

## RELATÓRIO PARCIAL

### DIVERSIDADE, TAXONOMIA E SISTEMÁTICA DE PARASITOS DE PEIXES DO RIO PARDO, MÉDIO RIO PARANAPANEMA, SÃO PAULO

**Pesquisador Responsável (FAPESP):**



**Prof. Titus Reinaldo José da Silva** - Docente do Instituto de  
Biociências, Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho  
(UNESP), Programa de Pós-graduação em Zoologia

**Processo:** 2019/25223-9

**Período de vigência:** 01/02/2021 a 31/01/2023

**Período coberto pelo Relatório Científico:** 01/02/2021 a 31/03/2022

## RESUMO DO PLANO INICIAL

Os peixes são os vertebrados com os maiores números de associações parasito-hospedeiro, tanto com parasitos de diferentes filos até mesmo de diferentes reinos. Estima-se que apenas 6% das espécies de peixes brasileiros foram estudadas quanto a sua fauna parasitária e, portanto, a biodiversidade de parasitos de peixes é ainda incipiente no Brasil. Dentre os principais grupos de parasitos de peixes, os ergasilídeos, mixozoários e monogenéticos são aqueles com grande potencial para descrição de espécies novas, além de serem os parasitos mais impactantes do ponto de vista sanitário, principalmente se considerando a frequência de ocorrência destes parasitos nos peixes nativos. Desse modo, o presente trabalho tem como objetivo estudar, com base em dados morfológicos e moleculares, a diversidade, taxonomia e sistemática de ergasilídeos, mixozoários e monogenéticos parasitos de 10 espécies de peixes dominantes (*Astyanax paranae*, *Astyanax lacustris*, *Characidium schubarti*, *Galeocharax gulo*, *Gymnotus sylvius*, *Imparfinis mirini*, *Phalloceros harpagos*, *Pimelodella avanhandavae*, *Schizodon nasutus* e *Steindachnerina insculpta*) coletados ao longo do gradiente longitudinal (da nascente à foz) do Rio Pardo, Médio Rio Paranapanema, São Paulo. Para esse estudo, serão realizadas análises morfológicas em conjunto com análises moleculares utilizando marcadores ribossomais (SSU rDNA, LSU rDNA e ITS) e mitocondriais (COI). Os resultados obtidos durante a realização do projeto serão importantes para conhecimento da biodiversidade brasileira, uma melhor compreensão da estrutura das comunidades parasitárias, a taxonomia, sistemática e filogenia de parasitos nesse ambiente ainda pouco explorado do Médio Paranapanema.

## ATIVIDADES REALIZADAS NO PERÍODO DO RELATÓRIO

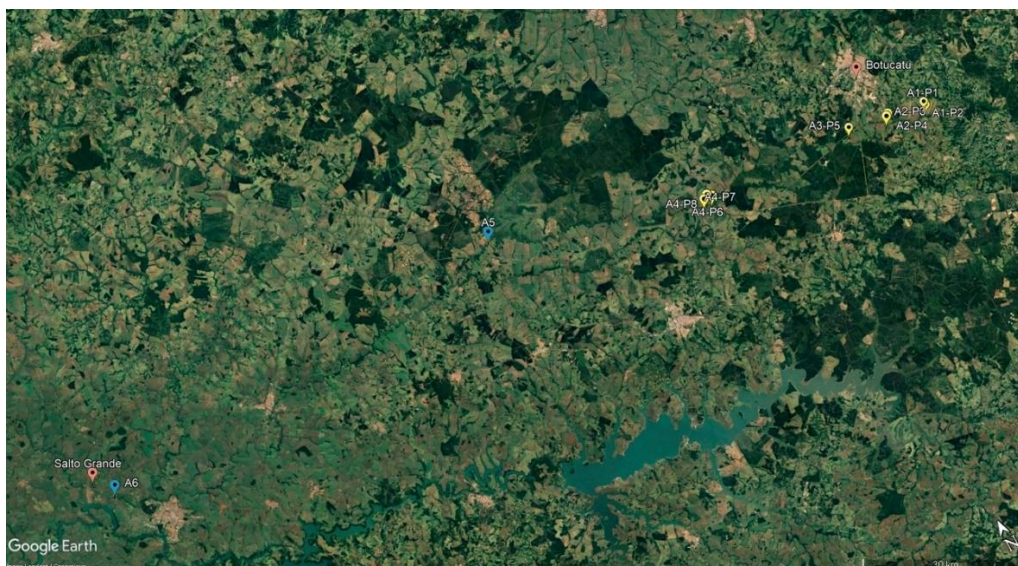
### MATERIAL E MÉTODOS

#### Descrição das áreas de coleta

No período de vigência desse relatório foram realizadas coletas em quatro diferentes áreas ao longo do Rio Pardo (Fig. 1; **Tabela 1**). A primeira área de coleta (**A1**) é localizada dentro da Fazenda Boa Vista e fica próxima a nascente desse rio. Nessa área, as coletas foram feitas em dois pontos distintos (**P1** e **P2**), sendo eles: **P1** - caracterizado por ser raso e lântico, e **P2** - que é mais profundo e lótico (Fig. 2). Na segunda área de coleta (**A2**), que é localizada na Fazenda Paineiras, também foram feitas coletas em dois pontos distintos (**P3** e **P4**), em **P3** as coletas foram feitas ao longo do leito do Rio Pardo, enquanto que no **P4** as coletas ocorreram em um pequeno riacho afluyente (Fig. 3). Nesse riacho, foram observadas diversas pequenas cachoeiras e formações de pequenos bolsões de água (Fig. 3B). A terceira área (**A3**) encontra-

se dentro da Estância Nova Era e é representada pelo próprio leito do Rio Pardo (Fig. 4). Apesar de ser um ambiente lótico assim como visto **A2**, essa área se distingue das demais por apresentar um fundo bastante pedregoso (Fig. 4). Ademais, **A3** está localizada após uma grande barreira formada por uma grande cachoeira e um local de captação de água para o município, dividindo e mudando as características do ambiente em relação as demais áreas. Por fim, na quarta área de coleta (A4) os peixes foram coletados em três pontos distintos (de **P6** até **P8**), sendo eles: **P6** que se trata de um riacho afluente com ligação direta ao leito do rio e que se caracteriza por apresentar uma cachoeira; **P7** que é representado por pequena lagoa (ambiente lântico) que também consta com ligação direto com o leito; e **P8** que é representado pelo próprio leito do Rio Pardo (Fig. 5). Essa área, da mesma maneira como descrito para **A3**, ocorre após uma grande barragem que divide o rio e dificulta/impede a circulação dos peixes que ali ocorrem.

Na área 1 foram realizadas 3 coletas nos meses de junho e julho de 2020 e julho de 2021. Na área 2 foram realizadas 3 coletas nos meses outubro e dezembro de 2020. Na área 3 foi realizada uma coleta no mês de abril de 2021. Na área 4, até o momento, foi realizada uma coleta no mês de novembro de 2021. Para o restante da vigência do projeto são esperadas coletas em outras duas áreas localizadas mais próximas a foz do Rio Pardo (ver **A5** e **A6** na Fig. 1), visando finalizar a obtenção de hospedeiros em todo o leito do rio. Caso seja necessária uma amostragem de alguma espécie obtida em áreas anteriormente amostradas, novas coletas novas coletas em áreas já amostradas podem ser realizadas, com foco nas espécies-alvo.



**Figura 1.** Áreas e pontos de coleta dos peixes ao longo do Rio Pardo. Marcações em vermelho indicam as cidades próximas da nascente (Botucatu) e foz (Salto Grande) do rio Pardo. Marcações em amarelo indicam as áreas e pontos onde já foram realizadas as coletas do projeto. Marcações em azul indicam as áreas designadas para coletas futuras. **Fonte:** Google Earth.



**Figura 2.** Primeira área de coleta (A1) – Fazenda Boa Vista. **(A)** Primeiro ponto de coleta (P1): ambiente lântico e com raso. **(B)** Segundo ponto de coleta (P2): ambiente lótico e de maior profundidade. **Foto:** Reinaldo José da Silva.



**Figura 3.** Segunda área de coleta (A2) – Fazenda Paineiras. **(A)** Terceiro ponto de coleta (P3): leito do Rio Pardo. **(B)** Quarto ponto de coleta (P4): riacho afluente, com pequenas cachoeiras e bolsões de água. **Fotos:** Reinaldo José da Silva.



**Figura 4.** Terceira área de coleta (A3) – Estância Nova Era: leito do Rio Pardo caracterizado pelo fundo pedregoso. **Foto:** Reinaldo José da Silva.



**Figura 5.** Quarta área de coleta (A4). (A e B) Sexto ponto de coleta (P6): riacho afluente com ligação direta ao leito e cachoeiras. (C) Oitavo ponto de coleta (P8): leito do Rio Pardo. **Fotos:** Reinaldo José da Silva.

**Tabela 1.** Áreas e pontos de coleta de peixes coletadas ao longo do Rio Pardo, São Paulo, Brasil. **A1–A4** = área de coleta 1 até 4. **P1–P8** = pontos de coleta.

Área de coleta	Localidades
A1	P1 - 23° 0'19.00"S; 48°22'34.25"O
	P2 - 22°59'59.76"S; 48°22'37.38"O
A2	P3 - 22°59'22.07"S; 48°26'26.20"O
	P4 - 22°59'34.00"S; 48°26'52.13"O
A3	P5 - 22°58'40.03"S; 48°30'51.53"O
A4	P6 - 22°58'8.58"S; 48°46'59.38"O
	P7 - 22°57'48.35"S; 48°47'26.07"O
	P8 - 22°57'48.35"S 48°47'26.07"O

As espécies de peixes coletadas até o presente momento estão listadas na Tabela 2. Ao todo, foram coletados 287 hospedeiros que estão sendo avaliados para a presença dos parasitas alvo neste projeto: ergasilídeos, mixozoários e monogenéticos.

**Tabela 2.** Espécies de peixes coletadas ao longo do Rio Pardo, São Paulo, Brasil. **AC** = áreas de coleta. **A1–A4** = área de coleta 1 até 4. **N** = número de peixes amostrados.

	<b>Hospedeiros</b>	<b>AC</b>	<b>N</b>
<b>Characiformes</b>			
	<i>Schizodon nasutus</i> Kner, 1858	A2 / A4	9
<b>Bryconidae</b>			
	<i>Astyanax lacustris</i> (Lütken, 1875)	A1 / A2 / A3	30
	<i>Bryconamericus stramineus</i> Eigenmann, 1908	A2 / A3	20
	<i>Piabina argentea</i> Reinhardt, 1867	A2 / A3	20
	<i>Psalidodon bockmanni</i> (Vari & Castro, 2007)	A1 / A2 / A3 / A4	40
<b>Curimatidae</b>			
	<i>Cyphocharax modestus</i> (Fernández-Yépez, 1948)	A1 / A2 / A3	30
<b>Parodontidae</b>			
	<i>Apareiodon piracicabae</i>	A3 / A4	7
<b>Cichliformes</b>			
<b>Cichlidae</b>			
	<i>Geophagus brasiliensis</i> (Quoy & Gaimard, 1824)	A1 / A2 / A3 / A4	40
	<i>Oreochromis niloticus</i> (Linnaeus, 1758)	A1 / A4	20
<b>Siluriformes</b>			
<b>Heptapteridae</b>			
	<i>Imparfinis mirini</i> Haseman, 1911	A2	10
	<i>Rhamdia quelen</i> (Quoy & Gaimard, 1824)	A2 / A3 / A4	11
<b>Loricariidae</b>			
	<i>Hypostomus ancistroides</i> (Ihering, 1911)	A2 / A3	20
	<i>Hypostomus nigromaculatus</i> (Schubart, 1964)	A3	10
	<i>Hypostomus strigaticeps</i> (Regan, 1908)	A3	10
<b>Pimelodidae</b>			
	<i>Pimelodus maculatus</i>	A4	10
<b>Total</b>			<b>287</b>

## RESULTADOS OBTIDOS NO PERÍODO

### ERGASILÍDEOS PARASITAS

#### Inventário de espécies

*Astyanax lacustris* (Lütken, 1875), *Cyphocharax modestus* (Fernández-Yépez, 1948), *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) e *Psalidodon bockmanni* (Vari & Castro, 2007) foram as únicas espécies que apresentaram associação com ao menos uma espécie de ergasilídeo (**Tabela 3**). Em contrapartida, nenhum ergasilídeo foi encontrado nas brânquias, superfície e/ou narinas das demais espécies analisadas.

*Rhinergasilus piranhus* Boeger & Thatcher, 1988 foi o único ergasilídeo encontrado nas quatro espécies de peixes supracitadas. Esse copépode ocorre frequentemente associado a

narinas de peixes da Ordem Characiformes, havendo registro de ocorrência desse parasito em membros das famílias Acestrorhynchidae, Prochilodontidae e Serrasalminidae (maioria dos registros) (Narciso et al. 2019). Essa espécie também foi encontrada por Narciso (2020) nas narinas de *Psalidodon fasciatus* (Cuvier 1819) (Characidae) ao avaliar a fauna de ergasilídeos parasitas de peixes de dois tributários do Alto Rio Paranapanema, SP, Brasil, expandindo assim o número de famílias dentro de Characiformes parasitados por *R. piranhus*. O presente estudo corrobora com o achado de Narciso (2020) ao registrar esse mesmo parasito em duas outras espécies de caracídeos (*A. lacustris* e *P. bockmanni*), bem como amplia o número de ordens e famílias ao registrar, pela primeira vez, espécimes de *R. piranhus* parasitando as narinas de *O. niloticus* (Cichliformes: Cichlidae) e *C. modestus* (Characiformes: Curimatidae) (**Tabela 3**).

Em contrapartida, espécimes de *Tiddergasilus* sp. foram somente encontrados associados as brânquias de *A. lacustris*. Essa espécie teve uma prevalência baixa (2%), sendo registrada em um único hospedeiro (**Tabela 3**). O gênero *Tiddergasilus* Marques & Boeger, 2018 é monotípico e a espécie-tipo, *Tiddergasilus iheringi* (Tidd, 1942) foi registrada nas brânquias de *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1974) (Erythrinidae) (Marques & Boeger, 2018). O presente estudo relata, pela primeira vez, espécimes de *Tiddergasilus* em Characidae, bem como representa o primeiro registro de espécimes desse gênero na região Sudeste.



**Tabela 3.** Descritores parasitológicos dos ergasilídeos encontrados em peixes do Rio Pardo, São Paulo, Brasil. Cálculos realizados seguindo as recomendações de Bush et al. (1997). **A1–A4** = área de coleta 1 até 4. **AM** = abundância média de infestação. **AP** = amplitude de parasitos. **EP** = erro padrão. **IMI** = intensidade média de infestação. **N** = número de peixes analisados. **P%** = prevalência em porcentagem. **SI** = sítio de infestação.

Hospedeiro	N	Ergasilídeo	SI	P%	IMI ± EP (AP)	AM ± EP (AP)	Área
<i>Astyanax lacustris</i> (Lütken, 1875)	30	<i>Tiddergasilus</i> sp.	Brânquias	2	3 (1 – 3)	0,06 ± 0,06 (0 – 3)	A2
		<i>Rhinergasilus piranhus</i> Boeger & Thatcher, 1988	Narina	16,7	8,1 ± 2,9 (1 – 22)	1,3 ± 0,6 (0 – 22)	A1
			Superfície	8,1	1,25 ± 0,25 (1 – 2)	0,1 ± 0,05 (0 – 2)	A1
<i>Cyphocharax modestus</i> (Fernández-Yépez, 1948)	30	<i>Rhinergasilus piranhus</i>	Narina	2	2 (1 – 2)	0,04 ± 0,04 (0 – 2)	A1
<i>Oreochromis niloticus</i> (Linnaeus, 1758)	20	<i>Rhinergasilus piranhus</i>	Narina	7,4	2 (1 – 2)	0,14 ± 0,1 (0 – 2)	A1
<i>Psalidodon bockmanni</i> (Vari & Castro, 2007)	40	<i>Rhinergasilus piranhus</i>	Narina	13,6	5,8 ± 1,8 (1 – 25)	0,8 ± 0,3 (0 – 25)	A1 / A2
			Superfície	4,8	3,6 ± 1,7 (1 – 9)	0,2 ± 0,1 (0 – 9)	A1 / A2

## Descrição morfológica dos ergasilídeos

Gênero *Tiddergasilus* Marques & Boeger, 2018

Corpo ciclopiforme, compreendendo prossoma, urossoma e ramo caudal. Prossoma consistindo de cefalossoma e primeiro somito pedígero; primeiro somito separado do cefalossoma dorsalmente por uma articulação não funcional, mas fusionado ventralmente; e três somitos pedígeros livres (segundo ao quarto somito). Urossoma composto pelo quinto somito pedígero, somito genital-duplo, e três somitos abdominais livres. Ramo caudal armado com quatro setas nuas. Antênula com seis segmentos. Antena com três segmentos, compreendendo coxobase, e dois segmentos endopodais, e uma garra terminal. Garra pequena, fortemente curvada e com recuo subproximal na margem interna. Aparato bucal consistindo de labrum, mandíbulas e maxilas. Mandíbula armada com duas lâminas (anterior e posterior). Maxila bissegmentada, compreendendo sincoxa (primeiro segmento) e base (segundo segmento); sincoxa robusta, sem ornamentos; base com múltiplas cerdas na margem anterior. Quatro pares de pernas natatórias birremes (primeiro ao quarto par de pernas); primeira perna com endopodito bissegmentado e exopodito trissegmentado; segunda e terceira pernas, ambas com endopodito bissegmentado e exopodito trissegmentado; quarta perna com endopodito e exopodito bissegmentados. Quinta perna reduzida, representada por setas nuas. Saco de ovos multisseriado. Diagnose baseada na espécie-tipo, *Tiddergasilus iheringi* (Tidd, 1942), que atualmente é a única espécie descrita para esse gênero.

*Tiddergasilus* sp.

(Figuras 6–8)

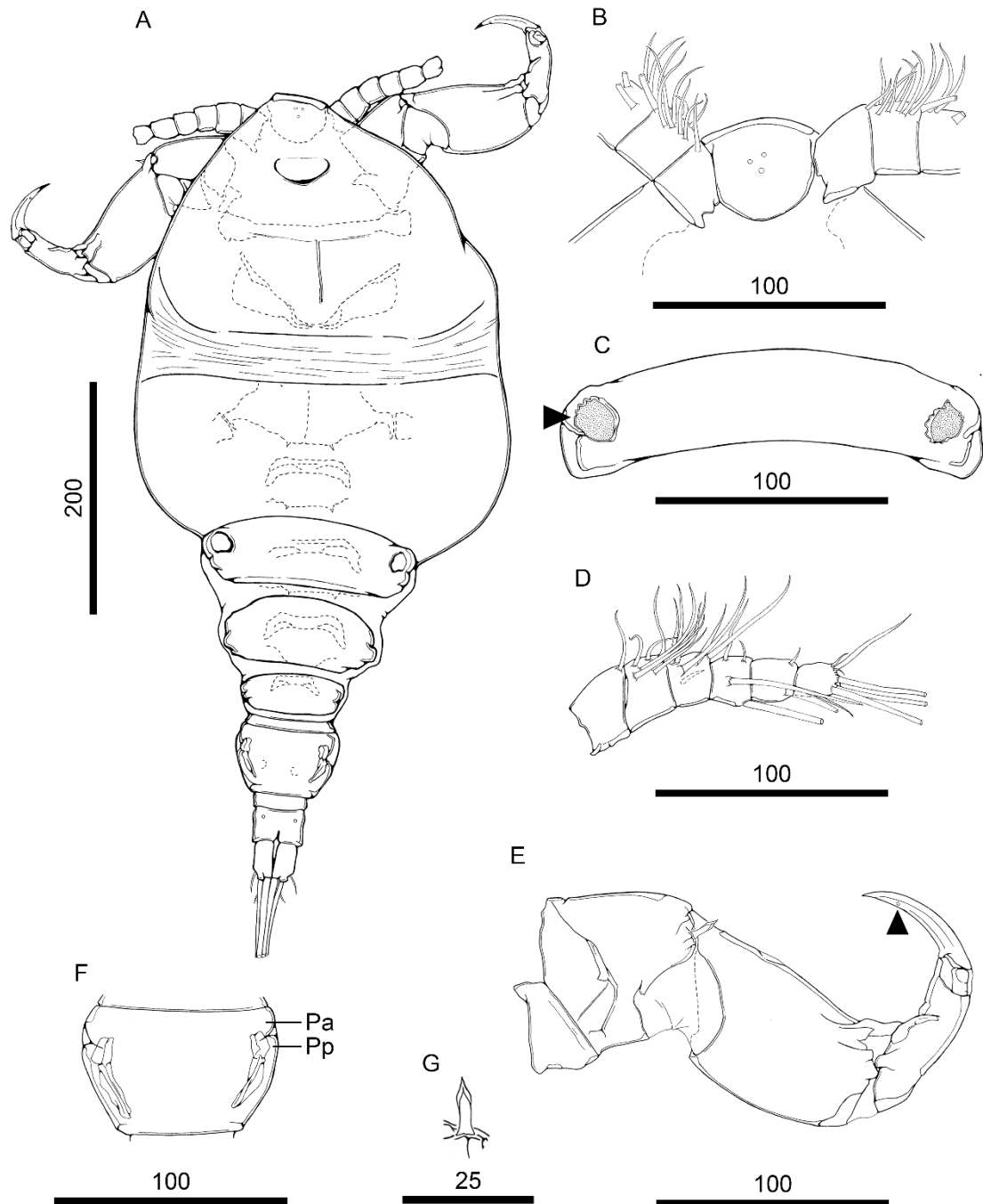
**Descrição (baseada em três espécimes fêmeas; machos não observados):** Corpo dividido em prossoma, urossoma e ramo caudal (Fig. 6A). Prossoma compreendendo cefalossoma e primeiro somito pedígero; primeiro somito separado do cefalossoma dorsalmente por uma articulação não funcional, mas fusionado ventralmente; e três somitos pedígeros livres. Cefalotórax com rostrum bem definido, diminuindo em largura da região posterior até anterior, largura máxima no nível do primeiro esclerito intercoxal (Fig. 6A). Rostrum (Fig. 6B) curto, arredondado na margem posterior, com três poros na face ventral; poros localizados próximos ao centro do rostrum e dispostos de modo a formar um triângulo. Somitos pedígeros livres (segundo ao quarto) diminuindo em largura no eixo proximal-distal, de forma decrescente do mais anterior (segundo somito) para o mais posterior (quarto somito); segundo somito (Fig. 6C) com uma janela tegumentar em cada extremidade lateral do tergito; terceiro e quarto somitos

sem janelas tegumentares. Urossoma (Fig. 7E) composto pelo quinto somito pedígero, somito genital-duplo, e dois somitos abdominais livres. Quinto somito pedígero menor e mais delgado do que os somitos do prossoma, não ornamentado com poros, cerdas ou espinhos. Somito genital-duplo trapezoidal, com extremidades laterais arredondadas, superfície ventral não ornamentada, superfície dorsal com um par de protuberâncias (anterior e posterior) em cada extremidade lateral desse segmento (Fig. 6F). Somitos abdominais ornamentados ventralmente com uma fileira transversal de espínulos; segundo somito (= somito anal) cerca de 2.5x maior do que o primeiro somito, com um par de poros ventrais, e com uma incisão medial na margem posterior (= ânus). Ramo caudal (Fig. 7E) ornamentado ventralmente com duas fileiras de espínulos; cada fileira localizada imediatamente anterior ao ponto de inserção das setas ventrais (seta I e III); e armado com quatro setas nuas (não pilosas); seta I e III curtas, ventrais; seta II e IV longas, inseridas posteriormente; seta IV cerca de 2.5x maior do que a seta II. Antênula (Fig. 1D) com cinco segmentos; cada segmento armado com no mínimo uma seta; setas similares em formato (agudas e nuas), porém variando em comprimento e largura; fórmula setal: 1, 8, 6, 4, 2, 7 (total = 28 cerdas). Antena (Fig. 6F) com quatro segmentos, consistindo de coxobase e três segmentos endopodais; coxobase (= primeiro segmento) com um espinho distal; espinho (Fig. 6G) com ponta afilada e recoberta capa hialina; primeiro segmento endopodal (= segundo segmento) robusto, sem ornamentos; segundo segmento endopodal (= terceiro segmento) reto, sem ornamentos, com um corte na margem interna; terceiro segmento endopodal (= quarto segmento) reduzido, retangular, sem ornamentos; e garra terminal; garra curvada, sem recuo subproximal, com fossa na margem côncava. Aparelho bucal consistindo de labrum, mandíbula, maxílula, e maxíla (Figs. 7A-D); labrum largo e projetado posteriormente; mandíbula armada com três lâminas (anterior, média e posterior); lâmina anterior pequena, com cerdas na margem anterior; lâmina média e posterior, ambas com cerdas ao longo da margem posterior; maxila com dois segmentos (sincoxa e base); sincoxa largo, sem ornamentos; base com dois dentes distais e ornamentada com várias cerdas ao longo da margem anterior. Maxílula armada com três espinhos. Quatro pares de pernas natatórias birremes; cada perna consistindo de coxa, base e endopodito (ramo interno), e exopodito (ramo externo). Primeira perna (Fig. 8A); coxa sem ornamentos; base com uma seta lateral; endopodito com dois segmentos, todos os segmentos ornamentados com espínulos ao longo da margem externa; espínulos do primeiro segmento (= segmento proximal) cerca de 2.0x maiores do que os espínulos do segmento subsequente; primeiro segmento (= segmento proximal) armado com uma seta plumosa na margem interna; segundo segmento (= segmento distal) armado com dois espinhos serrilhados e cinco setas plumosas; exopodito com três segmentos; primeiro segmento

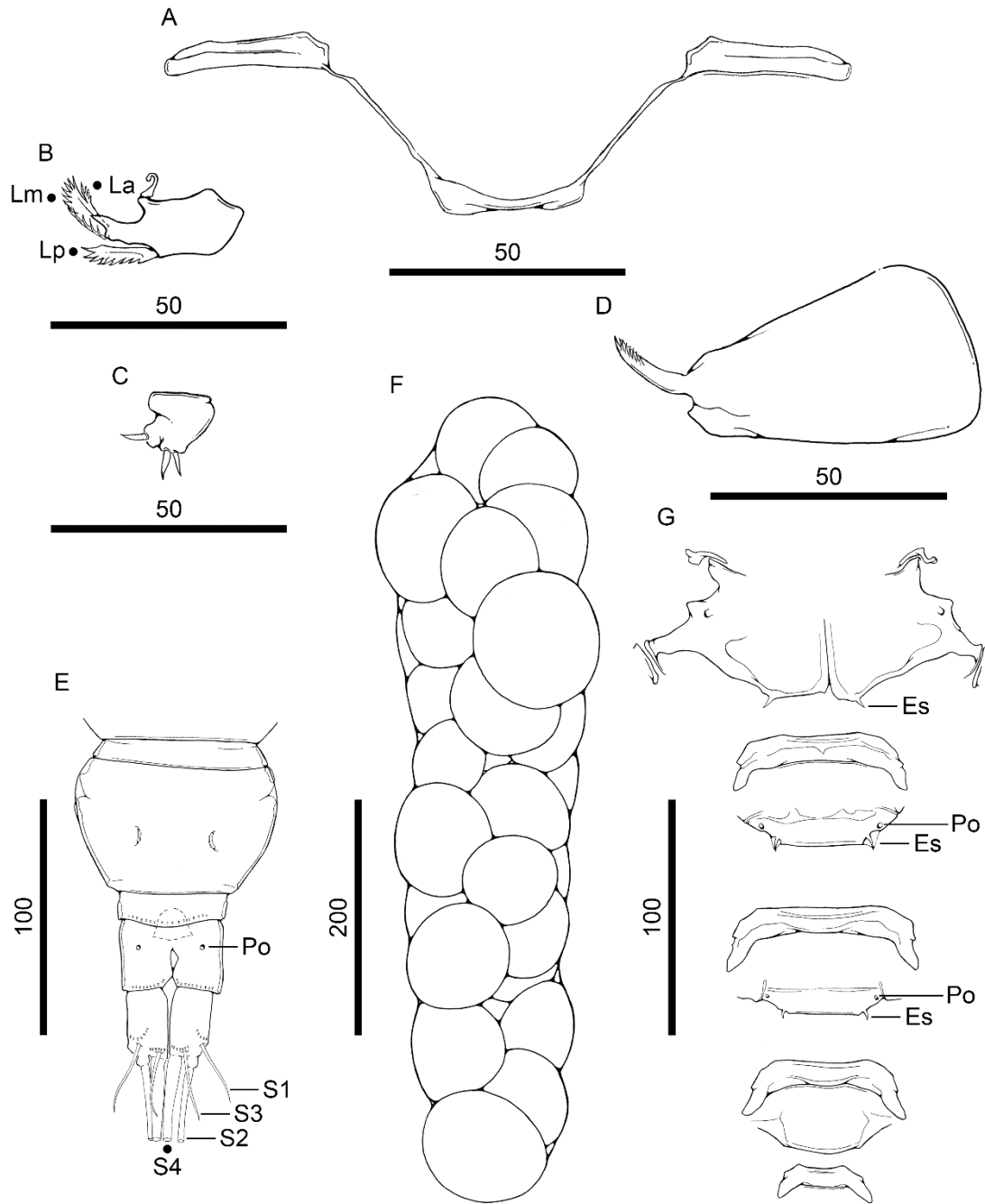
(= segmento proximal) armado com um espinho distal, ornamentado com um único espínulo na margem externa; margem interna não ornamentada; segundo segmento (= segmento médio) com espínulos ao longo da margem externa, armado com uma seta plumosa; terceiro segmento (= segmento distal) ornamentado com dois espínulos na margem externa, armado com um espinho simples (não serrilhado), um espinho serrilhado, uma seta semi-plumosa (ou serrilhada na margem externa) (= seta lateral) e quatro setas plumosas. Segunda perna (Fig. 8B); coxa com espínulos (3–4 espínulos) laterais; base com uma seta lateral; endopodito com três segmentos, todos os segmentos ornamentados com espínulos ao longo da margem externa; primeiro e segundo segmento ambos ornamentados com cerdas ao longo da margem externa e armados com uma seta plumosa; terceiro segmento (= segmento distal) armado com um espinho serrilhado e quatro setas plumosas; exopodito com três segmentos, todos os segmentos ornamentados com espínulos ao longo da margem externa; primeiro segmento (= segmento proximal) ornamentado com cerdas ao longo da margem interna, armado com um espinho distal; segundo segmento (= segmento médio) armado com uma seta plumosa; terceiro segmento (= segmento distal) armado com um espinho simples (ou não serrilhado), uma seta semi-plumosa (ou serrilhada na margem externa) e cinco setas plumosas. Terceira perna (Fig. 8C) com os mesmos elementos descritos para a segunda perna, exceto pelo primeiro e terceiro segmento do endopodito: primeiro segmento (= segmento proximal) não ornamentado com espínulos na margem externa; e terceiro segmento (= segmento distal) armado com espinho simples (ou não serrilhado). Quarta perna; coxa sem ornamentos; base com uma seta lateral; endopodito com dois segmentos; primeiro segmento (= segmento proximal) com cerdas ao longo da margem externa, armado com uma seta plumosa; segundo segmento (= segmento distal) ornamentado com espínulos na margem externa, armado com quatro setas plumosas; exopodito com um segmento; segmento ornamentado com espínulos na margem externa, armado com um espinho simples (ou não serrilhado), uma seta semi-plumosa (ou serrilhada na margem externa) e três setas plumosas. Quinta perna não observada. Distribuição de espinhos e setas para cada segmento das pernas encontra-se resumido na **Tabela 4**. Escleritos intercoxais delgados, sem ornamentações. Placas interpodais (Fig. 7G); primeira placa com um par de projeções espiniformes na margem posterior; segunda e terceira placas, ambas contendo um par de poros laterais e um par de projeções espiniformes na margem posterior; quarta placa sem ornamentos; quinta placa, ausente. Saco de ovos multisseriados.

**Tabela 4.** Distribuição dos espinhos e setas das pernas natatórias de *Tiddergasilus* sp. – fêmea adulta, parasito de narinhas de *Astyanax lacustris* (Lütken, 1875). Números romanos = espinhos. Números arábicos = setas.

