



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
BIOLOGIA DE AGENTES INFECCIOSOS E PARASITÁRIOS

**DIVERSIDADE DE HELMINTOS DE *Ageneiosus ucayalensis* CASTELNAU 1855
(PISCES SILURIFORMES) DA FOZ DO RIO GUAMÁ E BAÍA DO GUAJARÁ,
BELÉM, PARÁ**

ELANE GUERREIRO GIESE

Belém Pará

2010

ELANE GUERREIRO GIESE

**DIVERSIDADE DE HELMINTOS DE *Ageneiosus ucayalensis* CASTELNAU 1855
(PISCES SILURIFORMES) DA FOZ DO RIO GUAMÁ E BAÍA DO GUAJARÁ,
BELÉM, PARÁ**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Biológica de Agentes Infecciosos e Parasitários do
Instituto de Ciências Biológicas da Universidade
Federal do Pará como requisito parcial para a obtenção
do grau de Doutor em Biologia de Agentes Infecciosos
e Parasitários.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos R. Vallinoto

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Jeannie N. Santos

Belém Pará

2010

Giese, Elane Guerreiro

Diversidade de Helmintos de *Ageneiosus ucayalensis* Castelnau 1855 (Siluriformes Pisces) da foz do Rio Guamá e Baía do Guajará, Belém, Pará. 2010, 147p. Tese de Doutorado em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários.

1. Helmintofauna 2. Peixes 3. Taxonomia...4. Baía do Guajará

ELANE GUERREIRO GIESE

DIVERSIDADE DE HELMINTOS DE *Ageneiosus ucayalensis* CASTELNAU 1855
(PISCES SILURIFORMES) DA FOZ DO RIO GUAMÁ E BAIA DO GUAJARÁ,
BELÉM, PARÁ.

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biológica de Agentes Infecciosos e Parasitários do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Biológica de Agentes Infecciosos e Parasitários.

Orientador:

Prof. Dr. Antonio Carlos Rosário Vallinoto
Laboratório de Virologia, Instituto de Ciências
Biológicas - UFPA

Co-Orientadora:

Profa. Dra. Jeannie Nascimento dos Santos
Laboratório de Biologia Celular e Helminologia
“Reinalda Marisa Lanfredi”, Instituto de Ciências
Biológicas - UFPA

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Rodrigo Yudi Fujimoto
Laboratório de Ictioparasitologia e Piscicultura, Campus
Bragança - UFPA

Prof. Dr. Evonildo Costa Gonçalves
Laboratório de Polimosfismo de DNA, Instituto de
Ciências Biológicas - UFPA

Prof. Dr. Evander de Jesus de Oliveira Batista
Núcleo de Medicina Tropical - UFPA

Prof. Dr. Adriano Penha Furtado
Laboratório de Biologia Celular e Helminologia
“Reinalda Marisa Lanfredi”, Instituto de Ciências
Biológicas - UFPA

Prof. Dr. Luiz Fernando Almeida Machado
Laboratório de Virologia, Instituto de Ciências
Biológicas - UFPA

Belém, 10 de maio de 2010

“Já que se há de escrever, que pelo menos
não se esmaguem com palavras as entrelinhas”.

Clarice Lispector

A meus filhos
Rafael, Silvia e Beatriz

A Reinalda
in memoriam

AGRADECIMENTOS

À Profa.Dra. Reinalda Marisa Lanfredi *in memorian*, grande amiga e mentora deste trabalho.

À minha querida amiga e Co-orientadora Profa. Dra. Jeannie, desde a minha acolhida no antigo LBC, hoje LBCH, a toda a minha recente formação helmintológica. Especialmente a amizade, eu agradeço.

Ao meu Orientador Prof. Dr. Antônio Vallinoto, pelo apoio e valorosa contribuição a mim dispensada através do Laboratório de Virologia, nas análises moleculares dos helmintos.

Ao prestimoso apoio emocional e logístico de minha mãe Antonieta e minhas irmãs Fernanda, Liana e Symone.

Ao amigo “Dayse”, Prof. Dr. Adriano Penha Furtado que me atende por esta alcunha. Por todas as horas a mim dispensadas, de grande alegria e parceria.

Ao grande amigo Francisco Tiago, por toda a santa paciência comigo e também por todas as horas dedicadas a cinemas, shows variados, sorveterias, lanchonetes, pizzarias, cachorro quente de rua, e tudo o mais, atividades de fundamental importância no equilíbrio psicológico da curvatura eólica das ondas da telefonia celular marajoara que interferem na ação parasitária das microfilárias, ...ahn?

Ao carinho e assídua companhia de todos os membros do Pet-Farmácia e aos demais doutorandos, mestrandos e estagiários do “LBCH, bom dia”. Na ocasião, somos 30, não haverá espaço para tantos nomes nos agradecimentos.

Ao amigo Evonnildo, que dividiu comigo seus conhecimentos em Filogenia evolutiva e sua paixão por orquídeas e bonsais. Este é um agradecimento especial.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pelo apóio financeiro.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelo aporte financeiro através do edital PROCAD/CAPES/2006.

E por fim, a *São Serafim*, pois sem ele eu jamais seria assim.

Sumário

LISTA DE FIGURAS	1
RESUMO.....	4
ABSTRACT.....	5
1. INTRODUÇÃO	6
1.1 HELMINTOFAUNA DE PEIXES E POTENCIAL ZOONÓTICO.....	7
1.2 HELMINTOS PARASITOS DE PEIXES COMO BIOINDICADORES AMBIENTAIS.....	10
1.3 A DIVERSIDADE DE HELMINTOS PARASITOS DE PEIXES.....	11
1.3.1 FILO ACANTHOCEPHALA:.....	11
1.3.2 FILO PLATYHELMINTHES.	13
1.3.2.1 CLASSE MONOGENEA.....	13
1.3.2.2 CLASSE CESTODA	14
1.3.3 FILO NEMATODA.....	17
1.4 O BIÓTOPO AMAZÔNIA E O ECOSISTEMA ESTUARINO EM BELÉM - PA.	20
1.5 A IMPORTÂNCIA DO ESTUDO DA HELMINTOFAUNA DE <i>Ageneiosus</i> <i>ucayalensis</i>	22
1.6 OBJETIVOS	24
1.6.1 OBJETIVO GERAL	24
1.6. 2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
2 MATERIAIS E MÉTODOS	26
2.1 OBTENÇÕES DOS ESPÉCIMES DE HOSPEDEIROS.	26
2.2 PESQUISA DE HELMINTOS	27
2.3 MICROSCOPIA DE CAMPO CLARO	31
2.4 PROCESSAMENTO PARA ANÁLISES HISTOLÓGICAS.....	31
2.5 TAXONOMIA.....	32

2.6 MICROSCOPIA ELETRÔNICA	33
2.7 TRATAMENTOS ANALÍTICOS DOS DADOS.....	33
2.8 BIOLOGIA MOLECULAR	34
3 RESULTADOS.....	36
3.1 OS HOSPEDEIROS.....	36
3.2 OS HELMINTOS	36
3.2.1 FILO PLATYHELMINTHES	38
3.2.2 FILO ACANTHOCEPHALA.....	52
3.2.3 FILO NEMATODA.....	59
3.3 ANÁLISE MOLECULAR.....	90
4 DISCUSSÃO	116
4.1 QUANTO AO TÁXON HOSPEDEIRO - <i>Ageneiosus ucayalensis</i>	116
4.2 QUANTO AOS TÁXONS PARASITAS.....	117
4.3 O TÁXON PLATHYHELMINTHES	118
4.3.1 O TÁXON MONOGENEA	118
4.3.2 O TÁXON CESTODA	119
4.4 O TÁXON ACANTHOCEPHALA.....	123
4.5 O TÁXON NEMATODA.....	124
4.5.1 FORMAS LARVAIS DE <i>Anisakis</i> sp.	124
4.5.2 FORMAS LARVAIS DA FAMÍLIA Cucullanidae.....	125
4.5.3 FORMAS LARVAIS DE <i>Pseudopropleptus</i> sp.....	127
4.5.4 <i>Procamallanus</i> (<i>Spirocamallanus</i>) <i>rarus</i>	128
4.5.5 <i>Procamallanus</i> (<i>Spirocamallanus</i>) <i>belenensis</i> n. sp.	128
4.5.6 <i>Cucullanus ageneiosus</i> n. sp.	131
4.6 ANÁLISE MOLECULAR.....	133
5. CONCLUSÃO	135
6. REFERÊNCIAS.....	138
ANEXOS	158

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1	Representação esquemática de seis formas larvais de cestódeo.....	17
Figura 2	Foto por satélite da baía do Guajará e Cenários da orla ribeirinha da cidade de Belém e baía do Guajará.....	20
Figura 3	Vários pescados em exposição no Mercado Municipal do Ver-o-peso, Belém-Pará.....	21
Figura 4	Comerciante informal de peixes na feira do Ver-o-peso e <i>Ageneiosus ucayalensis</i> exposto à comercialização na feira livre do Ver-o-peso.....	23
Figura 5	<i>Ageneiosus ucayalensis</i> (Barra 2cm).....	26
Figura 6	Necropsia de <i>Ageneiosus ucayalensis</i> com exposição da cavidade corpórea e seus órgãos.....	29
Figura 7	Plerocercóide depois de retirada do cisto.....	39
Figura 8	Diversos aspectos da ocorrência de cistos de cestódeos na cavidade celomática de <i>Ageneiosus ucayalensis</i>	40
Figura 9	Microscopia de luz de <i>Gibsoniela</i> sp.....	43
Figura 10	Microscopia de luz de proglote maduro de <i>Gibsoniela</i> sp. corado por Carmim.....	44
Figura 11	Microscopia de Luz de proglote maduro de <i>Gibsoniela</i> sp. corado com Carmim.....	45
Figura 12	Microscopia eletrônica de varredura de <i>Gibsoniela</i> sp.....	46
Figura 13	Microscopia eletrônica de varredura de <i>Gibsoniela</i> sp.....	47

Figura 14	Microscopia eletrônica de varredura de <i>Gibsoniela</i> sp.....	48
Figura 15	Exemplar de Monogenea Ancyrocephalinae desenhado por microscopia de luz.....	50
Figura 16	Microscopia eletrônica de varredura de Monogenea Dactylogiridae Ancyrocephalinae.....	51
Figura 17	Microscopia de luz de fêmea (A) e macho (B) de <i>Neoechinorhynchus</i> sp.....	55
Figura 18	Microscopia de luz de do macho de <i>Neoechinorhynchus</i> sp.....	56
Figura 19	Microscopia de luz de fêmea de <i>Neoechinorhynchus</i> sp.....	57
Figura 20	Microscopia eletrônica de varredura de <i>Neoechinorhynchus</i> sp.....	58
Figura 21	Microscopia de luz de larva de <i>Anisakis</i> sp.....	61
Figura 22	Microscopia de luz de larva de <i>Anisakis</i> sp.....	62
Figura 23	Microscopia eletrônica de varredura de larva de <i>Anisakis</i> sp.....	63
Figura 24	<i>Pseudoproleptus</i> sp. observado e desenhado sob microscopia de luz.....	65
Figura 25	Microscopia eletrônica de varredura de <i>Pseudoproleptus</i> sp.....	66
Figura 26	Larva de <i>Cucullanus</i> sp. observada e desenhada sob microscopia de luz com câmara clara.....	68
Figura 27	Microscopia de luz de <i>Cucullanus ageneiosus</i>	73
Figura 28	Microscopia eletrônica de varredura de <i>Cucullanus ageneiosus</i>	75
Figura 29	Microscopia eletrônica de varredura de <i>Cucullanus ageneiosus</i>	79
Figura 30	Microscopia de luz de <i>Procamallanus</i> (<i>Spirocamallanus</i>) <i>belenensis</i>	84

Figura 31	Microscopia eletrônica de varredura de <i>Procamallanus</i> (<i>Spirocamallanus</i>) <i>belenensis</i>	86
Figura 32	Microscopia eletrônica de varredura de <i>Procamallanus</i> (S.) <i>belenensis</i> n. sp.....	88
Figura 33	Alinhamento de 1021 nucleotídeos da região 18S do DNAr obtidos das amostras de <i>Gibsoniela</i> sp. e metacestódeos da Família Proteocephalidae e de seqüências de cestódeos depositados no <i>Genbank</i>	111
Figura 34	Árvore Filogenética construída pelo método de <i>Neighbour-Joining</i> a partir de seqüência obtidas de metacestódeos de Proteocephalidea e <i>Gibsoniela</i> sp.....	115

RESUMO

Estudos em taxonomia descritiva de helmintos de peixes na Amazônia são relevantes, visto a grande diversidade de hospedeiros conhecidos. Este estudo visou analisar o parasitismo de *Ageneiosus ucayalensis* identificando e descrevendo novos helmintos, e referenciar novos hospedeiros para Espécies de helmintos conhecidos, utilizando como ferramentas microscopia de luz, eletrônica de varredura e biologia molecular. *A. ucayalensis*, peixe Siluriformes de água doce da América do Sul é uma Espécie pouco estudada, frente à sua importância na cadeia trófica de ambientes dulcícolas e de seu valor na composição da dieta alimentar de populações ribeirinhas amazônicas. Esses hospedeiros habitam a região da foz do rio Guamá e baía do Guajará e estão parasitados por helmintos dos Filos Platyhemintes, Acanthocephala e Nematoda os quais foram aqui descritos pela primeira vez. Neste estudo foram descritas duas novas Espécies de Nematoda, *Procamallanus (Spirocamallanus) belenensis* e *Cucullanus ageneiosus*; novo hospedeiro e nova localidade de ocorrência foram descrita para *Procamallanus (Spirocamallanus) rarus*; além de formas larvais de nematóides das Famílias Anisakidae (*Anisakis* sp.), Cystidicolidae (*Pseudoproleptus* sp.) e Cucullanidae (*Cucullanus* sp.) como parasitos de *A. ucayalensis*. Do Filo Platyhelminthes, a Classe Cestoda está representada por metacestódeos e adultos da Família Proteocephalidae. A Classe Monogenea está representada por helmintos da Família Dactylogiridae, Sub-Família Ancyrocephalinae e o Filo Acanthocephala por exemplares da Família Neoechinorhynchidae (Gênero *Neoechinorhynchus*). Assim, o estudo da helmintofauna de *A. ucayalensis* contribui com importantes dados para a biodiversidade de parasitos da região amazônica.

Palavra-chave: *Ageneiosus ucayalensis*, helmintofauna, Peixes, Taxonomia, Baía do Guajará

ABSTRACT

Descriptive taxonomy studies of fish parasites in the Amazon Region are relevant, considering the great biodiversity of known hosts. The aim of this was to analyze parasites found in *Ageneiosus ucayalensis*, describing new helminthes species, re-describing species and finding new hosts for species of known helminthes, using Light Microscopy, Scanning Electron Microscopy and Molecular Biology. *A. ucayalensis*, a fresh water siluriform from South America, is poorly studied, despite its importance in the trophic chain of fresh water environment and the great value in the regular diet of Amazonian populations. Those hosts inhabit the base level of Guamá river and Guajará Bay being parasited by helminthes of Phyla Plathyhelminthes, Acanthocephala and Nematoda, which are described for the first time. In this study two new species of Nematoda were described, *Procamallanus (Spirocamallanus) belenensis* and *Cucullanus ageneiosus*; new host and new occurrence were described for *Procamallanus (Spirocamallanus) rarus*; moreover, we described larval forms of nematoda of Families Anisakidae (*Anisakis* sp.), Cystidicolidae (*Pseudopropleptus* sp.) and Cucullanidae (*Cucullanus* sp.) parasiting *A. ucayalensis*. Parasites of phylum Plathyhelminthes, Class Cestoda, represented by metacestodes and adults of family Proteocephalidae were also described, as well as class Monogenea, represented by helminthes of family Dactylogiridae, sub-family Ancyrocephalinae and phylum Acanthocephala by specimens of Neoechinorhynchidae, family (Genus *Neoechinorhynchus*). We believe that the present study contributes with important data to parasite biodiversity from Amazon Region.

Key-Word: *Ageneiosus ucayalensis*, helminthfauna, fishes, Taxonomy, Guajará Bay.

1. INTRODUÇÃO

A Sistemática Parasitológica possibilita tanto o conhecimento de novas espécies, descritas através da taxonomia clássica, quanto proporciona detalhes sobre as relações Filogenéticas entre os taxóns envolvidos, sob o ponto de vista da Sistemática Filogenética e/ou da Sistemática Molecular, podendo lhes ser atribuídas inferências ecológicas e biológicas e, por conseguinte, podendo elucidar detalhes da relação parasito - hospedeiro, estimulando pesquisas parasitológicas futuras (Monis, 1999; Brooks & Hoberg, 2001).

Estudos taxonômicos e ecológicos envolvendo a biodiversidade na biota Amazônia, ainda são poucos, mesmo tratando-se de táxons mais estudados e melhor conhecidos pela ciência (Machado *et al.*, 1996; Peres, 2005). Enfatiza-se, portanto, a extrema importância do desenvolvimento de novos estudos sobre helmintos parasitos de organismos amazônicos, uma vez que, quando uma espécie de vertebrado está sob ameaça de extinção, sua infracomunidade parasitária também estará ameaçada. Assim, muitos dados que dariam suporte a novos conhecimentos podem ser irremediavelmente perdidos.

A ocorrência do desmatamento em áreas de mata ciliar é um dos fatores que contribui para o declínio de parasitos de organismos aquáticos em lagos, como decorrência da diminuição da oferta de invertebrados, utilizados como alimentos por peixes, moluscos e crustáceos, os quais participam do ciclo biológico de alguns helmintos, como hospedeiros intermediários (Marcogliese *et al.*, 2001).

Observando, de modo realista, sobre o destino da Amazônia, a velocidade com que este bioma está sendo degradado pode ser mais rápida do que a agilidade em descrever e estudar novas espécies, fato que levará ao total desconhecimento sobre estas, bem como suas inter-relações com o ambiente e suas infracomunidades (Vieira *et al.*, 2008).

1.1 HELMINTOFAUNA DE PEIXES E POTENCIAL ZONÓTICO

Estudos que caracterizam os helmintos parasitas da ictiofauna brasileira, em especial da região amazônica, ainda são poucos, comparados com a enorme diversidade de peixes nesta região, tanto no que se refere aos aspectos taxonômicos, quanto aos aspectos que afetam a biologia de peixes hospedeiros (Machado *et al.*, 1996).

Também são escassos os estudos da intensidade e forma de infecção por determinados parasitos, como nematóides de peixes de água doce, em regiões neotropicais (Moravec, 1998), e sobre Monogenea da América do Sul (Kohn & Cohen, 1998, Kohn *et al.*, 2001, Madi & Silva, 2005 e Moravec *et al.*, 2006). Apenas os três últimos trabalhos, em especial, foram realizados com helmintos de peixes encontrados no Brasil.

Helmintos específicos de peixes podem parasitar acidentalmente seres humanos, causando patologias e graves lesões como é o caso das anisakíases produzidas por nematóides da Família Anisakidae (Silva & São

Clemente, 2001; Kim *et al.*, 2006) e difilobotríases produzida pelo *Diphyllbothrium latum*.

Essas zoonoses foram introduzidas recentemente no Brasil, pela importação de carne de salmão, consumida em grande parte na forma de *sushi* e *sashimi*, necessitando de ações em vigilância sanitária através da inspeção do pescado, a fim de identificar, monitorar e inviabilizar a instalação de novas helmintíases emergentes (Santos & Faro, 2005).

Assim, o Estado de São Paulo iniciou, no Brasil, em abril de 2005, a notificação obrigatória de casos de difilobotríases, com registro de 52 casos confirmados. Como em outros países, esta doença é causada pela ingestão de carne de peixe, crua ou mal cozida, infectada com larvas de *Diphyllbothrium latum* encistada em sua musculatura. Após o alerta da Secretaria Estadual de São Paulo (SES/SP) e Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), foram notificados mais 24 casos também em outros Estados, conforme citado no Boletim Eletrônico Epidemiológico, nº06/2005 do Serviço de Vigilância em Saúde obtido no site <http://www.saude.gov.br/svs>.

Recentemente, larvas de *Anisakis* sp. foram diagnosticadas parasitando a mucosa gástrica de cetáceos encalhados na costa do Ceará, produzindo úlceras no estômago destes hospedeiros e comprometendo sua saúde (Motta *et al.*, 2008).

Estudos evidenciam a influência de helmintos no desenvolvimento de peixes, através de uma correlação diretamente proporcional entre a intensidade de

parasitismo por Monogenea *Neoheterobothrium* sp. e a idade do hospedeiro *Hippoglossina macrops* (Gonzáles *et al.*, 2001).

Além de Cestoda, Monogenea e Nematoda, algumas espécies de Digenea ocupam lugar de importância na composição da helmintofauna de peixes. Dentre os Digenea, como os da Família Opisthorchidae, várias espécies são causadoras de parasitoses como *Clonorchis sinensis* e *Opisthorchis viverrini*. Estes parasitas, responsáveis pelas opistorquíases, estão entre os maiores problemas relacionados à saúde pública no leste europeu e sudeste asiático, sendo a Tailândia considerada área endêmica para a doença, onde se estima que 6 milhões de pessoas estejam contaminadas (Kaewkes, 2003; Upatham & Viyanant, 2003).

Patologias hepáticas humanas como colangiocarcinomas, colecistites e litíases biliares também são associadas a presença de helmintos digenéticos das espécies *C. sinensis* e *O. viverrini*, cujo parasitismo é diagnosticado pela presença de ovos nas fezes de pacientes, estando relacionado à ingestão de carne de peixes de água doce, crua ou mal cozida (Sripa, 2003; Choi *et al.*, 2004).

Caramujos e peixes de água doce são hospedeiros intermediários desses Trematoda causadores de opistorquíase e seus hospedeiros definitivos são alguns peixes carnívoros (piscívoros) e, acidentalmente, o homem (Sithithaworn & Haswell-Elkins, 2003).

Elevada carga parasitária de espécies cultivadas em sistemas de piscicultura, em áreas de represa, tem sido demonstrada, revelando em alguns casos, uma prevalência de 90% de peixes infectados com helmintos. Perdas no

produto final são decorrentes deste fator, tanto por ocasião da produção de alevinos, como durante o crescimento e engorda dos mesmos, enfatizando a importância de inspeção zoossanitária antes e após o traslado de pescados comercializados vivos (Feltran *et al.*, 2004). Deste modo, de acordo com Dias *et al* (2004), essa é a ocasião em que vários helmintos são carregados e disseminados no ambiente.

1.2 HELMINTOS PARASITOS DE PEIXES COMO BIOINDICADORES AMBIENTAIS

Metais pesados ocorrem no ambiente como resultado de processos naturais e como poluentes, resultantes de atividades humanas (Oliveira *et al.*, 2007).

Diferentes estudos mostram altas concentrações de metal pesado em parasitos intestinais de peixes, concentrações comparativamente mais elevadas que as encontradas nos tecidos do hospedeiro (MacKenzie *et al.*, 1995; Tenora *et al.* 2000; Tekin-Özan & Kir, 2005).

A importância dos helmintos como bioindicadores de poluição ambiental, principalmente em ambientes aquáticos é vista em estudos de Sures *et al.* (1997) e Schludermann *et al.* (2003) que quantificaram a ocorrência de altas concentrações de metais pesados nesses parasitos, quando comparadas com as concentrações detectadas em seus peixes hospedeiros. Assim, nesses estudos,

espécies dos Filos Acanthocephala e Platyhelminthes (Classe Cestoda) foram utilizadas como indicadores de contaminação de coleções de água por selênio, cádmio e chumbo, onde a concentração destes metais foi mais elevada nos parasitos do que no fígado, rim e bexiga urinária dos peixes hospedeiros.

A viabilidade de acumulação de metal pesado (Fe e Zn) pelo nematóide da Família Anisakidae, *Raphidascaris acus* (Bloch, 1779), foi recentemente descrita por Tekin-Özan & Kir, (2007), reforçando o papel deste parasito como um possível indicador da poluição por metais.

Mais recentemente, Khalil *et al.* (2009) estudando acúmulo de metal pesado em helmintos de peixes, revelaram que, em cestódeos, a bioacumulação de cádmio ocorre mais intensamente na região dos proglotes maduros, em decorrência da presença de ovos nestes, sugerindo o acúmulo contínuo do metal, desde os primeiro estágios de vida dos parasitos.

1.3 A DIVERSIDADE DE HELMINTOS PARASITOS DE PEIXES

1.3.1 Filo Acanthocephala

Acantocefalos da Família Neoechinorhynchidae, Gênero *Neoechinorhynchus* Stiles & Hassall, 1905, constituem um dos maiores grupos deste Filo de helmintos que parasitam intestino de diversas espécies de peixes (Yamaguti, 1963; Salgado-Maldonado *et al.* 2001).

Na ultima revisão taxonômica do Gênero *Neoechinorhynchus*, realizada por Amin (2002), foram estabelecidos dois subGêneros (SubGênero *Hebesoma* Van Cleave, 1928 e SubGênero *Neoechinorhynchus* Stiles & Hassall, 1905) tendo sido listadas 88 espécies válidas.

Desde a revisão de Amin (2002) muitas espécies do Gênero *Neoechinorhynchus* continuam sendo identificadas, compartilhando diferentes espécies de peixes, como visto nos trabalhos de Amin & Christison (2005), Lisama, Takemoto & Pavanelli (2006), Violante-González *et al.* (2007), Mikhailova & Atrashkevich (2008) e Lacerda *et al.* (2009).

Recentemente *Neoechinorhynchus tenellus* Van Cleave (1913) foi redescrito por Amin & Muzzall (2009), pois, caracteres morfológicos importantes para a diagnose da espécie não foram explorados completamente por ocasião de sua descrição.

A importância do parasitismo por Acanthocephala tem sido demonstrada nos estudos experimentais sobre a distribuição de *Neoechinorhynchus cylindratus*, observando-se a preferência deste parasito pelo intestino anterior de peixes. Observam-se ainda que as lesões causadas pelo parasito induzem a hiperplasia das células caliciformes, com aumento da produção do muco que reveste a parede intestinal (Adel-Meguid, 1995).

Estudos histopatológicos de intestino de peixes parasitados por *Neoechinorhynchus* também revelam a ação destes parasitos sobre a descamação do epitélio com severa hiperplasia e hipertrofia das células caliciformes (Martins *et al.*, 2001), enfatizando a importância dos estudos destes helmintos, tanto em

peixes que ocorrem livres na natureza, como em peixes cultivados em pisciculturas.

Formas imaturas, como cistacantos de *Neoechinorhynchus rutili* Müller, 1780 foram encontrados parasitando a hemocele de crustáceos da classe Ostracoda, *Cypria reptans* Brohnstein 1928, em água doce, na Itália. No mesmo local, adultos de *N. rutili* foram encontrados parasitando *Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, 1758, evidenciando o potencial de crustáceos Ostracoda como hospedeiro intermediário de acantocéfalos (Dezfuli, 1996).

Deste modo, reforça-se a necessidade da realização de novas pesquisas, visto que, os estuários amazônicos são ambientes favoráveis ao desenvolvimento de todos os táxons envolvidos no ciclo de vida de acantocéfalos, tanto hospedeiros intermediários quanto definitivos.

1.3.2 Filo Platyhelminthes

1.3.2.1 Classe Monogenea

Em extensa revisão, Kohn & Cohen (1998) relacionaram 533 espécies de Monogenea que ocorrem na América do Sul, particularizando seus hospedeiros, na grande maioria, peixes. Para o Brasil, os autores supracitados enumeram 252 espécies válidas, descritas previamente por diversos autores.

Em peixes, platelmintos da Classe Monogenea, na sua grande maioria são ectoparasitos que podem ser comumente encontrados nas brânquias, narinas, cavidades naturais e superfície corpórea e poucas vezes podem parasitar

o estômago e gônadas. Embora pouco freqüente na literatura, helmintos monogenóides podem parasitar bexiga urinária de peixes teleósteos (Takemoto *et al.*, 2002; Eiras *et al.*, 2006).

De acordo com Cribb *et al.* (2002), o Gênero *Gyrodactylus*, Família Gyrodactylidae, é um dos mais ricos em espécies dentre os monogêneas parasitos de peixe. Bakke *et al.* (2002) listaram 402 espécies válidas que infectam 20 das 45 ordens de peixes, embora atualmente se estime em mais de 20.000 táxons específicos para *Gyrodactylus* spp.

Mendonza-Franco *et al.* (2009) descreveram recentemente, um Gênero e uma espécie novos de Monogenea da Família Dactylogyridae encontrado em *Astyanax* sp., peixe de água doce que ocorre no México, sugerindo um vasto campo de pesquisa, pouco explorado, relativo ao estudo dos monogenóides de água doce e estuarina.

1.3.2.2 Classe Cestoda

Dentre as cinco Ordens de Cestoda - Cyclophyllidea, Pseudophyllidea, Tetraphyllidea, Proteocephalidea e Trypanoryncha, as duas Ordens de cestódeos que mais possuem representantes parasitos de peixes são Proteocephalidea e Trypanoryncha. Na Ordem Proteocephalidea a Família mais freqüente de parasitos de peixes é Proteocephalidae (Chambrier & Scholz, 2008).

Em extensa revisão filogenética Rego (2003) suprimiu a Família Monticellidae da Ordem Proteocephalidea por concluir que os caracteres

morfológicos usados por Woodland (1933; 1935) para separar as Famílias eram controversos. Deste modo, após Rego (2003), Proteocephalidae Mola, 1929 com cinco sub-Famílias (Proteocephalinae Mola, 1929, Corallobothriinae Freze, 1965, Sandonelliinae Khalil, 1960, Gangesiinae Mola, 1929 e Acanthotaeniinae Freze, 1963) é aceita como a única Família da Ordem Proteocephalidea. Os Gêneros de Monticellidae foram transferidos para Corrallobothriinae ou Proteocephalinae, caso estes possuam ou não metaescolex, respectivamente.

Em Siluriformes da Família Pimelodidae, Rego (2002) descreveu cestódeos que infectam hospedeiros dos Gêneros *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766), *Pseudoplatystoma corruscans* (Spix & Agassiz, 1829) e *Pseudoplatystoma tigrinum* (Valenciennes, 1840).

Ainda em peixes da Família Pimelodidae foram descritas por Zehnder *et. al.* (2000) em *Brachyplatystoma filamentosum*, *Brachyplatystoma flavicans* e *Brachyplatystoma vaillantii* o parasitismo por espécies de Eucestoda: *Nomimoscolex suspectus*, *Nomimoscolex piraeeba* e *Nomimoscolex dorad*.

Em 1992, Rego redescreve *Gibsoniela mandube* (Woodland, 1935), espécie pertencente à Família Proteocephalidae que parasita *Ageneiosus brevifilis* Valenciennes, 1840. Após este trabalho, na Amazônia, várias outras espécies de cestódeos Proteocephalidae já foram relatadas parasitando outras Ordens de peixes além de Siluriformes.

Considerando a Ordem Trypanorhyncha, metacestódeos das espécies *Progrillotia dollfusi*, *Tentacularia coryphaenae*, *Nybelinia* sp. e *Mixonybelinia* sp. foram descritos em peixes da espécie *Lophius gastrophysus*, por

São Clemente *et al.* (2007), que relatou também a ocorrência de lesões hemorrágicas, que podem levar ao desenvolvimento de patologias no hospedeiro e mesmo inviabilizarem a comercialização do pescado.

Freqüentemente encontram-se descrições de Cestoda da Ordem Cyclophylidea em aves piscívoras, no continente americano, sendo comum a ocorrência de estágios larvais ou metacestódeos em peixes de água doce ou salobra (Salgado-Maldonado *et al.* 2001, Salgado-Maldonado *et al.* 2005).

Chervy (2002) revisou e padronizou os termos usados para larvas de cestódeos e propôs um sistema de identificação fundamentado principalmente em características morfológicas dos estágios larvais de cestódeo, como por exemplo, ocorrência de lacuna e retração ou invaginação do escolex, de onde se obteve a seguinte classificação (Fig. 01): A- procercóide, B- plerocercóide, C- merocercóides, D- plerocercus ,E- cisticercóide e F-cisticercus.

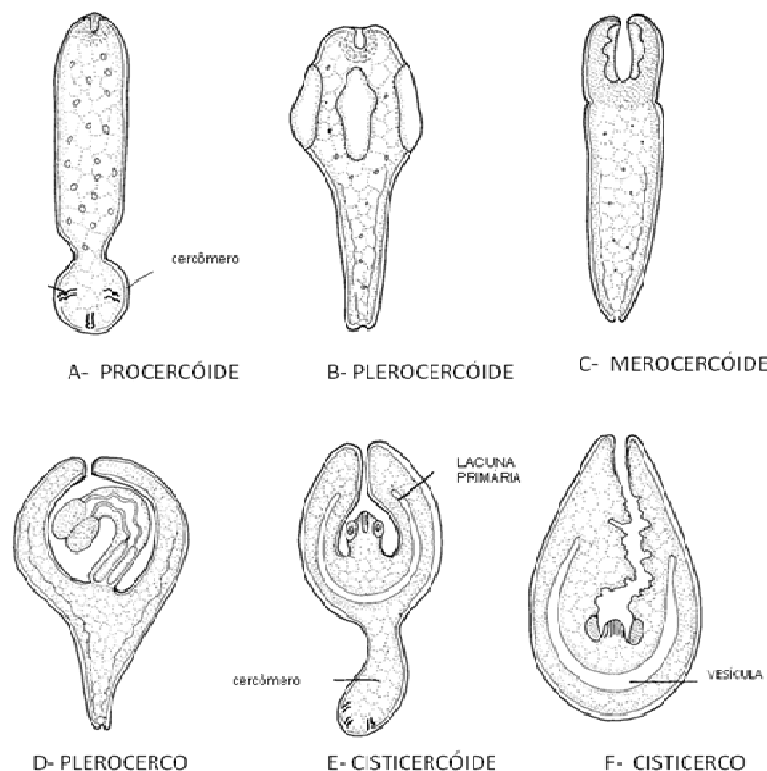


Figura 1- Representação esquemática de seis formas larvais de cestódeos. A- Procercóide, B-Plerocercóide, C-Merocercóides (redesenhado de Dollfus, 1942), D- Plerocercus (redesenhado de Dollfus, 1942), E-Cisticercóide, F-cisticercus (Chervy, 2002).

