapuri, Acre, Brasil. Imagem adaptada de Macêdo et al. 2013..... 4
- Fig. 3 *Pimelodus blochii* encontrado nos rios Acre e Xapuri. Fonte: autor..... 6
- Fig. 4 *Orientattractis* n. sp. (A) Corpo inteiro mostrando esôfago e cauda pontiaguda; (B) extremidade cefálica com quatro lábios submedianos com pontas simples (a) e bifurcadas (asteriscos); Dois lábios laterais em forma de U invertido (b); Anfídeos (An) e pequenas papilas em torno da abertura oral; (C) cauda do macho com espículos, gubernáculo e papilas; (D) detalhe dos espículos e gubernáculo; (E) cauda da fêmea com vulva e abertura anal..... 15
- Fig. 5 *Orientattractis* n. sp. - MEV: (A) Região anterior com abertura oral; (B) Extremidade cefálica com lábios submedianos de pontas simples (a) e bifurcadas (cabeça de seta); lábios laterais em forma de U invertido com pontas livres (b), anfídeos (An) e papilas (setas); (C) lábios e anfídeos (An); (D) lábio submediano com pontas bifurcadas (cabeça de seta) e pontas simples (a) e lateral com pontas em U invertido (b); (E) deirídeos (seta); (F,G) detalhe do deirídeo..... 16
- Fig. 6 Microscopia eletrônica de varredura de *Orientattractis* n. sp. (A) vista geral da região posterior do macho mostrando espículo e papilas; (B) detalhe das papilas ad-cloacais e pós-cloacais e estrias cuticulares longitudinais, laterais; (C) detalhe da ponta da cauda do macho; (D) papilas caudais do macho em vista lateral; (E) vista lateral da região posterior da fêmea mostrando vulva protuberante e cauda pontiaguda; (F) detalhe da vulva protuberante (seta) e ânus (cabeça de seta)..... 18
- Fig. 7 *Rondonia rondoni*. (A) Três lábios rudimentares bilobados com círculo interno e externo de quatro papilas e dois anfídeos; (B) cauda do macho com espículos, gubernáculo e papilas; (C) detalhe dos espículos e do gubernáculo; (D) corpo da fêmea com esôfago, ovos e larvas; (E) detalhe do esôfago; (F) cauda de fêmea com abertura comum à vulva e ao ânus..... 20

- Fig. 8 Microscopia eletrônica de varredura de *Rondonia rondoni*. (A e B) Região anterior mostrando três lábios bilobados, abertura oral, círculo interno (cabeça de seta preta) e externo (cabeça de seta branca) de quatro papilas e anfídeos (An); (C) vista geral da região posterior do macho com cauda pontiaguda e duas bandas sub-laterais paralelas com pequenos espinhos (setas); inserção: detalhe dos pequenos espinhos; (D) cauda do macho com papilas; (E) vista ventro-lateral das papilas; (F) vista lateral da região posterior mostrando papila dupla (seta)..... 21
- Fig. 9 Microscopia eletrônica de varredura de fêmeas de *Rondonia rondoni*. (A) Região posterior mostrando abertura cloacal; (B) detalhe da abertura cloacal; (C) ponta da cauda com diferentes padrões de estriações cuticulares..... 22
- Fig. 10 Árvore filogenética por análise Bayesiana e Máxima Verossimilhança de sequências do gene 18S rDNA de cosmocercoides Atractidae, Cosmocercidae e Kathlaniidae..... 25
- Fig. 11 Fêmea grávida de *Philometroides* n. sp., mostrando: (A) extremidade anterior, vista dorsal; (B) reconstrução esquemática da extremidade anterior, vista apical; (C) extremidade posterior, vista ventral; (D) região caudal, vista lateral; e (E) larva do útero, vista lateral..... 34
- Fig. 12 Microscopia eletrônica de varredura de fêmea grávida de *Philometroides* n. sp. mostrando: (A) extremidade anterior com projeções cuticulares; (B) região mediana com protuberâncias cuticulares; (C) região caudal, visão ventro-lateral; (D) protuberâncias cuticulares sobre a extremidade caudal, vista lateral; (E) região apical com larvas emergindo; e (F) fase larval do útero..... 35
- Fig. 13 *Procamallanus (Spirocamallanus) pimelodus* (A) extremidade anterior do macho; (B) Cápsula bucal do macho; (C) extremidade cefálica, vista apical; (D–E) cauda do macho, vista lateral e vista ventral; (F) cauda da fêmea..... 46
- Fig. 14 *Procamallanus (Spirocamallanus) pimelodus* (MEV): (A) região anterior do corpo com abertura oral; (B) extremidade cefálica mostrando papilas (cabeça de seta branca) e anfídeos (cabeça de seta preta); (C) visão geral da região posterior do macho mostrando espículos e papilas; (D) detalhe de papila ad-cloacal (cabeça de seta branca) e pós-cloacal (setas pretas); (E)

papila sublateral (seta preta) (F) detalhe de papila préanal (seta preta) e visão geral do espículo; (G) detalhe da bifurcação do espículo; (H) visão geral da região posterior da fêmea.....	48
Fig. 15 Reconstrução filogenética utilizando MV baseada nos alinhamentos de sequências de <i>Procamallanus (Spirocamallanus) pimelodus</i> com sequências de Camallanidae, Physalopteridae, Capillaridae, Philometridae e Cucullanidae do GenBank para a região mtDNA cox-I. Os valores na frente dos nós representam a porcentagem de 'bootstrap'. <i>Baylissascaris transfuga</i> representa o grupo externo.....	49
Fig. 16 Reconstrução filogenética utilizando MV baseada nos alinhamentos de sequências de <i>Procamallanus (Spirocamallanus) pimelodus</i> com sequências de Spirudida e Ascaridida do GenBank para a região 28S rDNA. Os valores na frente dos nós representam a porcentagem de 'bootstrap'. <i>Cystoopsis attractostei</i> representa o grupo externo.....	51
Fig. 17 <i>Procamallanus (Spirocamallanus) rarus</i> : (A) região anterior com cápsula bucal, esôfago muscular e glandular; (B) detalhe da cápsula bucal com dentes na base e poucas espirais; (C) detalhe da cauda do macho com papilas.....	53
Fig. 18 Curvas de rarefação para os rios Acre e Xapuri.....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Taxa utilizados para análise filogenética de <i>Procamallanus</i> (<i>Spirocamallanus</i>) <i>pimelodus</i> usando sequências de mtDNA <i>cox-I</i> e 28S rDNA.....	56
Tabela 2. Índice de dispersão (ID), teste estatístico <i>d</i> (<i>d</i>) e índice de discrepância (D) dos parasitos de <i>Pimelodus blochii</i> dos rios Acre e Xapuri, Acre Brasil.....	61
Tabela 3. Prevalência, abundância média e intensidade média das infrapopulações parasitárias de <i>P. blochii</i> do rio Acre e Xapuri, Acre, Brasil.....	64
Tabela 4. Riqueza de parasitos por hospedeiros dos rios Acre e Xapuri, Acre, brasil.....	65
Tabela 5. Parâmetros parasitológicos por estação do ano das infrapopulações parasitárias de <i>P. blochii</i> do rio Acre.....	67
Tabela 6. Parâmetros parasitológicos por estação do ano das infrapopulações parasitárias de <i>P. blochii</i> do rio Xapuri.....	68

1. INTRODUÇÃO GERAL

A diversidade de peixes da região Neotropical é elevada, representando aproximadamente 24% das espécies de peixes dulciaquícolas e marinhos do mundo (Barassa et al. 2003).

Neste cenário o Brasil merece uma atenção especial, pois a bacia Amazônica abriga a maior e mais diversa ictiofauna do mundo, com estimativas de 2,5 mil espécies em relação as 6 mil espécies estimadas para fauna Neotropical (Goulding, 1980; Reis et al. 2003). A dinâmica desse ambiente tropical, de flutuações no nível das águas e médias anuais de temperaturas elevadas influencia as características limnológicas, biológicas e ecológicas dos corpos d'água (Junk et al. 1989) e conseqüentemente toda a ictiofauna e parasitofauna que nela vive.

O Estado do Acre é uma região do Brasil com poucos estudos sobre sua ictiofauna. Dados do Zoneamento Ecológico-Econômico – ZEE (Acre, 2010b) contabilizam aproximadamente 310 espécies de peixes catalogadas para o estado, representando aproximadamente 10,7% do total de espécies de peixes registradas para o Brasil. Dada a sua grande variedade de ecossistemas e habitats existentes, acredita-se que o número de espécies de peixes deve ser muito maior do que o apresentado.

A pesca realizada nos ambientes de água doce funciona como uma importante fonte de proteína para as populações locais. Na bacia amazônica as modalidades de pesca incluem a pesca comercial multiespecífica destinada ao abastecimento urbano regional, pesca esportiva e a pesca de subsistência, praticada por grupos familiares. De acordo com o Relatório do Censo Estrutural da Pesca de Águas Continentais na Região Norte (Aragão & Castro e Silva, 2006), a pesca praticada no estado do Acre é exercida de forma totalmente artesanal.

Embora tenha sido lançado no estado em 2011 o Programa de Desenvolvimento da Piscicultura do Acre através da Secretaria de Estado de Extensão Agroflorestal e Produção Familiar do Acre (SEAPROF/AC), o projeto de construção de 5 mil tanques de piscicultura está voltado principalmente para o cultivo de pirarucu e tambaqui (Acre, 2012). É importante também que novos estudos incluindo análises de parasitos sejam direcionados para as espécies de peixe mais consumidas pela população local como o *Pimelodus blochii* Valenciennes 1840.

1.1 A importância dos estudos ictioparasitológicos

Segundo Malta (1984) os peixes são os vertebrados que apresentam os maiores índices de infecção por parasitos, devido às peculiaridades do meio aquático que facilitam sua propagação, reprodução e ciclo de vida.

Nas últimas décadas tem aumentado consideravelmente a relevância dos estudos com parasitos e outros patógenos de organismos aquáticos, principalmente daqueles hospedeiros com potencial para o cultivo e para a comercialização, face ao aumento significativo das atividades de cultivo no Brasil e no mundo (Luque, 2004). Deste modo, os estudos ictioparasitológicos devem abranger além das espécies cultivadas, espécies nativas consumidas pela população, assim como outras espécies da bacia que possam servir como hospedeiros intermediários ou definitivos nos ciclos biológicos dos parasitos.

De maneira geral, o pescado destinado ao consumo humano deve ser alvo de maior preocupação por parte dos serviços de fiscalização sanitária, pois algumas parasitoses têm caráter zoonótico (Thatcher & Brites-Neto, 1994).

Hochberg & Hamer (2010) alertam sobre as anisaquíases como causa de síndromes gástricas, intestinais e alérgicas no homem que consomem frutos do mar crus, contaminados com estádios larvais de nematódeos da Família Anisakidae. No entanto, estes nematódeos também são encontrados parasitando várias espécies de peixes dulcícolas brasileiros e entre tais parasitos estão larvas de *Thynnascaris* sp. Dollfus, 1933 foram referidas em *Plagioscion squamosissimus* Heckel, 1840, *Goezia leporini* Martins & Yoshitoshi, 2003 em *Leporinus macrocephalus* Garavello & Britski, 1988 cultivados (Martins & Yoshitoshi, 2003), larvas de *Terranova* sp. em *P. squamosissimus* e *Raphidascaris (Sprentascaris) lanfrediae* Melo et al. 2011, em *Satanoperca jurupari* Heckel, 1940 (Melo et al. 2011; Martins et al. 2000; Tavares et al. 2007).

É senso comum associar os parasitos a doenças. Entretanto, estes organismos têm demonstrado novos aspectos de sua influência sobre os hospedeiros, na Saúde Pública e em suas interações nos ecossistemas (Bush et al, 2001). Hudson et al. (2006) referiu que os parasitos são capazes de moldar a dinâmica de população dos hospedeiros, alterar competições interespecíficas e influenciar o fluxo de energia.

1.2 Rios Acre e Xapuri

O Estado do Acre está situado no extremo sudoeste da Amazônia brasileira (Fig. 1). Sua superfície territorial é de 164.221,36 Km² (16.422.136 ha) correspondente a 4% da área amazônica brasileira e a 1,9% do território nacional (Acre, 2010a).

O município de Xapuri (10°39'06''S e 68°30'16''O) (Fig. 1 e 2) está localizado na microrregião de Brasileia, mesorregião do Vale do Acre (Acre, 2010a). Sua população em 2010 estava estimada em 16.091 habitantes (IBGE, 2010), dos quais 10.330 encontravam-se na zona urbana (64,2%) e 5.761 na zona rural do município (35,8%). Apresenta uma área total de 5.347 Km² e densidade demográfica de 3,01 hab./Km² (IBGE, 2010; Acre, 2011).

A população ribeirinha de Xapuri soma 6.008 pessoas vivendo em 52 localidades dispersas ao longo dos rios Acre e Xapuri (Fig. 2), sendo 3.020 habitantes nas margens no rio Acre e 2.988 no rio Xapuri, Acre (2010).

O rio Acre nasce em território peruano, nas terras acidentadas da área de influência do rio Iaco e rio das Pedras, com o nome de rio Eva, em cotas da ordem de 400 m e corre na direção Oeste-Leste, deixando-o na altura do município de Iñapari, e segue fazendo fronteira com Brasil e Bolívia. Percorre mais de 1.190 km desde suas nascentes até a sua desembocadura, na margem direita do rio Purus (Acre, 2012) (Fig. 2).

O principal afluente do rio Acre na parte alta da bacia é o rio Xapuri, com uma área física estimada em 5.948 Km², que representa a principal via de acesso da cidade para os seringais nativos, vilas, fazendas, colônias, colocações e povoados (Acre, 2012) (Fig. 2).

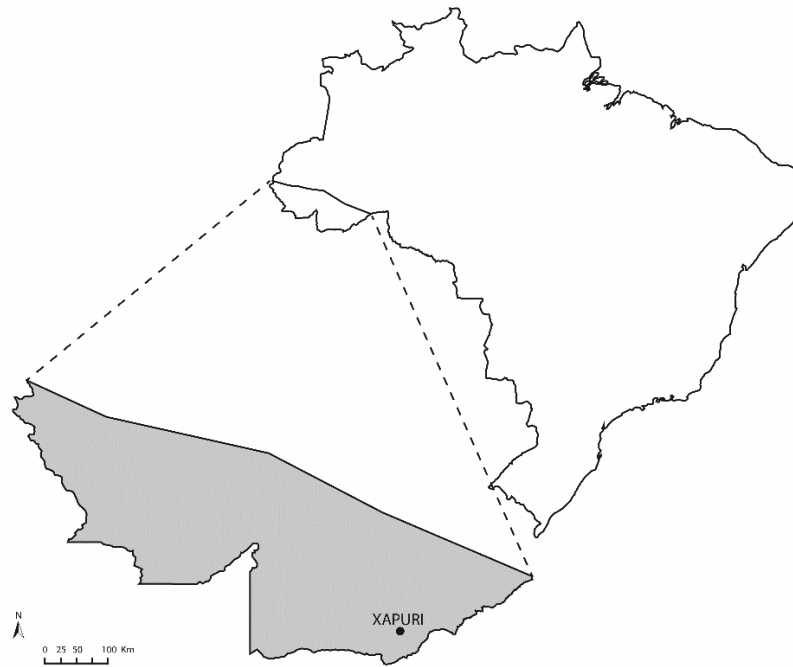


Fig. 1 Mapa de localização geográfica do estado do Acre. Fonte: Adaptado do Plano estadual de recursos hídricos do Acre, 2012.

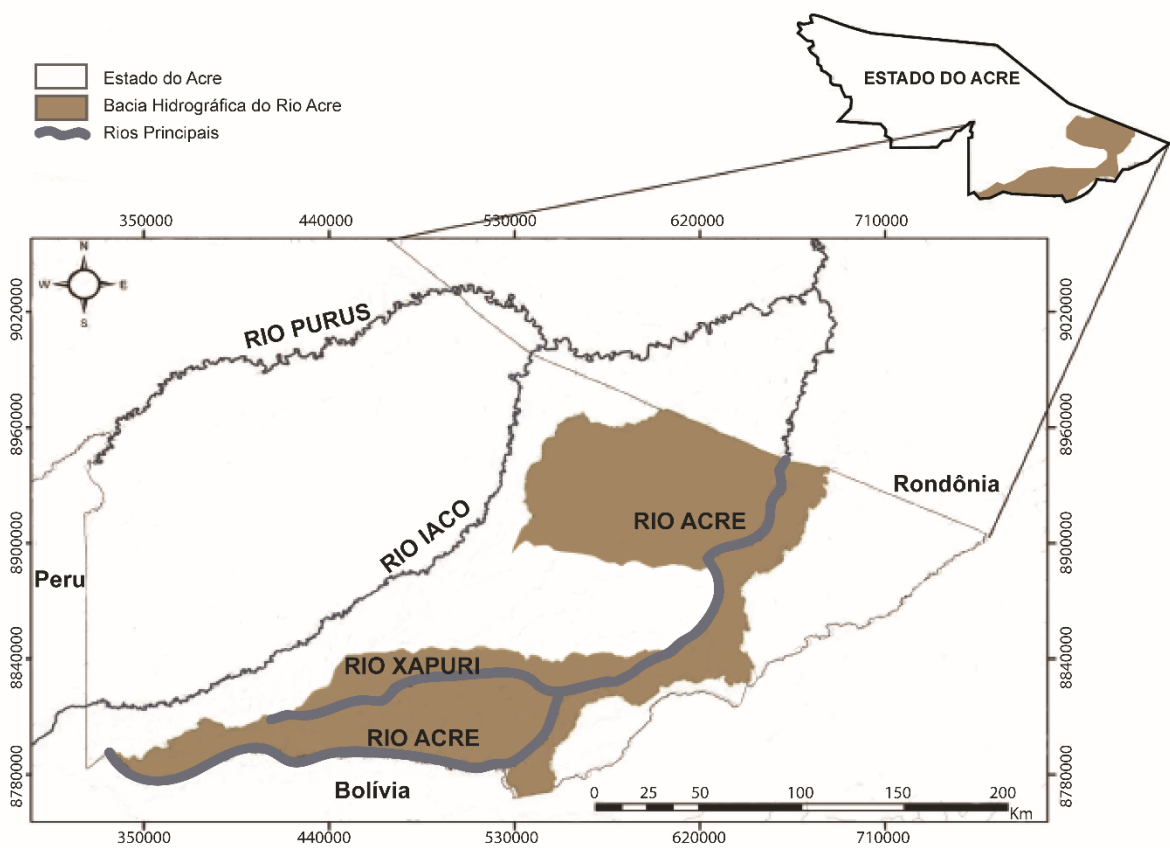


Fig. 2 Localização geográfica dos rios Acre e Xapuri, no município de Xapuri, Acre, Brasil. Imagem adaptada de Macêdo et al. 2013.

1.3 Modelo de Estudo

O gênero *Pimelodus* La Cépède, 1803 contém 24 espécies válidas para a América do Sul, com oito espécies referidas na Amazônia brasileira (Lundberg & Littmann, 2003; Ribeiro & Lucena 2006). Algumas espécies apresentam ampla distribuição por toda essa região, enquanto outras são endêmicas das bacias do rio Magdalena, Maracaibo, alguns rios do sudeste do Brasil, noroeste da Colômbia e leste do Panamá (Lundberg & Littmann, 2003).

O *Pimelodus blochii* Valenciennes (Siluriformes: Pimelodidae).é endêmico da região Neotropical e apresenta maior diversidade nas bacias dos rios Amazonas, Paraná, Orinoco e nos grandes rios das Guianas (Fig. 3).

Quanto ao aspecto comportamental esta espécie se caracteriza por viver em grupos, sendo comum encontrá-los embaixo de troncos no fundo dos ambientes aquáticos (Le Bail et al. 2000 apud Lundberg & Littmann, 2003).

Seu hábito alimentar é diversificado, sugerindo grande adaptação trófica que varia com a disponibilidade de presas. Esta espécie se alimenta de macroinvertebrados e frutos, mas pode manifestar comportamento detritívoro (Santos et al. 2006; López-Casas & Jiménez-Segura, 2007).

A diversidade alimentar de *P. blochii* associada a seu maior aproveitamento na filetagem, em relação a outras espécies de Siluriformes, indica seu grande potencial para exploração comercial (Maciel et al. 2014). No Acre sua carne é bastante apreciada pela população local – principalmente pela população de baixa renda, tornando-o uma espécie com potencial para estudo.

Tendo em vista a importância deste peixe para a alimentação da população, *P. blochii* foi escolhido como modelo para estudos parasitológicos a fim de avaliar se as espécies de helmintos de *P. blochii* diferem nos rios Acre e Xapuri, se há novas espécies a serem descritas para este hospedeiro na região e se ocorrem espécies de nematódeos com potencial zoonótico, apresentando algum risco à saúde da população.



Fig. 3 *Pimelodus blochii* encontrado nos rios Acre e Xapuri. Fonte: autor.

2. JUSTIFICATIVA

No estado do Acre, Brasil, há cerca de 310 espécies de peixes catalogadas e a pesca realizada nos ambientes de água doce funciona como uma importante fonte de proteína para as populações locais. A piscicultura tem sido incentivada no estado, mas além das espécies com alto valor comercial, é importante que novos estudos sejam direcionados para viabilizar o cultivo de peixes mais consumidos pela população local como o mandi, *Pimelodus blochii*.

Dados ictioparasitológicos são escassos no Acre e os poucos estudos geralmente estão relacionados com espécies cultivadas ou de manejo para fins conservacionistas. Essa falta de interesse em se trabalhar com peixe de baixo valor comercial pode ser caracterizada como negligência com a saúde da população de baixa renda que se alimenta desse tipo de pescado. Assim, o estudo da diversidade de helmintos no mandi proveniente da pesca tradicional contribuirá para ampliar os conhecimentos da biologia, taxonomia e biodiversidade genética dos helmintos em dois rios da região, bem como apontar possíveis riscos em relação ao consumo do pescado pela população carente de Xapuri.

Apesar da aparente preservação, os rios Acre e Xapuri sofrem com problemas comuns encontrados nos centros urbanos do país, tais como crescimento desordenado de bairros em torno do rio, falta de saneamento básico com aporte de efluentes *in natura* e impactos da pecuária local. O estudo dos índices parasitários do mandi nos diferentes rios poderá evidenciar diferenças ecológicas nos dois ambientes estudados.

No presente trabalho é proposto a identificação morfológica e genética das espécies de endohelmintos de *P. blochii* visando ampliar os conhecimentos sobre a diversidade de parasitos de peixes oriundos da pesca artesanal da região amazônica, além de detectar possíveis riscos para a saúde da população que consome esse pescado.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Estudar a biodiversidade de helmintos de *Pimelodus blochii* dos rios Xapuri e Acre, Estado do Acre, Brasil.

3.2 Objetivos específicos

- Identificar e caracterizar o perfil morfológico de espécies de nematódeos.
- Caracterizar o perfil genético das espécies da família Atractidae.
- Avaliar e comparar os índices parasitários dos helmintos de *P. blochii* dos rios Acre e Xapuri em diferentes épocas do ano.
- Identificar a presença de espécies de helmintos com caráter zoonótico, determinando potenciais riscos do consumo de *P. blochii* pela população local.
- Avaliar a influência da sazonalidade nas comunidades de parasitos dos rios Acre e Xapuri.

4. CAPÍTULO 1

***Orientattractis* n. sp. e *Rondonia rondoni* Travassos, 1920 (Nematoda: Atractidae), parasitos de *Pimelodus blochii* (Osteichthyes, Pimelodidae) dos rios Acre e Xapuri, Amazônia Ocidental, Brasil.**

Artigo Publicado:

Cavalcante PHO, Silva MT, Santos EGN, Chagas-Moutinho VA, Santos CP. *Orientattractis moraveci* n. sp. and *Rondonia rondoni* Travassos, 1920 (Nematoda: Atractidae), parasites of *Pimelodus blochii* (Osteichthyes, Pimelodidae) from the Acre and Xapuri Rivers, Western Amazon, Brazil. *Parasitology* 2017; 144(2): 226-236. (Anexo 1)

4.1 INTRODUÇÃO

A bacia Amazônica possui a ictiofauna mais rica do mundo, com estimativa de 2.500 das 6.000 espécies Neotropicais (Goulding, 1980; Reis et al. 2003). No Estado do Acre na Amazônia Ocidental, Brasil, cerca de 310 espécies de peixes foram catalogadas, representando quase 11% de todas as espécies de peixes referidas no Brasil (Acre, 2010b).

De acordo com o relatório da Avaliação Ambiental de Estuários Brasileiros no censo estrutural de pesca nas águas continentais do Norte do Brasil, a pesca praticada no Estado do Acre é basicamente artesanal e de subsistência, representando a principal fonte proteica para a população local (Vieira et al. 2006). Nos últimos anos, como medida para reduzir o desmatamento e melhorar a economia local, a piscicultura, em sua maioria em áreas já desmatadas e abandonadas, perto ou dentro de pequenas barragens, tem sido incentivada como uma alternativa sustentável à pecuária (Reis et al. 2015). Deste modo, os estudos ictioparasitológicos na Amazônia devem abranger, além de espécies cultivadas, espécies nativas geralmente consumidas pela população local.

No estado do Acre, *Pimelodus blochii* Valenciennes, 1840 é o peixe mais frequentemente consumido pelos moradores locais. Os Pimelodidae são peixes exclusivamente de água doce, ocorrendo na América do Sul e Panamá (Lundberg & Littmann, 2003; Ribeiro & Lucena, 2006). O gênero *Pimelodus* Lacépède, 1803, é composto por cerca de 24 espécies válidas, sendo 8, incluindo *P. blochii*, da Bacia Amazônica (Ribeiro & Lucena, 2006).

Esta primeira pesquisa helmintológica em *P. blochii* dos rios Acre e Xapuri, no Noroeste do Brasil, revelou duas espécies de nematódeos attractideos no intestino desses peixes. Neste sentido, o presente trabalho descreve o *Orientattractis* n. sp. e disponibiliza novos dados morfológicos e ultraestruturais de *Rondonia rondoni* Travassos, 1920. Além disso, são apresentadas novas sequências de 18S rDNA e de 28S rDNA com uma análise filogenética baseada nas novas sequências e em sequências parciais de 18S rDNA depositadas no GenBank.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi autorizada pelo Instituto Chico Mendes para Conservação da Biodiversidade (ICM Bio Nº 43450–1) de acordo com as diretrizes do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Espécimes do bagre *P. blochii*, coletados entre novembro de 2013 e abril de 2014 por pescadores locais operando no rio Acre (n = 120) (10°39'40"S, 68°30'19"O) e rio Xapuri (n = 120) (10°38'20"S, 68°32'08"O), foram transferidos frescos para o laboratório. *Pimelodus blochii* do rio Acre mediram 8,8–25,7 (18,58 ± 2,12) cm de comprimento e os do rio Xapuri 13,7–23,2 (18,75 ± 1, 41) cm. Os órgãos foram separados em placas de Petri contendo soro fisiológico 0,7% e examinados sob um estereomicroscópio. Os dados de prevalência e intensidade seguem Bush et al. (1997). Os nematódeos coletados foram lavados em NaCl 0,7% e depois fixados em álcool 70% ou solução de formaldeído 4% aquecida. Para a microscopia de luz, os nematódeos foram clarificados em glicerina. Os desenhos foram feitos com auxílio de câmara clara Leica. Após o exame, os espécimes foram armazenados em etanol a 70%. As medidas são apresentadas em micrômetros com a média entre parênteses, salvo indicação em contrário. Os espécimes foram depositados na Coleção Helminológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC), Rio de Janeiro, Brasil.