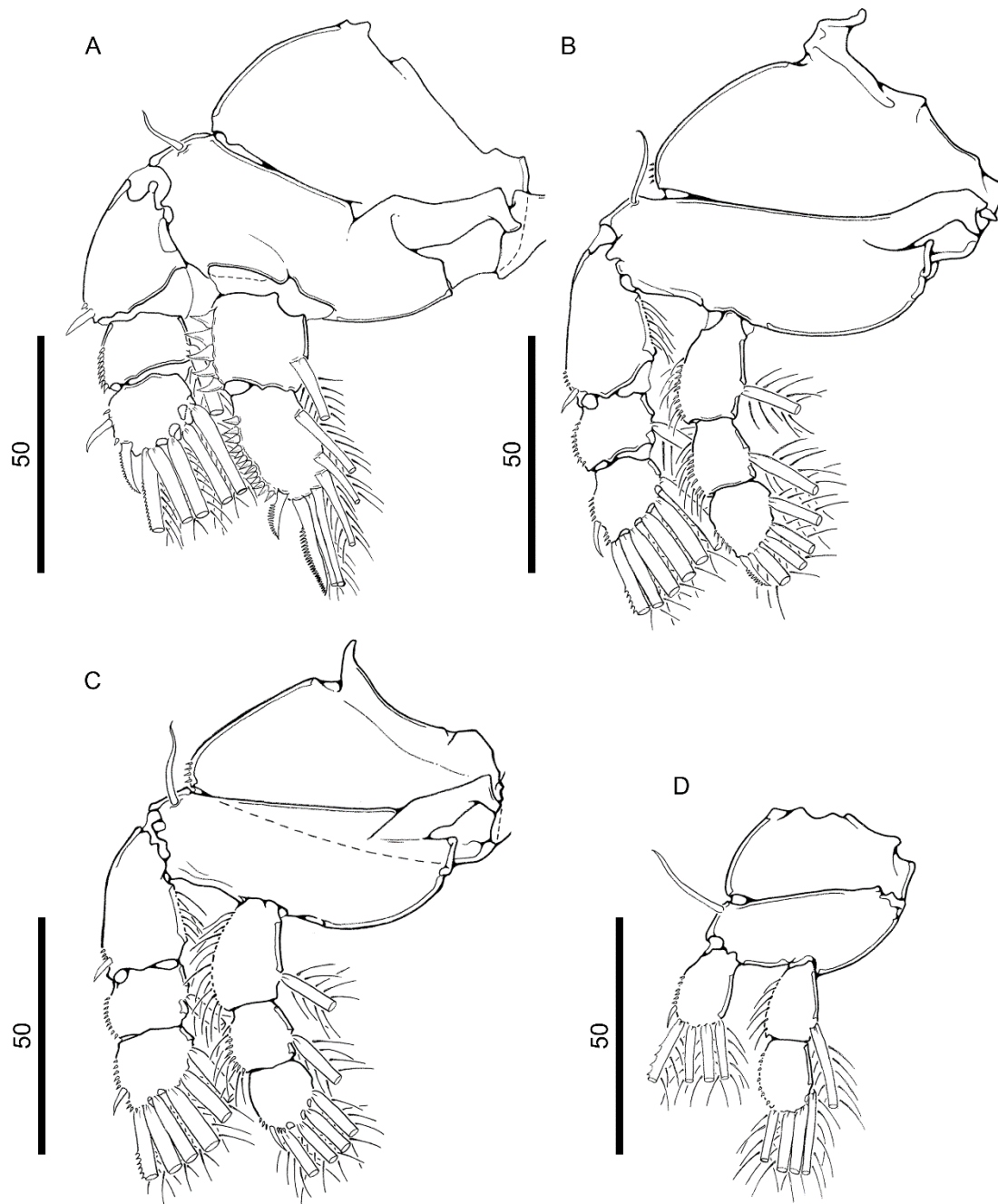
<b>Perna natatória</b>	<b>Coxa</b>	<b>Base</b>	<b>Endopodito</b>	<b>Exopodito</b>
Primeira perna	0 – 0	1 – 0	0 – 1; II – 4	I – 0; 0 – 1; II – 5
Segunda perna	0 – 0	1 – 0	0 – 1; 0 – 1; I – 4	I – 0; 0 – 1; I – 6
Terceira perna	0 – 0	1 – 0	0 – 1; 0 – 1; I – 4	I – 0; 0 – 1; I – 6
Quarta perna	0 – 0	1 – 0	0 – 1; 0 – 4	I – 5



**Figura 6.** *Tiddergasilus* sp. – fêmea adulta, parasita de brânquias de *Astyanax lacustris* (Lütken, 1875): **(A)** Corpo, vista dorsal; **(B)** Rostrum, vista dorsal; **(C)** Segundo somito pedígero, vista dorsal, com janelas tegumentares em cada extremidade lateral (seta); **(D)** Antênula, vista ventral; **(E)** Antena, vista ventral, garra com fossa na margem côncava (seta); **(F)** Segmento genital-duplo, vista dorsal; e **(G)** Detalhe do espinho distal do primeiro segmento da antena (= coxobasis). **Pa** = protuberância anterior. **Pp** = protuberância posterior. Escalas em micrômetros.  
**Fonte:** Elaborado pelo autor.



**Figura 7.** *Tiddergasilus* sp. – fêmea adulta, parasita de brânquias de *Astyanax lacustris* (Lütken, 1875): **(A)** Labrum, vista ventral; **(B)** Mandíbula, vista ventral; **(C)** Maxílula, vista ventral; **(D)** Maxíla, vista ventral; **(E)** Urossoma e ramo caudal, vista ventral; **(F)** Saco de ovos; e **(G)** Escleritos intercoxais e placas interpodais, vista ventral. **Es** = projeção espiniforme. **Po** = poro. **S1** = seta I. **S2** = seta II. **S3** = seta III. **S4** = seta IV. Escalas em micrômetros. **Fonte:** Elaborado pelo autor.



**Figura 8.** *Tiddergasilus* sp. – fêmea adulta, parasita de brânquias de *Astyanax lacustris* (Lütken, 1875): **(A)** Primeira perna, vista ventral; **(B)** Segunda perna, vista ventral; **(C)** Terceira perna, vista ventral; e **(D)** Quarta perna, vista ventral. Escalas em micrômetros. **Fonte:** Elaborado pelo autor.

**Comentários:** A espécie *Ergasilus iheringi* Tidd, 1942 foi o primeiro representante de *Ergasilus* von Nordmann, 1832 descrito para a região Neotropical, as fêmeas dessa espécie foram encontradas nas brânquias do peixe de água doce *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794)



(também popularmente conhecido como traíra) capturados em Campina Grande, Paraíba, Brasil. Desde desse primeiro registro, mais de 30 novas espécies de *Ergasilus* já foram reportados para essa mesma região, sendo a maioria encontrada em peixes brasileiros (Marques & Boeger, 2018). Apesar de *Ergasilus* ser o gênero-tipo da família e ser mais numeroso dentre os ergasilídeos, tanto no Brasil quanto no mundo, análises filogenéticas preliminares indicam que *Ergasilus* não é monofilético (El-Rashidy, 1999; Boxshall & Halsey) e muitas espécies desse gênero têm sido reavaliadas, redescritas e, em alguns casos, até mesmo transferidas para outros gêneros (Montú & Boxshall, 2002). E isso ocorreu com *E. iheringi*, essa espécie foi reavaliada por Marques & Boeger (2018) e então transferida para um novo gênero, *Tiddergasilus* Marques & Boeger, 2018. Dentre as principais diferenças morfológicas levantadas por esses autores, *E. iheringi* se distingue de seus congêneres pela morfologia da antena: em *E. iheringi*, a antena é pequena e armada com uma garra terminal fortemente curvada e com um recuo subproximal na margem interna, ao invés de antena com segmentos longos (principalmente os dois primeiros segmentos endopodais) e garra curvada sem recuo subproximal como nos demais *Ergasilus*. Atualmente, *Tiddergasilus* é um gênero monotípico válido dentro de Ergasilidae, sendo *Tiddergasilus iheringi* (Tidd, 1942) a espécie-tipo.

No que diz aos espécimes encontrados no presente estudo, eles foram identificados como pertencentes a *Tiddergasilus*, pois apresentaram a seguinte combinação de características morfológicas: (1) antena com seis segmentos; (2) todos os quatro pares de pernas natatórias com endopodito bissegmentado; (3) base da maxíla ornamentada com múltiplas cerdas; e (4) segundo segmento endopodal da antena curto (menor do que o primeiro segmento endopodal), reto e sem ornamentos. Apesar dessas similaridades, os espécimes também apresentaram diferenças morfológicas para com *T. iheringi*, tais como: garra curvada, sem recuo subproximal (*vs* recurvada e com recuo subproximal); mandíbula com três lâminas (*vs* duas lâminas); base da maxíla com dois dentes terminais e cerdas ao longo da margem posterior (*vs* sem dentes e com multiplas cerdas na porção terminal da base); abdomen bissegmentado (*vs* trissegmentado); endopodito da primeira perna com espínulos grandes em ambos os segmentos (*vs* espínulos diminutos); e exopodito da quarta perna com um único segmento (*vs* exopodito bissegmentado). Devido essas diferenças morfológicas, conclui-se que *Tiddergasilus* sp. seja uma nova espécie para este gênero.

Além da possibilidade de ser uma nova espécie, esses espécimes também representam o primeiro registro de *Tiddergasilus* em caracídeos, bem como o primeiro registro desse gênero no estado de São Paulo. Em conjunto com *Rhinergasilus piranhus* Boeger & Thatcher, 1988

(descrito a seguir), esse também representa o primeiro registro de ergasilídeos em peixes do Rio Pardo.

Gênero *Rhinergasilus* Boeger & Thatcher, 1988

Corpo ciclopiforme, compreendendo prossoma, urossoma e ramo caudal. Prossoma consistindo de cefalossoma e primeiro somito pedígero; primeiro somito fusionado ao cefalossoma; e três somitos pedígeros livres (segundo ao quarto somito). Urossoma composto pelo quinto somito pedígero, somito genital-duplo e três somitos abdominais livres. Ramo caudal armado com quatro setas nuas. Antênula com seis segmentos; primeiro e segundo segmentos parcialmente fusionados ou livres entre si. Antena com quatro segmentos, compreendendo coxobase (primeiro segmento) e três segmentos endopodais (segundo ao quarto segmento) e uma garra terminal, curvada. Aparato bucal consistindo de mandíbulas, maxílulas e maxílas. Mandíbula armada com duas lâminas (anterior e posterior). Maxílula vestigial ou ausente, sem ornamentos. Maxila bissegmentada, compreendendo sincoxa (primeiro segmento) e base (segundo segmento); sincoxa sem ornamentos ou com um poro localizado próximo ao ponto de inserção da base; base com múltiplas cerdas distais. Três pares de pernas natatórias birremes (primeiro ao terceiro par de pernas); primeira perna com endopodito bissegmentado e exopodito trissegmentado; segunda e terceira pernas, ambas com endopodito e exopodito trissegmentados. Quarta perna ausente ou representada por setas nuas. Quinta perna representada por um ou dois pares de setas laterais. Saco de ovos uni- ou multisseriado. Diagnose baseada na síntese das características morfológicas das três espécies atualmente descritas para esse gênero: *Rhinergasilus digitus* Narciso, Brandão, Perbiche-Neves & Silva, 2020; *Rhinergasilus piranhus* Boeger & Thatcher, 1988; e *Rhinergasilus unguilongus* Narciso, Perbiche-Neves & Silva, 2021 (Boeger & Thatcher, 1988; Narciso et al. 2020; Narciso et al. 2021).

*Rhinergasilus piranhus* Boeger & Thatcher, 1988

(Figuras 9–11)

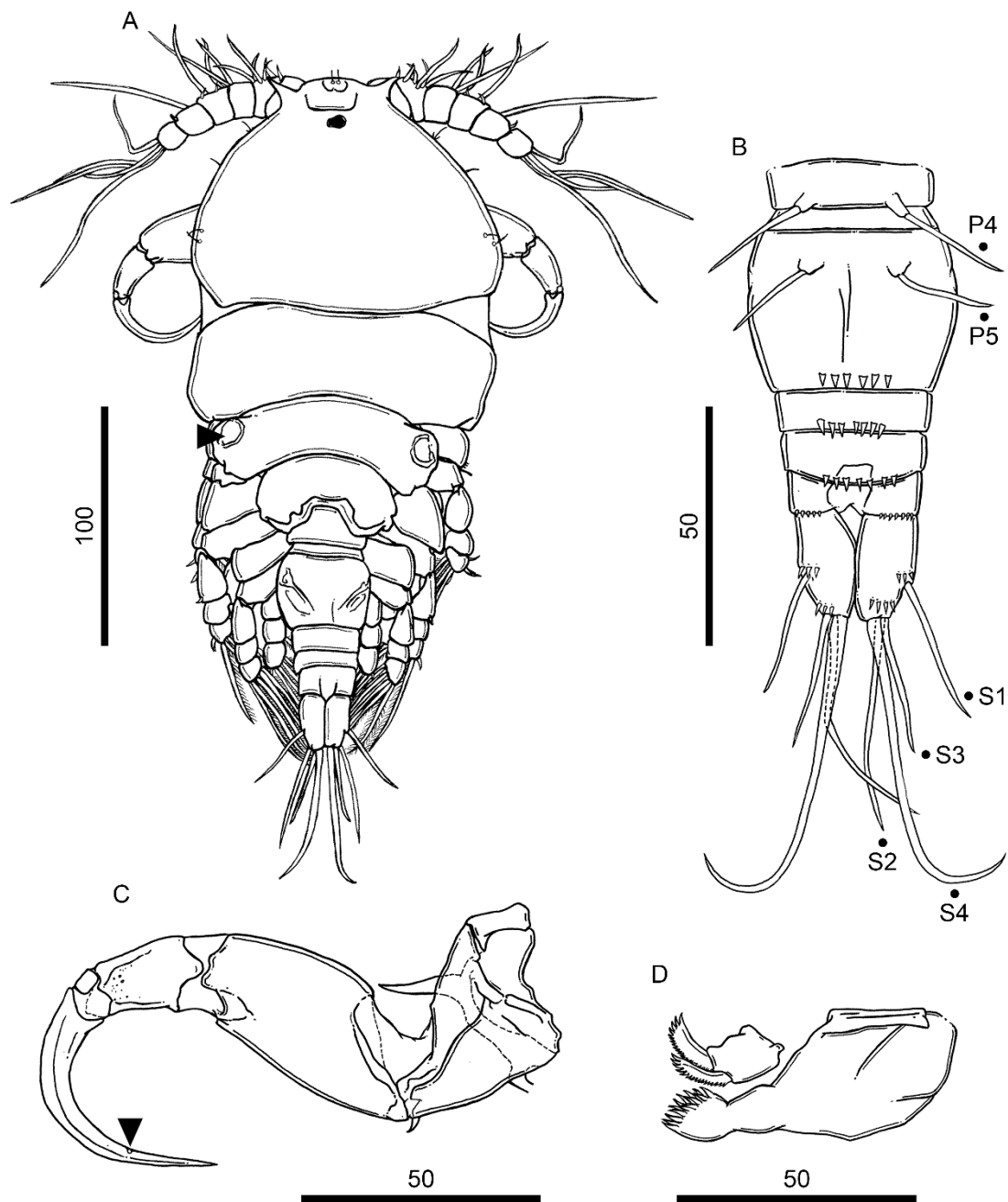
**Descrição (baseado em 10 espécimes fêmeas; machos não observados):** Corpo (Fig. 9A) dividido em prossoma, urossoma e ramo caudal. Prossoma compreendendo cefalossoma e primeiro somito pedígero; primeiro somito separado do cefalossoma dorsalmente por uma articulação não funcional, mas fusionado ventralmente; e três somitos pedígeros livres. Cefalossoma (Fig. 9A) com duas projeções espiniformes anteriores; projeções dorsais, localizadas no mesmo nível do ponto de inserção das antênulas; olho pigmentar dorsal;

superfície dorsal ornamentadas com poucas cerdas ao longo das margens laterais. Rostrum quadrangular, ornamentado com um par de cerdas centrais (Fig. 9A). Somitos pedígeros livres (segundo ao quarto) diminuindo em largura no eixo proximal-distal, de forma decrescente do mais anterior (segundo somito) para o mais posterior (quarto somito); segundo somito com uma janela tegumentar em cada extremidade lateral do tergito; quarto somito reduzido, menor e mais delgado do que os demais somitos do prossoma. Urossoma (Fig. 9B) composto pelo quinto somito pedígero, somito genital-duplo, e três somitos abdominais livres. Quinto somito pedígero reduzido, similar em comprimento e largura ao quarto somito do prossoma. Somito genital-duplo (Fig. 9B) retângular, com extremidades laterais arredondadas, ornamentado ventralmente com uma fileira transversal de espínulos. Somitos abdominais (primeiro ao terceiro) diminuindo em largura no eixo proximal-distal, de forma decrescente do mais anterior (primeiro somito) para o mais posterior (terceiro somito); cada somito ornamentado ventralmente com uma fileira transversal de espínulos; terceiro somito (= somito anal) com uma incisão medial na margem posterior (= ânus). Ramo caudal (Fig. 9B) ornamentado ventralmente com duas fileiras de espínulos; cada fileira localizada imediatamente anterior ao ponto de inserção das setas ventrais (seta I e III); e armado com quatro setas nuas (não pilosas); seta I e III, ventrais; seta II e IV inseridas posteriormente; seta IV longa, sendo cerca de 1.5 vezes mais longa do que a seta II. Antênula (Fig. 10A) com seis segmentos; primeiro e segundo segmento livres; fórmula setal: 1, 5, 3, 4, 2, 4 (total = 19 setas). Antena (Fig. 9C) com quatro segmentos, consistindo de coxobase e três segmentos endopodais; coxobase (= primeiro segmento) com um espinho distal; segundo segmento endopodal (= terceiro segmento) triangular e curto, sendo cerca de 2.0x menor do que o primeiro segmento endopodal, sem ornamentos; terceiro segmento endopodal (= quarto segmento) reduzido, sem ornamentos; e uma garra terminal; garra curvada, com fossa na margem côncava. Suporte da antena (Fig. 10B) com projeções espiniformes laterais. Aparelho bucal (Fig. 9D) consistindo de mandíbula e maxila; mandíbula armada com duas lâminas (anterior e posterior); ambas as lâminas com cerdas na margem posterior; maxila com dois segmentos (sincoxa e base); sincoxa largo, sem ornamentos; base ornamentada com múltiplas cerdas distais. Maxílula não observada. Três pares de pernas natatórias birremes; cada perna consistindo de coxa, base, endopodito (ramo interno) e exopodito (ramo externo). Primeira perna (Fig. 11A); coxa com espínulos (3–4 espínulos) na margem posterior, e com três espínulos laterais; base com espínulos (9 espínulos) na margem posterior, e com uma seta lateral; endopodito com dois segmentos; ambos os segmentos com espínulos na margem externa; primeiro segmento (= segmento proximal) armado com uma seta plumosa; segundo segmento (= segmento distal) com extremidade posterior arredondada,

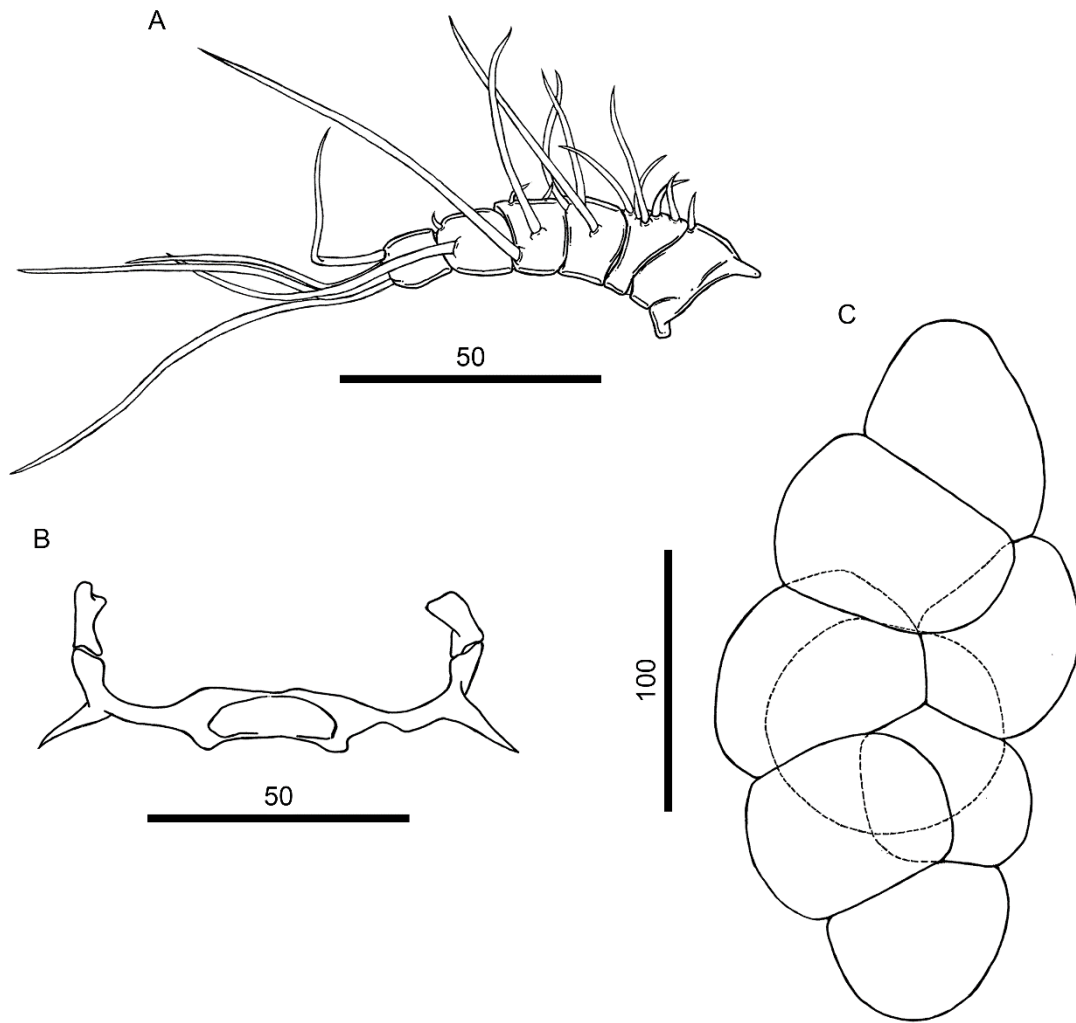
armado com três setas plumosas; exopodito com dois segmentos; primeiro segmento (= segmento proximal) com um espinho distal simples (não serrilhado); segundo segmento (= segmento médio) com uma seta plumosa; terceiro segmento (= segmento distal) armado com dois espinhos simples (não serrilhados) e cinco setas plumosas. Segunda perna (Fig. 11B); coxa com espínulos laterais; base com seta lateral; endopodito com três segmentos; primeiro segmento (= segmento proximal) ornamentado com cerdas na margem externa, armado com uma seta plumosa; segundo segmento (= segmento médio) ornamentado com espínulos ao longo da margem externa, armado com duas setas plumosas; terceiro segmento (= segmento distal) ornamentado com espínulos ao longo da margem externa, armado com um espinho simples (não serrilhado) e quatro setas plumosas; exopodito com três segmentos; primeiro segmento (= segmento proximal) com espinho distal; segundo segmento (= segmento médio) ornamentado com espínulos ao longo da margem externa, armado com uma seta plumosa; terceiro segmento (= segmento distal) ornamentado com espínulos ao longo da margem externa, armado com um espinho simples (não serrilhado) e seis setas plumosas. Terceira perna (Fig. 11C) com as mesmas ornamentações descritas para a segunda perna, exceto pela ausência de espinho no terceiro segmento (= segmento distal) do exopodito. Quarta e quinta perna, ambas reduzidas e representadas por setas nuas (Fig. 9B). Distribuição de espinhos e setas para cada segmento das pernas encontra-se resumido na **Tabela 5**. Escleritos intercoxais delgados, sem ornamentações (Figs. 11A–C). Placas interpodais (Figs. 11A–C); primeira e segunda placas, ambas com fileira transversal de espínulos; terceira placa, sem ornamentos; quarta placa ausente. Saco de ovos multisseriado.

**Tabela 5.** Distribuição dos espinhos e setas das pernas natatórias de *Rhinergasilus piranhus* Boeger & Thatcher, 1988 – fêmea adulta, parasito de narinas de *Astyanax lacustris* (Lütken, 1875); *Cyphocharax modestus* (Fernández-Yépez, 1948); *Psalidodon bockmanni* (Vari & Castro, 2007); e *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). Números romanos = espinhos. Números arábicos = setas.

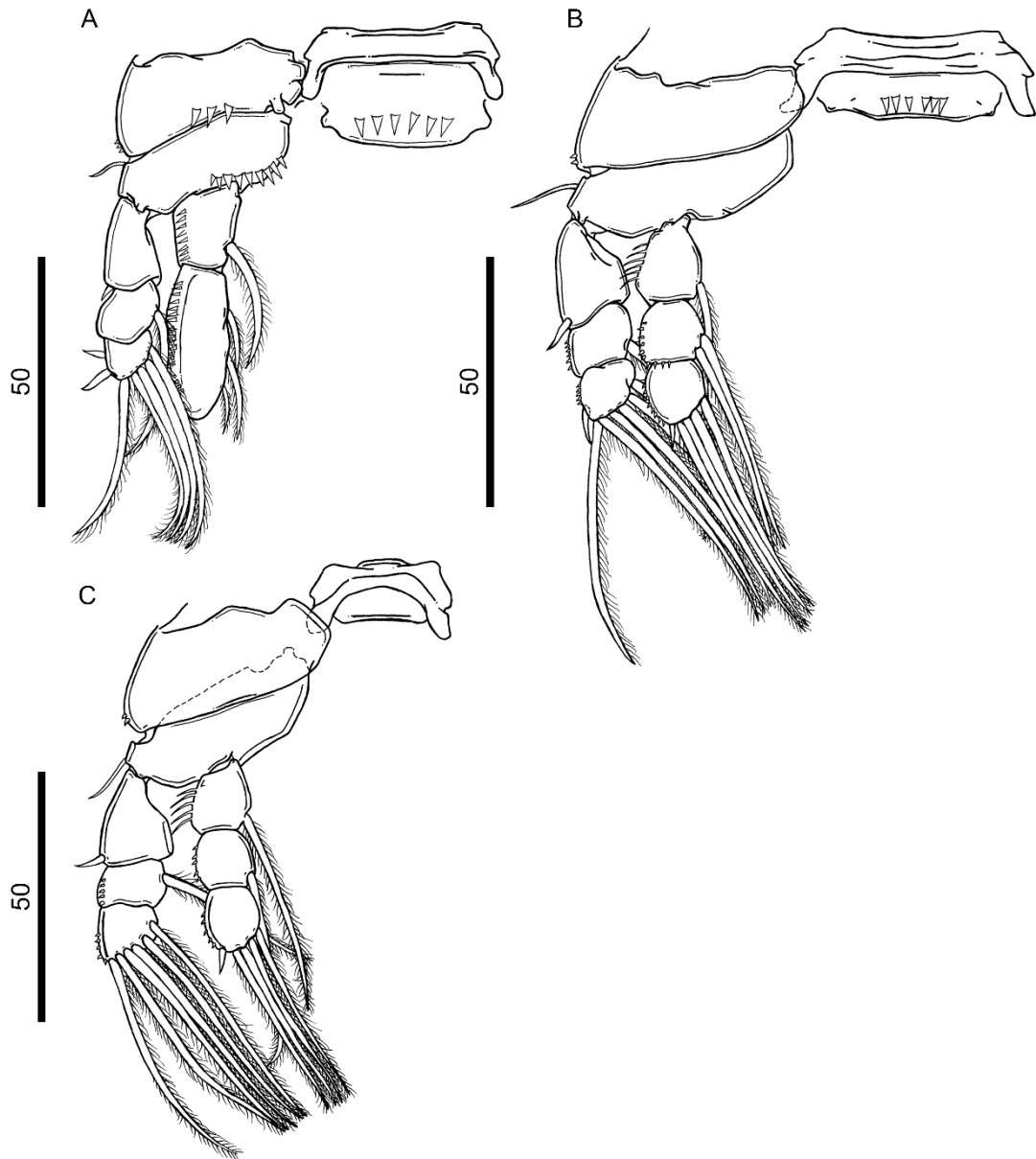
<b>Perna natatória</b>	<b>Coxa</b>	<b>Base</b>	<b>Endopodito</b>	<b>Exopodito</b>
Primeira perna	0 – 0	1 – 0	0 – 1; 0 – 3	I – 0; 0 – 1; II – 5
Segunda perna	0 – 0	1 – 0	0 – 1; 0 – 2; I – 4	I – 0; 0 – 1; I – 6
Terceira perna	0 – 0	1 – 0	0 – 1; 0 – 1; 0 – 4	I – 0; 0 – 1; 0 – 6



**Figura 9.** *Rhinergasilus piranhus* Boeger & Thatcher, 1988 – fêmea adulta, parasito de narinas de *Astyanax lacustris* (Lütken, 1875): (A) Corpo com segundo somito pedígero com janelas tegumentares laterias, vista dorsal; (B) Urossoma, vista ventral; (C) Antena com fossa na margem côncava, vista ventral; (D) Aparato bucal. P4 = quarta perna. P5 = quinta perna. S1 = seta I. S2 = seta II. S3 = seta III. S4 = seta IV. Escalas em micrômetros. **Fonte:** Elaborado pelo autor.



**Figura 10.** *Rhinergasilus piranhus* Boeger & Thatcher, 1988 – fêmea adulta, parasito de narinas de *Astyanax lacustris* (Lütken, 1875): **(A)** Antênula, vista ventral; **(B)** Suporte da antena, vista ventral; **(C)** Saco de ovos. Escalas em micrômetros. **Fonte:** Elaborado pelo autor.



**Figura 11.** *Rhinergasilus piranhus* Boeger & Thatcher, 1988 – fêmea adulta, parasito de narinas de *Astyanax lacustris* (Lütken, 1875): **(A)** Primeira perna; **(B)** Segunda perna; **(C)** Terceira perna. Escalas em micrômetros. **Fonte:** Elaborado pelo autor.

**Comentários:** Os espécimes encontrados nas narinas de *A. lacustris*, *C. modestus*, *P. bockmanni* e *O. niloticus* foram identificados como pertencentes a mesma espécie através da observação de lâminas sobre microscópio óptico. Com auxílio de chaves de identificação (presentes em Boxshall & Halsey, 2004 e Thatcher, 2006) e artigos de descrição (Boeger & Thatcher, 1988), a espécie identificada foi *Rhinergasilus piranhus* Boeger & Thatcher, 1988. Esse ergasilídeo foi originalmente descrito parasitando as narinas de *Pygocentrus nattereri* Kner, 1858 (ou piranha vermelha) na Ilha de Marchantaria, Manaus, Amazonas, Brasil. Desde sua descrição, esse mesmo copépode foi encontrado nas narinas de outras espécies de piranhas (Serrasalmidae) na região Amazônica, mas também já foi encontrado em peixes da família Prochilodontidae e Acestrorhynchidae (**Tabela 6**).

Os espécimes do presente estudo foram identificados como *R. piranhus* por possuírem todas as características diagnósticas descritas para essa espécie, tais como: (1) três pares de pernas natatórias birremes; (2) quarto e quinto par de pernas, ambos reduzidos e representados por setas nuas; (3) primera e segunda placa interpodal, ambas ornamentadas com fileira transversal de espínulos; (4) coxa e base da primeira perna, ambas ornamentadas com espínulos; (5) terceiro segmento do endopodito da terceira perna armado com um espinho distal. Além dessas características mais marcantes, os espécimes também apresentaram a mesma disposição de setas, espinhos e ornamentos descritos por Boeger & Thatcher (1988) para as antenas, antênulas, pernas natatórias e abdômen. Apesar dessas similaridades, também foram verificadas algumas diferenças morfológicas e várias características não presentes na descrição original dessa espécie. Dentre as diferenças morfológicas destacam-se: sacos de ovos multisseriados (ao invés de unisseriados); primeiro somito separado do cefalossoma dorsalmente por uma articulação não funcional (ao invés de fusionados dorsalmente); e primeiro e segundo segmentos da antênulas livres entre si (ao invés de parcialmente fusionados). No que se refere às características não presentes na descrição original, foi possível visualizar as seguintes características: (1) cefalossoma e suporte da antena, ambos com projeção espiniforme proeminente; (2) escleritos intercoxais e placas interpodais; (3) cerdas esparçadamente distribuídas ao longo das margens laterais do cefalossoma; e (4) maior número de setas nas antênulas, endopodito da primeira perna e no exopodito da terceira perna.

As diferenças morfológicas em conjunto com as novas características visualizadas nos espécimes do presente estudo não foram consideradas suficientes para se propor uma nova espécie de *Rhinergasilus*, pois todas as demais características morfológicas, assim como o tamanho do corpo e apêndices, condizem com a descrição original de *R. piranhus*. Ademais, muitas dessas novidades podem simplesmente refletir a não visualização dessas estruturas



(maioria é pequena e de difícil visualização) pelos autores durante descrição original dessa espécie, principalmente por ser uma espécie relativamente antiga. Por outro lado, essas diferenças e novidades observadas aqui, indicam a necessidade de redescrição dessa espécie.

Além do primeiro registro de *R. piranhus* no Rio Pardo, esse estudo também expande a diversidade de peixes parasitados por esse ergasilídeo ao registrá-lo pela primeira vez *A. lacustris*, *C. modestus*, *P. bockmanni* e *O. niloticus*. O registro dessa espécie em *C. modestus* e *O. niloticus* também expande a diversidade de famílias e ordens parasitadas por esse copépode, respectivamente.

