

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP – CAUNESP

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

Aspectos morfológicos e filogenéticos de *Calyptospora* (Apicomplexa:
Calyptosporidae) no Médio Tietê–SP

Karen Dayana Prada Mejia

Médica Veterinária e Zootecnista

JABOTICABAL – SÃO PAULO

2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP –CAUNESP

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

**Aspectos morfológicos e filogenéticos de *Calyptospora* (Apicomplexa:
Calyptosporidae) no Médio Tietê–SP**

Karen Dayana Prada Mejia

Orientadora: Dra. Fabiana Pilarski

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Aquicultura.

JABOTICABAL – SÃO PAULO

2021

Prada-Mejia, Karen Dayana
P896a Aspectos morfológicos e filogenéticos de Calyptospora (Apicomplexa:
Calyptosporidae) no Médio Tietê-SP / Karen Dayana Prada Mejia. --
Jaboticabal, 2021
106 p. : il., tabs., fotos, mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de
Aquicultura, 2021
Orientador: Fabiana Pilarski
Banca examinadora: Ricardo Massato Takemoto, Reinaldo José da Silva
Bibliografia

1. Coccidiose. 2. Filogenia. 3. Relação hospedeiro-parasito. I. Título. II.
Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.3.43

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP
Campus de Jaboticabal/SP – Karina Gimenes Fernandes - CRB 8/7418

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

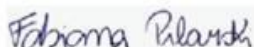
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: **Aspectos morfológicos e filogenéticos de Calyptospora**
(Apicomplexa: Calyptosporidae) no Médio Tietê-SP

AUTORA: KAREN DAYANA PRADA MEJIA

ORIENTADORA: FABIANA PILARSKI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em AQUICULTURA, pela

Comissão Examinadora:



Profa. Dra. FABIANA PILARSKI (Participação Virtual)
Laboratório de Microbiologia e Parasitologia de Organismos Aquáticos / Centro de Aqüicultura da UNESP,
CAUNESP



Prof. Dr. REINALDO JOSÉ DA SILVA (Participação Virtual)
Departamento de Bioestatística, Biologia Vegetal, Parasitologia e Zoologia / Instituto de Biociências de Botucatu -
UNESP (por meio de videoconferência)



Prof. Dr. RICARDO MASSATO TAKEMOTO (Participação Virtual)
UEM / Maringá/PR

Jaboticabal, 05 de julho de 2021

“Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo o propósito debaixo do céu: há tempo de nascer e tempo de morrer; tempo de plantar e tempo de arrancar o que se plantou”.

Eclesiastes 3:1

Dedicatória

À Deus,

Aos meus pais Edgar Antonio Prada Gamboa e Luz Marina Mejia Castilla

Ao Marcelo Berriel (“In Memoriam”)

Gratidão.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus que nunca me desamparou, pelas vitórias de cada dia, pelo aprendizado com os tropeços e, principalmente, pelo crescimento humano;

Aos meus pais e irmãos, que mesmo na distância me apoiam em minhas decisões, são meu porto seguro e minha motivação, obrigada por sempre acreditarem em mim;

Ao Centro de Aquicultura da UNESP, pela oportunidade de Pós-graduação;

À minha orientadora, profa. Dra. Fabiana pilarski, por me receber desde longe, pela oportunidade, pelos valorosos conselhos, dedicação, por todo o carinho e apoio durante esses anos;

À Suzana, Evandro, Lindomar e Thaís pela amizade, carinho, parceria, paciência, por me acolher nesse caminhar, por todos os momentos compartilhados, não tenho palavras para agradecer tudo que fizeram, guardo vocês no meu coração;

Aos colegas do Laboratório de Microbiologia e Parasitologia de Organismos Aquáticos (LAPOA), que fizeram e fazem parte da minha trajetória na pós-graduação;

Aos colegas discentes, funcionários e professores do CAUNESP;

Ao Prof. Diogo Teruo Hashimoto e a equipe do Laboratório de Genética em Aquicultura e Conservação do CAUNESP, também ao Prof. Fernando José Zara e a equipe do Laboratório de Morfologia de Invertebrados da UNESP/FCAV- Jaboticabal;

Aos proprietários e funcionários da piscicultura, pelo apoio e disposição na coleta dos peixes, especialmente ao Romulo Elines Ribeiro e FernandoPenteado;

A todos aqueles que contribuíram para a minha formação profissional e pessoal...

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

ÍNDICE

CAPITULO I	13
RESUMO	13
1. INTRODUÇÃO GERAL	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1. Ictiofauna e pesca no rio Tietê	18
2.2. Área de estudo.....	20
2.2.1. Médio Tietê	20
2.3. Invasão parasitária e hospedeiros	20
2.4. Caracterização das espécies de estudo	23
2.4.1. <i>Serrasalmus maculatus</i> Kner, 1858.....	24
2.4.2. <i>Serrasalmus marginatus</i> Valenciennes, 1837	26
2.5. Parasitas do filo Apicomplexa.....	27
2.5.1. Gênero <i>Calyptospora</i> Overstreet, Hawkins & Fournie, 1984	31
3. REFERÊNCIAS	36
CAPITULO II	51
Relação parasita-hospedeiro, prevalência, morfologia e caracterização molecular de <i>Calyptospora</i> (Apicomplexa: Calyptosporidae) infectando serrasalmídeos na bacia do Médio Tietê– SP	51
RESUMO	51
1. INTRODUÇÃO	52
2. MATERIAS E MÉTODOS	53
2.1. Área de estudo e captura dos peixes	53
2.2. Identificação morfológica dos parasitas	55
2.3. Histopatologia do fígado	56
2.4. Microscopia eletrônica de transmissão (TEM).....	56
2.5. Análise molecular	56
2.5.1. Extração de DNA e sequenciamento.....	56
2.5.2. Alinhamento da sequência e análise filogenética.....	58
2.6. Análises estatística.....	60
3. RESULTADOS	60
4. DISCUSSÃO	68
5. REFERÊNCIAS	71

CAPITULO III	77
Primeira ocorrência de coccidiose hepática em <i>Serrasalmus marginatus</i> Valenciennes, 1837, espécie invasora da bacia do Rio Tietê – SP	77
RESUMO	77
1. INTRODUÇÃO	78
2. MATERIAS E MÉTODOS	79
2.1. Coleta de peixes e parasitas	79
2.2. Identificação morfológica do parasita e histopatologia	81
2.3. Variáveis limnológicas	82
3. RESULTADOS.....	82
4. DISCUSÃO	89
5. CONCLUSSÃO	92
6. REFERÊNCIAS	92

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado “**Peixes alóctones e seus parasitas: aspectos morfológicos e filogenéticos de Calyptospora (Apicomplexa: Calyptosporidae) no Médio Tietê - SP**”, protocolo nº 349/21, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Fabiana Pilarski, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 11 de fevereiro de 2021.

Vigência do Projeto	01/03/2019 a 01/07/2021
Espécie / Linhagem	<i>Serrasalmus marginatus</i> <i>Serrasalmus maculatus</i>
Nº de animais	120 (entre as duas espécies)
Peso / Idade	15 – 550gr
Sexo	Diversos (macho e fêmea)
Origem	Trecho médio rio Tietê, Município de Arealva – SP

Jaboticabal, 16 de fevereiro de 2021.