Para a microscopia eletrônica de varredura (MEV), os espécimes foram pós-fixados por 24 h a temperatura ambiente em uma solução de tetróxido de ósmio 1% e ferrocianeto de potássio 0,8%, desidratados em série alcoólica, levados ao ponto crítico e revestidos com ouro. As amostras foram examinadas utilizando o microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-6390 LV, da Plataforma de Microscopia Eletrônica do Instituto Oswaldo Cruz, a uma voltagem de 15 kV.

4.2.1 Análise genética

O DNA genômico foi extraído utilizando o QIAamp DNA Mini kit (QIAGEN) de acordo com as instruções do fabricante. A região parcial do 18S rDNA foi amplificada por reação em cadeia da polimerase (PCR) utilizando um novo conjunto de iniciadores desenhados, Atractid_18SF (5'-CGT ATC GTT GCG TGA GAG GTG-3') e Atractid_18SR (5'-AAA GTG TCG AAA CAG CAT TCC-3') e a PCR foi realizada nas seguintes condições: 94°C durante 3 min, seguido por 40 ciclos de 95°C, 30 s,

53,7°C, 30 s, 72°C, 60 s e 72°C durante 5 min. As reações de PCR foram realizadas com volume total de 15 µL contendo 7,5 µL de 2 × GoTaq® Colorless Master Mix (Promega), 0,5 µL Mg²⁺ (concentração 50 mM), 1,5 µL de cada iniciador com concentração final a 0,5 µM, 2,0 µL de amostra de cDNA e água ultrapura para completar. A região parcial abrangendo o 28S rDNA foi amplificada por PCR utilizando os iniciadores C1 (5'-ACCCGCTGAATTTAAGCAT-3') e D2 (5'-TGGTCCGTGTTTCAAGAC-3') (Hassouna et al. 1984, segundo Chisholm et al. 2001) sob as seguintes condições: 95°C durante 5 min, 40 ciclos a 95°C, 60 s, 56,2°C, 45 s, 72 °C, 60 s e 72 °C durante 5 min.

Os produtos de PCR foram visualizados através de electroforese em gel de agarose a 1,5% corado com SYBR green (Invitrogen). Os produtos amplificados da PCR foram purificados com ExoSAP-IT (Affymetrix) seguindo as instruções do fabricante. As reações de sequenciamento foram realizadas utilizando BigDye v.3.1 (Applied Biosystems). O sequenciamento foi realizado num sequenciador ABI Prism 3100 utilizando o mesmo conjunto de iniciadores. As sequências da dupla fita foram geradas, editadas e alinhadas usando o algoritmo CLUSTAL W do pacote MEGA 6.0 (Thompson et al. 1994, Tamura et al. 2011). A comparação para similaridades com sequências de GenBank foi realizada utilizando BLAST 2.0 (Altschul et al. 1990). O modelo de substituição mais adequado ao conjunto parcial de dados do 18S rDNA foi o GTR + I + G selecionado sob o critério de informação de Akaike (AIC) usando MrModelTest 2 com auxílio de PAUP4.0a147 (Nylander, 2004).

As árvores filogenéticas foram construídas usando a Inferência Bayesiana (IB) através do software MrBayes 3.2.6, onde a “Markov chain Monte Carlo” (MCMC) foi ajustada para 2 × 10⁶ gerações, cada 100 árvores foram amostradas e as primeiras 10⁵ gerações foram omitidas da filogenia reconstitutiva; o parâmetro gama e proporção de invariantes (PINVAR) foram estimadas a partir do conjunto de dados (Ronquist & Huelsenbeck, 2003). As árvores restantes foram utilizadas para gerar uma árvore de consenso e para calcular as probabilidades Bayesianas *a posteriori* (Pbp) de todos os ramos usando uma abordagem com consenso de regra maior. A análise de Máxima Verossimilhança (MV) foi construída com PhyML 3.1 e o suporte nodal foi estimado realizando 1000 repetições de bootstrap (Swofford, 2002).

As topologias de árvores foram visualizadas no FigTree 1.4.2 (Rambaut, 2014). Os taxa, para os quais foram utilizadas sequências de GenBank para análise filogenética, foram KR139827 *Spectatus spectatus* Travassos, 1923; U94371 *Cruzia*

americana Maplestone, 1930; DQ503461 *Raillietnema* sp. Travassos, 1927; EF375487 *Labeonema* sp. Puylaert, 1970; DQ118537 *Nemhelix bakeri* Morand & Petter, 1986; LC018444 *Cosmocercoides pulcher* Wilkie, 1930; DQ442679 *R. rondoni* Travassos, 1920; EF375487 *Labeonema synodontisi* Vassiliadès, 1973 e AF036607 *Teratocephalus lirellus* Anderson, 1969 (como grupo externo), além das novas sequências de KX524511 *R. rondoni* e KX524513 *Orientattractis* n. sp.

4.3 RESULTADOS

Um total de 240 espécimes de *P. blochii* foram examinados, 120 do rio Xapuri e 120 do rio Acre. As duas espécies de nematódeos Atractidae encontradas são descritas abaixo.

Cosmocercoidea Railliet, 1916

Atractidae Railliet, 1917

Orientattractis Petter, 1966

Orientattractis n. sp. (Figs 4–6)

Hospedeiro tipo: *P. blochii* Valenciennes 1840.

Local: Intestino.

Prevalência: rio Acre: 13% (16 peixes infectados de 120 examinados). Rio Xapuri: 23% (28 peixes infectados de 120 examinados).

Intensidade de infecção: rio Acre: 1–138 (26); rio Xapuri: 1–273 (29).

Abundância média: rio Acre: 4; rio Xapuri: 7

Localidade tipo: rio Xapuri, Estado do Acre, Brasil.

Outras localidades: rio Acre, Estado do Acre, Brasil.

Material depositado: CHIOC números 38326a (holótipo) e 38326b (alótipo) e 38326c (parátipos).

4.3.1 Dados morfológicos e ultraestruturais de *Orientattractis* n. sp.

Nematódeos pequenos e esbranquiçados. Cutícula com estrias transversais. Extremidade cefálica do corpo arredondada; extremidade posterior do corpo afilada, com cauda muito longa, pontiaguda (Figs 4A, 5A e E). Abertura oral rodeada por 2

anfídeos laterais e 8 papilas dispostas em 2 círculos (Figs 4B, 5B–D). Extremidade cefálica com 6 lábios: 4 lábios submedianos com estruturas bifurcadas (2 subdorsais e 2 subventrais) e estrutura de ponta simples imediatamente posterior a cada um, e 2 lábios laterais com estrutura esclerotizada em forma de U invertido com pontas livres (Figs 4B, 5B–D). Grandes anfídeos laterais estão localizados anteriormente à estrutura em forma de U invertido (Figs 5B e C). Os sulcos dorsal e ventral separam os lados direito e esquerdo da extremidade cefálica (Fig. 5D).

Macho (medidas com base em 10 espécimes adultos). Corpo 2,09–3,13 (2,55) mm de comprimento; largura máxima 95–135 (118). Comprimento total do esôfago 271–386 (362); porção anterior do esôfago (*corpus*) 120–138 (133) de comprimento e 20–30 (26) de largura; parte posterior, incluindo bulbo, 138–253 (230) de comprimento e 50–75 (62) de largura. Anel nervoso e poro excretor 103–200 (155) e 126–208 (162), respectivamente, da extremidade anterior (Figs 5E, G). Deirídeos localizados a 238–333 (279) da extremidade anterior (Figs 5E e F). Cauda afilada, 225–270 (252) de comprimento, fortemente pontuda (Figs 4C, 6A e C). Estrias longitudinais cuticulares observadas lateralmente na extremidade posterior do corpo (Figs 6A e B). Há 10 pares de papilas caudais: 3 pares sub-ventrais, pré-cloacais, 2 pares ad-cloacais (às vezes apenas 1 par é visível) e 5 pares pós-cloacais. As pós-cloacais estão dispostas como: 1 par subventral seguido por 1 par lateral e 1 par subventral; 2 últimos pares (1 subventral e 1 lateral) estão próximos um do outro, no fim do segundo terço do comprimento da cauda (Figs 4C, 6A–D). Espículos desiguais, bem esclerotizados; espículo maior (esquerdo) 161–198 (181) de comprimento; espículo menor (direito) 69–100 (87) de comprimento (Fig. 6A, B e D). Gubernáculo 38–58 (50) de comprimento, com processo lateral anterior (Fig. 4C e D).

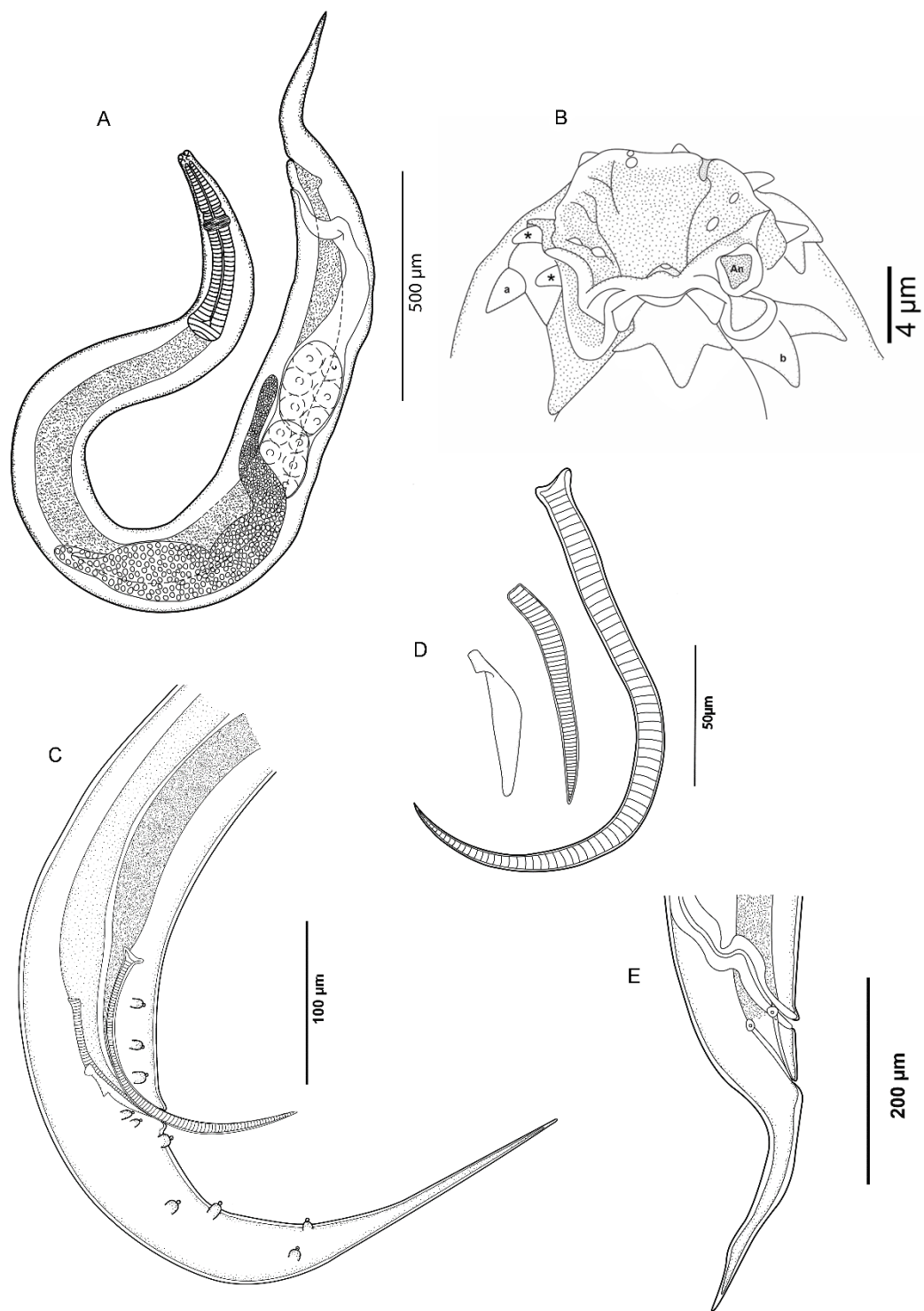


Fig. 4 *Orientatractis* n. sp. (A) Corpo inteiro mostrando esôfago e cauda pontiaguda; (B) extremidade cefálica com quatro lábios submedianos com pontas simples (a) e bifurcadas (asteriscos); Dois lábios laterais em forma de U invertido (b); Anfídeos (An) e pequenas papilas em torno da abertura oral; (C) cauda do macho com espículos, gubernáculo e papilas; (D) detalhe dos espículos e gubernáculo; (E) cauda da fêmea com vulva e abertura anal.

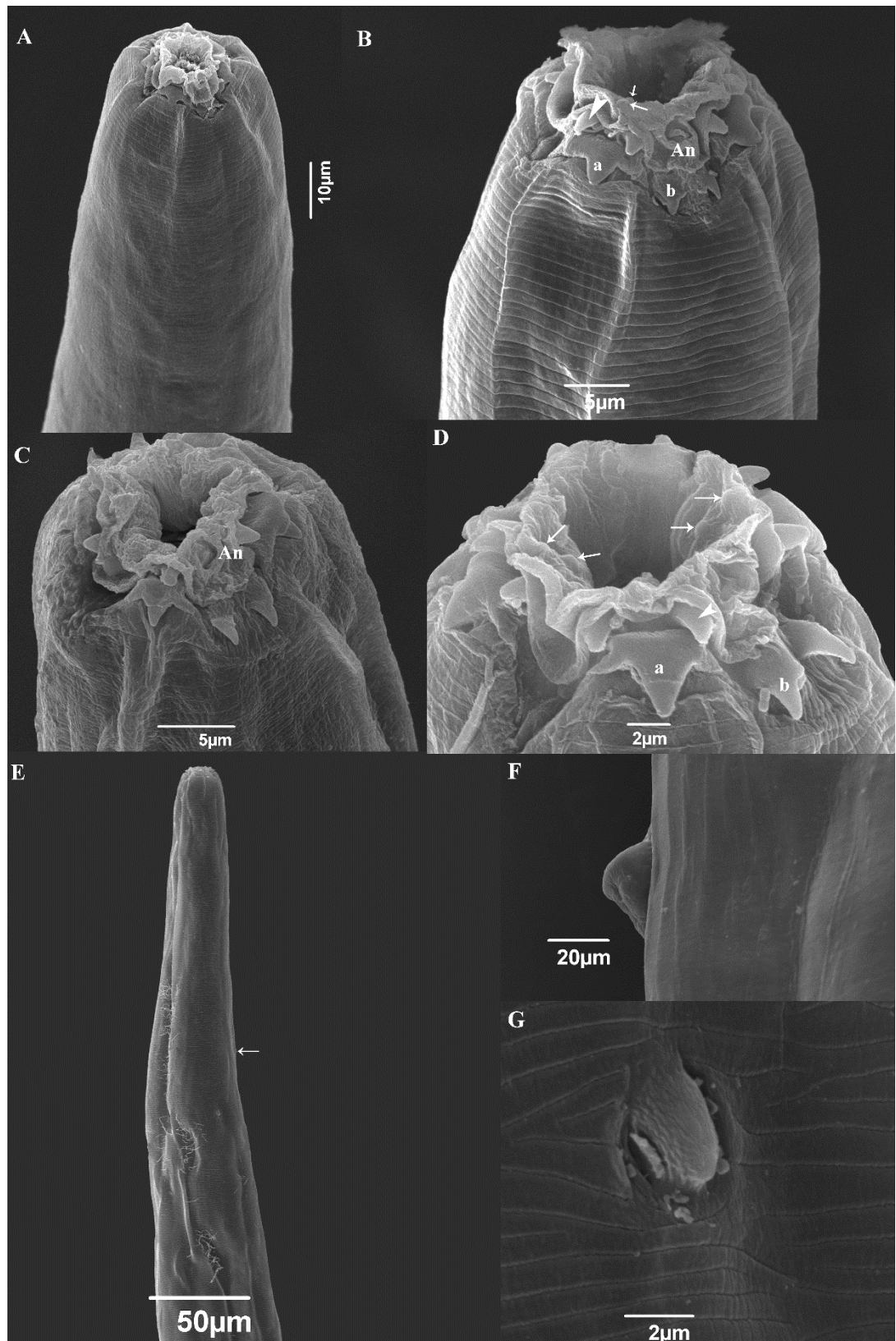


Fig. 5 *Orientatractis* n. sp. - MEV: (A) Região anterior com abertura oral; (B) Extremidade cefálica com lábios submedianos de pontas simples (a) e bifurcadas (cabeça de seta); lábios laterais em forma de U invertido com pontas livres (b), anfídeos (An) e papilas (setas); (C) lábios e anfídeos (An); (D) lábio submediano com pontas bifurcadas (cabeça de seta) e pontas simples (a) e lateral com pontas em U invertido (b); (E) deirídeos (seta); (F,G) detalhe do deirídeo.

Fêmeas (medidas com base em 10 espécimes). Corpo 1,98–2,71 (2,39) mm de comprimento; largura máxima 142–200 (172) (Figs 4A). Comprimento total do esôfago 322–400 (360); porção anterior do esôfago (*corpus*) 101–147 (132); porção posterior do esôfago, incluindo bulbo, 202–253 (231) (Figs 4A). Anel nervoso e poro excretor 115–184 (135) e 138–232 (181), respectivamente, a partir da extremidade anterior. Deirídeos 230–333 (275) da extremidade anterior. Vulva com lábios proeminentes, situada a 57–76 (67) do ânus (Figs 4E, 6E e F). Vagina curta, direcionada anteriormente. O útero monodelfo contém ovos em desenvolvimento com 175–266 (218) de comprimento e 92–142 (117) de largura, além de larvas livres (Fig. 4A). Cauda mede 237–294 (272) de comprimento.

4.3.2 Dados genéticos

Duas novas sequências de *Orientatractis* n. sp. foram obtidas neste estudo e foram depositadas no GenBank sob os números de acesso KX524513 (região 18S do rDNA com 731 pares de bases) e KX524514 (28S rDNA com 734 pares de bases). Em relação à região parcial de 18S rDNA a maior similaridade foi de 97% com *Dirofilaria repens* Railliet & Henry, 1911 (AB973229), com cobertura de 100% e escore máximo de 1229. Para a nova sequência parcial da região 28S rDNA foi encontrada uma maior similaridade de 84% com *C. pulcher* (LCO18444) tendo 79% de cobertura e escore máximo de 571.

Comentários. *Orientatractis* n. sp. é a primeira espécie do gênero referida parasitando peixes na América do Sul. Uma comparação dos dados entre *Orientatractis* n. sp. e as outras espécies do gênero mostra que a nova espécie se diferencia de seus congêneres principalmente por ter: 10 pares de papilas caudais (3 pares pré-cloacais, 2 pares ad-cloacais e 5 pares pós-cloacais); espículos desiguais com 161–198 e 69–100 de comprimento e um gubernáculo com 38–58 de comprimento com um processo lateral anterior.

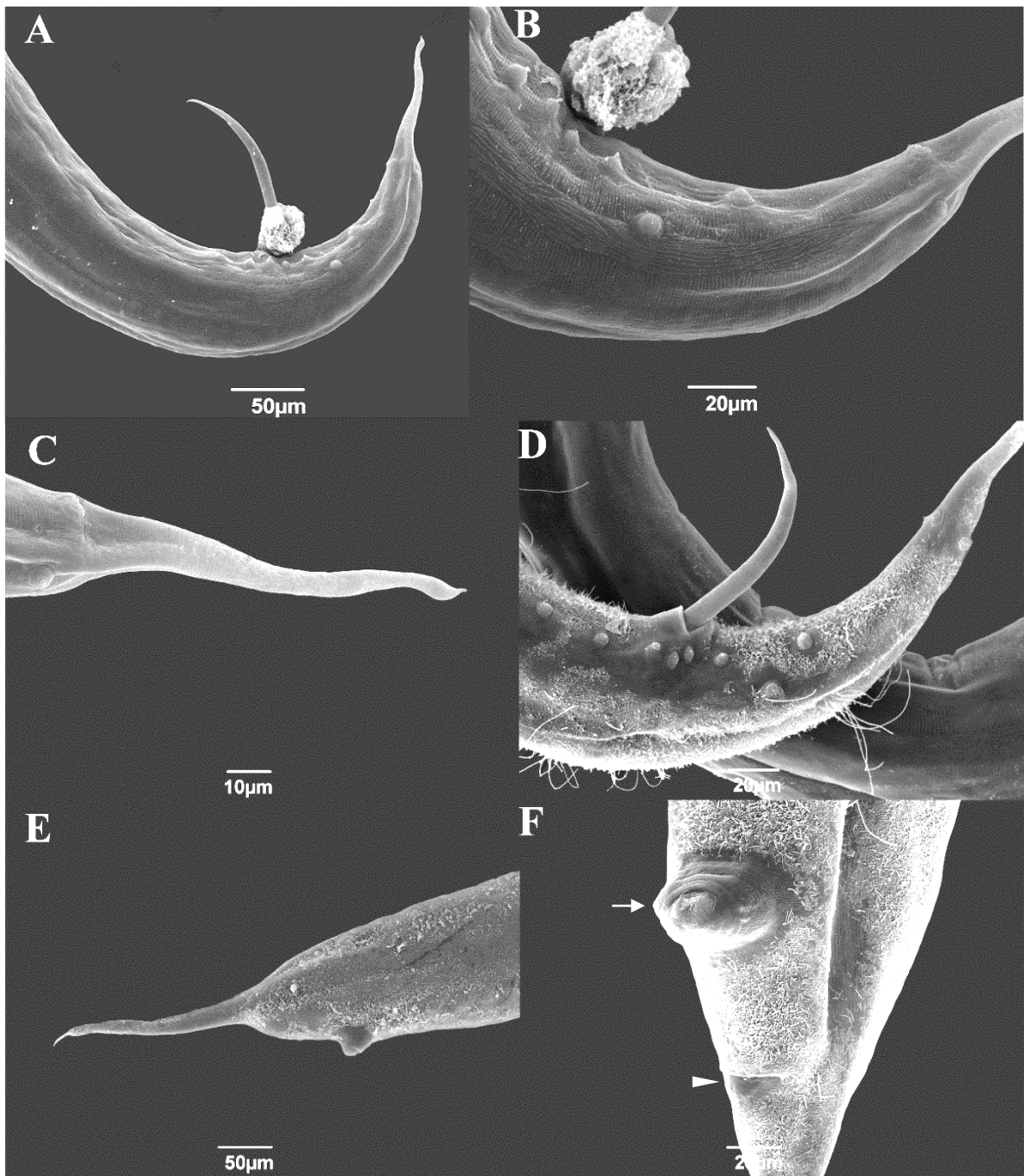


Fig. 6 Microscopia eletrônica de varredura de *Orientattractis* n. sp. (A) vista geral da região posterior do macho mostrando espículo e papilas; (B) detalhe das papilas ad-cloacais e pós-cloacais e estrias cuticulares longitudinais, laterais; (C) detalhe da ponta da cauda do macho; (D) papilas caudais do macho em vista lateral; (E) vista lateral da região posterior da fêmea mostrando vulva protuberante e cauda pontiaguda; (F) detalhe da vulva protuberante (seta) e ânus (cabeça de seta).

Rondonia rondoni Travassos, 1920 (Figs 7–9).

Hospedeiro: *P. blochii* Valenciennes 1840.

Local: Intestino.

Prevalência: rio Acre: 8% (9 infectados/120 examinados); rio Xapuri: 19% (23 infectados/120 examinados).

Intensidade de infecção: rio Acre: 1–20 (6); rio Xapuri: 1–226 (29).

Abundância média: rio Acre: 0,5; rio Xapuri: 6.

Localidade: rios Acre e Xapuri, Estado do Acre, Brasil.

Material depositado: CHIOC n. 38324 (vouchers).

4.3.3 Dados morfológicos e ultraestruturais de *R. rondonia*.

Nematódeos de tamanho médio. Cutícula lisa, estriada transversalmente. Extremidade anterior arredondada. Boca com 3 lábios rudimentares bilobados (1 dorsal e 2 ventrais) com 2 anfídeos e círculos interno e externo, cada um com 4 papilas (Figs 7A, 8A e B).

Machos (medidas com base em 10 espécimes). Corpo medindo de 3,9–4,9 (4,4) mm de comprimento e 165–230 (204) de largura. Esôfago com 555–610 (589) de comprimento total; extremidade anterior forma uma faringe com 13–20 (17) de comprimento; *corpus* esofagiano mede 310–340 (326) de comprimento e 43–68 (54) de largura; parte posterior do esôfago, incluindo bulbo, mede 240–275 (263) de comprimento e 50–105 (63) de largura na parte anterior estreita; bulbo com 88–130 (104) de comprimento e 88–103 (93) de largura. Anel nervoso e poro excretor a 358–457 (406) e 715–1040 (902) respectivamente, da extremidade anterior. Cauda cônica, afilada, medindo 230–325 (278) de comprimento (Figs 7B, 8C e D). Papilas caudais: 4 pares pré-cloacais (3 pares simples e 1 duplo), 2 pares ad-cloacais e 6 pares pós-cloacais (4 pares subventrais e 2 laterais) (Figs 7B, 8D–F). Espículos desiguais e dissimilares; espículo maior mede 150–183 (165) de comprimento; espículo menor com 78–100 (87) de comprimento; gubernáculo simples, 33–40 (36) de comprimento (Figs 7B e C). As observações de MEV demonstraram no terço posterior do corpo duas linhas ventrais paralelas de espinhos minúsculos, terminando próximo da cloaca (Fig. 8C).

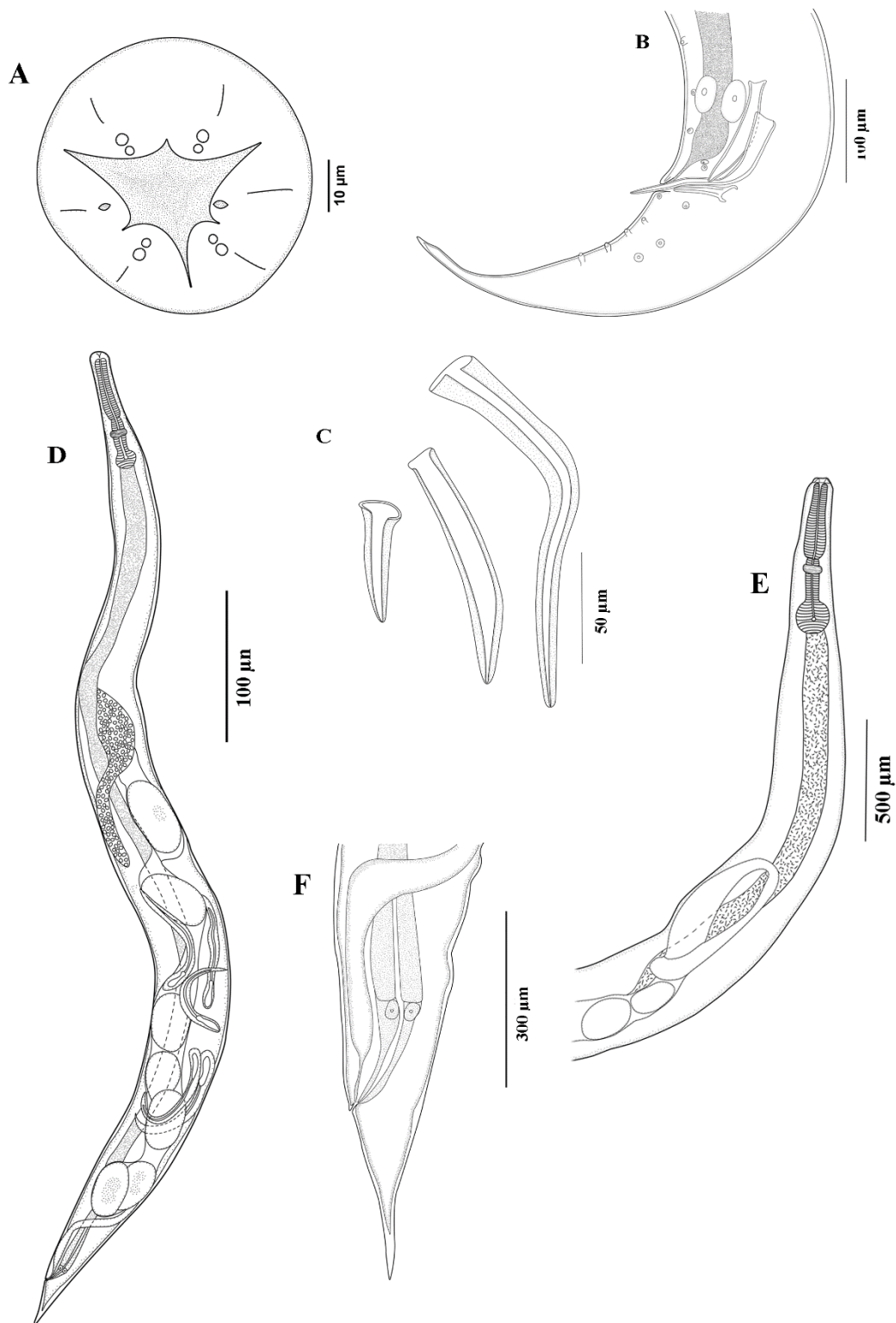


Fig. 7 *Rondonia rondoni*. (A) Três lábios rudimentares bilobados com círculo interno e externo de quatro papilas e dois anfídeos; (B) cauda do macho com espículos, gubernáculo e papilas; (C) detalhe dos espículos e do gubernáculo; (D) corpo da fêmea com esôfago, ovos e larvas; (E) detalhe do esôfago; (F) cauda de fêmea com abertura comum à vulva e ao ânus.