**Table 6.** Peixes parasitados por espécies de *Rhinergasilus* Boeger & Thatcher, 1988 no Brasil.

	<b>Hospedeiro</b>	<b>Família</b>	<b>Sítio de infestação</b>	<b>Localidade</b>	<b>Estado</b>	<b>Referência</b>
<i>Rhinergasilus digitus</i> Narciso, Brandão, Perbiche-Neves & Silva, 2020	<i>Psalidodon fasciatus</i> (Cuvier, 1819)	Characidae	Brânquias	Rio Paranapanema Ribeirão dos Veados	São Paulo	Narciso et al. (2020)
<i>Rhinergasilus piranhus</i> Boeger et Thatcher, 1988	<i>Astyanax lacustris</i> (Lütken, 1875)	Characidae	Narinas	Rio Pardo	São Paulo	Presente estudo
	<i>Acestrorhynchus lacustris</i> (Lütken, 1875)	Acestrorhynchidae	Narinas	Alto Rio Paraná	Paraná	Lacerda et al. (2007); Takemoto et al. (2009); Eiras et al. (2013); Luque et al. (2013); Pavanelli et al. (2013)
	<i>Acestrorhynchus falcirostris</i> (Cuvier, 1819)	Acestrorhynchidae	Narinas	-	Rondônia	Varela (1992)
	<i>Colossoma macropomum</i> (Cuvier, 1816)	Serrasalminidae	Narinas	Rio Purus Rio Solimões	Amazonas	Morey et al. (2016); Morey & Malta (2018)
	<i>Cyphocharax modestus</i> (Fernández-Yépez, 1948)	Curimatidae	Narinas	Rio Pardo	São Paulo	Presente estudo
	<i>Oreochromis niloticus</i> (Linnaeus, 1758)	Cichlidae	Narinas	Rio Pardo	São Paulo	Presente estudo

**Table 6.** Continuação.

	<i>Psalidodon bockmanni</i> (Vari & Castro, 2007)	Characidae	Narinas	Rio Pardo	São Paulo	Presente estudo
	<i>Pygocentrus nattereri</i> Kner, 1858	Serrasalmidae	Narinas	Furo do Catalão Ilha de Marchantaria Rio Purus Rio Solimões	Amazonas	Boeger & Thatcher (1988); Thatcher (2006); Luque & Tavares (2007); Eiras et al. (2013); Luque et al. (2013); Pavanelli et al. (2013); Morey et al. (2016)
	<i>Serrasalmus altispinis</i> Mercky, Jégu et Santos, 2000	Serrasalmidae	Narinas	Rio Purus Rio Solimões	Amazonas	Morey et al. (2016); Morey & Malta (2016)
	<i>Prochilodus nigricans</i> Spix et Agassiz, 1829	Prochilodontidae	Narinas	Rio Purus Rio Solimões	Amazonas	Arévalo et al. (2018)
<i>Rhinergasilus</i> sp.	<i>Pygocentrus piraya</i> (Cuvier, 1819)	Serrasalmidae	Brânquias	Reservatório de Três Marias	Minas Gerais	Godinho & Godinho (2003) Luque & Tavares (2007); Eiras et al. (2013); Pavanelli et al. (2013);
<i>Rhinergasilus unguilongus</i> Narciso, Perbiche-Neves & Silva, 2021	<i>Prochilodus lineatus</i> (Valenciennes, 1837)	Prochilodontidae	Brânquias	Rio Paranapanema	São Paulo	Narciso et al. (2021)

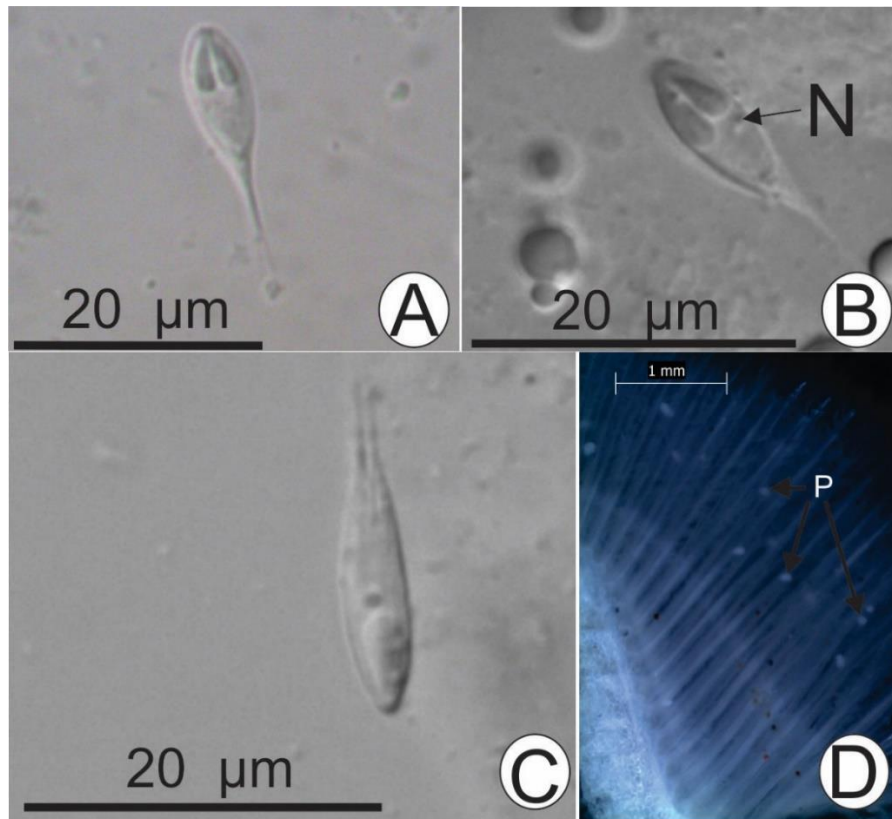
## MIXIZOÁRIOS

### *Distribuição de mixozoários no Rio Pardo*

As espécies *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824) e *Hypostomus ancistroides* (Ihering, 1911) não estavam parasitadas por mixozoários em nenhuma das áreas de coleta. É esperado coletar indivíduos dessas espécies nas demais áreas de coleta para avaliarmos se há diferenças no parasitismo de acordo com a localidade.

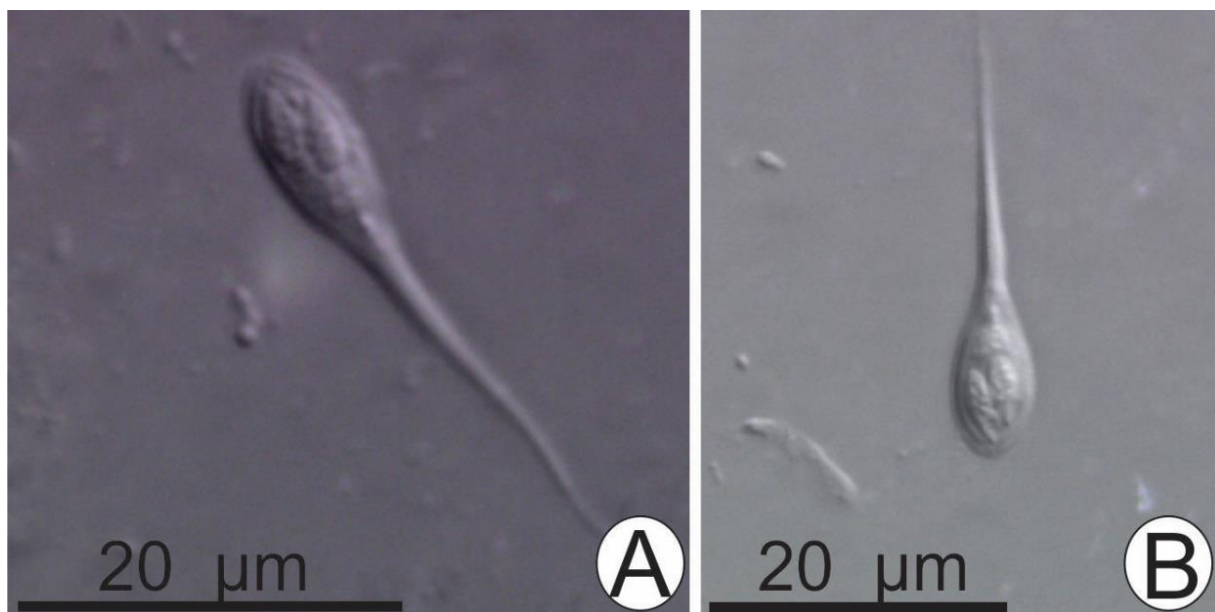
*Henneguya* sp. 1 (Figura 12) foi encontrado parasitando as brânquias de *Astyanax lacustris* (Lütken, 1875) coletados na área 1 (12% de prevalência), área 2 (10% de prevalência) e área 4 (60% de prevalência até o momento). Os plasmódios eram arredondados e esbranquiçados, com tamanho muito reduzindo de cerca de 0,01 mm e estavam localizados nas regiões central e apical das lamelas branquiais. Os mixoesporos maduros eram ovais e alongados na visão frontal e biconvexos na visão sutural medindo:  $10,3 \pm 0,7$  (9,1 – 11,1)  $\mu\text{m}$  no comprimento do corpo,  $9,7 \pm 1,3$  (8,5 – 11,6)  $\mu\text{m}$  no comprimento da cauda,  $19,5 \pm 1,4$  (17,8 – 21,4)  $\mu\text{m}$  no comprimento total do corpo do esporo,  $4,3 \pm 0,2$  (4,0 – 4,7)  $\mu\text{m}$  na largura do corpo do esporo,  $3,7 \pm 0,6$  (3,1 – 4,2)  $\mu\text{m}$  de espessura. Duas cápsulas polares de tamanho igual, piriformes, no polo anterior do mixoesporo, ocupando 1/3 do corpo, medindo  $4,1 \pm 0,6$  (3,2 – 4,8)  $\mu\text{m}$  de comprimento e  $1,5 \pm 0,2$  (1,2 – 1,6)  $\mu\text{m}$  de largura com 5-6 voltas dos túbulos polares. O esporoplasma é binucleado.

Duas sequências parciais do gene *ssrDNA* de *Henneguya* sp. 1 de 1594-pb e 1536-pb foram obtidas. Quando alinhadas as sequências parciais se mostraram idênticas. A pesquisa realizada no Blastn com sequências parciais de espécies depositadas no GenBank, mostrou que nenhuma das sequências disponíveis é idêntica as sequências obtidas nesse estudo. A espécie que mais se assemelhou a *Henneguya* sp. 1 foi *Henneguya lacustris* Vieira, Rangel, Tagliavini, Abdallah, Santos & Azevedo, 2020, uma espécie que também parasita as brânquias de *A. lacustris*, com 93,5% de similaridade. A análise filogenética dessa espécie ainda será realizada. As análises histológicas e ultraestruturais dessa espécie estão em processamento.



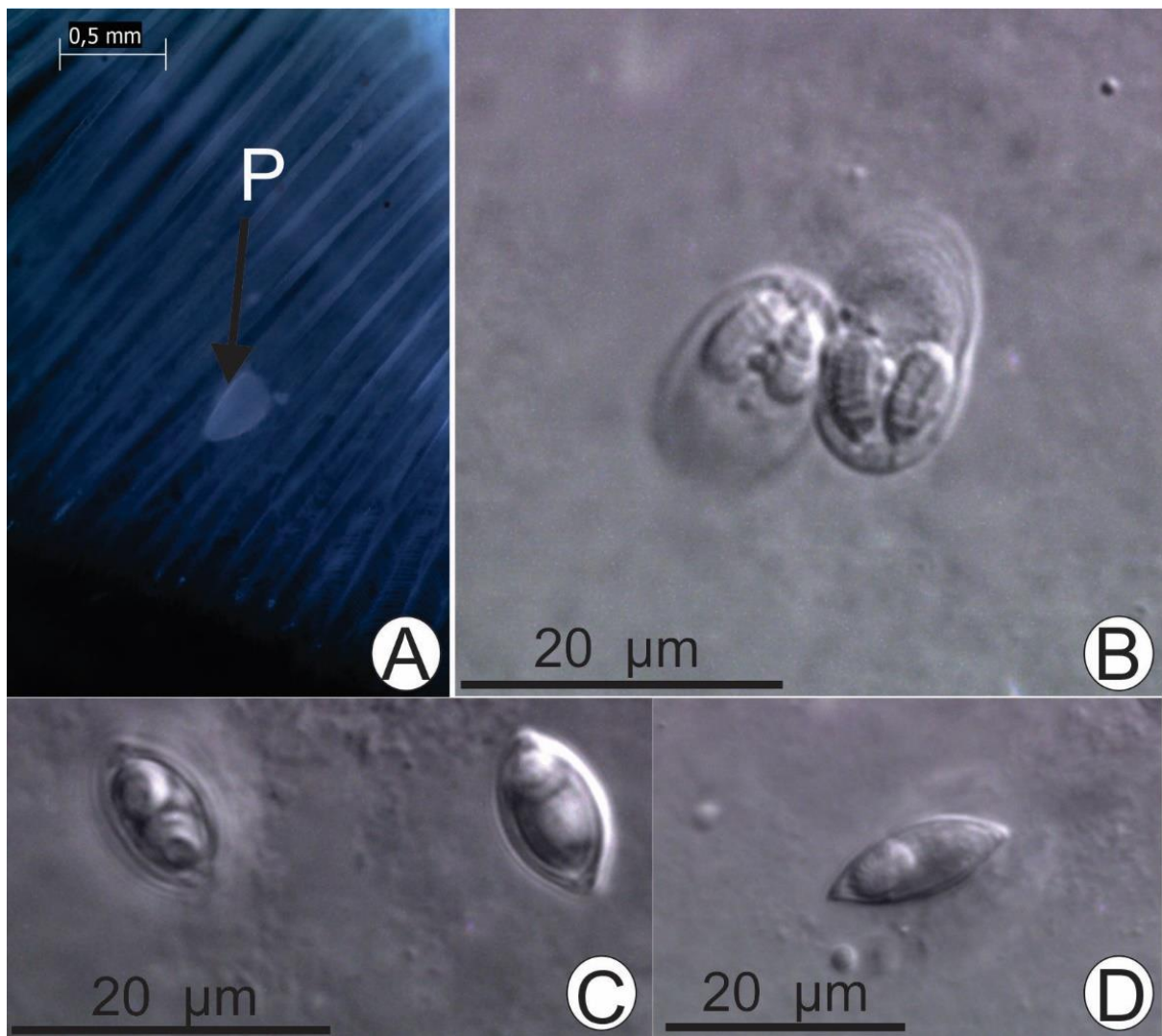
**Figura 12.** *Henneguya* sp. 1 encontrada parasitando as brânquias de *Astyanax lacustris* coletados no Rio Pardo. A. Mixoesporo maduro de *Henneguya* sp. 1 em visão frontal. B. Note um dos núcleos (N) observado em *Henneguya* sp. 1. C. Mixoesporo maduro de *Henneguya* sp. 1 em visão sutural. D. Brânquias de *Astyanax lacustris* parasitadas com plasmódios (P) de *Henneguya* sp. 1.

*Henneguya* sp. 2 (Figura 13) foi encontrado parasitando a bexiga natatória de *A. lacustris* coletados somente na área 4 (10% de prevalência). Um único plasmódio amarelado foi observado, com cerca de 0,5 mm no tecido da parede da bexiga natatória. Os mixoesporos maduros eram arredondados e alongados na visão frontal e biconvexos na visão sutural medindo:  $8,9 \pm 0,3$  ( $8,4 - 9,2$ )  $\mu\text{m}$  no comprimento do corpo,  $17,9 \pm 1,8$  ( $15,5 - 20,6$ )  $\mu\text{m}$  no comprimento da cauda,  $27,3 \pm 1,9$  ( $24,0 - 29,8$ )  $\mu\text{m}$  no comprimento total do corpo do esporo,  $4,9 \pm 0,5$  ( $4,4 - 5,8$ )  $\mu\text{m}$  na largura do corpo do esporo,  $4,2 \pm 0,3$  ( $4,0 - 4,4$ )  $\mu\text{m}$  de espessura. Duas cápsulas polares de tamanho igual, uma diagonal a outra, piriformes, no polo anterior do mixoesporo, ocupando 3/4 do corpo, medindo  $4,1 \pm 0,3$  ( $3,6 - 4,5$ )  $\mu\text{m}$  de comprimento e  $1,6 \pm 0,1$  ( $1,4 - 1,8$ )  $\mu\text{m}$  de largura com 3-4 voltas dos túbulos polares. O esporoplasma é binucleado. Essa espécie foi coletada recentemente e ainda não obtivemos resultados em relação a análise molecular.



**Figura 13.** *Henneguya* sp. 2 encontrada parasitando a bexiga natatória de *Astyanax lacustris* do Rio Pardo. A-B. Mixoesporos maduros de *Henneguya* sp. 2 em visão frontal.

*Myxobolus* sp. 1 (Figura 14) foi encontrado parasitando as brânquias de *A. lacustris* coletados na área 4 (10% de prevalência). Os plasmódios eram arredondados e esbranquiçados, medindo cerca de 0,5 mm e estavam localizados na região central das lamelas branquiais. Os mixoesporos maduros eram redondos com achatamento nas laterais do corpo na visão frontal e biconvexos na visão sutural medindo:  $14,2 \pm 0,4$  (13,7 – 14,7)  $\mu\text{m}$  no comprimento do corpo,  $9,3 \pm 0,6$  (8,6 – 10,1)  $\mu\text{m}$  na largura do corpo do esporo,  $5,7 \pm 0,3$  (5,3 – 6,2)  $\mu\text{m}$  de espessura. Duas cápsulas polares de tamanho igual, alongadas e achatadas, no polo anterior do mixoesporo, ocupando quase 1/2 do corpo, medindo  $5,8 \pm 0,4$  (5,1 – 6,3)  $\mu\text{m}$  de comprimento e  $3,2 \pm 0,4$  (2,7 – 3,9)  $\mu\text{m}$  de largura com 7-8 voltas dos túbulos polares. O esporoplasma é binucleado. Essa espécie foi coletada recentemente e ainda não obtivemos resultados em relação a análise molecular. As análises histológicas e ultraestruturais dessa espécie estão em processamento.



**Figura 14.** *Myxobolus* sp. 1 encontrado parasitando as brânquias de *Astyanax lacustris* coletados no Rio Pardo. A. Plasmódio (P) de *Myxobolus* sp. 1 encontrado nas brânquias de *Astyanax lacustris*. B. Mixoesporos maduros de *Myxobolus* sp. 1 em visão frontal. C. Mixoesporos maduros de *Myxobolus* sp. 1 em visão apical. D. Mixoesporo maduro de *Myxobolus* sp. 1 em visão sutural.

Analisando a distribuição dos mixozoários parasitos de *A. lacustris* do Rio Pardo pudemos observar uma baixa prevalência na maioria dos casos (Tabela 7). A maior prevalência encontrada foi de *Henneguya* sp. 1 na área 4 (60%). A espécie *Henneguya* sp. 1 foi encontrada parasitando *A. lacustris* de todas as áreas onde essa espécie foi coletada, enquanto *Henneguya* sp. 2 e *Myxobolus* sp. 1 só foram encontrados parasitando espécimes coletados na área 4. É possível então que os diferentes tipos de ambiente encontrados nas localidades das coletas e as barreiras geográficas existentes nesses ambientes, possam estar interferindo na distribuição e prevalência do parasitismo por mixozoários em *A. lacustris*.

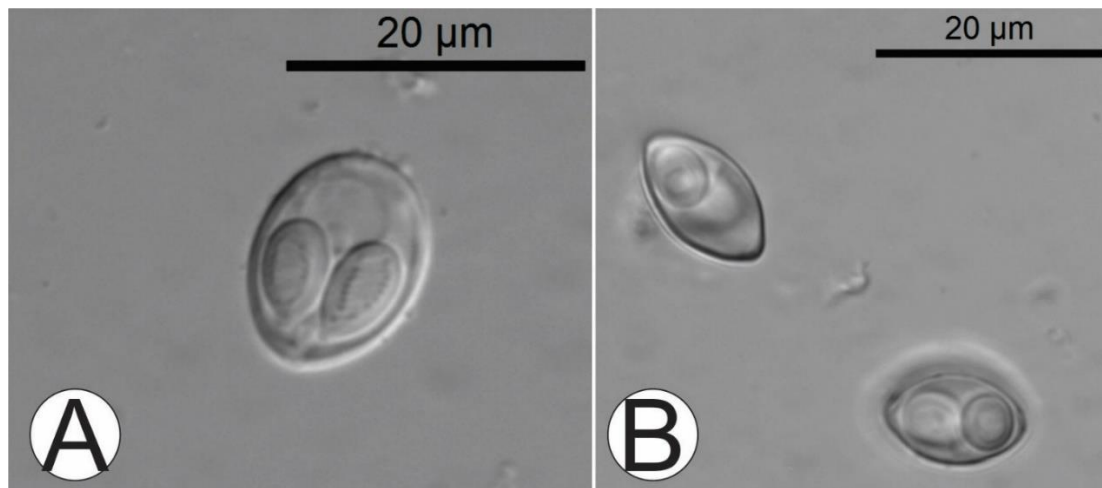
**Tabela 2.** Distribuição de mixozoários parasitando *Astyanax lacustris* coletados no Rio Pardo. – representa local onde a espécie não foi coletada.

	<i>Henneguya</i> sp. 1	<i>Henneguya</i> sp. 2	<i>Myxobolus</i> sp. 1
Área 1	12% (3 de 25)	0%	0%
Área 2	10% (1 de 10)	0%	0%
Área 3	–	–	–
Área 4	60% (6 de 10)	10% (1 de 10)	10% (1 de 10)

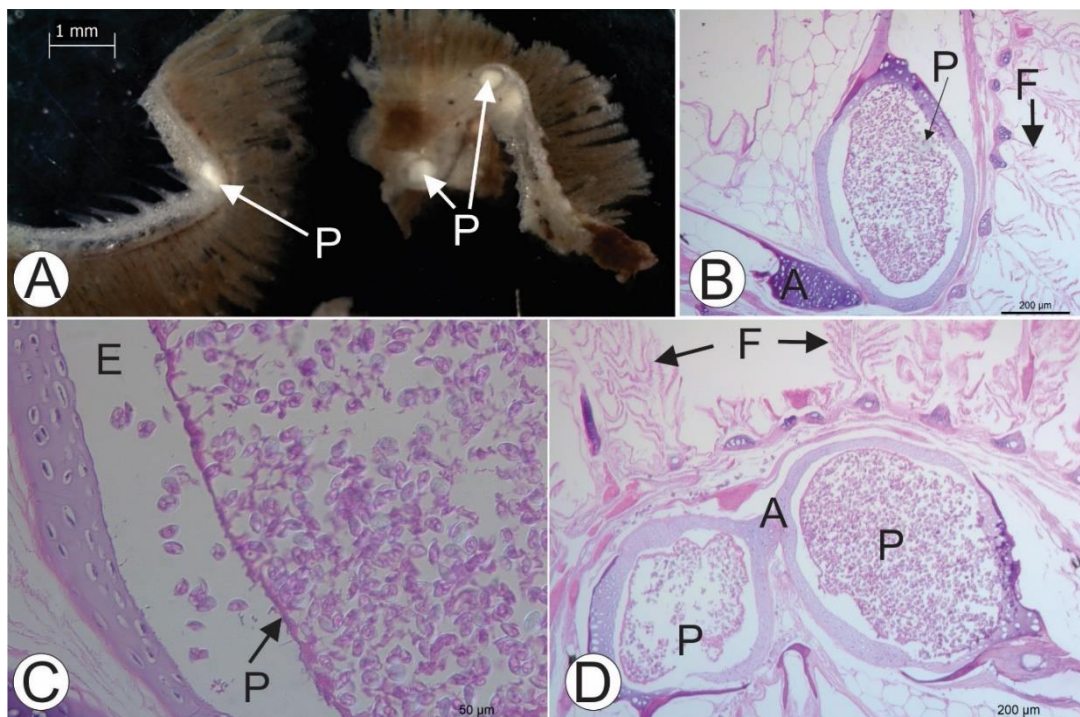
*Myxobolus* sp. 2 (Figura 15) foi encontrado parasitando as brânquias de *Psalidodon bockmanni* (Vari & Castro, 2007) coletados somente na área 3 (4% de prevalência). Os plasmódios eram redondos e esbranquiçados, medindo cerca de 0,8 mm estavam no arco branquial. Os mixoesporos maduros eram redondos na visão frontal e biconvexos na visão sutural medindo:  $14,7 \pm 0,4$  (14,2 – 15,6)  $\mu\text{m}$  no comprimento do corpo,  $10,9 \pm 0,4$  (10,1 – 11,3)  $\mu\text{m}$  na largura do corpo do esporo,  $8,1 \pm 0,3$  (7,7 – 8,5)  $\mu\text{m}$  de espessura. Duas cápsulas polares de tamanho igual, alongadas, no polo anterior do mixoesporo, ocupando 1/2 do corpo, medindo  $7,4 \pm 0,5$  (5,1 – 6,3)  $\mu\text{m}$  de comprimento e  $4,3 \pm 0,3$  (3,8 – 4,8)  $\mu\text{m}$  de largura com 6-7 voltas dos túbulos polares. O esporoplasma é binucleado. Essa espécie foi coletada recentemente e ainda não obtivemos resultados em relação a análise molecular.

A análise histológica (Figura 16) nos possibilitou observar a formação de grandes plasmódios nas regiões centrais e terminal dos arcos branquiais. Segundo Molnár (2002) podemos classificar essa infecção como do tipo arco-branquial, um tipo de infecção não comum e menos frequente do que os tipos que infectam as lamelas e os filamentos branquiais. Nesse tipo de infecção os plasmódios se desenvolvem na matriz cartilaginosa do arco branquial, podendo também afetar o epitélio e vasos sanguíneos presentes no arco. Porém, até o momento não foram relatadas graves patologias associadas a esse tipo de infecção, assim como na infecção causada por *Myxobolus* sp. 2.





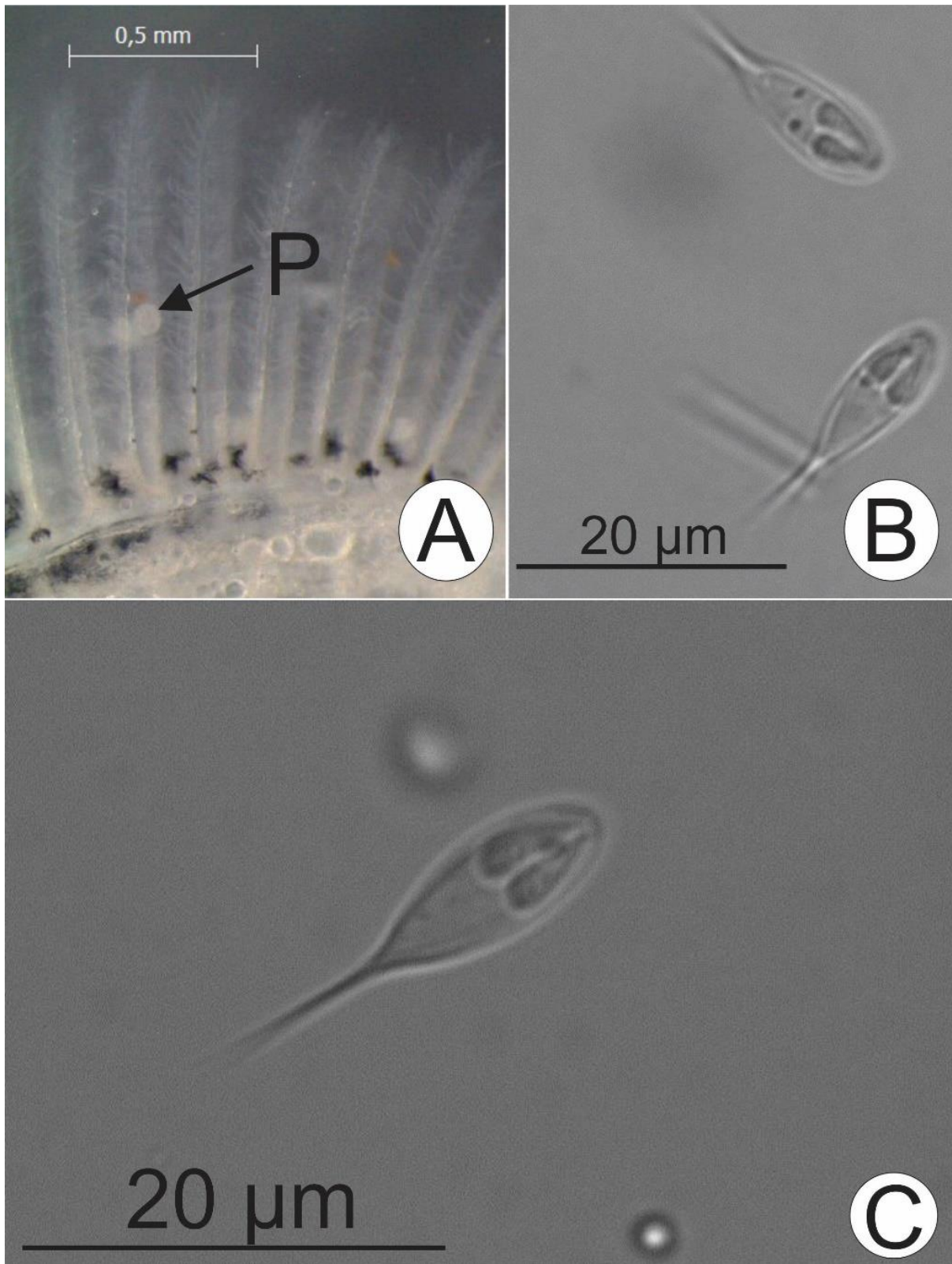
**Figura 15.** *Myxobolus* sp. 2 encontrado parasitando as brânquias de *Psalidodon bockmanni* coletados no Rio Pardo. A. Mixoesporo maduro em visão frontal. É possível contar o número de voltas dos túbulos polares dentro da cápsula polar. B. Mixoesporos maduros em visão sutural e apical.



**Figura 16.** Análise histológica de *Myxobolus* sp. 2 parasitando as brânquias de *Psalidodon bockmanni* coletados no Rio Pardo. A. Arcos branquiais de *Psalidodon bockmanni* com a presença de plasmódios (P) de *Myxobolus* sp. 2. B. Plasmódio (P) encontrado no arco branquial (A) de *Psalidodon bockmanni*. Filamentos branquiais (F). C. Note o espaçamento (E) existente entre a matriz cartilaginosa e a parede (P) do plasmódio, com ausência de tecido cartilaginoso ou epitelial. É possível observar mixoesporos livres na região com ausência de tecido cartilaginoso. D. Corte histológico mostrando dois plasmódios (P) com uma fina parede, mas circundados por uma grossa camada de matriz cartilaginosa do arco branquial (A). Filamentos branquiais (F).

*Henneguya* sp. 3 (Figura 17) foi encontrado parasitando as brânquias de *P. bockmanni* coletados somente na área 2 (14% de prevalência). Plasmódios redondos e esbranquiçados, com cerca de 0,1 mm foram observados nos filamentos secundários das lamelas branquiais. Os mixoesporos maduros eram alongados na visão frontal e biconvexos na visão sutural medindo:  $12,4 \pm 0,9$  (11,0 – 13,8)  $\mu\text{m}$  no comprimento do corpo,  $7,2 \pm 0,4$  (15,5 – 20,6)  $\mu\text{m}$  no comprimento da cauda,  $19,7 \pm 0,9$  (18,1 – 21,4)  $\mu\text{m}$  no comprimento total do corpo do esporo,  $5,4 \pm 0,3$  (4,4 – 5,8)  $\mu\text{m}$  na largura do corpo do esporo,  $4,4 \pm 0,4$  (3,8 – 5,0)  $\mu\text{m}$  de espessura. Duas cápsulas polares de tamanho igual, piriformes, no polo anterior do mixoesporo, ocupando 1/3 do corpo, medindo  $4,7 \pm 0,3$  (4,0 – 5,1)  $\mu\text{m}$  de comprimento e  $1,5 \pm 0,2$  (1,2 – 1,8)  $\mu\text{m}$  de largura com 3-4 voltas dos túbulos polares. O esporoplasma é binucleado.

Uma sequência parcial do gene *ssrDNA* de *Henneguya* sp. 3 de 1930-pb foi obtida. A pesquisa realizada no Blastn com sequências parciais de espécies depositadas no GenBank, mostrou que nenhuma das sequências disponíveis é idêntica as sequências obtidas nesse estudo. A espécie que mais se assemelhou a *Henneguya* sp. 3 foi *Myxobolus ovarium* Naldoni, Pereira, Milanin, Adriano, Silva & Maia, 2020, uma espécie que parasita o ovário de *Brycon orthotaenia* Günther, 1864, com 93,17% de similaridade. A análise filogenética dessa espécie ainda será realizada.



**Figura 17.** *Henneguya* sp. 3 encontrada parasitando as brânquias de *Psalidodon bockmanni* coletados no Rio Pardo. A. Brânquias de *Psalidodon bockmanni* infectadas com plasmódios (P) de *Henneguya* sp. 3. B. Mixoesporos maduros de *Henneguya* sp. 3 em visão frontal. Note o esporoplasma binucleado. C. Mixoesporo maduro de *Henneguya* sp. 3. É possível contar o número de voltas dos túbulos polares.

A prevalência das espécies encontradas parasitando *P. bockmanni* também foi baixa (Tabela 8), sendo que somente um espécime estava parasitado por *Myxobolus* sp. 2 e sete espécimes de 110 no total das áreas estava parasitado por *Henneguya* sp. 3. Nós também pudemos observar diferenças no parasitismo de acordo com a área. Enquanto *Myxobolus* sp. 2 foi encontrado parasitando um espécime da área 3, *Henneguya* sp. 3 foi encontrado parasitando espécimes da área 2.