Profa. Dra. Paola Castro Moraes
Vice-Coordenadora – CEUA

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Parasitas coccídeos do gênero <i>Calyptospora</i> registrados na América.....	32
Tabela 2. Número de acesso do GenBank para as sequências de nucleotídeos depositadas.	60
Tabela 3. Prevalência (%) de <i>Calyptospora</i> sp. nos meses de outubro de 2020 e Março de 2021.	61
Tabela 4. Análise de covariância (ANCOVA), comparando o índice hepatossomático de <i>Serrasalmus maculatus</i> parasitadas e não-parasitadas e com relação ao sexo.	61
Tabela 5. Comparação morfométrica de oocistos e esporocistos de <i>Calyptospora</i> spp. em diferentes espécies de peixes de água doce no Brasil.....	64
Tabela 6. Número de espécimes de <i>Serrasalmus marginatus</i> capturados no período de amostragem e índice parasitário (P) de <i>Calyptospora</i> sp.....	82
Tabela 7. Parâmetros morfométricos das espécies descritas da família Calyptosporidae em peixes de água doce.	83
Tabela 8. Variáveis limnológicas estudadas no médio Tietê durante as coletas.	89

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Possíveis cenários da introdução de peixes e seus parasitos.....	22
Figura 2. Filet de <i>Serrasalmus maculatus</i> utilizada na alimentação de comunidades ribeirinhas do trecho Médio do Rio Tiete. (Fonte: Prada-Mejia, K D).	24
Figura 3. Exemplar de <i>Serrasalmus maculatus</i> coletado no trecho médio Tietê, município de Arealva-SP. (Fonte: Prada-Mejia, K D).	25
Figura 4. Exemplar de <i>Serrasalmus marginatus</i> coletado no trecho médio Tietê, município de Arealva-SP. (Fonte: Prada-Mejia, K D).	27
Figura 5. Fases do ciclo de vida do <i>Calyptospora spinosa</i>	31
Figura 6. Fotomicrografia de oocistos fresco.....	35
Figura 7. Desenho esquemático da organização morfológica de um grupo de oocistos	35
Figura 8. Local da amostragem realizada no trecho médio do Rio Tietê, município de Arealva-SP, próximo a Piscicultura Toca da Tilápia.	54
Figura 9. Análise de regressão (ANCOVA) para o índice hepatossomático de <i>Serrasalmus maculatus</i> entre os indivíduos parasitados e não-parasitados.	62
Figura 10. Análise de regressão (ANCOVA) comparando o índice hepatossomático de <i>Serrasalmus maculatus</i> entre machos e fêmeas.	62
Figura 11. Fígado de <i>Serrasalmus maculatus</i>	63
Figura 12. <i>Calyptospora</i> sp., localizado no parênquima hepático de <i>Serrasalmus maculatus</i> ..	63
Figura 13. Cortes histológicos realizados no fígado de <i>Serrasalmus maculatus</i> corados com Haematoxilina-Eosina.	65
Figura 14. Árvore filogenética enraizada inferida pelos métodos de Máxima Verossimilhança (ML) e Inferência Bayesiana (BI) com base em análises de sequências do gene 18S rRNA de <i>Calyptospora</i> isolados de peixes	67
Figura 15. a) Observação a fresco de oocistos de <i>Calyptospora</i> sp. (seta), parasitando o fígado de <i>Serrasalmus marginatus</i>	84
Figura 16. a) Fígado de <i>Serrasalmus marginatus</i> , com múltiplos pontos amarelados de padrão difuso.....	85
Figura 17. Cortes histológicos do hepatopâncreas de <i>Serrasalmus marginatus</i> na coloração Tricômico de Masson.....	86
Figura 18. Análise de Componentes Principais (PCA) dos parâmetros morfométricos de oocistos e esporocistos de coccídeos do gênero <i>Calyptospora</i>	87
Figura 19. Dendograma de similaridade..	88

RESUMO

A introdução de organismos aquáticos em novos ambientes vem ocorrendo há muito tempo, e o sucesso no estabelecimento da espécie depende de inúmeros fatores. Todavia, a movimentação de uma espécie traz consigo uma parte ou todos os seus parasitas nativos que podem causar danos aos peixes já existentes em determinado local. A classe Coccidia compreende um grupo diverso de protozoários parasitas que impactam os estoques naturais de muitas espécies de peixes, demonstrando características de invasão e transmissão parasitária que a torna um grupo perfeito para estudar fenômenos evolutivos do complexo parasita-hospedeiro. Neste trabalho foi registrada a primeira ocorrência da infecção por coccídeos do gênero *Calyptospora* infectando dois novos hospedeiros, *Serrasalmus marginatus* e *Serrasalmus maculatus* além de ser o primeiro registro de uma espécie desse gênero parasitando peixes da bacia hidrográfica do Rio Tietê, São Paulo. Os peixes capturados não apresentavam sinais clínicos de doenças, porém, quando submetidos à necropsia e biópsia, evidenciaram manchas esbranquiçadas em algumas regiões do fígado, identificando a presença de oocistos de coccídeos sob microscópio de luz, presuntivo para o gênero *Calyptospora*. Estudos morfométricos e ultraestruturais do parasita e histopatológicos foram realizados nos peixes, assim como análise molecular e correlações filogenéticas comparadas quanto à similaridade com sequências do grupo coccidia disponíveis no GenBank®. Nossos dados representam uma importante contribuição sobre a diversidade e dinâmica desses organismos parasitas na região do médio Tietê, uma vez que estudos sobre essa classe de parasitas são escassos e também questiona o estabelecimento do filo Apicomplexa no Rio tietê.

Palavras-chave: *Calyptospora*, coccidiose, invasão parasitária, *Serrasalmus* spp., rio Tietê.

ABSTRACT

The introduction of aquatic organisms into new environments has been taking place for a long time, and success in establishing the species depends on numerous factors. However, the movement of a species brings with it a part or all of its native parasites that can damage fish that already exist in a given location. The Coccidia class comprises a diverse group of parasitic protozoa that impact the natural stocks of many fish species, showing characteristics of invasion and parasitic transmission that make it a perfect group to study evolutionary phenomena of the host-parasite complex. In this work, the first occurrence of infection by coccidia of the genus *Calyptospora* infecting two new hosts, *Serrasalmus marginatus* and *Serrasalmus maculatus* was registered, besides being the first record of a species of this genus parasitizing fish from the Tietê River basin, São Paulo. The captured fish did not show clinical signs of disease, however, when submitted to necropsy and biopsy, they showed whitish spots in some regions of the liver, identifying the presence of coccidian oocysts under a light microscope, presumptive for the genus *Calyptospora*. Morphometric and ultrastructural studies of the parasite and histopathological studies were performed in fish, as well as molecular analysis and phylogenetic correlations compared for similarity with sequences from the coccidia group available in GenBank®. Our data represent an important contribution on the diversity and dynamics of these parasitic organisms in the middle Tietê region, since studies on this class of parasites are scarce and also question the establishment of the Apicomplexa phylum in the Tietê River.

Keywords: *Calyptospora*, coccidiosis, parasitic invasion, *Serrasalmus* spp., Tietê river.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A biodiversidade de peixes é abundante, sendo que, a maior riqueza de espécies encontra-se em águas tropicais (LOWE-MCCONNELL, 1999), particularmente na região Neotropical, onde são descritas cerca de 4.475 espécies válidas em água doce (REIS; KULLANDER; FERRARIS JR, 2003). O Brasil possui o maior número de peixes de água doce, com 2.587 espécies catalogadas, representando 21% das espécies do mundo (BUCKUP; MENEZES; GHAZZI, 2007). Diversas comunidades de peixes de água doce estão presentes nas bacias hidrográficas do Estado de São Paulo, com aproximadamente 391 espécies, o que corresponde a 15% do total estimado para todo o território brasileiro (OYAKAWA; MENEZES, 2011).

O Tietê é o segundo maior rio do estado de São Paulo, com nascente localizada no município de Salesópolis, a 840 m de altitude na Serra do Mar, a 22 km do Oceano Atlântico, percorrendo por volta de 1.150 km e desembocando no Alto rio Paraná na divisa com o estado do Mato Grosso do Sul, em Itapura (ALMEIDA et al., 1981). É considerado um dos rios mais importantes economicamente para o estado de São Paulo e região Sudeste, banhando no seu trajeto numerosos municípios ribeirinhos (RIBEIRO, 2004). Porém, devido aos diversos impactos ambientais que vem sofrendo, possui elevada concentração de poluentes a partir da cidade Mogi das Cruzes, atravessando a capital paulista e sua região metropolitana, com maior quantidade de poluentes (fósforo total e nitrogênio amoniacal) nesse trecho, sendo classificado pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo- CETESB no último relatório sobre o Índice de Qualidade das Águas (IQA) e Índice de qualidade das águas para a proteção da vida aquática (IVA) como água ruim e péssima, de modo que o aumento do grau de trofia passou de mesotrófico para eutrófico e supereutrófico no ano de 2019 (CETESB, 2020).