1.3.3 Filo Nematoda

Nematóides são os helmintos mais comuns que parasitam peixes de água doce, salobra e salgada. Possuem ciclos de vida mais complexos do que os demais Filos, utilizando dois ou mais hospedeiros intermediários, como invertebrados, dos Filos Molusca e Arthropoda, para completar seu ciclo de vida. Além destes hospedeiros, diversas espécies de peixes podem intercalar-se no ciclo como hospedeiros definitivos ou intermediários (Eiras *et al.*, 2006).

Os nematóides adultos, parasitos de peixes, localizam-se principalmente no tubo digestivo, podendo ser encontrados em outros órgãos; enquanto as larvas podem ocorrer como cistos cavitários ou teciduais ou ainda, livres na cavidade celomática, de onde podem migrar para vários órgãos (Eiras *et al.*, 2006).

No Brasil, existem centenas de nematóides descritos como parasitos de peixes. Estes envolvem 6 Super-Famílias e 17 Famílias, distribuídas de acordo com Vicente, Rodrigues & Gomes (1977) e Vicente & Pinto (1999), da seguinte maneira:

Super-Família Trichuroidea

Família Trichuridae

Super-Família Dioctophymatoidea

Família Dioctophymatidae

Super-Família Oxyuroidea

Família Atractidae

Família Oxyuridae

Família Kathlaniidae

Super-Família Ascaridoidea

Família Anisakidae

Família Ascarididae

Super-Família Spiruroidea

Família Cobboldinidae

Família Ancyracanthidae

Família Camallanidae

Família Cucullanidae

Família Gnathostomatidae

Família Physalopteridae

Família Spiruridae

Família Rhabdochonidae

Família Haplonematidae

Super-Família Philometroidea

Família Philometridae

Parasitas de *Ageneiosus valenciennesi* Bleeker, 1864 foram estudados e descritos por Vicente & Pinto (1999). Dentre estes helmintos estão os nematóides da Família Cucullanidae, *Cucullanus pinnai* Travassos, Artigas & Pereira 1928 e da Família Anisakidae, *Goezia* sp.

Larvas de nematóides da Família Anisakidae foram amplamente descritas em peixes, por todo o mundo, como nos trabalhos de Moravec, (2003); Martinsa *et al.* (2005); Knoff *et al.* (2007) e Quiazon *et al.* (2008).

De acordo com Tavares & Alejos (2006), o caráter morfológico que diagnostica L₃, estágio larval infectante, para os Gêneros da Família Anisakidae, é a presença de dente larval, estrutura endurecida que emerge da região entre os lábios do nematóide, observando que, grande parte dos Anisakidae que ocorrem em cavidades corpóreas, encontra-se neste estágio.

Do mesmo modo aos outros *Táxons* elevados de parasitos de peixes mencionados anteriormente, Nematoda requer ainda muitos estudos relativos à Taxonomia descritiva, principalmente na Amazônia.

1.4 O BIÓTOPO AMAZÔNIA E O ECOSSISTEMA ESTUARINO EM BELÉM - PA

A cidade de Belém é banhada por numerosos rios, igarapés e lagos, sendo freqüente a habitação humana em grande parte de sua orla (Fig. 02). É de conhecimento comum que muitos ribeirinhos, por possuírem baixo poder aquisitivo, utilizam a pesca de subsistência como complemento financeiro e uma das principais fontes de sua alimentação.

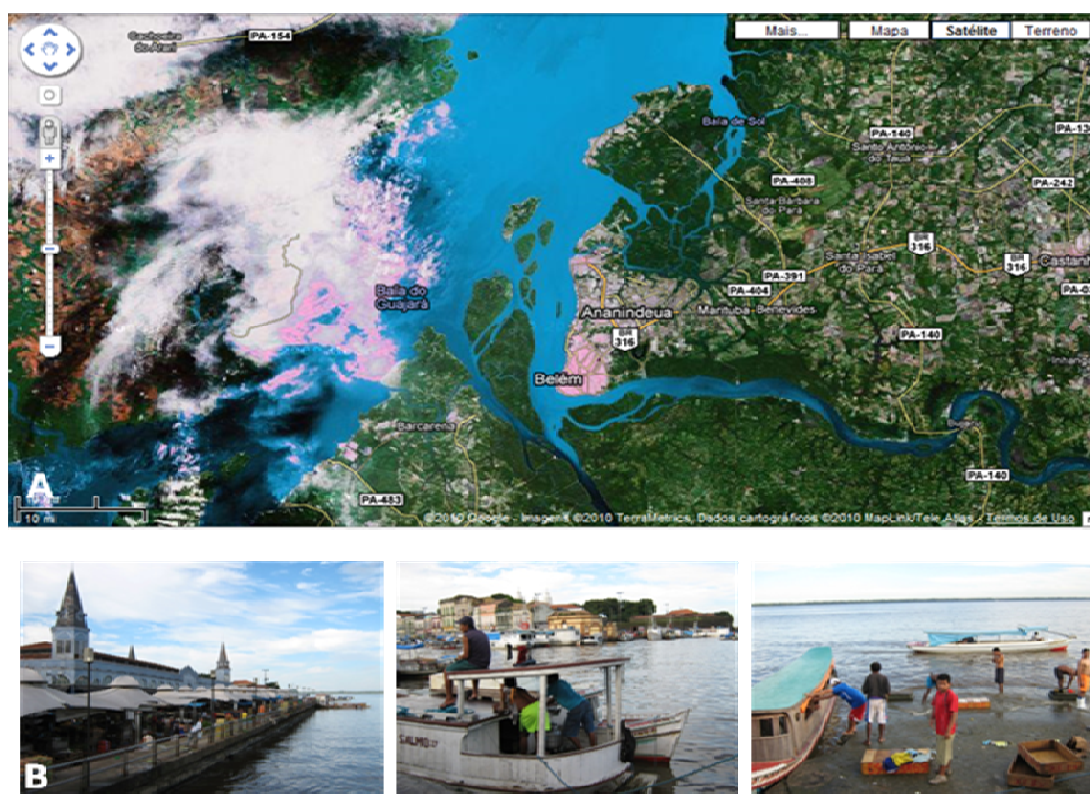


Figura 2 – Área designada para a coleta de amostras neste trabalho. A) Foto por satélite da baía do Guajará (<http://maps.google.com.br/maps>). B) Cenários da orla ribeirinha da cidade de Belém e baía do Guajará (fotos: *Elane Giese*, 2009).

Assim, dessa atividade, são vários os pescados adquiridos, tais como crustáceos da espécie *Macrobrachium amazonicum* Heller, 1962 (camarão canela) e uma grande variedade de espécies de peixes ósseos, como *Brachyplatystoma rousseauxii* (Castelnau, 1855) (dourada), *Plagioscion squamosissimum* (Heckel, 1840) (pescada branca), *Brachyplatystoma vailaintii* (Valenciennes, 1840) (piramutaba) *Brachyplatystoma filamentosum* (Lichtenstein, 1819) (Fig.03) e espécies do Gênero *Ageneiosus* Linnaeus, 1766, conhecido popularmente na região amazônica como mandubé.



Figura 3 – Diversidade de pescados expostos à venda em mercado de Belém. A) *Macrobrachium amazonicum*; B) *Brachyplatystoma rousseauxii*; C) *Plagioscion squamosissimum* e *Brachyplatystoma vailaintii*; D) *Brachyplatystoma filamentosum*. Vários pescados em exposição no Mercado Municipal do Ver-o-peso, Belém-Pará. (fotos: Elane Giese 2009).

Dentre as inúmeras espécies de peixes comercializados nas feiras e mercados de Belém está *Ageneiosus ucayalensis* Castelnau, 1855 (Figs. 4 e 5), Osteichthyes, Siluriformes da Família Auchenipteridae, que habita águas pelágicas dos rios tropicais, ocorrendo na América do Sul desde a bacia do Amazonas e Orenoco até a bacia do alto Paraná, tanto em zonas pantanosas quanto em rios caudalosos, nadando próximo ao fundo, alimentando-se principalmente de crustáceos (Ferraris, 2003).

1.5 A IMPORTÂNCIA DO ESTUDO DA HELMINTOFAUNA DE *Ageneiosus ucayalensis*

Estudos preliminares desenvolvidos por pesquisadores integrantes do projeto PROCAD-CAPES/2006 intitulado “Cooperação acadêmica entre a Universidade Federal do Rio de Janeiro e a Universidade Federal do Pará para a Pesquisa e Pós-Graduação em Helminologia”, visando um levantamento de espécies de peixes hospedeiros, revelaram uma biodiversidade de helmintos pouco registrada na literatura para a região da baía do Guajará e estuário do rio Guamá.

Dentro da análise dos resultados preliminares, a escolha da investigação da helmintofauna de *Ageneiosus ucayalensis* como objeto de estudo desta tese, deveu-se a inexistência de quaisquer referências sobre helmintos parasitos desta espécie de peixe na literatura, possibilitando grande e inédita contribuição para a biodiversidade da região amazônica.

A despeito do grau de importância que se estabelece ao se deparar com a grande biodiversidade de helmintos parasitos de organismos aquáticos, e a necessidade de formação de recursos humanos especializados (Parasitologistas/ Helminthologistas) na região Norte, a análise da helmintofauna de *Ageneiosus ucayalensis* pode despertar o interesse de órgãos governamentais de Vigilância Sanitária, uma vez que esta espécie é apreciada pela população ribeirinha de Belém, sendo inclusive, comercializada em alguns mercados e feiras livres da cidade (Fig. 4).



Figura 4 – Orla ribeirinha do Mercado do Ver-o-peso. a) Comerciante informal de peixes na feira do Ver-o-peso. b) *Ageneiosus ucayalensis* exposto à comercialização na feira livre do Ver-o-peso (fotos: *Elane Giese* 2009).

A Espécie *Ageneiosus ucayalensis* foi escolhida também por outras características tais como: hábito alimentar carnívoro, posição na cadeia trófica, ampla distribuição espacial na coluna d'água e por realizar migrações tróficas e reprodutivas anuais, o que possibilita o trânsito de parasitos para além das fronteiras da Amazônia.

Atentando ao fato de parasitos de *Ageneiosus ucayalensis* poderem apresentar potencial zoonótico, bem como, de atuarem como acumulador de metais pesados é de grande importância o estudo de sua diversidade parasitária em pesquisas futuras, sobre novas zoonoses e mesmo em pesquisas que busquem novos biomarcadores ambientais.

1.6 OBJETIVOS

1.6.1 Objetivo geral

Identificar a helmintofauna do *Ageneiosus ucayalensis*, realizando a descrição de possíveis espécies novas e re-descrição de outras, por meio das técnicas de microscopia de luz e eletrônica de varredura e de biologia molecular, com finalidade de adicionar dados sobre a biodiversidade de helmintos e agentes etiológicos com potencial para causar zoonoses emergentes.

1.6. 2 Objetivos específicos

1.6.2.1 Relacionar os helmintos de *Ageneiosus ucayalensis*; descrever novas espécies e redescrever as descritas previamente por outros autores, procurando abranger os helmintos pertencentes aos Filos Acanthocephala, Platyhelminthes e Nematoda.

1.6.2.2 Adicionar aos estudos aqui realizados, dados morfológicos obtidos por microscopia eletrônica de varredura dos helmintos estudados.

1.6.2.3 Contribuir com a caracterização molecular do DNA ribossomal de alguns helmintos de peixes da Amazônia, depositando resultados ao EMBL/ GenBank.

1.6.2.4 Avaliar a ocorrência de espécies de parasitos de interesse em saúde pública.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 OBTENÇÕES DOS ESPÉCIMES DE HOSPEDEIROS.

A amostra de hospedeiros que compõe este estudo é de 205 exemplares de *Ageneiosus ucayalensis* (Fig. 5) os quais foram necropsiados no Laboratório de Biologia Celular e Helmintologia “Profª. Drª. Reinalda Marisa Lanfredi” (LBCH), Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal dos Pará.



Figura 5 - *Ageneiosus ucayalensis* (Barra 2cm). (Foto Elane Giese 2008).

A obtenção dos exemplares de *Ageneiosus ucayalensis* foi realizada, no período compreendido entre novembro de 2006 a novembro de 2008, através de pesca de subsistência, por pescadores ribeirinhos no rio Guamá e Baía do Guajará, desde a orla do Campus da Universidade Federal do Pará até às proximidades do Mercado Municipal do Ver-o-Peso. A captura ocorreu utilizando-se artes de pesca como linha de mão/anzol e tarrafa.

Após a captura, os exemplares foram acondicionados e resfriados em caixas de isopor com gelo à temperatura de aproximadamente 8 °C. Em seguida, estes foram levados ao LBCH para a mensuração, pesagem sexagem e necropsia. Os peixes foram mensurados com auxílio de ictiômetro artesanal, pesados em balança digital (Filizola®, cap10 Kg). A sexagem ocorreu por análise macroscópica (observação de caracteres sexuais secundários e morfologia das gônadas) e microscópica (sob microscopia de luz, analisando fragmentos de gônadas comprimidos entre lâmina e lamínula, para identificação dos gametas).

Para cada exemplar de hospedeiro foi instituída uma ficha de necropsia (Anexo I) contendo as informações necessárias para a realização desta pesquisa.

2.2 PESQUISA DE HELMINTOS

A busca de helmintos (ovos, larvas e adultos) foi realizada através da análise de tegumento, brânquias, tubo digestivo e seu conteúdo, glândulas anexas ao sistema digestivo, bexiga natatória, músculos, serosas e cavidades corpóreas.

A análise dos órgãos foi realizada inicialmente *in loco*, onde foi observada a disposição dos helmintos em relação à posição anatômica dos órgãos (Fig. 6) e individualmente, quando cada órgão foi devidamente removido e dissecado em placa de Petri contendo solução de tampão fosfato salino p.H 7,4

(*Phosphate Buffer Saline Solution* - PBS), analisados macroscopicamente e microscopicamente através de estereomicroscópio Carl Zeiss modelo 475032.

Dos órgãos tubulares, primeiramente foi analisada a camada serosa, sendo posteriormente dissecadas as camadas mucosa e muscular.

Dos órgãos parenquimatosos, foi analisada, primeiramente a superfície e serosas. Em seguida, estes foram seccionados em busca de helmintos teciduais.

As brânquias, depois de análise minuciosa sob estereomicroscópio, foram submetidas ao Formol 4% e agitadas vigorosamente. Este procedimento é efetuado para a retirada de exemplares de *Monogenea* os quais foram fixados em AFA e colecionados em álcool glicerinado.

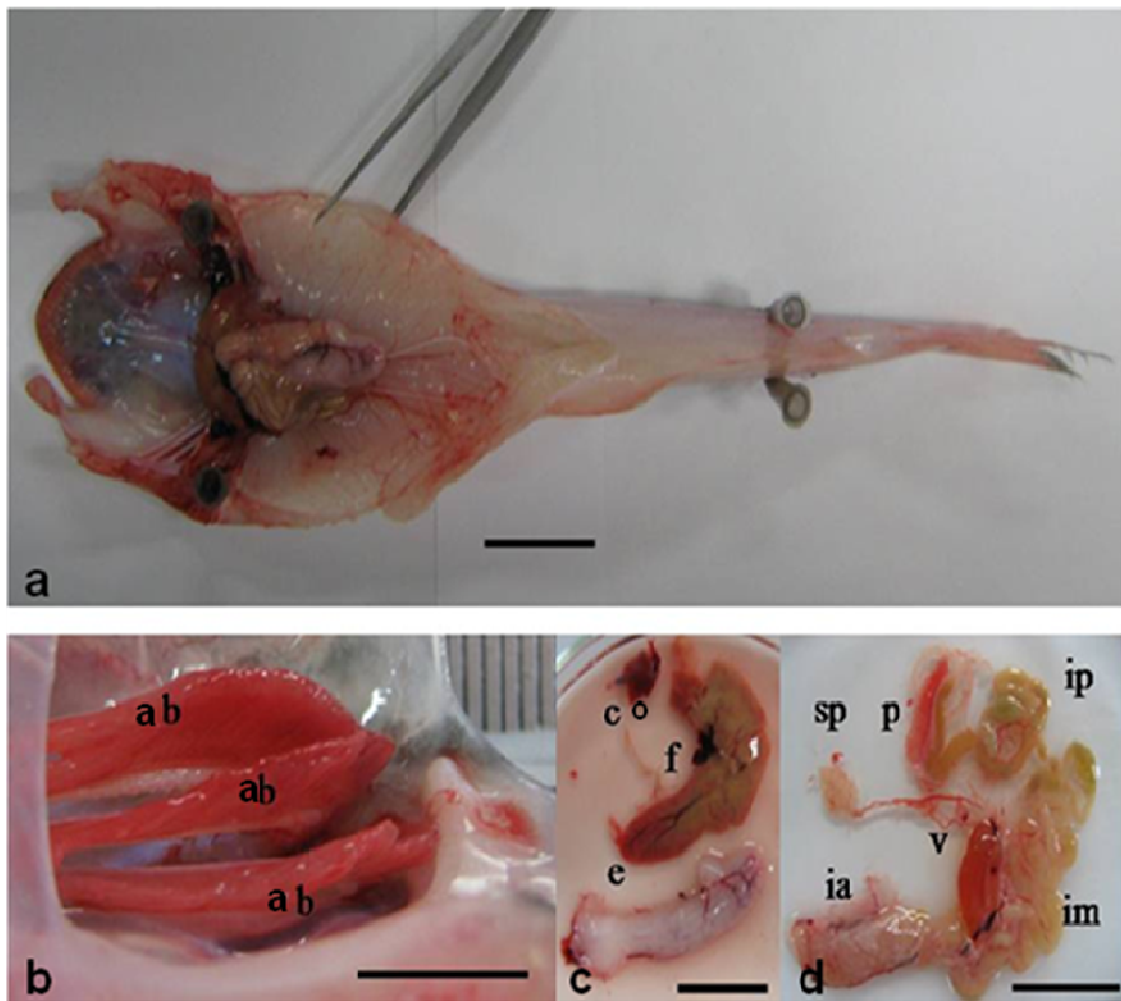


Figura 6. Necropsia de *Ageneiosus ucayalensis*. **a)** exposição da cavidade corpórea e seus órgãos (barra 2 cm). **b)** **ab** - arcos branquiais (barra 1 cm). **c)** **f** - fígado, **co** - coração e **e** - estômago (barra 1cm). **d)** **ia** -intestino anterior, **im** - intestino médio, **ip** - intestino posterior, **p** - pancreas, **v** - vesícula biliar e **sp** - saco parasitário (barra 1 cm) (Fotos *Elane Giese* 2008).

Após a coleta, os helmintos, foram lavados em solução tampão de PBS e fixados com solução fixadora AFA (2% de ácido acético glacial, 3% de formol a 37% e 95% de álcool etílico a 70%). O processamento geral dos parasitos ocorreu de acordo com a sua posição taxonômica, segundo Amato *et al.*, (1991) para posterior análise e identificação taxonômica.

Os exemplares da Classe Cestoda, após comprimidos entre lâminas, foram fixados em AFA, corados em Carmim alcoólico, desidratados em série etanólica, clarificados com Salicilato de Metila e montados entre lâmina e lamínula com balsamo do Canadá.

Os exemplares da Classe Monogenea foram fixados em Formol 4%, desidratados em série etanólica crescente corados pelo Tricrômico de Gomory, de acordo com Amato *et al.* (1991). Em seguida, confeccionadas lâminas permanentes, para a realização de ilustrações e posterior morfometria.

Os exemplares pertencentes ao Filo Acanthocephala, depois de colhidos foram submetidos à refrigeração em água destilada para o relaxamento e extroversão da probóscide, após a qual foram fixados em AFA.

Os exemplares do Filo Nematoda foram fixados em AFA a 60°C para total distensão. Depois de fixados foram submetidos à desidratação em série etanólica, clarificados com lactofenol e levados a microscopia de campo claro entre lâmina e lamínula.

2.3 MICROSCOPIA DE CAMPO CLARO

A análise morfométrica dos helmintos fixados, corados e clarificados foi realizada após montagem provisória ou permanente, entre lâmina e lamínula. As observações ocorreram por microscopia de campo claro, em microscópio Olympus BX41 com câmara clara, sem zoom e desenhados para obtenção dos dados morfométricos dos helmintos.

As fotomicrografias foram realizadas com câmera digital Sony DSC-S500 com adaptador para microscópio.

Os exemplares de helmintos utilizados para a microscopia de campo claro e foram armazenados em álcool glicerinado e adicionados a coleção de helmintos do Laboratório de Biologia Celular e Helminologia/ICB/UFPA, sendo as espécies novas depositadas na Coleção Helminológica do Instituto Oswaldo Cruz, RJ (CHIOC).

2.4 PROCESSAMENTO PARA ANÁLISES HISTOLÓGICAS

Alguns exemplares de cestódeos foram fixados em AFA e incluídos em Histoiresina[®]. Secções de 2 µm de espessura foram realizadas em micrótomo Leica EMUC6, no Laboratório de Biologia Estrutural do ICB/UFPA. Em seguida, as secções foram coradas com azul de toluidina. Algumas secções foram

fotografadas com câmera Sony DSC-S500 6.0 MP acoplada ao microscópio Olympus BX41.

2.5 TAXONOMIA

Para a identificação de helmintos foram utilizados catálogos, chaves de identificação, livros e artigos científicos com descrições originais e redescrição de espécies.

A consulta à Coleção Helminológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC) Rio de Janeiro, RJ, foi imprescindível para a análise morfológica e morfométrica de *Procamallanus (Spirocamallanus) rarus* e outras espécies do Gênero *Procamallanus*, nematóides da Família Camallanidae, parasitos de peixes. Durante esta consulta foram analisados vários Holótipos, Alótipos e Parátipos de espécies do Gênero *Procamallanus (Spirocamallanus)*.

A descrição morfométrica em formato telegráfico segue os padrões usados em estudos taxonômicos. Assim, os dados obtidos foram compostos por: média aritmética seguida de desvio padrão e, entre parênteses, o intervalo entre a menor medida separada por hífen da maior medida, exemplificada na fórmula $\bar{x} \pm \delta$ (< - >). Todas as medidas foram aqui apresentadas em milímetros, caso contrário, foram indicadas, de imediato, por ocasião da descrição.

2.6 MICROSCOPIA ELETRÔNICA

Amostras de helmintos colhidas foram fixadas em AFA para microscopia eletrônica de varredura visando à descrição das características ultra-estruturais de superfície do helminto de acordo com a metodologia descrita por Mafra e Lanfredi (1998) e Santos *et al.* (2008) onde os exemplares foram pós-fixados em tetróxido de ósmio a 1% por 2 h, desidratado em série etanólica por 2 h em cada banho, secos ao ponto crítico de CO₂, montados em *stubs* e metalizados com ouro. Depois da preparação, os *stubs* foram mantidos em câmara dessecadora.

As análises ultra-estruturais foram realizadas nos seguintes microscópios eletrônicos de varredura: a) LEO 1450 VP, Laboratório de Microscopia Eletrônica, sediado na Coordenação de Ciências da Terra e Ecologia, Museu Paraense Emílio Goeldi; b) LEO 1450 VP no LABMEV situado no Instituto de Geociências da UFPA; c) JEOL JSM-5310, do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro; d) LEO 1450 VP no Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto Evandro Chagas/Belém-Pará.

2.7 TRATAMENTOS ANALÍTICOS DOS DADOS

Tratando-se de um estudo taxonômico, os dados de média, intensidade parasitária e prevalência são os mais utilizados para análise do parâmetro de distribuição dos helmintos (Bush *et al.* 1997).

2.8 BIOLOGIA MOLECULAR

Os dados moleculares foram obtidos através de extração de DNA total dos cestódeos (adultos e metacestódeos) e executados segundo o protocolo indicado pelo fabricante do *ChargeSwitch gDNA Mini Tissue Kit (Invitrogen Life Technologies, Gaithersburg, MD, EUA)*.

O gene 18S rRNA foi amplificado parcialmente por reação em cadeia da polimerase (PCR) em dois fragmentos parcialmente sobrepostos, utilizando os *primers* Ces1 (5'-CCAGCAGCCGCGGTA ACTCCA-3') e Ces2 (5'-CCCCGCCTGTCTCTTTTGAT-3') que amplificam um fragmento de aproximadamente 400 bp e os *primers* 2880 (5' - CTGGTTGATCCTGCCAGTAG - 3') e B (5' - CCGCGGCTGCTGGCACCAGA-3) que amplificam um fragmento de aproximadamente 600 bp, cujos protocolos foram descritos por Skeriková. *et al.*, (2001) e aqui adaptado.

Deste modo, as reações em cadeia da polimerase foram realizadas utilizando 2 µL de DNA, 1.5 mM de MgCl₂, 250 µM de dNTP, tampão 1X (20 mM Tris - HCl, pH 8.4 e 50 mM KCl), 1 U de taq-polimerase e 10 µM de H₂O completando o volume final de 50 µL. A PCR de Ces1 e Ces2 consistiu em desnaturação a 94°C durante 2 min e 35 ciclos de desnaturação (a 94 °C), anelamento (30s a 60 °C), extensão (30 s a 72 °C) e uma extensão final (5 min a 72 °C). Para os *primers* 2880 e B a PCR consistiu em desnaturação a 94 °C, durante 2 min e 35 ciclos de desnaturação (30s a 94 °C), anelamento (30s a 62°C) extensão (30s a 72°C) e uma extensão final (5 min a 72 °C). Os produtos

amplificados foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 2.5%, revelados por coloração com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta.

Os fragmentos amplificados foram submetidos ao seqüenciamento direto, conforme o protocolo descrito em *ABI Prism Dye Terminator Cycle Sequencing Ready kit* (Perkin-Elmer Cetus, Norwalk, CA, USA), e ao seqüenciamento automático no *ABI Prism 310 DNA Sequencer* (Perkin-Elmer).

Para estabelecer as relações filogenéticas, as seqüências obtidas a partir das amostras de *Gibsoniela* sp e metacestódeos da Família Proteocephalidae foram alinhadas entre si e com seqüências de cestódeos previamente depositadas no *Genbank* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>) por outros autores. Pontos de interrogação foram incluídas nas seqüências de *Gibsoniela meursaulti* (AY267296), *Proteocephalus macrocephalus* (EF095347), *P. rugosa* (AF286989) e *Nomimoscolex. piraeeba* (AF286988) para que todas as seqüências ficassem do mesmo tamanho. O alinhamento das seqüências foi realizado usando o software Clustal W (Thompson *et al.*, 1994). A árvore filogenética foi construída usando o software Mega 4.0 (Tamura *et al.*, 2007) e método de *Neighbor-Joining* (NJ), com 1000 réplicas de *bootstrap*. A amostra *Diphyllbothrium latum* (Linnaeus, 1758) (Cestoda, Pseudophyllidae) (DQ925309) foi utilizada como grupo externo.

3 RESULTADOS

3.1 QUANTO A ANÁLISE DOS HOSPEDEIROS.

O comprimento total médio dos peixes hospedeiros foi de $21,5 \pm 6$ cm, com amplitude de 14 a 28 cm.

A análise das gônadas de todos os exemplares demonstrou estágio imaturo, tanto de ovários como de testículos. Os ovários, macroscopicamente, possuíam uma aparência delicada e translúcida, apresentando células germinativas do tipo ovogônias e ovócitos I e II. Os testículos se mostravam como finíssimos cordões esbranquiçados, possuindo somente cistos de espermatogônias e outros tecidos conectivos.

Os exemplares de *Ageneiosus ucayalensis* aqui analisados possuíam em seu conteúdo estomacal, prioritariamente, *Macrobrachium amazonicum*, crustáceo abundante na região estudada, sendo esporádica a ocorrência de outros artrópodes ou de fragmentos de peixes menores, nesta amostra.

3.2 QUANTO A ANÁLISE DOS HELMINTOS

O perfil helmintológico (Tab. 1) de *Ageneiosus ucayalenses* foi aqui estabelecido após 24 meses de coleta, onde os espécimes de helmintos parasitos encontrados estão distribuídos em: Filo Platyhelminthes (Classes Monogenea e Cestoda), Filo Acanthocephala e Filo Nematoda.

Os táxons parasitos foram encontrados distribuídos ao longo das estações do ano, não inferindo características sazonais e nenhum deles.

Tabela 1. Helminthos parasitos de *Ageneiosus ucayalensis* na foz do Rio Guamá e Baía do Guajará, Belém-Pará, observados e identificados no período de novembro de 2006 a novembro de 2008.

Parasitos	Local de infecção	Prevalência
Cestoda (metacestódeos de Proteocephalidea)	Cavidade celomática	100%
Cestoda Proteocephalidae <i>Gibsoniella</i> sp.	Intestino	7,3%
Monogenea Dactylogyridae Ancyrocephalinae	Brânquias	22,7%
Acantocephala Neoechinorhynchidae <i>Neoechinorhynchus</i> sp.	Intestino	1,95%
Nematoda (larvas) Anisakidae <i>Anisakis</i> sp.	Cavidade celomática	26%
Nematoda (larvas) Cistidicolidae <i>Pseudopropleptus</i> sp.	Cavidade celomática	0,9%
Nematoda (larvas) Cucullanide <i>Cucullanus</i> sp.	Cavidade celomática	0,4%
Nematoda Camallanidae <i>Procamallanus rarus</i>	Intestino	1,46%
Nematoda Camallanidae <i>Procamallanus belenensis</i> n.sp.	Intestino	18,04%
Nematoda Cucullanidae <i>Cucullanus ageneiosus</i> n.sp.	Intestino	5,36%

Deste modo, seguem as descrições dos helmintos encontrados em *Ageneiosus ucayalensis*.

3.2.1 Filo Platyhelminthes

3.2.1.1 Filo Platyhelminthes Gegenbaur, 1859

Classe Cestoidea (Monticelli, 1892)

Sub-Classe Eucestoda Southwall, 1930

Ordem Proteocephalidea Mola, 1929

Familia Proteocephalidae (Mola, 1929)

Localização: cavidade celomática

Prevalência: 100%

Intensidade: não avaliada

Descrição preliminar:

A ocorrência de formas imaturas de cestódeos, mais conhecidos como metacestódeos (Fig. 7), muito semelhantes a exemplares que pertencem à Ordem Proteocephalidea, foi evidenciada em 100% da amostra de *Ageneiosus ucayalensis*.

Os cistos contendo metacestódeos ocorrem agrupados na cavidade celomática, unidos por membranas de tecido conjuntivo. Estes agrupamentos de parasitos variam no tamanho e na quantidade de indivíduos, estando disseminados sobre a serosa de vários órgãos como estômago, intestino e principalmente fígado (Fig. 8), onde ficam presos ao peritônio visceral por

pedúnculo também de tecido conjuntivo por onde fluem inúmeros vasos sanguíneos.

Os metacestódeos, depois de retirados do cisto, apresentaram-se sob a forma de larvas plerocercóides (Fig. 7) com escólex invaginado, bem desenvolvido, quatro ventosas circulares, órgão apical esférico, centralizado, porém sem lacuna primária. Não há indícios de ganchos no órgão apical.

Considerando o total de 205 hospedeiros capturados, parasitados com estes cistos, 10 foram selecionados para compor o esforço amostral relativo ao número de cistos de cestódeos na cavidade abdominal. Foram aleatoriamente selecionados cinco fêmeas e cinco machos de *Ageneiosus ucayalensis*, cujo comprimento total variou entre 18,5 e 24 cm. O número de cistos por hospedeiro variou de 690 a 3628 sendo a média igual a 1453 cistos por hospedeiros.

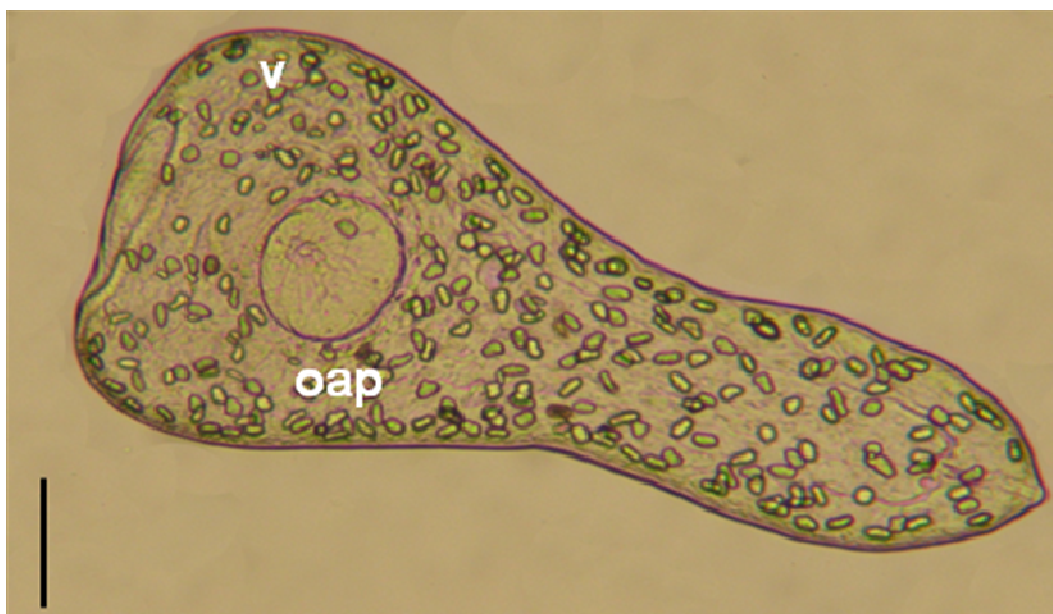


Figura 7 – Plerocercóide depois de retirado do cisto: oap – órgão apical; v – ventosa circular. Barra = 10 μ m.