**Tabela 8.** Distribuição de mixozoários parasitando *Psalidodon bockmanni* coletados no Rio Pardo.

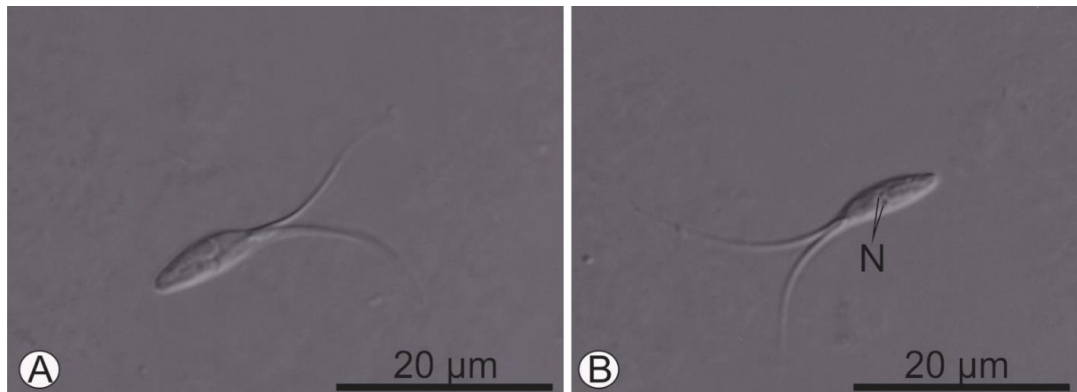
	<i>Myxobolus</i> sp. 2	<i>Henneguya</i> sp. 3
Área 1	0%	0%
Área 2	0%	14% (7 de 50)
Área 3	4% (1 de 25)	0%
Área 4	0%	0%

*Henneguya pardensis* Vieira, Narciso, Azevedo & Silva, 2021 e *Henneguya fastigata* Vieira, Narciso, Azevedo & Silva, 2021 foram encontradas e descritas parasitando as brânquias de *Cyphocharax modestus* (Fernández-Yépez, 1948) no período que compreende esse relatório. *Henneguya pardensis* foi encontrado em espécimes coletados na área 1 (20% de prevalência) e área 2 (3,3% de prevalência). *Henneguya fastigata* foi encontrado parasitando espécimes da área 1 (65% de prevalência) e área 2 (16,7% de prevalência). Nenhuma das duas espécies foi encontrada parasitando os 20 espécimes coletados e analisados na área 3.

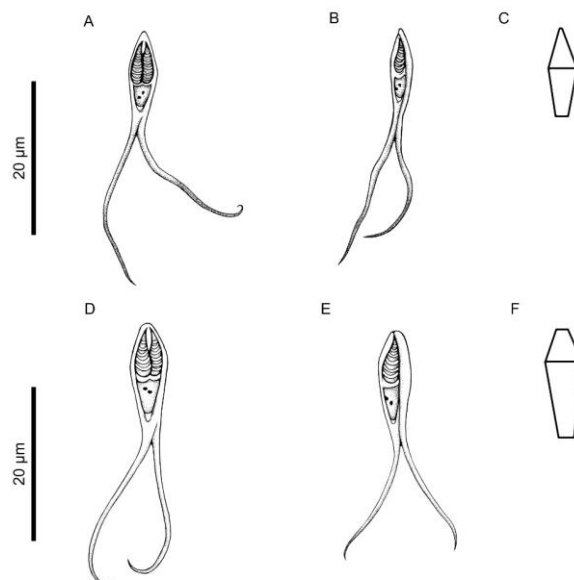
A infecção por *H. fastigata* (Figuras 18 e 19) apresentou plasmódios brancos e esféricos medindo até 0,05 mm nas lamelas branquiais de *C. modestus*. Mixoesporos maduros eram elipsoides em vista valvular com uma formação em forma de ponta no polo anterior e biconvexos em vista sutural medindo:  $24,1 \pm 1,3 \mu\text{m}$  (22,3 – 27,1)  $\mu\text{m}$  no comprimento total do esporo,  $9,7 \pm 0,5 \mu\text{m}$  (9,0 – 10,6) no corpo do esporo comprimento,  $3,5 \pm 0,3 \mu\text{m}$  (2,9 – 4,1) na largura do corpo do esporo,  $14,7 \pm 1,4 \mu\text{m}$  (12,9 – 17,5) no comprimento dos apêndices caudais,  $3,1 \pm 0,2 \mu\text{m}$  (2,7 – 3,4) de espessura. Duas cápsulas polares, piriformes, no polo anterior do mixoesporo, ocupando 2/3 do corpo do mixoesporo, com tamanho igual medindo  $4,9 \pm 0,5 \mu\text{m}$  (4,1 – 5,8) de comprimento e  $1,3 \pm 0,2 \mu\text{m}$  (1,0 – 1,6) de largura e 7-8 voltas dos túbulos polares.

A infecção por *H. pardensis* (Figuras 19 e 20) apresentou plasmódios brancos e esféricos medindo até 0,2 mm no arco branquial de *C. modestus*. Mixoesporos maduros eram elipsoides em vista valvular com uma forma arredondada no polo anterior e biconvexos em vista sutural

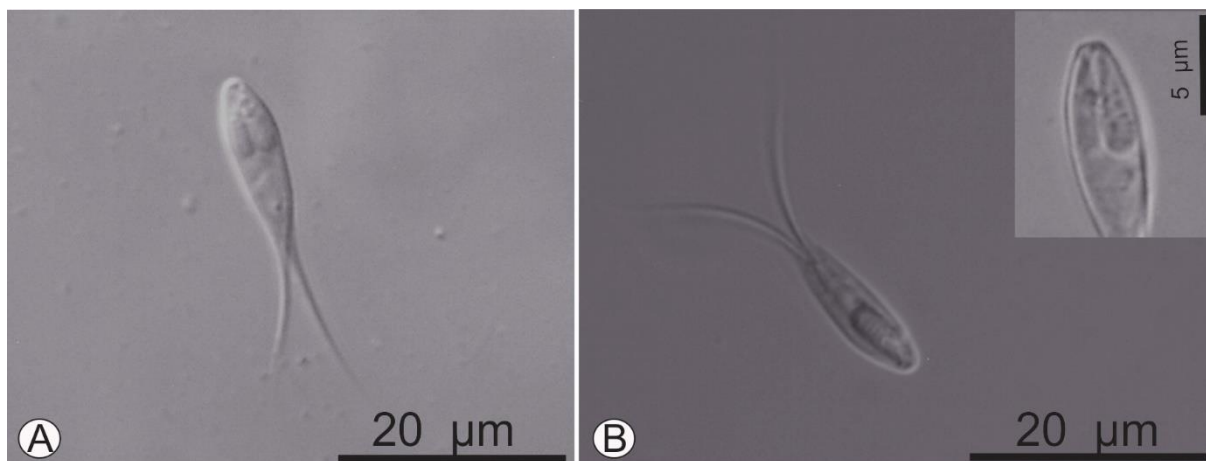
medindo:  $26,8 \pm 1,9 \mu\text{m}$  ( $24,1 - 30,0$ )  $\mu\text{m}$  no comprimento total do esporo,  $12,1 \pm 1,0 \mu\text{m}$  ( $10,8 - 14,2$ ) no comprimento do corpo do esporo,  $4,5 \pm 0,3 \mu\text{m}$  ( $4,0 - 4,9$ ) na largura do corpo do esporo,  $13,3 \pm 1,8 \mu\text{m}$  ( $10,5 - 16,5$ ) no comprimento dos apêndices caudais,  $4,2 \pm 0,3 \mu\text{m}$  ( $3,7 - 5,2$ ) de espessura. Duas cápsulas polares, piriformes, no polo anterior do mixoesporo, ocupando 1/2 do corpo do mixoesporo, com tamanho igual medindo  $5,5 \pm 0,5 \mu\text{m}$  ( $4,5 - 6,0$ ) de comprimento e  $2,0 \pm 0,2 \mu\text{m}$  ( $1,7 - 2,4$ ) de largura e 6-7 voltas dos túbulos polares.



**Figura 18.** Mixoesporos de *Henneguya fastigata* encontrados parasitando as lamelas branquiais de *Cyphocharax modestus* do Rio Pardo. A. Vista frontal de *Henneguya fastigata*. B. Vista lateral de *Henneguya fastigata*. Observe o esporoplasma binucleado (N).



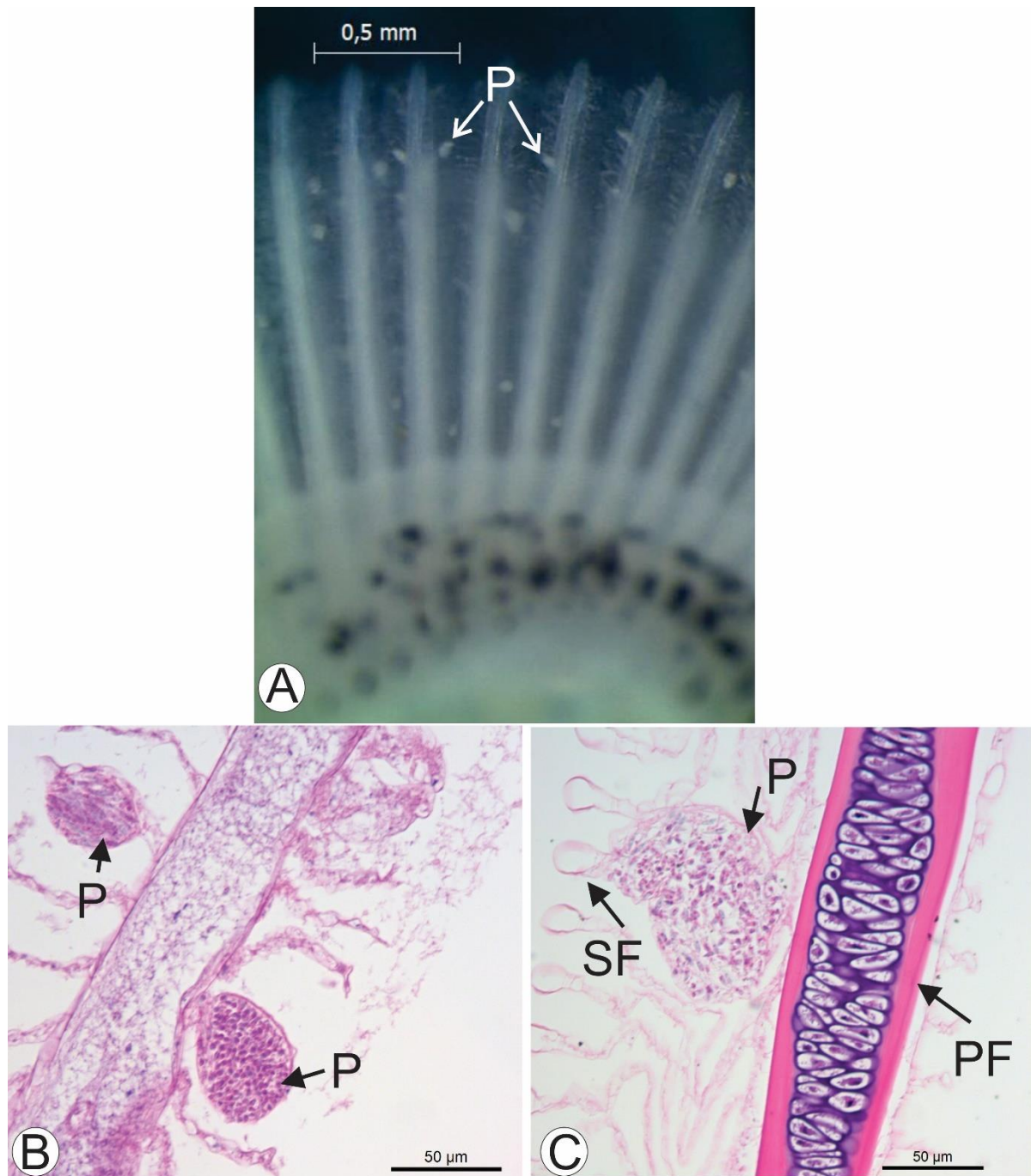
**Figura 19.** Desenho esquemático de *Henneguya fastigata* e *Henneguya pardensis*. A. Desenho da vista frontal de *Henneguya fastigata*. B. Desenho da vista lateral de *Henneguya fastigata*. C. Representação na forma geométrica da forma do corpo do esporo do mixoesporo de *Henneguya fastigata*. D. Desenho da vista frontal de *Henneguya pardensis*. E. Desenho da vista lateral de *Henneguya pardensis*. F. Representação na forma geométrica da forma do corpo do esporo do mixoesporo de *Henneguya pardensis*.



**Figura 20.** Mixoesporos de *Henneguya pardensis* encontrado parasitando o arco branquial de *Cyphocharax modestus* do Rio Pardo. A. Vista frontal de *Henneguya pardensis*. B. Vista lateral de *Henneguya pardensis*. Em destaque a cápsula polar onde é possível contar o número de voltas do filamento polar.

A análise histológica de *H. fastigata* mostrou que os plasmódios foram encontrados nas regiões basal, medial e distal das lamelas branquiais (Figura 21). A infecção era do tipo interlamelar, ocorrendo entre o epitélio lamelar e o capilar, com os plasmódios causando deformações de várias lamelas das brânquias. Os plasmódios foram circundados por espessa camada de tecido conjuntivo e hiperplasia foi observada. Fusões de algumas lamelas branquiais também foram observadas. Nenhuma reação inflamatória, infecção secundária ou produção excessiva de muco foi observada. Nenhum plasmódio rompido foi observado.

A infecção foi classificada como do tipo interlamelar. Segundo Molnár (2002), nesse tipo de infecção, na maioria dos casos, os plasmódios preenchem apenas o espaço interlamelar. Fusões de filamentos vizinhos foram observadas em alguns casos, enquanto outros causaram deformações em um único filamento. Esse tipo de infecção já foi associado ao comprometimento da função branquial, por meio de fusão lamelar e hiperplasia epitelial, levando à morbidade e redução da atividade alimentar (Stilwell et al., 2019). Apesar disso, não foram observados sinais de patologia grave causada pela presença de plasmódios. Geralmente, as respostas inflamatórias graves do peixe hospedeiro contra a infecção histozoica de mixozoários se iniciam após a ruptura do plasmódio (Ogawa et al., 1992), o que ainda não havia ocorrido nesse estudo.



**Figura 21.** Imagem macroscópica mostrando plasmódios e análise histológica de *Henneguya fastigata* parasitando as lamelas branquiais de *Cyphocharax modestus* do Rio Pardo. A. Plasmódios (P) de *Henneguya fastigata* nas lamelas branquiais de *Cyphocharax modestus*. B. Plasmódios (P) encontrados infectando as lamelas branquiais de *Cyphocharax modestus*. Observe a massa compacta de mixoesporos dentro do plasmódio. C. Plasmódio (P) causando fusão das lamelas branquiais (SF) das brânquias de *Cyphocharax modestus*. Filamento primário (PF).

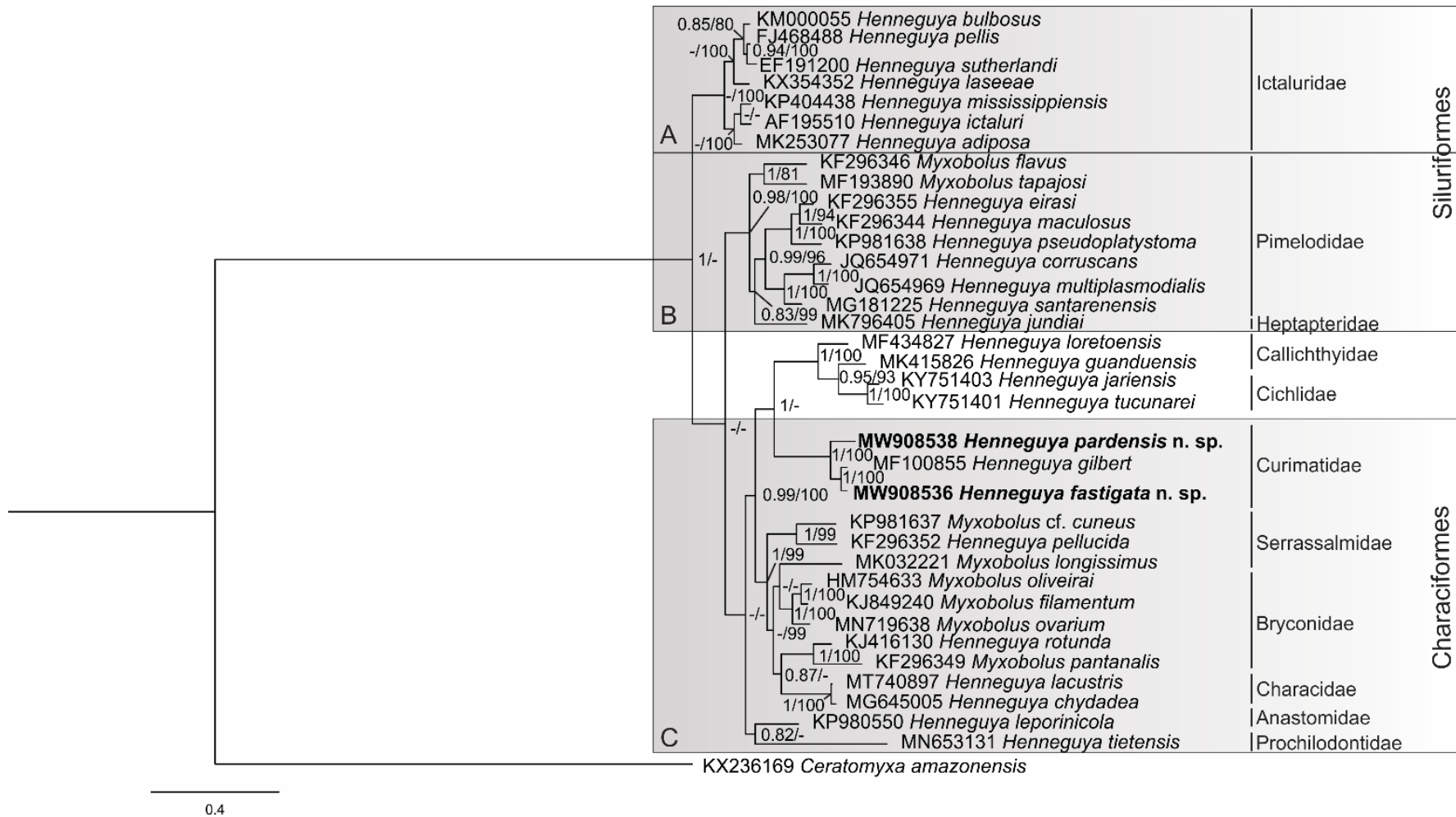
Duas sequências de ssrDNA parciais geneticamente idênticas de *H. fastigata* (1.923-bp e 1.910-bp) e duas sequências parciais de ssrDNA geneticamente idênticas de *H. pardensis* (1.949-bp e 1.896-bp) foram obtidos. Uma das sequências parciais foi obtida de um plasmódio retirado do hospedeiro-tipo de cada espécie. Quando alinhadas entre si, as sequências parciais de *H. fastigata* e *H. pardensis* n. sp. mostrou 92,2% de similaridade e diferiu em 151 nucleotídeos.

A espécie que mais se assemelha geneticamente a *H. fastigata* foi *H. gilbert* com 98,3% de similaridade e 33 nucleotídeos diferentes. Em relação a *H. pardensis*, a espécie que mais se assemelha geneticamente é *H. fastigata* com os valores listados acima, seguido também por *H. gilbert* com 90,1% e 196 nucleotídeos diferentes (Tabela 9).

A análise filogenética de espécies geneticamente semelhantes às duas novas espécies mostrou uma divisão em três clados principais (Figura 22). O clado A é composto por *Henneguya* spp. que parasitam peixes da família Ictaluridae da América do Norte, o clado B composto por *Henneguya/Myxobolus* spp. que parasitam Siluriformes do Brasil, e o clado C composto por *Henneguya/Myxobolus* spp. que parasitam Characiformes de seis famílias do Brasil, incluindo Curimatidae. *Henneguya fastigata* e *H. pardensis* aparecem no subclado composto por espécies que parasitam curimatídeos. A espécie irmã de *H. fastigata* é *H. gilbert*, enquanto *H. pardensis* aparece como uma espécie irmã de ambas as espécies.

A análise filogenética suporta trabalhos anteriores, sugerindo que a família ou ordem do hospedeiro são um sinal filogenético para espécies de Myxobolidae. A árvore filogenética obtida neste estudo é bem suportada na maioria dos nós e mostra grupos polifiléticos compostos por espécies de *Henneguya/Myxobolus*. Os grupos que compõem a árvore filogenética obtida são divididos principalmente em espécies que parasitam Siluriformes da América do Sul e América do Norte e espécies que parasitam Characiformes do Brasil. Além disso, a análise mostrou que as duas novas espécies formaram um subclado composto por espécies que parasitam peixes dos Curimatidae juntamente com *H. gilbert*, que parasita *C. gilbert*.





**Figura 22.** Árvore filogenética da análise bayesiana baseada em sequências parciais de *ssrDNA* mostrando a posição de *Henneguya fastigata* e *Henneguya pardensis* entre outras espécies de *Henneguya/Myxobolus* geneticamente semelhantes. Os números dos nós representam as probabilidades bayesianas posteriores e os valores de bootstrap (BI/ML). Valores inferiores a 0,8/80 são representados por travessões. A barra de escala representa o número de substituições por site.

**Tabela 9.** Semelhança nas sequências de ssrDNA de *Henneguya* spp., parasitos de peixes Characiformes do Brasil. Os dados acima da diagonal representam a porcentagem de similaridade de nucleotídeos; os dados abaixo da diagonal representam o número de nucleotídeos diferentes (modelo de distância-p).

Espécies	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 <i>H. fastigata</i> MW908536		92.2	98.3	79.0	80.3	79.5	82.6	80.9	82.3
2 <i>H. pardensis</i> MW908538	151		90.1	78.2	78.4	78.5	81.2	78.9	82.0
3 <i>H. gilbert</i> MF100855	33	196		78.7	80.5	79.2	82.7	80.6	82.3
4 <i>H. tietensis</i> MN653131	416	440	433		77.2	79.4	79.6	79.3	78.6
5 <i>H. pellucida</i> KF296352	312	343	309	363		79.0	80.7	79.1	79.5
6 <i>H. leporinicola</i> KP980550	400	427	417	412	336		82.5	80.3	82.6
7 <i>H. lacustris</i> MT740897	340	368	338	398	306	341		96.3	84.1
8 <i>H. chydadea</i> MG645005	272	302	278	296	249	285	52		81.2
9 <i>H. rotunda</i> KJ416130	332	337	334	407	327	326	299	272	

As espécies *H. fastigata* e *H. pardensis* apresentaram algumas medidas semelhantes, como o comprimento dos apêndices caudais ( $14,7 \pm 1,4 \mu\text{m}$  vs  $13,3 \pm 1,8 \mu\text{m}$ , respectivamente). No entanto, observou-se que o primeiro tinha um comprimento do corpo do mixoesporo menor em comparação com o último ( $9,7 \pm 0,5 \mu\text{m}$  vs  $12,1 \pm 1,0 \mu\text{m}$ ), além de uma largura menor ( $3,5 \pm 0,3 \mu\text{m}$  vs  $4,5 \pm 0,3 \mu\text{m}$ ) e menor espessura ( $3,1 \pm 0,2 \mu\text{m}$  vs  $4,2 \pm 0,3 \mu\text{m}$ ). Além disso, em *H. fastigata* as cápsulas polares ocupavam 2/3 do corpo do mixoesporo, enquanto em *H. pardensis* as cápsulas polares ocupavam metade do corpo do mixoesporo. O sítio de infecção nas brânquias (lamela vs arco) e a diferença genética encontrada no gene ssrDNA (7,8%) também confirmam que são espécies diferentes.

As duas novas espécies foram comparadas com *Henneguya* spp. que parasitam peixes da família Curimatidae (Tabela 10). A espécie que mais se assemelha a *H. fastigata* é *Henneguya gilbert* Casal, Clemente, Lopes, Rocha, Felizardo, Oliveira, Al-Quraishy & Azevedo, 2017, que parasita as brânquias de *Cyphocharax gilbert* (Quoy & Gaimard, 1824). No entanto, *H. gilbert* demonstrou ter medidas maiores em quase todos os parâmetros analisados. *Henneguya fastigata* apresentou alta similaridade genética com *H. gilbert* (98,3%). No entanto, de acordo com Cech et al. (2012), mesmo uma diferença menor que 1% pode caracterizar espécies diferentes, quando associada a outras características. Neste caso, uma diferença de 1,7% e 33 nucleotídeos diferentes, somados à análise morfométrica e o fato de terem sido descritos em bacias e hospedeiros diferentes, reforçam a distinção de espécies. Em relação a *H. pardensis*,

*H. gilbert* também foi a espécie que mais se assemelhou, mas apresentou diferenças no comprimento dos apêndices caudais de  $16,8 \pm 0,9$  (15,6 – 18,5)  $\mu\text{m}$  vs  $13,3 \pm 1,8$  (10,5 – 16,5)  $\mu\text{m}$ ) e na largura do polo cápsulas ( $1,3 \pm 0,2$  (1,1 – 1,5)  $\mu\text{m}$  vs  $2,0 \pm 0,2$  (1,7 – 2,4)  $\mu\text{m}$ ). Além disso, houve diferenças no número de voltas dos filamentos polares (6-7 vs 9-10), e a diferença genética encontrada no gene *ssrDNA* (9,9%) também confirma que são espécies diferentes.

**Tabela 10.** Comparação morfométrica de *Henneguya fastigata* e *Henneguya pardensis* com espécies que parasitam peixes da família Curimatidae. CT: comprimento total; CC: comprimento do corpo; LC: largura do corpo; CA: comprimento dos apêndices caudais; CP: comprimento das cápsulas polares; LP: largura das cápsulas polares; ES: espessura; NV: número de voltas do filamento polar. As medidas são fornecidas em  $\mu\text{m}$ .

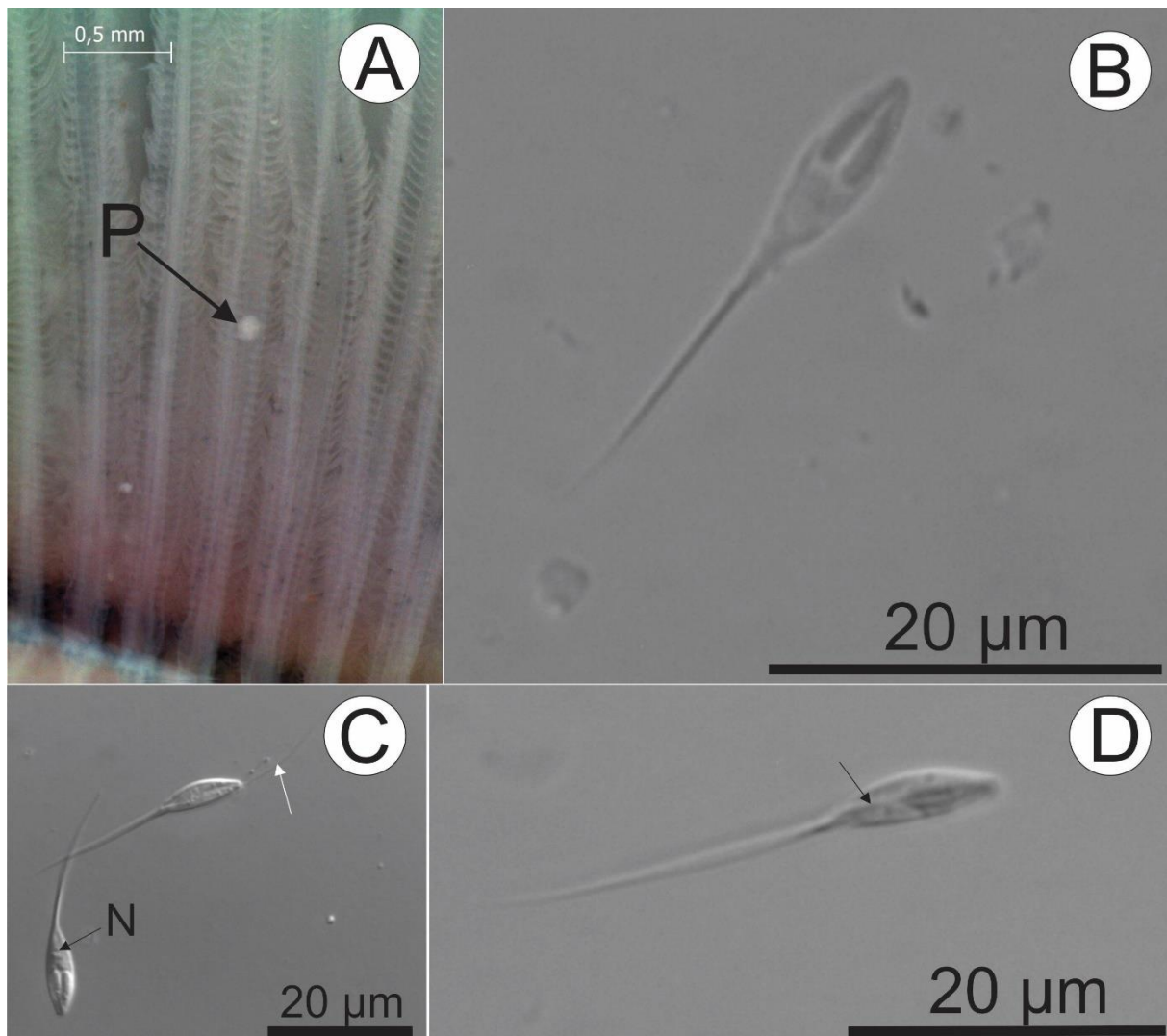
Espécies	CT	CC	LC	CA	CP	LP	ES	NV	Local da infecção	Hospedeiro
<i>Henneguya fastigata</i>	24.1 $\pm$ 1.3 (22.3 – 27.1)	9.7 $\pm$ 0.5 (9.0 – 10.6)	3.5 $\pm$ 0.3 (2.9 – 4.1)	14.7 $\pm$ 1.4 (12.9 – 17.5)	4.9 $\pm$ 0.5 (4.1 – 5.8)	1.3 $\pm$ 0.2 (1.0 – 1.6)	3.1 $\pm$ 0.2 (2.7 – 3.4)	7 – 8	Brânquias	<i>Cyphocharax modestus</i>
<i>Henneguya pardensis</i>	26.8 $\pm$ 1.9 (24.1 – 30.0)	12.1 $\pm$ 1.0 (10.8 – 14.2)	4.5 $\pm$ 0.3 (4.0 – 4.9)	13.3 $\pm$ 1.8 (10.5 – 16.5)	5.5 $\pm$ 0.5 (4.5 – 6.0)	2.0 $\pm$ 0.2 (1.7 – 2.4)	4.2 $\pm$ 0.3 (3.7 – 5.2)	6 – 7	Brânquias	<i>Cyphocharax modestus</i>
<i>Henneguya</i> sp.	21.4 $\pm$ 1.2 (19.4 – 23.2)	11.9 $\pm$ 0.5 (10.9 – 12.7)	5.1 $\pm$ 0.3 (4.5 – 5.8)	9.6 $\pm$ 0.7 (8.4 – 10.5)	5.6 $\pm$ 0.4 (4.9 – 6.3)	1.8 $\pm$ 0.2 (1.4 – 2.0)	–	5 – 8	Pele	<i>Cyphocharax modestus</i>
<i>Henneguya cyphocharax</i>	35.1 (29.6 – 44.4)	11.3 (7.7 – 13.4)	4.4 (2.9 – 6.3)	23.7 (20.8 – 31.5)	5.2 (4.2 – 6.3)	1,9 (1,5 – 2,3)	–	7 – 9	Brânquias	<i>Cyphocharax gilbert</i>
<i>Henneguya gilbert</i>	27.2 $\pm$ 0.8 (26.0 – 28.4)	12.0 $\pm$ 0.7 (11.0 – 13.2)	5.3 $\pm$ 0.3 (4.9 – 5.5)	16.8 $\pm$ 0.9 (15.6 – 18.5)	5.5 $\pm$ 0.3 (5.1 – 5.7)	1.3 $\pm$ 0.2 (1.1 – 1.5)	3.6 $\pm$ 0.2 (3.4 – 3.8)	9 – 10	Brânquias	<i>Cyphocharax gilbert</i>
<i>Henneguya nagelii</i>	34.5 $\pm$ 4.2 (26.4 – 39.9)	12.0 $\pm$ 0.5 (11.2 – 11.9)	4.9 $\pm$ 0.3 (4.4 – 5.5)	22.4 $\pm$ 4.0 (14.7 – 27.3)	4.9 $\pm$ 0.4 (4.0 – 5.9)	1.8 $\pm$ 0.2 (1.5 – 2.2)	4.1 $\pm$ 0.2 (3.6 – 5.7)	6 – 8	Brânquias	<i>Cyphocharax nagelii</i>
<i>Henneguya garavelli</i>	46.6 $\pm$ 2.4 (41.2 – 51.5)	13.6 $\pm$ 1.0 (12.0 – 14.4)	4.0 $\pm$ 0.1 (3.9 – 4.1)	33.0 $\pm$ 2.6 (29.2 – 37.5)	5.4 $\pm$ 0.4 (4.8 – 6.0)	1.2 $\pm$ 0.1 (1.0 – 1.5)	3.2 $\pm$ 0.5 (2.4–4.0)	8 – 9	Brânquias	<i>Cyphocharax nagelii</i>
<i>Henneguya curimata</i>	35.4 (34.2 – 36.1)	16.6 (16.0 – 17.4)	6. 2 (5.8 – 6.6)	19.1 (18.3 – 19.9)	6.5 $\pm$ 0.3	1.2 $\pm$ 0.2	–	10 – 11	Rins	<i>Curimata inornata</i>

Quando analisamos a distribuição de mixozoários parasitos de *C. modestus* do Rio Pardo podemos observar uma clara diferença de acordo com a área de coleta (Tabela 11). Na área 1 a prevalência foi alta para *H. fastigata* (65%), enquanto na área 2 a prevalência apresentou queda (16,7%), chegando a 0% na área 3. Para *H. pardensis* a prevalência foi de 20% na área 1, para 3,3% na área 2, até chegar a 0% na área 3. A diferença na prevalência encontrada de acordo com a área pode ser relacionada ao ambiente mais restrito e lântico encontrado na área 1 em relação as demais áreas ou a diminuição e ausência de hospedeiro intermediário nas áreas 2 e 3.