O curso do rio Tietê é em sistema de cascata nos trechos médio e baixo, nas represas de Barra Bonita, Bariri, Ibitinga, Promissão, Nova Avanhandava e Três Irmãos (CASTRO et al., 2008). Como o rio está submetido a múltiplos represamentos, também oferece condições para atividades piscícolas em seus cursos médio e baixo, pois abrange uma grande diversidade de peixes, ao ponto de abrigar não só as atividades de pesca (pescadores amadores e profissionais) e pisciculturas em tanques-

rede (MARUYAMA et al., 2010a), mas também outras atividades tais como abastecimento urbano, irrigação e navegação (TUNDISI, 1999; TUNDISI et al., 2008).

Ao longo dos anos, a bacia hidrográfica do rio Tietê vem apresentando alterações drásticas e mudanças na dinâmica de toda a biota, incluindo variações na composição e abundância de espécies de peixes, por fragmentação dos habitats devido a construção de inúmeras barragens hidrelétricas de grande porte (GIAMAS et al., 2004; AGOSTINHO; PELICICE; GOMES, 2008). Apesar de importantes vantagens para o desenvolvimento econômico, os barramentos promovem a introdução de peixes no sistema, seja por deslocamento ou migração de uma bacia para outra, quando veem-se obrigados, como ocorreu com a *Serrasalmus marginatus* Valenciennes, 1837 após a construção do reservatório de Itaipu, no rio Paraná (AGOSTINHO; JÚLIO, 2002; AGOSTINHO, 2003; ALEXANDRE et al., 2004) e/ou por políticas governamentais para o uso das águas dos reservatórios, através de repovoamentos (com espécies nativas da região), introdução de espécies (com espécies oriundas de outras bacias ou exóticas) e instalação de sistemas produtivos piscícolas, comprometendo os recursos hídricos tradicionalmente explorados e afetando os estoques de peixes nativos (AGOSTINHO; GOMES, 1997; AGOSTINHO; GOMES; PELICICE, 2007; AGOSTINHO; PELICICE; GOMES, 2008). Assim, o resultado é o depauperamento da diversidade com consequências deletérias a médio e longo prazo (RAMBALDI; OLIVEIRA, 2003).

Entre as espécies que tiveram sua introdução bem sucedida nos cursos do rio Tietê destacam-se as tilápias *Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758 e *Tilapia rendalli* Boulenger, 1897, espécies exóticas oriundas da África, e igualmente espécies alóctones originárias de outras bacias como a sardela *Triporthus angulatus* Spix and Agassiz, 1829, sendo estas três as principais espécies capturadas tanto em importância numérica quanto em peso, seguido de outras como o tucunaré *Cichla piquiti* Kullander and Ferreira, 2006, corvina *Plasgioscion squamosissimus* Heckel, 1840, apaiari *Astronotus ocellatus* Agassiz, 1831, porquinho *Geophagus proximus* Castelnau, 1855, papa-terra *Satanoperca pappaterra* Heckel, 1840, piauçu *Leporinus macrocephalus* Garavello and Britski, 1988 (TORLONI et al., 1993; MARUYAMA et al., 2010a, 2010b; DAVID et al., 2016), piranha amarela *S. marginatus*, carpa

Cyprinus carpio Linnaeus, 1758 (MARUYAMA et al., 2010a), cascudo preto *Lipossarcus* cf. *anisitsi* Holmberg, 1893, carpa prateada *Hypophthalmichthys molitrix* Valenciennes, 1844 e carpa cabeça-grande *Hypophthalmichthys nobilis* Richardson, 1845 (NOVAES, 2008), entre outros, sendo que hoje estão presentes no trecho médio do rio Tietê.

Dentro dos diferentes fins, a translocação de espécies em um novo ambiente ocorre não somente para sua movimentação, mas também consegue trazer consigo uma parte ou todos seus parasitas nativos, podendo causar a disseminação de doenças em populações nativas ou parasitas nativos também podem colonizar esses novos hospedeiros não nativos introduzidos no ambiente, interagindo com a complexa relação parasita–hospedeiro (GALLI et al., 2005; LACERDA et al., 2013).

Os organismos do filo Apicomplexa Levine, 1970 estão entre os mais importantes agentes etiológicos responsáveis por doenças em vertebrados e invertebrados, incluindo os humanos, com implicações ambientais e econômicas (RALPH LAINSON, 1992; MORRISON, 2009; SILVA et al., 2012). A classe Coccidia compreende um grupo diverso de protozoários parasitas (TENTER et al., 2002) que impactam os estoques naturais de várias espécies de peixes, com importantes características de invasão parasitária e ecologia de transmissão (NEGRÃO et al., 2019), que o torna um grupo ideal para estudar fenômenos evolutivos do complexo parasita-hospedeiro, e compreender a diversidade real e as relações filogenéticas existentes.

Desta forma, este estudo é o primeiro no Brasil a descrever a ocorrência de coccídeos do gênero *Calyptospora* infectando dois novos hospedeiros, *S. marginatus* e *Serrasalmus maculatus* Kner, 1858, além de ser o primeiro registro de uma espécie desse gênero parasitando peixes da bacia do rio Tietê.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Ictiofauna e pesca no rio Tietê

A ictiofauna encontrada no estado de São Paulo é caracterizada por espécies de médio e grande porte, divididas em 10 ordens e 39 famílias. A família Characidae é constituída por 83 espécies e a família Loricariidae por 81, sendo as mais numerosas, com uma ampla distribuição geográfica entre quatro bacias hidrográficas principais: Alto Paraná, Paraíba do Sul, Ribeira de Iguape e as Drenagens Costeiras (OYAKAWA; MENEZES, 2011).

A bacia do rio Tietê, é uma das principais afluentes do Rio Paraná, possui no seus cursos de água várias espécies de pequeno, médio e grande porte, com importância econômica para a pesca comercial e de subsistência (MARUYAMA et al., 2010a). Também possui uma composição ictiofaunística bastante peculiar em cada um dos seus trechos, na sua maioria distinta daquelas encontrada nas cabeceiras da bacia do Alto rio Paraná, com espécies não descritas, destas exóticas e alóctones, em comparação com levantamentos anteriores (GIAMAS et al., 2004; MARCENIUK; HILSDORF; LANGEANI, 2011).

As informações disponíveis sobre a pesca em reservatórios brasileiros são geralmente incompletas e/ou inconsistentes, resultado da falta de monitoramento no país, de políticas públicas para obtenção de dados e erros na destinação de recursos (AGOSTINHO; GOMES; PELICICE, 2007). O que também impossibilita o monitoramento da pesca é a dispersão dos pescadores ao longo da região como um todo, muitos deles sem carteira profissional e a grande extensão dos reservatórios, tornando imprescindível a realização de um censo estrutural por região e/ou sub-regiões (CASTRO et al., 2008).

A pesca artesanal é uma atividade extrativista, e geralmente é a única fonte de geração de renda e sustento de famílias com baixos recursos, que vivem às margens dos reservatórios (AGOSTINHO; GOMES; PELICICE, 2007). Um levantamento realizado em 2001 no Médio e Baixo Rio Tietê identificou 47 pontos de desembarque principais (regularmente operantes) sendo onze no reservatório de Barra Bonita, quatro no de Bariri, cinco em Ibitinga, onze em Promissão, três em Nova Avanhandava e treze em Três Irmãos. Igualmente, foi calculada uma estimativa do número de pescadores presentes no reservatório e sua contribuição percentual nos núcleos pesqueiros identificados. A

intensidade de pesca (ind./km²), mostrou uma redução em Barra Bonita (1,18 pescador/km²) e Três Irmãos (0,22 pescador/km²), devido principalmente a atividade de turismo nesses pontos e à inexistência de apoio governamental (CASTRO; MARUYAMA; PAIVA, 2008).