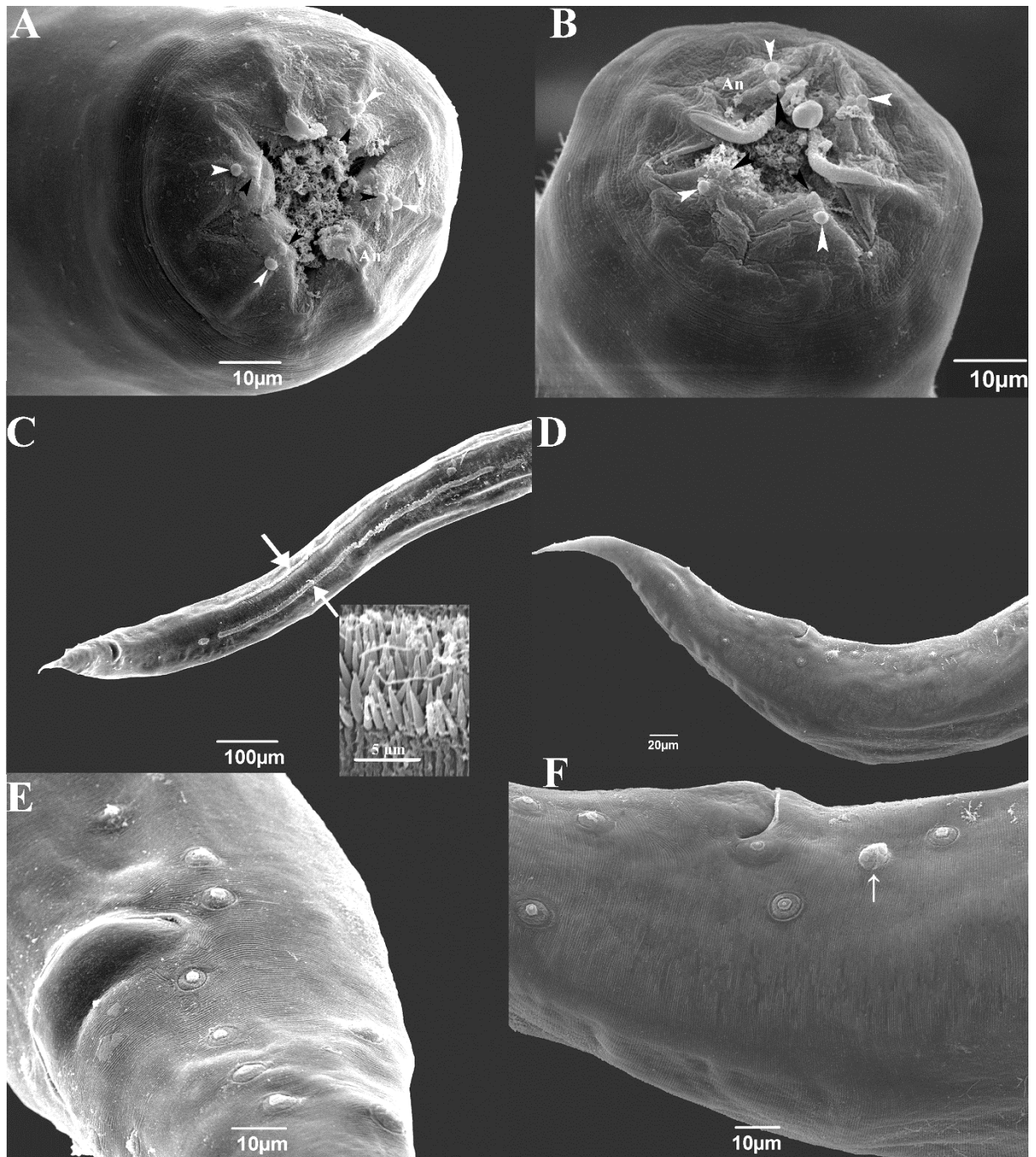


Fig. 8 Microscopia eletrônica de varredura de *Rondonia rondoni*. (A e B) Região anterior mostrando três lábios bilobados, abertura oral, círculo interno (cabeça de seta preta) e externo (cabeça de seta branca) de quatro papilas e anfídeos (An); (C) vista geral da região posterior do macho com cauda pontiaguda e duas bandas sub-laterais paralelas com pequenos espinhos (setas); inserção: detalhe dos pequenos espinhos; (D) cauda do macho com papilas; (E) vista ventro-lateral das papilas; (F) vista lateral da região posterior mostrando papila dupla (seta).

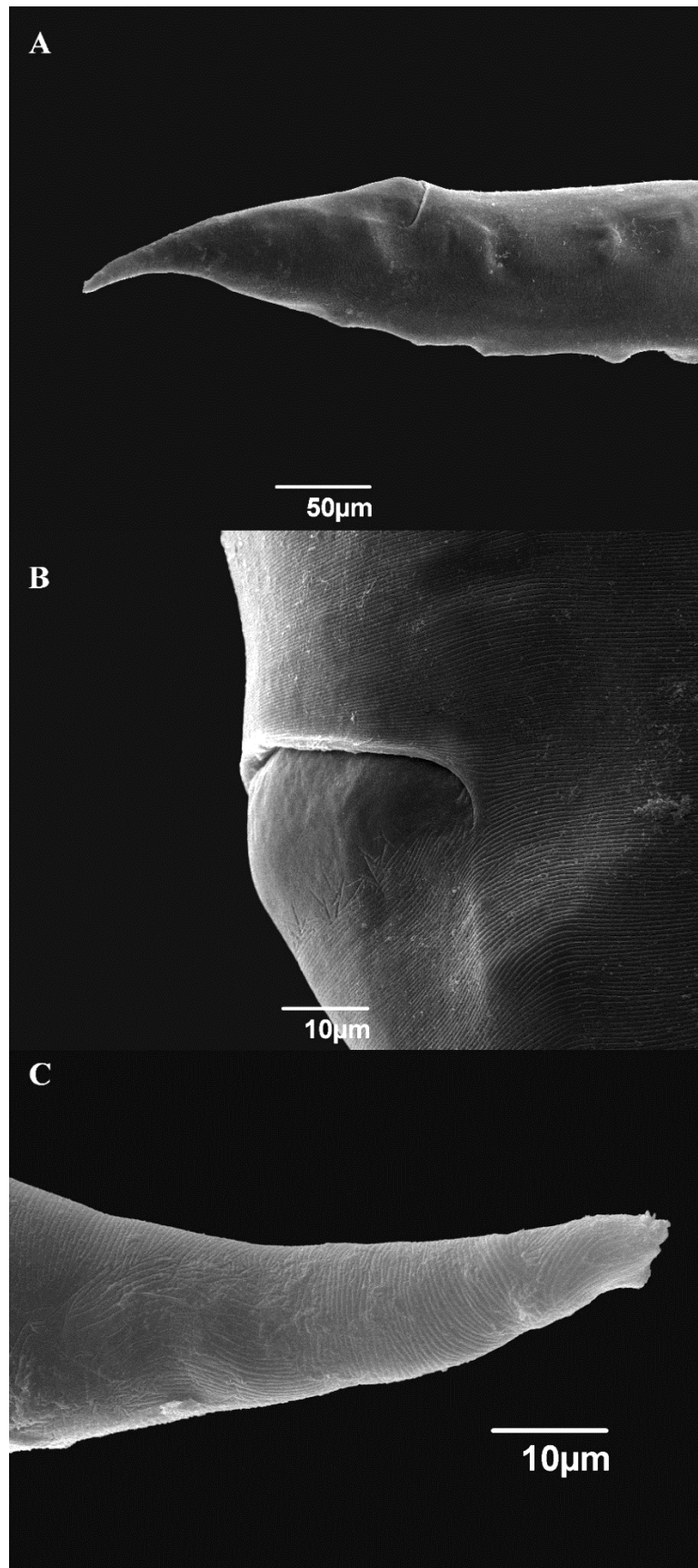


Fig. 9 Microscopia eletrônica de varredura de fêmeas de *Rondonia rondoni*. (A) Região posterior mostrando abertura cloacal; (B) detalhe da abertura cloacal; (C) ponta da cauda com diferentes padrões de estriações cuticulares.

Fêmeas (medidas com base em 10 espécimes). Corpo de fêmeas grávidas com 4,65–7,02 (5,57) mm de comprimento e 330–460 (407) de largura (Fig. 7D). Esófago mede 615–695 (658) de comprimento total; faringe anterior com 13–18 (16) de comprimento; *corpus* esofagiano varia de 345–380 (367) de comprimento e 53–75 (66) de largura; porção posterior, incluindo bulbo, com 270–315 (291) de comprimento e 60–95 (74) de largura na região mais estreita; bulbo mede 108–123 (115) de comprimento e 108–120 (116) de largura (Figs 7D e E). Anel nervoso e poro excretor a 430–470 (450) e 830–1240 (991), respectivamente, da extremidade anterior. Ovário no meio do corpo; o útero contém ovos com 305–435 (364) de comprimento e 185–220 (203) de largura com larvas livres; vagina curta; a vulva abre no reto (Figs 7D–F, 9A e B). Cauda cônica, delgada mede 230–450 (322) de comprimento, com diferentes padrões de estrias cuticulares perto da ponta (Figs 7F e 9C).

4.3.4 Dados genéticos

Uma nova sequência do 28S rDNA de *R. rondoni* obtida neste estudo foi depositada no GenBank sob o número de acesso KX524512 (722 pares de bases). Uma sequência adicional da região do 18S rDNA com 745 pares de bases foi também depositada sob o número de acesso KX524511. Os resultados do BLAST para a nova sequência de 28S rDNA mostrou uma maior similaridade de 86% com *C. americana* (U94757) com cobertura de 55% e escore máximo de 422. O resultado para a sequência parcial do 18S rDNA de *R. rondoni* indicou uma similaridade de 99% com *R. rondoni* (DQ442679), com cobertura de 100% e escore máximo de 1360.

4.3.5 Árvore filogenética de Cosmocercoidea

Nossas sequências parciais do gene 18S rDNA de *R. rondoni* e *Orientattractis* n. sp. foram utilizadas em uma análise filogenética com outras sequências de Cosmocercoidea previamente depositadas no GenBank, com o nematódeo de vida livre *T. lirellus* usado como grupo externo (Fig. 10).

A topologia da árvore incluiu representantes de três famílias: Atractidae, Cosmocercidae e Kathlaniidae. Atractideos, representados pelas sequências de *R.*

rondoni e *Orientattractis* n. sp. compõem um clado com suporte estatístico de 0,88 (Pbp) e 82% (MV).

O clado de Cosmocercidae com *N. bakeri*, *C. pulcher* e *Raillietnema* sp., apresentou suporte estatístico de 0,93 (Pbp) e 68% (MV). *Cruzia americana*, um kathlaniídeo, estava no mesmo clado com os cosmocercídeos (Pbp = 1 e MV = 97%), enquanto outro Kathlaniidae, *S. spectatus*, apareceu em um clado bem separado (Pbp = 1, valor não mostrado em MV). *Labeonema synodontisi*, um attractídeo, aparece perto de *Raillietnema* sp., agrupando com Cosmocercidae (Pbp = 1 e MV = 100%). Consequentemente, Atractidae aparece mais próximo do Cosmocercidae do que de Kathlaniidae (Pbp = 1 e MV = 100%).

4.4 DISCUSSÃO

Orientattractis Petter, 1966 e *Klossinemella* Costa, 1961 são gêneros próximos que diferem no número e na forma das estruturas esclerotizadas que rodeiam a boca. Segundo González-Solís & Moravec (2004), os membros de *Klossinemella* têm 8 estruturas esclerotizadas em forma de Y e 4 pontas simples, enquanto que em *Orientattractis* há 4 peças bifurcadas e 4 de pontas simples. *Orientattractis* n. sp. está incluída neste gênero pela presença de 4 peças bifurcadas e 4 de pontas simples.

Espécies do gênero *Orientattractis* têm sido referidas parasitando peixes, répteis e anuros do México, Tailândia, Vietnã, Costa Rica e Nova Guiné (Petter, 1966; Buckley, 1969; González Solís & Moravec, 2004; Gibbons & Platt, 2006; Bursey et al. 2014; Moravec et al. 2015b). Atualmente, esse gênero compreende as espécies *Orientattractis levanhoai* Petter, 1966, *Orientattractis leiperi* Buckley, 1969, *Orientattractis campechensis* González-Solís & Moravec, 2004, *Orientattractis chiapasensis* González-Solís & Moravec, 2004, *Orientattractis asymmetrica* Gibbons & Platt, 2006, *Orientattractis hamabatrachos* Bursey et al. 2014 e *Orientattractis mekongensis* Moravec et al. 2015b. Apenas três destas espécies parasitam peixes:

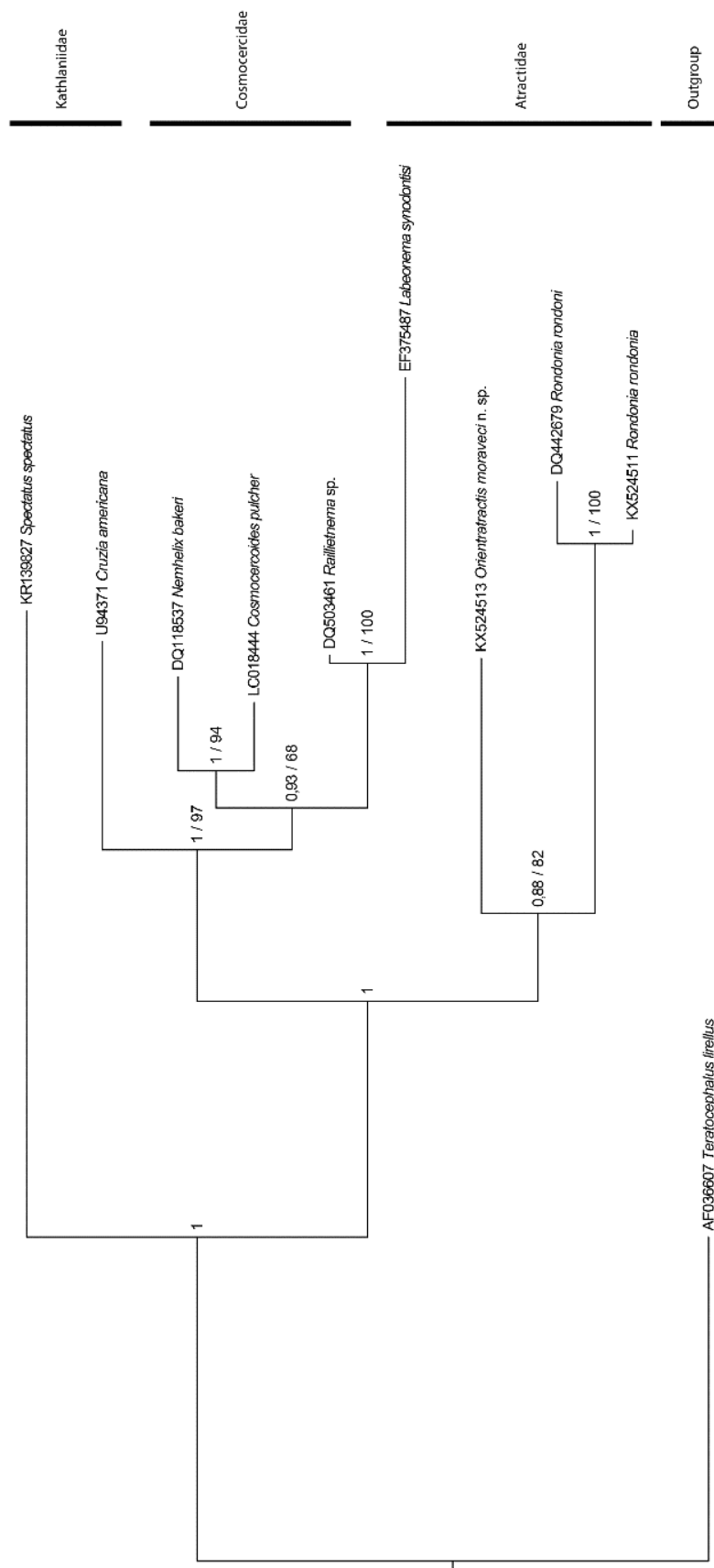


Fig. 10 Árvore filogenética por análise Bayesiana e Máxima Verossimilhança de sequências do gene 18S rDNA de cosmocercoides Atractidae, Cosmocercoidea e Kathliniidae.

O. chiapasensis de *Vieja intermedia* Günther, 1862 e *Tomocichla tuba* Meek, 1912 e *O. campechensis* de *Vieja bifasciata* Steindachner 1864, todos peixes cíclídeos do México e *O. mekongensis* de *Helicophagus leptorhynchus*, um peixe pangasiídeo da Tailândia. *Orientatractis* n. sp. representa o primeiro relato de uma espécie do gênero que parasita um peixe pimelodídeo na América do Sul.

Orientatractis n. sp difere de *O. chiapasensis* principalmente pelo tamanho do espículo maior (161–198 vs 204–238 μm), distância vulva-ânus (57–76 vs 92–129 μm) e o tamanho das caudas de machos (225–270 vs 460–505 μm) e fêmeas (237–294 vs 380–722 μm). Também se diferencia de *O. campechensis* no tamanho de espículo maior (161–198 vs 430–506 μm), distância vulva-ânus (57–76 vs 76–106 μm) e o tamanho das caudas dos machos (225–270 vs 608–722 μm) e fêmeas (237–294 vs 866–1246 μm). Em comparação com estas espécies, o número de papilas pós-cloacais também é diferente (5 pares vs 4 pares). No caso de *O. mekongensis*, além do hospedeiro e da considerável separação geográfica, as diferenças incluíram o comprimento do corpo dos machos (2099–3135 vs 5350–6660 μm) e fêmeas (1985–2710 vs 7750–8950 μm), o tamanho do espículo maior (161–198 vs 306–384 μm), distância vulva-ânus (57–76 vs 108–150 μm) e o tamanho da cauda dos machos (225–270 vs 435–680 μm) e das fêmeas (237–294 vs 952–1074 μm).

Orientatractis n. sp. difere de *O. hamabatrachos*, um parasito de anfíbio da Nova Guiné, principalmente pela distância vulva-ânus (57–76 vs 102–153 μm) e o tamanho da cauda dos machos (225–270 vs 306–408 μm) e fêmeas (237–294 vs 510–612 μm). As espécies que parasitam os répteis incluem *O. asymmetrica* da Costa Rica, que difere no comprimento do corpo dos machos (2099–3135 vs 4050–4290 μm) e das fêmeas (1985–2710 vs 3740–5500 μm), a distância vulva-ânus (57–76 vs 100–112 μm) e o tamanho da cauda dos machos (225–270 vs 836–952 μm) e das fêmeas (237–294 vs 820–1080 μm). O outro parasito de réptil, *O. levanhoai*, pode ser diferenciado principalmente pelo comprimento do corpo dos machos (2099–3135 vs 3300 μm) e das fêmeas (1985–2710 vs 3400 μm) e pelo tamanho da cauda dos machos (225–270 vs 800 μm) e fêmeas (237–294 vs 1000 μm). O número de papilas caudais masculinas referidas nas espécies de anfíbios e répteis também foi diferente.

Rondonia rondonia foi brevemente descrita por Travassos (1920), com dados mais detalhados sendo fornecidos alguns anos mais tarde (Travassos et al. 1928). Posteriormente, apenas duas espécies nominais adicionais foram atribuídas ao

gênero, *Rondonia lophii* Gállego-Berenguer, 1947, um parasito de peixe da Espanha baseado apenas em espécimes fêmeas e *Rondonia batrachogena* Bursey et al. 2014, de anfíbios da Nova Guiné. *Rondonia rondoni* tem sido referida de peixes variados, como espécies de Characidae, Mulidae, Douradidae e Pimelodidae, em diferentes bacias hidrográficas, como a do Paraguai, Paraná, Amazonas e São Francisco (Gállego-Berenger, 1947; Costa, 1963; Moravec et al. 1992). Apesar de vários estudos anteriores, nossas análises de MEV permitiram detectar um par de papilas duplas na região pré-cloacal. Travassos et al. (1928), quando descreveram *R. rondoni*, referiram a presença de duas projeções quitinosas paralelas na região pré-cloacal do macho, homólogas às observadas em espécies de *Cosmocerca* Diesing, 1861. Essas estruturas, vistas pela primeira vez usando o MEV, são compostas de fileiras de espinhos minúsculos direcionados posteriormente.

Os dois nematódeos de *P. blochii* estudados dos rios Acre e Xapuri apresentaram diferenças em termos de seus índices ecológicos (prevalência, intensidade e abundância). *Orientattractis* n. sp. do rio Xapuri apresentou maior prevalência (13,33 vs 23,33%), intensidade média (26,31 vs 29,18) e abundância média (3,51 vs 6,08). O mesmo resultado foi obtido para *R. rondoni*, com diferenças especialmente maiores na prevalência (7,5 vs 19,17%), intensidade média (6 vs 29,22) e abundância média (0,45 vs 5,6). Estes dados mostraram que *Orientattractis* n. sp. e *R. rondoni* compartilham o mesmo hospedeiro, local e distribuição geográfica, com índices ecológicos mais elevados no rio Xapuri, que é um pequeno afluente do rio Acre.

Em geral, nossa reconstrução filogenética da região 18S rDNA exibiu dados consistentes, com alto suporte estatístico para os membros representativos estudados de Cosmocercoidea. Espécies desta superfamília são capazes de parasitar uma variedade de grupos de hospedeiros como peixes de água doce (*S. spectatus*, *Orientattractis* n. sp. e *R. rondoni*), mamíferos (*C. americana*), anfíbios (*Raillietnema* sp.) e moluscos terrestres (*N. bakeri*). Nossas sequências de *R. rondoni* e *Orientattractis* n. sp., juntamente com uma sequência de *R. rondoni* previamente depositada no GenBank, agruparam com o clado dos Atractidae com suporte estatístico moderado. Uma análise adicional usando um maior número de espécies de attractídeos poderá oferecer um suporte filogenético mais robusto.

A nova sequência de *Orientattractis* n. sp. confirma a posição desta espécie dentro de Atractidae, com Cosmocercidae como um grupo irmão e Kathlaniidae

como grupo basal. No entanto, Pereira et al. (2015) referiram que *C. americana* agrupou dentro de Cosmocercidae, e a posição inconsistente desta espécie também foi apontada por Nadler et al. (2007) ao analisar a mesma região do gene 18S rDNA. *Raillietnema* sp., *C. pulcher* e *N. bakeri* agruparam dentro do Cosmocercidae com alto suporte Pbp (0,93), mas muito menor para a análise de bootstrap (68%).

A posição de *Labeonema synodontisi* (= EF375487 *Labeonema* sp. do GenBank) coletada do peixe africano *Synodontis ocellifer* também é inconsistente. Koubkova et al. (2008) propuseram esta nova combinação para esta espécie, anteriormente descrita como *Raillietnema synodontisi* Vassiliadès, 1973. No entanto, Moravec & Van As (2004) apontaram que *R. synodontisi* difere de *Labeonema* spp. pela presença de dois ovários ao invés de um, e suas larvas não eclodem no útero. Pereira et al. (2015) também utilizaram esta sequência de *Labeonema* em uma análise filogenética de Cosmocercidae, considerando-a muito semelhante ao gênero de cosmocercídeo *Raillietnema* Travassos, 1927. Em nossa análise, *L. synodontisi* também agrupou com *Raillietnema* sp. com forte suporte estatístico, utilizando nossas novas sequências e outras existentes de atractídeos. Portanto, ambos os estudos moleculares (presente estudo e Pereira et al. 2015) e morfológicos (Moravec & Van As, 2004) sugerem que *L. synodontisi* deva retornar ao seu gênero original como *R. synodontisi*.

A descrição de *Orientattractis* n. sp. representa a primeira ocorrência de um membro deste gênero em peixes da América do Sul e *R. rondoni* é referido pela primeira vez parasitando este mesmo hospedeiro dos rios Acre e Xapuri. Novos dados ultraestruturais e moleculares dessas espécies ajudarão as futuras análises filogenéticas de Cosmocercidae. Os dados moleculares e estudos morfológicos anteriores de *L. synodontisi* indicam que ele deva retornar ao gênero *Raillietnema*.

5. CAPÍTULO 2

O nematoda philometrideo *Philometroides* n. sp. (Nematoda: Philometridae) da parede do estômago do *Pimelodus blochii* do noroeste do Brasil

Artigo Publicado:

Cavalcante PHO, Moravec F, Santos CP. The philometrid nematode *Philometroides acreanensis* n. sp. from the stomach wall of the catfish *Pimelodus blochii* in north-western Brazil. *J Helminthol.* 2017; 1–7. Available online at <https://www.cambridge.org/core/terms>. <https://doi.org/10.1017/S0022149X1700013X>. (ANEXO 2).

5.1 INTRODUÇÃO

Nematódeos da família Philometridae representam um grupo de cerca de 200 espécies que parasitam a cavidade do corpo e vários tecidos dos peixes (Moravec & Barton, 2016). Devido as peculiaridades morfológicas e biológicas (Moravec, 2006; Moravec & de Buron, 2013), a maioria deles são conhecidos apenas por suas grandes fêmeas. Rasheed (1963) criou um sistema taxonômico para os Philometridae baseado principalmente na morfologia das fêmeas, que foi seguido nas monografias de Ivashkin et al. (1971) e Chabaud (1975) e tornou-se a base para o presente sistema de classificação de dracunculóides proposto por Moravec (2006).