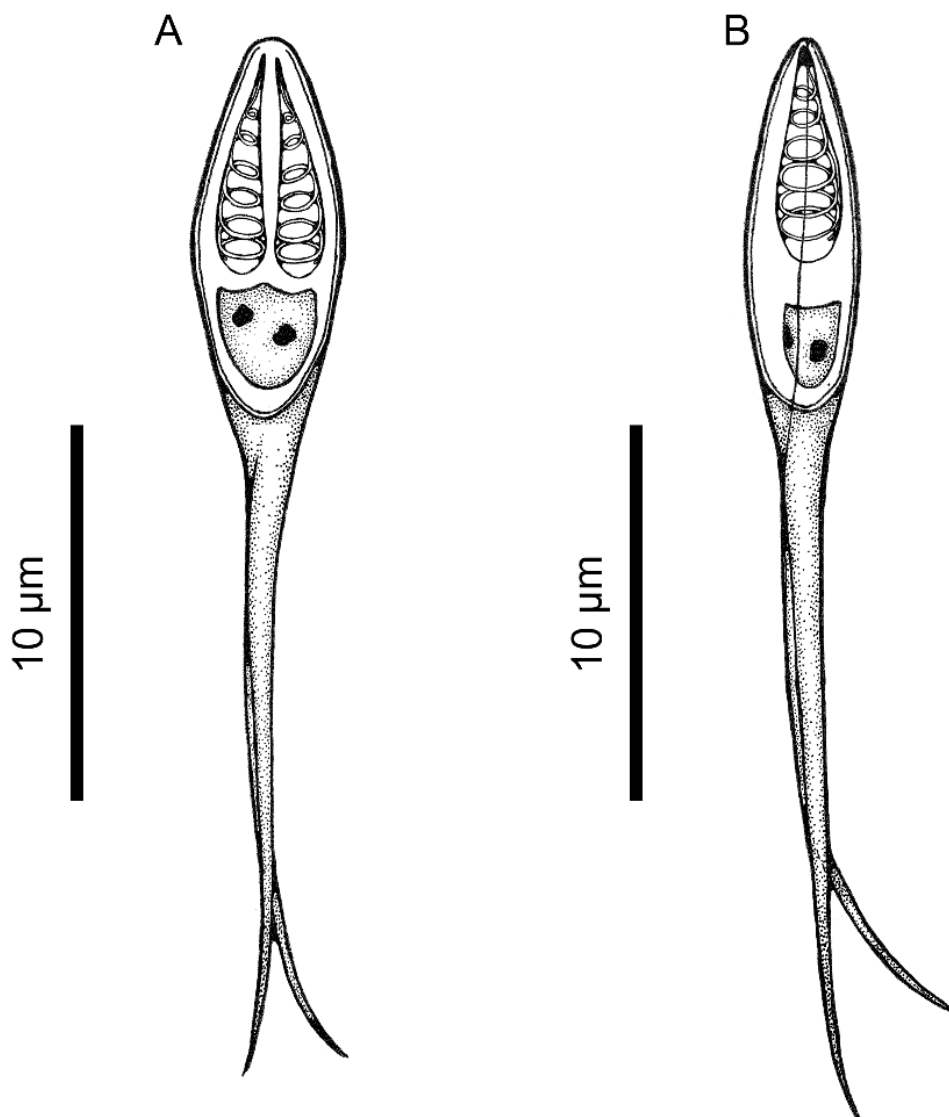
**Tabela 11.** Distribuição de mixozoários parasitando *Cyphocharax modestus* coletados no Rio Pardo. – representa local onde a espécie não foi coletada.

	<i>Henneguya fastigata</i>	<i>Henneguya pardensis</i>
Área 1	65% (13 de 20)	20% (4 de 20)
Área 2	16,7% (5 de 30)	3,3% (1 de 30)
Área 3	0%	0%
Área 4	–	–

*Henneguya* sp. 4 (Figuras 23 e 24) foi encontrada parasitando as brânquias de *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) coletados na área 2 (40% de prevalência) e na área 3 (40% de prevalência). Os plasmódios eram esbranquiçados e redondos, medindo cerca de 0,1 mm, sendo observados nos filamentos branquiais primários das brânquias, ocupando uma posição interlamelar. Os mixoesporos encontrados eram alongados e elipsoidais em vista frontal. As medidas médias foram: comprimento total  $24,9 \pm 0,9$  (23,3 – 26,8)  $\mu\text{m}$ , comprimento do corpo  $10,7 \pm 0,5$  (10,1 – 11,6)  $\mu\text{m}$ , largura do corpo  $3,8 \pm 0,3$  (3,2 – 4,2)  $\mu\text{m}$ , comprimento dos apêndices caudais  $14,7 \pm 1,4$  (11,5 – 16,1)  $\mu\text{m}$ . Os mixoesporos eram biconvexos na vista lateral com espessura de  $3,5 \pm 0,3$  (3,1 – 4,0)  $\mu\text{m}$ . As cápsulas polares eram iguais em tamanho e mediam  $4,8 \pm 0,4$  (3,8 – 5,5)  $\mu\text{m}$  de comprimento e  $1,3 \pm 0,2$  (1,1 – 1,7)  $\mu\text{m}$  de largura. Seis voltas nos túbulos polares presentes dentro da cápsula polar, perpendiculares ao eixo longitudinal da cápsula polar foram observadas. Esporoplasma binucleado e valvas simétricas.



**Figura 23.** Imagem macroscópica mostrando as brânquias e mixoesporos de *Henneguya* sp. 4. A. Brânquias de *Rhamdia quelen*, coletadas no rio Pardo contendo plasmódio (P) entre os filamentos branquiais. B. Mixoesporo maduro de *Henneguya* sp. 4 encontrado parasitando as brânquias em vista frontal, mostrando duas cápsulas polares alongadas de mesmo tamanho localizadas lado a lado no polo anterior. C. Mixoesporos maduros de *Henneguya* sp. 4. Observe o núcleo (N) e o filamento extrudado (seta branca). D. Mixoesporo de *Henneguya* sp. 4 em vista lateral. Observe a linha sutural (seta).



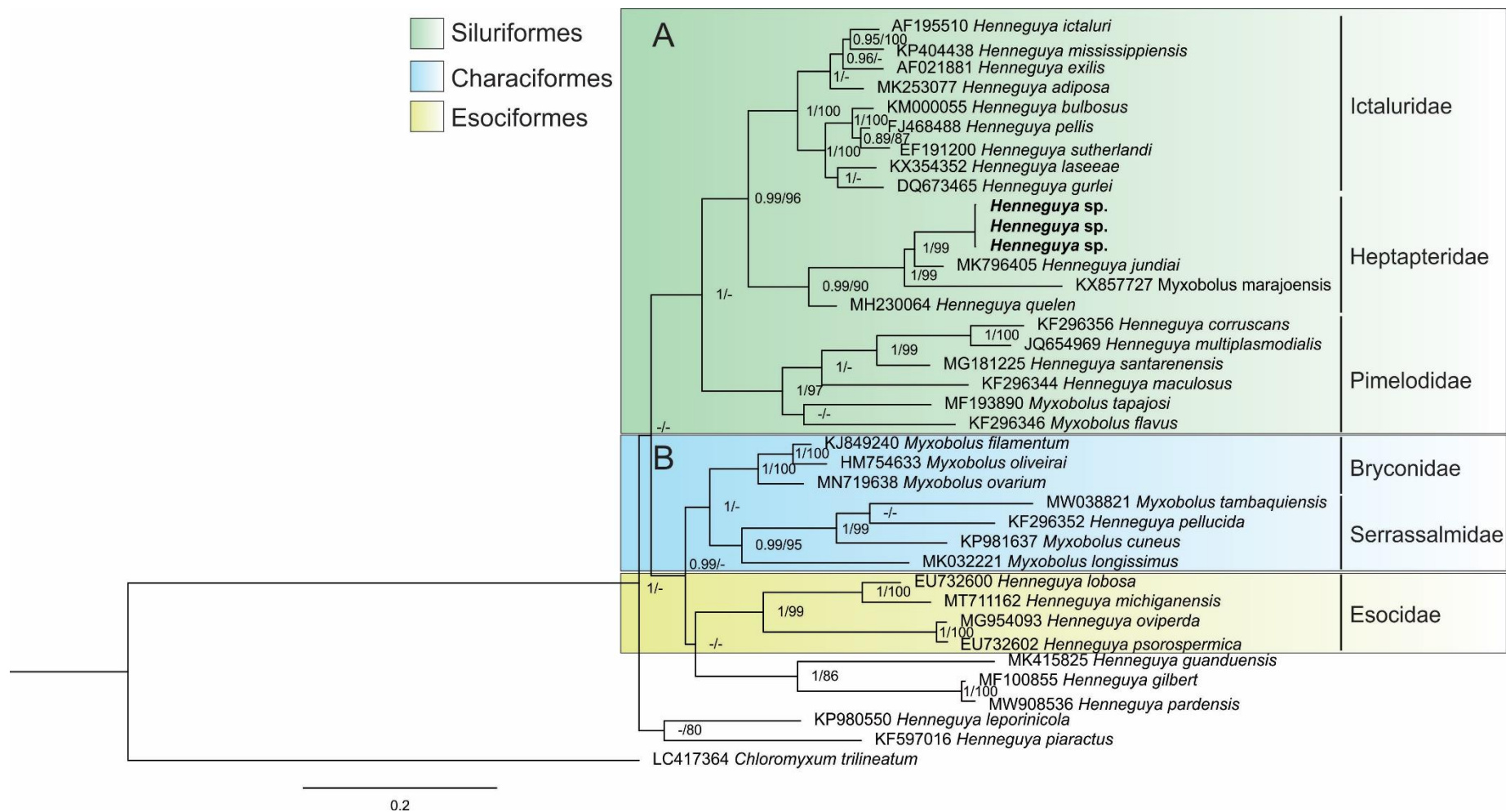
**Figura 24.** Desenho esquemático de *Henneguya* sp. 4 A. Desenho de vista frontal de *Henneguya* sp. 4. B. Desenho da vista lateral de *Henneguya* sp. 4.

Três sequências parciais de *ssrDNA* geneticamente idênticas de *Henneguya* sp. 4 (1.672-bp, 1.606-bp, 1.604-bp) foram obtidas. A espécie que mais se assemelha geneticamente a *Henneguya* sp. 4 foi *Henneguya jundiai* Negrelli, Vieira, Tagliavini, Abdallah & Azevedo, 2019 com 93,6% de similaridade e 106 nucleotídeos diferentes. A análise filogenética de espécies geneticamente semelhantes à nova espécie mostrou uma divisão em dois clados principais (Figura 25). O clado A é composto por *Henneguya/Myxobolus* spp. que parasitam peixes Siluriformes das famílias Ictaluridae e Heptapteridae, onde *Henneguya* sp. 4 é inserida como espécie-irmã de *H. jundiai*. Todas as espécies de mixozoários que compõem o subclado que parasita peixes da família Heptapteridae foram descritas parasitando *R. quelen*. O clado B

é composto principalmente por *Myxobolus* spp. que parasitam peixes Characiformes e *Henneguya* spp. que parasitam peixes Esociformes.

A análise filogenética indicou afinidade de *Henneguya* spp. com os hospedeiros, com forte sinal evolutivo, conforme relatado por Carriero et al. (2013) e Vieira et al. (2020). Em Myxobolidae, os hospedeiros são os fatores evolutivos primários, o que contribui para os poucos clados monofiléticos observados nas filogenias (Andree et al. 1999). Para essa espécie o arranjo dos clados foi determinado principalmente pela ordem do hospedeiro, seguida pela família do hospedeiro. Abrunhosa et al. (2018) e Negrelli et al. (2019) relataram a presença de espécies que parasitam peixes Esociformes em suas análises filogenéticas, conforme observado neste estudo. Esses dados corroboram as estreitas relações filogenéticas entre espécies que parasitam peixes das famílias Esocidae e Heptapteridae, visto que apenas espécies geneticamente semelhantes foram utilizadas para esta análise.





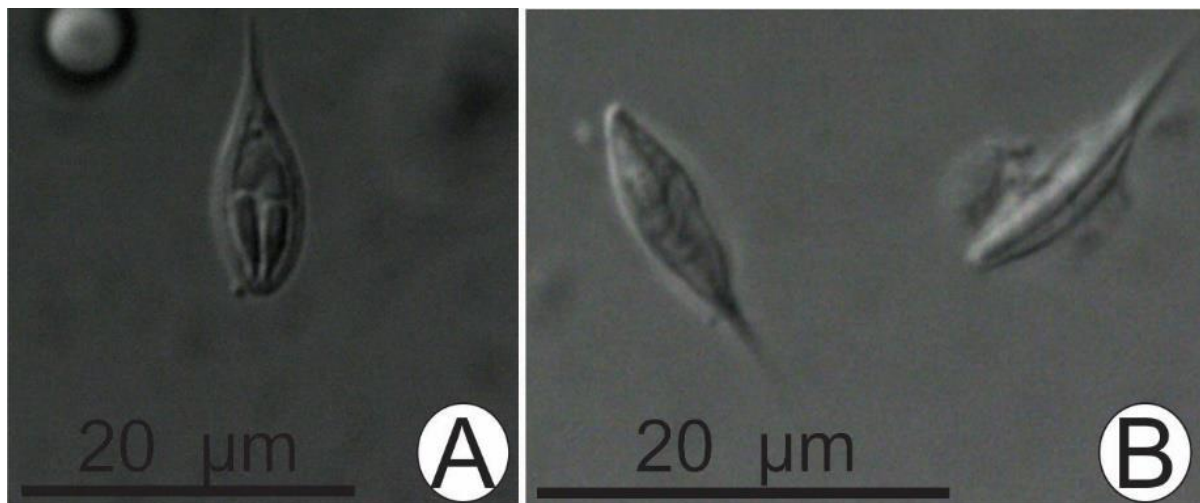
**Figura 25.** Árvore filogenética da análise bayesiana baseada em sequências parciais de *ssrDNA* mostrando a posição de *Henneguya sp.* 4 entre outras espécies de *Myxobolus/Henneguya* geneticamente semelhantes. Os números dos nós representam as probabilidades Bayesianas posteriores e os valores de bootstrap (BI / ML). Valores inferiores a 0,8/80 são representados por travessões. A barra de escala representa o número de substituições por site.

*Henneguya* sp. 4 foi comparado com *Henneguya* spp. que parasitam *R. quelen* (Tabela 7). *Henneguya jundiai* é a espécie que mais se assemelha a *Henneguya* sp. 4. No entanto, existem diferenças morfométricas em relação ao comprimento e largura do corpo do mixoesporo. Para *H. jundiai* o comprimento máximo do corpo do esporo relatado foi de 10,0  $\mu\text{m}$ , com uma média de 9,5  $\mu\text{m}$ , enquanto para *Henneguya* sp. 4 as medidas encontradas foram de  $10,7 \pm 0,5$  (10,1 – 11,6)  $\mu\text{m}$ . Em relação à largura do corpo do mixoesporo, ocorre o contrário, com *H. jundiai* apresentando medidas maiores do que as encontradas para *Henneguya* sp. 4 ( $4,6 \pm 0,4$  (4,1-5,5)  $\mu\text{m}$  vs  $3,8 \pm 0,3$  (3,2 – 4,2)  $\mu\text{m}$ , respectivamente). Além disso, *H. jundiai* parasita o arco branquial de *R. quelen*, enquanto *Henneguya* sp. 4 parasita os filamentos das brânquias. A comparação molecular com 106 nucleotídeos diferentes nas sequências parciais disponíveis para as espécies reforça a distinção entre essas duas espécies. Sobre os outros dois *Henneguya* spp. descritos parasitando *R. quelen*, *Henneguya* sp. 4 apresentou medidas menores em quase todas as características, além das diferenças moleculares que podem ser observadas na análise filogenética.

**Tabela 12.** Dados comparativos para *Henneguya* sp. 4 e *Henneguya* spp. de peixes Siluriformes da América do Sul. Todas as medições estão em µm. CT = comprimento total; CC = comprimento do corpo do mixoesporo; LC = largura do corpo do mixoesporo; CA = comprimento dos apêndices caudais; CP = comprimento da cápsula polar; LP = largura da cápsula polar; N = número de voltas do filamento polar; SI = local da infecção.

Species	CT	CC	LC	CA	CP	LP	N	Local da infecção	Hospedeiro
<i>Henneguya</i> sp. 4	24.9 ± 0.9 (23.3-26.8)	10.7 ± 0.5 (10.1-11.6)	3.8 ± 0.3 (3.2-4.2)	14.7 ± 1.4 (11.5-16.1)	4.8 ± 0.4 (3.8-5.5)	1.3 ± 0.2 (1.1-1.7)	6	Brânquias	<i>Rhamdia quelen</i>
<i>H. jundiai</i>	26.9 ± 1.9 (22.9-29.2)	9.5 ± 0.4 (8.8-10.0)	4.6 ± 0.4 (4.1-5.5)	17.3 ± 1.8 (14.1-19.8)	4.9 ± 0.3 (4.6-5.5)	1.4 ± 0.2 (1.2-1.7)	6-7	Brânquias	<i>R. quelen</i>
<i>H. quelen</i>	40.0 ± 2.8 (37.0 – 42.8)	15.6 ± 0.8 (14.3 – 16.4)	4.1 ± 0.3 (3.9 – 4.4)	24.3 ± 2.2 (21 – 26.5)	5.5 ± 0.5 (5.2 -6.0)	1.6 ± 0.2 (1.4 – 1.8)	-	Kidney	<i>R. quelen</i>
<i>H. rhamdia</i>	50.0 ± 1.8	13.1 ± 1.1	5.2 ± 0.5	36.9 ± 1.6	4.7 ± 0.4	1.1 ± 0.2	10-11	Brânquias	<i>R. quelen</i>
<i>H. guanduensis</i>	27.3 ± 38.1	11.4 ± 16.7	4.9 ± 7.9	15.6 ± 22.5	3.3 – 5.6 3.3 – 5.3	1.6 – 2.3 1.5 – 2.8	3-6	Brânquias	<i>Hoplosternum littorale</i>
<i>H. pseudoplatystoma</i>	33.2 ± 1.9	10.4 ± 0.6	3.4 ± 0.4	22.7 ± 1.7	3.3 ± 0.4	1.0 ± 0.1	6–7	Brânquias	Híbrido de <i>Pseudoplatystoma corruscans</i> and <i>P.fasciatum</i>
<i>H. eirasi</i>	37.1 ± 1.8	12.9 ± 0.8	3.4 ± 0.3	24.6 ± 2.2	5.4 ± 0.5	0.7 ± 0.1	12-13	Brânquias	<i>P. corruscans</i> and <i>P. fasciatum</i>
<i>H. multiplasmoidal</i>	30.8 ± 1.3	14.7 ± 0.5	5.2 ± 0.3	15.4 ± 1.3	6.1 ± 0.1	1.4 ± 0.1	6-7	Brânquias	<i>P.corruscans</i>
<i>H. corruscans</i>	27.6 (25-29)	14.3 (13-15)	5.0	13.7 (12-15)	6.8 (6-7)	2.0	5-6	Brânquias	<i>P.corruscans</i>
<i>H. maculosus</i>	-	13.7 ± 0.6	4.1 ± 0.2	17.5 ± 1.0	5.6 ± 0.5	1.6 ± 0.2	6-7	Brânquias	<i>P.corruscans</i>
<i>H. cuniculator</i>	29.4 ± 2.4	12.1 ± 1.0	4.8 ± 0.4	16.7 ± 2.0	6.2 ± 0.3	1.8 ± 0.1	10-11	Brânquias	<i>P.corruscans</i>
<i>H. melini</i>	40.8 ± 0.3 (40.3 – 41.1)	15.5 ± 0.2 (15.3 – 15.7)	4.7 ± 0.1 (4.6 – 4.8)	25.3 ± 0.1 (25.2 – 25.4)	4.8 ± 0.5 (4.3 – 5.3)	1.7 ± 0.3 (1.4 – 2.0)	5-6	Brânquias	<i>Corydoras melini</i>
<i>H. occulta</i>	36-46	16-20	8	20	8	-	-	Brânquias	<i>Loricaria</i> sp.

*Henneguya* sp. 5 (Figura 26) foi encontrado parasitando as brânquias de *R. quelen* coletado somente na área 4. Somente um espécime foi coletado e analisado. Esforço amostral será realizado para obtenção de mais amostras. Os plasmódios eram alongados e esbranquiçados e estavam localizados na região apical das lamelas branquiais. Os mixoesporos maduros eram arredondados e alongados na visão frontal e biconvexos na visão sutural medindo:  $13,1 \pm 0,7$  ( $12,6 - 13,7$ )  $\mu\text{m}$  no comprimento do corpo,  $5,2 \pm 1,3$  ( $4,2 - 6,0$ )  $\mu\text{m}$  no comprimento da cauda,  $19,1 \pm 1,4$  ( $17,8 - 21,4$ )  $\mu\text{m}$  no comprimento total do corpo do esporo,  $4,2 \pm 0,2$  ( $4,0 - 4,7$ )  $\mu\text{m}$  na largura do corpo do esporo,  $3,5 \pm 0,6$  ( $3,1 - 4,2$ )  $\mu\text{m}$  de espessura. Duas cápsulas polares de tamanho igual, piriformes, no polo anterior do mixoesporo, ocupando 1/2 do corpo, medindo  $4,3 \pm 0,6$  ( $3,2 - 4,8$ )  $\mu\text{m}$  de comprimento e  $1,5 \pm 0,2$  ( $1,2 - 1,6$ )  $\mu\text{m}$  de largura com 5-6 voltas dos túbulos polares. O esporoplasma é binucleado. Essa espécie foi coletada recentemente e ainda não obtivemos resultados em relação a análise molecular. A análise histológica dessa espécie está em processamento.



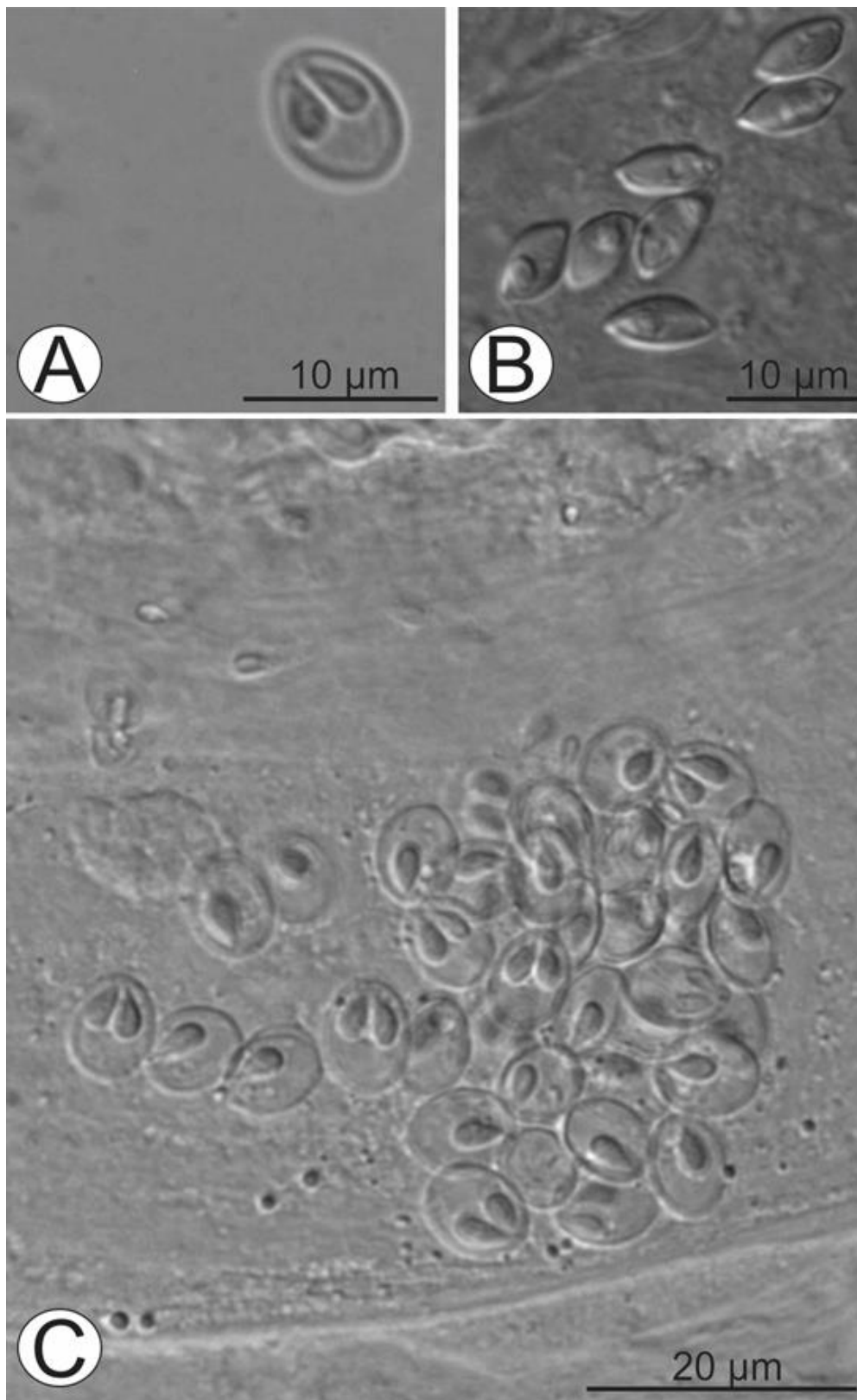
**Figura 26.** *Henneguya* sp. 5 encontrada parasitando as brânquias de *Rhamdia quelen* coletadas no Rio Pardo. A. Mixoesporo maduro em visão frontal. B. Mixoesporos maduros em visão sutural.

A distribuição de espécies encontradas parasitando *R. quelen* apresentou diferenças de acordo com a área, mas não houve diferenças em relação a prevalência (Tabela 13). Enquanto *Henneguya* sp. 4 foi encontrada em 40% dos espécimes coletados nas áreas 2 e 3, *Henneguya* sp. 5 foi encontrada parasitando o espécime coletado na área 4. É necessário aumentar o número de espécimes coletados na área 4 para consolidar os números e as comparações realizadas nesse estudo.

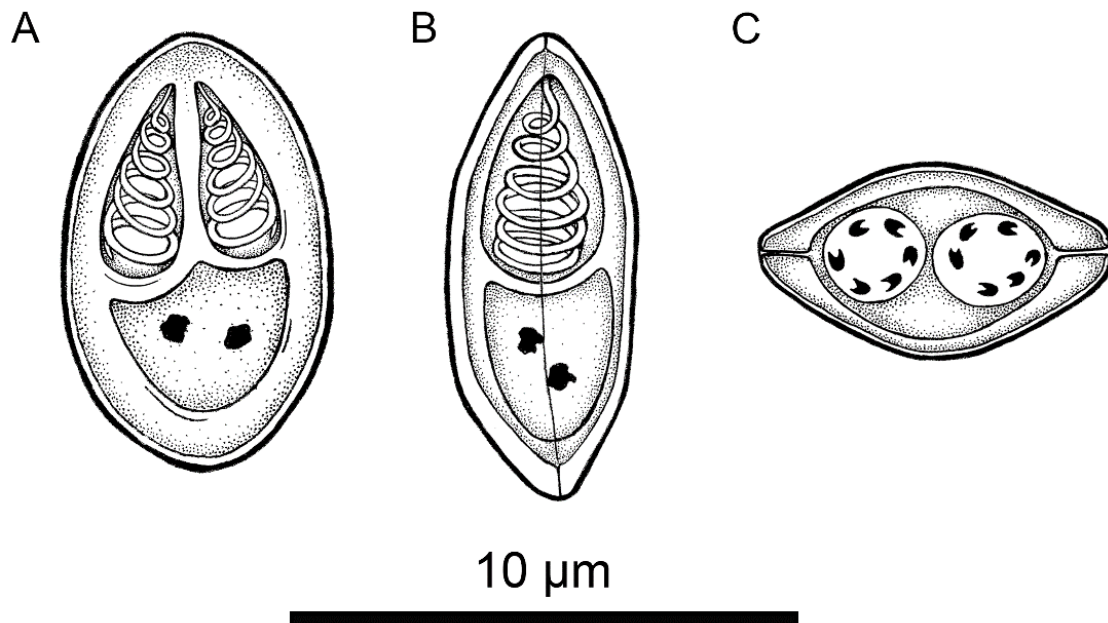
**Tabela 13.** Distribuição de mixozoários parasitando *Rhamdia quelen* coletados no Rio Pardo. – representa local onde a espécie não foi coletada.

	<i>Henneguya</i> sp. 4	<i>Henneguya</i> sp. 5
Área 1	–	–
Área 2	40% (4 de 10)	0%
Área 3	40% (2 de 5)	0%
Área 4	0%	100% (1 de 1)

*Myxobolus* sp. 3 (Figuras 27 e 28) foi encontrado parasitando as brânquias de *Imparfinis mirini* Haseman, 1911 coletados na área 2. Trinta espécimes de *I. mirini* foram examinados e nove (30%) apresentavam uma espécie desconhecida de *Myxobolus* no filamento branquial. Haviam cerca de 2 filamentos infectados por peixe parasitado. Não houve formação de plasmódios e os mixoesporos maduros eram redondos na visão valvular e biconvexos na visão sutural medindo:  $7,8 \pm 0,4$  (7,1 – 8,9)  $\mu\text{m}$  no comprimento total do corpo do esporo,  $5,9 \pm 0,4$  (5,1 – 6,6)  $\mu\text{m}$  na largura do corpo do esporo,  $3,9 \pm 0,3$  (3,4 – 4,4)  $\mu\text{m}$  de espessura. Duas cápsulas polares de tamanho igual, piriformes, no polo anterior do mixoesporo, ocupando 1/2 do corpo, medindo  $3,5 \pm 0,2$  (3,0 – 3,9)  $\mu\text{m}$  de comprimento e  $1,7 \pm 0,2$  (1,3 – 2,1)  $\mu\text{m}$  de largura com 6-7 voltas dos túbulos polares. O esporoplasma é binucleado.



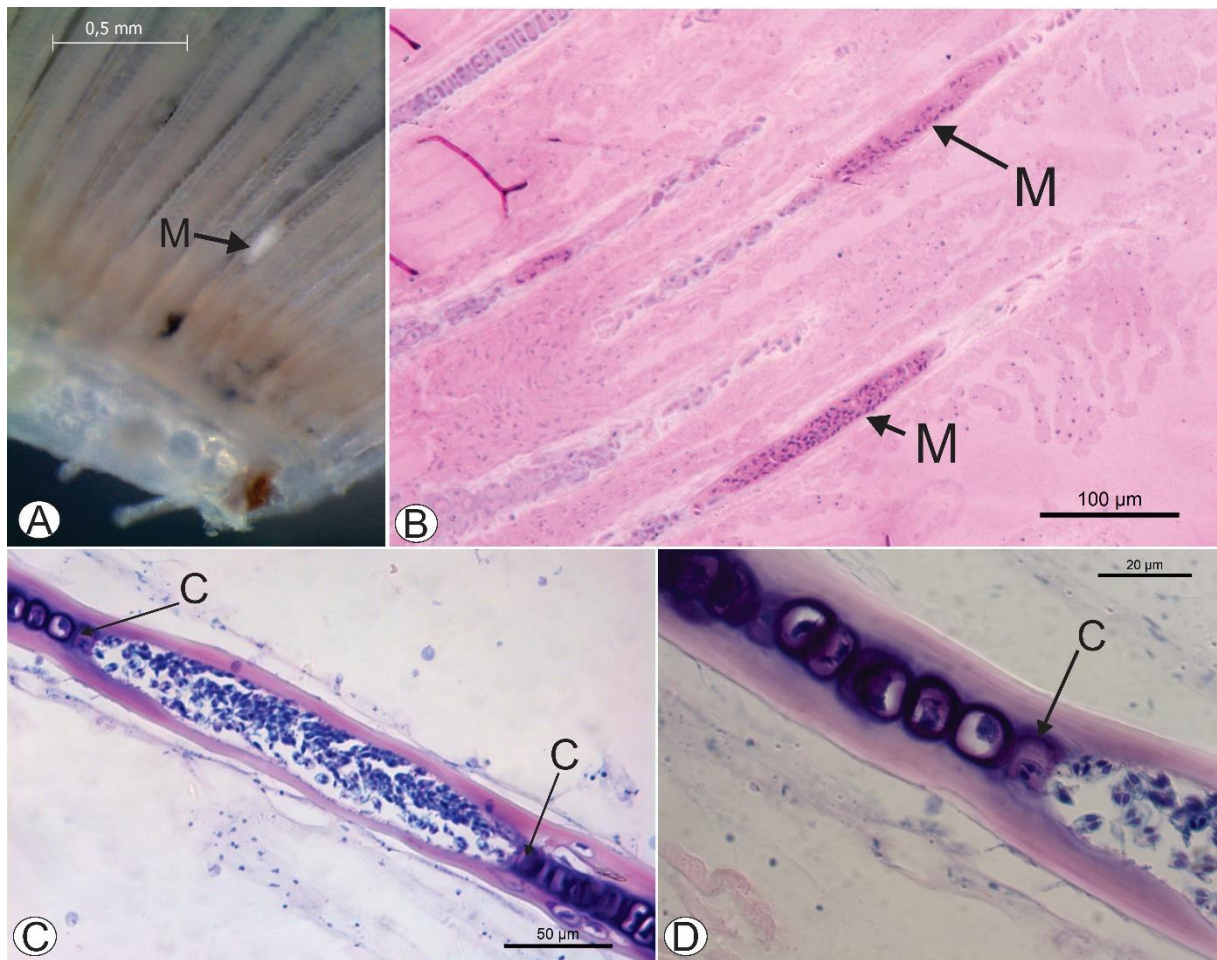
**Figura 27.** Mixoesporos de *Myxobolus* sp. 3 encontrados parasitando os filamentos das brânquias de *Imparfinis mirini* do Rio Pardo. A. Mixoesporo maduro de *Myxobolus* sp. 3 em vista frontal, mostrando duas cápsulas polares piriformes de tamanho igual localizadas lado a lado no polo anterior. B. *Myxobolus* sp. 3 em vista lateral. C. *Myxobolus* sp. 3 dentro da região do filamento das brânquias de seu hospedeiro.