No trecho médio, 31 espécies de peixes pertencentes a quatro ordens e 13 famílias são aproveitadas pela pesca artesanal. Dentre elas, 24 são nativas e sete não nativas, com predominância da família Cichlidae com cinco espécies, e das famílias Characidae e Sciaenidae, com uma espécie cada (DAVID et al., 2016). O grupo das tilápias (*O. niloticus* e *T. rendalli*) representaram juntas, mais do 85% de toda produção do reservatório de Barra Bonita no ano 2003 e cerca de 70% no ano de 2004 (MARUYAMA et al., 2010a); no entanto, a principal espécie capturada tanto em importância numérica quanto em peso entre 2008-2009, foi a sardela *T. angulatus* (DAVID et al., 2016); seguido por outras espécies relevantes como o mandi *Pimelodus maculatus* Lacepède, 1803, cascudo *Liposarcus* sp., *Hypostomus* sp., curimbatá *Prochilodus lineatus* Valenciennes, 1847 e corvina *P. squamosissimus* (NOVAES, 2008; MARUYAMA et al., 2010a), e algumas outras com valores percentuais inferiores a 1% da produção total porém, uma fonte de alimento e subsistência, tais como: *Hoplias malabaricus* Bloch, 1794, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887, *Salminus maxillosus* Valenciennes, 1840, *Pseudoplatystoma corruscans* Spix and Agassiz, 1829, *G. proximus*, *A. ocellatus*, *Serrasalmus* sp., *Cichla* sp., etc (MARUYAMA et al., 2010a; DAVID et al., 2016). No reservatório de Bariri, a produção da tilápia tende a ser menor que no de Barra Bonita, e mais baixa ainda no reservatório de Ibitinga, com participação de 48,7% e 15,7%, respectivamente, na produção total de 2004; superando a corvina (*P. squamosissimus*) com número de captura com 25,7%, em Ibitinga (MARUYAMA et al., 2010a).

O último monitoramento pesqueiro registrado por DAVID et al., (2016), entre agosto de 2008 e outubro de 2009 nos reservatórios de Barra Bonita e Bariri, constatando que as cinco espécies mais relevantes quanto ao peso para sua comercialização totalizou 78,6% das capturas por *T. angulatus*, *T. rendalli*, *O. niloticus*, *P. maculatus* e *P. squamosissimus* respectivamente, bem como a participação de espécies de menor porte, como os lambaris *Astyanax* sp., com importância numérica.

2.2 Área de estudo

2.2.1 Médio Tietê

O Estado de São Paulo, para fins de gestão de recursos hídricos, foi dividido em 22 Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídricos (UGRHI), das quais seis dessas unidades fazem parte da Bacia Hidrográfica do Tietê: Alto Tietê, Tietê/Sorocaba, Piracicaba/Capivari/Jundiaí, Tietê/Jacaré, Tietê/Batalha e Baixo Tietê; sob a Lei n 9.034/1994 (SIGRH, 2017).

A UGRHI 13 – Tietê/Jacaré localiza-se na região central do Estado de São Paulo, e é composta por 34 municípios, entre eles o município de Arealva (área de estudo). O município possui uma área de drenagem de 11.749 km², 1.555.463 habitantes e abriga cerca de 3,6% da população do estado. A bacia compreende três rio importantes: rio Tietê (150 km da barragem de Barra Bonita até a barragem da Ibitinga), rio Jacaré-Guaçu e rio Jacaré-Pepira, e abrange os reservatórios de Bariri, Ibitinga e Lobo (SIGRH, 2017). O clima dessa unidade de gestão, pela classificação de Koppen, está entre tropical úmido (de outubro a março) e inverno seco (de abril a setembro). As principais atividades econômicas estão ligadas principalmente à agroindústria (açúcar, álcool e processamento de cítricos) (TUNDISI et al., 2008).

2.3 Invasão parasitária e hospedeiros

A distribuição natural das espécies nos ecossistemas é influenciada por diversos fatores bióticos e abióticos, e as barreiras físicas operam como filtro para a dispersão (ESPÍNOLA; FERREIRA; JUNIOR, 2007). As introduções, tanto intencionais como acidentais de peixes implicam na movimentação de espécies (potencialmente invasoras) efetuada pelo homem para outro ecossistema ou região onde estas não são historicamente encontradas (GIDO; SCHAEFER; PIGG, 2004). O termo espécie introduzida, não tem distinção entre espécies exóticas e alóctones (espécies regionais não nativas), dado que podem ter impactos similares representando o mesmo risco (RICHARDSON et al., 2000).

As introduções vem ocorrendo há muito tempo, com diversos propósitos, como aumento da riqueza de espécies local, repovoamento, aquarismo comercial, pesca

esportiva, controle biológico, hidroelétricas (barragem), fins produtivos, entre outros (ORSI; AGOSTINHO, 1999; TROCA; VIEIRA, 2012), cenário que acontece no mundo todo e nas diferentes bacias hidrográficas do Brasil. A globalização torna-se também, um fator predisponente, e proteger as fronteiras nacionais contra invasões biológicas se faz cada vez mais difícil, já que as pessoas responsáveis por essas ações raramente são legalmente responsabilizadas, fazendo referência ao "princípio do poluidor-pagador" proposto por PERRINGS et al. (2005).

O impacto causado por espécies invasoras, influencia profundamente a composição e a estrutura organizacional dos peixes, resultando na redução da diversidade genética, na perda de funções e processos da cadeia trófica, na destruição do habitat, modificações nas pressões evolutivas, redução de estoques de espécies nativas e sua possível extinção, além da diminuição na qualidade dos recursos pesqueiros, comprometendo o mercado de peixes nativos e a fonte alimentar de populações locais (CANONICO et al., 2005; VITULE, 2009; VITULE; FREIRE; SIMBERLOFF, 2009; CUCHEROUSSET; OLDEN, 2011; TROCA; VIEIRA, 2012) e um potencial para o desequilíbrio das interações parasita-hospedeiro.

As invasões biológicas devem ser consideradas, uma vez que, além de indicar a movimentação de espécies em um novo território, também podem carregar consigo seus parasitas, formando uma espécie de unidade biótica (GALLI et al., 2005), as quais podem infectar as espécies pertencentes ao ambiente introduzido e adicionalmente, parasitas nativos também podem ou não colonizar o hospedeiro introduzido (Fig. 1) (AZEVEDO et al., 2012; LACERDA et al., 2012; BITTENCOURT et al., 2014). ROCHE et al. (2010) compararam o parasitismo entre ciclídeos nativos e introduzidos na bacia do Canal do Panamá e observaram que *O. niloticus* foi infectada por uma única espécie de parasita de distribuição nativa, mas compartilhou oito espécies de parasitas com o peixe nativo *Vieja maculicauda* Regan, 1905. SMIT; MALHERBE; HADFIELD (2017) através de um levantamento bibliográfico sobre a introdução de parasitas em peixes nativos e exóticos sugeriram que a ocorrência de 23 parasitas exóticos em determinado ambiente é baixa, quando se considera que pelo menos 17 espécies de peixes invasores de água doce são estabelecidos nas águas sul-africanas, proporcionando a translocação um risco ecológico e econômico secundário, mas muitas vezes desconsiderado.

COLAUTTI et al. (2004) propuseram que o rápido estabelecimento e proliferação de espécies invasoras ocorre pela perda de seus inimigos naturais (patógenos, parasitas e predadores) durante a movimentação do hospedeiro (Hipótese do Escape do Inimigo-HEI). Pois, se a espécie invasora não traz seus inimigos naturais consigo, ela deve sofrer certo alívio em sua nova distribuição geográfica.

Estudos desde o ponto biogeográfico tem demonstrado que os níveis de infecção por vários parasitas diminuem à medida que a espécie invasora se espalha desde o ponto de introdução (PERKINS et al., 2017; SELECHNIK et al., 2017), e pelas características do hospedeiro que são mais propensas a determinar as interações parasita-parasita, uma vez que várias espécies de parasitas que infectam simultaneamente um hospedeiro, podem interagir umas com as outras, para um maior sucesso na invasão do hospedeiro (PERKINS et al., 2017). Por tanto, a perda dos inimigos naturais nem sempre pode facilitar imediatamente o estabelecimento de espécies exóticas, pois o processo de invasão ocorre gradualmente dependendo diretamente das interações entre o hospedeiro, parasitas e o ambiente (POULIN, 2017).