Dados sobre nematódeos da família Philometridae parasitando peixes neotropicais de água doce são escassos, incluindo 12 espécies pertencentes aos gêneros *Alinema* Rasheed, 1963, *Neophilometroides* Moravec, Salgado-Maldonado & Aguilar-Aguilar, 2002, *Nilonema* Khalil, 1960, *Philometra* Costa, 1845, *Philometroides* Yamaguti, 1935 e *Rumai* Travassos 1960, parasitos de peixes characiformes, perciformes, osteoglossiformes, siluriformes e synbranchiformes (Moravec & de Buron, 2013; Moravec & Diggles, 2015). Nove dessas espécies, pertencentes a todos os gêneros acima mencionados foram descritas na América do Sul e referidas no Brasil, exceto por *Neophilometroides paraguayensis* (Petter, 1995) do caracídeo *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816) do Paraguai (Petter, 1995). São elas: *Alinema amazonicum* (Travassos, 1960) e *Philometra baylisi* Vaz & Pereira, 1934 de bagres pimelodídeos (Vaz & Pereira, 1934; Travassos, 1960; Inglis & Ogden, 1964), *P. nattereri* Cárdenas, Moravec, Fernandes & Morais, 2012 do serrasalmídeo *Pygocentrus nattereri* Kner, 1858 (Cárdenas et al. 2012), *P. fariaslimai* Fortes, 1981 [*species inquirenda*] de bagre ariídeo (Fortes, 1981; Moravec, 2006), *Philometroides maplestoni* (Travassos, Artigas & Pereira, 1928) do caracídeo *Salminus hilarii* Valenciennes, 1849 (Travassos et al. 1928), *Nilonema senticosum* (Baylis, 1927) e *Rumai rumai* Travassos, 1960 do arapaimatídeo *Arapaima gigas* (Schinz, 1822) (Baylis, 1927; Travassos, 1960; Santos & Moravec, 2009) e *Philometra mirabilis* Moravec & Diggles, 2015 do ciclídeo *Cichla miriana* Kullander & Ferreira, 2006 (Moravec & Diggles, 2015).

Durante recentes pesquisas parasitológicas de peixes do rio Acre (bacia do Rio Amazonas), Estado do Acre, noroeste do Brasil, nematódeos philometrideos

foram coletados da parede do estômago de bagre *Pimelodus blochii* Valenciennes (Pimelodidae).

Pimelodus blochii (comprimento máximo do corpo de 35 cm) é um peixe tropical de água doce e de água salobra comumente encontrados em grandes rios de águas calmas na América do Sul no Golfo de Paria, Amazonas, Corantijn, Essequibo e nas bacias do Orinoco (Froese & Pauly, 2016). O *P.blochii* é uma das oito espécies de *Pimelodus* Lacépède que ocorrem no sistema de drenagem do Rio Amazonas. Esta é uma espécie altamente apreciada e uma das mais consumidas na região, considerada pelos habitantes locais como um peixe saboroso e barato (Padovani et al. 1996; Boujard, 1997; Ribeiro & Lucena, 2006).

Os parasitos coletados representam uma nova espécie de *Philometroides*, que é aqui descrita. Uma chave dicotômica é proposta com o objetivo facilitar a identificação de *Philometroides* das Americas.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

Um total de 120 espécimes do bagre *P. blochii* foram capturados entre novembro de 2013 e abril de 2014 por um pescador local no rio Acre (10°39'40.33"S, 68°30' 19.51"O).

Após as necropsias, um peixe estava infectado com dois nematódeos sendo fêmeas grávidas, uma das quais foi fixada em etanol a 70% e a outra em formalina a 4%. Os espécimes foram clarificados em glicerina. As medidas são dadas em micrômetros, salvo quando indicado o contrário. Desenhos foram feitos com auxílio de câmara clara Leica.

As partes anterior e posterior do corpo foram pós-fixadas durante 24 h à temperatura ambiente em tetróxido de ósmio a 1% em tampão de cacodilato, desidratadas através de uma série alcoólica, secas no ponto crítico e revestidas com ouro para análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV). As amostras foram examinadas utilizando um microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-6390 LV da Plataforma de Microscopia Eletrônica do Instituto Oswaldo Cruz, a uma voltagem de 15 kV.

Os espécimes foram depositados na Coleção Helminológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC), Rio de Janeiro, Brasil. A nomenclatura dos peixes adotada seguiu o FishBase (Froese & Pauly, 2016).

5.3 RESULTADOS

Família Philometridae Baylis et Daubney, 1926

Philometroides n. sp.

São dadas medidas do holótipo da fêmea grávida e as do parátipo (entre parênteses). Nematódeos grandes e esbranquiçados; extremidade posterior marcadamente afilada, em forma de cone (Figs 11C, D e 12C, D). Cutícula com protuberâncias irregularmente distribuídas ao longo do corpo; protuberâncias circulares ou transversalmente ovais em vista apical (Figs 11A e 12A-D). As protuberâncias iniciam anteriormente ao nível do meio do comprimento do esôfago e terminam próximo à extremidade posterior do corpo (Figs 11A, C, D e 12A, D).

Corpo medindo 240 (280) mm de comprimento e 750 (875) de largura. Abertura oral circular, rodeada por quatro pares submedianos de pequenas papilas cefálicas (Fig. 11B). Esôfago com 1,25 (–) mm de comprimento e 550 (–) de largura, sem usual dilatação na extremidade anterior (Fig. 11A). Glândula esofágica com 330 de comprimento, começando na metade do comprimento do esôfago e estendendo-se posteriormente até o fim do esôfago. Pequeno ventrículo presente, abrindo-se dentro do intestino através de uma válvula. Anel nervoso não localizado. Intestino estreito em sua extremidade anterior; extremidade posterior do intestino atrofiada, presa por um curto ligamento à parede do corpo perto da extremidade posterior (Figs 11C, D). Ovários estreitos, longos, situados próximos das extremidades anterior e posterior do corpo (Fig. 11A). Vulva e vagina ausentes; em vez disso, um ponto de ruptura na cutícula com larvas emergentes foi observado próximo da extremidade anterior, de um lado do corpo (Fig. 12E). O útero ocupa a maior parte do corpo, repleto de numerosas larvas de primeiro estágio com 300–330 de comprimento e 15–20 de largura com esôfago medindo 50–55 de comprimento (Figs 11A, E e 12E, F). Macho não conhecido.

Hospedeiro tipo: *Pimelodus blochii* Valenciennes (Siluriformes: Pimelodidae).

Sítio: parede do estômago.

Localidade tipo: rio Acre (bacia do rio Amazonas), Estado do Acre, Brasil.

Prevalência e intensidade: 0,8% (1 peixe infectado / 120 peixes examinados); 2 nematódeos.

Depósito de espécimes: CHIOC números 38325a–b.

5.4 DISCUSSÃO

A morfologia geral, especialmente a ocorrência de protuberâncias cuticulares irregularmente dispersas na superfície do corpo, sugerem que estes espécimes pertencem ao gênero *Philometroides* (Rasheed, 1963; Moravec, 2006). Atualmente, este gênero inclui 35 espécies (Moravec & de Buron, 2013; Moravec et al. 2015a; Montes et al. 2016; Moravec & Barton, 2016), que são parasitos teciduais de peixes marinhos (12 espécies), de água salobra (3 espécies) e de água doce (20 espécies). A maioria delas foi descrita apenas de fêmeas, enquanto os machos coespecíficos são conhecidos para oito espécies. Como outros philometrideos, *Philometroides* spp. são conhecidos por exibirem um grau relativamente elevado de especificidade com o hospedeiro, e as espécies são caracterizadas, além da morfologia e dados de sequências moleculares, pela localização de fêmeas grávidas no hospedeiro (Moravec, 2006; Moravec & de Buron, 2013).

Das 20 espécies de *Philometroides* parasitos de peixes de água doce, *P. maplestoni* Travassos, 1928, da cavidade abdominal do peixe characiforme *Salminus hilarii* Valenciennes, 1849, da bacia do Rio Paraná é a única referida na região Neotropical (Brasil) (Travassos et al. 1928, Luque et al. 2011). Uma outra espécie de *Philometroides*, *P. tahieli* Montes, Plaul & Martorelli, 2016, foi recentemente descrita a partir do opérculo de juvenis da corvina *Micropogonias furnieri* Desmarest, 1823, (Sciaenidae, Perciformes) em águas estuarinas da Argentina (Montes et al. 2016).

A descrição original de *P. maplestoni* é inadequada, mas pode ser diferenciada de *Philometroides* n. sp. pelo comprimento do corpo da fêmea grávida (144 mm vs 240 mm), ausência de protuberâncias cuticulares (como aparece nos desenhos) na altura do esôfago e na extremidade caudal (vs protuberâncias presentes tanto na região esofágica quanto na extremidade caudal), por um esôfago muito mais curto (710 vs 1250) e ovário anterior alcançando a extremidade posterior do esôfago (vs quase atingindo a extremidade anterior do esôfago).

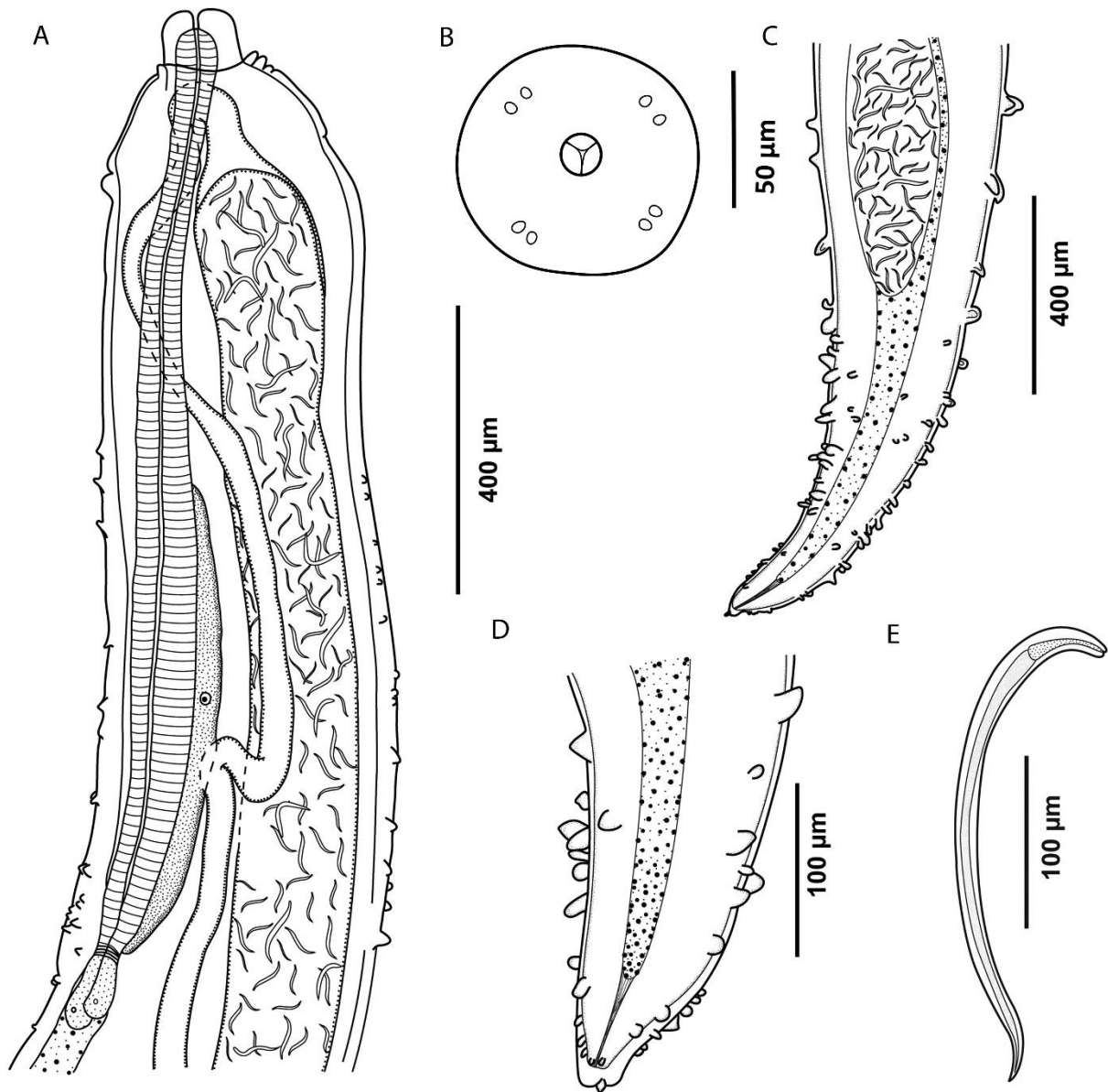


Fig. 11 Fêmea grávida de *Philometroides* n. sp., mostrando: (A) extremidade anterior, vista dorsal; (B) reconstrução esquemática da extremidade anterior, vista apical; (C) extremidade posterior, vista ventral; (D) região caudal, vista lateral; e (E) larva do útero, vista lateral.

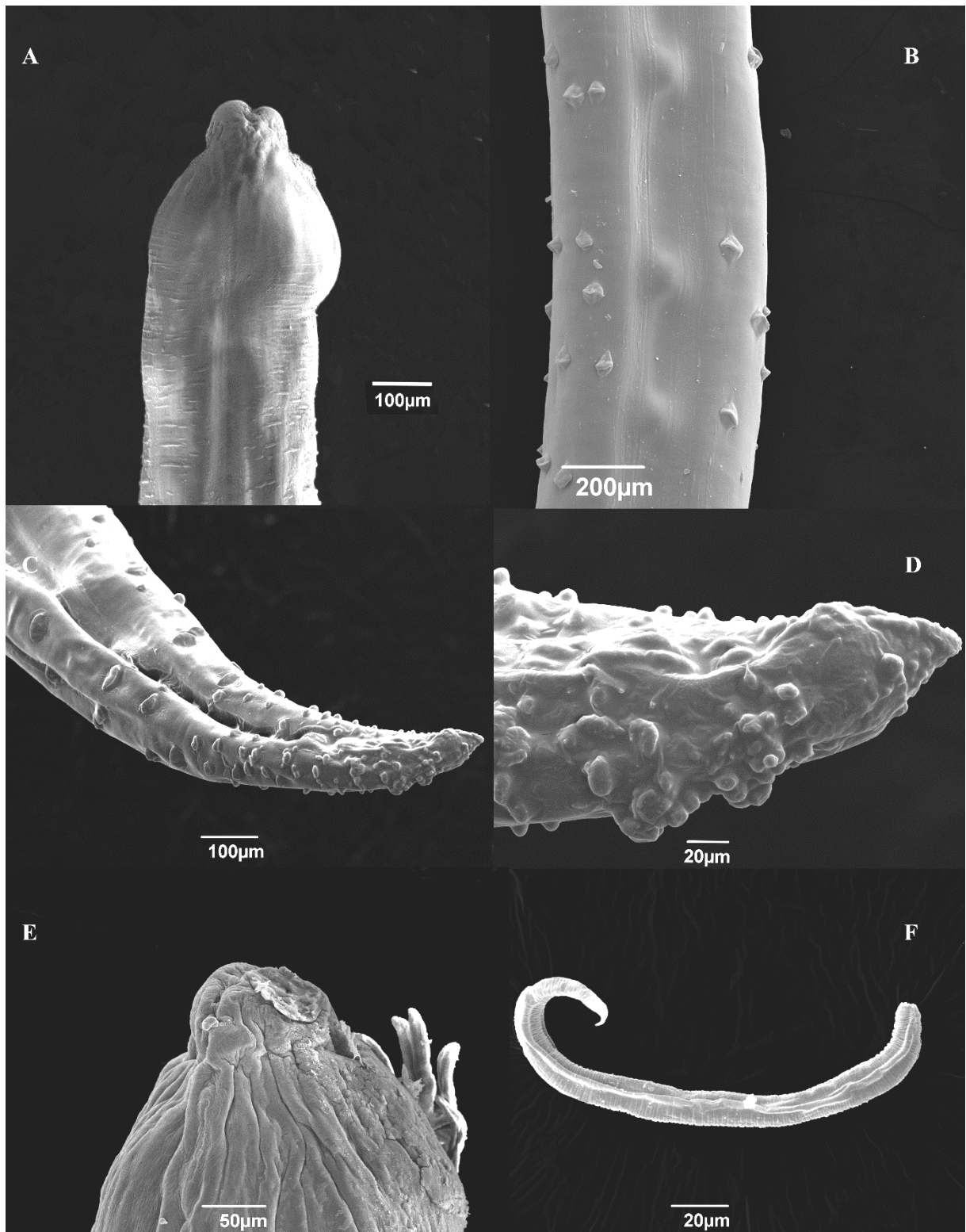


Fig. 12 Microscopia eletrônica de varredura de fêmea grávida de *Philometroides* n. sp. mostrando: (A) extremidade anterior com projeções cuticulares; (B) região mediana com protuberâncias cuticulares; (C) região caudal, visão ventro-lateral; (D) protuberâncias cuticulares sobre a extremidade caudal, vista lateral; (E) região apical com larvas emergindo; e (F) fase larval do útero.

A fêmea grávida de *P. tahieli* é muito mais curta que a da nova espécie (29,8–31,4 mm vs 240–280 mm), o comprimento do esôfago representa 38–42% (vs 0,5%) do comprimento do corpo e sua extremidade caudal não é conicamente afilada como em *P. maplestoni* e *Philometroides* n. sp. A nova espécie também difere de *P. maplestoni* e *P. tahieli* pelo local de infecção no hospedeiro (parede do estômago vs cavidade abdominal ou opérculo), pela ordem do peixe hospedeiro (Siluriformes vs Characiformes e Perciformes) e na distribuição geográfica (bacia do rio Amazonas vs bacia do rio Paraná e estuários na Argentina). *Philometroides* n. sp. pode ser diferenciada do restante dos *Philometroides* spp. parasitando peixes de água doce ou de água salobra em outros continentes, ou em peixes marinhos, por uma combinação de características morfológicas e biométricas.

Como mencionado por Moravec & Barton (2016), a parede do estômago como local de infecção de fêmeas grávidas, encontrado em *Philometroides* n. sp., é bastante incomum para philometrideos. Das cerca de 200 espécies de philometrideos reconhecidas, esse local no hospedeiro foi previamente referido apenas para *Philometra ivaschkini* Parukhin, 1976, *Philometroides atropi* (Parukhin, 1966) [provavelmente mal identificada] e *P. stomachicus* Moravec & Barton, 2016, todos parasitos de peixes marinhos (Parukhin 1971, 1976; Moravec & Barton, 2016). *Philometroides* n. sp. é a primeira espécie conhecida de philometrideo com esta localização em peixe de água doce. Além disso, o comprimento do corpo da fêmea grávida de *Philometroides* n. sp. é notavelmente maior que o de *P. atropi* e *P. stomachicus* (240–280 mm vs 19,5–36,0 mm e 85–90 mm, respectivamente), as protuberâncias cuticulares da nova espécie começa na metade do esôfago (vs a porção esofágica do corpo sem protuberâncias cuticulares em *P. atropi* e *P. stomachicus*) e as protuberâncias próximas da extremidade caudal são grandes, na maioria das vezes transversalmente ovais em vista apical (vs protuberâncias na extremidade caudal bastante pequenas e circulares em vista apical em *P. atropi* e *P. stomachicus*).

Deve-se mencionar que as larvas de *Philometroides* n. sp. foram observadas saindo do corpo da fêmea grávida somente via pequeno ponto rompido da cutícula do corpo localizado a uma curta distância da extremidade antero-lateral do corpo (Fig. 12E). O mesmo foi observado nas fêmeas grávidas de *Philometra gracilis* Moravec & Barton, 2016, um parasito de tecidos atrás das brânquias do peixe marinho *Lutjanus johnii* (Bloch) da Austrália (Moravec & Barton, 2016), no qual o

pequeno ponto da cutícula rompida sempre foi encontrado ao nível do meio do esôfago em um lado do corpo (não publicado). O mesmo achado foi ilustrado anteriormente por Thomas (1929) para *Philometroides nodulosus* (Thomas, 1929) do tecido subcutâneo de catostomídeos na América do Norte e também foi observado em *P. paralichthydis* Moravec & de Buron, 2006 a partir do tecido subcutâneo do peixe linguado estuarino *Paralichthys lethostigma* (Jordan & Gilbert, 1884) nos EUA (comunicação pessoal de I. de Buron). Uma vez que geralmente as fêmeas grávidas de philometrideos não têm vulva, aparentemente algumas adaptações associadas com a localização do parasito no hospedeiro desenvolveram-se em algumas espécies, como a liberação de suas larvas pelo ponto localizado próximo à extremidade anterior do nematódeo, onde a cutícula se rompe.

Até o momento, dez espécies nominais de *Philometroides* foram referidas em peixes de água doce, de água salobra e peixes marinhos em águas da América do Norte e do Sul: *P. aphanonaris* Moravec, Crosby, de Buron, González-Solís e Roumillat, 2008, *P. grandipapillatus* Moravec & Bakenhaster, 2010, *P. huronensis* Uhazy, 1976, *P. maplestoni* (Travassos, Artigas et Pereira, 1928), *P. marinus* Moravec & de Buron, 2009, *P. nodulosus* (Thomas, 1929), *P. paralichthydis* Moravec & de Buron, 2006, *P. sanguineus* (Rudolphi, 1819), *P. tahieli* Montes, Plaul & Martorelli, 2016 e *P. wellborni* Moravec, Crosby, de Buron, González-Solís & Roumillat, 2008 (Hoffman, 1999; Moravec, 2006; Moravec et al. 2008; Moravec & de Buron, 2009; Montes et al. 2016).

Nota: *Philometroides caudata* Moravec, Scholz & Vivas-Rodríguez, 1995 foi posteriormente transferido para o recém-criado gênero *Neophilometroides* Moravec, Salgado-Maldonado e Aguilar-Aguilar, 2002 como *N. caudatus* (Moravec, Scholz & Vivas-Rodríguez, 1995) por Moravec et al. (2002).

Chave para espécies de *Philometroides* que ocorrem em espécies de peixes da América

- 1 Parasitos de peixes marinhos..... 2
- Parasitos de peixes de água doce ou estuarinos..... 3

- 2 Fêmea com oito papilas cefálicas externas marcadamente grandes. Protuberâncias cuticulares transversalmente ovais, distribuídas ao longo do

comprimento do corpo, mas mais freqüentes na sua metade posterior. Projeções caudais ausentes. Corpo da fêmea com 20–45 mm de comprimento. Relação máxima largura/comprimento do corpo 1:38–52. Parasitos em tecido subcutâneo e músculo de Carangidae (*Caranx*) no Golfo do México.....*P. grandipapillatus*
 - Papilas cefálicas externas pequenas, localizadas em pares sobre quatro elevações cefálicas em forma de cúpula. Protuberâncias cuticulares pequenas, circulares, restritas à parte anterior do corpo. Projeções caudais grandes. Fêmea grávida com 550 mm de comprimento. Parasitos de cavidade abdominal de Rachycentridae (*Rachycentron*) no noroeste do Atlântico..... *P. marinus*

3 Parasitos de peixes estuarinos..... 4
 - Parasitos de peixes de água doce.....5

4 Oito papilas cefálicas externas grandes, em forma de cúpula. Ornamentações cuticulares em forma de protuberâncias circulares, elevações circulares ou transversais distribuídas por todo corpo. Projeções caudais ausentes. Grande dilatação esofágica anterior. Corpo da fêmea grávida bem dilatado, 10–29 mm de comprimento; Relação largura máxima/ comprimento 1:11–22. Parasitos de tecidos subcutâneos da boca, cabeça e nadadeiras de Paralicthyidae (*Paralichthys*) em sistemas estuarinos do noroeste do Atlântico (EUA) *P. paralichthydis*
 – Oito papilas cefálicas externas diminutas. Ornamentações cuticulares em forma de protuberâncias circulares e elevações transversais distribuídas ao longo do corpo. Projeções caudais ausentes. Dilatação esofágica anterior moderadamente desenvolvida. Corpo da fêmea grávida arredondado, 30–31 mm comprimento. Parasita o músculo interno do opérculo de Sciaenidae (*Micropogonias*) em águas estuarinas na Argentina *P. tahieli*

5 Parasitos de peixes na América do Norte. Comprimento do corpo da fêmea grávida é no máximo 122 mm. Dilatação esofágica anterior presente. Parasito em tecidos subcutâneos do hospedeiro..... 6
 - Parasitos de peixes na América do Sul. Comprimento do corpo da fêmea grávida é de pelo menos 144 mm. Ausência de dilatação esofágica anterior. Parasito na cavidade abdominal ou no trato digestivo do hospedeiro..... 10

6 Parasitos em Catostomidae.....	7
- Parasitos em Centrarchidae ou Cyprinidae.....	8

7 Fêmea grávida com 35–101 mm de comprimento. As protuberâncias cuticulares cobrem também a extremidade posterior do corpo, formando dois aglomerados ventrolaterais; protuberâncias também presentes nos espaços entre as projeções caudais. Espículos 122–140 µm e 110–134 µm de comprimento, comprimento do gubernáculo 70–82 µm. Fêmeas parasitam nadadeiras Catostomidae (*Catostomus*, *Moxostoma*) no Canadá (Grandes Lagos) *P. huronensis*
- Fêmea grávida de 37–45 mm de comprimento; protuberâncias cuticulares esparsas anteriormente e ausentes na extremidade posterior do corpo. Espículos 143 µm e 152 µm de comprimento, comprimento do gubernáculo 52 µm. Fêmeas parasitam tecidos subcutâneos da cabeça de Catostomidae (*Catostomus*, *Carpioides*) no Canadá e nos EUA *P. nodulosus*

8 Fêmea com três projeções pequenas e afiadas (dentes esofágicos) que protraem da abertura bucal e com numerosas projeções cuticulares densamente distribuídas quase por todo o corpo. Projeções caudais grandes. Comprimento dos espículos quase iguais, 66–84 µm; Gubernáculo medindo 63–70 µm de comprimento, sua ponta distal com pequena rebarba dorsal. Fêmeas parasitam as nadadeiras de ciprinídeos Paleárticos (*Carassius*); referido também de *Carassius auratus* introduzido nos EUA..... *P. sanguineus*
- Fêmea sem dentes esofágicos. Parasitos de Centrarchidae 9

9 Corpo da fêmea com 21–41 mm de comprimento; relação largura máxima/comprimento 1:29–75. Corpo inteiramente coberto por protuberâncias cuticulares bem grandes e circulares, não formando agregações na extremidade caudal; protuberâncias ausentes do espaço entre as grandes projeções caudais. Parasitam a epiderme nas narinas, mandíbula superior perto do vomer ou o lado interno do opérculo de alguns Centrarchidae (*Micropterus*) nos EUA (Alabama, Georgia, Carolina do Sul)..... *P. aphanonaris*
- Corpo da fêmea com 78–122 mm de comprimento; relação largura máxima/comprimento 1:78–121. Protuberâncias cuticulares pequenas, menos numerosas, restritas ao meio do corpo. Projeções caudais muito pequenas.

Parasitam sobretudo a órbita ocular de alguns Centrarchidae (*Lepomis*) nos EUA (Alabama, Georgia, Carolina do Sul) *P. wellborni*

10 Fêmea grávida com 144 mm de comprimento. Protuberâncias cuticulares circulares ausentes da região esofágica do corpo e da extremidade caudal. Parasitam a cavidade abdominal de Characidae (*Salminus*) na bacia do rio Paraná, Brasil..... *P. maplestoni*

- Fêmea grávida com 240 mm de comprimento. Ornamentação cuticular em forma de protuberâncias circulares ou transversalmente ovais densamente distribuídas por todo o corpo. Parasitam a parede do estômago de Pimelodidae (*Pimelodus*) na bacia do rio Amazonas, Brasil..... *Philometroides* n. sp.