**Figura 28.** Desenho esquemático de *Myxobolus* sp. 3 A. Desenho da visão frontal de *Myxobolus* sp. 3 B. Desenho da visão lateral de *Myxobolus* sp. 3 C. Visão apical de *Myxobolus* sp. 3.

Uma região esbranquiçada foi identificada nas regiões basal e central dos filamentos branquiais de *I. mirini* (Figura 29). A análise histológica mostrou a presença de uma massa de mixoesporos na camada de suporte cartilaginosa. Os mixoesporos eram circundados por condrócitos e não foi possível observar a formação de uma parede ao seu redor. Os mixoesporos foram circundados por espessa camada de tecido conjuntivo e foi observada pequena deformação do filamento branquial na região parasitada. Houve degradação dos condrócitos que estavam próximos aos mixoesporos e por todo o local onde os mixoesporos estão inseridos. Nenhuma reação inflamatória, infecção secundária ou produção excessiva de muco foi observada.

A infecção pode ser classificada como tipo intrafilamental e subtipo condreal. Segundo Molnár (2002), esse subtipo de infecção é raro, com poucas espécies relacionadas. Lovy et al. (2011) relataram *Henneguya* spp. causando a doença proliferativa das brânquias em *Ictalurus punctatus* (Rafinesque, 1818), levando à destruição da matriz da cartilagem e a respostas interessantes dos condrócitos, incluindo hiperplasia e hipertrofia em áreas desprovidas de colágeno. Na análise dessa espécie foram observadas necrose dos condrócitos e pequenas deformações dos filamentos branquiais. É provável que a necrose dos condrócitos cause danos estruturais à lamela, apesar disso, não foram observados sinais de patologia grave pela presença do parasito.



**Figura 29.** Imagem macroscópica mostrando massa de mixoesporos e análise histológica de *Myxobolus* sp. 3 parasitando os filamentos branquiais de *Imparfinis mirini* do Rio Pardo. A. Massa esbranquiçada de mixoesporos (M) de *Myxobolus* sp. 3 no filamento branquial de *Imparfinis mirini*. B. Massa de mixoesporos (M) encontrada na camada de suporte cartilaginosa das brânquias de *Imparfinis mirini*. Coloração H&E. C. Observe os condrócitos (C) necróticos ao redor dos mixoesporos. Coloração de Giemsa. D. Imagem de ampliação maior mostrando a presença de um mixoesporo dentro de um condrócito (C) necrótico. Coloração de Giemsa.

Três seqüências parciais de ssrDNA geneticamente idênticas de *Myxobolus* sp. 3 (1.839-bp, 1.628-bp e 1.624-bp) foram obtidas. A espécie que mais se assemelha geneticamente a *Myxobolus* sp. 3 é *Myxobolus imparfinis* Vieira, Tagliavini, Abdallah & Azevedo, 2018 com 97,0% de similaridade e 32 nucleotídeos diferentes (Tabela 14). A análise filogenética de espécies geneticamente semelhantes *Myxobolus* sp. 3 mostrou uma divisão em três clados principais (Figura 30). Em primeiro lugar, existe um agrupamento claro em dois grupos, sendo um deles principalmente composto por *Henneguya* spp. que parasitam peixes marinhos e os outros mixozoários que parasitam peixes de água doce. Dentro do clado de água doce, existem

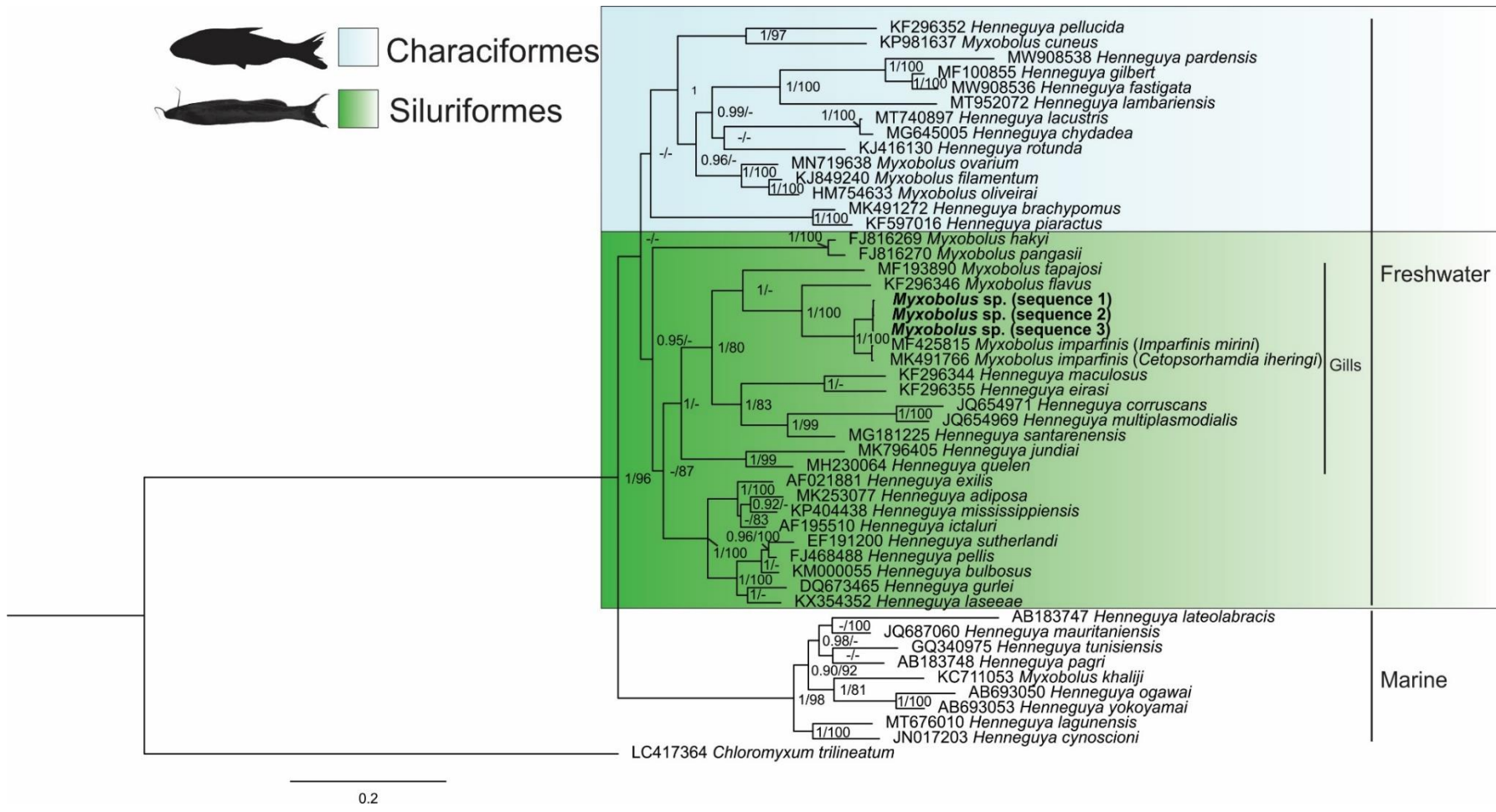


dois subclados, um composto por mixozoários que parasitam Characiformes e outro composto por mixozoários que parasitam Siluriformes, em que *Myxobolus* sp. 3 está inserido. *Myxobolus imparfinis* aparece como uma espécie irmã de *Myxobolus* sp. 3 em um subclado específico de mixozoários que parasitam as brânquias de seus hospedeiros.

As espécies analisadas filogeneticamente mostraram uma tendência geral de se agrupar com base na afinidade filogenética dos peixes hospedeiros, o que já foi relatado anteriormente (Carriero et al., 2013; Negrelli et al., 2019). Neste estudo, pode-se observar um agrupamento entre os peixes Siluriformes e Characiformes. Observamos também a divisão de acordo com o tipo de ambiente aquático (marinho ou de água doce) e pequenos subclados formados de acordo com o tecido do hospedeiro parasitado, o que também já havia sido relatado em estudos anteriores (Vieira et al., 2020). A filogenia sugere que possíveis espécies que podem ser descritas parasitando peixes da família Heptapteridae formarão um único subclado.

**Tabela 14.** A similaridade nas sequências de ssrDNA de *Myxobolus* spp., geneticamente semelhantes a *Myxobolus* sp. 3. Os dados acima da diagonal representam a porcentagem de similaridade de nucleotídeos; os dados abaixo da diagonal representam o número de nucleotídeos diferentes (p-distance).

Espécies	1	2	3	4	5	6	7	8
1 <i>Myxobolus</i> sp. 3		97.0	85.2	84.8	80.5	81.2	81.5	79.4
2 <i>M. imparfinis</i> MF425815	32		85.6	85.2	81.6	83.7	83.6	83.1
3 <i>M. flavus</i> KF296346	235	150		80.4	76.9	78.5	78.1	79.2
4 <i>M. tapajosi</i> MF193890	284	166	314		81.6	81.5	82.2	79.9
5 <i>M. cuneus</i> KP981637	367	198	375	345		84.7	85.0	82.4
6 <i>M. ovarium</i> MN719638	347	182	348	350	282		92.8	90.6
7 <i>M. filamentum</i> KJ849240	348	175	355	339	281	132		95.5
8 <i>M. oliveirai</i> HM754633	318	173	321	309	270	143	68	



**Figura 30.** Árvore filogenética da análise bayesiana baseada em seqüências parciais de ssrDNA mostrando a posição de *Myxobolus* sp. 3 entre outras espécies de *Myxobolus/Henneguya* geneticamente semelhantes. Os números dos nós representam as probabilidades Bayesianas posteriores e os valores de bootstrap (BI/ML). Valores inferiores a 0,8/80 são representados por travessões. A barra de escala representa o número de substituições por site.

Não há diferenças morfométricas relevantes entre *Myxobolus* sp. 3 e *M. imparfinis* e as espécies compartilham o mesmo hospedeiro, coletados na mesma bacia hidrográfica, e parasitam os filamentos branquiais. Porém, quando comparados molecularmente, uma diferença de 3% e 32 nucleotídeos diferentes foram encontrados entre as três sequências parciais do gene *ssrDNA* obtidas neste estudo e as três sequências parciais do gene *ssrDNA* de *M. imparfinis* disponíveis no GenBank. Essa diferença pode ser ainda maior, já que as sequências parciais disponíveis para *M. imparfinis* são de cerca de 1.000 bp e, possivelmente, se fossem maiores, poderiam mostrar mais nucleotídeos diferentes. Portanto, consideramos ambas as espécies crípticas e distintas.

As análises moleculares têm mostrado que a comparação de características morfológicas dos mixoesporos é insuficiente para sua classificação, tanto em nível de gênero quanto de espécie (Bartsová et al., 2011; Li et al., 2020). Rocha et al. (2019) mostraram uma grande diversidade de espécies crípticas de *Myxobolus* parasitando peixes Mugiliformes Günther, 1880. O fenômeno de espécies crípticas também foi relatado para outros *Myxobolus* spp. (Lisnerová et al., 2020) e para outros gêneros de mixozoários, por exemplo, *Chloromyxum* Mingazzini, 1890; *Sphaerospora* Thélohan, 1892; e *Zschokkela* Auerbach, 1910 (Bartsová et al., 2011; Holzer et al., 2013). A especiação entre *Myxobolus* sp. 3 e *M. imparfinis* pode ter ocorrido devido ao local onde *Myxobolus* sp. 3 foi encontrado. Como o Rio Pardo possui muitas barreiras naturais e artificiais, possui muitos locais de difícil acesso e trânsito de peixes. As diversas pequenas cachoeiras do local formam bolsões de água que podem impedir o deslocamento de algumas espécies de peixes para outras partes do rio, criando um local de isolamento. Outras hipóteses podem ser a especialização para diferentes localizações de peixes ou especificações para mudar para um hospedeiro definitivo diferente.

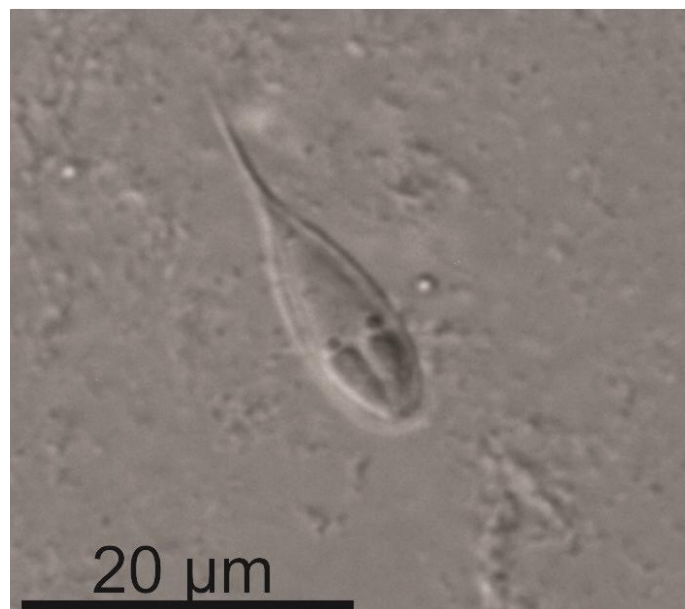
*Myxobolus* sp. 3 foi morfometricamente comparada com espécies descritas parasitando Siluriformes da América do Sul (Tabela 15). *Myxobolus flavus* Carriero, Adriano, Silva, Ceccarelli & Maia, 2013 e *Myxobolus sciades* Azevedo, Casal, Mendonça, Carvalho, Matos & Matos, 2010 mostraram o comprimento do corpo dos esporos semelhante ao observado em *Myxobolus* sp. 3. No entanto, *M. flavus* tem um comprimento de cápsula polar mais longo ( $4,5 \pm 0,2 \mu\text{m}$  vs  $3,5 \pm 0,2 \mu\text{m}$ ) e um número menor de voltas dos túbulos polares (4-5 vs 6-7) em comparação com *Myxobolus* sp. 3. *Myxobolus sciades* tem menor largura do corpo do esporo ( $4,36 \pm 0,23 \mu\text{m}$  vs  $5,9 \pm 0,4 \mu\text{m}$ ) e espessura ( $2,61 \pm 0,31 \mu\text{m}$  vs  $3,9 \pm 0,3 \mu\text{m}$ ) em comparação com *Myxobolus* sp. 3, além de uma diferença no número de voltas dos túbulos polares (9-10 vs 6-7). Em relação às demais espécies, todas apresentaram maior comprimento do corpo dos esporos em comparação com *Myxobolus* sp. 3.

**Tabela 15.** Comparação morfométrica entre *Myxobolus* sp. 3 e *Myxobolus* spp. de Siluriformes da América do Sul. CC: comprimento das cápsulas polares; LC: largura das cápsulas polares; NV: número de voltas dos filamentos polares. As medidas são fornecidas em  $\mu\text{m}$ .

Espécies	Comprimento do corpo	Largura do corpo	Espessura	CC	LC	NV	Local de infecção	Hospedeiro
<i>Myxobolus</i> sp. 3	$7.8 \pm 0.4$ (7.1 – 8.9)	$5.9 \pm 0.4$ (5.1 – 6.6)	$3.9 \pm 0.3$ (3.4 – 4.4)	$3.5 \pm 0.2$ (3.0 – 3.9)	$1.7 \pm 0.2$ (1.3 – 2.1)	6–7	Brânquias	<i>Imparfinis mirini</i>
<i>Myxobolus imparfinis</i>	$7.9 \pm 0.3$	$5.5 \pm 0.5$	$3.7 \pm 0.3$	$3.9 \pm 0.3$	$1.7 \pm 0.1$	6–7	Brânquias	<i>Imparfinis mirini</i>
<i>Myxobolus flavus</i>	$9.2 \pm 0.2$	$6.5 \pm 0.3$	$4.2 \pm 0.2$	$4.5 \pm 0.2$	$1.6 \pm 0.1$	4–5	Brânquias	<i>Pseudoplatystoma corruscans</i>
<i>Myxobolus tapajosi</i>	15.0	10.7	–	5.8	3.0	6–7	Brânquias	<i>Brachyplatystoma rousseauxii</i>
<i>Myxobolus niger</i>	$11.3 \pm 0.4$	$6.8 \pm 0.2$	$4.1 \pm 0.2$	$5.0 \pm 0.3$	$2.0 \pm 0.1$	6–7	Brânquias	<i>Corydoras melini</i>
<i>Myxobolus absonus</i>	$15.7 \pm 1.5$	$10.2 \pm 0.7$	–	$6.4 \pm 0.7^a$ ; $4.2 \pm 0.6^b$	$3.6 \pm 0.5^a$ ; $2.5 \pm 0.5^b$	3–5	Cavidade opercular	<i>Pimelodus maculatus</i>
<i>Myxobolus sciades</i>	$9.15 \pm 0.39$	$4.36 \pm 0.23$	$2.61 \pm 0.31$	$4.44 \pm 0.41$	$1.41 \pm 0.42$	9–10	Brânquias	<i>Sciades herzbergii</i>
<i>Myxobolus cordeiroi</i>	10.8–11.3	7.1–7.5	5.2–5.6	5.2–5.4	1.4–1.5	5–6	Brânquias, pele, bexiga urinárias, serosa e olhos	<i>Zungaro jahu</i>

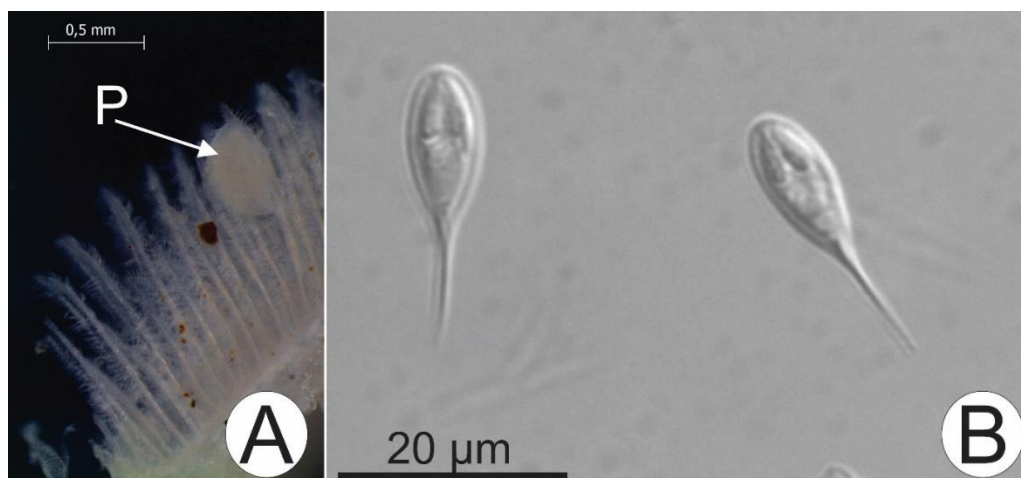
*Henneguya* sp. 6 (Figura 31) foi encontrado parasitando as brânquias de *Bryconamericus stramineus* Eigenmann, 1908 coletados na área 1. Dos 17 espécimes coletados e necropsiados apenas um (5%) estava parasitado. Os plasmódios eram esbranquiçados e disformes e os mixoesporos maduros eram alongados na visão frontal e biconvexos na visão sutural medindo:  $16,8 \pm 0,5$  ( $16,0 - 17,5$ )  $\mu\text{m}$  no comprimento do corpo,  $8,1 \pm 0,7$  ( $7,7 - 8,9$ )  $\mu\text{m}$  no comprimento da cauda,  $24,9 \pm 0,4$  ( $24,0 - 25,9$ )  $\mu\text{m}$  no comprimento total do corpo do esporo,  $5,1 \pm 0,4$  ( $4,8 - 5,5$ )  $\mu\text{m}$  na largura do corpo do esporo,  $3,9 \pm 0,3$  ( $3,5 - 4,4$ )  $\mu\text{m}$  de espessura. Duas cápsulas polares de tamanho igual, piriformes, no polo anterior do mixoesporo, ocupando 1/3 do corpo, medindo  $4,6 \pm 0,2$  ( $4,0 - 5,1$ )  $\mu\text{m}$  de comprimento e  $2,4 \pm 0,2$  ( $2,0 - 2,6$ )  $\mu\text{m}$  de largura com 4-5 voltas dos túbulos polares. O esporoplasma é binucleado.

Duas sequências parciais do gene *ssrDNA* de *Henneguya* sp. 6 de 1627-pb e 1899-pb foram obtidas. Quando alinhadas as sequências parciais se mostraram idênticas. A pesquisa realizada no Blastn com sequências parciais de espécies depositadas no GenBank, mostrou que nenhuma das sequências disponíveis é idêntica as sequências obtidas nesse estudo. A espécie que mais se assemelhou a *Henneguya* sp. 6 foi *H. lacustris*, uma espécie que parasita as brânquias de *A. lacustris*, com 95,9% de similaridade. A análise filogenética dessa espécie ainda será realizada.



**Figura 31.** Mixoesporo maduro de *Henneguya* sp. 6 encontrado parasitando as brânquias de *Bryconamericus stramineus* coletados no rio Pardo, Botucatu, Brasil. Note o esporoplasma binucleado, com os dois núcleos localizados logo abaixo de cada cápsula polar.

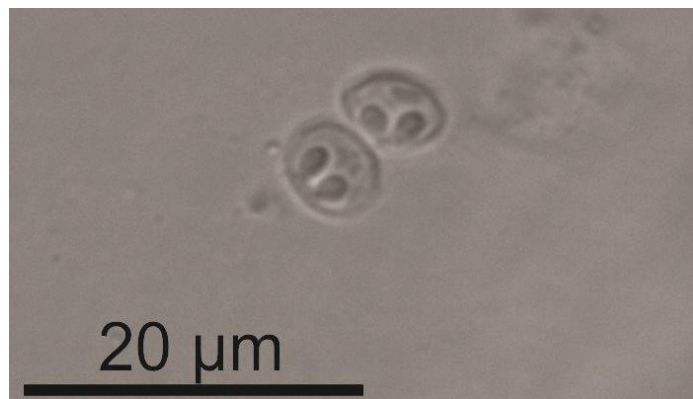
*Henneguya* sp. 7 (Figura 32) foi encontrado parasitando as brânquias de *Piabina argentea* Reinhardt, 1867 coletados na área 1. Dos 30 espécimes coletados e necropsiados dois (6%) estavam parasitados. Os plasmódios eram redondos e os mixoesporos maduros eram alongados na visão frontal e biconvexos na visão sutural medindo:  $13,1 \pm 0,3$  (12,5 – 13,5)  $\mu\text{m}$  no comprimento do corpo,  $10,9 \pm 0,6$  (10,1 – 11,4)  $\mu\text{m}$  no comprimento da cauda,  $24,2 \pm 0,7$  (23,6 – 24,9)  $\mu\text{m}$  no comprimento total do corpo do esporo,  $6,0 \pm 0,4$  (5,5 – 6,5)  $\mu\text{m}$  na largura do corpo do esporo,  $4,8 \pm 0,4$  (4,3 – 5,1)  $\mu\text{m}$  de espessura. Duas cápsulas polares de tamanho igual, piriformes, no polo anterior do mixoesporo, ocupando 1/3 do corpo, medindo  $4,7 \pm 0,3$  (4,2 – 4,9)  $\mu\text{m}$  de comprimento e  $2,1 \pm 0,3$  (1,9 – 2,4)  $\mu\text{m}$  de largura com 5-6 voltas dos túbulos polares. O esporoplasma é binucleado.



**Figura 32.** A. Brânquias de *Piabina argentea* parasitada com plasmódio (P) de *Henneguya* sp. 7. B. Mixoesporos maduros de *Henneguya* sp. 7 encontrados parasitando as brânquias de *Piabina argentea* coletadas no Rio Pardo, Botucatu, Brasil.

*Myxobolus* sp. 4 (Figura 33) foi encontrado parasitando a pele (região da nadadeira caudal) de *P. argentea* coletados na área 1. Dos 30 espécimes coletados e necropsiados apenas um (3%) estava parasitado. Os plasmódios eram escuros e arredondados, e os mixoesporos maduros (Figura B) eram ovais na visão frontal e biconvexos na visão sutural medindo:  $4,7 \pm 0,3$  (4,2 – 5,1)  $\mu\text{m}$  no comprimento do corpo,  $6,0 \pm 0,4$  (5,8 – 6,3)  $\mu\text{m}$  na largura do corpo do esporo,  $3,7 \pm 0,4$  (3,3 – 4,0)  $\mu\text{m}$  de espessura. Duas cápsulas polares de tamanho igual, no polo anterior do mixoesporo, ocupando 1/2 do corpo, medindo  $2,0 \pm 0,3$  (1,7 – 2,2)  $\mu\text{m}$  de comprimento e  $1,1 \pm 0,1$  (0,9 – 1,2)  $\mu\text{m}$  de largura com 3-4 voltas dos túbulos polares. O esporoplasma é binucleado. A análise molecular dessa espécie ainda será realizada.

Uma sequência parcial do gene *ssrDNA* de *Myxobolus* sp. 4 de 1527-pb foi obtida. A pesquisa realizada no Blastn com sequências parciais de espécies depositadas no GenBank, mostrou que nenhuma das sequências disponíveis é idêntica a sequência obtida nesse estudo. A espécie que mais se assemelhou a *Myxobolus* sp. 4 foi *Myxobolus dermatoulcerans* Stilwell, Stilwell, Camus, Rosser & Griffin, 2020, uma espécie que parasita a pele de *Pygocentrus nattereri* Kner, 1858, com 91,4% de similaridade. A análise filogenética dessa espécie ainda será realizada.



**Figura 33.** Mixoesporos maduros de *Myxobolus* sp. 4 encontrados parasitando a pele da nadadeira caudal de *Piabina argentea* coletadas no Rio Pardo, Botucatu, Brasil.

Até o momento foram encontradas 13 espécies diferentes de mixozoários parasitando peixes do Rio Pardo, sendo nove espécies de *Henneguya* e quatro espécies de *Myxobolus*. Destas, duas já foram descritas como novas espécies (*H. pardensis* e *H. fastigata*), duas estão sendo descritas como novas espécies (*Myxobolus* sp. 3 e *Henneguya* sp. 4) com análises morfológicas e moleculares em trabalhos já submetidos e as demais foram consideradas espécies novas em análises preliminares. Ainda não foram encontradas espécies já descritas para adicionarmos um novo registro de localidade. *Astyanax lacustris* foi a espécie de peixe com maior número de espécies diferentes de mixozoários parasitos encontrados, sendo duas espécies de *Henneguya* e uma espécie de *Myxobolus*. A área 2 foi a área com o maior número (cinco) de espécies diferentes de peixes parasitados até o momento. A maioria das espécies de mixozoários foi encontrada parasitando as brânquias de seus hospedeiros (onze), enquanto uma espécie foi encontrada parasitando a bexiga natatória de *A. lacustris* e uma foi encontrada parasitando a pele de *P. argentea*.

## MONOGENÉTICOS

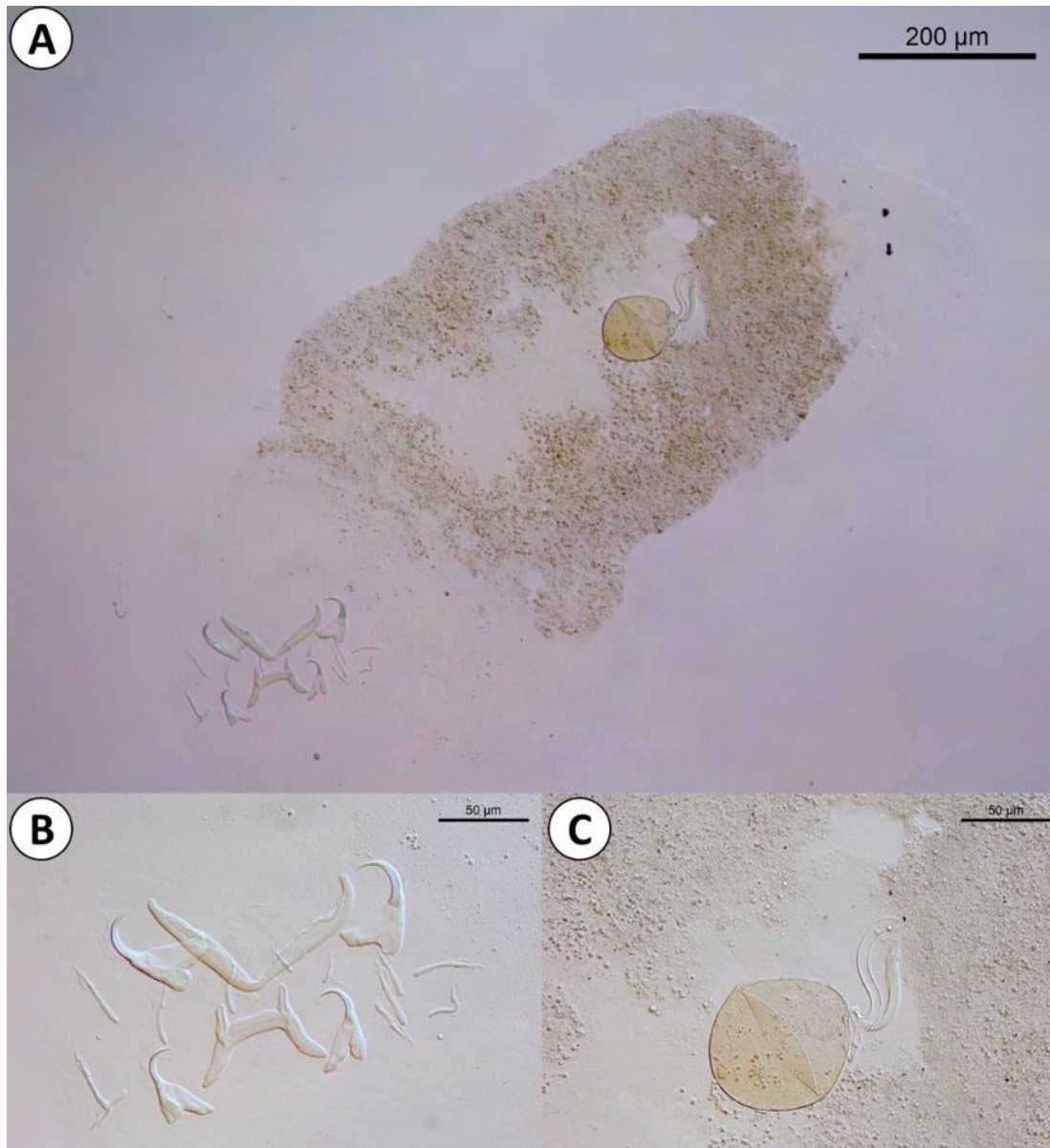
Até o presente momento foram processados monogenéticos parasitas de algumas espécies de hospedeiros: *Oreochromis niloticus*, *Cyphocharax modestus*, *Astyanax lacustris*, *Psalidodon bockmanni*, *Hypostomus ancistroides* e *Geophagus brasiliensis*.

Apenas *P. bockmanni* não apresentou infecção para monogenéticos, embora apenas 3 indivíduos tenham sido analisados.