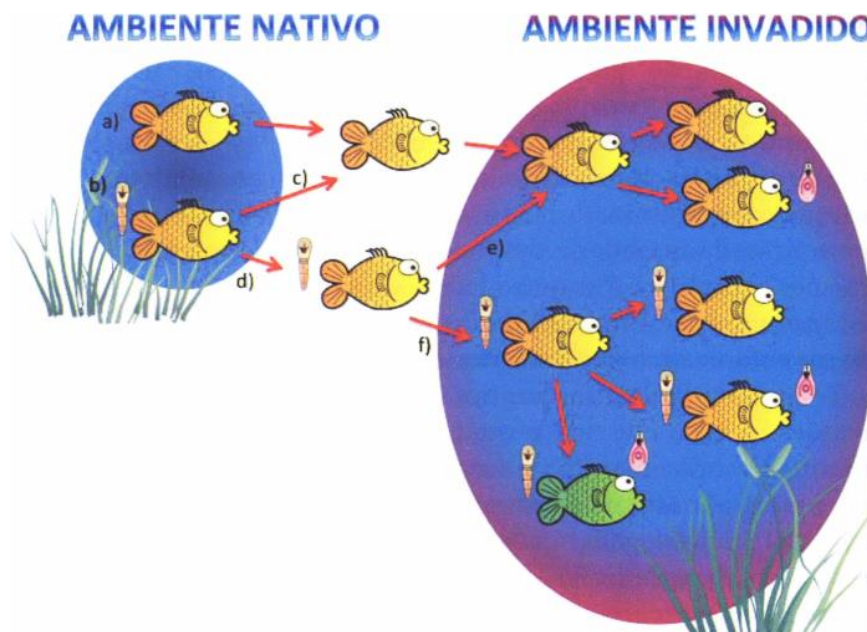


Figura 1. Possíveis cenários da introdução de peixes e seus parasitas. a) O peixe não está parasitado em seu ambiente de origem e assim é transportado. No ambiente invadido, o peixe pode seguir sem parasitas, ou adquirir parasitas de peixes nativos do ambiente invadido. b) O peixe está parasitado em seu ambiente de origem, podendo perder ou não seus parasitas durante

o transporte. c) No primeiro caso, o peixe introduzido pode continuar não parasitado ou ser colonizado por parasitas de peixes do ambiente invadido. d) No segundo caso, o parasita é transportado junto com o peixe e pode ou não se estabelecer no ambiente invadido. e) Se o parasito não tem sucesso no ambiente invadido, o peixe pode seguir livre de parasitas ou ser parasitado por parasitas de peixes nativos do ambiente invadido. f) Se o parasita for bem sucedido no ambiente invadido, o peixe introduzido pode manter sua fauna parasitária de origem no novo ambiente, com possibilidade de adquirir parasitas de peixes nativos da nova área. Há ainda a possibilidade de parasitas introduzidos colonizarem peixes nativos da região invadida, independentemente do sucesso dos peixes introduzidos no novo ambiente (in LACERDA et al., 2013).

2.4 Caracterização das espécies de estudo

O gênero *Serrasalmus*, pertence à família Serrasalminidae, ordem Characiformes, e abriga 28 espécies válidas, ocorrendo em águas doces, as quais estão distribuídas pela maior parte das bacias hidrográficas Sul-americanas. No Brasil, a bacia do rio Amazonas abriga todos os gêneros de serrasalmídeos e apenas seis ocorrem na bacia Paraná-Paraguai e três na bacia do rio São Francisco (JÈGU, 2003). Além da grande distribuição geográfica, os serrasalmídeos ocupam uma extensa diversidade de habitats, estando presentes desde planícies, lagos e florestas alagadas até correntezas e quedas de água em cabeceiras de rios (GÉRY, 1977).

A ‘piranha’, como é popularmente conhecida, tem sido encontrada habitando locais diferentes dos acima mencionados, também como as bacias hidrográficas do Alto Paraná e do Baixo- Médio Tietê (PELICICE; AGOSTINHO; GOMES, 2005; MARUYAMA et al., 2010a; OYAKAWA; MENEZES, 2011; DAVID et al., 2016). A participação das piranhas (cinco espécies) na pesca comercial é baixa em Manaus, representando menos de 5% da produção total de pescado, sendo considerado sutil seu grau de importância econômica (SANTOS; FERREIRA; ZUANON, 2006). MARUYAMA et al. (2010a) reportaram uma produção pesqueira menor que 2% de *Serrasalmus* sp. nos reservatórios do médio rio Tietê nos anos 2003-2004. Todavia, em

conversa com pescadores artesanais que auxiliaram na coleta de exemplares deste estudo, as piranhas fazem parte da alimentação (caldo e filet) das comunidades ribeirinhas às margens dos rios (Fig. 2).

Mundialmente famosas por lendas sobre sua ferocidade, possuem uma série de espinhos em forma de serra na linha mediana da bariga e uma única fileira de dentes em cada mandíbula, afiados e com cúspides (dentes tricuspídeos) (BRITSKI; SILIMON; LOPES, 2007). Possuem hábito alimentar piscívoro, se alimentando de pedaços de nadadeiras, escamas e outras partes do corpo de suas presas e também de artrópodos, microcrustáceos e material vegetal (AGOSTINHO; HAHN; MARQUES, 2003). Apresentam coloração bastante variada em função do estágio de desenvolvimento e da coloração da água em que vive (SANTOS; FERREIRA; ZUANON, 2006).



Figura 2. Filet de *Serrasalmus maculatus* utilizada na alimentação de comunidades ribeirinhas do trecho Médio do Rio Tiete. (Fonte: Prada-Mejia, K D).

2.4.1 *Serrasalmus maculatus* Kner, 1858

Serrasalmus maculatus pertence à ordem Characiformes e família Serrasalmidae. É conhecida localmente como Piranha, Piranha-amarela, Pirambeba, Catirina ou Piranha-mafura (Fig. 3). Pertencente ao rio Guaporé, Mato Grosso, Brasil, mas hoje encontra-se distribuída também pelos rios Amazonas e Orinoco, ocorrendo na Argentina, Bolívia, Brasil, Colômbia, Paraguai, Peru e Uruguai (JÈGU, 2003). Até recentemente essa espécie era denominada como *S. spilopleura* habitando a bacia Paraná-Paraguai (BRITSKI;

SILIMON; LOPES, 2007; GRAÇA; PAVANELLI, 2007) e rio Uruguai (SVERLIJ et al., 1998; BEHR; SIGNOR, 2008), bem como em toda região do alto Paraná (COSTA et al., 2005).

Apresentam características de peixes tanto de ambientes lânticos quanto lóticos, comuns em reservatórios e regiões alagadas (SAZIMA; MACHADO, 1990; VILLARES; GOMIERO; GOITEIN, 2008). São peixes sociais, que formam pequenos cardumes de até 20 indivíduos. *Serrasalmus maculatus* pode ser diferenciada de seus congêneres pela combinação de caracteres: nadadeira caudal com margem distal hialina, precedida por uma faixa escura transversal (GRAÇA; PAVANELLI, 2007); faixa de escamas na base da nadadeira anal cobrindo no máximo um terço do comprimento dos raios (OTA et al., 2013); perfil dorsal da cabeça pouco côncavo, quase reto na região interorbital (BRITSKI; SILIMON; LOPES, 2007) e espaço interorbital estreito. Quando viva ou recém-coletada, essa espécie apresenta escamas com reflexos amarelo-prateados (SANTOS; FERREIRA; ZUANON, 2006). Os adultos, podem alcançar até 34,5 cm de comprimento (MARQUES et al., 2016).



Figura 3. Exemplar de *Serrasalmus maculatus* coletado no trecho médio Tietê, município de Arealva-SP. (Fonte: Prada-Mejia, K D).

A dieta de *S. maculatus* é variada e de estratégia alimentar altamente oportunista, que inclui mimetismo agressivo (SAZIMA; MACHADO, 1990); mostra predomínio piscívora, exclusiva para exemplares com comprimento superior a 22 cm. Itens como

nadadeiras de peixes, insetos aquáticos e crustáceos são ingeridos por exemplares de tamanhos menores (2-4 cm de comprimento padrão), os quais são substituídos por fragmentos de peixes à medida que o comprimento corporal é ≥ 12 cm de comprimento. Padrão ontogenético trófico relatado por vários autores (SAZIMA; MACHADO, 1990; AGOSTINHO; HAHN; MARQUES, 2003; COSTA et al., 2005; BEHR; SIGNOR, 2008; VILLARES; GOMIERO; GOITEIN, 2008). O consumo de vegetais aquáticos pela espécie é considerado acidental durante o ato predatório (COSTA et al., 2005).