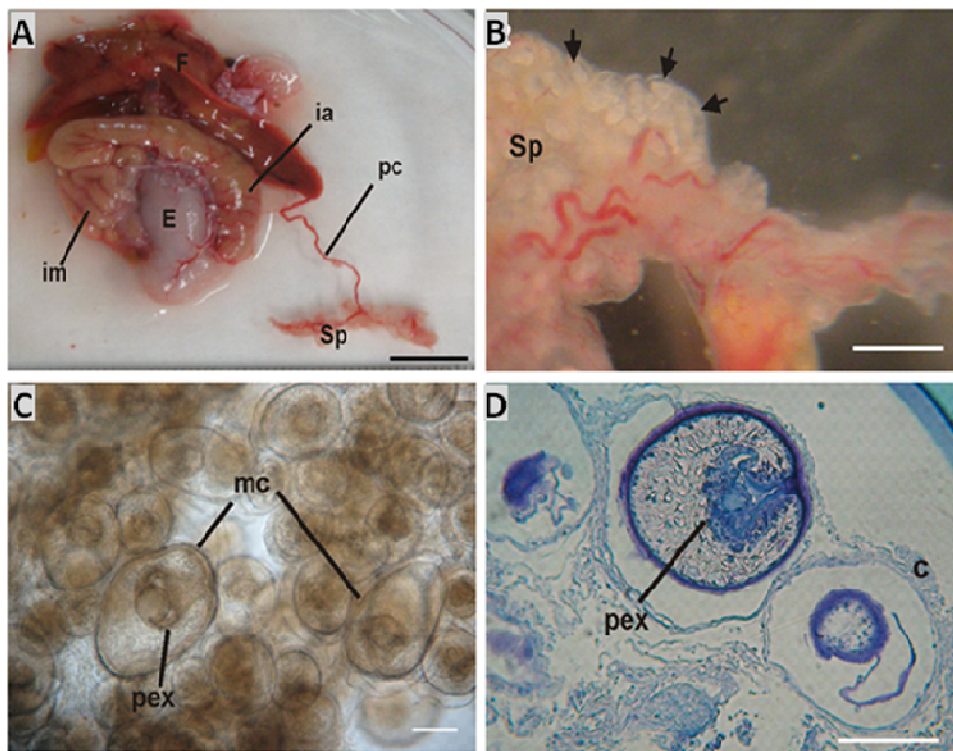


Figura 8: Diversos aspectos da ocorrência de cistos de cestódeos na cavidade celomática de *Ageneiosus ucayalensis*. **A)** Agrupamentos de parasitos (sp), visto a olho desarmado, ligado ao fígado (f) por pedúnculo conjuntivo (pc) ricamente vascularizado. Estômago (e), intestino anterior (ia) e intestino médio (im) Barra 1cm. **B)** Agrupamentos de parasitos (sp) observado ao microscópio estereoscópico a fresco. Metacestódeo revestido por tecido conjuntivo fibroso (cabeça de seta). Notar a presença de vasos sanguíneos em abundância. Barra 500 μ m. **C)** Metacestoides (mc) fixados e clarificados, observados ao microscópio. Note a presença de protoescollex (pex) formado com quatro ventosas e órgão apical. Barra 100 μ m. **D)** Corte histológico do saco parasitário, processado para Historresina®, corado com Azul de Toluidina. Observar o metacestóide envolto em tecido conjuntivo (c). A presença de protoescollex (pex) formado sugere a fase de plerocercóide. Barra = 100 μ m.

3.2.1.2 Filo Platyhelminthes Gegenbaur, 1859

Classe Cestoidea (Monticelli, 1892)

Sub-Classe Eucestoda Southwall, 1930

Ordem Proteocephalidea Mola, 1929

Familia Proteocephalidae (Mola, 1929)

Gênero *Gibsoniela* (Woodland, 1935)

Localização: intestino anterior

Prevalência: 7,8%

Intensidade: 1 (15 cestódeos em 15 hospedeiros parasitados)

Descrição preliminar: (Figs. 9 a 14)

Cestoda de tamanho médio com $33,5 \pm 2,1$ (32-35) mm de comprimento. Estróbilo acraspedote com proglotes bem delimitados. Microtríquias distribuídas ao longo de todo o escolex e estróbilo. Proglotes imaturos fracamente delimitados. Os segmentos maduros medem $1,39 \pm 0,03$ (1,37-1,42) mm de largura por $0,52 \pm 0,07$ (0,47-0,57) mm de comprimento, sendo, portanto mais largos que longos. Os segmentos gravídicos apresentam 1,4 mm de largura por $0,59 \pm 0,1$ (0,50-0,68) mm de comprimento. Escolex relativamente pequeno, sem órgão apical. Colo longo. Ventosas alongadas no sentido longitudinal, semelhantes à bótrias. Cada ventosa apresenta 3 *loci* bem delineados e independentes, medindo $0,075 \pm 0,007$ (0,07-0,08) mm de largura por $0,18 \pm 0,007$ (0,18-0,19) mm de comprimento, e os *loci* 0,06 x 0,06 mm cada. Átrio genital localizado no terço anterior do proglote maduro, lateralmente, em posição alternada, na grande maioria, quanto aos proglotes adjacentes. Bolsa do cirro com

paredes grossas, bem delimitadas. Cirro em forma de chave. Abertura da vagina imediatamente anterior a abertura da bolsa do cirro, situada no átrio genital. Vagina de paredes espessas, apresentando poro simples que se continua em ducto único e percorre o útero na sua região central. Ovário medular, basal, de aspecto alveolar, dividido em dois lóbulos dispostos medialmente. Testículos esféricos, de aspecto folicular distribuídos por toda região medular dos proglotes maduros. Apresenta em média 80 testículos. Útero medular, ramificado constituído por duas porções laterais formadas pelos ramos e uma porção central conectiva. Ovos ocupando todas as ramificações uterinas. Os canais excretores percorrem todo o comprimento do corpo. Inúmeros folículos vitelínicos dispersos na região cortical lateral. Presença de fenda de oviposição, localizada na região ventral nos proglotes gravídicos, próximo a localização do ovário.

Cada hospedeiro infectado apresentou somente um exemplar de *Gibsoniela* sp. parasitando o intestino anterior. Não foi observado nenhum tipo de lesão macroscópica no epitélio intestinal do hospedeiro.

Não ficou evidente a ocorrência de sazonalidade em *Gibsoniela* sp. neste estudo.

Alguns caracteres do táxon supracitado estão sendo reavaliado quanto a sua morfometria, por esta razão, os dados ainda se constituem preliminares.

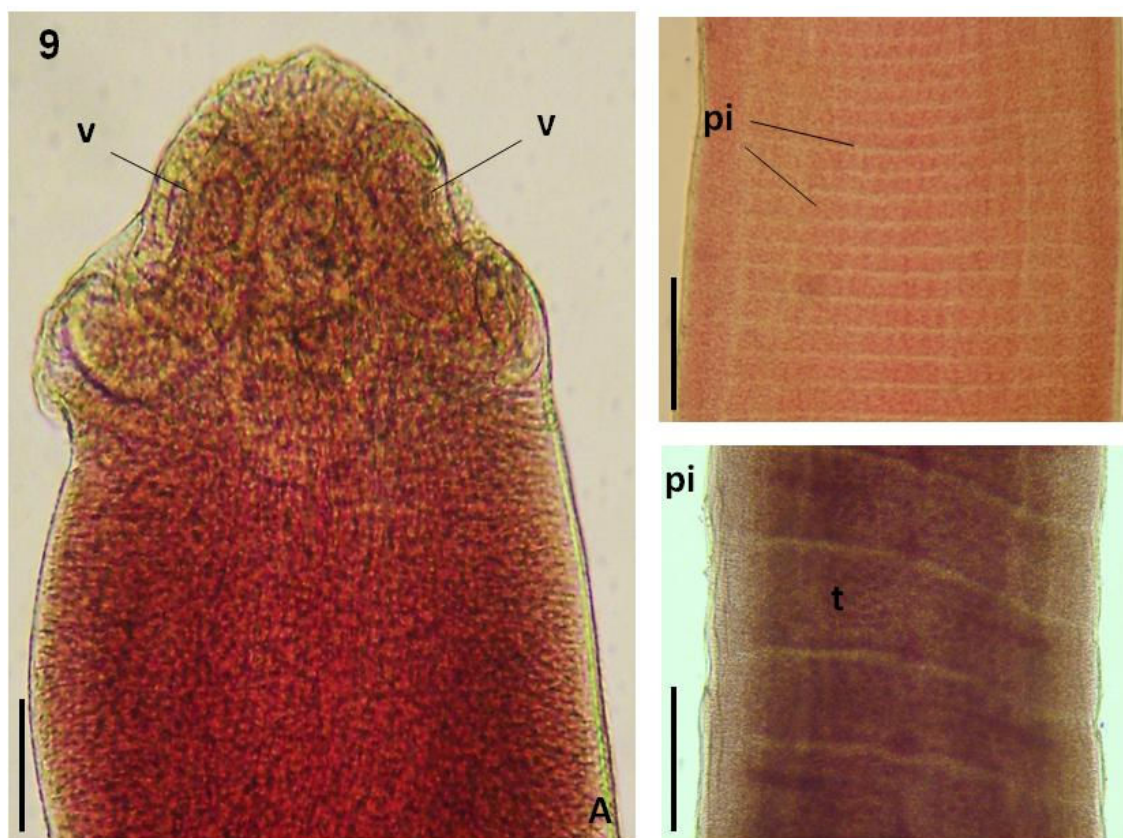


Figura 9: Microscopia de luz de *Gibsoniela* sp. **A)** Região cefálica destacando o escolex com ventosas triloculadas (v), alongadas longitudinalmente. Barra = 100 μ m. **B)** Detalhe de proglotes imaturos, sem diferenciação de órgãos reprodutivos porem com canais excretores visíveis (ex). Barra = 500 μ m. **C)** Visão geral de proglotes imaturos com primórdios de formação de testículo (t). Barra = 500 μ m.

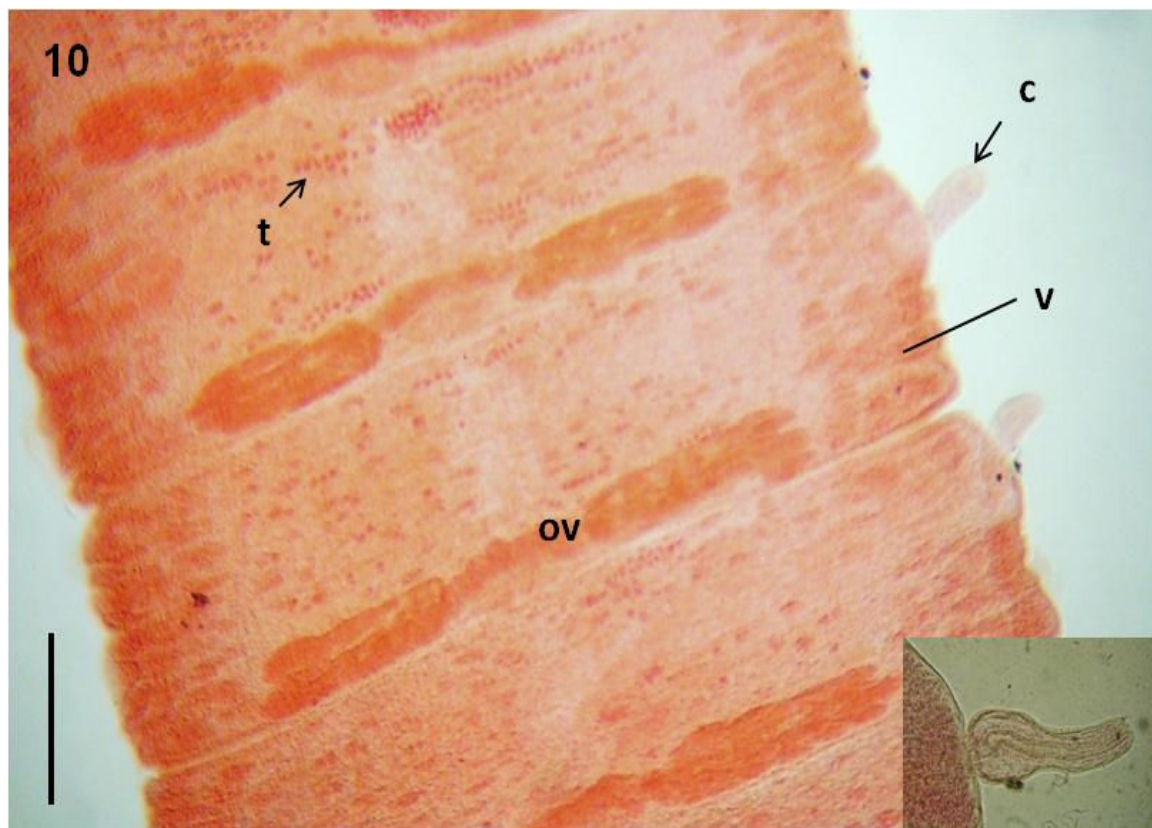


Figura 10: Microscopia de luz de proglote maduro de *Gibsoniella* sp. corado por Carmim. Observar inúmeros testículos (t) de localização medular; ovário (ov) alveolar de localização basal. Folículos vitelínicos (v) lateralmente distribuídos. Cirro evertido (c). No detalhe, cirro evertido. Barra = 100 μ m.

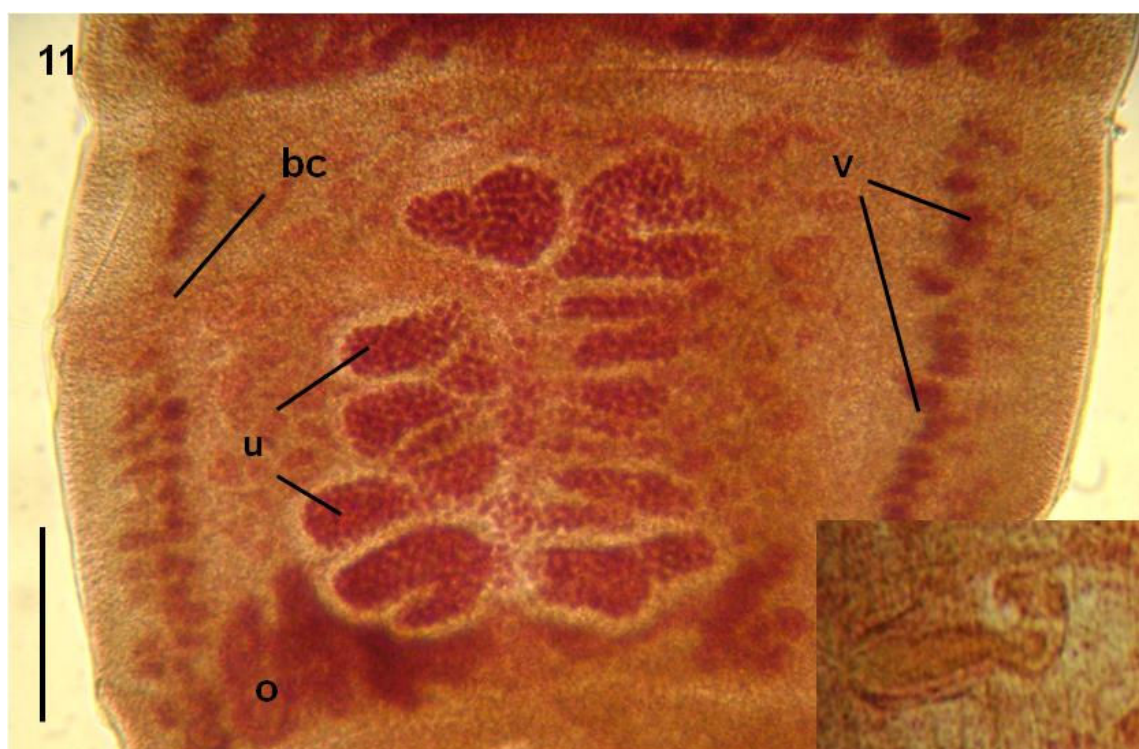


Figura 11: Microscopia de Luz de proglote maduro de *Gibsoniella* sp. corado com Carmim. Útero ramificado repleto de ovos (u). Folículos vitelínicos (v). Ovário alveolar basal (o). Bolsa do cirro (bc). No detalhe, bolsa do cirro. Barra = 100 μ m.

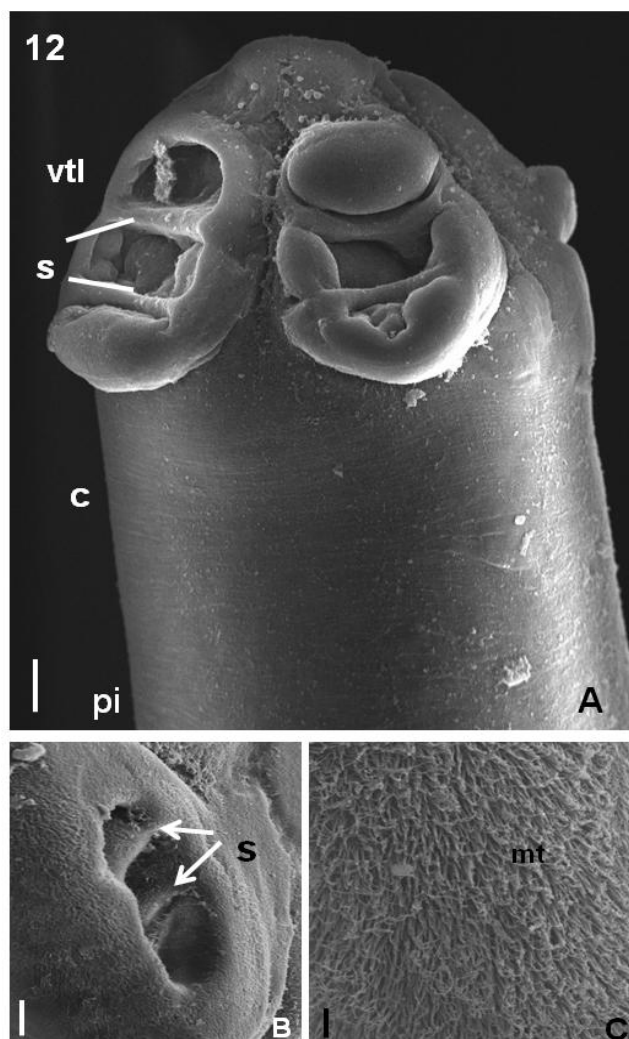


Figura 12: Microscopia eletrônica de varredura de *Gibsoniela* sp. **A)** Estróbilo com proglotes imaturos (*). Barra = 50 μ m. **B)** Átrio genital (ag). Barra = 10 μ m. **C)** Detalhe do cirro (c). Barra = 40 μ m. **D)** Poro genital (pg); proglotes maduros com destaque para os átrios genitais lateralizados (ag). Barra = 80 μ m.

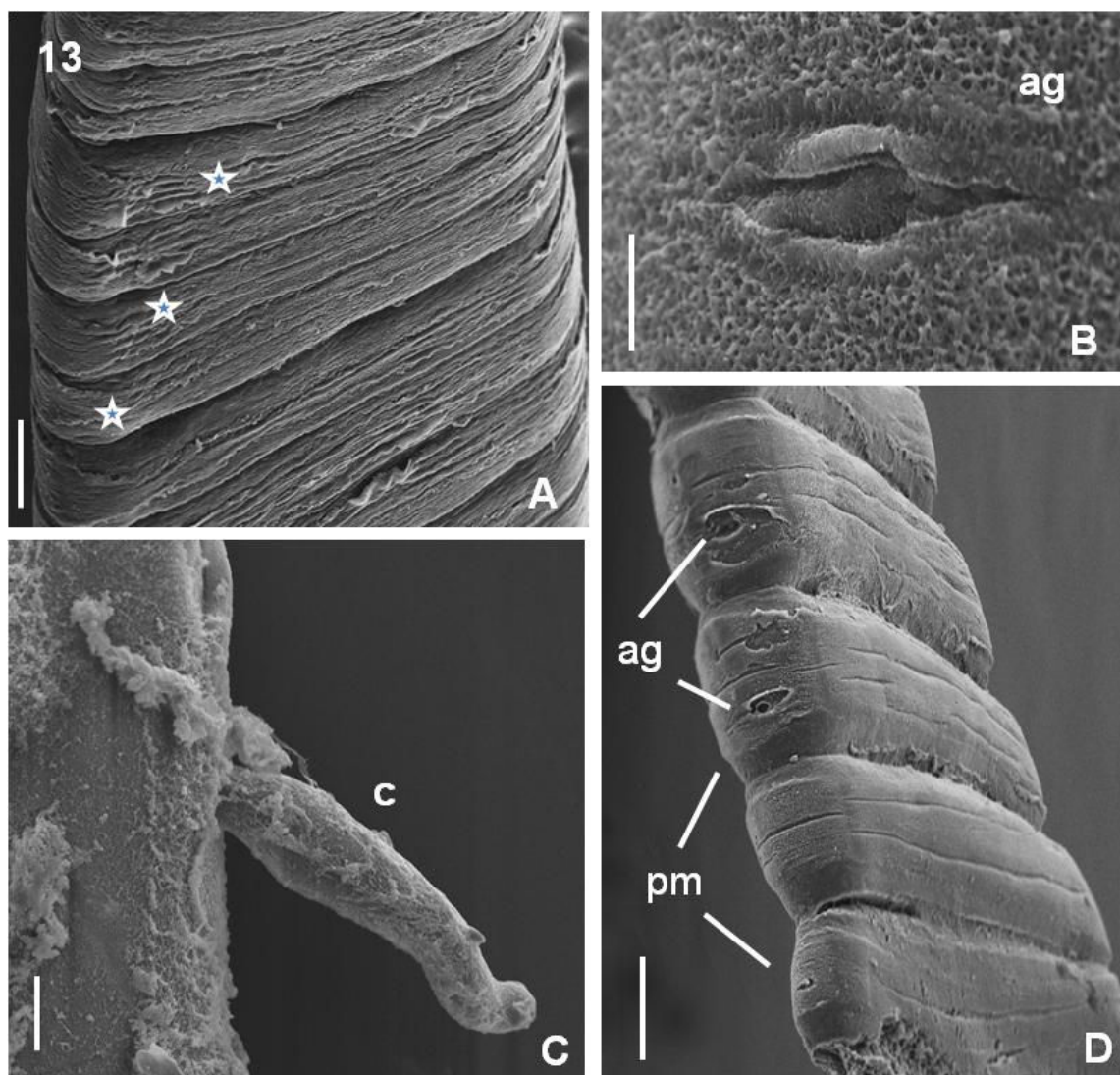


Figura 13: Microscopia eletrônica de varredura de *Gibsoniela* sp. **A)** Estróbilo com proglotes imaturos (*). Barra = 50 μ m. **B)** Átrio genital (ag). Barra = 10 μ m. **C)** Detalhe do cirro (c). Barra = 40 μ m. **D)** Átrio genital (ag); proglotes maduros com destaque para os átrios genitais lateralizados (ag). Barra = 80 μ m

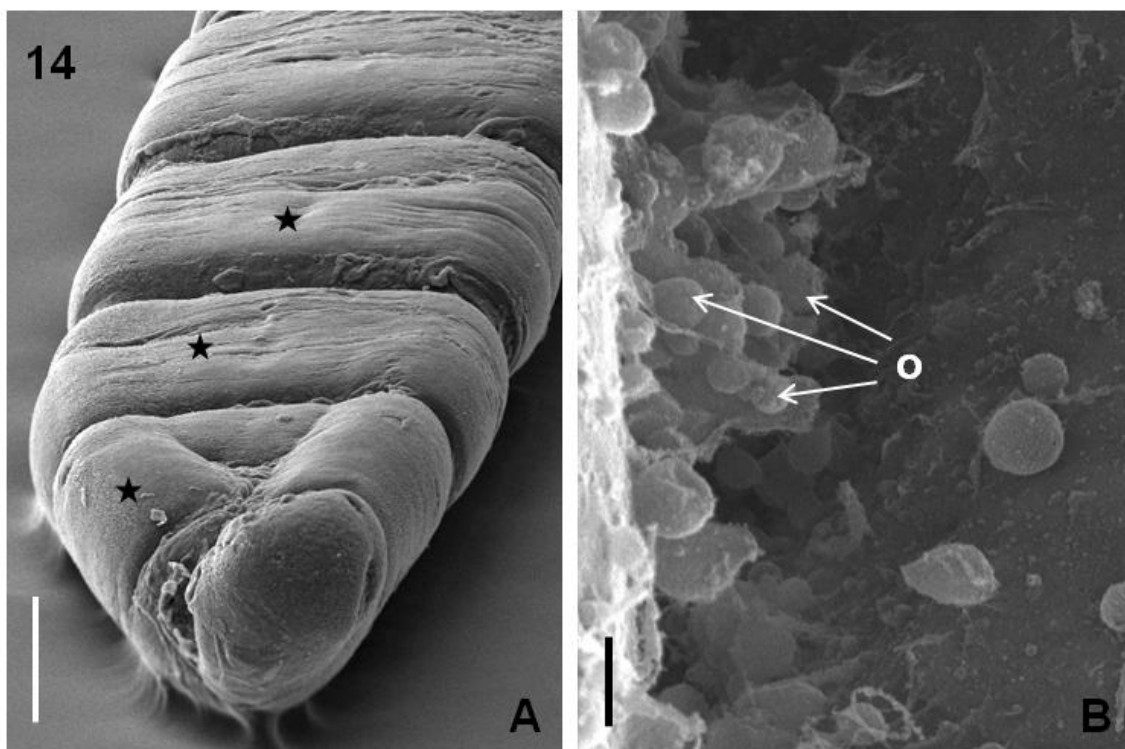


Figura 14: Microscopia eletrônica de varredura de *Gibsoniela* sp. **A)** Proglotes gravídicos (estrela) na extremidade posterior do helminto. Barra = 80 μ m. **B)** Detalhe de ovos no interior do proglote grávido (o). Barra = 2 μ m.

3.2.1.3 Filo Platyhelminthes Gegenbaur, 1859

Classe Monogenea Carus, 1863

Sub-Classe Polyonchoinea Bychowsky, 1937

Ordem Dactylogyridea Bychowsky, 1937

Super-Família Dactylogyroidea, Yamaguti 1963

Familia Dactylogyridae Bychowsky, 1933

Sub-Família Ancyrocephalinae Bychowsky, 1937

Localização: Brânquias

Prevalência: 22,7%

Intensidade: não avaliada

Descrição preliminar: baseada em 4 exemplares: (Fig. 15 e 16)

Helmintos pequenos de coloração branco-opaca. Lobos cefálicos fracamente desenvolvidos. Opisthaptor pouco distinguível do resto do corpo com dois pares de âncoras fortemente desenvolvidas e duas barras nitidamente separadas. Folículos vitelínicos bem desenvolvidos, distribuídos próximo a região equatorial. Vagina bem desenvolvida, localizada lateralmente, próxima ao meio do corpo. Cirro e peça acessória bem esclerotizados.

A conclusão da identificação ao nível taxonômico do Gênero e da Espécie não foi realizada por completo neste trabalho, sendo necessários estudos morfométricos e moleculares detalhados, após os quais serão atribuídas suas identificações.

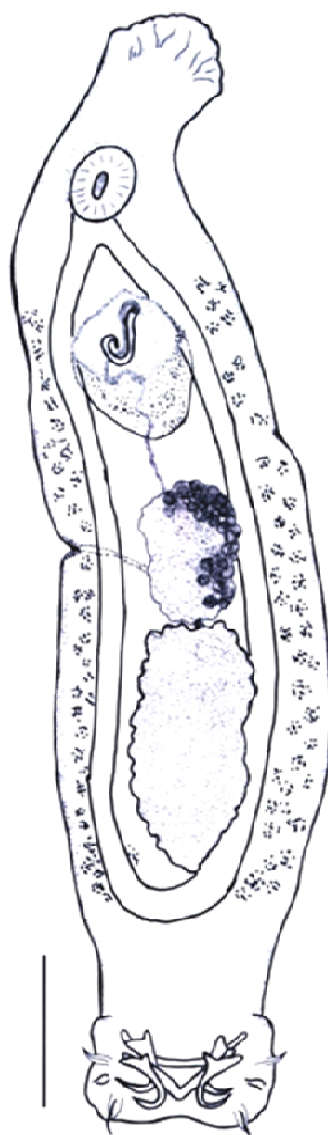
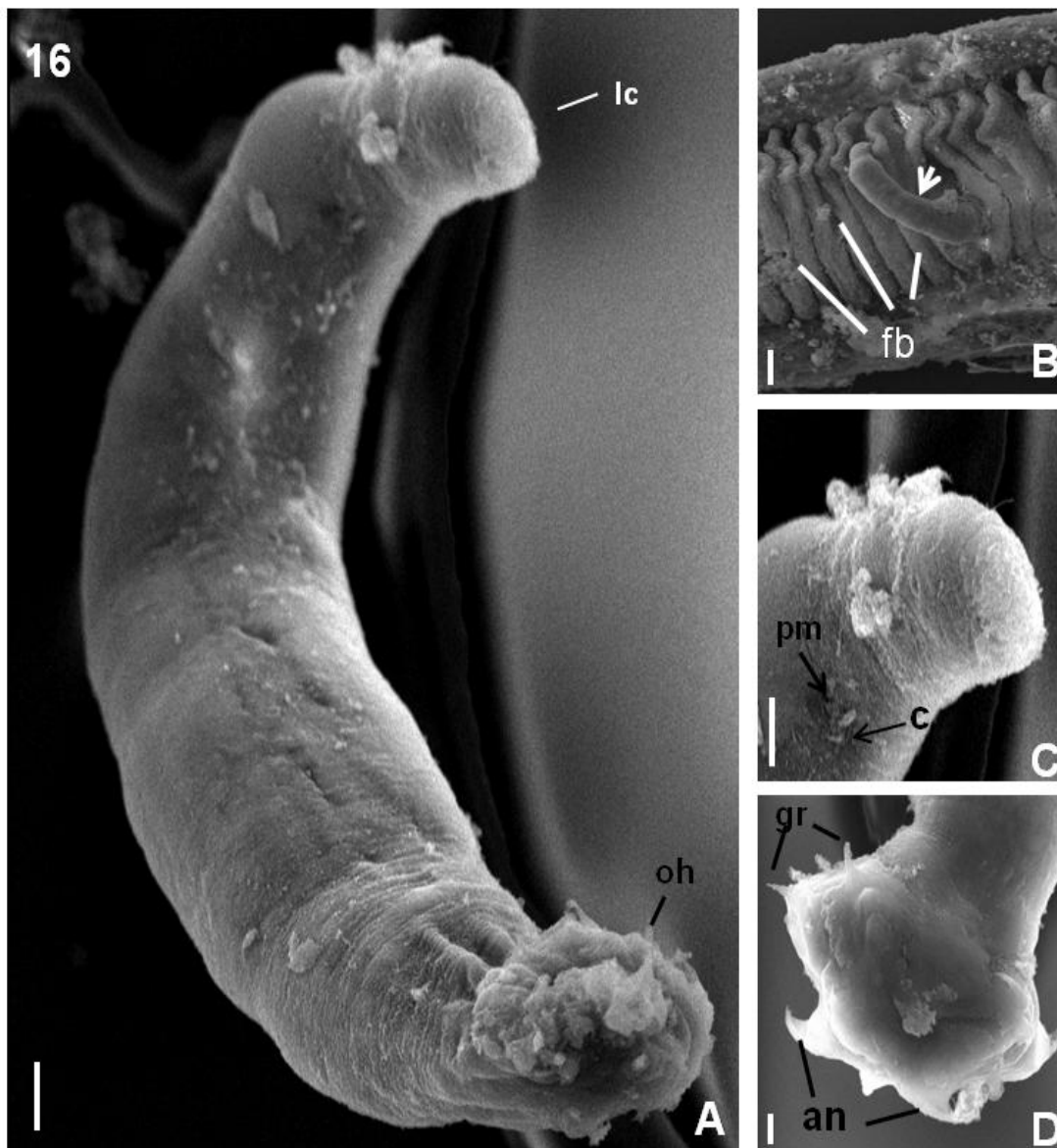


Figura 15: Exemplar de Monogenea Ancyrocephalinae desenhado por microscopia de luz com auxílio de câmara clara. Observe região cefálica com lobos cefálicos discretos, pequena ventosa, seguida de cecos. Cirro e peça acessória bem esclerotizados. Ovário e testículos subsequentes. Vagina lateralizada. Folículos vitelínicos distribuídos no terço médio do corpo. Opisthaptor pouco destacado do resto do corpo, com dois pares de ancoras esclerotizados, duas barras não articuladas e grampos distribuídos na superfície. Barra= 50µm.