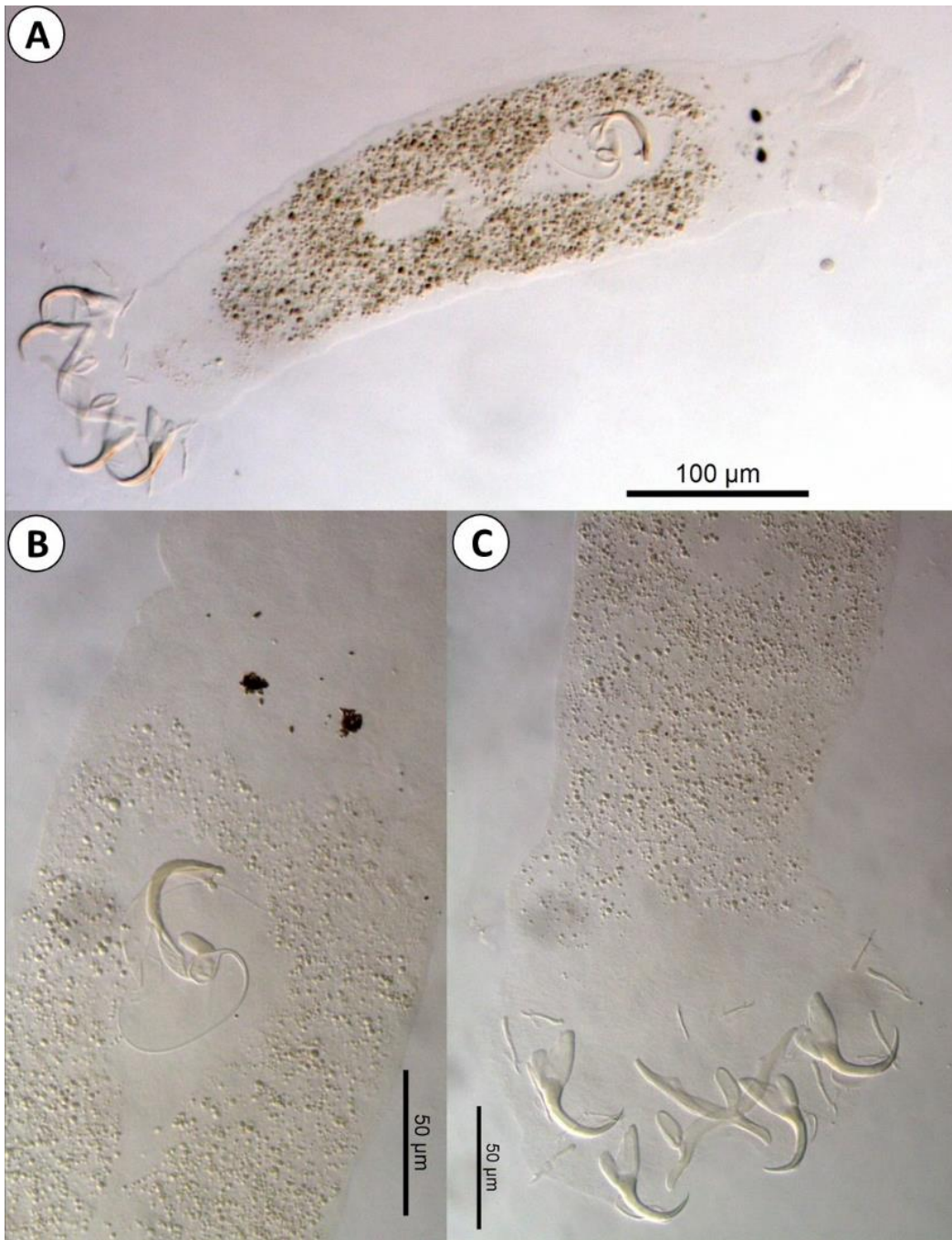
Em *O. niloticus* foram encontradas as espécies que comumente são relatadas em tilápias, a saber: *Cichlidogyrus halli* (Figura 34), *Cichlidogyrus mbirizei* (Figura 35), *Cichlidogyrus thurstone* (Figura 36), *Cichlidogyrus tilapiae* (Figura 37) e *Scutogyrus longicornis* (Figura 38). Porém registramos pela primeira vez a ocorrência de *Cichlidogyrus philander* (Figura 39) em tilápias no Brasil.

Destaca-se a questão ecológica associada a esta espécie de peixe visto que os exemplares foram coletados em região de nascente de rios e a presença desta espécie exótica neste tipo de ambiente pode gerar danos ecológicos importantes para a população de peixes nativas, como já demonstrado por diversos autores (Pullin et al., 1997; Canonico et al. (2005); Attayde et al., 2011; Bittencout et al., 2014).

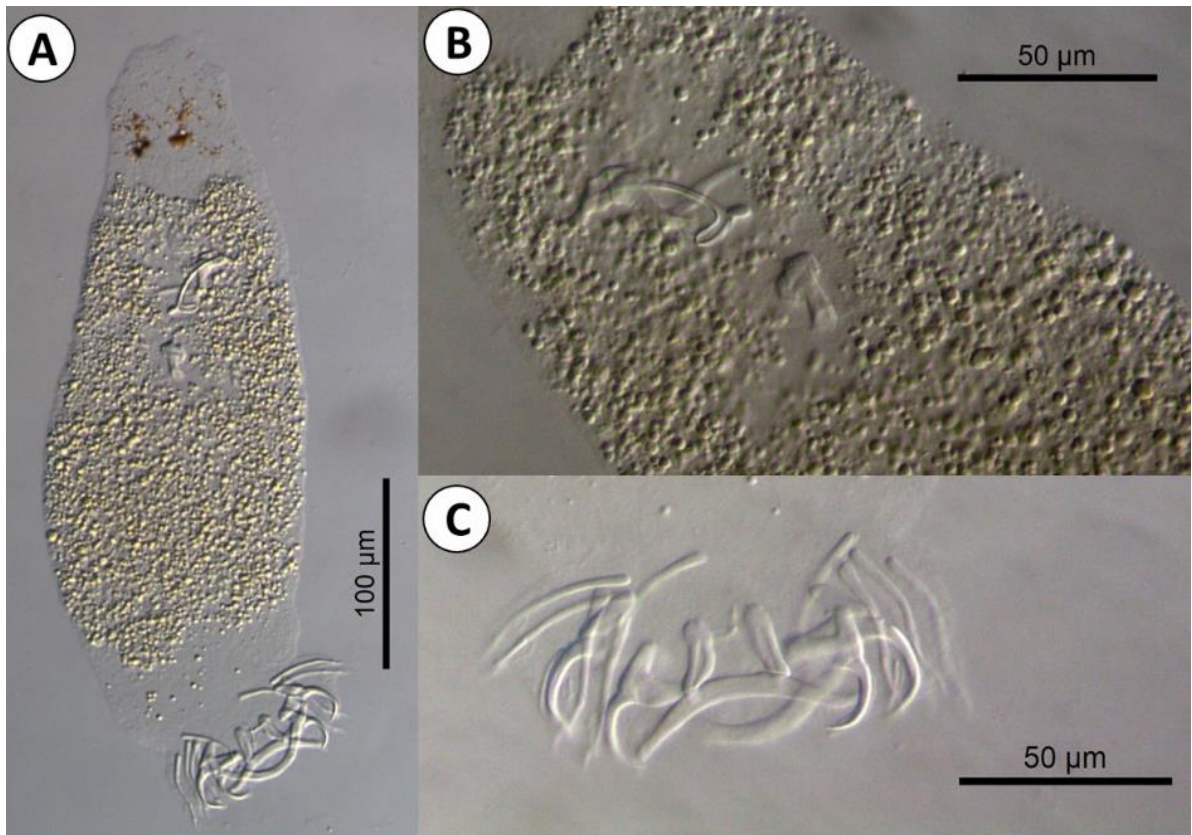




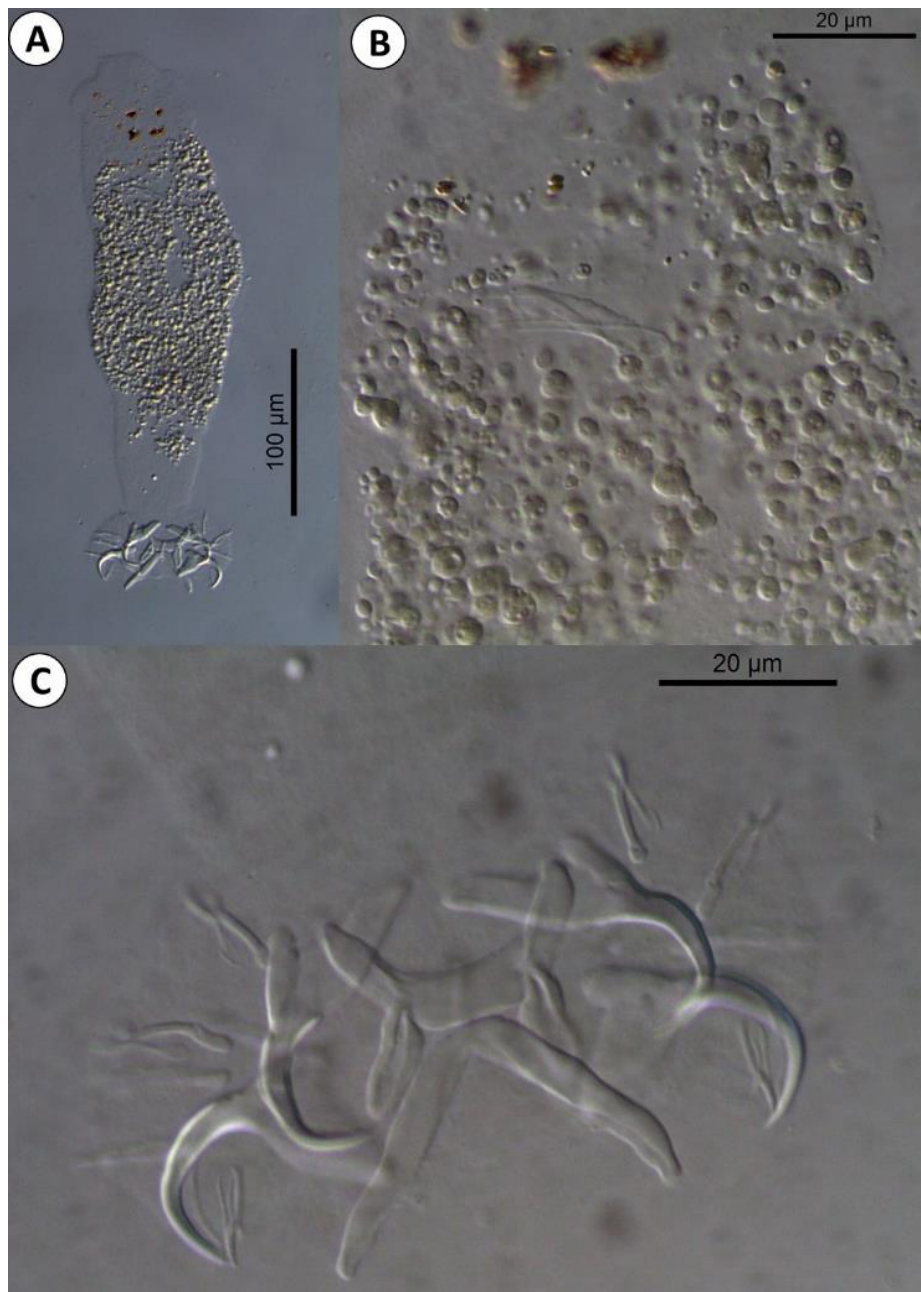
**Figura 34.** *Cichlidogyrus halli* coletado em *Oreochromis niloticus* no Rio Pardo, São Paulo. A) aspecto geral do corpo; B) Haptor - detalhe do haptor das âncoras, barras e ganchos; e C) Complexo copulatório – note também a presença de ovo junto ao complexo.



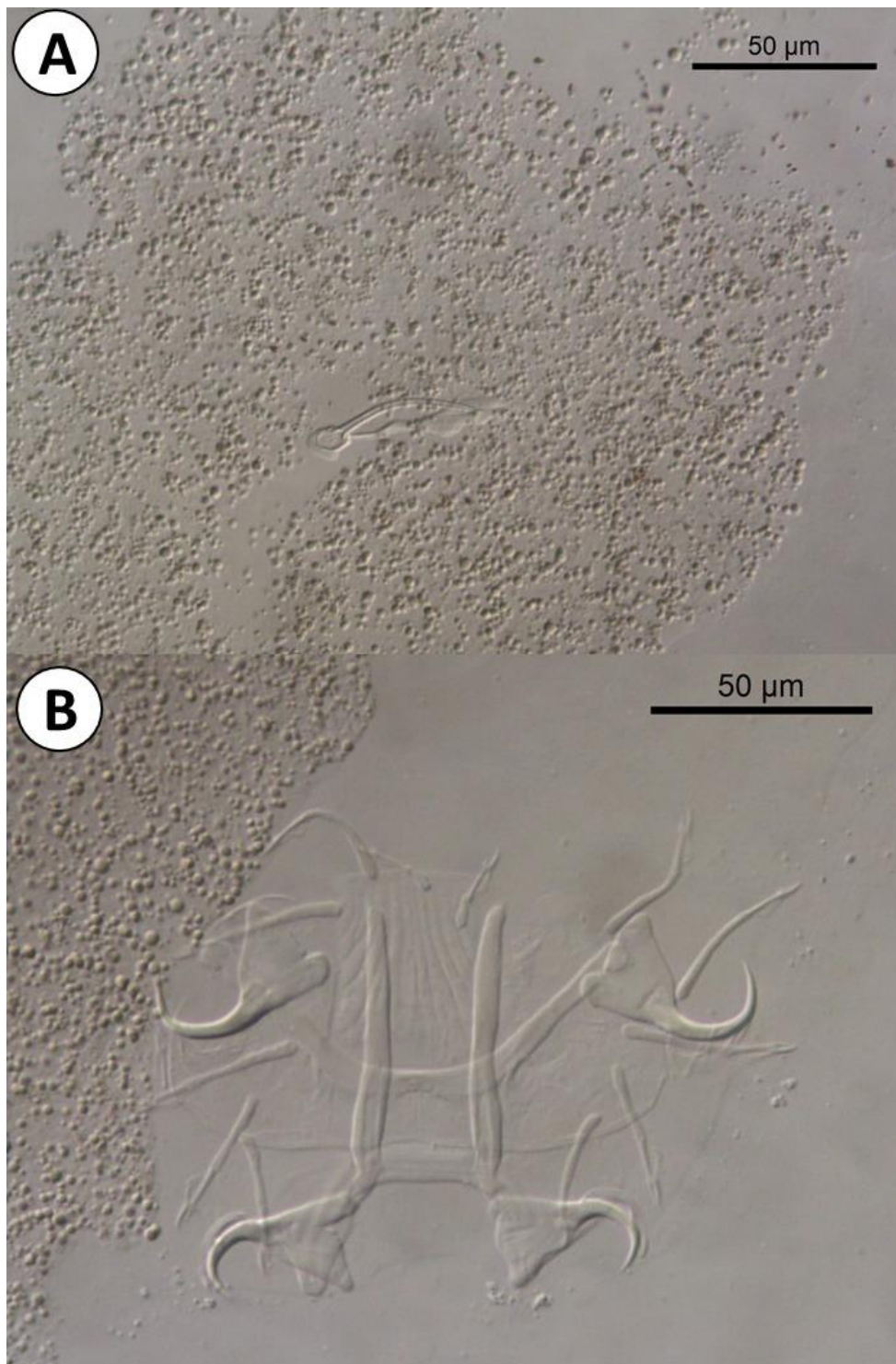
**Figura 35.** *Cichlidogyrus mbirizei* coletado em *Oreochromis niloticus* no Rio Pardo, São Paulo. A) aspecto geral do corpo; B) Complexo copulatório; e C) Haptor - detalhe do haptor das âncoras, barras e ganchos.



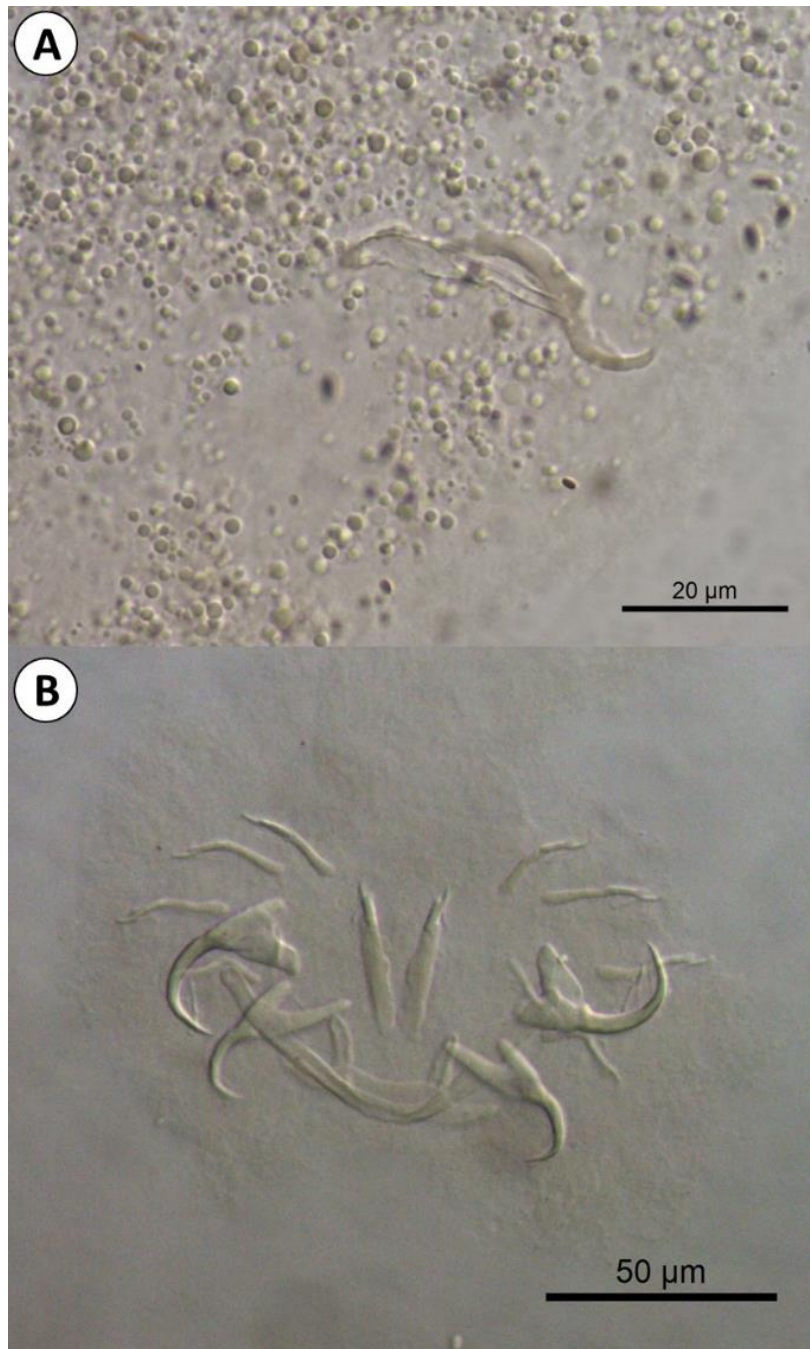
**Figura 36.** *Cichlidogyrus thurstone* coletado em *Oreochromis niloticus* no Rio Pardo, São Paulo. A) aspecto geral do corpo; B) Complexo copulatório e vagina; e C) Haptor - detalhe do haptor das âncoras, barras e ganchos.



**Figura 37.** *Cichlidogyrus tilapiae* coletado em *Oreochromis niloticus* no Rio Pardo, São Paulo. A) aspecto geral do corpo; B) Complexo copulatório; e C) Haptor - detalhe do haptor das âncoras, barras e ganchos.



**Figura 38.** *Scutogyrus longicornis* coletado em *Oreochromis niloticus* no Rio Pardo, São Paulo. A) Complexo copulatório; e B) Haptor - detalhe do haptor das âncoras, barras e ganchos.



**Figura 39.** *Cichlidogyrus philander* coletado em *Oreochromis niloticus* no Rio Pardo, São Paulo. A) Complexo copulatório; e B) Haptor - detalhe do haptor das âncoras, barras e ganchos.

As análises moleculares relacionadas aos monogênicos foram iniciadas com este grupo de parasitas. Foi obtido DNA genômico de 14 espécimes de monogênicos (Tabela 2).

**Tabela 16.** Descrição detalhada dos hospedeiros, sua identificação e local de coleta, identificação do espécime de monogenético e a identificação da amostra de DNA extraído.

Hospedeiro	Id hospedeiro	Ponto de Coleta	Monogenético (previamente identificado)	Identificação do DNA extraído
<i>Oreochromis niloticus</i>	R2	-	<i>Cichlidogyrus tilapiae</i>	R2TiI/01
			<i>Cichlidogyrus tilapiae</i>	R2TiI/02
<i>Oreochromis niloticus</i>	R4	-	Não id	R4TiI/01
<i>Oreochromis niloticus</i>	R6	-	Não id	R6TiI/01
<i>Oreochromis niloticus</i>	T7	P1	<i>Cichlidogyrus philander</i>	CPT7P1A
<i>Oreochromis niloticus</i>	T8	P1	<i>Cichlidogyrus thurstone</i>	CTHT8P1A
<i>Oreochromis niloticus</i>	T10	P1	<i>Cichlidogyrus halli</i>	CHT10P1A
			<i>Cichlidogyrus halli</i>	CHT10P1B
<i>Geophagus brasiliensis</i>		P4	Não id	GBP4A
<i>Oreochromis niloticus</i>	T1	P7	<i>Cichlidogyrus philander</i>	CPT1P7A
<i>Oreochromis niloticus</i>	T2	P7	<i>Cichlidogyrus philander</i>	CPT2P7A
<i>Oreochromis niloticus</i>	T5	P7	<i>Cichlidogyrus tilapiae</i>	CTT5P7A
<i>Oreochromis niloticus</i>	T7	P7	<i>Cichlidogyrus tilapiae</i>	CTT7P7A
<i>Oreochromis niloticus</i>	T9	P7	<i>Cichlidogyrus philander</i>	CPT9P7A

Para o gene COI, foram obtidas com sucesso seis sequencias de cinco espécimes diferentes (Tabela 17).

**Tabela 17.** Identificação das sequencias do gene COI obtidas neste estudo.

Número da Sequência	Monogenético (previamente identificado)	Identificação do DNA extraído
M13	<i>Cichlidogyrus tilapiae</i>	R2TiI/02
M17	<i>Cichlidogyrus tilapiae</i>	R2TiI/01
M47	<i>Cichlidogyrus halli</i>	CHT10P1A
M48	<i>Cichlidogyrus halli</i>	CHT10P1B
M52	<i>Cichlidogyrus tilapiae</i>	CTT5P7A
M53	<i>Cichlidogyrus tilapiae</i>	CTT7P7A

O alinhamento final das sequencias do gene COI incluiu 115 sequencias de *Cichlidogyrus* com tamanho de 589 nucleotídeos.

Ambas as análises de BI e ML utilizando a matriz com sequencias alinhadas resultaram em topologias semelhantes, com a maioria dos clados terminais bem suportados e a maioria dos clados basais pouco suportados. A reconstrução filogenética do COI rDNA (Figura X) posicionou todas as seis sequencias obtidas por este estudo em um clado com as demais espécies

disponíveis do gênero *Cichlidogyrus* obtidas através do banco de dados Genbank.

Apesar de atribuídas a espécies diferentes, *Cichlidogyrus halli* e *Cichlidogyrus tilapiae*, durante a identificação morfológica anterior à extração de DNA dos espécimes, as seis sequências obtidas foram agrupadas em um clado monofilético, sugerindo pouca divergência genética entre elas (retângulo azul em destaque na Figura X). Os resultados preliminares obtidos até o momento sugerem uma melhor investigação a cerca das espécies de *Cichlidogyrus*, a fim de realizar a correta identificação molecular dos espécimes de monogenéticos coletados. Para o gene 28S, não obtivemos boas sequências até o momento. Apesar da utilização de três pares de primers diferentes para amplificação deste fragmento de DNA, todas as sequências desse gene voltaram com perfil de contaminação. Desta forma, não foi possível a utilização das sequências. Novos primers e adequações nos protocolos de extração de DNA e amplificação deverão ser feitos visando a obtenção de sequências confiáveis para futuras análises.

Novas sequências de espécimes diferentes deverão ser obtidas para os dois genes em questão para serem utilizadas em análises mais robustas e assim contribuir para a investigação mais acurada das espécies de parasitas recuperadas nas amostras.

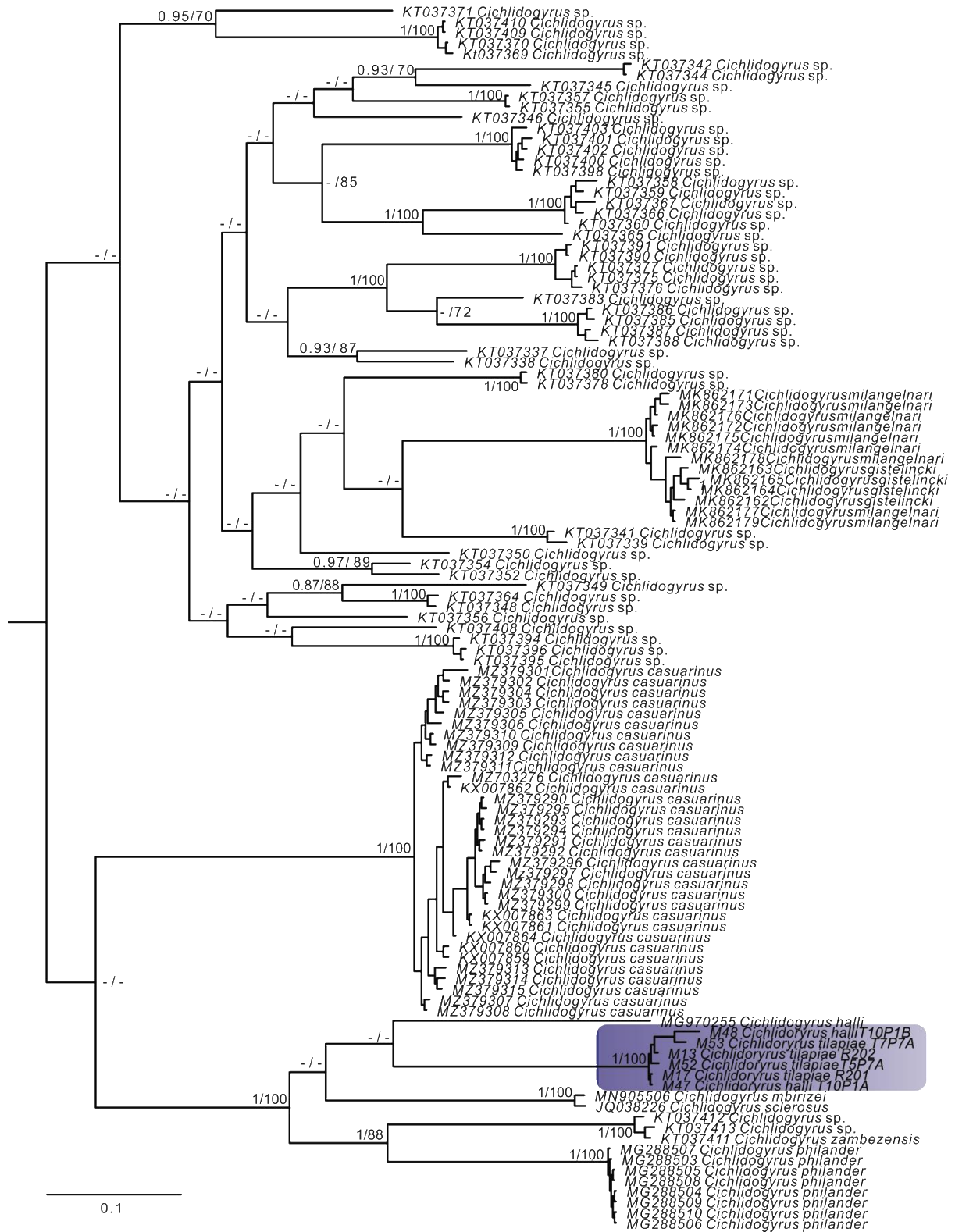
Em relação a *C. modestus*, apenas duas espécies de monogenéticos foram coletadas: *Annulotrematoides bonaerensis* (Figura 41) e uma espécie do gênero *Urocleidoides* (Figura 42) que, em nossa análise, representa uma nova espécie para a ciência que será descrita no próximo período.

Os exemplares de *A. lacustris* estavam infestados com duas de monogenéticos, *Diaphorocleidus neotropicalis* (Figura 43) e *Characithecium costaricensis* (Figura 44). Ambas as espécies já foram anteriormente relatadas para esse hospedeiro na bacia do Alto Paraná.

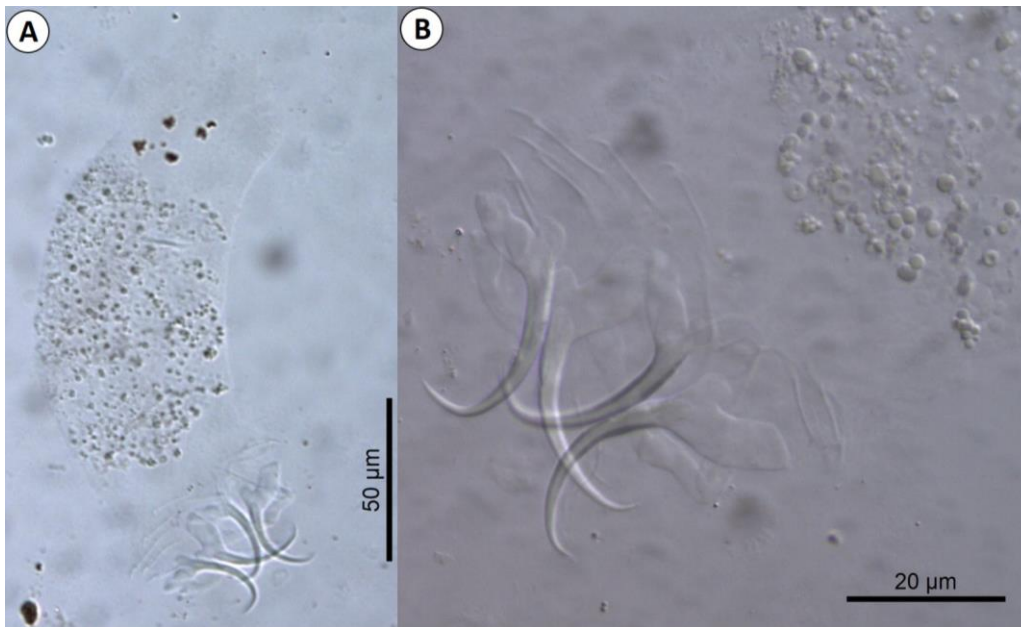
Em *G. brasiliensis*, apenas indivíduos de *Sciadicleithrum frequens* (Figura 45) foram encontradas e em *H. ancistroides*, apenas o monogenético *Trinigyrus peregrinus* (Figura 46).

Com exceção de *O. niloticus*, as outras espécies tiveram pouco indivíduos investigados para os monogenéticos. Para o próximo período, intensificaremos a pesquisa neste grupo de parasitos e esperamos encontrar uma diversidade maior destes parasitos. Ainda, a análise molecular destes parasitos está sendo padronizada e as espécies ainda não analisadas com essa metodologia serão processadas no próximo período.