6. CAPÍTULO 3

**Camallanidae de *Pimelodus blochii* Valenciennes, 1840 dos rios
Acre e Xapuri, Brasil**

6.1 INTRODUÇÃO

Pimelodus blochii Valenciennes, 1840 é um pequeno peixe siluriforme largamente consumido na Amazônia ocidental e, devido ao seu crescente potencial aquícola, a sua fauna parasitária tem sido estudada nas bacias dos rios Acre e Xapuri. As espécies de nematódeos recentemente referidas de *P. blochii* na região incluem *Orientattractis moraveci* Cavalcante et al. 2017b, *Rondonia rondoni* Travassos, 1920 e *Philometroides acreanensis* Cavalcante, Moravec & Santos, 2017 (Cavalcante et al. 2017a). Como os nematódeos que parasitam peixes na região amazônica são pouco conhecidos, muitas espécies ainda devem ser descritas. Neste cenário, foram coletados representantes de duas espécies de *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) desses rios. A patogenicidade dos nemátodos camallanídeos não é suficientemente conhecida, mas provoca a perda de sangue do hospedeiro e danos à mucosa intestinal devido à cápsula bucal com várias espirais espessas (Moravec, 1994; Wu et al. 2007). O estudo de camallanídeos de peixes de água doce no Brasil é de fundamental importância para se conhecer a distribuição geográfica dos parasitos nos diferentes hospedeiros subsidiando as boas práticas de manejo em pisciculturas para minimizar os riscos econômicos envolvidos nos cultivos.

No presente trabalho é realizada a descrição morfológica e genética de uma das espécies de camalanidae e caracterização morfológica da outra espécie coletadas nas bacias dos rios Acre e Xapuri.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

Espécimes de *P. blochii* foram coletados do rio Acre (10°39'40"S, 68°30'19"O) e do rio Xapuri (10°38'20"S, 68°32'08"O) entre novembro de 2013 e abril de 2014. Os 120 *P. blochii* do rio Acre mediram entre 7,7–8,8 (18,58 ± 2,12) cm de comprimento e os 120 peixes do rio Xapuri mediram entre 13,7–23,2 (14,27 ± 1,12) cm. Os peixes foram transferidos frescos para o laboratório e examinados quanto à presença de helmintos parasitos. Os nematódeos camallanídeos recuperados foram lavados em NaCl 0,7% e posteriormente fixados em etanol a 70%. Para microscopia de luz, os nematódeos foram clarificados em glicerina. Os desenhos foram feitos com auxílio de câmara clara acoplada ao microscópio Leica. Após fixados, os espécimes foram armazenados em frascos contendo etanol a 70%. As medidas são dadas em

micrômetros com o intervalo seguido pela média entre parênteses, salvo quando indicado ao contrário. Os dados de prevalência e intensidade estão de acordo com Bush et al. (1997). Os espécimes representativos foram depositados na Coleção Helminológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC), Rio de Janeiro, Brasil. Para fins comparativos, os parátipos de *P. (S.) pimelodus* (CHIOC 30.989a–b, 30.993 e, 30003b), syn. *P. (S.) intermedius* (CHIOC 31022 a–h, 31023 a–c, 31024) e *P. (S.) rarus* (CHIOC 31026 a–c, 31027a–b, 31028a–c) foram analisados. A nomenclatura dos peixes adotada segue FishBase (Froese & Pauly 2016).

Para a microscopia eletrônica de varredura (MEV), as amostras foram pós-fixadas durante 24 h à temperatura ambiente em uma solução de tetróxido de ósmio a 1% e ferrocianeto de potássio a 0,8%, desidratadas através de uma série crescente de etanol. A secagem foi realizada em câmara de ponto crítico e o material recoberto em ouro. As amostras foram observadas ao Microscópio Eletrônico de Varredura JEOL JSM-6390, da Plataforma de Microscopia Eletrônica Rudolf Barth do Instituto Oswaldo Cruz, a 15 kV.

6.2.1 Análise Genética

O DNA dos parasitos foi extraído utilizando o método de fenol-clorofórmio como descrito por Billings et al. (1998) e um conjunto de iniciadores foram utilizados para amplificar diferentes regiões do DNA. A região de rDNA 28S foi amplificada por PCR utilizando os iniciadores C1 (5' - ACCCGCTGAATTTAAGCAT - 3') e D2 (5' - TGGTC CGTGT TTCAA GAC - 3') (segundo Chisholm et al. 2001). O 18S parcial, ITS1 e 5.8S foram amplificados utilizando os iniciadores S1 (5'-TTCCG ATAAC GAACG AGACT -3 ') e H7 (5'- GCTGC GTTC TTCAT CGATA CTCG -3') (Sinnappah et al. 2001). A região da subunidade 1 da citocromo-oxidase mtDNA foi amplificada por PCR utilizando um conjunto de iniciadores "cocktail" como descrito em Prosser et al. (2013):

NemF1_t1 (tgtaaacgacggccagtCRACWGTWAATCAYAARAATATTGG);

NemF2_t1 (tgtaaacgacggccagtARAGATCTAATCATAAAGATATYGG);

NemF3_t1 (tgtaaacgacggccagtARAGTTCTAATCATAARGATATTGG).

Os iniciadores reversos foram:

NemR1_t1 (caggaaacagctatgactAAACTTCWGGRTGACCAAAAAATCA);

NemR2_t1 (caggaaacagctatgactAWACYTCWGGRTGMCCAAAAAIACA);

NemR3_t1 (caggaaacagctatgactAAACCTCWGGATGACCAAAAAATCA).

As PCRs foram realizadas utilizando parâmetros de ciclagem como previamente descrito por estes autores. Os produtos da PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 1,5% corados com SyberGreen (Invitrogen, Eugene, Oregon, EUA) e fotografados sob transiluminação UV. Os produtos amplificados da PCR foram purificados com ExoSap-IT (Produtos USB® Affymetrix Inc., Cleveland, Ohio, EUA) seguindo as instruções do fabricante. As reações de sequenciamento foram realizadas utilizando o BigDye Terminator v.3.1 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) no sequenciador ABI Prism 3100 utilizando o mesmo conjunto de iniciadores na Plataforma de Sequenciamento da Fundação Oswaldo Cruz – PDTIS / FIOCRUZ, RJ, Brasil. As sequências foram geradas, editadas e alinhadas usando o algoritmo CLUSTAL W do pacote MEGA 7.0 (Hassouna et al. 1984, Thompson et al. 1994). A comparação por similaridades com sequências do GenBank foi realizada utilizando o programa BLAST do ‘National Center for Biotechnology Information’ (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>) (Altschul et al. 1990).

Para examinar as relações filogenéticas, as sequências nucleotídicas foram analisadas utilizando o algoritmo CLUSTAL W do pacote MEGA 7.0 (Thompson et al. 1994). As árvores filogenéticas de máxima verossimilhança (MV) (Felsenstein, 1981) foram inferidas usando o MEGA 7.0 utilizando o modelo ‘General Time Reversible’ (GTR) com distribuição gama e ‘sites’ invariáveis (G + I) para a análise do 18S rDNA. A árvore foi conferida por 5.000 réplicas para avaliar a confiabilidade dos grupos. Os Taxa, cujas sequências de GenBank foram utilizadas para análises filogenéticas, estão listados na Tabela 1.

6.3 RESULTADOS

Procamallanus (Spirocamallanus) pimelodus

Syn: *Procamallanus (S.) intermedius*, Pinto, Fábio, Noronha & Rolas, 1974

Descrição: Nematódeos de tamanho médio com cutícula quase lisa. Abertura bucal circular, rodeada por 8 papilas em 2 círculos e 2 anfídeos laterais. Cápsula bucal castanho-alaranjada ligeiramente alongada, com anel basal simples, bem desenvolvido. Superfície interna da cápsula provida com vários espessamentos em

espiral. Esôfago muscular menor que o glandular. Poro excretor aproximadamente a meio caminho entre o anel nervoso e a extremidade do esôfago (Fig. 13A–C e 14B).

Machos (medidas com base em 10 espécimes): Corpo medindo 6,66–11,90 (10,01) mm de comprimento e 130–230 (176) de largura. Cápsula bucal incluindo anel basal 53–60 (57) de comprimento, largura máxima 40–50 (45); anel basal medindo 6–8 (6) de comprimento e 25–28 (26) de largura. Espirais da cápsula bucal em número de 6–7 (6). Comprimento do esôfago muscular 355–500 (443), comprimento do esôfago glandular 427–986 (766); proporção entre o comprimento do esôfago muscular e glandular 1: 1,6–2,2. Deirídeos, anel nervoso e poro excretor 290–300 (295), 125–340 (202) e 333–340 (337) respectivamente, a partir da extremidade anterior. Extremidade posterior do corpo ventralmente dobrada, provida de asa caudal larga. Três pares de papilas pedunculadas pré-cloacais; papilas pós-cloacais: 3 pares de papilas subventrais e 2 pares de papilas laterais pedunculadas presentes; 2 pares adicionais de pequenas papilas ventrais transversalmente alongadas, em torno da abertura cloacal (Fig. 13D, E e 14C–E). Espículos desiguais, bem esclerotizados; Espículo maior medindo 463–582 (539) de comprimento, com bifurcação distal apresentando 3 a 4 pontas e; espículo menor menos esclerotizado, 190–230 (215) de comprimento, com extremidade distal pontiaguda (Fig. 13E e 14F, G). Cauda cônica, 103–128 (116) de comprimento com dois mucrones suavemente delineados (Fig. 14E).

Fêmeas (medidas com base em 10 espécimes): Corpo medindo 8,71–20,30 (14,37) mm de comprimento e 200–380 (301) de largura. Cápsula bucal incluindo anel basal com 60–75 (67) de comprimento e 45–50 (50) de largura; anel basal medindo 5–9 (7) de comprimento e 25–33 (29) de largura. Espirais da cápsula bucal em número de 6–8 (6). O comprimento do esôfago muscular variou de 380–625 (510); comprimento do esôfago glandular 600–1030 (775); proporção entre o comprimento do esôfago muscular e glandular 1: 1,4–2,1 (1,5). Deirídeos, anel nervoso e poro excretor com 230–250 (240), 195–260 (213) e 290–405 (366), respectivamente, a partir da extremidade anterior. Vulva pré-equatorial, 2910–7400 (4288) a partir da extremidade anterior (a 30–36% do comprimento corporal). Vulva com lábios ligeiramente elevados nos maiores espécimes. Vagina direcionada para a região posterior. Útero com ovos embrionados. Cauda arredondada 103–178 (124) de comprimento, com ponta terminal (Fig. 13F e 14H).

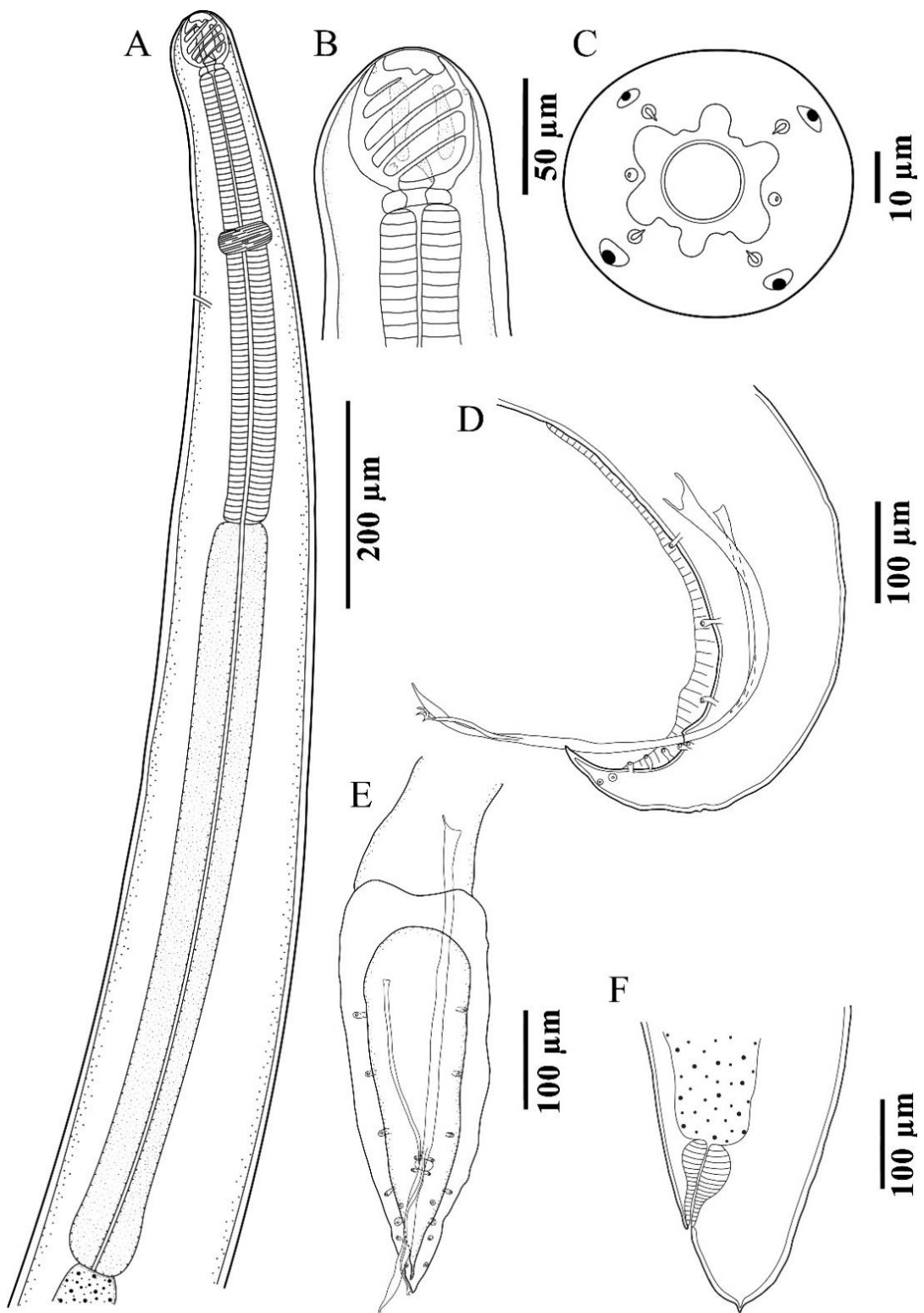


Fig. 13 *Procamallanus (Spirocamallanus) pimelodus* (A) extremidade anterior do macho; (B) Cápsula bucal do macho; (C) extremidade cefálica, vista apical; (D–E) cauda do macho, vista lateral e vista ventral; (F) cauda da fêmea.

6.3.1 Ultraestrutura

Através da MEV pode ser observada a existência de projeções cuticulares em forma de bolhas (Fig.14A), provavelmente relacionadas ao processo de ecdise. Em vista apical, a boca circular aparece reforçada por processo interno com 6 projeções além das espirais serrilhadas dando suporte à cápsula bucal. Na face apical foram observadas 8 papilas dispostas em 2 círculos, sendo as externas maiores que as internas e 1 par de anfídeos laterais.

Nos machos a asa caudal é bem delimitada com três pares de papilas pedunculadas pré-cloacais, 2 pares papilas ad-cloacais transversais e as papilas pós-cloacais incluem 3 pares subventrais e 2 pares de papilas sublaterais (Figs 14C, D e E). A ponta da cauda do macho é furcada (Fig. 14E). O espículo maior possui extremidade posterior bifurcada, sendo uma ponta simples e outra menos esclerotizada com cerca de 3 a 4 projeções (Fig. 14 C, F e G).

Na extremidade distal da fêmea, a vulva apresenta lábio superior elevado e a cauda arredondada tem ponta terminal (Fig. 14 H).

6.3.2 Análise Genética

As novas sequências obtidas neste estudo serão depositadas no GenBank tendo a região cox-I 519 pb; a da região parcial de 28S rDNA com 690 pb e das regiões parciais de 18S e ITS1 com 767bp.

A análise cox-I BLAST de nosso espécime de *P. (S.) pimelodus* indicou 85% de identidade com 73% de cobertura de consulta e uma pontuação máxima de 542 com *Procamallanus spiculogubernaculus* Agarwal, 1958 (número de acesso KU292358) e *Camallanus cotti* Fujita, 1927 com 85% de identidade com cobertura de 59% e uma pontuação máxima de 440. A reconstrução filogenética por Máxima Verossimilhança (MV) da cox-I mitocondrial indicou dois grupos principais, um com Camallanidae e Physalopteridae com 90% de bootstrap e outro incluindo Capillariidae, Philometridae e Cucullanidae com 96% de bootstrap. Dentro de Camallanidae um bootstrap de 72% separou dois subclusters que incluíam espécies de *Camallanus* e o *Procamallanus* onde nossa sequência estava mais próxima de *P. spiculogubernaculus* (KU292358), mas com baixo valor de bootstrap, 60% (Fig.15).

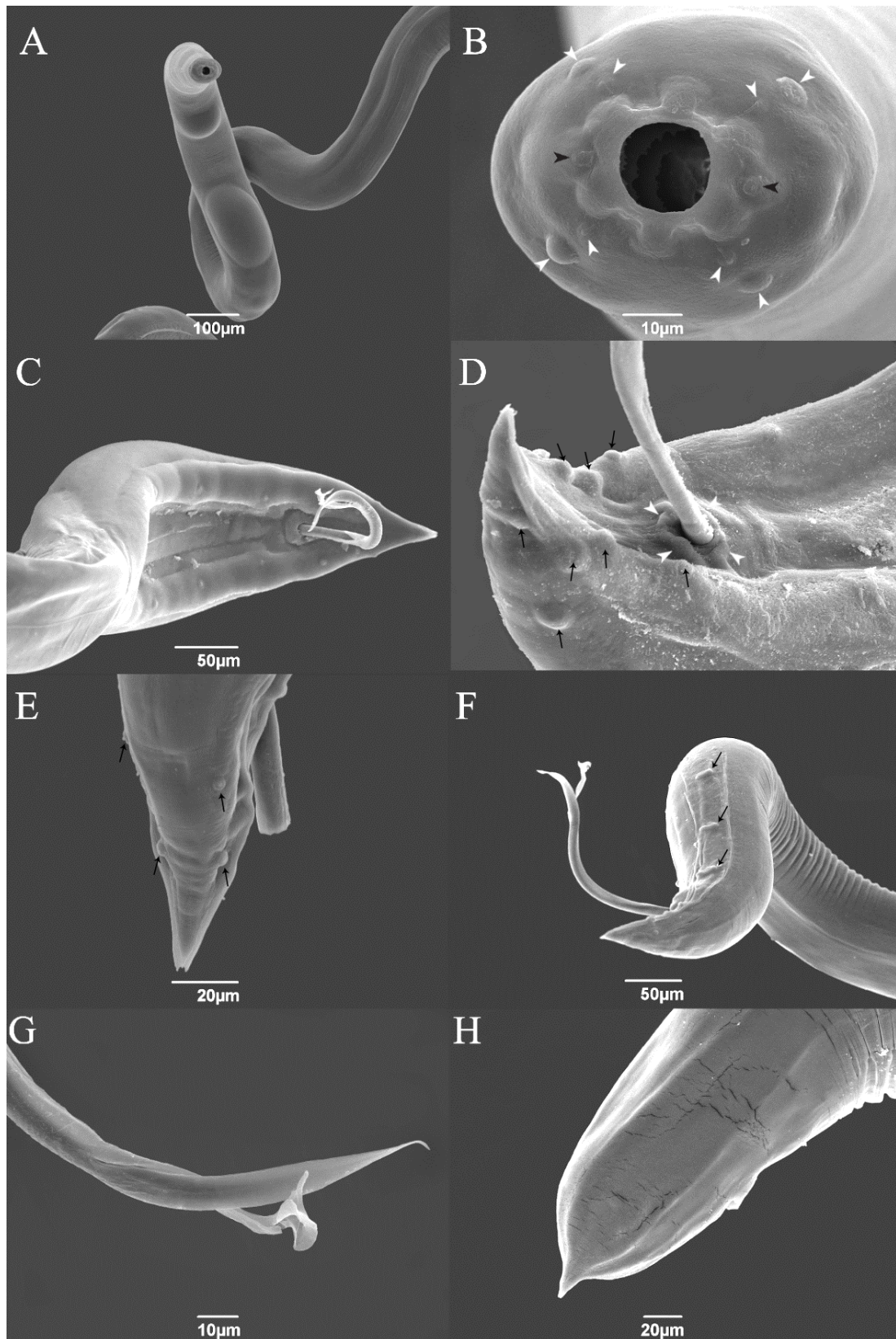


Fig. 14 *Procammallanus* (*Spirocamallanus*) *pimelodus* (MEV): (A) região anterior do corpo com abertura oral; (B) extremidade cefálica mostrando papilas (cabeça de seta branca) e anfídeos (cabeça de seta preta); (C) visão geral da região posterior do macho mostrando espículos e papilas; (D) detalhe de papila ad-cloacal (cabeça de seta branca) e pós-cloacal (setas pretas); (E) papila sublateral (seta preta) (F) detalhe de papila préanal (seta preta) e visão geral do espículo; (G) detalhe da bifurcação do espículo; (H) visão geral da região posterior da fêmea.

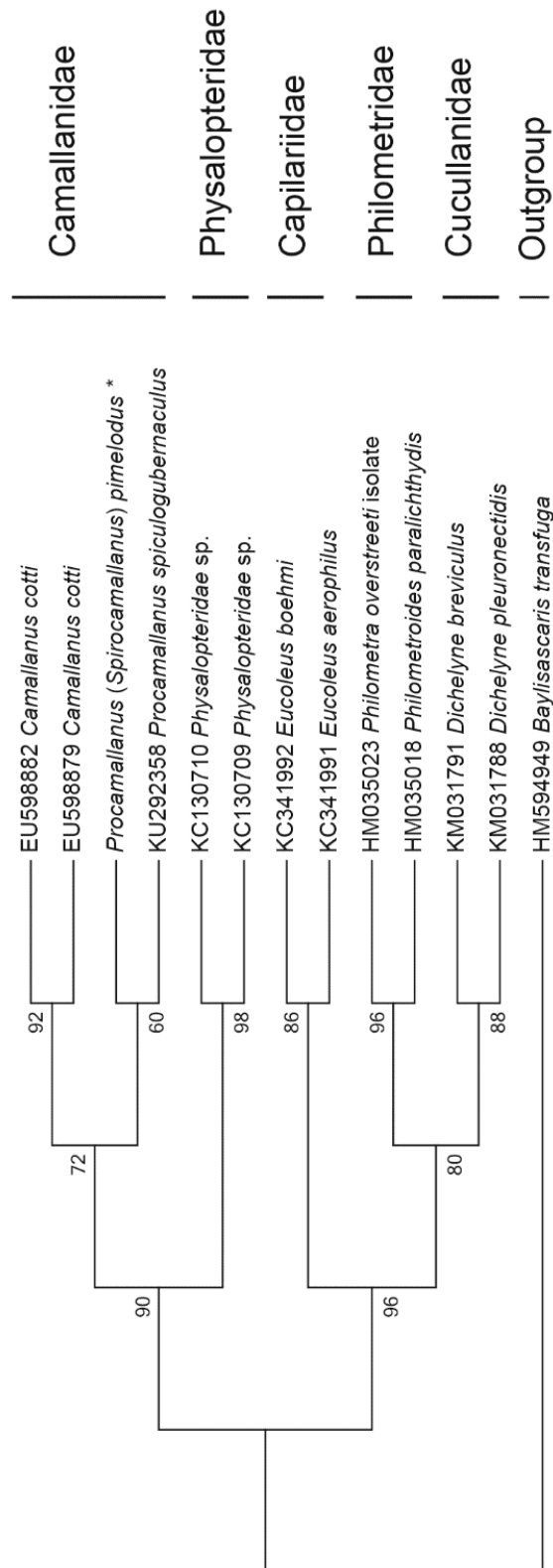


Fig. 15 Reconstrução filogenética utilizando MV baseada nos alinhamentos de sequências de *Procamallanus (Spirocamallanus) pimelodus* com sequências de Camallanidae, Physalopteridae, Capillaridae, Philometridae e Cucullanidae do GenBank para a região mtDNA *cox-I*. Os valores na frente dos nós representam a porcentagem de 'bootstrap'. *Baylissascaris transfuga* representa o grupo externo.

Obtivemos neste estudo uma primeira sequência parcial de 28S rDNA para uma espécie de *Procamallanus* (*Spirocamallanus*). A análise de BLAST indicou 83% de identidade, 42% de cobertura e pontuação máxima de 361 com o número de acesso de *Cruzia americana* (Kathlaniidae) U94757. A reconstrução filogenética MV indicou dois clados principais com alto suporte estatístico separando as ordens Spirurida e Ascaridida. A Spirurida, representada pelos Camallanidae, indicou que o *P. (S.) pimelodus* foi separado de *Serpinema octorugatum* Baylis, 1933 (HQ730897), *Camallanus* sp. (HQ730896) e *Camallanus tuckeri* (FJ969497) com 100% de suporte (Fig. 16).

A análise do BLAST com a nova sequência parcial de 18S e ITS1 de *P. (S.) pimelodus* indicou 92% de identidade com apenas 55% de cobertura e uma pontuação máxima de 627 com *Camallanus oxycephalus* (DQ503463), *Spirocamallanus rarus* (JF803912) com 95% de identidade, 46% de cobertura e uma pontuação máxima de 588 e *Camallanus cotti* (EF180071) com 91% de identidade com 51% de cobertura e uma pontuação máxima de 575. A árvore filogenética MV não apresentou bom suporte estatístico bootstrap.

Hospedeiro: *P. blochii* Valenciennes (Siluriformes: Pimelodidae).

Sítio: Intestino.

Localidade: Rios Acre e Xapuri, Estado do Acre, Brasil.

Prevalência: Rio Acre: 11,67% (14 peixes infectados de 120 examinados); Rio Xapuri: 35,83% (43 peixes infectados a partir de 120 examinados).

Intensidade de infecção: Rio Acre: 1–13 (4,36); Rio Xapuri: 1–23 (3,74).

Abundância média: Rio Acre: 0,51; Rio Xapuri: 1,34.

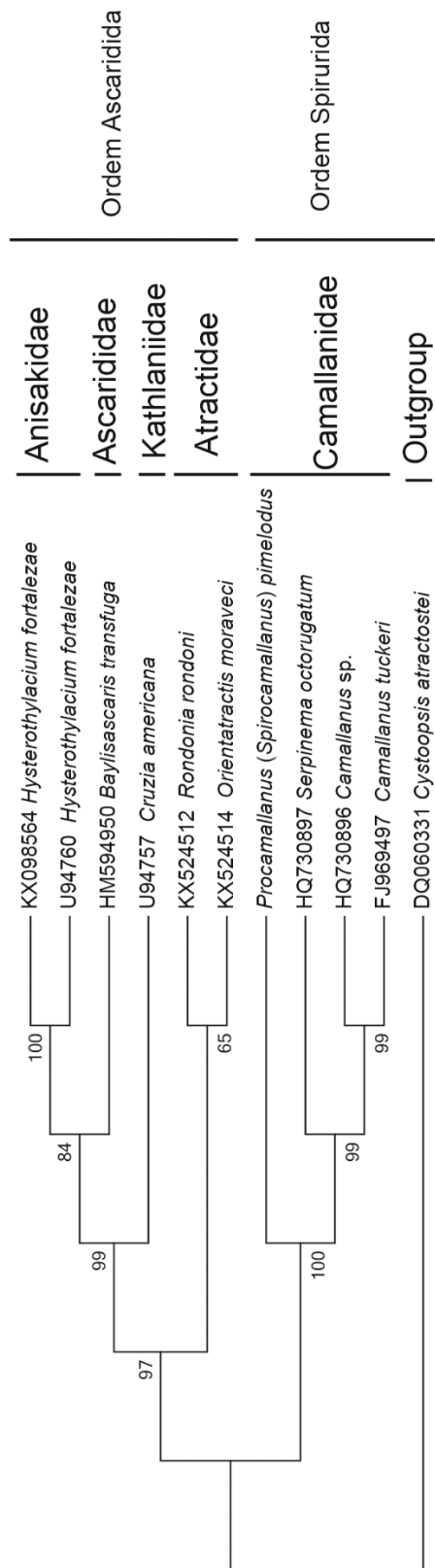


Fig. 16 Reconstrução filogenética utilizando MV baseada nos alinhamentos de seqüências de *Procamallanus (Spirocamallanus) pimelodus* com seqüências de Spirurida e Ascaridida do GenBank para a região 28S rDNA. Os valores na frente dos nós representam a porcentagem de 'bootstrap'. *Cystoopsis attractostei* representa o grupo externo.