Figuras 16: Microscopia eletrônica de varredura de Monogenea Dactylogiridae Ancyrocephalinae. **A)** Visão geral do corpo evidenciando a região cefálica com lobos pouco desenvolvidos (lb), e opistohaptor (oh) discreto, abaixo na foto. Barra = 10 μ m. **B)** Exemplar de Ancyrocephalinae (seta) inserido nos filamentos branquiais (fb) de *Ageneiosus ucayalensis*. Barra = 50 μ m. **C)** Detalhe da região cefálica evidenciando poro genital masculino (pm) com extremidade pontiaguda do cirro (c). Barra = 10 μ m. **D)** Detalhe do opistohaptor evidenciando ancoras (an) e grampos (gr). Barra = 5 μ m.

3. 2. 2 Filo Acanthocephala

3.2.3.1 Filo Acanthocephala Kohlreuther, 1771

Classe Eoacanthocephala Van Cleave, 1936

Ordem Neoechinorhynchida Ward, 1917

Família Neoechinorhynchidae Van Cleave, 1919

Gênero *Neoechinorhynchus* Stiles e Hassall, 1905

Localização: intestino médio

Prevalência: 1,95%

Intensidade: 10 helmintos coletados em 4 peixes parasitados

Descrição preliminar baseada em 4 exemplares (dois machos e duas fêmeas). Fig. 17 a 20.

Descrição geral: Helmintos de porte pequeno. Fêmea nitidamente maior que macho. Geralmente o formato do corpo é semelhante em ambos os sexos. Tronco cilíndrico, delgado, mais largo no terço anterior, afinando posteriormente, sendo ligeiramente assimétrico. Parede do corpo com redes de ductos lacunares, característica do gênero, apresentando 3 núcleos gigantes dorsais e 2 ventrais. Lemniscos sub-iguais, ocupando o terço superior do comprimento do tronco. A probóscide posiciona-se curvada no sentido ventral em relação à linha central do tronco. Receptáculo da probóscide simples, de formato sacular, com o gânglio cerebral localizado na sua extremidade caudal. Na probóscide, os ganchos diminuem de comprimento no sentido cefalocaudal, sendo em número de 18,

distribuídos em 3 fileiras circulares com 6 ganchos cada. Os 6 ganchos da fileira anterior possuem tamanho igual. Os ganchos da 2ª e 3ª fileiras são menores que os da 1ª e semelhantes entre si, ocorrendo alternados nas 2ª e 3ª fileiras. Extremidade posterior do corpo curva no sentido ventral. Macho com testículos iguais, glândula de cimento simples, reservatório de cimento simples, ducto ejaculador, bolsa copuladora e cirro, próprio do gênero *Neoechinorhynchus*.

Fêmea: Comprimento total $1,31 \pm 0,009$ (1,31 - 1,32) mm. Largura máxima $0,169 \pm 1,4$ (0,168 - 0,170) mm. Comprimento da probóscide $0,18 \pm 0,01$ (0,17 - 0,19) mm e receptáculo da probóscide $0,17 \pm 4,2$ (0,16 - 0,17) mm. Ganchos do círculo anterior medindo 64 mm de comprimento, ganchos do círculo médio e posterior 7 mm de comprimento. Lemniscos iguais possuindo $303 \pm 2,1$ (0,300 - 0,303) mm de comprimento. Poro genital subterminal. Sino uterino medindo 175 mm de comprimento. As fêmeas analisadas possuíam embriões nos primeiros momentos da embriogênese, ovos sem cascas, não sendo, portanto, viável a morfometria dos mesmos.

Macho: Comprimento total $1,57 \pm 0,03$ (1,55 - 1,60) mm. Largura máxima $0,19 \pm 0,007$ (0,19 - 0,20) mm. Comprimento da probóscide e do receptáculo $0,18 \pm 0,014$ (0,17 - 0,19) mm e $0,31 \pm 0,02$ (0,30 - 0,33) mm, respectivamente. Ganchos do círculo anterior medindo 64 mm, ganchos do círculo médio 10 mm e ganchos do círculo posterior 5 mm. Lemniscos iguais possuindo $0,75 \pm 0,02$ (0,73 - 0,77) mm de comprimento. O sistema reprodutivo ocupa mais da metade do comprimento de

corpo. Testículos subseqüentes, ovais, subequatoriais, iguais, medindo $0,135 \pm 0,007$ ($0,135 - 0,140$) mm de comprimento e $0,075 \pm 0,007$ ($0,07 - 0,08$) mm de largura. Glândula de cimento oval, contígua aos testículos medindo $0,13 \pm 0,014$ ($0,12 - 0,14$) mm de comprimento. Reservatório de cimento oval, medindo 0,05 mm de comprimento e 0,05 mm de largura, menos da metade do volume da glândula de cimento, estando contígua a este.

17



Figura 17: Ilustrações científicas obtidas por microscopia de luz de fêmea **(A)** e macho **(B)** de *Neoechinorhynchus* sp. Barra = 100µm.

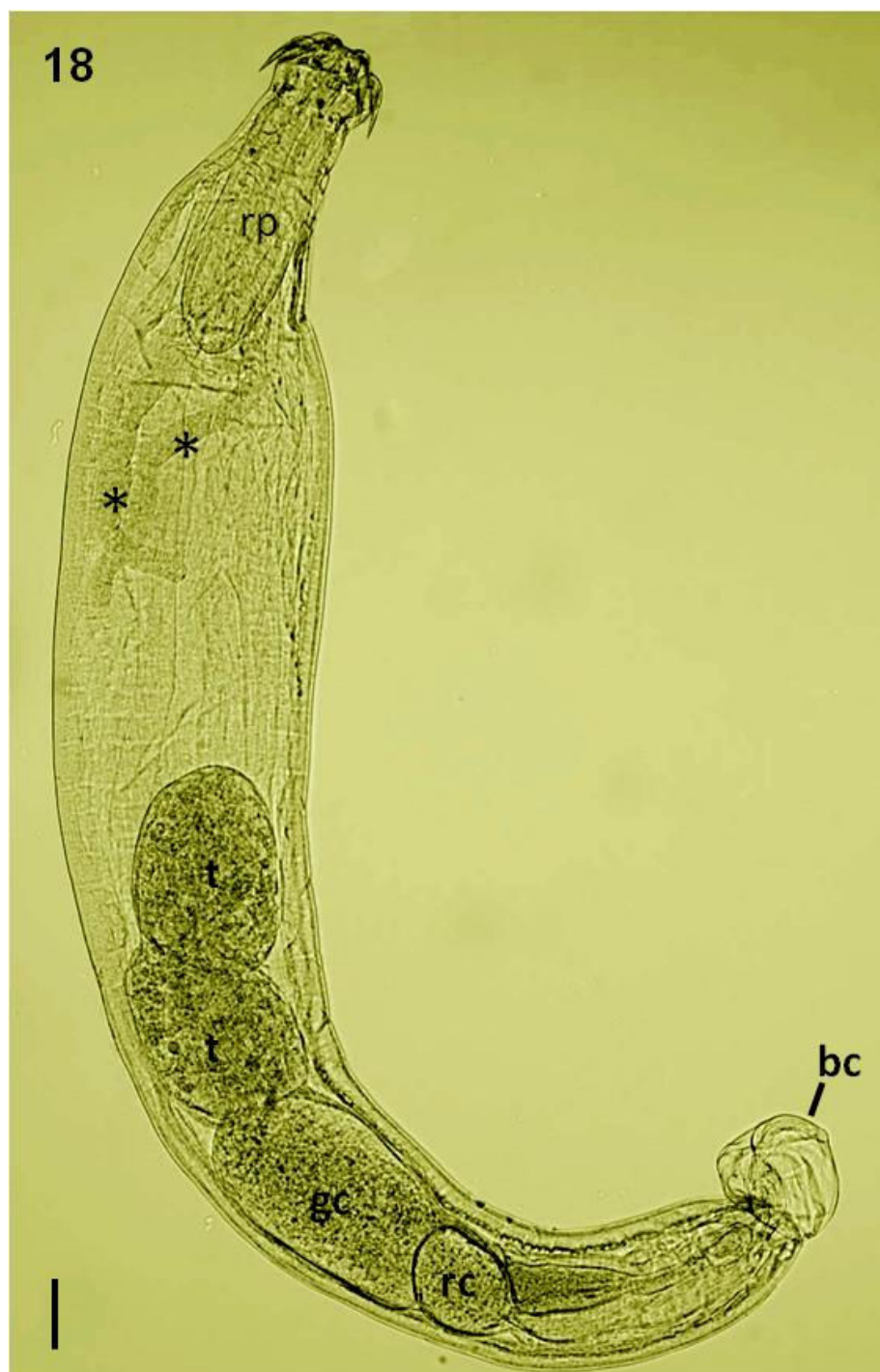


Figura 18: Microscopia de luz de do macho de *Neoechinorhynchus* sp.: Destaca-se nesta visão geral do corpo o receptáculo da probóscide (rp); lemníscos (*); testículo (t); glândula de cimento (gc); reservatório de cimento (rc); bolsa copuladora. (bc). Barra = 50 μ m.

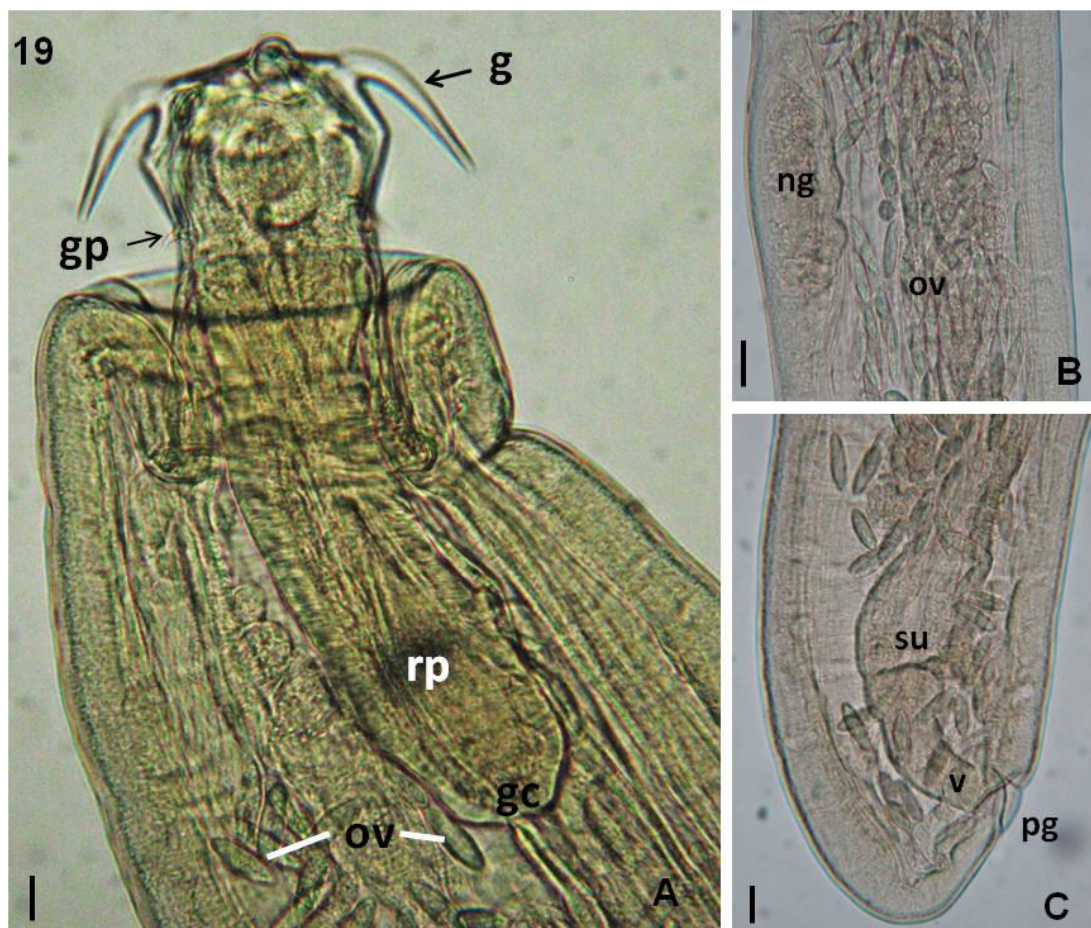


Figura 19: Microscopia de luz de fêmea de *Neoechinorhynchus* sp. **A)** Extremidade cefálica com probóscide contendo ganchos grandes (g) e ganchos pequenos (gp). Destaca-se ainda o receptáculo da probóscide (rp); gânglios cerebroides (gc) e ovos (ov). Barra= 50μm. **B)** Região equatorial do corpo com núcleo gigante (ng) e ovos (ov). Barra= 50μm. **C)** Extremidade caudal de onde se observa o sino uterino (su), vagina (v) e poro genital (pg). Barra= 50μm.

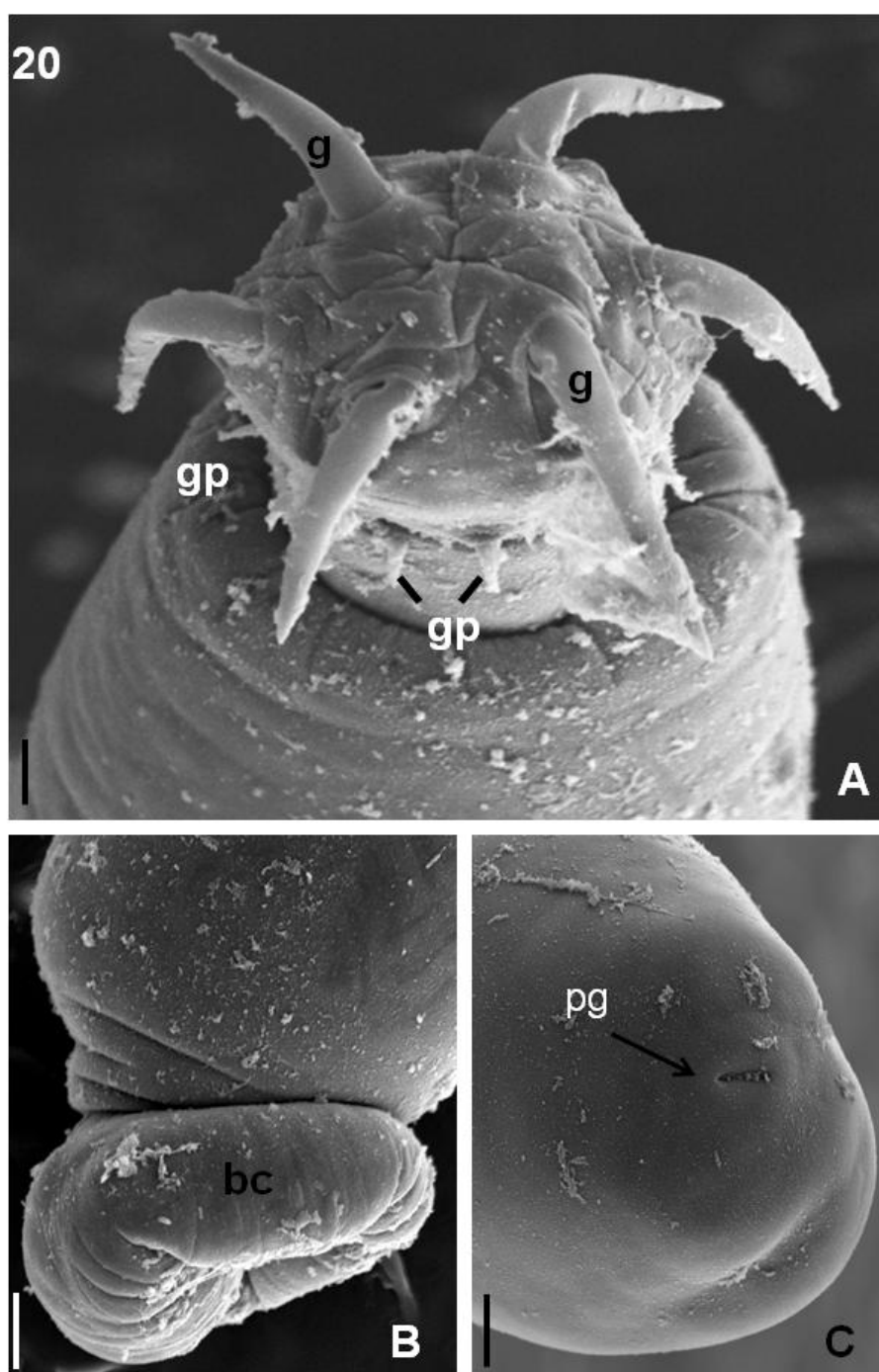


Figura 20: Microscopia eletrônica de varredura de *Neoechinorhynchus* sp. **A)** Probóscide com ganchos grandes (g) e pequenos (gp). Barra= 10µm. **B)** Extremidade caudal do macho e visão da bolsa copuladora (bc). Barra= 10µm. **C)** Extremidade caudal da fêmea onde se observa o poro genital (pg). Barra= 20µm.

3.2.3 Filo Nematoda

3.2.3.1 Filo Nematoda (Rudolphi, 1808)

Classe Rhabditea Inglis, 1983

Ordem Ascaridida Skrajabin & Schulz, 1940

Família Anisakidae Skrjabin & Karokhin, 1945

Gênero *Anisakis*, Rudolphi 1804

Localização: Peritônio visceral do estômago, intestino e fígado.

Prevalência: 2,9%

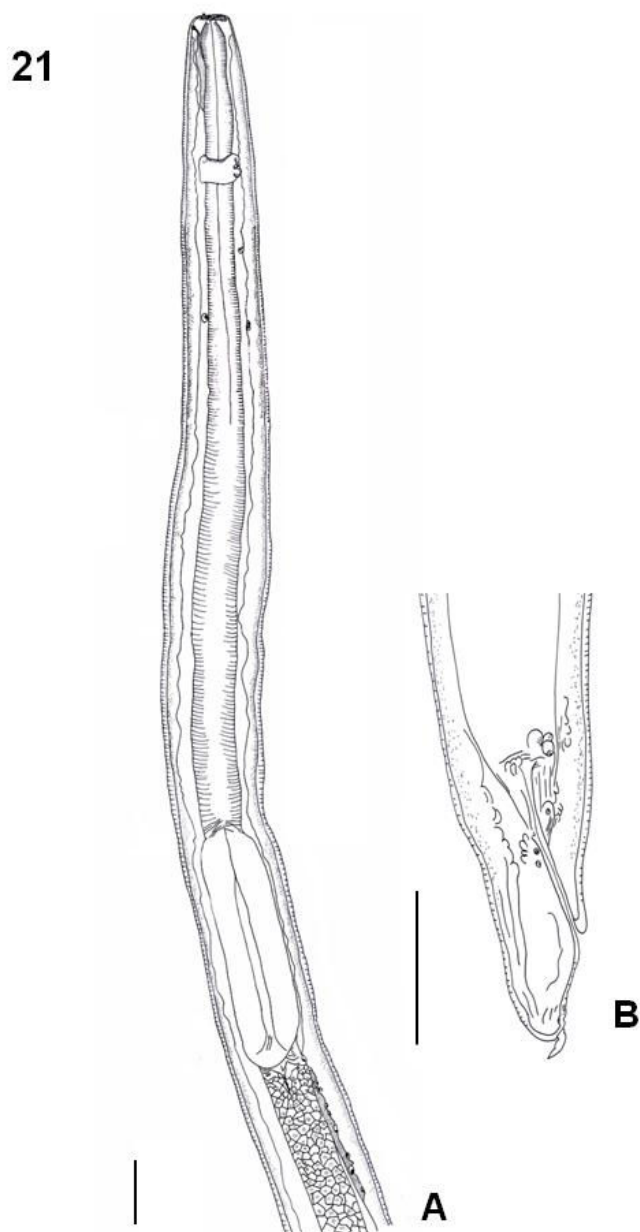
Intensidade: 2,5 (15 larvas em 6 peixes parasitados)

Descrição preliminar baseada em cinco exemplares: Figs. 21 a 23.

Larvas de nematóides foram recolhidas do peritônio visceral que reveste o estômago, intestino e fígado dos hospedeiros; estas se encontravam envolvidas por uma membrana conjuntiva ricamente vascularizada, onde também ocorrem metacestódeos da Família Proteocephalidae.

As larvas se encontravam em 3º estágio, com dente larvar e ventrículo esofagiano bem destacado do restante do esôfago, caráter peculiar a esta fase de desenvolvimento de exemplares da Família Anisakidae. Além deste caráter, apresentam poro excretor próximo à abertura oral, ventrículo esofagiano bem desenvolvido, sem apêndice ventricular e ceco intestinal, cauda com mucro bem desenvolvido, caracteres próprios a exemplares do gênero *Anisakis*.

São nematóides de tamanho médio em relação aos seus congêneres, de coloração branco-opaca. Extremidade cefálica apresentando três lábios margeando a abertura oral. Exemplares apresentando dente larvar de tamanho. Poro excretor próximo ao dente, localizado lateralmente a este. Comprimento total $13,8 \pm 2,8$ (11,8 - 15,9), largura $0,2 \pm 0,04$ (0,17 - 0,23). Esôfago longo, medindo $1,55 \pm 0,04$ (0,17 - 0,23) de comprimento por $0,085 \pm 0,007$ (0,08 - 0,09) de largura. Ventrículo de tamanho médio com $0,41 \pm 0,07$ (0,36 - 0,46) de comprimento por $0,13 \pm 0,02$ (0,11 - 0,15) de largura. Sem ceco intestinal ou apêndice ventricular. Distância do anel nervoso para a extremidade cefálica $0,23 \pm 0,007$ (0,23 - 0,24). Cauda medindo 0,17 mm de comprimento, incluindo mucro.



Figuras de 21: Microscopia de luz de larva de *Anisakis* sp. **A)** Terço anterior do corpo evidenciando anel nervoso, o longo esôfago, ventrículo esofagiano, apêndice ventricular e início do intestino. Barra=100µm. **B)** Extremidade caudal evidenciando porção terminal do intestino, ânus, cauda e mucro. Barra= 100µm.

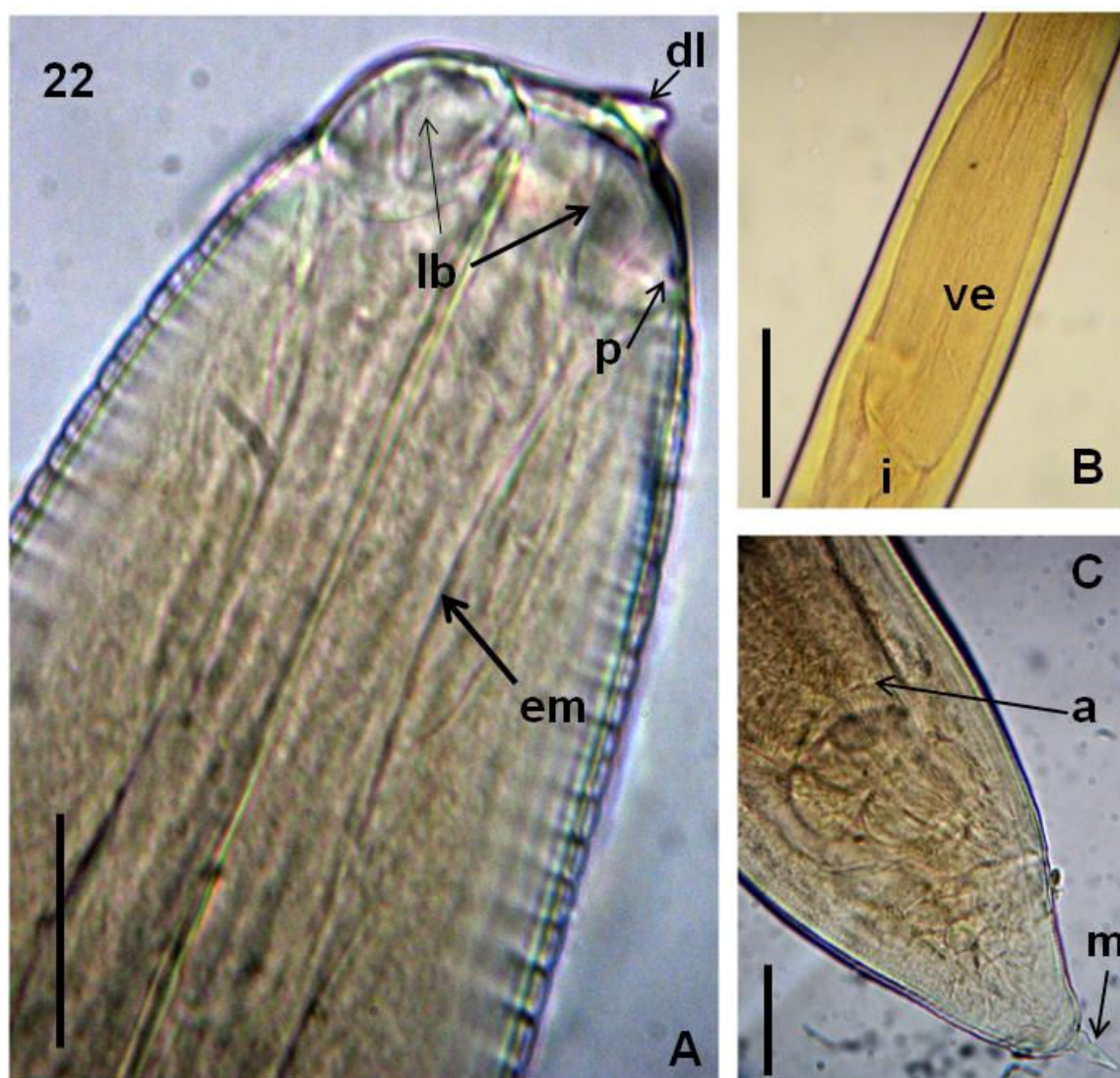
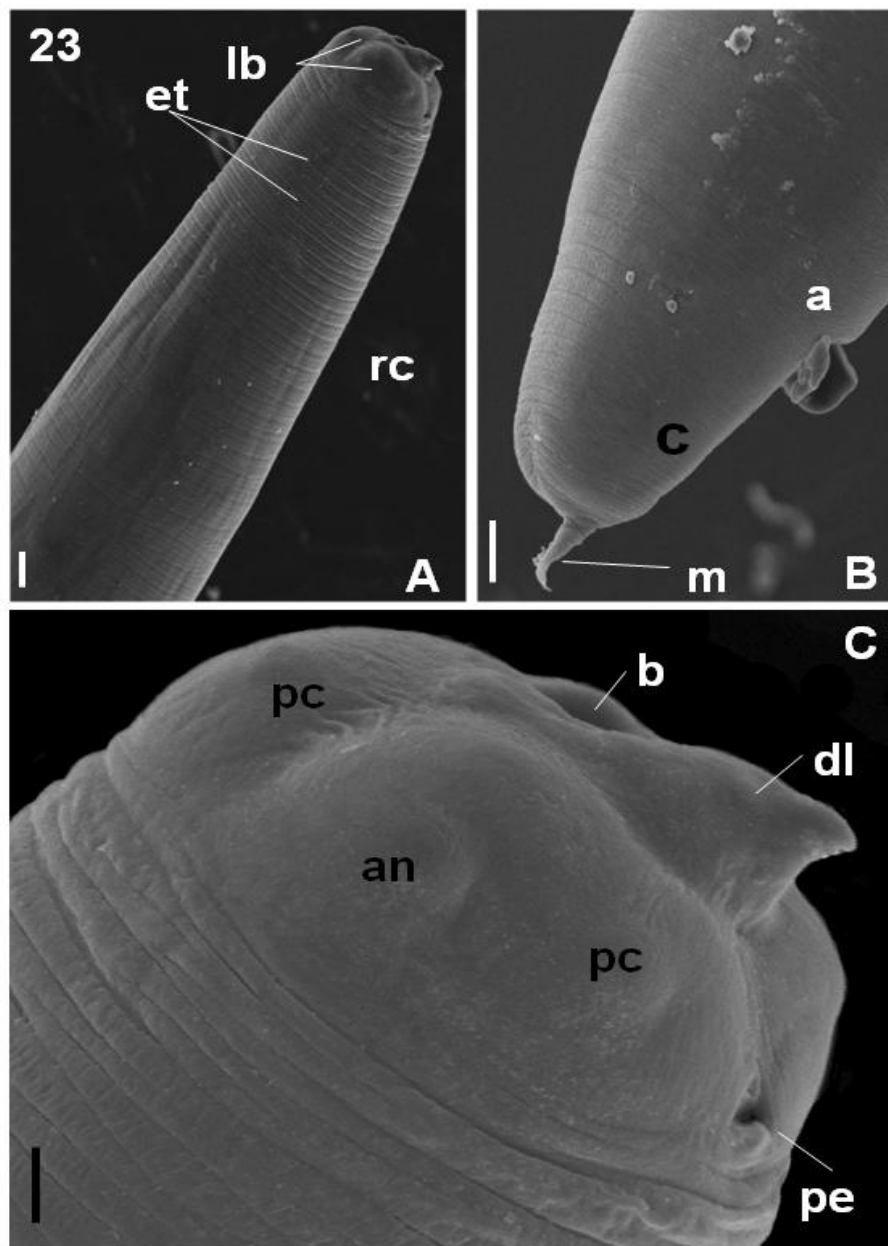


Figura 22: Microscopia de luz de larva de *Anisakis* sp. **A)** extremidade cefálica destacando lábios (lb), dente larval (d), esôfago muscular (em) e poro excretor (p). Barra 50µm. **B)** Terço final do esôfago evidenciando ventrículo esofágiano (ve) e sua junção com intestino (i). Barra=100 µm. **C)** Extremidade caudal destacando ânus (a) e mucro (m). Barra= 50µm.



Figuras de 23: Microscopia eletrônica de varredura de larva de *Anisakis* sp. **A)** Terço anterior da larva evidenciando lábios (lb), dente larvar (dl) e estriações transversais da cutícula (et). Barra= 10µm. **B)** Extremidade caudal evidenciando cauda (c), ânus (â) e mucro (m). Barra= 10µm. **C)** Detalhe da região cefálica evidenciando dente larvar (dl), boca (b), papilas cefálicas (pc), anfídio (an) e poro excretor (pe). Barra= 4µ

3.2.3.2 Filo Nematoda (Rudolphi, 1808) Lankester, 1877

Classe Secernentea Von Linstow, 1905

Ordem Spiruridea Diesing, 1861

Familia Cystidicolidae, Skryabin 1946

Gênero *Pseudoproleptus*, Khera 1955

Localização: Estômago

Prevalência: 0,9%

Intensidade: 2 (4 larvas em 2 peixes parasitados)

Descrição preliminar baseada em 3 exemplares: Figs. 24 e 25.

Nematóide com corpo filiforme, de coloração branco-amarelada; $20,06 \pm 0,1$ (20 – 20,06) mm longo e $0,092 \pm 0,004$ (0,087 – 0,096) mm largo. Cutícula espessa, com estrias transversais largas. Extremidade cefálica com colar cuticular, de bordos livres na porção distal. Abertura oral em forma de fenda, no sentido dorso ventral, cercada por dois espessamentos cuticulares. Sub-lábio bem desenvolvido, modificados constituindo dois pequenos dentes internos. Quatro papilas cefálicas sub-medianas que se organizam em círculo; 1 par de anfídios laterais. Comprimento de total esôfago $0,49 \pm 0,01$ (0,48 – 0,51) mm. Deirídios situados 0,15 mm, anel nervoso $0,20 \pm 0,005$ (0,2 – 0,21), e poro excretor situados, $0,446 \pm 0,005$ (0,44 – 0,45) distante da extremidade anterior de corpo. Cauda cônica, $0,14 \pm 0,005$ (0,14 – 0,15) mm longa, com pequena projeção cuticular constituindo um mucro. Primórdios genitais indistintos.

A presença de deirídios, poro excretor e primórdios da formação de órgãos reprodutivos sugerem tratar-se de larvas em 4º estágio.