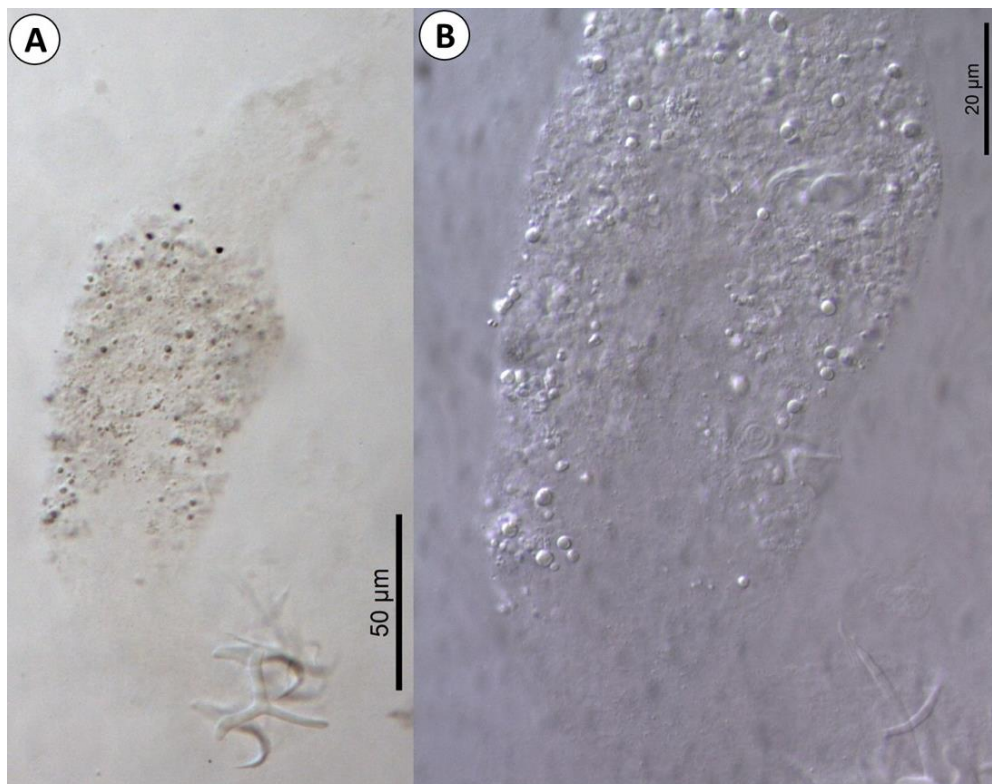




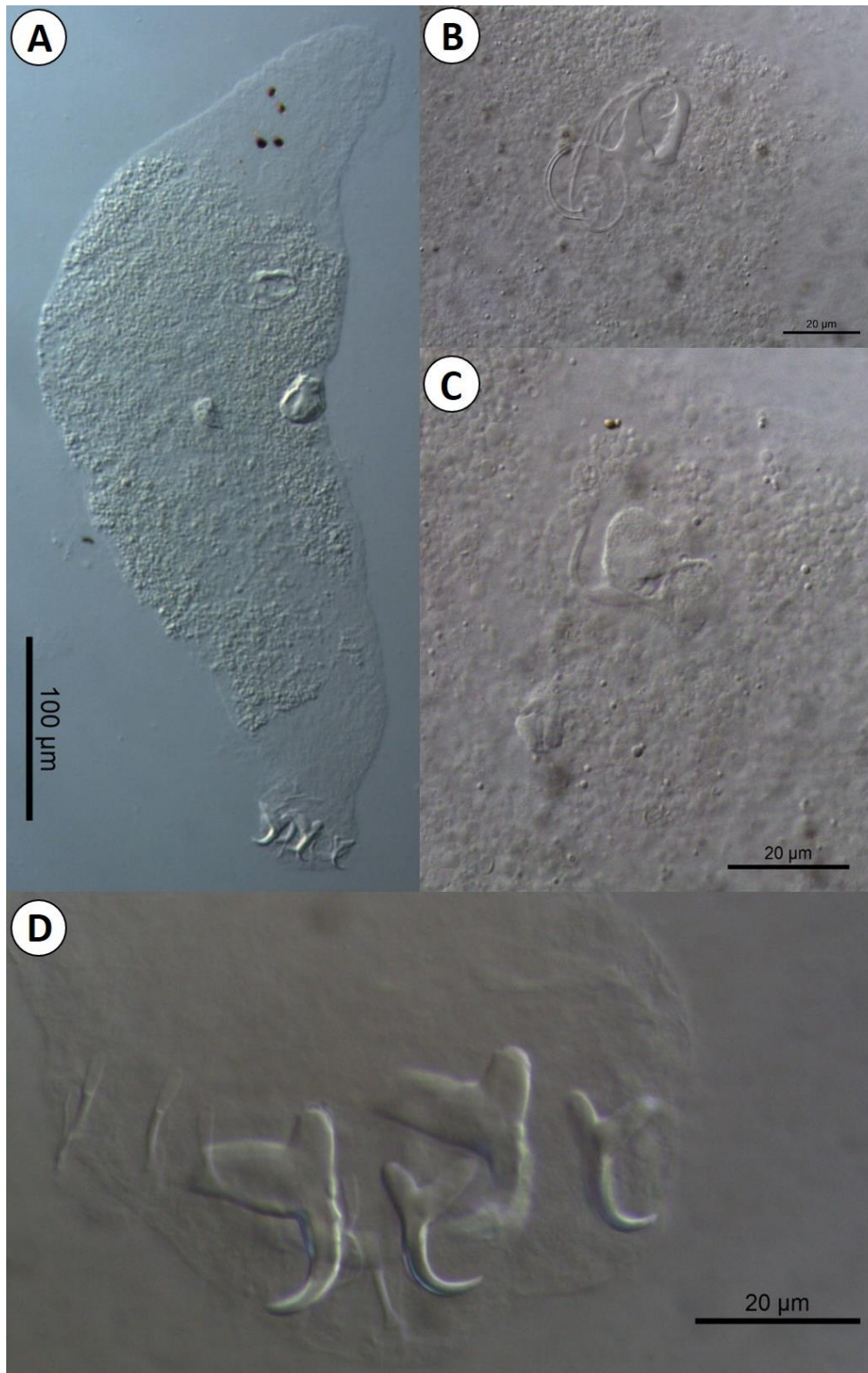
**Figura 40.** Topologia filogenética Bayesiana de *Cichlidogyrus* utilizando sequências do gene COI mDNA. Os valores de suporte sobre os pontos de ramificação correspondem à probabilidades posteriores Bayesianas (ramos considerados suportados > 0.90) seguidas de bootstraps de Maximum-likelihood (ramos considerados suportados > 70). Traços são mostrados para ramificações não suportadas pelas análises. A escala indica o número médio de substituições de nucleotídeos por locus. Novas seqüências estão destacadas em roxo.



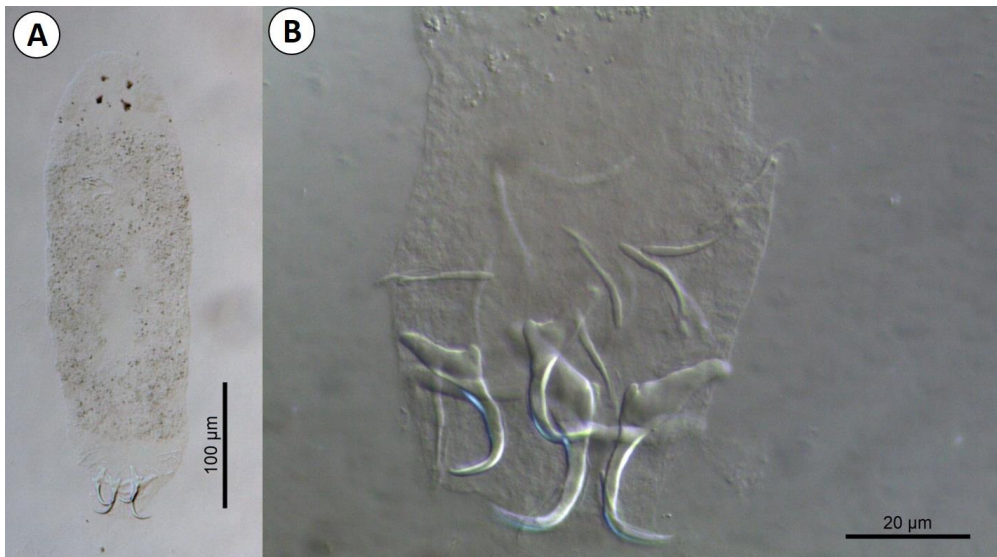
**Figura 41.** *Annulotrematoides bonaerensis* coletado em *Cyphocharax modestus* no Rio Pardo, São Paulo. A) aspecto geral do corpo; e B) Haptor - detalhe do haptor das âncoras, barras e ganchos.



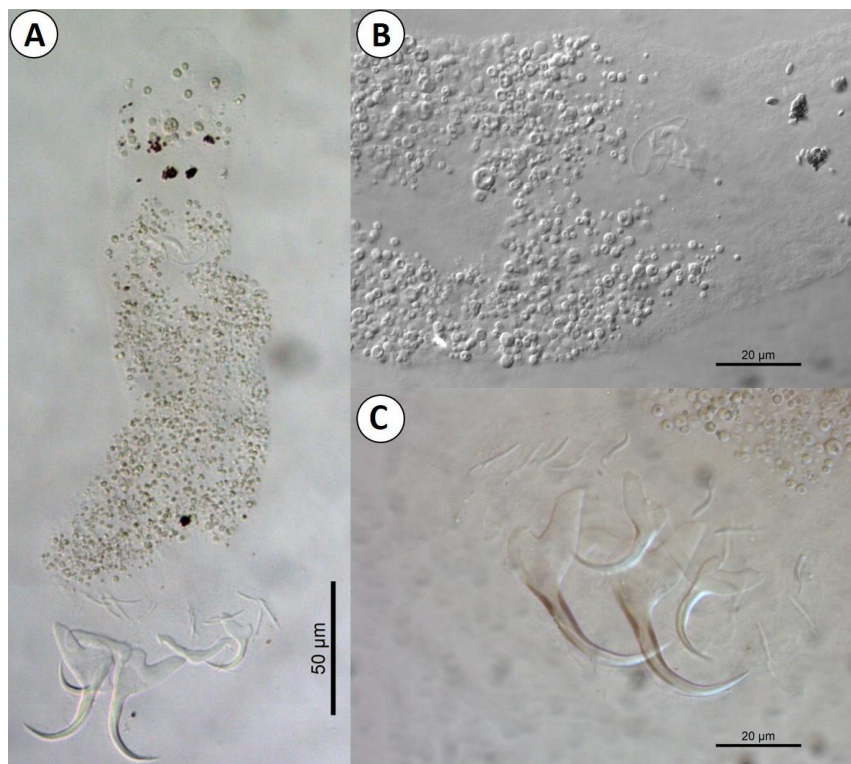
**Figura 42.** *Urocleidoides* n. sp. coletado em *Cyphocharax modestus* no Rio Pardo, São Paulo. A) aspecto geral do corpo; B) Complexo copulatório; e C) Haptor - detalhe do haptor das âncoras, barras e ganchos.



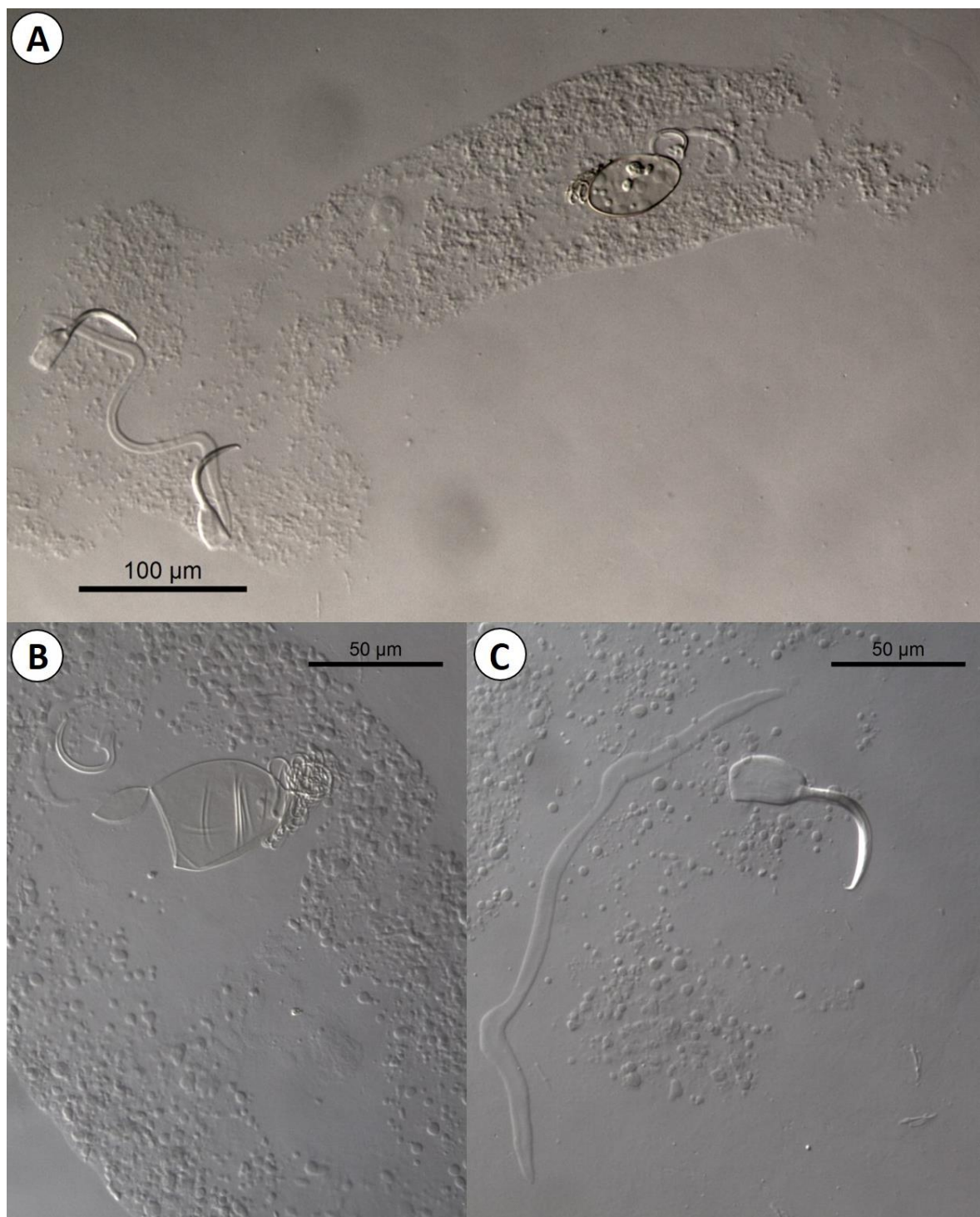
**Figura 43.** *Diaphorocleidus neotropicalis* coletado em *Astyanax lacustris* no Rio Pardo, São Paulo. A) aspecto geral do corpo; B) Complexo copulatório; C) Vagina; e D) Haptor - detalhe do haptor das âncoras, barras e ganchos.



**Figura 44.** *Characithecium costaricensis* coletado em *Astyanax lacustris* no Rio Pardo, São Paulo. A) aspecto geral do corpo; B) Complexo copulatório; e C) Haptor - detalhe do haptor das âncoras, barras e ganchos.



**Figura 45.** *Sciadicleithrum frequens* coletado em *Geophagus brasiliensis* no Rio Pardo, São Paulo. A) aspecto geral do corpo; B) Complexo copulatório; e C) Haptor - detalhe do haptor das âncoras, barras e ganchos.



**Figura 46.** *Trinigyryus peregrinus* coletado em *Hypostmus ancistroides* no Rio Pardo, São Paulo. A) aspecto geral do corpo; B) Complexo copulatório e ovo; e C) Haptor - detalhe do haptor com âncora, barra e ganchos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrunhosa, J.; Sindeaux-Neto, J. L.; Santos, S.; Hamoy, I.; Matos, E. (2018) A new species of myxozoa in the skeletal striated musculature of *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) (Siluriforme: Pimelodidae) Amazonian fish, Marajó island, Brazil. *Zootaxa*, v.4482, n.1, p.164-176.
- Andree, K. B.; Székely, C.; Molnár, K.; Gresoviac, S. J.; Hedrick, R. P. (1999). Relationships among members of the genus *Myxobolus* (Myxozoa: Bilvalvidae) based on small subunit ribosomal DNA sequences. *Journal of parasitology*, v.85, n.1, p.68-74.
- Arévalo, E.G.; Morey, G.A.M.; Malta, J.C.O. (2018). Parasitic fauna of *Prochilodus nigricans* (Prochilodontidae) from Brazilian Amazon floodplain lakes. *Biota Amazônia*, v.8, p.19-21.
- Attayde, J. L.; Brasil, J.; Menescal, R. A. (2011) Impacts of introducing Nile tilapia on the fisheries of a tropical reservoir in North-eastern Brazil. *Fisheries Management and Ecology*, v.18, p.437–443
- Bartošová, P.; Freeman, M. A.; Yokoyama, H.; Caffara, M.; Fiala, I. (2011) Phylogenetic position of *Sphaerospora testicularis* and *Latyspora scomberomori* n. gen. n. sp. (Myxozoa) within the marine urinary clade. *Parasitology*, v.138, n.3, p.381-393.
- Bittencourt, L. S.; Silva, U. R. L.; Silva, L. M. A.; Dias, M. T. (2014) Impact of the invasion from Nile tilapia on natives Cichlidae species in tributary of Amazonas River, Brazil. *Biota Amazônia*, v.4, n.3, p. 88-94.
- Boeger, W.A.; Thatcher, V.E. (1988) *Rhinergasilus piranhus* gen. et sp. n. (Copepoda, Poecilostomatoida, Ergasilidae) from the Nasal Cavities of Piranha Caju, *Sermsalmus nattereri*, in the Central Amazon. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, v.55, n.1, p. 87–90.
- Boxshall, G.A.; Defaye, D. (2008) Global diversity of copepods (Crustacea: Copepoda) in freshwater. *Hydrobiologia*, v.595, p.195-207.
- Boxshall, G. A.; Halsey, S. H. (2004) An introduction to copepod diversity. London. Ray Society.
- Bush, A.O.; Lafferty, K.D.; Lotz, J.M.; Shostak, A.W. (1997) Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. Revisited. *Journal of Parasitology*, v.83, p.575- 583.
- Canonico, G. C.; Arthington, A.; Mccrary. J. K.; Thieme, M. L. (2005) The effects of introduced tilapias on native biodiversity. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, v.15, p.463–483.

- Carriero, M. M.; Adriano, E. A.; Silva, M. R.; Ceccarelli, P. S.; Maia, A. A. (2013) Molecular phylogeny of the *Myxobolus* and *Henneguya* genera with several new South American species. *PLoS One*, v.8, n.9, e73713.
- Cech, G.; Molnár, K., Székely, C. (2012) Molecular genetic studies on morphologically indistinguishable *Myxobolus* spp. infecting cyprinid fishes, with the description of three new species, *M. alvarezae* sp. nov., *M. sitjæ* sp. nov. and *M. eirasianus* sp. nov. *Acta Parasitologica*, v.57, n.4, p.354-366.
- Eiras, J. C.; Takemoto, R. M.; Pavanelli, G. C. (2010) Diversidade dos parasites de peixes de água doce do Brasil. Cliche Tec, Maringá.
- Eiras, J. C.; Takemoto, R. M.; Pavanelli, G. C.; Adriano, E. A. (2011) About the biodiversity of parasites of freshwater fish from Brazil. *Bulletin-European Association of Fish Pathologists*, v.31, p.161-168.
- Godinho, H. P.; Godinho, A. L. (2003) Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais. PUC Minas, Belo Horizonte.
- Holzer, A. S.; Bartošová, P., Pecková, H.; Tyml, T.; Atkinson, S., Bartholomew, J.; Dyková, I. (2013) ‘Who's who’ in renal sphaerosporids (Bivalvulida: Myxozoa) from common carp, Prussian carp and goldfish—molecular identification of cryptic species, blood stages and new members of *Sphaerospora* sensu stricto. *Parasitology*, v.140, n.1, p.46-60.
- Kearse, M.; Moir, R.; Wilson, A.; Stones-Havas, S.; Cheung, M.; Sturrock, S.; Drummond, A. (2012) Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, v.28, n.12, p.1647-1649.
- Lacerda, A. C. F.; Takemoto, R. M.; Lizama, M. A. P.; Pavanelli, G. C. (2007) Parasitic copepods in the nasal fossae of five fish species (Characiformes) from the upper Paraná river floodplain, Paraná, Brazil. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, v.29, p.429-435.
- Li, Y. C.; Inoue, K.; Tanaka, S.; Zhang, J. Y.; Sato, H. (2020) Identification of four new *Kudoa* spp. (Myxozoa: Myxosporidia: Multivalvulida) in commercial fishes collected from South China Sea, Atlantic Ocean, and Bering Sea by integrated taxonomic approach. *Parasitology Research*, v.119, p.2113-2128.
- Lisnerová, M.; Blabolil, P.; Holzer, A.; Jurajda, P.; Fiala, I. (2020) Myxozoan hidden diversity: the case of *Myxobolus pseudodispar* Gorbunova, 1936. *Folia Parasitologica*, v.67, p.19.
- Lom, J.; Arthur, J. R. (1989). A guideline for the preparation of species descriptions in Myxosporidia. *Journal of Fish Diseases*, v.12, n.2, p.151-156.
- Lovy, J.; Goodwin, A. E.; Speare, D. J.; Wadowska, D. W., Wright, G. M. (2011) Histochemical and ultrastructural analysis of pathology and cell responses in gills of

- channel catfish affected with proliferative gill disease. *Diseases of Aquatic Organisms*, v.94, n.2, p.125-134.
- Luque, J.L.; Tavares, L.E.R. (2007) Checklist of Copepoda associated with fishes from Brazil. *Zootaxa*, v.479, p.1-39.
- Luque, J.L., Pavanelli, G., Veira, F., Takemoto, R., Eiras, J. (2013) Checklist of Crustacea parasitizing fishes from Brazil. *Check List*, v.9, p.1449-1470.
- Marques, T.M.; Boeger, W.A. (2018) Proposal of *Tiddergasilus* gen. nov. (Ergasilidae: Cyclopoida) for *T. iheringi* comb. nov. from the gills of *Hoplias malabaricus* (Erythrinidae: Characiformes) from Brazil. *Zoologia*, v.35, p.1–6.
- Molnár, K. (2002) Site preference of fish myxosporeans in the gill. *Diseases of Aquatic Organisms*, v.48, n.3, p.197-207.
- Montú, M.A.; Boxshall, G.A. (2002) *Gauchergasilus*, a new genus for *Ergasilus euripedesi* Montú, 1980, an abundant parasitic copepod from the Patos Lagoon in southern Brazil. *Systematic Parasitology*, v.51, p.21-28.
- Morey, G.A.M.; Malta, J.C.O. (2016) The species of copepoda (Crustacea: Ergasilidae) parasites of gill filaments and nostrils of *Serrasalmus altispinis* (Merckx, Jégu and Santos, 2000) (Characiformes: Serrasalmidae) of central Amazon floodplain lakes, Brazil. *Folia Amazónica*, v.25, p.55-60.
- Morey, G.A.M.; Moreira, A.C.; Morais, A.M.; Atroch, F.M.P.B.; Santana, H.P.; Brandão, N.R.; Dumbo, I.J.C.; Vital, J.F.; Malta, J.C.O. (2016) Copepods (Crustacea: Ergasilidae) fish parasites of floodplain lakes of central Amazon, Brazil. *Neotropical Helminthology*, v.10, p.281-294
- Narciso, R. B. (2020) Taxonomia e diversidade de espécies de ergasilídeos parasitas de peixes de água doce dos tributários e lagoas do reservatório de Jurumirim, SP. Dissertação – Mestrado. Instituto de Biociências. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 109p.
- Narciso, R.B.; Brandão, H.; Perbiche-Neves, G.; Silva, R.J. (2019) A New Species of *Rhinergasilus* Boeger et Thatcher, 1988 (Copepoda: Ergasilidae) from Gills of *Astyanax fasciatus* (Cuvier, 1819) (Actinopterygii: Characidae). *Acta Parasitologica*, v.65, p.327-334.
- Narciso, R.B.; Brandão, H.; Perbiche-Neves, G. & Silva, R.J. (2019) New Genus of Ergasilidae (Copepoda: Cyclopoida) from the Gills of *Astyanax fasciatus* (Cuvier, 1819) (Actinopterygii: Characidae). *Acta Parasitologica*, v.64, n.4, p.850–865.



- Narciso, R.B.; Perbiche-Neves, G. & Silva, R.J. (2021) *Rhinergasilus unguilongus* n. sp. (Copepoda: Ergasilidae): A Gill Parasite of the Freshwater Fish *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1837) (Actinopterygii: Prochilodontidae) from the Neotropical Region, Brazil. *Acta Parasitologica*, v.66, n.4, p.155–162.
- Negrelli, D. C.; Vieira, D. H. M. D.; Tagliavini, V. P.; Abdallah, V. D.; de Azevedo, R. K. (2019) Molecular and morphological analysis of *Henneguya jundiai* n. sp. (Cnidaria: Myxosporea), a new parasite of the gills of *Rhamdia quelen* in Brazil. *Acta Tropica*, v.197, p.105053.
- Ogawa, K.; Delgahapitiya, K. P.; Furuta, T.; Wakabayashi, H. (1992) Histological studies on the host response to *Myxobolus artus* Akhmerov, 1960 (Myxozoa: Myxobolidae) infection in the skeletal muscle of carp, *Cyprinus carpio* L. *Journal of Fish Biology*, v.41, n.3, p.363-371.
- Pavanelli, G.C.; Takemoto, R.M.; Eiras, J.C. (2013) Parasitologia: Peixes de água doce do Brasil. Eduem, Maringá
- Posada, D. (2008) jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular biology and evolution*, v.25, n.7, p.1253-1256.
- Pullin, R.S.V.; Palomares, M.L.; Casal, C.V.; Day, M.M.; Pauly, D. (1997) Environmental impacts of tilapias. p. 554-570. In: K. Fitzsimmons (ed.) *Tilapia aquaculture - Proceedings from the fourth international symposium on Tilapia in aquaculture*. Northeast Regional Agricultural Engineering Service Cooperative Extension, Ithaca, New York. Vol 2.
- Rambaut, A. (2012) FigTree. Tree figure drawing tool. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- Rocha, S.; Azevedo, C.; Oliveira, E.; Alves, Â.; Antunes, C.; Rodrigues, P.; Casal, G. (2019). Phylogeny and comprehensive revision of mugiliform-infecting myxobolids (Myxozoa, Myxobolidae), with the morphological and molecular redescription of the cryptic species *Myxobolus exiguus*. *Parasitology*, v.146, n.4, p.479-496.
- Ronquist, F.; Huelsenbeck, J. P. (2003) MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, v.19, n.12, p.1572-1574.
- Stilwell, J. M.; Camus, A. C.; Leary, J. H.; Mohammed, H. H.; Griffin, M. J. (2019) Molecular confirmation of *Henneguya adiposa* (Cnidaria: Myxozoa) and associated histologic changes in adipose fins of channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Teleost). *Parasitology Research*, v.118, n.5, p.1639-1645.
- Takemoto, R.M.; Pavanelli, G.C.; Lizama, M.A.P; Lacerda, A.C.F.; Yamada, F.H.; Moreira, L.H.A; Ceschini, T.L.; Bellay, S. (2009) Diversity of parasites of fish from the Upper Paraná River floodplain, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, v.69, p.691-705.

- Thatcher, V.E. (2006) Amazon fish parasites. 1a. ed. Sofia-Moscow. Pensoft Publishers.
- Varella, A.M.B. (1992) Copépodos (Crustacea) parasitas das fossas nasais de peixes, coletados na região de Rondônia, Brasil. Tese – Doutorado. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 105p.
- Vieira, D. H. M. D., Rangel, L. F., Tagliavini, V. P., Abdallah, V. D., Santos, M. J., & de Azevedo, R. K. (2020) A new species, *Henneguya lacustris* n. sp. (Cnidaria: Myxosporea), infecting the gills of *Astyanax lacustris* from Brazil. *Parasitology Research*, v.119, n.12, p.4259-4265.

### CRONOGRAMA DAS ETAPAS SEGUINTE

Será dada continuidade nas coletas dos peixes nos dois últimos pontos de coletas (A5 e A6), necropsias e identificação taxonômica e molecular dos parasitos.

Etapas	2021				2022			2023
	2T	3T	4T	1T	2T	3T	4T	1T
<b>E1</b>	X	X	X	X	X			
<b>E2</b>	X	X	X	X	X			
<b>E3</b>	X	X	X	X	X	X	X	X
<b>E4</b>			X	X	X	X	X	X
<b>E5</b>				X				
<b>E6</b>								X

**E1** – Coletas bimestrais nos pontos de coleta pré-estabelecidos; **E2** – Necropsia dos hospedeiros; **E3** – Processamento e identificação dos parasitos; **E4** – Análises moleculares dos parasitos obtidos; **E5** – Elaboração de relatório parcial do projeto; **E6** – Elaboração de Relatório final do projeto. As etapas em vermelho representam atividades já executadas. As etapas em preto, representam as atividades a serem desenvolvidas no segundo ano do projeto.

### DESCRIÇÃO E AVALIAÇÃO DO APOIO INSTITUCIONAL RECEBIDO NO PERÍODO

Os recursos da Reserva Técnica Institucional ainda não foram repassados para a Universidade e, portanto, o projeto não teve nenhum apoio institucional específico até o momento. Por outro lado, a Instituição está dando todo apoio logístico para a prestação de contas do projeto, através do Escritório Regional de Pesquisa (ERAPI), o que contribui sobremaneira o desenvolvimento do projeto.

## PLANO DE GESTÃO DE DADOS

O plano de gestão de dados está sendo implementado no projeto, de acordo com o planejamento inicial. Até o presente momento, todos os dados gerados e apresentados na forma de relatório estão sendo depositados no repositório da Unesp e disponibilizados para acesso público.

As publicações resultantes do projeto também podem ser acessadas no link “New Taxa Described”, disponibilizado no site do nosso laboratório no Instituto de Biociências: <https://www.ibb.unesp.br/#!/ensino/departamentos/parasitologia/laboratorios/laboratorio-de-parasitologia-de-animais-silvestres/new-taxa-described/>

Para o próximo período, após a identificação taxonômica completa, todos os *taxa* descritos ou relatados serão depositados em Coleção Helminológica e também disponibilizados para a comunidade. Para as espécies novas já publicadas, as espécies estão disponibilizadas em Coleções (ver seção específica nos artigos)

## PUBLICAÇÕES REALIZADAS NO PERÍODO

### Artigos publicados:

- NARCISO, R. B.; VIEIRA, D. H. M. D.; DIAS, K. G. A.; ABDALLAH, V. D.; SILVA, R. J. (2022) Redescription of *Wallinia brasiliensis* (Digenea: Allocreadiidae) from *Astyanax lacustris* (Osteichthyes: Characidae) in Brazil. **Biologia**. <https://doi.org/10.1007/s11756-022-01024-8> (Anexo 1).
- VIEIRA, D. H. M. D.; NARCISO, R. B.; SILVA, R. J. (2022) Morphological and molecular characterization of the cryptic species *Myxobolus cataractae* n. sp. (Cnidaria: Myxozoa: Myxobolidae) parasitizing *Imparfinis mirini* (Siluriformes: Heptapteridae). **Parasitology International**, v.88, p.102560. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2022.102560> (Anexo 2).
- VIEIRA, D. H. M. D.; NARCISO, R. B.; AZEVEDO, R. K.; SILVA, R. J. (2022) Description of two novel *Henneguya* (Cnidaria: Myxosporea) infecting curimatid fish, using morphological, histological, and molecular analyses. **Acta Parasitologica**, v. 67, p.233-243, 2022. <https://doi.org/10.1007/s11686-021-00454-9> (Anexo 3).

- UNGARI, L. P.; VIEIRA, D. H. M. D.; SANTOS, A. L. Q.; SILVA, R. J.; O'DWYER, L. H. (2022) *Myxobolus* spp. (Cnidaria: Myxobolidae) in the circulating blood of fishes from Goiás and Mato Grosso States, Brazil: case report. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, p.e242823. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.242823> (**Anexo 4**).

#### **Artigo submetido para publicação:**

- VIEIRA, D. H. M. D.; NARCISO, R. B.; SILVA, R. J. Description of *Henneguya novaerae* n. sp. (Cnidaria: Myxobolidae), a gill parasite of the catfish *Rhamdia quelen* (Siluriformes: Heptapteridae), based on morphological and molecular evidence. Artigo submetido para a revista **The Journal of Eukaryotic Microbiology** (**Anexo 5**).

#### **Artigo redigido para publicação:**

- NARCISO, R. B.; VIEIRA, D. H. M. D.; SILVA, R. J. A new species of *Tiddergasilus* Marques & Boeger, 2018 (Copepoda: Ergasilidae) found parasitizing the gills of *Astyanax lacustris* (Lütken, 1875) (Osteichthyes: Characidae) in Brazil. Artigo a ser submetido para a revista **Systematic Parasitology** (**Anexo 6**).

### **PARTICIPAÇÃO EM EVENTO CIENTÍFICO**

- VIEIRA, D. H. M. D.; NARCISO, R. B.; SILVA, R. J. Morphological and molecular characterization of the cryptic species *Myxobolus* sp. (Cnidaria: Myxobolidae) parasitizing *Imparfinis mirini* (Siluriformes: Heptapteridae). In: IX Congreso Internacional de Parasitología Neotropical, 2021, Campeche, México, 2021 (**Anexo 7**).
- NARCISO, R. B.; VIEIRA, D. H. M. D.; SILVA, R. J. A new species of *Tiddergasilus* Marques & Boeger, 2018 (Cyclopoida: Ergasilidae) from the gills of *Astyanax lacustris* (Lütken, 1875) in Brazil. In: IX Congreso Internacional de Parasitología Neotropical, 2021, Campeche, México, 2021 (**Anexo 8**).
- NARCISO, R. B.; VIEIRA, D. H. M. D.; DIAS, K. G. A.; ABDALLAH, V. D.; SILVA, R. J. (2022) Redescription of *Wallinia* species (Digenea: Allocreadiidae), parasite of the digestive tract of *Astyanax lacustris* (Lütken, 1875) in Brazil. In: IX Congreso Internacional de Parasitología Neotropical, 2021, Campeche, México, 2021 (**Anexo 9**).

- VIEIRA, D. H. M. D.; NARCISO, R. B.; SILVA, R. J. Morphological and molecular analysis of *Henneguya* sp. (Cnidaria: Myxobolidae) parasitizing the gills of *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) in the Pardo River, São Paulo State. In: XVI Encontro Brasileiro de Patologistas de Organismos Aquáticos (ENBRAPOA), Jaboticabal, São Paulo, Evento Online, 2021 (**Anexo 10**).
- NARCISO, R. B.; SILVA, R. J. Identificação e descrição dos ergasilídeos (Copepoda, Ergasilidae) parasitas de peixes de um rio do Sudeste brasileiro. In: XXVII Congresso Brasileiro de Parasitologia, Belo Horizonte, Minas Gerais, Evento Online, 2021 (**Anexo 11**).
- NARCISO, R. B.; VIEIRA, D. H. M. D.; SILVA, R. J. Revised description of *Rhinergasilus piranhus* (Copepoda, Ergasilidae) in Brazil, with the report of new hosts and localities. In: 28th International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, Dublin, Irlanda, Evento Online, 2021 (**Anexo 12**).

## **RELATÓRIO DA BOLSA TT-3 VINCULADA AO PROJETO**

**Bolsista:** Mariana Bertholdi Ebert

**Título:** Diversidade, taxonomia e sistemática de parasitos de peixes do Rio Pardo, Médio Rio Paranapanema, São Paulo.

**Processo:** 2021/12779-9

**Período de vigência:** 01/12/2021 a 31/01/2023

O relatório da bolsa TT-3 está apresentado no **Anexo 13**.