Procamallanus (Spirocamallanus) rarus Travassos, Artigas e Pereira, 1928

Machos (medidas com base em um único espécime): Corpo medindo 7,15 mm de comprimento e 170 de largura. Cápsula bucal medindo 95 de comprimento (incluindo anel basal) e com largura máxima de 75; anel basal tem 13 de comprimento e 38 de largura. Espirais da cápsula em número de 3. Comprimento do esôfago muscular 610, comprimento do esôfago glandular 500; proporção entre o comprimento do esôfago muscular e glandular 1:0,8. Anel nervoso e poro excretor a 213 e 475 respectivamente, da extremidade anterior. Extremidade posterior do corpo com asa caudal suportada por papilas pedunculadas. Papilas pré-cloacais: 4 pares pedunculadas; 1 par ad-cloacal e 3 pares de papilas pós-cloacais, além de um par de fasmídeos. Espículos desiguais; espículo maior com 655 de comprimento, apresentando bifurcação distal com 3 a 4 pontas; espículo menor menos esclerotizado com 193 de comprimento, com extremidade distal pontiaguda. Gubernáculo ausente. Cauda cônica medindo 120 de comprimento (Fig. 17).

Hospedeiro: *Pimelodus blochii* Valenciennes (Siluriformes: Pimelodidae).

Sítio: intestino.

Localidade: rio Xapuri (Bacia Amazônica), Estado do Acre, Brasil.

Prevalência e intensidade: 0,8% (1 peixe infectado / 120 peixe examinados); 1 nematódeo.

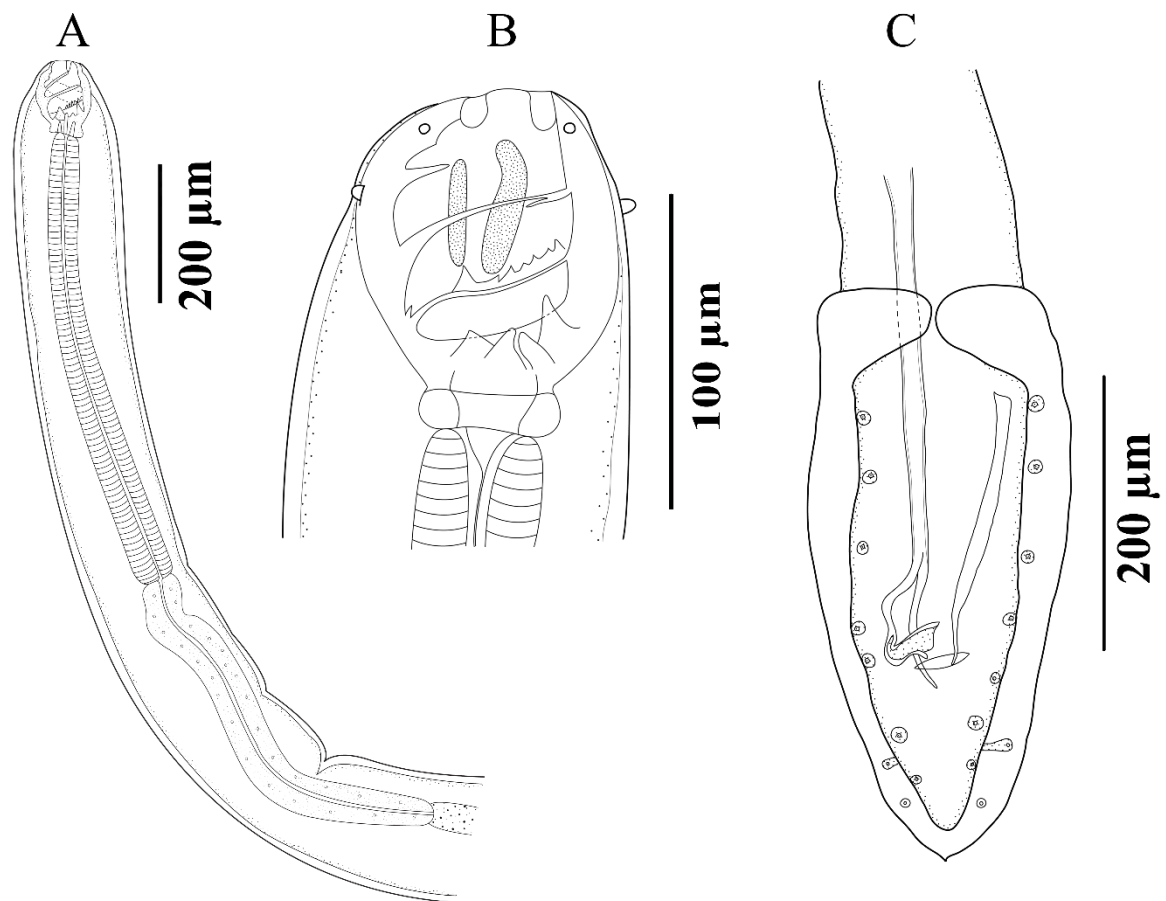


Fig. 17 *Procammallanus (Spirocamallanus) rarus*: (A) região anterior com cápsula bucal, esôfago muscular e glandular; (B) detalhe da cápsula bucal com dentes na base e poucas espirais; (C) detalhe da cauda do macho com papilas.

6.4 DISCUSSÃO

Os camalanídeos são considerados um problema significativo para os peixes mantidos em ambiente confinado, pois suas larvas são encontradas no zooplâncton e podem infestar o peixe quando o plâncton é usado como seu alimento vivo (Rychlinski & Deardorff, 1982). Além disso, sua cápsula bucal castanho-alaranjada e corpo de coloração viva são facilmente vistos no peixe, depreciando seu valor comercial (Cárdenas & Lanfredi, 2005).

As espécies de *Procamallanus* (*Spirocamallanus*), representadas principalmente em peixes marinhos, são caracterizadas pela presença de asas caudais largas, 3 pares de papilas pré-cloacais pedunculadas e espículos muito desiguais (Moravec, 1998). Conforme apontado por Petter et al. (1977) e Rigby & Adamson (1997), e analisada por Yooyen (2011), a forma da estrutura da cauda da fêmea parece ser constante dentro das espécies de *Procamallanus* (*Spirocamallanus*).

As espécies referidas associadas com peixes de água doce do Brasil incluem *P. (S.) amarali* Vaz & Pereira, 1934, *P. (S.) barrolimai* Pereira, 1935, *P. (S.) belenensis* Giese, Santos & Lanfredi, 2009, *P. (S.) caballeroi* Bashirullah, 1977, *P. (S.) freitasi* (Moreira, Oliveira & Costa, 1991), *P. (S.) hilarii* Vaz & Pereira, 1934, *P. (S.) iheringi* Travassos, Artigas & Pereira, 1928, *P. (S.) inopinatus* (Travassos, Artigas & Pereira, 1928), *P. (S.) paraensis* Pinto & Noronha, 1976, *P. (S.) pexatus* Pinto, Fábio, Noronha & Rolas, 1976, *P. (S.) pimelodus* Pinto, Fábio, Noronha & Rolas, 1974, *P. (S.) pintoi* (Kohn & Fernandes, 1988), *P. (S.) rarus* Travassos, Artigas & Pereira, 1928, *P. (S.) saofranciscensis* (Moreira, Oliveira & Costa, 1994) e *P. (S.) solani* Pinto, Fábio, Noronha & Rolas, 1975 (Luque et al. 2011). Entre estas, as espécies reportadas de peixes pimelodídeos são *P. (S.) rarus*, *P. (S.) inopinatus*, *P. (S.) pimelodus*, *P. (S.) freitasi* e *P. (S.) solani* (de peixes "siluriformes" não identificados).

P. (S.) pimelodus foi referido parasitando *Iheringascaris labrosus*, *Pimellodella lateristriga*, *P. blochii*, *P. maculatus*, *P. ortmanni* e *Pimelodus* sp. de diferentes regiões do Brasil, mas ainda não na Amazônia (Luque et al. 2011). Portanto, este é o primeiro relato de *P. (S.) pimelodus* na região amazônica, exibindo ampla distribuição geográfica e baixa especificidade, confirmando assim que a maior

amplitude de distribuição geográfica de um parasito deve ser igual ao intervalo combinado da amplitude de distribuição de seus hospedeiros (Poulin et al. 2011).

O exame dos tipos e *vouchers* de *P. (S.) pimelodus* e também das lâminas do sinônimo júnior *P. (S.) intermedius* depositados na CHIOC, mostraram uma elevação dupla em cada lado da borda anterior da asa caudal, semelhante a pares de papilas, que foram apenas observadas em nosso material recém-coletado e também foi destacado na figura 4 da descrição original de *P. (S.) freitasi* (Moreira et al. 1991). Como essas estruturas não foram visualizadas nas micrografias de microscopia eletrônica de varredura consideramos como sendo parte da região muscular anterior da asa caudal.

Na análise filogenética proposta por Nadler et al. (2007), os Camallanoidea foram considerados monofiléticos com o grupo irmão Dracunculoidea, em um clado conhecido como Camallanina (Chitwood, 1937), previamente reconhecido com base em características morfológicas e de ciclo de vida. Este clado foi considerado com forte suporte estatístico. Wijová et al. (2006) também apresentaram os Dracunculoidea como grupo irmão de 3 espécies de camalanídeos. Os Spirurina (exceto *Gnathostoma*) foram sempre referidos como grupo irmão de Camallanina, com confiabilidade de moderada a alta.

Estudos sobre a fauna parasitária de helmintos de peixes de água doce no México e em outras localidades (Choudhury & Dick, 1998; Pérez-Ponce de León & Choudhury, 2002, 2005) sugeriram que algumas espécies de helmintos são membros típicos da fauna parasitária de certos grupos de hospedeiros (famílias), referindo-se a estas espécies como a "fauna de helmintos principais" (Pérez-Ponce de León & Choudhury, 2002). Rosas-Valdez & Pérez-Ponce de León (2011) testaram a hipótese de que algumas espécies estão realmente confinadas a grupos monofiléticos (nível familiar) de hospedeiros, avaliando o índice de especificidade de hospedeiro proposto por Poulin & Mouillot (2003). No entanto, seus resultados não mostraram agrupamento no nível familiar para o *Spirocamallanus* analisado. Estudos adicionais devem ser realizados em conjunto com descrições taxonômicas precisas para entender melhor a história evolutiva e a biogeografia desses parasitos.

Tabela 1. Taxa utilizados para análise filogenética de *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) *pimelodus* usando sequências de mtDNA cox-I e 28S rDNA.

Espécies	Famílias / Ordens	mtDNA cox-I.	28S rDNA
<i>Camallanus cotti</i> (Fujita, 1927)	Camallanidae	EU598882 EU598879	-
<i>Procamallanus spiculogubernaculus</i> (Agarwal, 1958)	Camallanidae	KU292358	-
Physalopteridae sp.	Physalopteridae	KC130710 KC130709	-
<i>Eucoleus boehmi</i> (Davidson et al. 2006)	Capillaridae	KC341992	-
<i>Eucoleus aerophilus</i> (Creplin, 1839)	Capillaridae	KC341991	-
<i>Philometra overstreeti</i> (Moravec & de Buron, 2006)	Philometridae	HM035023	-
<i>Philometroides paralichthydis</i> (Moravec & de Buron, 2006)	Philometridae	HM035018	-
<i>Dichelyne breviculus</i> (Li et al. 2014)	Cucullanidae	KM031791	-
<i>Dichelyne pleuronectidis</i> (Yamaguti, 1935)	Cucullanidae	KM031788	-
<i>Baylisascaris trânsfuga</i> (Rudolphi, 1819)	Ascaridida	HM594949	HM594950
<i>Serpinema octorugatum</i> (Baylis, 1933)	Spirurida	-	HQ730897
<i>Camallanus sp.</i>	Spirurida	-	HQ730896
<i>Camallanus tuckeri</i> (Kuzmin et al. 2009)	Spirurida	-	FJ969497
<i>Hysterothylacium fortalezae</i> (Klein, 1973)	Ascaridida	-	KX098564 U94760
<i>Cruzia americana</i> (Maplestone, 1930)	Ascaridida	-	U94757
<i>Orientattractis moraveci</i> (Cavalcante et al. 2017b)	Ascaridida	-	KX524514
<i>Rondonia rondoni</i> (Travassos, 1920)	Ascaridida	-	KX524512
<i>Cystoopsis atractostei</i> (Moravec & Salgado-Maldonado, 2003)	Enoplida	-	DQ060331

7. CAPÍTULO 4

**Aspectos Ecológicos da Comunidade de endohelmintos de
Pimelodus blochii Valenciennes, 1840 (Osteichthyes: Pimelodidae)
nos rios Acre e Xapuri, Brasil**

7.1 INTRODUÇÃO

No norte do Brasil, o bagre *Pimelodus blochii* Valenciennes, 1840 é muito consumido, principalmente pela população de baixa renda. Estes peixes, endêmicos da região Neotropical, se alimentam tanto de macroinvertebrados como de frutos e até detritos, de acordo com a disponibilidade local e sazonal (Santos et al. 2006; López-Casas & Jiménez-Segura, 2007).

Tendo em vista sua importância como fonte de proteína para populações ribeirinhas e seu papel ecológico nas teias tróficas de rios da bacia Amazônica, estudos sobre fauna parasitária dos peixes de ambiente natural (i.e. *P. blochii*) ampliam os conhecimentos relacionados a biodiversidade local e contribuem para um maior entendimento da relação parasito-hospedeiro-ambiente e das estratégias usadas por diferentes espécies de parasitos. Neste sentido, contribuem para aumentar o conhecimento sobre o funcionamento e integridade dos ecossistemas, pois os parasitos podem atuar como bioindicadores das condições ambientais de um ecossistema (Lizama et al., 2013; Rodrigues et al., 2014). A fauna de endohelmintos pode revelar características alimentares dos peixes hospedeiros. Além disso, esses parasitos são capazes de regular o tamanho das populações de hospedeiros, diminuindo a fecundidade ou até mesmo afetando a sua sobrevivência (Machado et al., 2013).

Em regiões com um clima tropical, pode-se esperar que as comunidades parasitas tenham uma estrutura estável ao longo do ano (Dias & Tavares-Dias, 2015; Violante-González et al. 2008). Na região amazônica, uma vez que o clima é de floresta tropical, a dinâmica dos níveis de precipitação pode promover mudanças na qualidade do meio ambiente nos diferentes ecossistemas (Dias & Tavares-Dias, 2015; Gonçalves et al. 2016; Neves et al., 2013; Tavares-Dias et al., 2014). Essas mudanças ambientais têm a capacidade de promover alterações fisiológicas e comportamentais nos peixes desses ambientes e, dessa forma, podem promover alterações nas comunidades de parasitos.

Neste trabalho a fauna de endohelmintos de *P. blochii* foi estudada com ênfase nas comunidades de parasitos encontrados nos rios Acre e Xapuri em períodos chuvosos e de estiagem, com objetivo de avaliar diferenças na composição da fauna de parasitos, estabelecer relação de agregação parasito-hospedeiro para

esses ambientes, identificar fatores ambientais ou antropogênicos capazes de alterar quantitativamente e qualitativamente essas infracomunidades, além de identificar espécies de nematódeos que possam apresentar risco à saúde da população.

7.2 MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi autorizada pelo Instituto Chico Mendes para Conservação da Biodiversidade (ICM Bio Nº 43450–1) de acordo com as diretrizes do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Os rios Acre (10°39'40"S, 68°30'19"O) e Xapuri (10°38'20"S, 68°32'08"O) estão localizados no município de Xapuri, Estado do Acre, Brasil. Juntas, essas bacias hidrográficas abrangem aproximadamente 25% do município (Abud, et al, 2015). A precipitação média anual no estado do Acre 1969,6 mm, sendo 490,2 mm no período de estiagem (mai/jun/ago/set/out) e 1165,3 mm no período chuvoso (nov/dez/jan/fev/mar/abr) (Acre, 2012). A bacia do rio Acre concentra vários pontos de ação antrópica que pode culminar em mudanças significativas no regime hidrológico, alterando a qualidade das águas e o regime sazonal (Macêdo et al, 2013). No presente estudo, um total de 240 espécimes de *P. blochii* foram coletados com colaboração de pescadores locais do município de Xapuri, entre os anos de 2013 e 2014.

As coletas dos hospedeiros foram realizadas considerando as duas fases do ciclo hidrológico regional, sendo 60 peixes coletados na estação chuvosa (verão) e 60 na estação de estiagem (inverno), totalizando 120 espécimes em cada um dos rios.

Após serem transportados em gelo para o laboratório, os espécimes de *P. blochii* foram inicialmente pesados e medidos. A superfície externa dos peixes foi analisada e os órgãos internos separados em placa de Petri com NaCl 0,7% para análise em estereomicroscópico. Os nematódeos e acantocéfalos foram fixados em álcool 70% ou formalina 4% aquecida. Os trematódeos foram fixados sob leve compressão entre lâmina e lamínula em álcool 70%. Os nematódeos foram clarificados em glicerina e os trematódeos foram corados com carmim clorídrico de Meyer. Os parasitos foram identificados segundo Moravec (1998), Thatcher (2006), Luque et al. (2011), Cavalcante et al. (2017a e 2017b).

Os descritores ecológicos utilizados seguem Bush et al. (1997). A prevalência foi calculada para cada espécie de parasito para cada um dos rios estudados, e também para o período chuvoso e de estiagem, a fim de se avaliar o efeito da sazonalidade sobre os parasitos. As diferenças nas prevalências entre os rios e entre estações foram testadas através do qui-quadrado no programa Quantitative Parasitology 3.0 (Rózsa et al. 2000).

Os helmintos foram estudados ao nível de infrapopulação (os parasitos de uma dada espécie em um único peixe) e infracomunidade (todas as infrapopulações encontradas em um peixe) usando os dados dos peixes coletados de cada rio, representando uma comunidade componente. O índice de dispersão (ID) foi usado para detectar o padrão de distribuição (agregado, uniforme ou aleatório) das populações de parasitos com prevalência $\geq 10\%$ (Rózsa et al. 2000). Posteriormente foi aplicado o teste estatístico d (Ludwig & Reynolds 1988) para testar a significância do ID. O índice de discrepância (D), uma estimativa da disparidade existente entre a distribuição observada e uma distribuição uniforme do número de parasitos entre os hospedeiros foi calculado usando o software Quantitative Parasitology 3.0 (Rózsa et al. 2000).

Foram calculadas as abundâncias médias e intensidades médias de cada espécie de parasito para cada rio e para cada estação do ano. O teste de Mann-Whitney foi utilizado para avaliar a significância das diferenças nas abundâncias das espécies mais prevalentes.

Foram feitas curvas de rarefação com os dados de infracomunidades para cada comunidade componente (cada rio) para avaliar se as amostras foram representativas em cada área. A diversidade de espécies de parasitos para cada rio e estação foi calculada através do índice de Shannon (H), e comparada através de teste t . A equitabilidade foi calculada através do índice J. A relação entre comprimento do hospedeiro e abundância de parasitos foi investigada através da correlação de Spearman (r_s) para avaliar a suscetibilidade do hospedeiro relacionada ao seu comprimento.

Todas as análises foram feitas utilizando-se nível de significância estatística de $p \leq 0,05$. A normalidade da distribuição dos dados foi testada através do teste de Shapiro-Wilk. As análises estatísticas foram feitas utilizando-se o programa PAST v. 2.17c (Hammer et al. 2001).

7.3 RESULTADOS

No rio Acre, dos peixes coletados (120) o comprimento total variou de 8,8–25,7 cm e o peso de 15,7–160 g, 74 estavam parasitados com 689 espécimes de endohelmintos, indicando uma prevalência total de 61,67%. Os 120 peixes analisados do rio Xapuri apresentaram comprimento total de 13,7–23,2 cm e peso 20,5–92,7 g, tendo sido coletados 2.185 endohelmintos, indicando uma prevalência total de 69,16%. O total de parasitos coletados nos dois rios foi de 2.874 espécimes. Os parasitos mostraram típico padrão de distribuição agregada (Tabela 2). Os taxa para os ambientes estudados incluíram *Procamallanus (Spirocamallanus) pimelodus* Pinto, Fábio, Noronha & Rolas, 1974, *Procamallanus (Spirocamallanus) rarus* Travassos, Artigas & Pereira, 1928, *Cucullanus* sp., Nematoda gen. sp., *Orientatractis moraveci* Cavalcante, Silva, Santos, Chagas-Moutinho & Santos, 2017, *Rondonia rondoni* Travassos, 1920, *Philometroides acreanensis* Cavalcante, Moravec & Santos, 2017, *Anisakis* sp., *Hysterothylacium* sp., *Contraecaecum* sp., *Rhabdochona* sp., Pharyngodonidae gen. sp., Cystidicolidae gen. sp., cistos de Acanthocephala e Trematoda gen. sp.

Tabela 2. Índice de dispersão (ID), teste estatístico d (α) e índice de discrepância (D) dos parasitos de *Pimelodus blochii* dos rios Acre e Xapuri, Acre Brasil.

Parasitos	RIO ACRE		
	ID	D	D
<i>Procamallanus (S.) pimelodus</i>	7,37	26,49*	0,931
<i>Orientatractis moraveci</i>	76,54	119,57*	0,943
Cistos	4,87	18,66*	0,936
	RIO XAPURI		
	ID	D	D
Pharyngodonidae gen. sp.	34,45	75,15*	0,923
<i>Procamallanus (S.) pimelodus</i>	6,21	23,04*	0,793
<i>Orientatractis moraveci</i>	121,44	154,61*	0,923
<i>Rondonia rondoni</i>	152,76	175,27*	0,948
Cistos	12,61	39,38*	0,921

ID e D calculados para espécies com prevalência $\geq 10\%$.

*Valores significativos.

A amostragem realizada foi considerada suficiente para abranger todas as espécies encontradas nas duas comunidades componentes, como mostrado pela curva de rarefação (Fig. 18). O coeficiente de Spearman não apresentou correlação entre a abundância de parasitos e o comprimento total dos peixes coletados ($p_{\text{Acre}}=0,061$ e $p_{\text{Xapuri}}=0,103$).

Para o rio Acre, os nematódeos foram mais representativos com 646 espécimes coletados, seguido dos acantocéfalos com 34 cistos e trematódeos com 9 espécimes. O mesmo foi observado para o rio Xapuri com 2.085 nematódeos coletados, 87 cistos de acantocéfalos e 13 trematódeos. A prevalência total, abundância média, intensidade média, o número total de parasitos e o sítio de infecção estão apresentados na Tabela 2.

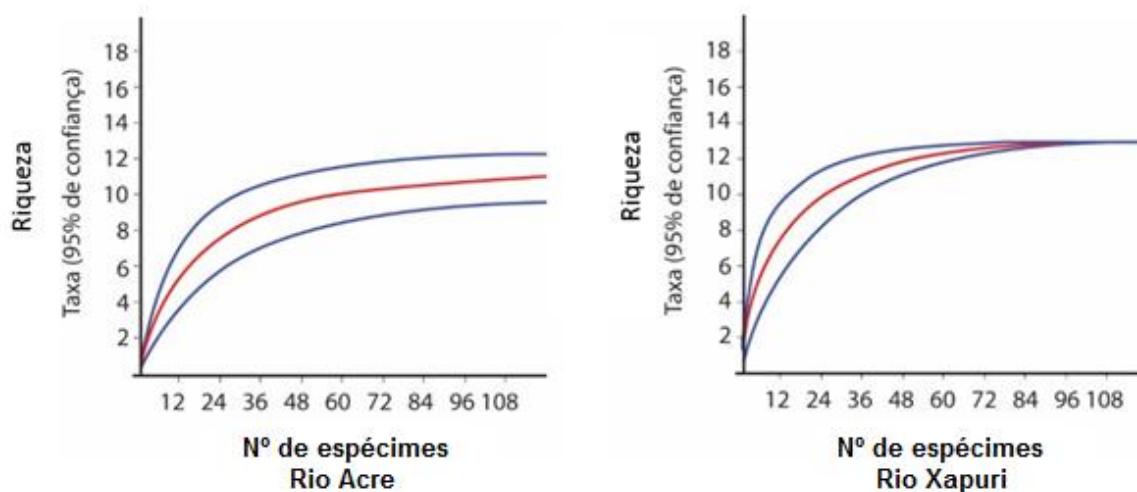


Fig. 18 Curvas de rarefação para os rios Acre e Xapuri.

As espécies de nematódeos mais prevalentes do rio Acre foram *O. moraveci* (14,17%) e *P. (S.) pimelodus* (11,67%) que também foram encontradas no rio Xapuri com prevalências de 24,17% e 35,83%, respectivamente. As prevalências de *O. moraveci* diferiram significativamente entre os dois rios ($\chi^2=3,873$; $p=0,049$). A prevalência de *P. (S.) pimelodus* foi maior no rio Xapuri diferindo significativamente ($\chi^2=19,35$; $p=0,000$) da encontrada no rio Acre.

Em ambos os rios foram encontrados espécimes de *R. rondoni*, que apresentaram diferença significativa nas prevalências, sendo 7,50% no rio Acre e 19,17% no rio Xapuri ($\chi^2=7,067$ e $p=0,008$). A prevalência de Pharyngodonidae gen. sp. entre o rio Acre (3,33%) e o rio Xapuri (15%) também foi significativamente diferente ($\chi^2=9,808$ e $p=0,002$). Não houve diferença na prevalência de cistos de acantocéfalos nos rios estudados ($\chi^2=1,815$ e $p=0,178$).

Orientattractis moraveci foi a espécie que apresentou maior abundância média nos dois rios. *P. (S.) pimelodus* ($U=5469$ e $p=1,594E^{-05}$) e *R. rondoni* ($U=6338$ e $p=0,006$) apresentaram diferenças significativas entre os rios, sendo estas duas espécies mais abundantes no rio Xapuri. A diferença entre rios para *O. moraveci*

($U=6499$ e $p=0,057$) foi marginalmente significativa e para Pharyngodonidae gen. sp. também apresentou abundância significativamente maior no rio Xapuri ($U=6344$ e $p=0,001$).

As espécies que apresentaram maiores intensidades médias foram *O. moraveci* ($24,7 \pm 25$) no rio Acre e *R. rondoni* ($6,0 \pm 5,3$) no rio Xapuri (Tabela 3). Larvas de Anisakidae e Cucullanidae gen. sp. estavam presentes nos hospedeiros de ambos os rios, mas com baixa prevalência ($\leq 5\%$), abundância média e intensidade média de infecção. Entre as espécies com prevalência inferior a 10%, *Philometroides acreanensis* foi encontrado apenas no rio Acre e as espécies encontradas apenas no rio Xapuri foram *P. (S.) rarus*, *Contraecum* sp. e *Hysterothylacium* sp. (Tabela 3).