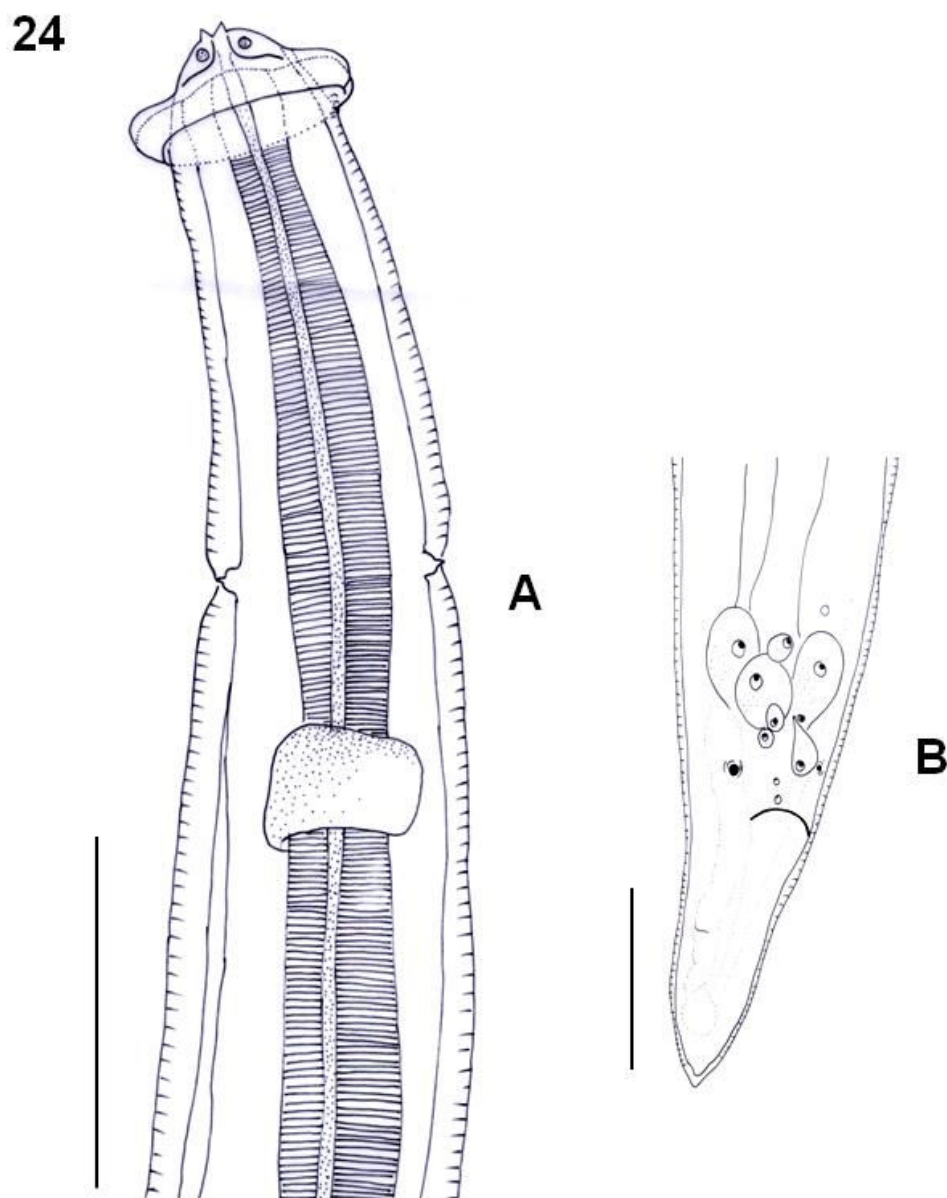


Figura 24: *Pseudoproleptus* sp. observado e desenhado sob microscopia de luz .

A) Na extremidade cefálica observa-se dobra cuticular que forma o colar cefálico. Pouco abaixo, destacam-se os deirídios próximos à região do anel nervoso. **B)** Na região caudal, observa-se o ânus, e primórdios indistintos de órgão reprodutivos. Barras = 100µm.

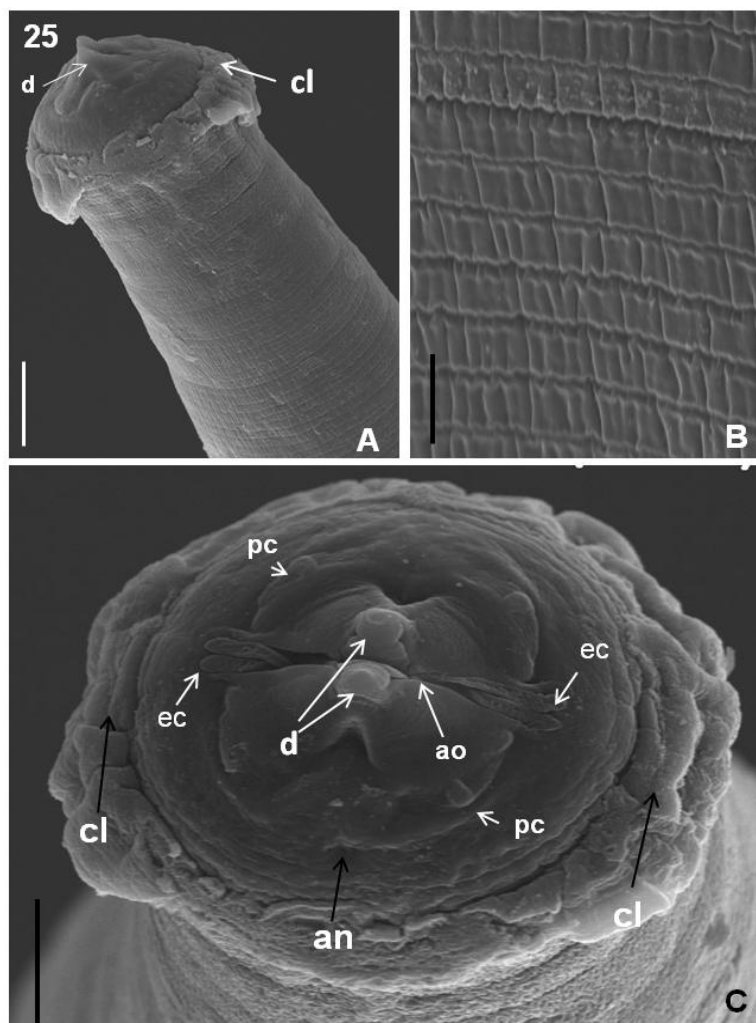


Figura 25: Microscopia eletrônica de varredura de *Pseudoproleptus* sp. **A)** Visão lateral da extremidade cefálica evidenciando sub-lábios modificados em forma de dentes internos(d) e colar cefálico (cl). Barra= 15 μ m. **B)** Detalhe da cutícula com estriações transversais. Barra= 4 μ m. **C)** Detalhe da extremidade cefálica onde se observa abertura oral em forma de fenda (ao), colar cefálico (cl), anfídio (an), papilas cefálicas (pc), espessamentos cuticulares (ec), dentes internos (d). Barra= 10 μ m

3.2.3.3 Filo Nematoda (Rudolphi, 1808)

Classe Secernentea Von Linstow, 1905

Ordem Spiruridea Diesing, 1861

Familia Cucullanidae Cobbold, 1864

Gênero *Cucullanus* Mueller, 1777

Localização: Cavidade celomática

Prevalência: 0,4%

Intensidade: 12 larvas em 1 peixe parasitado

Descrição preliminar baseada em 3 exemplares: Fig. 26.

Larva de pequeno porte, de cor branco-opaca . Extremidade cefálica com abertura oral em forma de fenda direcionada dorsoventralmente, apresentando primórdios de papilas cefálicas. Pode-se visualizar o início da formação do esofastoma, pouco esclerotizado internamente, sugerindo tratar-se de larvas de 3º estágio.

Comprimento total do corpo $3,1 \pm 0,4$ (2,26 - 3,46), largura na altura do esôfago $0,094 \pm 0,008$ (0,008 - 0,1). Comprimento $0,38 \pm 0,02$ (0,34 - 0,4), e largura $0,05 \pm 0,01$ (0,04 - 0,07) do esôfago. Anel nervoso e poro excretor distantes, respectivamente, da extremidade cefálica $0,16 \pm 0,04$ (0,13 - 0,24) e $0,13 \pm 0,0$ (0,11 - 0,15). Cauda $0,13 \pm 0,03$ (0,07 - 0,17) longa.

26

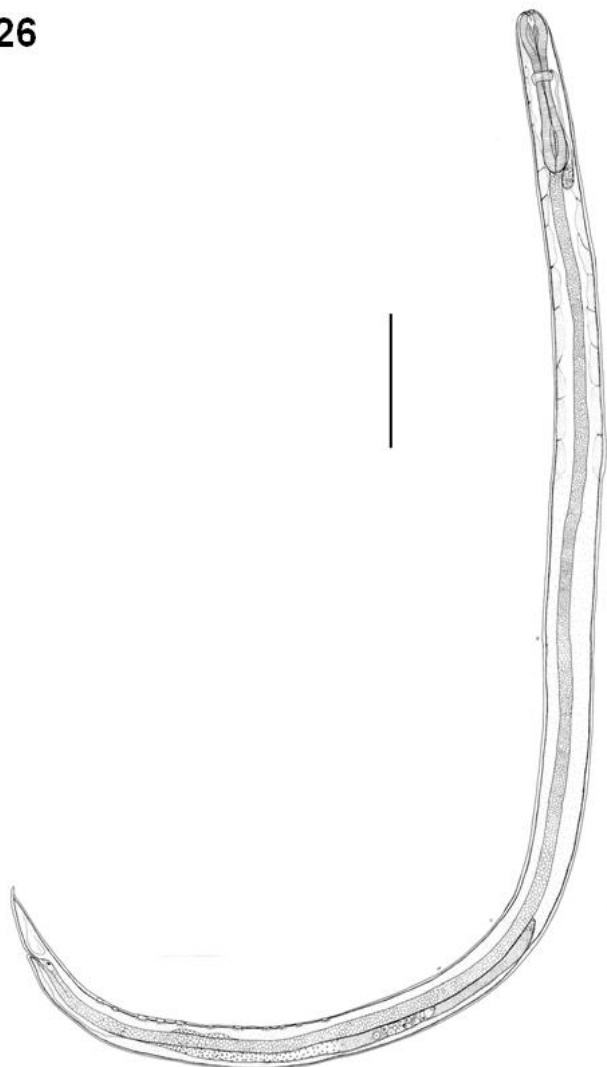


Figura 26: Larva de *Cucullanus* sp. observada e desenhada sob microscopia de luz com câmara clara. Na extremidade cefálica nota-se a dilatação do esôfago muscular e formação do esofastoma pouco esclerotizado. Poro excretor próximo ao anel nervoso. Na extremidade caudal observa-se primórdios de formação de gônadas. Barra= 100 μ m.

3.2.3.4 Filo Nematoda (Rudolphi, 1808) Lankester, 1877

Classe Secernentea Von Linstow, 1905

Ordem Spiruridea Diesing, 1861

Família Cucullanidae Cobbold, 1864

Gênero *Cucullanus* Mueller, 1777

Espécie *Cucullanus ageneiosus* Giese, Furtado,
Santos & Lanfredi, 2010

Nematóides da Família Cucullanidae, foram colhidos no intestino de *Ageneiosus ucayalensis* e diagnosticados como pertencendo ao Gênero *Cucullanus*. Após estudo morfológico e morfométrico detalhado, concluiu-se tratar de espécie ainda não descrita na literatura. Esta descrição foi realizada em artigo científico, aceito para publicação em periódico internacional (Anexo II).

Descrição detalhada baseada em 7 exemplares. Figs. 27 e 28.

Descrição geral: Nematóides de tamanho médio, branco opaco quando em vida. Macho menor que fêmeas, sendo a morfologia da região anterior semelhante em ambos os sexos. Cutícula com finas estrias transversais. Extremidade cefálica arredondada, abertura oral em forma de fenda, com abertura em posição dorsoventral, cercada por um anel cuticular, interiormente delimitado por uma fileira de pequenos dentes. Quatro papilas cefálicas medianas e um par de anfídios laterais. Aleta lateral cervical ausente. Esôfago muscular dividido em duas

porções distintas e bem desenvolvida: região anterior bem esclerotizada formando uma pseudocápsula bucal, denominada esofastoma; região posterior do esôfago muscular apresentando o anel nervoso. Esôfago glandular claviforme, abrindo-se no intestino por uma forte válvula. Divertículo do esôfago e ceco intestinal ausente. Poro excretor e deirídios localizados na região mediana do esôfago glandular. Cauda cônica com projeção pontiaguda.

Macho (1 holótipo e 3 parátipos): Comprimento do corpo 5.9 ± 1.94 (3,65 - 8,94) (8,94) e 0.23 ± 0.02 (0,21 - 0,26) (0,26) largo (Fig.. 2). Esofastoma 0.07 ± 0.002 (0,07 - 0,08) (0,07) longo e 0.1 ± 0.01 (0,09 - 0,12) (0,09) largo. Comprimento do esôfago 0.54 ± 0.02 (0,51 - 0,57) (0,57) e 0.1 ± 0.009 (0,09 - 0,1) (0,11) largo, correspondendo a 10.2% do comprimento de corpo total. Anel nervoso 0.30 ± 0.007 (0,30 - 0,31) (0,30) da extremidade anterior. Deirídios e poro de excretor 0.58 ± 0.02 (0,53 - 0,62) (0,56) e 0.59 ± 0.02 (0,54 - 0,61) (0,61) da extremidade anterior, respectivamente. Ventosa precloacal bem desenvolvida, 0.06 ± 0.09 (0,55 - 0,76) (0,76) distante da cloaca. Cloaca 0.25 ± 0.01 (0,23 - 0,26) (0,26) da extremidade posterior, sem lábios elevados. Gubernáculo 0.09 ± 0.009 (0,08 - 0,10) (0,08) distante da calda; espículos muito pequenos, sub-iguais, ligeiramente esclerotizados, comprimentos 0.16 ± 0.01 (0,14 - 0,18) (0,18) e 0.18 ± 0.02 (0,16 - 0,22) (0,19). Papilas caudais consistem em 10 pares + 1. As cinco primeiras localizam-se na região precloacal ventralmente, sendo o 1º par anterior e o 2º e 3º posterior a ventosa cloacal; o 4º perto do 5º emparelham-se perto de abertura da cloaca. Uma papila ímpar, diminuta e mediana localiza-se no lábio anterior da

cloaca. Após a cloaca ocorrem 4 pares de papilas, sendo 3 ventralmente localizados e 1 lateralmente. Fasmídio $0,07 \pm 0,01$ (0,06 - 0,09) (0,07) distante da cauda. Cauda cônica com extremidade pontiaguda.

Fêmea (1 alótipo e 2 parátipos): Comprimento do corpo $10,8 \pm 0,8$ (10 - 12) (12) e $0,26 \pm 0,03$ (0,23 - 0,31) (0,31) largo. Esofastoma $0,08 \pm 0,04$ (0,08 - 0,09) (0,09) longo e $0,100 \pm 0,003$ (0,100 - 0,019) (0,103) largo. Esôfago $0,97 \pm 0,02$ (0,94 - 1) (0,98) e $0,12 \pm 0,01$ (0,1 - 0,14) (0,14) largo, correspondendo 17.5% do comprimento de corpo total. Anel nervoso e deirídios $0,33 \pm 0,009$ (0,32 - 0,34) (0,32) e $0,66 \pm 0,07$ (0,57 - 0,75) (0,65) distante da extremidade anterior, respectivamente. Poro excretor $0,71 \pm 0,07$ (0,65 - 0,80) (0,69) distante da extremidade anterior. Vulva com lábios suavemente projetados com localização pós-equatorial, $3,73 \pm 0,07$ (0,63 - 0,80) (4.7) distante da extremidade posterior. Vagina muscular direcionada anteriormente, didelfa anfidelfa; ovos 0.05 longo e 0.03 largo. Ânus $0,28 \pm 0,02$ (0,25 - 0,31) (0,27) distante da extremidade posterior. Fasmídio grande $0,07 \pm 0,006$ (0,06-0,07) (0,07) distante da cauda. Cauda com extremidade cônica terminando em projeção pontiaguda.

Sumário de taxonômico

Hospedeiro: *Ageneiosus ucayalensis* (Castelnau 1855) (Auchenipteridae, Siluriformes).

Nome comum: Mandubé.

Sítio de infecção: Intestino anterior.

Localidade tipo: Baía do Guajará, Belém, Estado de Pará, (1°15 -1°29, 48°32'W - 48°29'W), Brasil.

Espécie tipo: Depositadas na Coleção Helminológica do Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro (Holótipo: CHIOC 35657a e alótipo: CHIOC 35657b).

Etimologia: A espécie nova foi nomeada em decorrência do nome científico do Hospedeiro *Ageneiosus ucayalensis*.

27

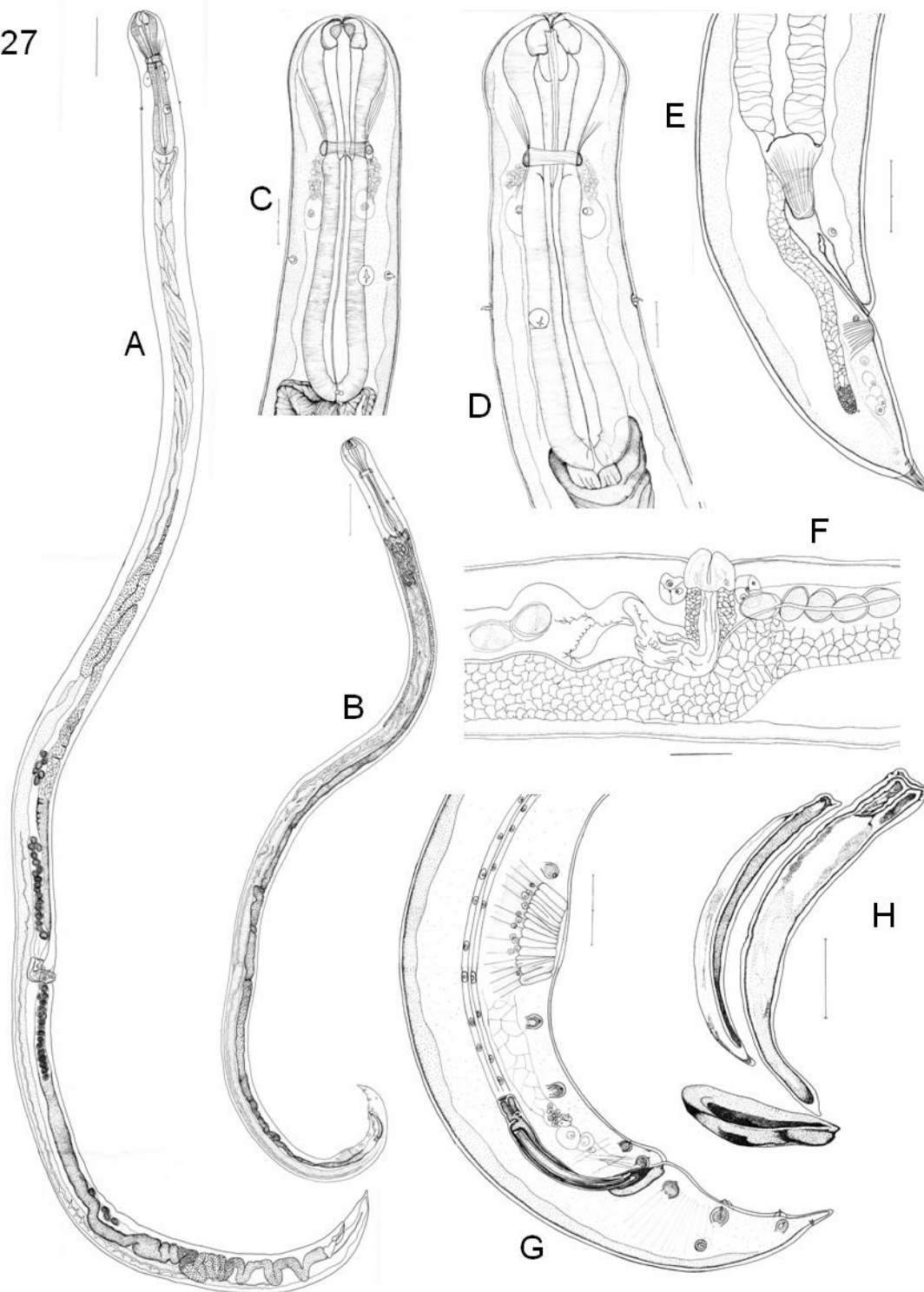
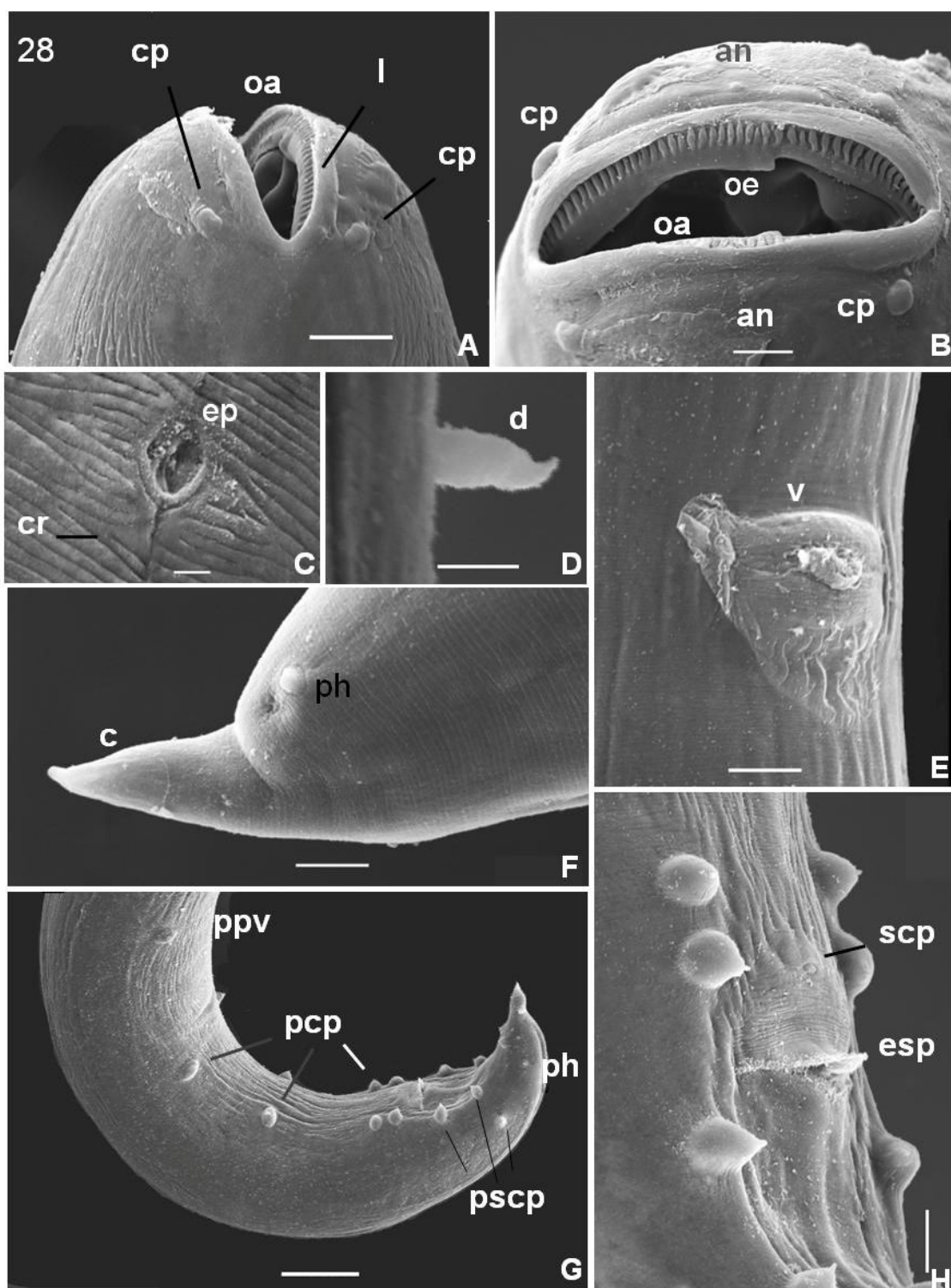


Figura 27: Desenho obtido por microscopia de luz de *Cucullanus ageneiosus* **(A)** Visão geral da fêmea. Barra = 400 μm . **(B)** Visão geral do macho. Barra = 400 μm . **(C)** Região cefálica do macho, mostrando o esofastoma, esôfago muscular e glandular, anel nervoso, poro excretor, e deirídios. Barra = 100 μm . **(D)** Região cefálica da fêmea, mostrando o esofastoma, esôfago muscular e glandular, anel nervoso, poro excretor, e deirídios. Barra = 100 μm . **(E)** Visão lateral da região caudal da fêmea, mostrando o anus. Barra = 100 μm . **(F)** Detalhe da região equatorial, mostrando a vulva, vagina muscular, e região distal do útero amfidelfo com ovos. Barra = 100 μm . **(G)** Visão lateral da região caudal do macho, cloaca, espículos, gubernaculo, ventosa cloacal, papilas cloacais. Barra = 100 μm . **(H)** Detalhes da visão lateral de espículos e gubernaculo. Barra = 50 μm .



Figuras 28: Microscopia eletrônica de varredura de *Cucullanus ageneiosus* **(A)** Visão ventral da extremidade cefálica, mostrando a abertura oral (oa) rodeada por anel cuticular (l), extremidade distal do esofastoma e papilas cefálicas (cp). Barra= 25 μ m. **(B)** Visão apical da extremidade cefálica mostrando a abertura oral (oa), 2 pares de papilas cefálicas (cp), anfídios (am), e anel cuticular (cr) com fileira interna de dentículos (seta). Barra=15 μ m. **(C)** Detalhe do poro excretor (ep) circundado por estriações cuticulares transversais. Barra= 3 μ m. **(D)** Detalhe do deirídio. Barra= 5 μ m. **(E)** Detalhe da abertura vulvar (v). Barra= 25 μ m. **(F)** Visão lateral da cauda da fêmea (c) destacando o fasmídio (ph). Barra= 50 μ m. **(G)** Visão lateroventral da extremidade caudal do macho, abertura cloacal (cl) papilas cloacais: 1 par pre-ventosa (ppv), 4 pares pré-cloacais (pcp), 3 pares pós-cloacais (pscp), e fasmídio (ph). Barra= 60 μ m. **(H)** Detalhe de papilas pré e pós-cloacais, papila única pré-cloacal (scp) e espículo (esp). Barra= 12 μ m.

3.2.3.5 Filo Nematoda (Rudolphi, 1808) Lankester, 1877

Classe Secernentea Von Linstow, 1905

Ordem Spiruridea Diesing, 1861

Familia Camallanidae Railliet et Henry, 1915

Gênero *Procamallanus* Baylis, 1923

Sub-Gênero *Spirocamallanus* (Olsen, 1952)

Espécie *Procamallanus (Spirocamallanus) rarus*

Travassos, Artigas e Pereira, 1928.

O nematóide *Procamallanus (Spirocamallanus) rarus* (Fig. 29) foi encontrado parasitando *Ageneiosus ucayalensis* em dois hospedeiros, tendo sua prevalência de 1,46%, sendo dois peixes parasitados em 205. Os espécimes foram identificados após observação e análise de sua morfologia. Após isto foram comparados, *in loco*, com os holótipos e alótipos depositados pelo autor da espécie, na Coleção Helminológica do Instituto Oswaldo Cruz sob a identificação CHIOC 31027 a, b. Os dados referentes à ocorrência em nova localidade e novo hospedeiro de *P.(S). rarus* estão publicados em Giese, Santos & Lanfredi (2009) (Anexo III).

Sumário de Taxonômico

Hospedeiro: *Ageneiosus ucayalensis* (Castelnau 1855) (Auchenipteridae, Siluriformes).

Nome comum: Mandubé.

Sítio de infecção: Intestino anterior.

Nova localidade de ocorrência: Baía do Guajará, Belém, Estado de Pará, (1°15' - 1°29', 48°32'W - 48°29'W), Brasil.

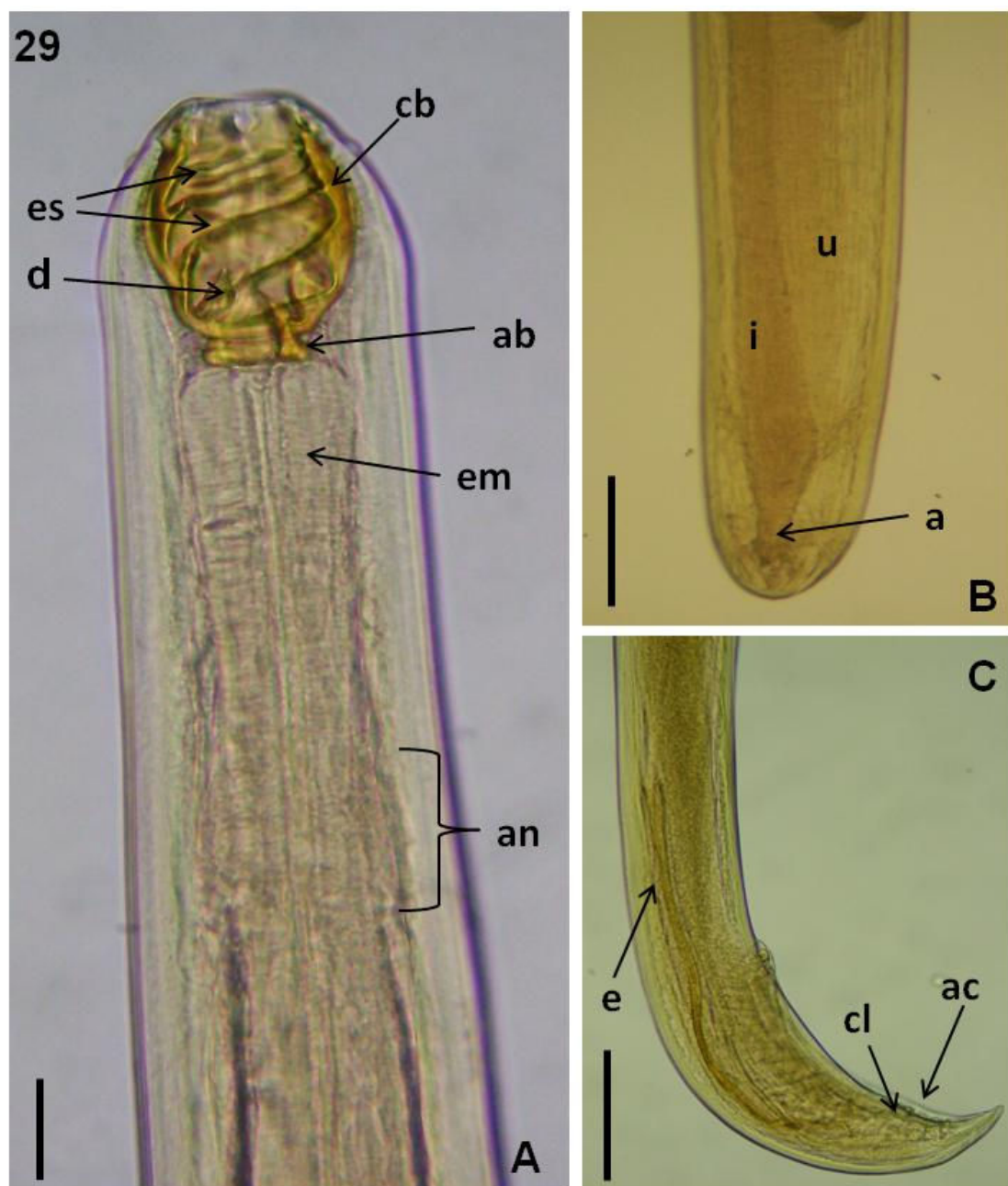


Figura 29: Microscopia de luz de *Procamallanus Spirocamallanus rarus*. A) Extremidade cefálica evidenciando cápsula bucal (cb), Dentes basais (d), espirais (es), anel basal (ab), esôfago muscular (em) e anel nervoso (an). Barra = 1 mm. B) Extremidade caudal de fêmea de *P. (S) rarus*, evidenciando útero (u), intestino (i) e ânus (a). Barra = 1 mm. C) Detalhe da extremidade caudal de macho de *P. rarus* evidenciando o espículo (e), abertura cloacal (cl) e aleta caudal (ac).

3.2.3.6 Filo Nematoda (Rudolphi, 1808) Lankester, 1877

Classe Secernentea Von Linstow, 1905

Ordem Spiruridea Diesing, 1861

Familia Camallanidae Railliet et Henry, 1915

Gênero *Procamallanus* Baylis, 1923

Sub-Gênero *Spirocamallanus* (Olsen, 1952)

Espécie *Procamallanus* (*Spirocamallanus*)

belenensis Giese, Santos & Lanfredi, 2009.

Nematóides do gênero *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) foram colhidos do intestino. Análises taxonômicas sugeriram uma nova espécie para o gênero *Procamallanus* (*Spirocamallanus*). A descrição desta espécie, por microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura, foi realizada e a espécie denominada *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) *belenensis* Giese, Santos & Lanfredi, 2009, estando este artigo no Anexo III.

Descrição detalhada baseada em 19 exemplares. Figs. 30 a 32.

Descrição geral: Nematóide de tamanho médio quando comparado a seus congêneres, avermelhado quando em vida; cutícula com finas estrias transversais. Abertura de Boca hexagonal, alargada no sentido dorsoventral, contando com 8 papilas dispostas em 2 círculos concêntrico de 4 papilas cada, sendo os 2 anfídios laterais a estes. Cápsula bucal castanho-alaranjada, mais longa que larga; anel basal bem desenvolvido. A cápsula bucal é sustentada por 8 estruturas enrijecidas

em formato de concha. A superfície interna da cápsula é provida de espirais em cumes observadas por visão lateral; estas preenchem até 2/3 da superfície interna posterior da cápsula bucal. Esôfago muscular, normalmente, um pouco mais curto que o glandular. Deirídios pequenos, situado posteriormente, entre a cápsula bucal e o anel basal.