2.4.2 *Serrasalmus marginatus* Valenciennes, 1837

A piranha *S. marginatus*, da ordem Characiformes, família Serrasalminae, pertence a região Neotropical. Amplamente distribuída pelos rios do Pantanal e na bacia do rio Paraguai-Paraná (SAZIMA; MACHADO, 1990). Nativa da bacia do baixo rio Paraná e desde a década de 1980 é invasora da bacia do alto rio Paraná (AGOSTINHO; JÚLIO; PETRERE, 1994; AGOSTINHO; JÚLIO, 2002), colonizando até o trecho Médio do rio Tietê (presente estudo).

O sucesso da invasão de *S. marginatus* à outras bacias hidrográficas pode ser explicado por sua agressividade em estabelecer territórios de alimentação (AGOSTINHO, 2003; AGOSTINHO; HAHN; MARQUES, 2003) e por seu longo período reprodutivo associado à agressividade em relação à proteção da prole, o que garante a perpetuação da espécie (DE MELO; DE SANTANA; DEI TOS, 2017).

Morfologicamente, apresenta um conjunto de características comuns as suas congêneres *Serrasalmus*, como tamanho médio, com corpo alto e comprimido lateralmente; presença de uma série de espinhos formando uma quilha ventral e presença de um espinho pré-dorsal anteriormente direcionado. Possui apenas uma série de seis dentes triangulares cortantes, pontiagudos e alinhados (OTA et al., 2013); com variação na coloração dos olhos, que podem ser vermelhos ou amarelos (RAICK et al., 2020). Difere das suas congêneres com uma margem da nadadeira caudal escura em extensão variável, podendo estender-se até a base dessa nadadeira; perfil dorsal da cabeça muito côncavo; várias manchas escuras de tamanhos e formas variadas no corpo; nadadeiras caudal e anal total ou parcialmente escuras; demais nadadeiras claras ou amareladas, com poucos pigmentos escuros dispersos (GRAÇA; PAVANELLI, 2007) (Fig. 4).



Figura 4. Exemplar de *Serrasalmus marginatus* coletado no trecho médio Tietê, município de Arealva-SP. (Fonte: Prada-Mejia, K D).

São predadores piscívoros e solitários, com preferência por peixes inteiros, pedaços de barbatanas, partes do corpo de suas presas, insetos e ingestão acidental de fragmentos de plantas, no entanto, diferenças significativas na dieta estão associadas à época do ano e ao desenvolvimento ontogenético da espécie (AGOSTINHO; HAHN; MARQUES, 2003; CARVALHO et al., 2007; FERREIRA et al., 2014). Para conseguir se alimentar, *S. marginatus*, aproxima-se da sua presa com um movimento lento e furtivo por trás ou por baixo, atingindo a cauda ou nadadeira anal da presa, da qual um pedaço é cortada com um movimento brusco do corpo. O período de atividade é diurna e durante a noite abriga-se entre a vegetação, embora alguns peixes grandes (15-20 cm de comprimento) estendam sua atividade de forrageamento ao anoitecer (cerca de 18:00-19:00 h) (SAZIMA; MACHADO, 1990).

2.5 Parasitas do filo Apicomplexa

Os protistas do filo Apicomplexa Levine, 1970, infrafilo Sporozoa, estão entre o grupo de microrganismos que inclui formas patogênicas e parasitárias que ocorrem em uma grande variedade de organismos vertebrados (heterotérmicos e homeotérmicos) e invertebrados (CREMONTE; BALSEIRO; FIGUERAS, 2005; MAIA, 2015). Desse

modo, os parasitas do filo Apicomplexa têm recebido atenção nos últimos anos, devido sua importância para os humanos e saúde veterinária (SLODKI et al., 2011; TALEVICH; MIRZA; KANNAN, 2011). As doenças causadas pelas espécies parasitas deste filo ainda são consideradas negligenciadas (BARTOŠOVÁ-SOJKOVÁ et al., 2015), pelo número reduzido de estudos sobre a diversidade e dinâmica desses organismos parasitas (SILVA et al., 2019a).

São todos parasitas intracelulares obrigatórios, cujos estágios móveis invasivos são caracterizados pela presença de um complexo apical evolutivamente único (organelas secretoras subjacentes à estrutura oral) (LEVINE et al., 1980; SOUZA et al., 2010). O complexo inclui um conoide, compreendendo microtúbulos espiralados, um ou mais anéis polares, micronemas, roptrias e microtúbulos que se estendem em direção à parte posterior do pólo anterior (MOLNÁR, 2006; STEINHAGEN; DAVIES, 2008). Este complexo apical facilita a penetração dos parasitas nas células hospedeiras, pois está associado à motilidade, adesão, invasão e estabelecimento de um vacúolo parasitóforo, nos estágios de esporozoíto, merozoíto e gamonte. (SOLDATI; FRANCOIS; LEBRUN, 2001; TOMLEY et al., 2001; DOGGA et al., 2015). Estas estruturas são visíveis apenas ao microscópio eletrônico de transmissão.

Em peixes, o número de apicomplexanos que ocorrem nas classes Coccidea Leuckart, 1897 e Haematozoa Vivier, 1982 não é bem conhecido. A maioria dos estudos taxonômicos sobre coccídios limitam-se a descrições inadequadas das espécies com base na morfologia de seus estágios exógenos (ou seja, oocistos), e há falta de informações sobre o ciclo de vida e patogenicidade da maioria das espécies (FOURNIE; HAWKINS; OVERSTREET, 1985; JIRKŮ et al., 2009; BARTOŠOVÁ-SOJKOVÁ et al., 2015). Mesmo nos coccídios mais estudados (de roedores), apenas cerca de 8% são conhecidas, e estudos moleculares têm sido cada vez mais utilizados para entender as relações filogenéticas entre protozoários deste filo (TENTER et al., 2002).

A classificação taxonômica deste filo tem evoluído ao longo dos tempos, embora com várias modificações realizadas. O filo Apicomplexa é constituído por quatro grupos claramente definidos: os coccídios, os gregarinos, os hemósporos e os piroplasmídeos (ADL et al., 2005), sendo que, a classificação destes grupos foi baseado primariamente em suas características fenotípicas, como seu hospedeiro e / ou vetor associado, e órgão

alvo, descrevendo apenas sua estrutura organizacional, sem refletir sua história evolutiva (Tenter et al., 2002; Morrison, 2009).

O esquema organizacional do filo (descrito abaixo) é proposto por STEINHAGEN; DAVIES (2008), no qual são consideradas duas classes Coccidea e Haematozoa em peixes:

Classe Coccidea Leuckart, 1897

Ordem Eucoccidiorida Léger & Duboscq, 1910

Subordem Adeleorina Léger, 1911

Família Dactylosomatidae Jakowska & Nigrelli, 1955

Gênero *Dactylosoma* Labbé, 1894

Gênero *Babesiosoma* Jakowska & Nigrelli, 1956

Família Haemogregarina Danilewsky, 1885

Gênero *Haemogregarina* Danilewsky, 1885

Gênero *Cyrtilia* Lainson, 1981

Gênero *Desseria* Siddall, 1995

Subordem Eimeriorina Léger, 1911

Família Cryptosporidiidae Léger, 1911

Gênero *Cryptosporidium* Tyzzer, 1907

Família Eimeriidae Minchin, 1903

Gênero *Eimeria* Schneider, 1875

Gênero *Epieimeria* Dyková & Lom, 1981

Gênero *Goussia* Labbé, 1899

Gênero *Isospora* Schneider, 1881

Família Calyptosporiidae Overstreet, Hawkins & Fournie, 1984

Gênero *Calyptospora* Overstreet, Hawkins & Fournie, 1984

Classe Haematozoa Vivier, 1982

Ordem Haemospororida Danilewsky, 1885

Família Plasmodiidae Mesnil, 1903

Gênero *Mesnilium* Misra, Haldar & Chakravarty, 1972

A ordem Eucoccidiorida, conhecida como coccidia, é taxonomicamente a mais diversa dentro da classe Coccidiasina, infectando peixes marinhos e de água doce, incluindo numerosas famílias e gêneros, com relações filogenéticas obscuras e ancestralidade compartilhada (JIRKŮ et al., 2009; MOLNÁR et al., 2012) e implicações sanitárias e econômicas (SANTIAGO et al., 2012; FRIEND; LOVY; HERSHBERGER, 2016; XAVIER et al., 2020). Os coccídios *sensu stricto* contêm dois subgrupos, ou seja, os coccídios adeleides e eimerídeos (COX, 1994). Seu ciclo de vida típico possui três fases: sofrem multiplicação sucessiva por merogonia (divisões assexuadas produzindo merontes com merozoítos), seguido por gamogonia (fusão de dois tipos de gametas resultando em um oocisto) e esporogonia (reprodução assexuada produzindo esporozoítos) (DAVIES; BALL, 1993).