Tabela 3. Prevalência, abundância média e intensidade média das infrapopulações parasitárias de *P. blochii* do rio Acre e Xapuri, Acre, Brasil.

Parasitas	Prevalência (%)	Abundância Média ± s	Intensidade Média ± s	Nº Total de Parasitos	Sítio
Rio Acre					
Nematoda					
<i>Anisakis</i> sp.	1,67	0,02 ± 0,03	1	2	Intestino
Cucullanidae gen. sp.	5	0,08 ± 0,16	1,67 ± 0,89	10	Intestino
<i>Hysterothylacium</i> sp.	5	0,07 ± 0,13	1,33 ± 0,44	8	Intestino
Nematoda gen. sp.	30	0,63 ± 0,88	2,08 ± 1,17	75	Intestino
<i>Orientattractis moravecii</i>	14,17	3,51 ± 6,17	24,76 ± 25,08	421	Intestino
Pharyngodonidae gen. sp.	3,33	0,08 ± 0,16	2,5 ± 0,75	10	Intestino
<i>Philometroides acreanensis</i> .	0,83	0,02 ± 0,03	2	2	Parede do estômago
<i>Procamallanus</i> (S.) <i>pimelodus</i>	11,67	0,51 ± 0,90	4,36 ± 3,32	61	Intestino
<i>Rhabdochona</i> sp.	2,50	0,03 ± 0,05	1	3	Intestino
<i>Rondonia rondoni</i>	7,50	0,45 ± 0,83	6,0 ± 5,33	54	Intestino
Acanthocephala					
Cistos	10	0,28 ± 0,51	2,83 ± 1,97	34	Musculatura da cavidade abdominal
Trematoda					
	5	0,08 ± 0,14	1,50 ± 0,50	9	Intestino/Estômago
Parasitas	Prevalência (%)	Abundância Média ± s	Intensidade Média ± s	Nº Total de Parasitos	Sítio
Rio Xapuri					
Nematoda					
<i>Anisakis</i> sp.	2,50	0,03 ± 0,05	1	3	Intestino
<i>Contraecum</i> sp.	1,67	0,02 ± 0,03	1	2	Intestino
Cystidicolidae gen. sp.	1,67	0,02 ± 0,03	1	2	Intestino
Cucullanidae gen. sp.	3,33	0,14 ± 0,27	4,25 ± 1,88	17	Intestino
<i>Hysterothylacium</i> sp.	3,33	0,04 ± 0,08	1,25 ± 0,38	5	Intestino
Nematoda gen. sp.	16,67	0,40 ± 0,67	2,40 ± 2,04	48	Intestino
<i>Orientattractis moravecii</i>	24,17	6,92 ± 11,75	28,62 ± 31,66	830	Intestino
Pharyngodonidae gen. sp.	15	2,57 ± 4,49	17,11 ± 13,79	308	Intestino
<i>Procamallanus</i> (S.) <i>pimelodus</i>	35,83	1,34 ± 1,80	3,74 ± 2,46	161	Intestino
<i>Procamallanus</i> (S.) <i>rarus</i>	0,83	0,01 ± 0,02	1	1	Intestino
<i>Rhabdochona</i> sp.	4,17	0,07 ± 0,13	1,60 ± 0,72	8	Intestino
<i>Rondonia rondoni</i>	19,17	5,83 ± 10,24	30,43 ± 39,77	700	Intestino
Acanthocephala					
Cistos	15,83	0,73 ± 1,22	4,58 ± 3,89	87	Musculatura da cavidade abdominal
Trematoda					
	5,83	0,11 ± 0,20	1,86 ± 1,22	13	Intestino/Estômago

Desvio padrão (s)

INFRACOMUNIDADES

Dos 120 peixes examinados do rio Acre, 38,33% não estavam parasitados e 61,67% estavam parasitados por pelo menos uma espécie. Dos hospedeiros parasitados, 43 (35,83%) estavam infectados por 1 espécie de parasito, 23 (19,17%) abrigavam 2 espécies parasitos; 5 (4,17%) estavam parasitados por 3 espécies de parasitos e 3 (2,5%) abrigavam 4 espécies de parasitos. A média foi de 5,74 parasitos por peixe (Tabela 4).

Dos 120 peixes examinados do rio Xapuri, 30,83% não estavam parasitados e 69,17% abrigavam pelo menos 1 espécie de parasito. Dos hospedeiros parasitados, 29 (24,17%) estavam infectados por 1 espécie de parasito, 30 (25%) abrigavam 2 espécies parasitos, 14 (11,67%) estavam infectados por 3 espécies de parasitos, 5 (4,17%) abrigavam 4 espécies de parasitos, 2 (1,67%) estavam infectados por 5 espécies de parasitos, 2 (1,67%) estavam infectados por seis parasitos e 1 (0,83%) estava infectado por 7 espécies de parasitos (Tabela 4).

Tabela 4. Riqueza de parasitos por hospedeiros dos rios Acre e Xapuri, Acre, brasil.

Rio Acre	
Riqueza de Parasitos	Nº de Hospedeiros (%)
0	46 (38,33)
1	43 (35,83)
2	23 (19,17)
3	5 (4,17)
4	3 (2,54)

Rio Xapuri	
Riqueza de Parasitos	Nº de Hospedeiros (%)
0	37 (30,83)
1	29(24,17)
2	30 (25)
3	14 (11,67)
4	5 (4,17)
5	2 (1,67)
6	2 (1,67)
7	1 (0,83)

A comparação da diversidade de Shannon (H) mostrou diferença significativa entre os rios ($t=-2,8555$, $df=952,18$ e $p=0,0044$), com diversidade maior para o rio Xapuri.

O EFEITO DA SAZONALIDADE NOS DESCRITORES ECOLÓGICOS

Levando-se em consideração a sazonalidade, no rio Acre, *O. moraveci* foi a única a apresentar diferença significativa na abundância entre as duas estações, sendo significativamente mais abundante no período chuvoso ($U=1531$ e $p=0,019$). Não houve diferenças sazonais significativas para as outras espécies testadas: *P. (S.) pimelodus* ($U=1687$ e $p=0,287$) e *R. rondoni* ($U=1764$ e $p=0,683$). Pharyngodonidae gen. sp. foi encontrada apenas no verão (Tabela 5).

Para o rio Xapuri, *R. rondoni*, Pharyngodonidae gen. sp. e *P. (S.) pimelodus* apresentaram diferenças significativas sendo a primeira mais abundante no inverno ($U=1404$ e $p=0,002$) e as demais no verão ($U=1528$ e $p=0,021$ e $U=1364$ e $p=0,007$), respectivamente (Tabela 6).

A diversidade e a equitabilidade de parasitos do rio Xapuri foi superior a encontrada para o rio Acre ($H_{Xapuri}=1,541$, $J_{Xapuri}=0,5839$ e $H_{Acre}=1,394$, $J_{Acre}=0,561$). Apenas o rio Xapuri exibiu diferenças significativas ($t=-3,7878$, $df=1924,8$ e $p=0,0001$) quanto as estações do ano, com maior diversidade no período de estiagem e maior riqueza período chuvoso. O rio Acre não apresentou diferenças entre as estações do ano ($t=-0,775$, $df=603,96$ e $p=0,438$).

Tabela 5. Parâmetros parasitológicos por estação do ano das infrapopulações parasitárias de *P. blochii* do rio Acre.

Parasitas	Prevalência (%)		Abundância Média \pm s		Intensidade Média \pm s		Nº Total de Parasitos	
	Seca	Cheia	Seca	Cheia	Seca	Cheia	Seca	Cheia
Nematoda								
<i>Anisakis</i> sp.	1,67	1,67	0,02 \pm 0,03	0,02 \pm 0,03	1	1	1	1
Cucullanidae gen. sp.	5	5	0,12 \pm 0,22	0,05 \pm 0,09	2,33 \pm 0,89	1	7	3
<i>Hysterothylacium</i> sp.	5	5	0,07 \pm 0,13	0,07 \pm 0,13	1,33 \pm 0,44	1,33 \pm 0,44	4	4
Nematoda gen. sp.	26,67	33,33	0,47 \pm 0,68	0,78 \pm 1,04	1,75 \pm 1,03	2,35 \pm 1,22	28	47
<i>Orientattractis moravecii</i>	21,67	6,67	4,4 \pm 7,21	2,62 \pm 4,94	20,31 \pm 18,69	39,25 \pm 49,38	264	157
Pharyngodonidae gen. sp.	-	6,67	-	0,17 \pm 0,31	-	2,5 \pm 0,75	0	10
<i>Philometroides acreanensis</i>	1,67	-	0,03 \pm 0,07	-	2	-	2	0
<i>Procamallanus</i> (S.) <i>pimelodus</i>	8,33	15,00	0,45 \pm 0,83	0,57 \pm 0,96	5,4 \pm 3,68	3,78 \pm 3,09	27	34
<i>Rhabdochona</i> sp.	3,33	1,67	0,03 \pm 0,06	0,02 \pm 0,03	1	1	2	1
<i>Rondonia rondoni</i>	8,33	6,67	0,77 \pm 1,41	0,13 \pm 0,25	9,2 \pm 6,64	2 \pm 0,5	46	8
Acanthocephala								
Cistos	15	5	0,52 \pm 0,88	0,05 \pm 0,09	3,44 \pm 2,15	1	31	3
Trematoda gen. sp.	5	5	0,07 \pm 0,13	0,08 \pm 0,16	1,33 \pm 0,44	1,67 \pm 0,44	4	5

Desvio padrão (s)

Tabela 6. Parâmetros parasitológicos por estação do ano das infrapopulações parasitárias de *P. blochii* do rio Xapuri.

Parasitas	Prevalência (%)		Abundância Média \pm s		Intensidade Média \pm s		Nº Total de Parasitos	
	Seca	Cheia	Seca	Cheia	Seca	Cheia	Seca	Cheia
Nematoda								
<i>Anisakis</i> sp.	5	-	0,05 \pm 0,09	-	1	-	3	-
Cystidicolidae gen. sp.	3,33	-	0,03 \pm 0,06	-	1	-	2	-
<i>Contracaecum</i> sp.	1,67	1,67	0,02 \pm 0,03	0,02 \pm 0,03	1	1	1	1
Cucullanidae gen sp.	1,67	5	0,07 \pm 0,13	0,22 \pm 0,41	4	4,33 \pm 2,44	4	13
<i>Hysterothylacium</i> sp.	5	1,67	0,07 \pm 0,13	0,02 \pm 0,03	1,33 \pm 0,44	1	4	1
Nematoda gen. sp.	16,67	16,67	0,37 \pm 0,61	0,43 \pm 0,72	2,2 \pm 1,72	2,6 \pm 2,36	22	26
<i>Orientattractis moravecii</i>	26,67	21,67	6,75 \pm 11,29	7,08 \pm 12,22	25,31 \pm 26,64	32,69 \pm 38,86	405	425
Pharyngodonidae gen. sp.	8,33	21,67	0,08 \pm 0,15	5,05 \pm 7,91	1	23,31 \pm 13,15	5	303
<i>Procamallanus</i> (S.) <i>pimelodus</i>	25	46,67	0,75 \pm 1,13	1,93 \pm 2,25	3 \pm 2,13	4,14 \pm 2,49	45	116
<i>Procamallanus</i> (S.) <i>rarus</i>	1,67	-	0,02 \pm 0,03	-	1	-	1	-
<i>Rhabdochona</i> sp.	5	3,33	0,10 \pm 0,19	0,03 \pm 0,06	2 \pm 0,67	1	6	2
<i>Rondonia rondoni</i>	30,00	8,33	7,73 \pm 12,72	3,93 \pm 7,41	25,78 \pm 31,68	47,2 \pm 71,52	464	236
Acanthocephala.								
Cistos	26,67	5	1,38 \pm 2,11	0,07 \pm 0,13	5,19 \pm 4,11	1,33 \pm 0,44	83	4
Trematoda gen. sp.	8,33	3,33	0,17 \pm 0,31	0,05 \pm 0,1	2 \pm 1,6	1,5 \pm 0,5	10	3
Desvio padrão (s)								

Espécies de parasitos com potencial zoonótico

Larvas de *Anisakis* sp. e *Hysterothylacium* sp. foram encontradas parasitando *P. blochii* nos rios Acre e Xapuri. As larvas de *Anisakis* sp. apresentaram prevalência de 1,67%, abundância média de 0,02 e intensidade média de 1 parasito por peixe. As larvas de *Hysterothylacium* sp. também apresentaram baixos índices de prevalência (5%), abundância média (0,07) e intensidade média (1,33).

7.4 DISCUSSÃO

A biodiversidade parasitária de *P. blochii* nos rios Acre e Xapuri é composta por helmintos adultos e larvas. Os nematódeos estão entre os endohelmintos mais abundantes nas espécies de *Pimelodus*, do rio Mogi Iguçu, Estado de São Paulo (Kohn & Fernandes 1987), rio Itajaí-Açu, Estado de Santa Catarina (Bachmann et al. 2007), e rio São Francisco, Estado de Minas Gerais (Sabas & Brasil-Sato 2014).

Neste estudo, os dados das infracomunidades parasitárias em *P. blochii* confirmam, de acordo com as curvas de rarefação para os dois rios, que houve um esforço de coleta adequado para avaliação da riqueza de endohelmintos das áreas estudadas.

Entre os nematódeos, Sabas & Brasil-Sato (2014) encontraram elevada prevalência de *P. (S.) pimelodus* e evidenciaram que este é um padrão relevante que mostra a mesma composição estrutural das espécies representativas de camalanídeos em hospedeiros pimelodídeos congêneres (*P. maculatus*, *P. pohli*). Este é o mesmo padrão de *P. (S.) pimelodus* de *P. blochii*, ocorrendo adicionalmente *P. (S.) rarus*. Como o gênero *Pimelodus* (Lacepède) é considerado uma assembléia parafilética que requer revisão (Lundberg & Littmann 2003, Lundberg et al. 2011), a existência de três espécies de hospedeiros congêneres, de regiões bem distintas, parasitados por uma mesma espécie de parasito (*P. (S.) pimelodus*) pode sugerir similaridade genética dos hospedeiros e/ou baixa especificidade do parasito, justificando sua ampla distribuição geográfica. A alta prevalência de *O. moravecii* em *P. blochii* dos rios Acre e Xapuri não pode ser comparada com outras regiões do Brasil por se tratar de uma espécie descrita apenas na região (Cavalcante et al. 2017b).

A patogenicidade dos parasitos nos peixes está ligada a espécies de *Procamallanus* e *Cucullanus*, responsáveis por causar lesões e reações inflamatórias

na mucosa intestinal, devido a fixação por meio de cápsulas bucais e por se alimentarem de sangue e fluidos teciduais, podendo causar anemia nos hospedeiros (Santos et al. 2013; Wu, 2007). Em pequenos peixes podem levar a um comprometimento do crescimento e causar obstrução intestinal. Em relação aos Philometridae, há vários registros em ambientes de água doce no Brasil, tendo sido encontrados em cavidades e superfícies corporais, mas pouco se sabe sobre seu potencial patogênico (Santos et al. 2013). Apesar de ter sido encontrado em apenas um entre os 240 espécimes de *P. blochii* examinados, é possível que *P. acreanensis*, com seu considerável tamanho, pode vir a comprometer a saúde de seu hospedeiro quando em alta prevalência.

As larvas de *Anisakis* sp. e *Hysterothylacium* sp. foram aqui encontradas em baixa prevalência e abundância. Esse fato é relevante, tendo em vista o conhecido caráter zoonótico desses parasitos. O sítio de infecção em *P. blochii* associado ao tipo de preparo do pescado (frito ou cozido), além da baixa prevalência e intensidade média, indicam que não há risco de zoonose emergente proveniente deste pescado na região.

A prevalência foi baixa (<6%) para os trematódeos de *P. blochii* dos rios Acre e Xapuri. Resultados semelhantes foram obtidos por Orélis-Ribeiro & Bullard (2015), quando descreveram os trematódeos *Plehnella armbrusteri* e *Plehnella sabajperezii* de *P. blochii*, da Bolívia e Peru. Quanto aos acantocéfalos, adultos de *Neoechinorhynchus* (*Neoechinorhynchus*) *pimelodi* Brasil-Sato & Pavanelli, 1998 foram relatados em *Pimelodus maculatus* (Lacépède 1803) da represa de Três Marias (Brasil-Sato & Pavanelli 1998; Santos et al. 2008). Entretanto, no presente trabalho apenas cistos muito pequenos foram encontrados na cavidade abdominal dos peixes, evidenciando o papel destes como hospedeiros intermediários ou paratênicos nos ciclos de vida dos acantocéfalos.

De acordo com Bauer (1961), a organização da comunidade de parasitos pode ser influenciada pelo: (I) tamanho do hospedeiro; (II) mudanças na dieta; (III) aumento no volume do alimento, (IV) variações comportamentais entre o sexo do hospedeiro, (V) modificação na possibilidade de contato com hospedeiros intermediários e (VI) pelas condições do meio ambiente. Diante de tais possibilidades, descartamos o tamanho do hospedeiro que não influenciou na abundância dos parasitos analisados. A mudança na dieta, deve ser levada em consideração, uma vez que o *P. blochii* tem hábito alimentar diversificado alimentando-se de invertebrados, frutos e

detritos(López-Casas & Jiménez-Segura, 2007), sugerindo grande adaptação trófica que varia com a disponibilidade de presas (Santos et al. 2006). Os itens II e IV não puderam ser analisados por falta de dados sobre o volume alimentar e sobre o comportamento dessa espécie. As modificações na possibilidade de contato com os hospedeiros intermediários podem acontecer em decorrência das grandes variações de volume das águas na região Amazônica.

Os rios Acre e Xapuri, durante a estação estiagem podem ser facilmente atravessados a pé pelos moradores de algumas localidades, entretanto durante a estação chuvosa, suas águas podem atingir uma profundidade de mais de 10m, com a vegetação em suas margens sendo arrastada pela força das águas. No rio Acre, devido a existência de diferentes municípios em seu entorno, a pressão antrópica pode promover alterações nos rios e conseqüentemente impactos em suas comunidades de hospedeiros e parasitos. As margens do rio Acre são menos protegidas e suas águas recebem os poluentes e esgotos *in natura* dos moradores, fazendo desse rio um ambiente mais favorável a desequilíbrio ambiental que podem influenciar nos índices parasitários. Outro fator importante é a maior atividade pesqueira realizada no rio Acre, com relatos de pesca ilegal realizada por pescadores peruanos, uma vez que esta atividade pode influenciar na análise do padrão de distribuição dos parasitos (agregado) devido a regulação dos hospedeiros (Machado, et al. 2013).

No rio Xapuri, o menor aporte de esgotos *in natura* associado a atividade pesqueira menos intensa pode sugerir que alí a sazonalidade esteja desempenhando um papel mais relevante tanto na diversidade parasitária que foi maior estação chuvosa, quanto na riqueza que foi maior no período de estiagem. Isto pode estar relacionado ao fato de que no período chuvoso a equitabilidade foi maior, ou seja, a distribuição das abundâncias entre as espécies foi mais equilibrada. Uma vez que o índice de diversidade leva em conta tanto a riqueza quanto a abundância relativa, a diversidade foi maior na estação de maior equitabilidade. Este é o primeiro relato de descritores ecológicos para parasitos de *P. blochii* no estado do Acre e poderá auxiliar futuros estudos sobre parasitos desse hospedeiro.

8. CONCLUSÕES

- Os nematódeos de *P. blochii* coletados nos rios Acre e Xapuri foram identificados e caracterizados como: *P. (S.) pimelodus*, *P. (S.) rarus*, *R. rondoni*, *Cucullanus* sp., *Anisakis* sp., *Hysterothylacium* sp., *Contracaecum* sp., *Rhabdochona* sp., Pharyngodonidae gen. sp., Cystidicolidae gen. sp., Nematoda gen. sp., cistos de Acanthocephala e Trematoda gen. sp., além das novas espécies de *Orientattractis* e *Philometroides*.
- Os perfis genéticos de *Orientattractis* n. sp. e *Rondonia rondoni* (Atractidae) geraram novas sequências que possibilitaram uma análise filogenética de Cosmocercoidea.
- *Pimelodus blochii* do rio Xapuri apresentou maior diversidade, equitabilidade e abundância de parasitos com diferenças sazonais significativas para algumas infracomunidades. A maior intensidade foi observada para o *O. moravecii* no rio Acre e *R. rondoni* no rio Xapuri; *P. acreanensis* foi encontrado apenas no rio Acre e *P. (S.) rarus*, *Contracaecum* sp. e *Hysterothylacium* sp. apenas no rio Xapuri.
- O consumo de *P. blochii* dos rios Acre e Xapuri não evidenciou riscos para a saúde da população devido a baixa prevalência, abundância média e intensidade média de infecção de larvas com potencial zoonótico como *Anisakis* sp. e *Hysterothylacium* sp., que poderia estar associado ao modo de preparo desse pescado.
- Novas espécies foram descritas para este hospedeiro da Amazônia ...

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acre. Plano Territorial de Desenvolvimento Rural Sustentável: Território do Alto Acre e Capixaba Estado do Acre. MDA/SDT 2010a, 102 pp.

Acre. Zoneamento Ecológico-Econômico do Acre, Fase II (Escala 1:250.000): Documento síntese. 2ed, Rio Branco: SEMA 2010b, 356 pp.

Acre. Acre em Números. Rio Branco: SEPLAN 2011, 103 pp.

Acre. Plano estadual de recursos hídricos do Acre. Rio Branco, SEMA 2012, 243 pp.

Abud, EA, Lani, JL, Araújo, EA, Amaral, EF, Bardales, NG, Filho, EIF. Caracterização morfométrica das sub-bacias no município de Xapuri: subsídios à gestão territorial na Amazônia Ocidental. Rev Ambient e Água. 2015; 10(2).

Altschul S, Gish W, Miller W, Meyers E, Lipman D. Basic Local Alignment Search Tool. J Mol Biol. 1990; 215:403–410.

Aragão JAN, Castro e Silva SMM. Relatório do censo estrutural da pesca de águas continentais na região norte CEPNOR/IBAMA. 233p. 2006.

Bachmann F, Greinert JA, Bertelli PW, Filho HHS, Lara NOT, Ghiraldelli L, et al. Parasitofauna de *Pimelodus maculatus* (Osteichthyes: Pimelodidae) do rio Itajaí-Açu em Blumenau, Estado de Santa Catarina, Brasil. Acta Sci Biol Sci 2007; 29(1): 109–114.

Barassa B, Cordeiro NS, Arana S. A New Species of *Henneguya*, a Gill Parasite of *Astyanax altiparanae* (Pisces: Characidae) from Brazil, with Comments on Histopathology and Seasonality. Mem Inst Oswaldo Cruz 2003; 98(6): 761–765.

Bauer ON. Relationships between host fishes and their parasites. In: V.A. Dogiel; G.K. Petrushevski; Y.I. Polyanski (Eds.). *Parasitology of fishes*. Traduzido por Z. Kabata, Oliver and Boyd, London 1961; p. 84–103.

Baylis HA. Some parasitic worms from *Arapaima gigas* (teleostean fish) with a description of *Philometra senticosa* n. sp. (Filarioidea). Parasitology 1927; 19(1): 35–47.

Billings AN, Teltow GJ, Weaver SC, Walker DH. Molecular characterization of a novel *Rickettsia* species from *Ixodes scapularis* in Texas. Emerg Infect Dis 1998; 4(2): 305.

Boujard T. Poissons de Guyane: Guide écologique de l'Approuague et de la réserve des Nouragues. Institut National de La Recherche Agronomique; 1997.

Brasil-Sato MC, Pavanelli GC. *Neoechinorhynchus pimelodi* sp. n. (Eoacanthocephala, Neoechinorhynchidae) parasitizing *Pimelodus maculatus* Lacépède, “mandi-amarelo” (Siluroidei, Pimelodidae) from the basin of the São Francisco river, Três Marias, Minas Gerais, Brazil. Rev Bras Zool 1998; 15(4): 1003–1011.

Buckley JJC. On a remarkable oxyurid nematode, *Orientattractis leiperi* n. sp., (Atractidae) from a South American tortoise, *Podocnemis vogli*. J Helminthol 1969; 43(3–4): 281–286.

Burseley C, Goldberg S, Kraus F. New species of *Orientattractis* (Nematoda: Atractidae), new species of *Rondonia* (Nematoda: Atractidae) and other helminths in *Austrochaperina basipalmata* (Anura: Microhylidae) from Papua New Guinea. Acta Parasitol 2014; 59(1): 115–121.

Bush, AO, Fernández, JC, Esch, GW, Seed, JR. Parasitism: the diversity and ecology of animal parasites. Cambridge University Press 2001.

Bush AO, Lafferty KD, Lotz JM, Shostak AW. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. J Parasitol 1997; 83: 575–583.

Cárdenas MQ, Lanfredi, RM. Further description of *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) *halitrophus* comb. n. (Nematoda: Camallanidae) from flounder off the Brazilian coast by light and scanning electron microscopy. J Parasitol 2005; 91(3), 606–613.

Cárdenas MQ, Moravec F, Fernandes BMM, Morais AM. A new species of *Philometra* Costa, 1845 (Nematoda: Philometridae) from the freshwater fish (red piranha) *Pygocentrus nattereri* Kner (Characidae) in Amazonia, Brazil. *Syst Parasitol* 2012; 83(2): 137–44.

Cavalcante PHO, Moravec F, Santos CP. The Philometrid Nematode *Philometroides acreanensis* n. sp. from the stomach wall of the catfish *Pimelodus blochii* in North-Western Brazil. *J Helminthol* 2017a; 1–7.

Cavalcante PHO, Silva MT, Santos EGN, Chagas-Moutinho VA, Santos CP. *Orientattractis moraveci* n. sp. and *Rondonia rondoni* Travassos, 1920 (Nematoda: Atractidae), parasites of *Pimelodus blochii* (Osteichthyes, Pimelodidae) from the Acre and Xapuri Rivers, Western Amazon, Brazil. *Parasitology* 2017b; 144(2): 226–236.

Chabaud AG. Keys to genera of the order Spirurida. Part. 1. Camallanoidea, Dracunculoidea, Gnathostomatoidea, Physalopteroidea, Rictularoidea and Thelazioidea. In Anderson, R.C., Chabaud, A.G. & Willmott, S. (Eds) CIH keys to the nematode parasites of vertebrates. No. 3. 27 pp. Farnham Royal, Bucks, Commonwealth Agricultural Bureaux. 1975.

Chisholm LA, Morgan JAT, Adlard RD, Whittington ID. Phylogenetic analysis of the Monocotyliidae (Monogenea) inferred from 28S rDNA sequences. *Int J Parasitol* 2001; 31(13): 1537–1547.

Choudhury A, Dick TA. Patterns and determinants of helminth communities in the Acipenseridae (Actinopterygii: Chondrostei), with special reference to the lake sturgeon, *Acipenser fulvescens*. *Can J Zool* 1998; 76(2): 330–349.

Costa SCG. *Rondonia rondoni* Travassos, 1920:(Nematoda, Atractidae). *Memórias do Inst Oswaldo Cruz* 1963; 61(1): 75–88.

Dias MKR & Tavares-Dias M. Seasonality affects the parasitism levels in two fish species in the eastern Amazon region. *J Appl Ichthyol* 2015; 31: 1049-1055.

Felsenstein J. Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *J Mol Evol* 1981; 17(6): 368–376.

Fortes E. Descrição de quatro espécies novas de helmintos de bagres (Pisces, Bagridae) do estuário do Guaíba, Porto Alegre, RS, Brasil. *Arq Fac Vet UFRGS* 1981; 9: 69–78.