Machos (baseado em 8 parátipos e holótipo): Comprimento do corpo $4,6 \pm 0,87$ (3,5 - 6,5) (4,8), largura máxima $0,189 \pm 0,2245$ (0,142 - 0,210) (0,210). Cápsula bucal incluindo anel basal $0,65 \pm 0,654$ (0,55 - 0,75) (0,55) longo e $0,60 \pm 0,635$ (0,50 - 0,70) (0,50) largo. Número de cumes 8 - 10 (9) espirais. Comprimento do esôfago muscular $0,249 \pm 0,23$ (0,219- 0,285) (H- 0, 245), largura $0,86 \pm 0,1037$ (0,73 - 0,95) (0,85); comprimento do esôfago glandular $0,447 \pm 0,42$ (0,410 - 0,520) (0,450), largura $0,110 \pm 0,149$ (0,100 - 0,145) (0,145). Relação do esôfago glandular e muscular com o comprimento total 1: 1,5 - 2,0 (1: 1,8). Deirídios $0,111 \pm 0,246$ (0,76 - 0,130) (0, 96), anel nervoso $0,168 \pm 0,147$ (0,15 - 0,20) (0,16), e poro excretor $0,245 \pm 0,339$ (0,20 - 0,29) (0,25), respectivamente, da extremidade anterior. Região posterior ligeiramente curva no sentido ventral, sem aleta caudal. Papilas caudais sésseis, sub-ventrais: 3 pares pré-cloacais e 4 - 5 pares pós-cloacais; vistas por microscopia eletrônica de varredura, 3 pares de pré-cloacais, 1 par ad-cloacal, e 4 - 5 pares de pos--cloacais, fasmídios lateral e posteriormente após o último par de papila caudal. Espículos morfologicamente semelhantes, pouco esclerotizados, ligeiramente desiguais em comprimento com extremidade distal pontiaguda. Espículo maior (direito) $0,66 \pm 0,77$ (0,58 - 0,80) (0,60) de

comprimento; espículo menor $0,60 \pm 9,5$ ($0,50 - 0,75$) ($0,50$) de comprimento. Gubernáculo ausente. Cauda cônica, cuja extremidade possui duas pequenas projeções cuticulares, tendo o comprimento de $0,190 \pm 17,8$ ($0,160 - 0,210$) ($0,206$).

Fêmeas (baseado em 9 parátipos e alótipo): Comprimento de corpo $18,42 \pm 5,18$ ($10,4 - 25$) (23); largura máxima $0,399 \pm 38$ ($0,320 - 0,450$) ($0,420$). Cápsula bucal incluindo o anel basal $0,97 \pm 9,41$ ($0,85 - 0,111$) ($0,95$) longa e $0,93 \pm 9,2$ ($0,80 - 0,107$) ($0,10$) larga; número de cumes 9 - 13 (11) espirais. Comprimento do esôfago muscular $0,367 \pm 23,6$ ($0,340 - 0,410$) ($0,375$), largura $0,139 \pm 17,9$ ($0,110 - 0,160$) ($0,130$); comprimento do esôfago glandular $0,653 \pm 61,5$ ($0,530 - 0,740$) ($0,740$), largura $0,197 \pm 39,9$ ($0,110 - 0,250$) ($0,250$). Relação do comprimento esôfago com o comprimento total do nematóide 1: 1,2 - 2,0 (1: 1,97). Deirídios $0,148 \pm 35,6$ ($0,110 - 0,205$) ($0,115$), anel nervoso $0,228 \pm 25,9$ ($0,200 - 0,275$) ($0,275$), e poro excretor $0,363 \pm 57,82$ ($0,226 - 0,421$) ($0,376$), respectivamente, da extremidade anterior (Fig. 2). Vulva pós-equatorial $0,942 \pm 2,61$ ($0,58 - 0,130$) ($0,11$), da extremidade anterior. Vagina muscular dirigida à extremidade posterior. Ovos embrionados e larvas intrauterinas medindo de comprimento $0,56 \pm 1,5$. Fasmídios localizados na linha lateral, entre a extremidade caudal e o ânus. Cauda curta e arredondada $0,207 \pm 1,3$ ($0,150 - 0,285$) ($0,285$) longa, terminando com uma única projeção cuticular digitiforme.

Sumário Taxonômico:

Hospedeiro: *Ageneiosus ucayalensis* (Castelnau 1855) (Auchenipteridae, Siluriformes).

Nome comum: Mandubé.

Sítio de infecção: Intestino anterior.

Localidade tipo: Baía do Guajará, Belém, Estado de Pará, (1°15 -1°29, 48°32'W - 48°29'W), Brasil.

Espécie tipo: Depositadas na Coleção Helminológica do Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, sob a numeração CHIOC 35604a–c.

Etimologia: A espécie nova foi nomeada em decorrência do nome da Cidade, localidade tipo onde foi descrita a espécie.

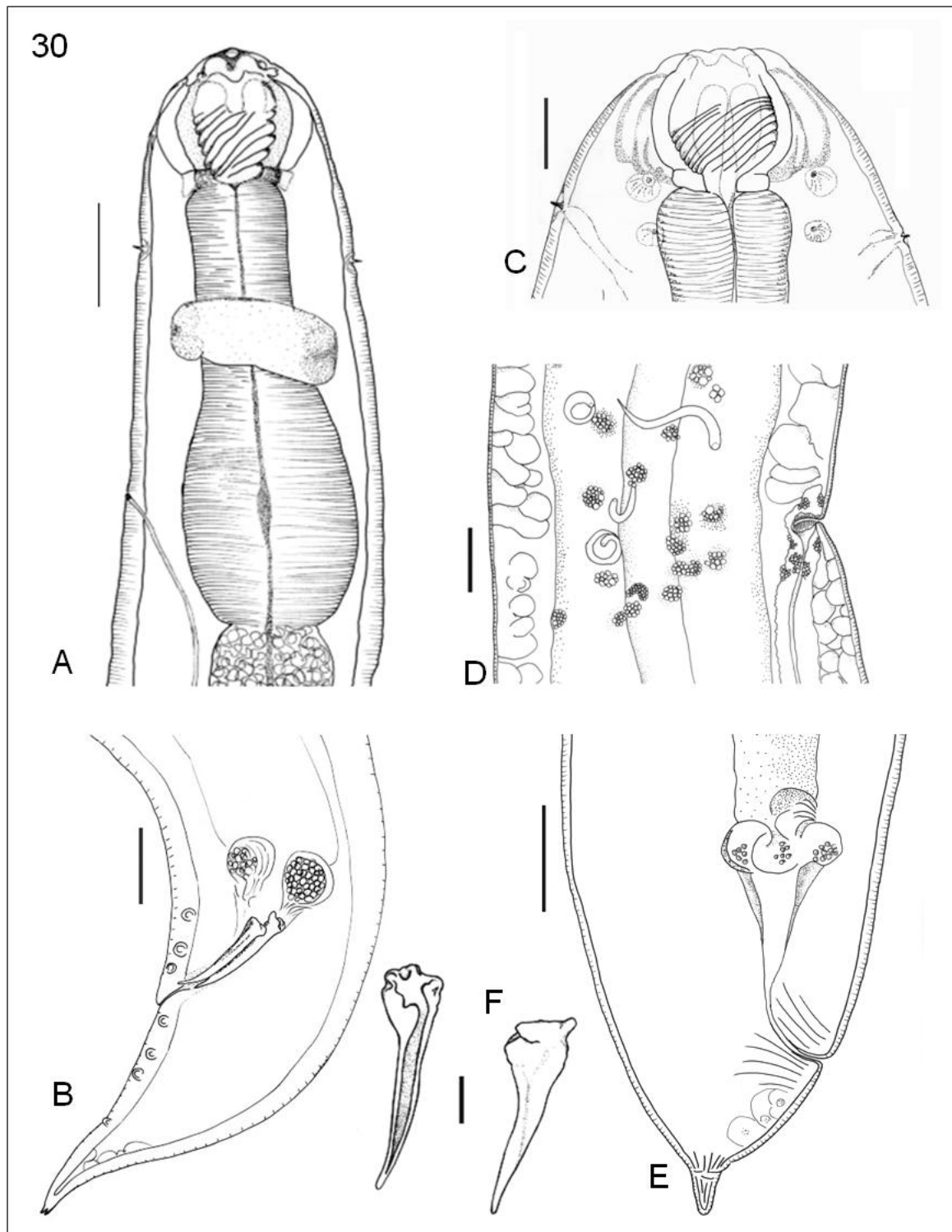


Figura 30: Ilustração científica obtida por microscopia de luz de *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) *belenensis*. Visão da região cefálica de macho. **A)** Visão da região anterior do corpo de um macho adulto, evidenciando o formato em clava do esôfago muscular, esôfago glandular e anel nervoso. Barra = 100 µm. **B)** Detalhe da extremidade posterior do macho com papilas pré-cloacais, pós-cloacais e espículos. Barra = 50 µm. **C)** Extremidade anterior da fêmea, mostrando cápsula oral com 11 espirais e localização dos deirídios próximos a base da cápsula. Barra 50µm. **D)** Detalhe da abertura vulvar, vagina e útero contendo embriões e larvas em seu interior. **E)** detalhe dorsal e ventral dos espículos. **F)** extremidade posterior da fêmea, em visão ventral, evidenciando do ânus e a projeção cuticular digitiforme terminal. Barra = 50 µm.

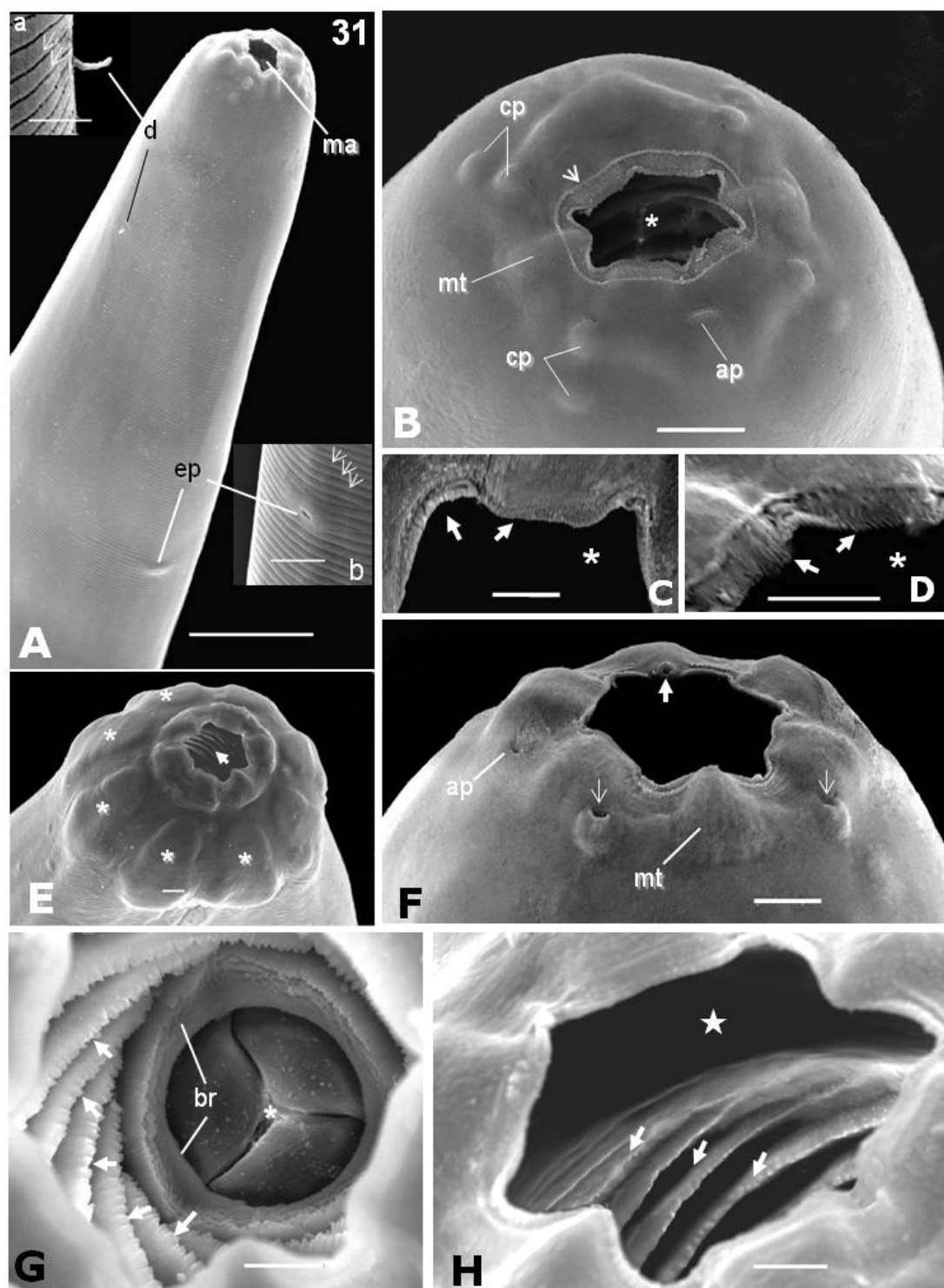


Figura 31: Microscopia eletrônica de varredura de *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) *belenensis*. **(A)** Região cefálica mostrando a abertura oral (ma) deirídio (d) e poro excretor (ep), Barra = 50 μm . **(a)** detalhe do deirídio (d) e estriações cuticulares (seta). Barra = 5 μm . **(b)** detalhe do poro excretor e estriações cuticulares (setas). Barra = 10 μm . **(B)** Visão da extremidade cefálica mostrando a abertura oral em formato hexagonal (asterisco) contornado por espessamento cuticular (seta), 4 pares de papilas cefálicas concentricamente distribuídas (cp), 2 anfídios laterais (ap), e dois dentes ventral e dorsal (mt). Barra= 10 μm . **(C e D)**. Detalhe da margem da abertura oral orlada por franjas cuticulares (setas) de fêmeas e machos, respectivamente. Barra = 5 μm . **(E)** Região cefálica colapsada evidenciando 8 suportes internos alongados (asterisco), e espirais cuticulares internas da cápsula bucal (seta). Barra = 10 μm . **(F)** Visão latero-ventral da extremidade cefálica evidenciando papilas cefálicas semelhantes a bolsos (seta), anfídios (ap), dentes medianos (mt) com pequenos poros na extremidade distal (seta grande). Barra = 10 μm . **(G)** Visão apical da cápsula bucal mostrando as margens serrilhadas das espirais (setas), anel basal da cápsula bucal também serrilhado (br), e abertura do esôfago (asterisco). Barra = 5 μm . **(H)** Detalhe da cápsula bucal mostrando o terço anterior do revestimento cuticular sem espirais (estrela) e o terço posterior com espirais serrilhados (setas). Barra = 5 μm .

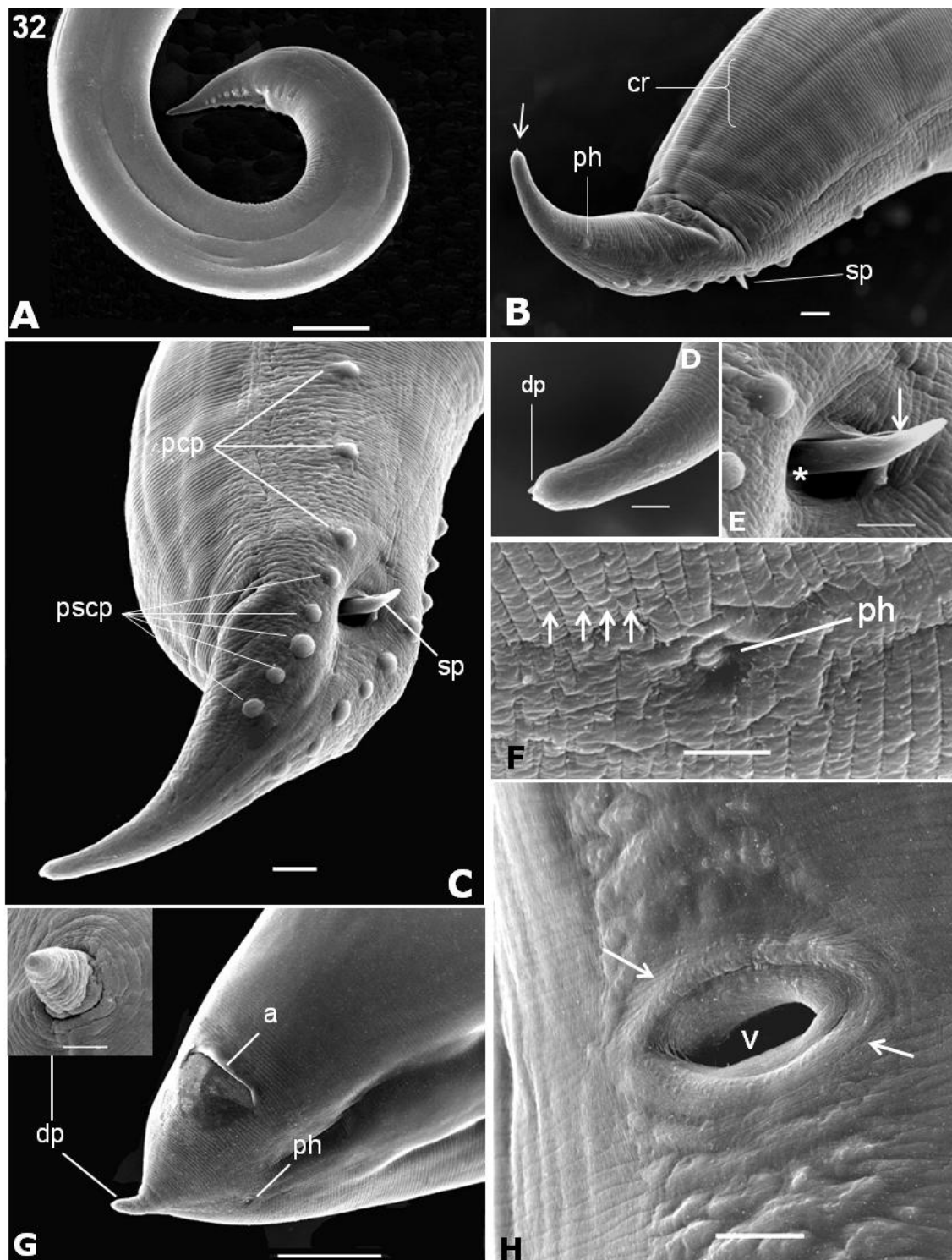


Figura 32: Microscopia eletrônica de varredura de *Procamallanus* (S.) *belensis* n. sp. (A) Visão lateral da extremidade caudal do macho, ventralmente curvada. Barra = 100 μ m. (B) Visão latero-dorsal da extremidade caudal do macho com estriações cuticulares transversais (cs) e padrão cuticular ventral modificado, espículo (sp), fasmídio (ph) papilas, e cauda cônica com duas projeções pontiagudas (seta) na porção distal da cauda Barra = 10 μ m. (C) Visão ventral da extremidade caudal do macho com padrão cuticular modificado evidenciando espículo (sp), papilas pré-cloacais (pcp) pre- (pcp), papilas pós-cloacais (pscp) e cauda cônica. Barra = 10 μ m. (D) Detalhe da extremidade caudal do macho com duas projeções pontiagudas (dp). Barra = 5 μ m. (E) Detalhe do espículo (seta) e abertura cloacal (asterisco). Barra = 5 μ m. (G) Extremidade caudal da fêmea com projeção cuticular digitiforme, anus (a), e fasmídio (phs). Barra = 50 μ m. Insert: Detalhe projeção cuticular digitiforme (dp). Barra = 10 μ m. (F) Detalhe do fasmídios (ph) da fêmea e estriações cuticulares transversais (setas). Barra = 5 μ m. (H) Detalhe da vulva contornada por espessamento cuticular (setas). Barra = 10 μ m.

3.3 ANÁLISE MOLECULAR

Metacestódeos da Família Proteocephalidae e do Gênero *Gibsoniela* sp., ambos da Classe Cestoda, foram submetidos a análises moleculares.

A amplificação da região 18S DNAr, utilizando os dois pares de *Primers*, 2880 – B que resultou em um fragmento de aproximadamente 600 pb, e CES1 –CES2 que resultou em um fragmento de aproximadamente 400 pb. Após a edição das seqüências no programa *BioEdit* foi obtido um fragmento único de 980 pb, para ambas amostras analisadas.

Os nucleotídeos acima foram alinhados com seqüências de DNA previamente depositadas no *GenBank* pertencentes à helmintos da mesma Família dos cestódeos deste estudo (Fig. 33), e usados como base para a construção de uma árvore filogenética (Fig. 34) usando o método de *Neighbour-Joining* com 1000 réplicas de *bootstrap*.

Gibsoliella sp.
 Metac. de Proteoceph.
 G. meursaulti (AY267296)
 Monticellia sp. (AF267296)
 P. percae (AF335509)
 P. osculatus (AF335508)
 P. tetrastomus (AF335510)
 P. torulosus (AF335511)
 P. macrocephalus (EF095347)
 P. rugosa (AF286989)
 N. piraeeba (AF286988)
 Rudolphiella sp. (AF286990)
 D. latum (DQ925309)

Gibsoliella sp.
 Metac. de Proteoceph.
 G. meursaulti (AY267296)
 Monticellia sp. (AF267296)
 P. percae (AF335509)
 P. osculatus (AF335508)
 P. tetrastomus (AF335510)
 P. torulosus (AF335511)
 P. macrocephalus (EF095347)
 P. rugosa (AF286989)
 N. piraeeba (AF286988)
 Rudolphiella sp. (AF286990)
 D. latum (DQ925309)

Gibsoliella sp.
 Metac. de Proteoceph.
 G. meursaulti (AY267296)
 Monticellia sp. (AF267296)
 P. percae (AF335509)
 P. osculatus (AF335508)
 P. tetrastomus (AF335510)
 P. torulosus (AF335511)
 P. macrocephalus (EF095347)
 P. rugosa (AF286989)
 N. piraeeba (AF286988)
 Rudolphiella sp. (AF286990)
 D. latum (DQ925309)

610 620 630 640 650 660 670 680 690 700
 Gibsoliella sp. T G C T G C A G T T A A A A G C T C G T A G T T G G A T C T C G G T A C C A C T G T T G C T C G T C A G T C C T T T G G - T A G G T A G C T G T G T G T G C A T G G G C A C - - - - - G A C C T G
 Metac. de Proteoceph. T G C T G C A G T T A A A A G C T C G T A G T T G G A T C T C G G T A T C A C T G T T G C T C G T C A G T C C T T T G G - T A G A T G A G C T A T G T G C G C A T G G G C T C - - - - - G A C C T G
 G. meursaulti (AY267296) T G C T G C A G T T A A A A G C C C G T A G T T G G A T C T C G G T A C C A C T G T T G C T C G T C A G T C C T T T G G - G G T A G G T G G C T A T G T G T G C A T G G G C A C - - - - - G A C C T G
 Monticellia sp. (AF267296) T G C T G C A G T T A A A A G C T C G T A G T T G G A T C T C G G T A C C A C T G T T G C T C G T C A G T C C T T T G G - T A G G T G G C T A T G C G C G C A T G G G C A C - - - - - G A C C T G
 P. percae (AF335509) T G C T G C A G T T A A A A G C T C G T A G T T G G A T C T C G G T A T C A C T G T T G C T C G T C A G T C C T T A G - G C G G - T A G A C T G C G T G T G C A T G G G T T T G A C T - - - - - C G
 P. osculatus (AF335508) T G C T G C A G T T A A A A G C T C G T A G T T G G A T C T C G G T A T C G C T G T T G C T C G T C A G T C C T T T G G - T G G G - T G G C C T G C T A T G T G C G T G A C T C G A C T - - - - - T G
 P. tetrastomus (AF335510) T G C T G C A G T T A A A A G C T C G T A G T T G G A T C T C G G T A T C A C T G T T G C T C G T C A G T C C T T A G - G C G G - T A G A C T G C G T G T G C A T G G G T T T G A C T - - - - - C G
 P. torulosus (AF335511) T G C T G C A G T T A A A A G C T C G T A G T T G G A T C T C G G T A T C A C T G T T G C T C G T C A G T C C T T A G - G C G G - T T G C T G C G T G T G C A T G G G T T T G A C T - - - - - C G
 P. macrocephalus (EF095347) T G C T G C A G T T A A A A G C T C G T A G T T G G A T C T C G G T A T C A C T G T T G C C C G T C A G T C C T T A G - G C G A C A G A C T G C G T G T G C A T G G G T T T - - - - - G A C T C G
 P. rugosa (AF286989) T G C T G C A G T T A A A A G C T C G T A G T T G G A T C T C G G T A C C A C T G T T G C C C G T C A G T C C T T T G G - T G G A T G C C T A T G T G T G C A T G G G C A C - - - - - G A C C T G
 N. piraebea (AF286988) T G C T G C A G T T A A A A G C T C G T A G T T G G A T C T C G G T A G C A C T G T T G C T C G T C A G T C C T T G G - T G G T T G G C T T T T G T G C G C A T A G G C A C - - - - - G A C C T G
 Rudolphiella sp. (AF286990) T G C T G C A G T T A A A A G C T C G T A G T T G G A T C T C G G T A C C A C T G T T G T T C G T C A G T C C T T T G T G A C A G T T G C T A T G C G C G C A T A G C A C A C A A - - G G C T T G
 D. latum (DQ925309) T G C T G C A G T T A A A A G C T C G T A G T T G G A T C T C G G T A T C A C T G T C G C C T G C C A G T C C T C G G - C T G A - T T G T G T C T G T G T G T A G T G G G A C C G T G C T C T G

710 720 730 740 750 760 770 780 790 800
 Gibsoliella sp. T G - - - - - T T G C C A - T G G C - T G T C C T G C C G A G T T G A C G G T G T G A - C G G T G T C G C C T T T C A G C C A T G T C T G T G G T G A A T A C C C T C A G G T G T A G G C
 Metac. de Proteoceph. T G - - - - - T T G C C A - T G G C - T G T C T G C T G G A G T T G C G G T G T G A - C G G T G T C A C C T T T C A G C C A T G T C T G T G G T G A A T A C C C T C A G G T G T A G G C
 G. meursaulti (AY267296) T G - - - - - T T G C C A - T G G C - T G T C C T G C C G A G T T G G C G G T G T G A - C G G T G T C G C C T T T C A G C C A T G T C T G T G G T G A A T A C C C T C A G G T G T A G G C
 Monticellia sp. (AF267296) T G - - - - - T T G C C A - T G G C - T G T C T G C C G A G T T G C G G T G T G A - C G G T G T C G C C T T T C A G C C A T G T C T G T G G T G A A T A C C C T C A G G T G T A G G C
 P. percae (AF335509) T G - - - - - T T G C C G - T G G T - T T G T C - G T C C G A G T T G G C G G T G T G A - C G G T G T C G C C T T T C A G C C A T G T C T G T G G T G A A T A C C C G C A G G T G T A G G C
 P. osculatus (AF335508) T G - - - - - T C G C C G - G G G C - T G C C T T - G T C C G A G T T G C G G T G T G A - C G G T G T C G C C T T T C A G C C A T G T C T G T G G T G A A T A C C C G C A G G T G T A G G C
 P. tetrastomus (AF335510) T G - - - - - T T G C C G - T G G T - T T G T C - G T C C G A G T T G C G G T G T G A - C G G T G T C G C C T T T C A G C C A T G T C T G T G G T G A A T A C C C G C A G G T G T A G G C
 P. torulosus (AF335511) T G - - - - - T T A C C G - T G G T - C G G C C - G T C C G A G T T G C G G T G T G A - C G G T G T C G C C T T T C A G C C A T G T C T G T G G T G G A T A C C C G C A G G T G T A G G C
 P. macrocephalus (EF095347) T G - - - - - T T G C C G - T G G T - T G G T C - G T C C G A G T T G C G G T G T G A - C G G T G T G C C C T T T C A G C C A T G T C T G T G G T G A A T A C C C G C A G G T G T A G G C
 P. rugosa (AF286989) T G - - - - - T T G C C A - T G G T - T A T T C T C C C G A G T T G C G G T G T G A - T G G T G T C G C C T T T C A G C C A T G T C T G T G G T G A A T A C C C T C A G G T G T A G G C
 N. piraebea (AF286988) T G - - - - - T T G C C G - T G G C - T T T T C T G C T C G A G T T G C G G T G C G A - C G G T G T C G C C T T T C A G C C A T G T C T G T G G T G A A T A C C C T C A G G T G T A G G C
 Rudolphiella sp. (AF286990) T G - - - - - T T G C C G - T G G C - T A T A C T G T T C A A G T T G C G G A T G C G A - T G G T G T C A C C T T T C A G C C A T G T C T G T G G T G A A T A C C C T C A G G T G T A G G C
 D. latum (DQ925309) C G C G C A C C C C T C G C C C - A G G C G C G G T T A T G C T C G A G T T G C G G T G G T G G - T G G T G T C A C C T T T C A G C C A T G T C T G T G G T G A A T A C C C G C A G G T G T A G G C

810 820 830 840 850 860 870 880 890 900
 Gibsoliella sp. G A G T G T C G G G T G G T G C C C A G C G C A A G T T G G G T C C G C C G G C T C G T C T G C A T G C C T T T G G A T G C C C T T C A A A A G G T G T C T G T G G C G G A T G G C A C G T T A C T
 Metac. de Proteoceph. G A G T G T C G G G T G A G G C C A G C G C T T G T T G G G T C C G C C G G C T C G T C T G C A T G C C T T T G G A T G C C C T T C A A A A G G T G T C T G T G G C G G A T G G C A C G T T A C T
 G. meursaulti (AY267296) G A G T G T C G G G T G G T G C C C A G C G C T A G T T G G G T C C G C C G G C T C G T C T G C A T G C C T T T G G A T G C C C T T C A A A A G G T G T C T G T G G C G G A T G G C A C G T T A C T
 Monticellia sp. (AF267296) G G G T G T C G G G T G G T G T C C A C G C T T A G T T G G G T C T C G C G C T C G T C T G C A T G C C T T T G G A T G C C C T T C A A A A G G T G T C T G T G G C G G A T G G C A C G T T A C T
 P. percae (AF335509) G A G T G T C A G G C G G T G C C T T G C G A A A G T A G G G C T C G T C G C T C G T C T G C A T G C C T T T G G A T G C C C T T T A A A A G G T G T C T G T G G C G G A T G G C A C G T T A C T
 P. osculatus (AF335508) G G G T G T C A G G C G G T G C C T T G C G A A A G T A G G G C T T G C G G C T C G T C T G C A T G C C T T T G G A T G C C C T T T A A A A G G T G T C T G T G G C G G A T G G C A C G T T A C T
 P. tetrastomus (AF335510) G A G T G T C A G G C G G T G C C T T G C G A A A G T A G G G C T C G T C G G C T C G T C T G C A T G C C T T T G G A T G C C C T T T A A A A G G T G T C T G T G G C G G A T G G C A C G T T A C T
 P. torulosus (AF335511) G A G T G T C A G C G G T G C C T T G C G A A A G C A G G G C T C G T C G G T C G T C T G C A T G C C T T T G G A T G C C C T T T A A A A G G T G T C T G T G G C G G A T G G C A C G T T A C T
 P. macrocephalus (EF095347) G A G T G T C A G G C G G T G C C T T G C G A A A G T A G G G C T C G T C G G C T C G T C T G C A T G C C T T T G G A T G C C C T T T A A A A G G T G T C T G T G

Figura 33: Alinhamento de 1021 nucleotídeos da região 18S do DNAr obtidos das amostras de *Gibsoniela* sp. e metacestódeos da Família Proteocephalidae e de seqüências de cestódeos depositados no *Genbank*.

	910	920	930	940	950	960	970	980	990	1000
										

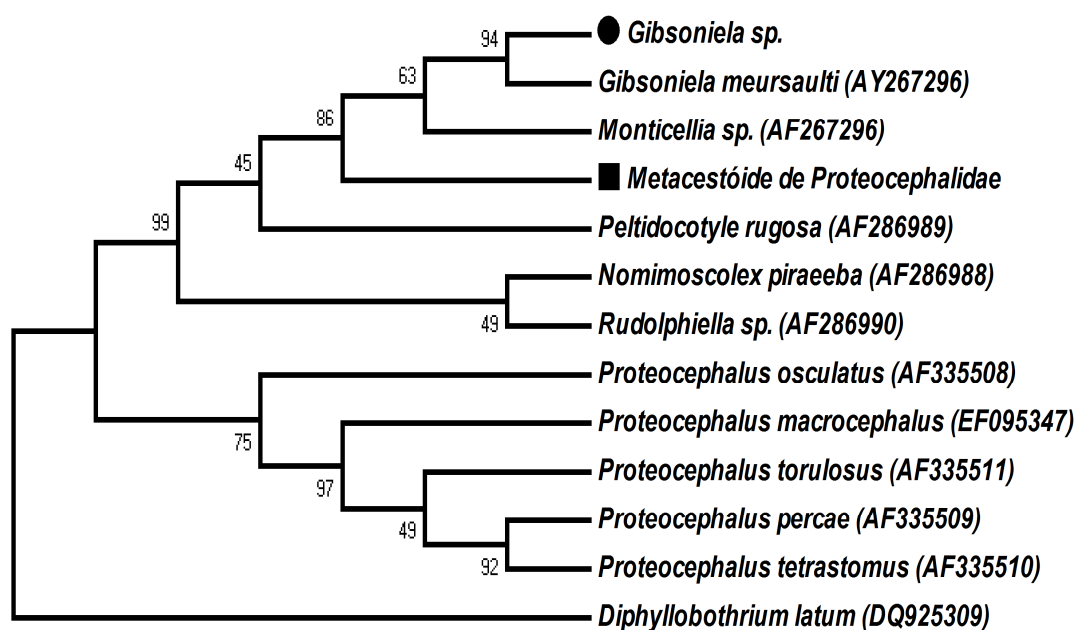


Figura 34: Árvore Filogenética construída pelo método de *Neighbour-Joining* a partir de sequências obtidas de metacestódeos de Proteocephalidae (■) e *Gibsoniela* sp. (●) comparados com sequências de cestódeos Proteocephalidae obtidas no *GenBank*, os números nos nós dos ramos representam número de réplicas de *bootstrap*.