Em outros grupos de coccídios, a gamogonia é caracterizada pelo desenvolvimento independente de macrogametas (fêmeas) e microgametas (machos), sendo este último móvel e frequentemente produzidos em grande número. Além disso, os esporozoítos são tipicamente finalizados em esporocistos que se formam dentro de oocistos que são liberados no ambiente como um estágio resistente (LEVINE et al., 1980; TENTER et al., 2002). O intestino é o local preferido para a esporogonia, mas os coccídios piscinos são caracterizados por seu desenvolvimento extraintestinal frequente, com esporulação exógena (fora do hospedeiro) ou endógena (dentro do hospedeiro) (DAVIES; BALL, 1993; BARTOŠOVÁ-SOJKOVÁ et al., 2015) (Fig. 5).

Coccidianos parasitas de hospedeiros heterotérmicos diferem dos homeotérmicos por (1) oocistos de paredes finas sem micrópila (uma abertura da parede do oocisto), (2) macrogamontes sem corpos formadores de parede, (3) esporocistos com estruturas de excitação (suturas) e projeções da parede do esporocisto (véus membranáceos, esporópodes) e (4) localização epicelular frequente (BARTOŠOVÁ-SOJKOVÁ et al., 2015; VALIGUROVÁ et al., 2015).

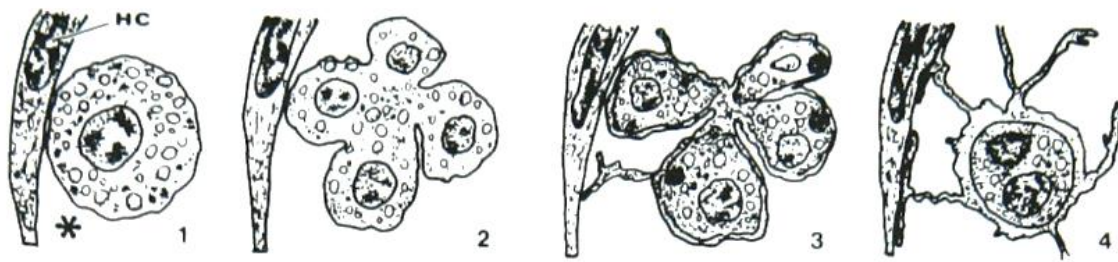


Figura 5. Fases do ciclo de vida do *Calyptospora spinosa*; 1- Zigoto (vacúolo parasitóforo*; CH; célula hospedeira); 2- Formação do esporoblasto; 3- esporoblastos jovens; 4-Esporoblasto maduro rodeado pelo véu, esporocisto. Fonte: AZEVEDO et al. (1995).

2.5.1 Gênero *Calyptospora* Overstreet, Hawkins & Fournie, 1984

O gênero *Calyptospora* pertencente à família Calyptosporidae, foi descrito pela primeira vez com *Calyptospora empristica* Fournie et al. 1985 em peixes teleósteos parasitando o tecido hepático de *Fundulus notti* no Mississippi, Estados Unidos (FOURNIE; HAWKINS; OVERSTREET, 1985). Esta família engloba um único gênero, *Calyptospora*, que tem, em sua maioria, registros na região tropical. Na última década, as técnicas filogenéticas moleculares forneceram uma riqueza de dados que puderam elucidar e auxiliar no entendimento da evolução dos coccídios, como a descoberta de novas espécies ou gêneros, uma vez que apenas critérios morfológicos, como a proporção de esporocistos e esporozoítos por oocisto não é suficiente (JIRKŮ et al., 2002; WHIPPS et al., 2012; BERTO; MCINTOSH; LOPES, 2014).

Antigamente, o gênero *Calyptospora* era considerado como *Eimeria*, confundido pela similaridade com a espécie *Eimeria funduli*, infectando ‘Killifish do Golgo’ *Fundulus grandis* na área costeira do Mississippi, Estados Unidos (in Overstreet, Hawkins, and Fournie 1984). Mesmo com a ausência de dados sobre o ciclo de vida de todas as espécies, esta espécie foi alocada em um novo gênero, *Calyptospora* e em uma nova família Calyptosporidae de forma confiável (OVERSTREET, 1981; OVERSTREET; HAWKINS; FOURNIE, 1984; WHIPPS et al., 2012). O primeiro relato sobre a ocorrência de coccídios em peixes sul-americanos, foi sobre a presença de *Calyptospora serrasalmi* Cheung et al. 1986 no fígado da piranha preta *Serrasalmus niger*

Jardine, 1841 mantida em um aquário de Nova York (CHEUNG; NIGRELLI; RUGGIERI, 1986).

Atualmente, a diversidade de espécies deste gênero ainda é pouco conhecida, incluindo apenas sete espécies descritas em peixes da região Amazônica (SILVA et al., 2020) (Tabela 1). Dentre elas, encontram-se o *Calyptospora funduli* Duszynski et al. 1979; *C. empristica* Fornie et al. 1985 e *C. serrasalmi* Cheung et al. 1986, descritas nos EUA; *Calyptospora tucunarensis* Békési and Molnár 1991; *Calyptospora spinosa* por Azevedo et al. 1993; *Calyptospora paranaidji* Silva et al. 2019 e *Calyptospora gonzaguensis* Silva et al. 2020, registradas no Brasil.

São parasitas obrigatórios de tecidos e órgãos de peixes e invertebrados aquáticos, e tem como sítio de infecção o fígado, gônadas, vesícula biliar, tecido adiposo, coração, intestino e ovários (AZEVEDO et al., 1993; ALBUQUERQUE; BRASIL-SATO, 2010; NEGRÃO et al., 2019; SILVA et al., 2020). Um peixe parasitado pelas espécies parasitas deste gênero, ao observar após necrópsia apresenta fígado com manchas acinzentadas e coloração esbranquiçada nos lobos hepáticos (CHEUNG et al., 1986; VELASCO et al., 2012).

Tabela 1. Parasitas coccídeos do gênero *Calyptospora* registrados na América.

Espécie	Hospedeiro	Órgão alvo	Local	Autores
<i>C. funduli</i> ¹	<i>Fundulus</i> sp.	Fígado	Mississippi/USA	DUSZYNSKI; SOLANGI; OVERSTREET (1979)
<i>C. funduli</i> ²	<i>Opsanum beta</i>	Fígado	Mississippi/USA	OLIVEIRA et al. (1993)
<i>C. empristica</i>	<i>Fundulus notti</i>	Fígado	Mississippi/USA	FOURNIE; HAWKINS; OVERSTREET (1985)
<i>C. serrasalmi</i>	<i>Serrasalmus rhombeus</i>	Fígado	Nova York/USA	CHEUNG P J; NIGRELLI; RUGGIERI (1986)
<i>C. serrasalmi</i> ²	<i>Serrasalmus striolatus</i>	Fígado	Pará/BR	CASAL et al. (2007)
<i>C. tucunarensis</i>	<i>Cichla ocellaris</i>	Fígado	Ceará/BR	BÉKÉSI; MOLNÁR (1991)
<i>C. spinosa</i>	<i>Crenicichla lepidota</i>	Fígado, gônada e ovários	Pará/BR	AZEVEDO; MATOS; MATOS (1993)

<i>C. gonzaguensis</i>	<i>Triportheus angulatus</i>	Fígado, vesícula biliar, tecido adiposo	Divisa Maranhão e Tocantins/BR	SILVA et al. (2020)
<i>C. paranaidji</i>	<i>Cichla piquiti</i>	Fígado	Divisa Maranhão e Tocantins/BR	SILVA et al. (2019b)
<i>Calyptospora</i> sp.	<i>Brachyplatystoma vaillantii</i>	Fígado	Pará/BR	SILVA et al. (2012)
	<i>Tetragonopterus chalceus</i>	Intestino	Minas Gerais/BR	ALBUQUERQUE; BRASIL-SATO (2010)
	<i>Triportheus guentheri</i>			
	<i>Aspistor quadriscutis</i>	Fígado	Pará/BR	RAMOS et al. (2018)
	<i>Arapaima gigas</i>		Manaus/BR	BONAR et al. (2006)
	<i>Crenicichla lepidota</i>		Amapá/BR	NEGRÃO et al. (2019)
	<i>Cichla ocellaris</i>			
	<i>Hoplias malabaricus</i>			
	<i>Hoplerythrinus unitaeniatus</i>			
	<i>Hoplerythrinus unitaeniatus</i>			
	<i>Satanoperca jurupari</i>			
	<i>Heros efasciatus</i>			
	<i>Mesonauta festivus</i>			
	<i>Astronotus ocellatus</i>	Fígado, vesícula biliar		
	<i>Pterophyllum scalare</i>			
	<i>Geophagus proximus</i>	Fígado, vesícula biliar, coração		