Froese R, Pauly D. Minimizing the impact of fishing. *Fish and Fisheries* [periódicos na Internet]. 2016 FishBase [acesso em 15 jul 2016]; 16(2). Disponível em: <http://www.fishbase.de/rfroese/MinimizingImpactfaf.pdf>

Gállego-Berenguer J. Revision de la familia Atractidae Travassos, 1920, con descripción de dos nuevas especies. *Rev Ibérica Parasitol* 1947;7: 3–90.

Gibbons LM, Platt TR. *Rhinoclemmysnema* ng and three new species of nematodes of the family Atractidae (Cosmocercoidea), with notes on the helminth fauna of *Rhinoclemmys pulcherrima* (Testudines: Bataguridae) in Costa Rica. *J Helminthol* 2006; 80(4): 333–340.

Gonçalves RA, Oliveira MSB, Neves LR & Tavares-Dias, M. Seasonal pattern in parasite infracommunities of *Hoplerythrinus unitaeniatus* and *Hoplias malabaricus* (Actinopterygii: Erythrinidae) from the Brazilian Amazon. *Acta Parasitol* 2016; 61: 119–129.

González-Solís D, Moravec F. Two new nematode species, *Orientattractis campechensis* n. sp. and *Orientattractis chiapasensis* n. sp. (Nematoda: Atractidae) from cichlid fishes in southern Mexico and Nicaragua. *J Parasitol* 2004; 90(6): 1443–1449.

Goulding M. *The fishes and the forest: exploration in Amazonian natural history*. Univ of California Press. 1980.

Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD. PAST: Paleontological Statistics Software package for education and data analysis. *Palaeontol Electronica* 2001; 4: 1–9.

Hassouna, N., Mithot, B., & Bachellerie, J. P. The complete nucleotide sequence of mouse 28S rRNA gene. Implications for the process of size increase of the large subunit rRNA in higher eukaryotes. *Nucleic Acids Res* 1984; 12(8): 3563–83.

Hochberg NS, Hamer DH. Anisakidosis: Perils of the deep. *Clin Infect Dis*. 2010; 51(7): 806–812.

Hoffman GL. Parasites of North American freshwater fishes. Cornell University Press; 1999.

Hudson PJ, Dobson AP, Lafferty KD. Is a healthy ecosystem one that is rich in parasites? *Trends Ecol Evol* 2006; 21(7): 381–385.

ibge.gov.br [<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>] Brasil: Instituto brasileiro de Geografia e Estatística. [Atualizado em 2010; Citado em 28 de maio de 2013]. Disponível em: www.ibge.gov.br.

Inglis WG, Ogden CG. *Miscellanea nematodologica*. IV. The male of *Alinema alii* Rasheed, 1963. *J Nat Hist* 1964; 7(81): 523–525.

Ivashkin VM, Sobolev AA, Khromova LA. *Camallanata of animals and man and the diseases caused by them*. *Osn Nematodologii*. 1971.

Junk WJ, Bayley PB, Sparks RE. The flood pulse concept in river-floodplain systems. Dodge DP, organizador. *Can Spec Publ Fish Aquat Sci* 1989; 106(1): 110–127.

Kohn A, Fernandes BMM. Estudo comparativo dos helmintos parasitos de peixes do Rio Mogi Guassu, coletados nas excursões realizadas entre 1927 e 1985. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1987; 82(4): 483–500.

Koubková B, Baruš V, Hodová I, Šimková A. Morphometric and molecular characteristics of *Labeonema synodontisi* n. comb. (Nematoda: Atractidae) from the West African fishes. *Parasitol Res* 2008; 102(5): 1013–20.

Lizama MAP, Fernandes ES, Oda FH, Moreira LHA & Ribeiro TS. Parasitos como bioindicadores. In: Pavanelli GC, Takemoto RM, Eiras JC. eds. 2013, 17–35.

López-Casas S, Jiménez-Segura LF. Reproducción y hábitos alimenticios del nicuro, *Pimelodus blochii* (Valenciennes, 1840) (pisces: pimelodidae), en la ciénaga de Cachimbero, río Magdalena, Colombia. Actual Biol 2007; 29(87): 193–201.

Ludwig JA, Reynolds JF. Statistical ecology: a primer in methods and computing. Vol. 1. John Wiley & Sons; 1988.

Lundberg JG, Littmann MW. Family Pimelodidae (long-whiskered catfishes). In: Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America, Edipucrs, Porto Alegre, 2003, p. 432–446.

Lundberg JG, Sullivan JP, & Hardman, M. Phylogenetics of the South American catfish family Pimelodidae (Teleostei: Siluriformes) using nuclear and mitochondrial gene sequences. Proc. Acad. Nat. Sci. Philadelphia 2011; 161(1): 153–189.

Luque JL, Aguiar JC, Vieira FM, Gibson DI, Santos CP. Checklist of Nematoda associated with the fishes of Brazil. Zootaxa 2011; 3082(1): 1–88.

Luque JL. Biología, epidemiología e controle de parasitos de peixes. Rev Bras Parasitol Vet 2004; 13(Supl 1): 161–5.

Macêdo MNC, Dias HCT, Coelho FMG, Araújo EA, Souza MLH, Silva L. Precipitação pluviométrica e vazão da bacia hidrográfica do Riozinho do Rôla, Amazônia Ocidental. Rev Ambient e Água. 2013; 8(1).

Machado MH, Souza GTR, Ribeiro TS. Regulação Parasitária em Ecossistemas Dulcícolas. In: Pavanelli GC, Takemoto RM, Eiras JC. eds. 2013, 135–148pp.

Maciel LG, Santos JS, de Araújo JA. Relação das características morfométricas externas do mandi (*Pimelodus blochii*) em relação ao seu potencial de produção de filé. Rev Agrotec 2014; 35(1): 113–120.

Malta JC de O. Os peixes de um lago de várzea da Amazônia Central (Lago Janauacá, Rio Solimões) e suas relações com os crustáceos ectoparasitas (Branchiura: Argulidae). Acta Amaz 1984; 14(3–4): 355–372.

Martins ML, Fujimoto RY, Moraes FR de, Andrade PM, Nascimento AA do, Malheiros EB. Description and prevalence of *Thynnascaris* sp. larvae Dollfus, 1933 (Nematoda: Anisakidae) in *Plagioscion squamosissimus* Heckel, 1840 from Volta Grande Reservoir, State of Minas Gerais, Brazil. Rev Bras Biol 2000; 60(3): 519–526.

Martins ML, Yoshitoshi ER. A new nematode species *Goezia leporini* n. sp. (Anisakidae) from cultured freshwater fish *Leporinus macrocephalus* (Anostomidae) in Brazil. Braz J Biol 2003; 63(3): 497–505.

Melo M, Santos J, Giele E, Santos E, Santos C. *Raphidascaris (Sprentascaris) lanfrediae* sp. nov. (Nematoda: Anisakidae) from the fish *Satanoperca jurupari* (Osteichthyes: Cichlidae). Mem Inst Oswaldo Cruz 2011; 106(5): 553–556.

Montes MM, Plaul SE, Martorelli SR. A new species of philometrid parasite (Nematoda, Philometridae) and histopathological lesions in juvenile whitemouth croakers, *Micropogonias furnieri* (Desmarest). J Fish Dis. 2016; 39: 1053–1059.

Moravec F, others. Parasitic nematodes of freshwater fishes of Europe. Dordrecht; Boston: Kluwer Academic Publishers; 1994, 473p.

Moravec F, Barton DP. New tissue-dwelling species of *Philometra* Costa, 1845 and *Philometroides* Yamaguti, 1935 (Nematoda: Philometridae) from marine perciform fishes off the northern coast of Australia. Syst Parasitol 2016; 93(7): 623–637.

Moravec F, Crosby MD, de Buron I, González-Solís D, Roumillat WA. Three new species of philometrids (Nematoda: Philometridae) from centrarchid fishes in the USA. J Parasitol 2008; 94(5): 1103–1113.

Moravec F, de Buron I. A synthesis of our current knowledge of philometrid nematodes, a group of increasingly important fish parasites. Folia Parasitol 2013; 60(2): 81.

Moravec F, de Buron I. Two new species of philometrids (Nematoda: Philometridae) from marine fishes off South Carolina. *J Parasitol* 2009; 95(3): 722–727.

Moravec F, Diggles B. *Philometra mirabilis* sp. n. (Nematoda: Philometridae), a new gonad-infecting parasite from the freshwater fish *Cichla miriana* (Cichlidae) in Brazilian Amazon. *Parasitol Res* 2015; 114(5): 1929–1932.

^aMoravec F, Halajian A, Tavakol S, Nyagura I, Luus-Powell WJ. *Philometroides khalili* n. sp., a new philometrid nematode (Philometridae) from the operculum of the cyprinid fish *Labeo rosae* in Zimbabwe. *Helminthologia* 2015; 52(2): 113–117.

^bMoravec F, Kamchoo K, Pachanawan A. New nematode species, *Orientattractis mekongensis* n. sp. (Atractidae) and *Neosynodontisia suratthaniensis* ng, n. sp. (Pharyngodonidae) from freshwater fishes in Thailand. *Syst Parasitol* 2015; 92(3): 197–209.

Moravec F, Kohn A, Fernandes BMM. Nematode parasites of fishes of the Paraná River, Brazil. Part 1. Trichuroidea, Oxyuroidea and Cosmorcecoidea. *Folia Parasitol* 1992; 39: 327–353.

Moravec F, Salgado-Maldonado G, Aguilar-Aguilar R. *Neophilometroides* n. gen. (Nematoda: Philometridae) for *Philometroides caudatus* Moravec, Scholz and Vivas-Rodríguez, 1995, with erection of Neophilometroidinae n. subfam. *J Parasitol* 2002; 88(4): 774–777.

Moravec F, Van As JG. Nematodes from the squeaker fishes *Synodontis nigromaculatus* and *S. vanderwaali* from the Okavango River, Botswana, including three new species. *Syst Parasitol* 2004; 59(3): 169–187.

Moravec F. Dracunculoid and anguillicoloid nematodes parasitic in vertebrates. Prague, Academia; 2006.

Moravec F. Nematodes of Freshwater Fishes of the Neotropical Region. Prague: Academia; 1998.

Moreira NIB, Oliveira CL de, Costa HM de A. A new helminth parasite of fish: *Spirocamallanus freitasi* sp. n. (Nematoda-Camallanidae). Mem Inst Oswaldo Cruz 1991; 86(4): 429–431.

Nadler SA, Carreno RA, Mejía-Madrid H, Ullberg J, Pagan C, Houston R, et al. Molecular phylogeny of clade III nematodes reveals multiple origins of tissue parasitism. Parasitology 2007; 134(10): 1421–1442.

Neves LR, Pereira FB, Tavares-Dias M, Luque, JL. (2013). Seasonal Influence on the parasite fauna of a wild population of *Astronotus ocellatus* (Perciformes: Cichlidae) from the Brazilian Amazon. J Parasitol 2013; 99: 718–721.

Nylander JAA. MrModeltest v2. Program distributed by the author. Evol Biol Centre, Uppsala Univ 2004.

Orélis-Ribeiro R, Bullard SA. Blood flukes (Digenea: Aporocotylidae) infecting body cavity of South American catfishes (Siluriformes: Pimelodidae): two new species from rivers in Bolivia, Guyana and Peru with a re-assessment of *Plehniiella* Szidat, 1951. Folia Parasitol 2015; 62(50): 1–17.

Padovani CR, Forsberg BR, Pimentel TP. Contaminação mercurial em peixes do rio Madeira: Resultados e recomendações para consumo humano. Acta Amaz 1996; 25(1): 2.

Parukhin AM. Nematodes from fishes of the Red Sea and Indian Ocean. Vopr Ekol Ryb Yuzhnykh Morey Biol Morya 1971; 23:177–193.

Parukhin AM. Parasitic worms of commercial fishes of the southern seas. Nauk Dumka, Kiev (In Russ.) 1976.

Pereira FB, Tavares LER, Paiva F, Scholz T, Luque JL. A morphological and molecular study of *Spectatus spectatus* (Kathlaniidae), including redescription of the species and amendment of genus diagnosis. J Parasitol. 2015; 101(4): 468–475.

Pérez-Ponce de León G, Choudhury A. Adult endohelminth parasites of ictalurid fishes (Osteichthyes: Ictaluridae) in Mexico: empirical evidence for biogeographical patterns. *Comp Parasitol* 2002; 69(1): 10–19.

Pérez-Ponce de León G, Choudhury A. Biogeography of helminth parasites of freshwater fishes in Mexico: the search for patterns and processes. *J Biogeogr* 2005; 32(4): 645–659.

Petter AJ, Golvan YJ, Tchepprakoff R. Nématodes de poissons de rivière en Guadeloupe. *Bull du Museum Natl d'Histoire Nat Paris, Ser.* 1977; 3: 159–71.

Petter AJ. Équilibre des espèces dans les populations de nématodes parasites du colon des tortues terrestres. *Mémoires du Muséum national d'Histoire naturelle, Series A., Zoologie* 1966; 39: 1–252.

Petter AJ. Nématodes de Poissons du Paraguay. VIII. Habronematoidea, Dracunculoidea et Ascaridoidea. *Revue Suisse de Zoology* 1995; 101: 761–769.

Poulin R, and Mouillot D. Parasite specialization from a phylogenetic perspective: A new index of host specificity. *Parasitology* 2003; 126: 473–480.

Poulin R, Krasnov BR, Mouillot D, Thieltges DW. The comparative ecology and biogeography of parasites. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 2011; 366(1576): 2379–2390.

Prosser SW, Velarde-Aguilar MG, León-Règagnon, V; Hebert, P. D. Advancing nematode barcoding: a primer cocktail for the cytochrome c oxidase subunit I gene from vertebrate parasitic nematodes. *Mol Ecol Resour* 2013; 13(6): 1108–1115.

Rambaut A. FigTree 1.4.2 software. Institute of Evolutionary Biology, Univ. Edinburgh. 2014.

Rasheed S. A revision of the genus *Philometra* Costa, 1845. *J Helminthol* 1963; 37(1–2): 89–130.

Reis IC, Honório NA, Barros FSM, Barcellos C, Kitron U, Camara DCP, et al. Epidemic and endemic malaria transmission related to fish farming ponds in the Amazon frontier. PLoS One 2015; 10(9): e0137521.

Reis RE, Kullander SO, Ferraris CJ. Introduction, p. 1–9 In Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America. Copeia. Porto Alegre, Brasil: Edipucrs; 2003.

Ribeiro FRV, Lucena CAS. A new species of *Pimelodus* (Siluriformes, Pimelodidae) from Tapajós and Tocantins rivers, Brazil. Iheringia, Sér. Zool 2006; 96: 321–327.

Rigby MC, and Adamson ML. Spirocamallanus species of French Polynesian coral reef fishes. Canadian Journal of Zoology 1997; 75: 1270– 1279.

Rodrigues MNG, Dias MKR, Marinho RGB & Tavares-Dias M. Parasites diversity of *Osteoglossum bicirrhosum*, an Osteoglossidae fish from Amazon. Neotropical Helminthology 2014; 8(2): 383–391.

Ronquist F, Huelsenbeck JP. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics 2003; 19(12): 1572–1574.

Rosas-Valdez R, de León GP-P. Patterns of host specificity among the helminth parasite fauna of freshwater siluriforms: testing the biogeographical core parasite fauna hypothesis. J Parasitol 2011; 97(2): 361–363.

Rózsa L, Reiczigel J, Majoros G. Quantifying parasites in samples of hosts. The J Parasitol 2000; 86(2): 228–232.

Rychlinski RA, Deardorff TL. Disease prevention and control. *Spirocamallanus*: a potential fish health problem. Freshw Mar Aquarium 1982; 5:79–83.

Sabas CSS, Brasil-Sato MC. Helminth fauna parasitizing *Pimelodus pohli* (Actinopterygii: Pimelodidae) from the upper São Francisco River, Brazil. Rev Bras Parasitol Vet 2014; 23(3): 375–382.

Santos CP, Borges JN, Fernandes ES, Pizani APCL. Nematoda. In: Pavanelli GC, Takemoto RM, Eiras JC. eds. 2013, 332–352pp.

Santos CP, Gibson DI, Tavares LER, Luque JL, others. Checklist of Acanthocephala associated with the fishes of Brazil. *Zootaxa* 2008; 1938: 1–22.

Santos CP, Moravec F. Tissue-dwelling philometrid nematodes of the fish *Arapaima gigas* in Brazil. *J Helminthol* 2009; 83(3): 295–301.

Santos GM, Ferreira E, Zuanon J. Peixes comerciais de Manaus. ProVárzea, IBAMA/AM, Manaus, 2006, 141p.

Sinnappah ND, Lim L-HS, Rohde K, Tinsley R, Combes C, Verneau O. A paedomorphic parasite associated with a neotenic amphibian host: phylogenetic evidence suggests a revised systematic position for Sphyrnurae within anuran and turtle polystomatoineans. *Mol Phylogenet Evol* 2001; 18(2): 189–201.

Swoford DL. Phylogenetic analysis using parsimony (* and other methods). *PAUP*. 2002; 4, b10.

Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol* 2011; 28(10): 2731–2739.

Tavares-Dias M, Oliveira MSB, Gonçalves, R & Silva LMA. Ecology and seasonal variation of parasites in wild *Aequidens tetramerus*, a Cichlidae from the Amazon. *Acta Parasitol* 2014; 54: 158-164.

Tavares LER, Saad CDR, Cepeda PB, Luque JL. Larvals of *Terranova* sp.(Nematoda, Anisakidae) parasitic in *Plagioscion squamosissimus* (Perciformes, Sciaenidae) from Araguaia River, State of Tocantins, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2007; 16(2): 110–115.

Thatcher V, Brites-Neto J. Diagnóstico, prevenção e tratamento das enfermidades de peixes neotropicais de água doce. *Rev Bras Med Vet* 1994; 16(3): 111–128.

Thatcher VE. Aquatic Biodiversity in Latin America. Amazon Fish Parasites. Vol. 1. Sofia-Moscow: Pensoft; 2006.

Thomas LJ. *Philometra nodulosa* nov. spec.: With Notes on the Life History. J Parasitol 1929; 15(3): 193–198.

Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Res 1994; 22(22): 4673–4680.

Travassos L, Artigas P, Pereira C. Fauna helminthológica dos peixes de água doce do Brasil 1928; 1: 5–68.

Travassos L. Sobre nematódeos cavitários de peixes do Rio Amazonas. Atas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro 1960; 4: 15–20.

Travassos, L. Esbôço de uma chave geral dos nematódeos parasitos. Revista de Veterinária e Zootecnia 1920; 10: 59–70.

Vaz Z, Pereira C. Contribuição ao conhecimento dos nematoides de peixe fluviais do Brasil. Arquivos do Instituto de Biologia de São Paulo 1934; 5: 87–103.

Vieira JP, Giarrizzo T, Spach H. Necton. In Avaliação Ambiental de Estuários Brasileiros: Diretrizes Metodológicas (ed. Lana, P.C., Bianchini, A., Ribeiro, C., Niencheski, L. F. H., Filmann, G. and Santos, C. G. S.), Vol. 1. Museu Nacional, Rio de Janeiro; 2006. 145–147.

Violante-González J, Aguirre-Macedo ML & Rojas-Herrera A. Comunidad de parásitos metazoarios de la charra *Cichlasoma trimaculatum* en la laguna de Tres Palos, Guerrero, México. Rev Mex de Biodivers 2008; 79: 405–412.

Wijová M, Moravec F, Horák A, Lukeš J. Evolutionary relationships of *Spirurina* (Nematoda: Chromadorea: Rhabditida) with special emphasis on dracunculoid nematodes inferred from SSU rRNA gene sequences. Int J Parasitol 2006; 36(9): 1067–1075.

Wu S, Wang G, Gao D, Xi B, Yao W, Liu M. Occurrence of *Camallanus cotti* in greatly diverse fish species from Danjiangkou Reservoir in central China. *Parasitol Res* 2007; 101(2): 467–471.

Yooyen T, Moravec F, Wongsawad C. Two new sibling species of *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) (Nematoda: Camallanidae) from marine fishes in the Gulf of Thailand. *J Parasitol* 2011; 97(5): 931–938.

ANEXOS

Orientattractis moraveci n. sp. and *Rondonia rondoni*
Travassos, 1920 (Nematoda: Atractidae), parasites of
Pimelodus blochii (Osteichthyes, Pimelodidae) from the
Acre and Xapuri Rivers, Western Amazon, Brazil

PEDRO H. O. CAVALCANTE^{1,2}, MARALINA T. SILVA^{2,3}, EVERTON G. N. SANTOS^{4,5},
VANESSA A. CHAGAS-MOUTINHO⁴ and CLAUDIA P. SANTOS^{4*}

¹ Instituto Federal do Acre – IFAC, Xapuri, AC, Brazil

² Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Saúde, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz

³ Instituto Federal do Acre – IFAC, Rio Branco, AC, Brazil

⁴ Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

⁵ Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro – FIPERJ, Escritório Regional Metropolitano II, Rua Ailton da Costa, 115, sl. 606 – Vinte Cinco de Agosto, Duque de Caxias – RJ, 25071-160

(Received 29 July 2016; revised 30 August 2016; accepted 30 August 2016; first published online 17 October 2016)

SUMMARY

The fish fauna in the State of Acre represents 10.7% of all fish species recorded from Brazil, but, despite this, there are few fish parasite studies in this area. The recent expansion of fish farming in Acre prompted a need for helminthological studies of the most commonly consumed fish species in the area, *Pimelodus blochii* (Pimelodidae). The aim of this study was to analyse the helminth fauna of *P. blochii* from the Acre and Xapuri Rivers in Northwestern Brazil. Numerous nematodes were collected from the intestine and two species of the family Atractidae were identified: *Rondonia rondoni* Travassos, 1920 and *Orientattractis moraveci* n. sp. The new species is distinguished from its congeners mainly by having: 10 pairs of caudal papillae (3 pairs pre-cloacal, 2 pairs ad-cloacal and 5 pairs post-cloacal); unequal spicules of 161–198 and 69–100 μm long; and a gubernaculum 38–58 μm long with an antero-lateral process. Morphological and ultrastructural data on *O. moraveci* n. sp. and *R. rondoni* are presented, in addition to new genetic data based on partial 18S rDNA and 28S rDNA. The taxonomic status of *Labeonema synodontisi* (Vassiliadès, 1973) is discussed, suggesting that it should be returned to the genus *Raillietnema*.

Key words: Nematoda, Cosmoeceroidea, Atractidae, Brazil, scanning electron microscopy, 18S rDNA, 28S rDNA.

INTRODUCTION

The Amazon basin contains the richest ichthyofauna in the world, with estimated 2500 of the 6000 species of Neotropical species (Goulding, 1980; Reis *et al.* 2003). In the State of Acre in Western Amazonia, Brazil, c. 310 species of fish were catalogued, representing nearly 11% of all fish species recorded in Brazil (Acre, 2010).

According to the structural census report of fishing in the continental waters of North Brazil, the fishing practiced in the State of Acre is basically artisanal and for subsistence, representing the main protein source for local people (Vieira *et al.* 2006). In recent years, as a measure to reduce deforestation and improve the local economy, fish farming, mostly in already deforested and abandoned areas near or within small-dams, has been encouraged as a sustainable alternative to cattle-farming (Reis *et al.* 2015). Thus, ichthyoparasitological studies in the Amazon should encompass,

in addition to cultivated species, native species generally consumed by the local population.

In the State of Acre, *Pimelodus blochii* Valenciennes, 1840 is the fish eaten most often by the locals. The Pimelodidae are exclusively freshwater fishes, occurring in South America and Panama (Lundberg and Littmann, 2003; Ribeiro and Lucena, 2006). The genus *Pimelodus* Lacépède, 1803, is composed of c. 24 valid species, with 8, including *P. blochii*, from the Amazon Basin (Ribeiro and Lucena, 2006).

This, the first helminthological survey on *P. blochii* from the Acre and Xapuri Rivers, Northwest Brazil, revealed 2 species of attractid nematodes in the intestine of this fish. The present paper includes the results of this survey, with the description of *Orientattractis moraveci* n. sp. and new morphological and ultrastructural data on *Rondonia rondoni* Travassos, 1920. In addition, new 18S rDNA and 28S rDNA sequences are presented with a phylogenetic analysis based on new and existing sequences of partial 18S rDNA.

* Corresponding author: Laboratório de Avaliação e Promoção a Saúde Ambiental, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Av. Brasil, 4.365, Manguinhos, Rio de Janeiro, 21040-360, Brazil. E-mail: cpsantos@ioc.fiocruz.br

MATERIALS AND METHODS

Specimens of the catfish *P. blochii*, collected between November, 2013 and April, 2014 by local fisherman

The philometrid nematode *Philometroides acreanensis* n. sp. from the stomach wall of the catfish *Pimelodus blochii* in north-western Brazil

P.H.O. Cavalcante¹, F. Moravec² and C.P. Santos^{3*}

¹Instituto Federal do Acre – IFAC, Xapuri, AC, Brazil; ²Institute of Parasitology, Biology Centre of the Czech Academy of Sciences, Branišovská 31, 37005 České Budějovice, Czech Republic; ³Laboratório de Avaliação e Promoção a Saúde Ambiental, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Av. Brasil, 4.365, Manguinhos, Rio de Janeiro, 21040-360, Brazil

(Received 15 December 2016; Accepted 2 February 2017)

Abstract

A new nematode species, *Philometroides acreanensis* n. sp. (Philometridae), is described from female specimens recovered from the stomach wall of the freshwater catfish *Pimelodus blochii* Valenciennes (Pimelodidae) collected in the Acre River (Amazon River basin), Acre State, Brazil. Based on examination by light and scanning electron microscopy, the new species differs from the two other South American congeneric species mainly in the body length of the gravid female (240–280 mm), the length of the oesophagus (1.25 mm in holotype) representing 0.5% of the entire body length, the range of cuticular embossment, as well as the location in the host (stomach), order of the fish host (Siluriformes) and the geographical distribution (Amazon River drainage system). This is the third known species of *Philometroides* Yamaguti, 1935 reported from South America. A key to species of *Philometroides* occurring in the fish of America is provided.

Introduction

Nematodes of the dracunculoid family Philometridae represent a group of about 200 species parasitic in the body cavity and various body tissues of fish (Moravec & Barton, 2016). Due to morphological and biological peculiarities (Moravec, 2006; Moravec & de Buron, 2013), most of them are known only by their large females. Rasheed (1963) created a taxonomic system for the Philometridae based principally on female morphology, which was followed in the monographs by Ivashkin *et al.* (1971) and Chabaud (1975) and became a basis for the present classification system of dracunculoids proposed by Moravec (2006).

Data on philometrid nematodes parasitizing Neotropical freshwater fish are scarce, including 12 species belonging to the genera *Alinema* Rasheed, 1963, *Neophilometroides* Moravec, Salgado-Maldonado et Aguilar-Aguilar, 2002, *Nilonema* Khalil, 1960, *Philometra* Costa, 1845, *Philometroides* Yamaguti, 1935 and *Rumai* Travassos 1960, parasites of characiform, perciform, osteoglossiform, siluriform and synbranchiform fish (Moravec & de Buron, 2013; Moravec & Diggles, 2015). Nine of these species, belonging to all of the above-mentioned genera, were described in South America and, except for *Neophilometroides paraguayensis* (Petter, 1995) from the bryconid *Salminus brasiliensis* (Cuvier) in Paraguay (Petter, 1995), were also reported from Brazil. These are: *Alinema amazonicum* (Travassos, 1960) and *Philometra baylisi* Vaz & Pereira, 1934 from pimelodid catfish (Vaz & Pereira, 1934; Travassos, 1960; Inglis & Ogden, 1964,

*E-mail: cpsantos@ioc.fiocruz.br