4 DISCUSSÃO

4.1 QUANTO AO TAXON HOSPEDEIRO *Ageneiosus ucayalensis*

O estudo da diversidade parasitária de um determinado hospedeiro ou de um grupo de hospedeiros necessita vir acompanhado de informações sobre sua distribuição geográfica, hábitos alimentares e posição na cadeia trófica, tendo em vista um diagnóstico morfológico, ecológico e evolutivo da comunidade hospedeira em relação a seus parasitos.

Viana (2006) resaltou que um total de 97,22% da sua amostra de *Ageneiosus ucayalensis* utiliza-se de áreas de canal na baía do Guajará como áreas de berçário, onde o indivíduo jovem obtém alimentos com facilidade, entretanto somente 2,78% realizam reprodução nesta área. Os dados obtidos no presente estudo, relativos a hospedeiros colhidos em áreas de canal na baía do Guajará, detectaram 100% da amostra de *A. ucayalensis* como indivíduos jovens, com gônadas imaturas, corroborando com os dados obtidos por Viana (2006).

Estudos realizados por Ribeiro (2007) afirmam que *Ageneiosus ucayalensis* habita áreas estuarinas unicamente nos estuários amazônicos, em detrimento aos outros estuários ao longo da costa brasileira, alimentando-se de organismos peculiares a esta região, como o crustáceo *Macrobrachium amazonicum*. Levando-se em consideração que os hábitos alimentares dos hospedeiros de helmintos podem influenciar diretamente na composição de sua fauna parasitária (Dogiel, 1970), e que, segundo Merona *et al.* (2001), a dieta de

A. ucayalensis modifica de acordo com o hábitat, é esperado que em outras localidades, longe dos estuários amazônicos, *A. ucayalensis* abrigue uma helmintofauna diferente desta aqui encontrada, podendo ter espécies adicionadas ou subtraídas.

4.2 QUANTO AOS TÁXONS PARASITAS

Como citado anteriormente, a dieta do hospedeiro é um dos fatores que determinam a composição da fauna parasitária, visto que eles podem ingerir, junto com o alimento, formas imaturas de seus parasitos (Dogiel, 1970). Deste modo, a baixa diversidade de espécies endoparasitas encontrada em *Ageneiosus ucayalensis* quando comparado com outros trabalhos, como Schalch *et al.* (2006), por exemplo, pode ser explicada em decorrência de seu hábito alimentar carnívoro, comedor de camarão por excelência, na área em estudo.

Após extensa pesquisa bibliográfica foi observado que somente o acantocéfalo do gênero *Neoechinorhynchus* (recentemente citado por Santos *et al.*, 2008a), está presente na literatura, como integrante da helmintofauna de *Ageneiosus ucayalensis*, sendo portanto inédito, para este táxon, todos os demais helmintos aqui descritos preliminar ou detalhadamente.

4.3 O TÁXON PLATHYHELMINTHES

4.3.1 O Táxon Monogenea

O ciclo de vida monoxênico aliado a alta especificidade de organismos da Classe Monogenea (Thatcher & Moravec, 2006) sugere o parasitismo mono-específico, ou pelo menos de um único gênero e algumas de suas espécies é compatível com o aqui encontrado, visto que somente exemplares pertencentes a Sub-Família Ancyrocephalinae, Família Dactylogyridae foram obtidos de *Ageneiosus ucayalensis*.

Segundo Poulin (2007), existem no mundo em torno de 20.000 espécies pertencentes à Classe Monogenea. Dentre os Monogeneas neotropicais os indivíduos da família Dactylogyridae são os mais abundantes organismos parasitos de hospedeiros de água doce, na América do Sul (Thatcher & Moravec, 2006). A total ausência de estudos anteriores sobre Monogenea em brânquias de *Ageneiosus ucayalensis* impossibilita a comparação de ocorrência desta Classe de helmintos neste hospedeiro

Apesar de a grande maioria dos Monogenea descritos para a América do Sul terem sido descritos de peixes do Brasil e Amazônia, relatos de ocorrência de helmintos da Classe Monogenea nesta região ainda são pouco freqüentes. O número de relatos diminui expressivamente quando se trata de peixes da Família Auchenipteridae.

Konh & Cohen (1998), ao realizarem uma lista de hospedeiros de Monogenea, na América do Sul, apontam *Parauchenipterus striatulus*, da Família

Auchenipteridae, como hospedeiro de Monogenea pertencentes à Família Gyrodactylidae, no Estado do Rio de Janeiro, sem, no entanto, citar *Ageneiosus ucayalensis* como hospedeiro de helmintos deste Filo. Recentemente, Cohen & Konh (2009) realizaram nova lista de hospedeiros de peixes da Ordem Characiformes para Monogenea Dactylogiridae.

Mendoza-Franco, Reina & Torchin (2009) descreveram uma nova espécie de Monogenea em brânquias de *Centromochlus heckelii*, Siluriformes, Auchenipteridae, cujos peixes foram obtidos na bacia peruana do Rio Amazonas. Do mesmo modo, Tavernari *et al.* (2010) descrevem espécie nova de *Demidospermus*, Monogenea Dactylogiridae em *Auchenipterus osteomystax*, pequeno bagre da Família Auchenipteridae, a qual pertence os hospedeiros aqui estudados.

Deste modo, este estudo relata pela primeira vez Monogenea da Família Dactylogyridae, Sub-Família Ancyrocephalinae para *Ageneiosus ucayalensis*, sem, no entanto, concluir o diagnóstico do Gênero e Espécie ao qual pertencem.

4.3.2 O Táxons Cestoda

O parasitismo de peixes por helmintos da Classe Cestoda há muito vem sendo descrito por pesquisadores em todo o mundo, inclusive do Brasil. Na Amazônia, embora várias espécies de cestódeos já tenham sido descritas e

investigadas, este número ainda é pequeno, quando comparado com a diversidade de peixes que esta região abriga.

4.2.2.1 Metacestódeos

A identificação de larvas de cestódeos, ao nível específico, por métodos morfológicos usadas na Taxonomia clássica é pouco consistente, sendo necessária a utilização de métodos moleculares que muito contribuem para o esclarecimento da identificação destes helmintos.

O estudo de formas larvais de cestódeos, ao longo dos anos, tornou-se controverso devido a gama de terminologias aplicadas para cada caso. Chervy (2002) em extensa revisão estabelece uma terminologia padrão, aqui aplicada.

Já em 1963, Anantaraman discorre sobre a presença de larvas plerocercóides de cestódeos da Ordem Tetraphyllidea em invertebrados e peixes marinhos descrevendo a morfologia, distribuição e incidência destas larvas nos hospedeiros.

Os metacestódeos do tipo plerocercóides aqui encontrados assemelham-se aos de Rego *et al.* (1974) por serem da Família Proteocephalidea, mas diferem, por apresentarem além das quatro ventosas circulares um órgão apical de formato esférico e ainda pelo sítio de infecção, o peritônio parietal de órgãos como fígado e estômago.

Rego & Gibson (1989) e Schaeffer *et al.* (1992) descreveram a ocorrência de formas larvais do tipo cisticercóide, encistada no peritônio e no fígado, de *Pseudoplatystoma corruscans*, *P. fasciatus* e de outras espécies de

peixes, semelhante ao encontrado neste trabalho em *Ageneiosus ucayalensis*, onde cestódeos imaturos, nas formas plerocercóides foram colhidas no mesmo sítio de infecção.

Os resultados aqui encontrados, relativos à ocorrência de metacestódeos, muito se assemelham aos cortes histológicos de cistos e lâminas com cistos comprimidos e corados descritos por Schaffer *et al.* (1992) e Rego *et al.* (1999). Estes onde os autores relatam a ocorrência de formas imaturas de cestódeos da Ordem Proteocephalidea encapsuladas no peritônio de peixes teleósteos no pantanal mato-grossense e estuário amazônico, respectivamente.

Nossas análises do DNA desses helmintos revelam que estas formas imaturas pertencem a Família Proteocephalidae; sendo este, o primeiro estudo realizado por Biologia Molecular de metacestódeos da Família Proteocephalidae em peixes da Ordem Siluriformes na Amazônia.

Scholz *et al.*, (1996) referem-se à semelhança de metacestódeos encontrados em *Rhamdia guatemalensis* (Günther) com *Nomimoscolex* sp devido a morfologia do escólex (presença de órgão apical esferóide e ventosas circulares lateralizadas), inferindo a hipótese de ser *R. guatemalensis* seu segundo hospedeiro intermediário indicados pela sua alta prevalência e intensidade parasitária. Estes metacestódeos muito se assemelham aos aqui encontrados, sendo, portanto, necessária infecção experimental para a diagnose correta.

O elevado número de larvas de cestódeos coletadas em *Ageneiosus ucayalensis*, cuja prevalência é de 100% neste estudo, sugere que esta espécie

seja um hospedeiro paratênico e/ou intermediário para metacestódeos da Família Proteocephalidae.

4.2.2.2 Cestódeos adultos

Cestódeos adultos, do Gênero *Gibsoniela*, Família Proteocephalidae, encontrado aqui em *Ageneiosus ucayalensis* foram relatados em três estudos sobre helmintos de peixes amazônicos: Rego *et al.* (1974), Rego, (1992) e Rego *et al.* (1999) os quais acrescentam novas espécies de cestódeos, ocorrência de espécies já descritas em novos hospedeiros e novas localidades de ocorrência.

Rego (1992) redescreveu *Gibsoniela mandubé* (Woodland, 1935) cestódeo da Família Proteocephalidae, cujo hospedeiro é um peixe Siluriforme da Família Auchenipteridae e Espécie *Ageneiosus brevifilis*, mesmo Gênero do hospedeiro aqui estudado, *A. ucayalensis*.

O Gênero *Gibsoniela*, segundo Rego (1992) é o único da Família Proteocephalidae a apresentar ventosas de forma alongada longitudinalmente, semelhante à botrídias, presentes na Ordem Tetraphyllidea. Estas ventosas são divididas por septos em três compartimentos de dimensões equivalentes o que consiste em um de seus caracteres diagnósticos.

O único Gênero de cestódeo adulto encontrado neste estudo assemelha-se a Espécie *Gibsoniela mandube*, principalmente no que se refere ao formato do escólex, apresentando ventosas trilocoladas. No entanto, outros caracteres como comprimento total, largura e comprimento das ventosas e suas lojas, largura e comprimento dos proglotes (maduros e grávidos), número de

testículos, dentre outros, sugere tratar-se de uma espécie diferente neste mesmo gênero. Vale resaltar que *Gibsoniela mandube* não possui sequências de DNA depositadas no *GenBank*, sendo, até o presente, impossível tecer comparações moleculares entre esta Espécie e a aqui estudada.

Nossas análises por Biologia Molecular foi comparada com seqüências parciais de *Gibsoniela meursaulti*, único táxon deste Gênero com seqüências de nucleotídeos depositadas no *GeneBank*. Após o pareamento das seqüências de *G. meursaulti* e *Gibsoniela* sp. (deste estudo), ficou claro a diferença entre os táxons, tornando-se necessários estudos morfológicos mais aprofundados para a descrição de nova espécie deste Gênero.

O Gênero *Gibsoniela* foi, após este estudo, registrado pela primeira vez na Baía do Guajará e estuário do rio Guamá em *Ageneiosus ucayalensis*, sendo esta uma nova localidade de ocorrência e novo hospedeiro para este Gênero.

4.4 O TÁXON ACANTHOCEPHALA

Ferraris (2003) descreveu sobre a biologia de *Ageneiosus ucayalensis*, porém, somente Santos *et al.* (2008) fazem referência a um acantocéfalo encontrado neste hospedeiro, sem, no entanto, terem identificado a espécie.

Vermes adultos parasitos em intestinos de peixes e anfíbios, com duas ou mais glândulas de cimento, tronco desarmado, probóscide com 3 fileiras circulares com 6 espinhos cada, ausência do músculo ao redor do receptáculo da probóscide são as características que diagnosticam o gênero *Neoechinorhynchus*, segundo Santos *et al.* 2008, estabelecendo, portanto, o diagnóstico dos acantocéfalos encontrados em *Ageneiosus ucayalensis* como pertencente a este táxon.

4.5 O TÁXON NEMATODA

Os resultados obtidos referentes ao táxon Nematoda são descritos a seguir, observando os estágios de maturação encontrados:

4.5.1 Formas larvais de *Anisakis* sp.

Vários autores citam a ocorrência de larvas de Anisakidae em peixes de várias procedências como ambientes salobros, dulcícolas e hialinos, sendo difícil a identificação das Espécies por métodos morfológicos de rotina.

A identificação a nível específico de formas larvares de nematóides da Família Anisakidae foi recentemente realizada por Murphy *et al.* (2010) e outros autores como Mattiucci *et al.* (2002) os quais além de identificar por análise morfológicas e moleculares, algumas espécies do Gênero *Anisakis*, sugerem hospedeiros definitivos e intermediários para as várias espécies.

A presença de *Anisakis* spp na cavidade celomática de peixes como um risco de zoonoses gera grande controvérsia. Por esses parasitos não serem

encontradas diretamente na musculatura, descarta-se o risco de ingestão, muito embora, por ocasião do resfriamento, essas possam penetrar a musculatura, em busca de lugares mais abrigados, aonde poderiam ser deglutidas por consumidores. Entretanto, segundo Moreno-Ancillo *et al.* (1997) reações alérgicas podem ocorrer após ingestão de peixes parasitados, mesmo aqueles submetidos ao cozimento; isto em decorrência da termo-estabilidade dos alérgenos presentes nas larvas, sendo necessários estudos mais elaborados com estes parasitos.

Neste trabalho larvas de *Anisakis* sp. foram encontradas envolvidas em uma delicada camada de tecido conjuntivo, com possibilidades de movimentos na cavidade celomática, sem evidência macroscópicas de alteração patológica. Murphy *et al.* (2010), constataram não haver qualquer tipo de modificação macroscópicas e histológica nas serosas dos órgãos onde foram encontrados larvas de *A. simplex* quando estes são encontrados livres, semelhante aos aqui reportados. Estes resultados sugerem que *Ageneiosus ucayalensis* atue como hospedeiro intermediário de larvas de *Anisakis* sp na localidade estudada.

4.5.2 Formas larvais da Família Cucullanidae

O conhecimento do ciclo de vida de nematóides da Família Cucullanidae é fundamental para atribuir caráter científico a relatos de ocorrência de larvas desta Família parasitando peixes, observando a escassez de artigos que abordam este tema.

Poucos são os ciclos conhecidos de nematóides da Família Cucullanidae que possam ter alguma relação com os resultados aqui encontrados. Possíveis hospedeiros intermediários, dentre eles alguns poliquetas e alevinos de outros peixes infectados com as larvas são considerados por Williams & Jones (1994) como responsáveis pela infecção nos hospedeiros definitivos.

A definição do ciclo e a dinâmica de transmissão de *Cucullanus cirratus*, parasita de *Gadus morhua* L. por Køie (2000a), e infecção experimental com *Cucullanus heterochrous* por Køie, (2000b) demonstram que peixes jovens adquirem o parasita ingerindo larvas do verme diretamente ou crustáceos Copepoda contaminados, sendo estes últimos considerados como hospedeiros paratênicos.

Análises de cistos sobre o pericárdio de *Garra rufa* (Pisces: Cyprinidae) relatam a ocorrência de larvas de *Cucullanus* sp. em 3º estágio (Moravec & Rahemo, 1993). No presente estudo as larvas de *Cucullanus* sp. foram encontradas livres na cavidade celomática diferentemente do resultado de Moravec & Rahemo (1993), embora os caracteres morfológicos das larvas em ambos os estudos indiquem que elas encontram-se em 3º estágio, excetuando a ausência de envoltórios císticos, no presente estudo.

Aqui, foram encontradas larvas de 3º estágio de *Cucullanus* sp. livres na cavidade, em um único hospedeiro de uma amostra de 205 exemplares, sugerindo que esta tenha sido uma infecção errática desta espécie de Cucullanidae.

4.5.3 Formas larvais de *Pseudoproleptus* sp.

O estudo de larvas de nematóides parasitando peixes é relatado por vários autores como Moravec, Kohn & Fernandes, (1993), Knoff *et al.*, (2001), Santos *et al.*, (2009), dentre outros.

Larvas em 3º estágio de *Pseudoproleptus* sp. foram descritas recentemente por Moravec & Santos (2009) retiradas do interior de cistos na hemocele de *Macrobrachium amazonicum*, proveniente da Amazônia brasileira. As larvas de *Pseudoproleptus* sp. encontradas no presente estudo diferem das de Moravec & Santos (2009) pois foram encontradas livres no interior do estômago dos peixes.

Em estudo que relaciona a dieta alimentar e a comunidade parasitária Muñoz & Cribb (2006) inferem que alguns nematóides como os dos Gêneros *Spirocamallanus* e *Heliconema* não utilizam peixes como hospedeiros intermediários, usando-os como hospedeiros paratênicos.

Caracteres morfológicos como papilas cefálicas, anfídios e deirídios bem desenvolvidos e primórdios genitais visualizados, bem como o fato de estas larvas não ocorrerem dentro de cistos sugerem que as mesmas estejam em 4º estágio de maturação. Dados morfológicos das larvas em questão aliados aos dados sobre a dieta de *Ageneiosus ucayalensis* (quando em fases juvenis se alimenta essencialmente de camarão) sugerem que este atue como hospedeiro paratênico de larvas de *Pseudoproleptus* sp., na região estudada.

4.5.4 *Procamallanus (Spirocamallanus) rarus*

Desde Travassos, Artigas & Pereira (1928), ocasião da descrição de *P. (S.) rarus* a partir de dois hospedeiros tipo *Pimelodella lateristriga* e *Rhynodoras dorbignyi* ambos Siluriformes, vários outros autores citam a ocorrência deste nematóide compondo a helmintofauna de diversos peixes (Pinto *et al.* 1974 e 1976; Moravec & Thatcher, 1997; Agostini *et al.* 2008). Wijová *et al.*, (2006) realizaram filogenia molecular de *P.(S.) rarus* colhidos em *Aguarunichthys cf. tocantinsensis*, peixe Siluriformes, no Peru, comparando-o com outras Espécies de nematóides Spirurina.

Neste estudo, foi estabelecido novo hospedeiro e novo local de ocorrência para *Procamallanus (Spirocamallanus) rarus*, enfatizando que esta nova localidade difere das outras já citadas por ser ambiente salobro, visto que *P.(S.) rarus* é referido, em estudos anteriores, em ambientes de água doce.

4.5.5 *Procamallaus (Spirocamallanus) belenensis*.

Baseado em características da cápsula bucal, Moravec & Thatcher (1997) propuseram cinco sub-gêneros de *Procamallanus*: *Spirocamallanus* Olsen, 1952, *Spirocamallanoides* Moravec e Sey, 1988, *Denticamallanus* Moravec e Thatcher, 1997, *Procamallanus* Baylis, 1923, e *Punctocamallanus* Moravec e Scholz, 1991. Estes são caracterizados pela presença ou ausência de uma espiral cuticular interna nas cápsulas bucais em machos e fêmeas. Além das características da cápsula bucal, a morfometria dos espículos diferencia também

subgêneros e espécies de *Procamallanus* (Pinto *et al.*, 1976). A espécie aqui descrita pertence ao subgênero *Spirocamallanus* devido machos e fêmeas possuírem uma espiral cuticular interna na cápsula bucal. *Procamallanus* (S.) *belenensis* n. sp. assemelha-se a *P. (S.) inopinatus* (Travassos *et al.*, 1928), e *P. (S.) pinto* (Kohn e Fernandes, 1988), pois ambos possuem uma espiral cuticular recobrindo 2/3 da superfície interna da cápsula bucal, e espículos pequeno e semelhantes, sendo parasitas de peixe de água doce; por outro lado, difere de outro *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) pelo tamanho pequeno dos espículos e pela ausência de aleta caudal.

A espécie nova difere de *P. (S.) inopinatus* e *P. (S.) pinto* devido os machos da nova espécie apresentam duas pequenas projeções pontiagudas no final da cauda e também pelo número de papilas cloacais (2 pares pré, 6 pós-cloacais; 4 pares pré e 2 pós cloacais, respectivamente, comparados com 3 pré, 1 ad-cloacal, e 4-5 pós-cloacais em *P. (S.) belenensis* n. sp. quando observados por microscopia eletrônica de varredura. *P. (S.) belenensis* n. sp. difere de *P. (S.) inopinatus* no número de cumes espirais da cápsula bucal (8-10 nos machos e 9-13 nas fêmeas), enquanto que *P. (S.) inopinatus* apresenta 15, em ambos sexos. Além disso, difere de *P. (S.) pinto* pela proporção do esôfago muscular/glandular que é 1:2,3 enquanto em *P. (S.) belenensis* n. sp. tem 1:1,5-2,00.

Procamallanus (S.) *probus* (Pinto e Fernandes, 1972) foi considerado como um sinônimo de *P. (S.) inopinatus* por Pinto *et al.* (1976). por conseguinte este também é aqui comparado nas características morfométricas e morfológicas com *P. (S.) belenensis* n. sp., observando que difere pelo número de espirais da

cápsula bucal (14 em machos e 16-23 em fêmeas), pela morfologia e função do espículo pequeno que age como gubernáculo guiando o espículo maior durante a cópula e ainda pelo número e disposição de papilas caudais (10 pares, com 3 pré, 1 ad e 6 pós-cloacais). Poucas espécies de *Procamallanus* foram analisadas em detalhes por microscopia eletrônica de varredura. Neste estudo esta técnica confirmou características morfológicas de *P.(S.) belenensis* n. sp. observadas por microscópio de luz. Durante a análise por microscopia eletrônica de varredura de *P.(S.) belenensis* n. sp., foi constatado que a abertura oral é hexagonal, semelhante a *P.(S.) inopinatus*, mas diferente de *P.(S.) pinto* que é arredondado (Moravec & Thatcher, 1997).

Em *Procamallanus (Spirocamallanus) halitrophus* (Fusco e Overstreet, 1978) (Cardenas & Lanfredi, 2005) e *Procamallanus (Spirocamallanus) anguillae* (Moravec &., 2006), também foram descritos por microscopia eletrônica de varredura as aberturas orais, que variam de oval a retangular. A cutícula que reveste a cápsula bucal de *P.(S.) belenensis* n. sp. possui cumes espirais denticulados e o revestimento cuticular do anel basal também é denticulado. Esta característica e a franja observadas nas margens da abertura oral têm sido descritas anteriormente em outras espécies de *Procamallanus (Spirocamallanus)*. Como o observado em *P.(S.) halitrophus* (Cardenas & Lanfredi, 2005), a abertura do esôfago na base da cápsula oral de *P.(S.) belenensis* é tri-radiada.

Todos os caracteres acima comentados além de outros referidos previamente foram publicados em Giese *et al.* (2009), estabelecem *Procamallanus (Spirocamallanus) belenensis* como uma espécie nova para este Gênero.

4.5.6 *Cucullanus ageneiosus*.

Existem 26 espécies neotropicais conhecidas do Gênero *Cucullanus* Muller 1777 no continente americano, tendo sido recentemente descrita uma nova espécie por López-Caballero, Osório-Sarabia & García-Prieto (2009), e denominadas por estes autores *Cucullanus costarricensis*. Dos cucullanideos neotropicais, foram descritas 15 espécies para o Brasil. Neste trabalho uma nova espécie de *Cucullanus* foi descrita considerando os aspectos morfológicos, incluindo também comentários entre as Espécies, Ordens, localidade tipo e ambiente do hospedeiro desta nova espécie.

Entre as espécies brasileiras de *Cucullanus*, 10 espécies ocorrem em água doce (*C. heliomartinsi*, Moreira, Rocha & Costa 2000; *C. brevispiculus*, Moravec et al. 1993; *C. pauliceae*, Vaz & Pereira, 1934.; *C. grandistomis*. (Ferraz & Thatcher 1988); *C. pimelodellae*. Moravec, Kohn & Fernandes 1993; *C. pinnai* (Travassos, Artigas & Pereira, 1928); *C. pseudoplatystomae* Moravec, Kohn & Fernandes, 1993; *C. oswaldocruzi* Santos, Vicente & Jardim, 1979; *C. zungaro* Vaz e Pereira 1934 e *C. mogi* de Travassos, 1948) e 5 em ambiente marinho (*C. pulcherrimus* Barreto, 1918; *C. rougetae* o Vicente e Santos, 1974; *C. carioca* Vicente e Fernandes, 1973; *C. cirratus* de Mueller, 1777; *C. dodsworthi* Barreto, 1922). *Cucullanus ageneiosus*. n. sp. é a única espécie descrita para água salobra.

Excluindo *C. mogi*, todas as espécies de água doce ocorrem em peixes Siluriformes, mesma Ordem de peixe parasitado por *Cucullanus ageneiosus*; das espécies marinhas, 4 são parasitas de peixes Perciformes (*C*

rougetae, *C. carioca*, *C. cirratus* e *C. dodsworthi*) sendo que *C. pulcherrimus* parasita peixes da Ordem Tetraodontiformes.

Cucullanus grandistomis, *C. pimelodelae* e *C. rougetae* apresentam os mais curtos comprimentos do corpo. Porém, *C. ageneiosus*, difere destes em todos os parâmetros morfológicos, e também possui o comprimento total do corpo mais curto, estando como o menor dentre as espécies brasileiras. *C. brevispiculus*, *C. heliomartinsi* (espécies brasileiras), *C. angeli* Cabañas-Carranzás e Caspeta-Mandujano, 2007, (espécie mexicana) possui comprimento de espículos reduzido (0,22 - 0,28 e 0,17 - 0,47 μm respectivamente). *C. ageneiosus* possui espículos que medem 0.14-0.18 μm , semelhante a *C. angeli*. A ocorrência de uma papila precloacal mediana não pareada é um caráter só observado em *C. ageneiosus* dentre as espécies brasileiras, semelhante as espécies *C. costarriensis* (da Costa Rica) e *C. angeli* (do México).

Análises sob microscopia eletrônica de varredura adicionam novos dados sobre a topografia de caracteres taxonômicos de alto valor de machos e fêmeas de *Cucullanus ageneiosus*. A extremidade anterior de ambos os sexos não diferiu morfológicamente. As papilas cefálicas, anfídios, abertura oral em forma de fenda que expõe os pequenos dentículos que cercam a face interna do anel oral, foram bem observados; os deirídios e o poro excretor igualmente. Foi descrito aqui a posição das papilas cloacais, especialmente a papila ímpar precloacal mediana, os fasmídios de ambos os sexos e a abertura vulvar. Foram observadas características semelhantes também usando microscopia eletrônica de varredura em *C. angeli*, *C. pedroi* (Timi & Lanfranchi, 2006), *C. maldivensis* (Moravec et al.,

2008), e *C. costaricensis* confirmando a morfologia uniforme com a qual estas espécies parasitas se agrupam. Como nos autores anteriormente citados, neste trabalho não se observou a ventosa de precloacal ventral masculina sob microscopia eletrônica de varredura, devido esta ser uma estrutura interna que só pode ser observada através de microscópio de luz.

Todos estes dados caracterizando *Cucullanus ageneiosus* como nova Espécie foram recentemente publicados em Giese *et al.* (2010).

4.6 ANÁLISE MOLECULAR

Em virtude da dificuldade de identificação de Espécies, quando de posse de cistos e larvas de cestódeos, como os encontrados na cavidade celomática de *Ageneiosus ucayalensis*, estes foram selecionados para a realização de análises por Biologia Molecular.

Os resultados obtidos comparando dados moleculares de metacestódeos efetuados neste trabalho possibilitam afirmar a similaridade destes com helmintos da Família Proteocephalidae, como demonstrado na árvore filogenética estabelecida (Fig. 34). Hoberg, Gardner & Campbell (1997) já abordavam a necessidade de análises moleculares como ferramenta para a elucidação de problemas com a Sistemática de Cestoda, principalmente metacestódeos.

No entanto, os dados moleculares obtidos do *Táxons Gibsoniela* não foram suficientes para diagnosticar a Espécie referente a este Gênero; necessitando mais estudos por meio de Taxonomia clássica; muito embora a

técnica tenha contribuído para a confirmação deste Gênero de helminto, agrupando-o junto a seus congêneres, como demonstra a árvore filogenética obtida.

5. CONCLUSÃO

Os exemplares de *Ageneiosus ucayalensis* correspondentes a amostra aqui analisada encontravam-se sexualmente imaturos. Isto pode implicar no fato de que a helmintofauna de indivíduos sexualmente maduros ou de mais idade poderá se apresentar diferente desta aqui apresentada, com a adição ou supressão de novos helmintos.

Associado ao estudo da biodiversidade de helmintos, a estimativa de idade do hospedeiro ou estágio de maturação das gônadas, bem como o levantamento de hábitos alimentares da espécie em estudo, *Ageneiosus ucayalensis*, foi de grande importância para entender os diversos ciclos de vida dos helmintos parasitos citados ou descritos ao longo deste trabalho.

Exemplares de Monogenea da Família Dactylogyridae, Sub-Família Ancyrocephalinae foram encontrados parasitando as brânquias de *Ageneiosus ucayalensis*, embora estudos mais detalhados ainda sejam necessários para diagnosticar Gênero e Espécies destes helmintos.

Não foi observada neste estudo a presença de helmintos da Classe Digenea.

Exemplares imaturos da Classe Cestoda foram encontrados encistados na cavidade abdominal de *A. ucayalensis*, propondo esta espécie de peixe como hospedeiro paratênico para cestódeos da Família Proteocephalidae com adição de dados moleculares para a mesma, neste hospedeiro. Após este

estudo estes helmintos poderão ser indicados para estudos futuros, utilizando-os como marcadores biológicos de metais pesados.

Indivíduos adultos da classe Cestoda também foram encontrados parasitando intestino de *A. ucayalensis* estabelecendo este como hospedeiro de *Gibsoniela* sp. Estudos morfológicos e morfométricos ainda se fazem necessários para o diagnóstico da Espécie deste helminto. Embora dados moleculares sobre estas amostras tenham sido realizados, estes ainda não foram incorporados ao GenBank.

Parasitos pertencentes ao Filo Acanthocephala, encontrados na população de *A. ucayalensis* proveniente da Baía do Guajará e estuário do rio Guamá, caracteriza este peixe como hospedeiro de indivíduos da Família Neoechinorhynchidae, Gênero *Neoechinorhynchus*. Há a necessidade de estudos morfológicos mais elaborados para o diagnóstico da espécie.

Ageneiosus ucayalensis é referido, após este trabalho, como novo hospedeiro do nematóide *Procamallanus rarus*, tendo sido também estabelecida a nova localidade de ocorrência: Baía do Guajará e foz do rio Guamá.

Dois novos nematóides foram descritos de *Ageneiosus ucayalensis*, após este trabalho: *Cucullanus ageneiosus* e *Procamallanus (Spirocamallanus) belenensis*, adicionando novas Espécies a helmintofauna de peixes na Amazônia.

Cucullanus ageneiosus e *Procamallanus (Spirocamallanus) belenensis* representam as primeiras espécie destes gêneros, descritas de *Ageneiosus ucayalensis* na Baía do Guajará e foz do rio Guamá, Estado do Pará, Brasil, ambiente salobro.

A ocorrência de formas larvares de nematóides dos Gêneros *Anisakis*, *Pseudoproleptus* e *Cucullanus* sugere que *Ageneiosus ucayalensis* seja hospedeiro intermediário e/ou paratênico dos mesmos.

Os Cestodas e Nematodas apresentaram os maiores índices de prevalência sendo os menores índices relacionados aos dos Acanthocephala.

Os táxons parasitos foram encontrados distribuídos ao longo das estações do ano, não inferindo características sazonais e nenhum deles.

O único parasito encontrado neste estudo com potencial patogênico para o homem foi *Anisakis* sp. Futuros estudos taxonômicos, moleculares e de infecção experimental poderão elucidar sua Espécie e provável hospedeiro definitivo, adicionando novos dados a ecologia de parasitos na Amazônia

6. REFERÊNCIAS

- ADEL-MEGUID M, ESCH G W, EURE H E. The distribution and pathobiology of *Neoechinorhynchus cylindratus* in the intestine of green sunfish, *Lepomis cyanellus*. **Parasitology**, 111 (2): 221-31. 1995.
- AGOSTINI, K. M.; GOULART, J.A.; ELI, F.; BACHMANN, F. e GRIMES, C.. Análise parasitária da espécie *Pimelodus maculatus* (Osteichthyes: Pimelodidae) coletados em dois pontos do rio Itajaí-açu, Blumenau, Brasil. **Dynamis**, 4 (1):19. 2008.
- AMATO, J.F.R., WALTER, A. B., AMATO, S. B. **Protocolo para Laboratório. Coleta e Processamento de Parasitas do Pescado**, 1º ed. Imprensa Universitária, UFRRJ, Rio de Janeiro, 81 p. 1991.
- AMIN, O. M. Revision of *Neoechinorhynchus* Stiles & Hassall, 1905 (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) with keys to 88 species in two subgenera. **Systematics Parasitology**, 53: 1–18. 2002.
- AMIN, O. M. and CHRISTISON K. W. *Neoechinorhynchus (Neoechinorhynchus) dorsovaginatus* n. sp. (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) from the dusky kob *Argyrosomus japonicas* (Sciaenidae) on the southern coast of South Africa. **Systematics Parasitology**, 61:173–179. 2005.
- AMIN O. M. and MUZZALL P. M. Redescription of *Neoechinorhynchus tenellus* (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) from *Esox lucius* (Esocidae) and *Sander vitreus* (Percidae), among other Percid and Centrarchid fish, in Michigan, U.S.A. **Comparative Parasitology**, 76 (1), 44–50. 2009.

- ANANTARAMAN, S. Larval cestodes in marine invertebrates and fishes with a discussion of the life cycles of the Tetraphyllidea and the Trypanorhyncha. **Parasitology Research**. V. 23 (4): 309-314. 1963.
- BAKKE, T. A.; P. D. Harris, J. Cable. Host specificity dynamics: observations on gyrodactylid monogeneans. **International Journal for Parasitology**, 32:281–308. 2002.
- BARRETO, A. L.. Revision of the family Cucullanidae Barreto. **Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz**. 14: 70–83. 1916.
- BROOKS D. R. AND HOBERG, E. P. Parasite Systematics in the 21st Century: opportunities and obstacles. **Trends in Parasitology**, 17. (6), 273-275. 2001.
- BUSH, A. O., LAFFERTY, K. D., LOTZ, J. M., SHOSTAK, A. W., 1997, Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. Revisited. *Jour. of Parasitology*, 83(4): 575-583.
- CABAÑAS-CARRANZA, G., J. M. CASPETA-MANDUJANO. A new cucullanid species (Nematoda) from the freshwater fish *Vieja intermedia* (Gunther, 1862) (Cichlidae) in Mexico. **The Journal of Parasitology**. 93: 646-64. 2007.
- CARDENAS M. Q. e LANFREDI R. M.. Further description of *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) *halitrophus* comb. n (Nematoda: Camallanidae) from flounder of the Brazilian coast by light and scanning electron microscopy. **Journal for Parasitology** 91 (3): 606-613. 2005.
- CHAMBRIER, A. and SCHOLZ, T. Tapeworms (Cestoda: Proteocephalidea) of firewood catfish *Sorubimichthys planiceps* (Siluriformes: Pimelodidae) from the Amazon River. **Folia Parasitologica**, 55: 17–28, 2008.

- CHERVY, L.. The terminology of larval cestodes or metacestódeos. **Systematic Parasitology**, 52: 1–33. 2002.
- CHOI, D., LIM, JH., HONG, ST. Relation of Cholangiocarcinomas to Clonorchiasis and Bile Duct Stones. **Abdominal Imaging**, 29: 590-597. 2004.
- COHEN, S. C. and KOHN, A.. On Dactylogyridae (Monogenea) of four species of characid fishes from Brazil. **Check List** 5(2): 351–356, 2009.
- CRIBB, T. H., L. A. Chisholm, and R. A. Bray. Diversity in the Monogenea and Digenea: does lifestyle matter? **International Journal for Parasitology**, 32: 321–328. 2002.
- DEZFULI B. S. *Cypria reptans* (Crustacea: Ostracoda) as an intermediate host of *Neoechinorhynchus rutili* (Acanthocephala: Eoacanthocephala) in Italy. **Journal of Parasitology**, 82(3): 503-5. 1996.
- DIAS, P. G., FURUYA, W. M., PAVANELLI G. C., MACHADO, M. H., TAKEMOTO, R. M.. Carga parasitária de *Rondonia rondoni*, Travassos, 1920(Nematoda, Atractidae) e fator de condição do armado, *Pterodoras granulosus*, Valenciennes, 1833 (Pisces, Doradidae). **Acta Scientiarum Biological Sciences**, 26 (2): 151-156. 2004.
- DOGIEL, VA., 1970. Ecology of the parasites of freshwater fishes. In: DOGIEL, VA., PETRUSHEVSKI, GK. and POLYANSKY, YI. (Eds.). **Parasitology of Fishes**. London: Olivier & Boyd, 1970. p. 1-47.
- EIRAS, J.C., TAKEMOTO, R. M., PAVANELLI, G. C.. **Métodos de Estudo e Técnicas Laboratoriais em Parasitologia de Peixes**. 2ª ed. Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá, 2006.191 p.

- FELTRAN, R. B., MARÇAL, O. J., PINESE, J. F., TAKEMOTO, R. M. Prevalência, abundância, intensidade e amplitude de infecção de nematóides intestinais em *Leporinus friderici* (Bloch, 1794) e *L. obtusidens* (Valenciennes, 1836) (Pisces, Anostomidae), na represa de Nova Ponte (Perdizes, MG). **Revista Brasileira de Zootecias**, 6 (2): 169-179. 2004.
- FERRARIS J.R., C.J., Auchenipteridae (Driftwood catfishes). In: R.E. Reis, S.O. Kullander and C.J. Ferraris Jr. (eds.) **Checklist of the Freshwater Fishes of South and Central America**. Porto Alegre: EDIPUCRS, Brasil. 2003. p. 470-482.
- FUSCO, A. C., e OVERSTREET R. M.. *Spirocamallanus cricotus* sp. n. and *S. halitrophus* sp. n. (Nematoda: Camallanidae) from fishes in the northern Gulf of Mexico. **The Journal of Parasitology**. 64: 239–244. 1978.
- GARCIA-VARELA M., AZNAR F.J., PEREZ-PONCE DE LEON G., PINERO D, LACLETTE JP.. Molecular phylogeny of *Corynosoma* Luhe, 1904 (Acanthocephala), based on 5.8S and internal transcribed spacer sequences. **The Journal of Parasitology**, 91(2):345-52. 2005.
- GIESE E. G., FURTADO, A. P., LANFREDI R. M., SANTOS J. N.. *Cucullanus Ageneiosus* n. sp. (Nematoda: Cucullanidae) From *Ageneiosus Ucayalensis* Castelnau 1855 (Pisces: Auchenipteridae) From Para, Brazil. **The Journal of Parasitology**, 96(2): 389-395. 2010.
- _____, SANTOS J.N., LANFREDI R.M.. A New Species Of Camallanidae From *Ageneiosus Ucayalensis* (Pisces Siluriformes) From Pará State, **The Journal of Parasitology**, 95(2): 407-412. 2009.

- GONZÁLES, M. T., ACUÑA, E., OLIVA, M. O.. Metazoan parasite fauna of the Bigeye Flounder, *Hippoglossina macrops*, from Northern Chile. Influence of host age and sex. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 96(8): 1049-1054. 2001.
- GONZALEZ-SOLIS, D., TUZ-PAREDES, V. M. e QUINTAL-LORIA, M. A. *Cucullanus pargus* sp. n. (Nematoda: Cucullanidae) from the grey snapper *Lutjanus griseus* of the southern coast of Quintana Roo, Mexico. **Folia Parasitologica**. 54: 220–224. 2007.
- HOBERG, E. P., GARDNER, S. L., CAMPBELL, R. A.. Paradigm Shifts and Tapeworm Systematics. **Parasitology Today**, 13(5): 161-162. 1997.
- KAEWKES, S.. Taxonomy and Biology of Liver Flukes. **Acta tropica**, 88: 177-186. 2003.
- KHALIL M., FURNESS D., POLWART A., HOOLE D.. 2009. X-ray microanalysis (EDXMA) of cadmium-exposed eggs of *Bothriocephalus acheilognathi* (Cestoda: Bothriocephalidae) and the influence of this heavy metal on coracidial hatching and activity. **International Journal for Parasitology**, 39: 1093-1098. 2009.
- KIM, SG., JO, YJ., PARK, YS., KIM, SH., SONG, MH., LEE, HH., KIM, JS., RYOU, JW., JOO, JE., KIM, DH. Four Cases of Gastric Submucosal Mass Suspected as Anisarkisis. **Korean Journal of Parasitology**, 44(1): 81-86. 2006.
- KNOFF M., SÃO CLEMENTE S. C., FONSECA M. C. G., ANDRADA C. G., PADOVANI R. E. S. e GOMES D. C.. Anisakidae parasitos de congrio-rosa, *Genypterus brasiliensis* Regan, 1903 comercializados no estado do Rio de

- Janeiro, Brasil de interesse na saúde pública. **Parasitology Latinoamerica**, 62: 127 – 133. 2007.
- KNOFF M., SÃO CLEMENTE, S. C., PINTO, R. M. E GOMES, D. C.. Nematodes of Elasmobranch Fishes from the Southern Coast of Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 96(1): 81-87. 2001.
- KOHN, A.; COHEN, S. C.. South American Monogenea - List of species, hosts and geographical distribution. **International Journal for Parasitology**, 28 (10): 1517-1554. 1998.
- KOHN, A., e FERNANDES. B. M. M.. Helminth parasites of fishes from the hydroelectric power station of Eletrosul (Brazil). I- *Procamallanus petterae* n. sp. and *Spirocamallanus pinto* n. sp. (Nematoda, Camallanidae) from the reservoir of “Salto Osório.” **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**. 83: 293–298. 1988.
- KOHN, A., SANTOS, A.L, BAPTISTA-FARIAS, M.F.D.. Report of *Didymocystis wedli* Ariola, 1902 (Digenea; Didymozoidae) from *Thunnus albacares* in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 96(7): 951-954. 2001.
- KØIE, M. Life cycle and seasonal dynamics of *Cucullanus cirratus* O.F. Mue ller, 1777 (Nematoda, Ascaridida, Cucullanidae) in Atlantic cod *Gadus morhua* L. **Canadian Journal of Zoology**, 78, 182-190. 2000.
- _____. The life-cycle of the flatfish nematode *Cucullanus heterochrous*. **Journal of Helminthology**, 74: 323-328. 2000.

- LACERDA A.C.F., SANTIN M., TAKEMOTO R.M., PAVANELLI G.C., BIALETZKI A. AND TAVERNARI F C. Helminths parasitizing larval fish from Pantanal, Brazil. **Journal of Helminthology**, 83: 51–55. 2009.
- LIZAMA M. L, TAKEMOTO R. M, PAVANELLI G. C.. Parasitism influence on the hepato, splenosomatic and weight/length relation and relative condition factor of *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) (Prochilodontidae) of the Upper Paraná River floodplain, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 15 (3): 116-22. 2006.
- LÓPEZ-CABALLERO, J., D. OSÓRIO-SARABIA e L. GARCÍA-PRIETO. *Cucullanus costaricensis* sp. n. (Nematoda: Cucullanidae) parasite of *Bagre pinnimaculatus* (Siluriformes: Ariidae) from Río Tempisque, Costa Rica. **The Journal of Parasitology**. 95 (2), 413–423. 2009.
- MACHADO, M.H., G.C. PAVANELLI, R.M. TAKEMOTO.. Structure and diversity of endoparasitic infracommunities and the trophic level of *Pseudoplatystoma corruscans* and *Schizodon borelli* (Osteichthyes) of the high Paraná River. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 91 (4): 441-448. 1996.
- MACKENZIE K., WILLIAMS H. H., WILLIAMS B., MCVICAR A. H., SIDDALL R.. Parasites as Indicators of Water Quality and the Potential use of Helminth Transmission in Marine Pollution Studies. **Advanceds in Parasitology**, 35: 85-144. 1995.
- MADI, R. R., SILVA, M. S. R.. *Contracaecum* Railliet & Henry, 1912 (Nematoda, Anizarkidae): o parasitismo relacionado à biologia de três espécies de peixes

- piscívoros no reservatório do Jaguari, SP. **Revista Brasileira de Zootecias**, 7 (1): 15-24. 2005.
- MAFRA, A C., LANFREDI, R M. Reevaluation of *Physaloptera bispiculata* (Nematoda: Spiruroidaea) by light and scanning electron microscopy. **The Journal of Parasitology**, 84 (3): 582-8. 1998.
- MALDONADO J. A., GENTILE, R., FERNANDES-MORAES, C.C., D'ANDREA, P.S.; LANFREDI, R.M.; REY, L. Helminth community of *Nectomys squamipes* (Rodentia: Sigmodontinae) naturally infected by the exotic trematode *Schistosoma mansoni* in Southeastern Brazil. **Journal of Helminthology**, 80: 1-8. 2006.
- MARTINS M.L., DE MORAES F.R., FUJIMOTO R.Y., ONAKA E.M., QUINTANA C.I.. Prevalence and histopathology of *Neoechinorhynchus curemai* Noronha, 1973 (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) in *Prochilodus lineatus* Valenciennes, 1836 from Volta Grande Reservoir, MG, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, 61 (3): 517-22. 2001.
- MARCOGLIESE D. J, BALL M, LANKESTER M. W.. Potential impacts of clearcutting on parasites of minnows in small boreal lakes. **Folia Parasitologica**, 48 (4): 269-74. 2001.
- MARTINS M. L., ONAKA E., FENERICK Jr. M., J.. Larval *Contracaecum* sp. (Nematoda: Anisakidae) in *Hoplias malabaricus* and *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Osteichthyes: Erythrinidae) of economic importance in occidental marshlands of Maranhão, **Brazilian Veterinarian Parasitology**, 127: 51 – 59. 2005.

- MATTIUCCI S., PAGGI L., NASCETTI G, SANTOS C. P., COSTA G, DI BENEDITTO A.P., RAMOS R., ARGYROU M., CIANCHI R. e BULLINI L.. Genetic markers in the study of *Anisakis typica* (Diesing, 1860): larval identification and genetic relationships with other species of *Anisakis* Dujardin, 1845 (Nematoda: Anisakidae). **Systematic Parasitology**, 51: 159 – 170. 2002.
- MENDOZA-FRANCO, E F., REINA, R G, TORCHIN M E. Dactylogyrids (Monogeneoidea) Parasitizing the Gills of *Astyanax* spp.(Characidae) from Panama and Southeast Mexico, a New Species of *Diaphorocleidus* and a proposal for *Characithecium* n. gen. **Parasitology**, 95 (1): 46 - 55. 2009.
- MERONA B., SANTOS, G. M. E ALMEIDA R. G.. Short term effects of Tucuruí Dam (Amazonia, Brazil) on the trophic organization of fish communities. **Environmental Biology of Fishes**, 60: 375 – 392. 2001.
- MIKHAILOVA E. I., ATRASHKEVICH G. I. Description and morphological variability of *Neoechinorhynchus beringianus* n. sp. (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) from north-eastern Asia. **Systematics Parasitology**, 71: 41 – 48. 2008.
- MONIS, P. T.. The Importance of systematics in parasitological research. **International Journal for Parasitology**, 29: 381 - 388. 1999.
- MORAVEC F., KOHN, A., FERNANDES, B. M. M.. Nematodes parasites of fishes of Oaraná River, Brazil, Part. 2 Seuratoidea, Ascaridoidea, Habronematoidea and Acuarioidea. **Folia Parasitologica**. 40:115-134. 1993.

- _____. Nematodes of Freshwater Fish of the Neotropical Region. Academia. **Praga**. 464 p. 1998.
- _____, Observations on the metazoan parasites of the Atlantic salmon (*Salmo salar*) after its reintroduction into the Elbe River basin in the Czech Republic. **Folia Parasitologica**, 50: 298 – 304. 2003.
- _____, RAHEMO, Z. I.. Pericardium of *Garra rufa* (Pisces: Cyprinidae) as the site of infection of *Cucullanus* larvae (Nematoda). **Folia Parasitologica**, 40: 145 - 146. 1993.
- _____, P. SASAL, J. WÜRTZ, H. TARASCHEWSKI. *Cucullanus oceaniensis* sp. n. (Nematoda: Cucullanidae) from Pacific eels (*Anguilla* spp.). **Folia Parasitologica**. 52: 343 – 348. 2005.
- _____, J. LORBER, R. KONECNY. *Cucullanus maldivensis* n. sp. (Nematoda: Cucullanidae) and some other adult nematodes from marine fishes off the Maldive Islands. **Systematic Parasitology**. 70:61–69. 2008.
- _____, SANTOS, C P. 2009. Larval *Pseudoproleptus* sp. (Nematoda: Cystidicolidae) Found In The Amazon River Prawn *Macrobrachium Amazonicum* (Decapoda: Palaemonidae) In Brazil. **The Journal of Parasitology**, 95 (3): 634 - 638. 2009.
- _____, SEY, O. Nematodes of freshwater fishes from North Vietnam. Part 1. Camallanoidea and Habronematoidea. **Acta Societatis Zoologicae Bohemoslovacae**, 52: 128 - 148. 1988.
- _____, SCHOLZ T., DYKOVA I., KUČHTA R., FIALA I., KOHN A. Redescription of *Alinema amazonicum* (Travassos, 1960) n. comb., A

- Philometrid Nematode with unusual Morphology. **The Journal of Parasitology**, 92 (1): 138 - 44. 2006.
- _____, THATCHER, V. E.. *Procamallanus* (*Denticamallanus* subgen. n.) *dentatus* n. sp. (Nematoda: Camallanidae) from the characid fish, *Bryconops alburnoides*, in the Brazilian Amazon. **Parasite** 4: 239 – 243. 1997.
- _____, TARASCHEWSKI, H., THAIRUNGROJ ANANTAPHRUTI, M., MAIPANICH, W., LAOPRASERT T.. *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) *anguillae* sp. n. (Camallanidae) and some other nematodes from the Indonesian shortfin eel *Anguilla bicolor* in Thailand. **Parasitology Research**. 100: 69 – 75. 2006.
- MORENO-ANCILLO, A.; CABALLERO, M.T.; CABANÑAS, R.. Allergic reactions to *Anisakis simplex* parasitizing sea food. **Annals Allergy Asthma Immunology**, 79: 246 - 250. 1997.
- MOREIRA, N. I. B., ROCHA, G. N., COSTA, H. M. A.. A new Nematode species (Seuratoidea, Cucullanidae) parasitizing *Parauchenipterus striatulus* (Steindachner, 1876) (Pisces, Auchenipteridae) in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. 95: 39-4. 2000.
- MOTTA, M. R. A., PINHEIRO, D. C. S. N., CARVALHO, V. L., VIANA, D. A., VICENTE, A. C. P. & Iñiguez, A. M. Gastric lesions associated with the presence of *Anisakis* spp. Dujardin, 1845 (Nematoda: Anisakidae) in Cetaceans stranded on the coast of Ceará, Brazil. **Biota Neotropical**, 8(2): 91 - 95. 2008.

- MUÑOS, G., CRIBB, T. H.. Parasite communities and diet of *Coris batuensis* (Pisces: Labriidae) from Lizard Island, Great Barries reef. **Memoirs of the Queensland Museum.** 52 (1): 191 - 198. 2006.
- MURPHY, T. M., BERZANO, M., O'KEEFFE S., M., COTTER, D. M., MCEVOY, S. E., THOMAS, K. A , MAOILÉIDIGH, N. P. Ó, WHELAN, K.F. Anisakid Larvae In Atlantic Salmon (*Salmo Salar*, L.) Grilse And Post-Smolts: Molecular Identification And Histopathology. **The Journal of Parasitology**, 96 (1): 77-82. 2010.
- OLIVEIRA, M. L. J.; VIDAL-TORRADO, P.; OTERO, X. L., FERREIRA, J. R. Mercúrio Total em Solos de Manguezais da Baixada Santista e Ilha do Cardoso, Estado de São Paulo. **Química Nova**, 30 (3): 519 - 524. 2007.
- PAVANELLI, G. C. Estudos da estrutura da população e dinâmica da reprodução e nutrição de *Ageneiosus ucayalensis* (Ageneiosidae, Osteichthyes). In: **IV Congresso Brasileiro de Engenharia de Pesca, 1985**, Curitiba - PR, 1985.
- PAMPLONA-BASILIO M. C., KOHN A., FEITOSA V. A. New Host Records and Description of the Egg of *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea, Dactylogyridae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96 (5): 667- 668. 2001.
- PERES, C. A. Porque precisamos de megareservas na Amazônia. **Natureza & Conservação**, 3 (1): 8-16. 2005.
- PINTO, R. M., DE FABIO, S. P., NORONHA, D., ROLAS, T..*Procamallanus* Brasileiros – Parte I (Nematoda, Camallanoidea).). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 72: 205-211. il. 1974.

- _____, DE FABIO, S. P., NORONHA, D., ROLAS, T.. Novas considerações morfológicas e sistemáticas sobre os *Procamallanus* Brasileiros (Nematoda, Camallanoidea). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 74: 77–84. 1976.
- _____, FERNANDES, B. M. M.. Sobre *Procamallanus probus* sp.n. (Nematoda, Camallanoidea). **Atas Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro** 15: 133–136. 1972.
- POULIN, R. **Evolutionary Ecology of Parasites: from individuals to communities**. Princeton University Press. New Jersey 342 p. 2007.
- QUIAZON, K. M. A., YOSHINAGA, T., OGAWA, K., YUKAMI R. Morphological differences between larvae and in vitro-cultured adults of *Anisakis simplex* (sensu stricto) and *Anisakis pegreffii* (Nematoda: Anisakidae). **Parasitology International**, 57:483–489. 2008.
- RIBEIRO, A. L. R.. **Ocorrência e distribuição da ictiofauna estuarina brasileira. Monografia** (Especialização em Biologia Marinha) - Taubaté, Universidade de Taubaté, 2007. 79p.
- REGO, A. A. Redescription of *Gibsoniela mandube* (Woodland, 1935)(Cestoda: Proteocephalidea), a parasite of *Ageneiosus brevifilis* (Pisces: Siluriformes), and a reappraisal of the classification of the proteocephalideans. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 87:417-422. 1992.
- _____. Cestódeos Proteocefalídeos Parasites de *Pseudoplatystoma* (Pisces, Pimelodidae) da América do Sul. **Revista Brasileira de Zoologia**, 4 (2): 269-282. 2002.

- _____. Problems of classification of South American Proteocephalids (Cestoda). On a new classification for the group. *Acta Scientiarum: Biological Sciences*. 25 (1): 15 - 22. 2003.
- _____, CHUBB, C. C., PAVANELLI, G. C.. Cestodes in South American Freshwater Teleost Fishes: Keys to genera and brief description on species. **Revista Brasileira de Zoologia**. 16 (2): 299-367. 1999.
- _____, GIBSON, D.. Hyperparasitism by helminths: new records of cestodes and nematodes in proteocephalid cestodes from South American siluriforms fishes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 84: 371-376.1989.
- _____, SANTOS, J. C., SILVA, P. P.. Estudo de Cestódeos de Peixes do Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. 72 (3/4): 187 - 204. 1974.
- SANTOS, M. D., ALBUQUERQUE, M. C., MONTEIRO, C. M., MARTINS, A. N., EDERLI, N. B., BRASIL-SATO, M. C.. First report of larval *Spiroxys* sp. (Nematoda, Gnathostomatidae) in three species of carnivorous fish from Três Marias Reservoir, São Francisco River, Brazil. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**. 4 (3): 306 - 311. 2009.
- SANTOS, F.L.N., FARO, L.B. The first Confirmed Case of *Diphyllbothrium latum* in Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, 100 (6): 685 - 686. 2005.
- SANTOS, C. P., GIBSON, D. I., TAVARES, L. E. R., LUQUE, J. L. Checklist of Acanthocephala associated with the fishes of Brazil. **Zootaxa**. 1938: 1–22. 2008.

- SANTOS, J.N.; GIESE, E.G.; MALDONADO-JR., A.; LANFREDI, R.M. A new species of *Oswaldocruzia* in *Chaunnus marinus* from Brazil. **The Journal of Parasitology**. 94(1): 264-268. 2008.
- SANTOS, E., VICENTE J.J., JARDIM C.R.. Helmintos de peixes de rios amazônicos da Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz II. Nematoda. **Atas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro**. 20: 11-19. 1979.
- SÃO CLEMENTE, S. C., KNOFF M., LIMA, F. C., ANDRADA C. G., FELIZARDO N. N., PADOVANI R. E. S., GOMES D. C.. Cestódeos Trypanorhyncha parasitos de peixe sapo-pescador, *Lophius gastrophysus* Miranda-Ribeiro, 1915 comercializados no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 16(1): 37-42. 2007.
- SALGADO-MALDONADO, G., R. AGUILAR-AGUILAR, G. CABAÑAS-CARRANZA, E. SOTO-GALERA, AND C. MENDOZA- PALMERO. Helminth parasites in freshwater fish from the Papaloapan River basin, Mexico. **Parasitology Research**, 96: 69–89. 2005.
- _____, CABAÑAS-CARRANZA, SOTO-GALERA, E., CASPETA-MANDUJANO, J. M., MORENO-NAVARRETE, G., SÁNCHEZ-NAVA, P., AGUILAR-AGUILAR, R.. A checklist of helminth parasites of freshwater fishes from the Lerma-Santiago river basin, Mexico. **Comparative Parasitology**, 68:204–218. 2001.

- SCHAFFER, G. V., REGO, A. A., PAVANELLI, G.C. Peritoneal and visceral cestode larvae in brasilian freshwater fishes. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**. 87 (1): 257-258. 1992.
- SCHALCH, S. H. C., MORAES, J. R., MORAES, F. R.. Fauna parasitária de peixes oriundos de “pesque-pague” do município de Guariba, São Paulo, Brasil. **Acta Scientiarum Biological Sciences**. 28 (3): 291 - 297. 2006.
- SCHLUDERMANN, C. KONECNY, R., LAIMGRUBER, S., LEWIS J. W., SCHIEMER, F., CHOVANEC, A., SURES, B.. Fish Microparasites as Indicators of Heavy Metal Pollution in River Sites in Austris. **Parasitology**, 126: 61 - 69. 2003.
- SCHOLZ, T., VARGAS-VÁZQUEZ, J., MORAVEC, F., VIVAS-RODRÍGUEZ, C., MENDONZA-FRANCO, E.. Cestoda and Acanthocephala of fishes from cenotes (= sinkholes) of Yucatan, Mexico. **Folia Parasitologica**. 43: 141 - 152. 1996.
- SILVA C. M., SÃO CLEMENTE S. C. Nematóides da Família Anisarkidae e Cestódeos da Ordem Trypanorhyncha em Filé de Dourado *Coryphaena hippurus* e ariocó *Lutjanus synagris* e sua Importância na Inspeção de Pescado. **Higiene e Alimento**, 15 (80/81): 75 - 79. 2001.
- SKERIKOVÁ A., HYPŠA V., SCHOLZ T. Phylogenetic analysis of European species of *Proteocephalus* (Cestoda: Proteocephalidea): compatibility of molecular and morphological data, and parasite-host coevolution. **International Journal for Parasitology**, 31(10): 1121-1128. 2001.

- SRIPA, B. Pathobiologia of Opisthorchiasis: an update. **Acta Tropica**, 88: 209-220. 2003.
- SITHIHAWORN, P., HASWELL-ELKINS, M. Epidemiology of Opisthorchis viverrini. **Acta Tropica**, 88: 187 - 194. 2003.
- SURES, B., TARASCHEWSKI, H., ROKICKI, J. Lead and Cadmium Content of Two Cestodes, Monobothrium wagneri and Bothriocephalus scorpii, and their fish host. **Parasitology Research**, 83: 618 - 623. 1997.
- TAMURA, K., DUDLEY, J., NEI, M., KUMAR, S.. MEGA 4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) Software Version 4.0. **Molecular Biology and Evolution**, 24: 1596 – 1599. 2007.
- TAKEMOTO R. M., LIZAMA, M. A. P., PAVANELLI G. C. A New Species of Kritskyia (Dactylogyridae, Ancyrocephalinae) Parasite of Urinary Bladder of Prochilodus lineatus. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 97 (3): 313 - 315. 2002.
- THATCHER V., MORAVEC, F.. **Amazon Fish Parasites, Aquatic Biodiversity of Latin America. Pensoft Publishers**. Sofia, Bulgaria. 2006. 1: 508p. il.
- TAVARES, L. E. R., ALEJOS, J. L. F. L. Sistemática, Biologia e Importância em Saúde Coletiva das Larvas de Anisakidae (Nematoda, Ascaridoidea) Parasitas de Peixes Ósseos Marinhos do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. In: SILVA-SOUZA, Â. T. **Sanidade de organismos aquáticos no Brasil**. Maringá: ABRAPOA. 2006. 387 p. il.
- TAVERNARI, F. C., TAKEMOTO, R. M., LACERDA, A. C. F., PAVANELLI G. C.. A new species of Demidospermus Suriano, 1983 (Monogenea) parasite of gills

- of *Auchenipterus osteomystax* (Auchenipteridae), from the upper Paraná river floodplain, Brazil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, 32: (1) 79 - 81. 2010.
- TEKIN-ÖZAN S, KIR, I.. Comparative study on the accumulation of heavy metals in different organs of tench (*Tinca tinca* L. 1758) and plerocercoids of its endoparasite *Ligula intestinalis*. **Parasitology Research**, 97: 156 - 159. 2005.
- _____, Accumulation of Some Heavy Metals in *Raphidascaris acus* (Bloch, 1779) and Its Host (*Esox lucius* L., 1758). **Türkiye Parazitoloji Dergisi**, 31 (4): 327 - 329. 2007.
- TENORA F, BARUŠ V, KRÁČMAR S, DROŽÁČEK J, Concentration of some heavy metals in *Ligula intestinalis* plerocercoids (Cestoda) and *Philometra ovata* (Nematoda) compared to some their hosts (Osteichthyes). **Helminthologia**, 37: 15 - 18. 2000.
- TIMI J. T., LANFRANCHI A. L.. A new species of *Cucullanus* (Nematoda: Cucullanidae) parasitizing Conger *Orbignianus* (Pisces: Congridae) from Argentinean Waters. **The Journal of Parasitology**. 92: 151 - 154. 2006.
- THOMPSON, J.D., HIGGINS, D.G., GIBSON, T.J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**, 22: 4673 - 4680. 1994.
- TRAVASSOS, L., ARTIGAS, P., PEREIRA, C. Fauna Helminológica dos peixes de água doce do Brasil. **Archivos do Instituto Biológico**, 1: 5 - 68. 1928.

- UPATHAM, E.S., VIYANANT, V. *Opisthorchis viverrini* and Opisthorchiasis: A Historical Review and Future Perspective. **Acta Tropica**, 88: 171 - 176. 2003.
- VAZ Z., PEREIRA C. Contribuição ao conhecimento de nematóides de peixes fluviais do Brasil. **Archivos do Instituto de Biologia de São Paulo**. 5: 87 - 103. 1934.
- VIANA, A. P. **Ictiofauna como indicadora da qualidade ambiental na Baía do Guajará (Belém-Pa), estuário amazônico**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Belém, Universidade Federal do Pará. 2006. 159p.
- VICENTE J. J., FERNANDES B. M M.. Sobre um nematódeo do gênero *Cucullanus* Müller, 1777 parasito de “namorado” (Nematoda, Camallanoidea). **Atas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro**. 17: 31 – 33. 1973.
- _____, RODRIGUES, H. O., GOMES, D. C., PINTO, R. M. Nematóides do Brasil. Parte V: Nematóides de mamíferos. **Revista Brasileira de Biologia**, v.14, n.1, 1977, 452p.
- _____, SANTOS. E.. Alguns helmintos de peixe do litoral norte fluminense. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**. 71: 95 – 113. 1973.
- _____, SANTOS, E.. Alguns helmintos de peixe do litoral norte fluminense II. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**. 72: 173 – 180. 1974.
- _____,PINTO, R. M. Nematóides do Brasil. Nematóides de Peixes. Atualização: 1985-1998. **Revista Brasileira de Zoologia**, 16 (3): 561. 1999.
- VIEIRA, I C G, TOLEDO, P M, SILVA, J M C, HIGUCHI, H. Deforestation and threats to the biodiversity of Amazonia. **Brazilian Journal of Biology**, 68 (4, supplement): 949 - 956. 2008.

- VIOLANTE-GONZÁLEZ J., AGUIRRE-MACEDO M. L., MENDOZA-FRANCO, E. F.. A checklist of metazoan parasites of fish from Tres Palos Lagoon, Guerrero, Mexico. **Parasitology Research**, V. 102: 151 – 161. 2007.
- YAMAGUTI, S. **Systema helminthum**. Vol. 5. Acanthocephala. New York: Interscience Publishers, 423 p. 1963.
- WIJOVÁ M., MORAVEC F., HORÁK A., LUKES J.. Evolutionary relationships of Spirurina (Nematoda: Chromadorea: Rhabditida) with special emphasis on dracunculoid nematodes inferred from SSU rRNA gene sequences. **International Journal for Parasitology**, 36: 1067 – 1075. 2006.
- WOODLAND, W. N. F.. On the anatomy of some fish cestodes described by Diesing from the Amazon. **Quarternary Journal of Microscopy Science**. 76: 175 - 208. 1933.
- WOODLAND, W. N. F.. Some more remarkable cestodes from Amazon siluroid fish. **Parasitology**. 27: 207 - 225. 1935.
- ZENDER, M. P., CHAMBRIER, A., VAUCHER, C., MARIAUX, J. *Nomimoscolex suspectus* n. sp. (Eucestoda: Proteocephalidae: Zygobothrinae) With Morphological and Molecular Phylogentic Analyses of the Genus. **Systematics Parasitology**, 47: 157 - 172. 2000.
- ZHU X. Q., GASSER R. B., PODOLSKA M., CHILTON N. B. Characterization of anisakid nematodes with zoonotic potential by nuclear ribosomal DNA sequences. **International Journal for Parasitology**, 28: 1911 - 1921. 1998.