<i>Brachyplatystoma rousseauxii</i>	Fígado	Pará/BR	DIAS (2013)
<i>Hoplias malabaricus</i>		Pará/BR	BARBOSA et al. (2002)*
<i>Rhamdia quelen</i>		-	MURATORI et al. (2002)*
<i>Arapaima gigas</i>		Paraná/BR	ALBUQUERQUE et al. (2007)*
<i>Cichla temensis</i>		Pará/BR	VELASCO et al. (2012)
<i>Cichla temensis</i>		Isla Marajó/BR	SANTIAGO et al. (2012)
<i>Aequidens plagiozonatus</i>		Pará/BR	VIDEIRA et al. (2013)
<i>Serrasalmus rhombeus</i>		Pará/BR	OLIVEIRA et al. (2021)

(*) Tomado de EIRAS et al. (2012).

2.5.1.1 Morfologia

Os oocistos de *Calyptospora* sp., quando observados em microscopia de luz (ML) formam vacúolos parasitóforos com quatro esporocistos (Fig. 6a), cada um coberto por um véu membranoso e contendo em seu interior dois esporozoítos. Em muitos casos, são observadas células iniciais do ciclo de vida ou já formando vacúolos parasitóforos, quando se encontram parasitas em diferentes fases do ciclo de vida, variando a forma dos esporocistos, de arredondada, a elipsoide e piriformes (AZEVEDO et al., 1993, 1995; CASAL et al., 2007) (Fig. 6b, e 7). Caracterizam-se pela falta de corpos de Stieda ou Sub-Stieda; ii) o esporocisto coberto por um véu fino apoiado por um ou mais esporópodes (projeções alongadas da parede do esporocisto), iii) matriz relativamente homogênea entre os véu e esporocistos, e iv) uma abertura coberta por membrana para liberação de esporozoítos (AZEVEDO et al., 1993, 1995; CASAL et al., 2007).

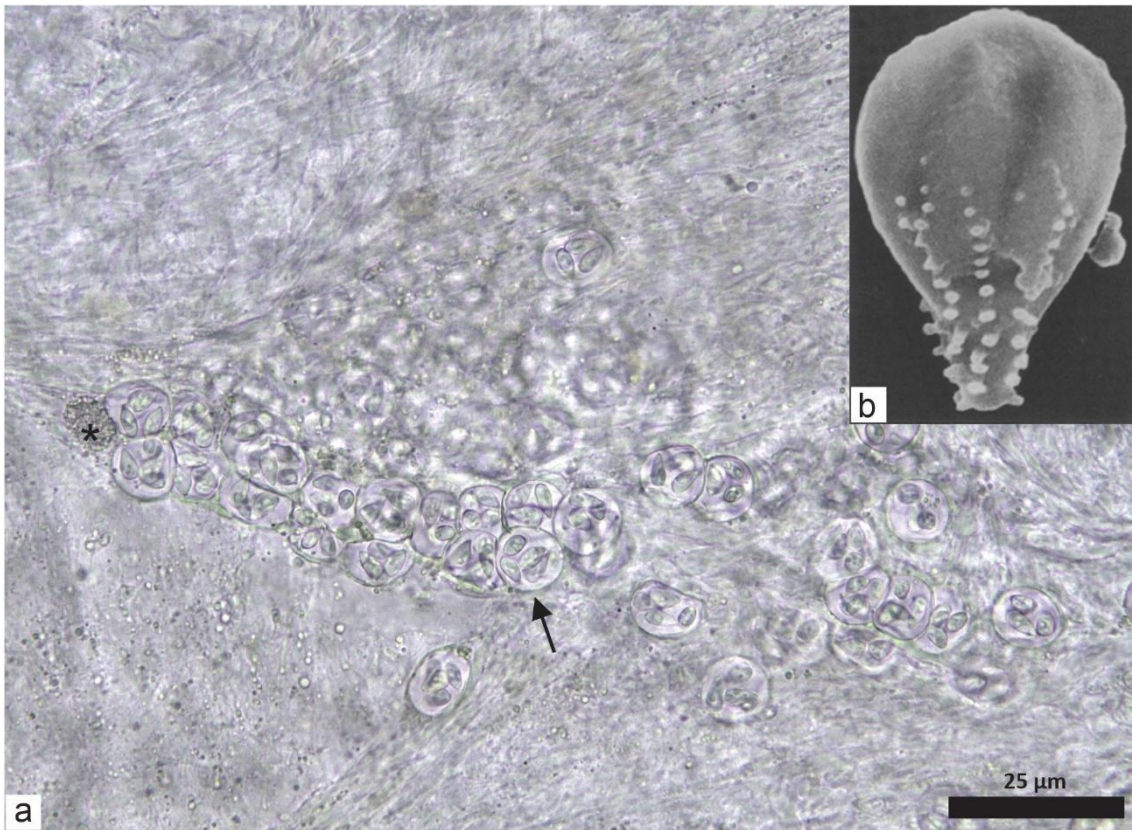


Figura 6. Fotomicrografia de oocistos fresco; a) com esporocistos dentro (seta) e imaturos (*) no tecido hepático de *Serrasalmus maculatus*, X 400. Fonte: Prada-Mejia, K D. b) SEM de um esporocisto isolado mostrando o corpo elipsoidal, o esporopódio e suas projeções esporopódicas laterais, X 9000. Fonte: AZEVEDO et al. (1993).

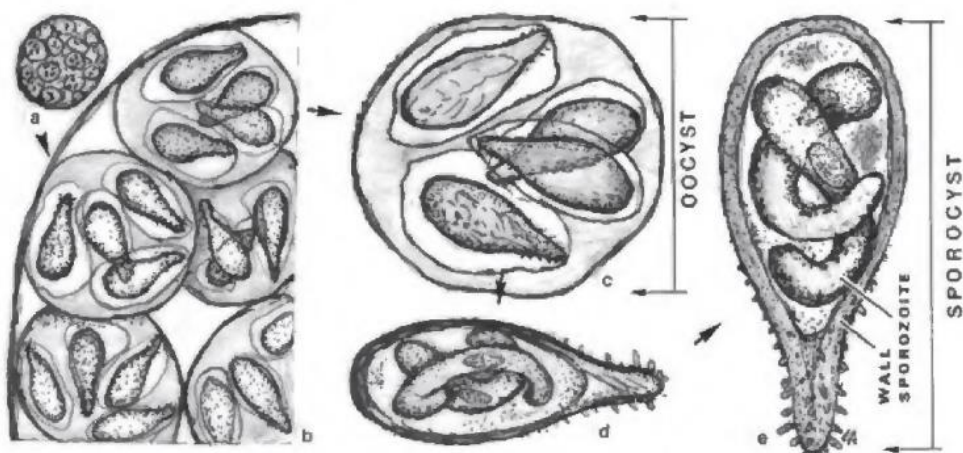


Figura 7. Desenho esquemático da organização morfológica de um grupo de oocistos (a, b), e um oocisto (c) contendo quatro esporocistos (d, e), cada uma com dois esporozoítos. Fonte: CASAL et al. (2007).

2.5.1.2 Ciclo de vida

O ciclo de vida é dixeno (EIRAS; TAKEMOTO; PAVANELLI, 2010), no entanto, foi observado em *C. funduli* parasitando peixe-sapo do Golfo, *Opsanus beta* que todas as fases do ciclo de vida ocorriam no fígado do hospedeiro (OLIVEIRA et al., 1993). Sabe-se que a merogonia e a gamogonia ocorrem em diferentes espécies de camarão da família Palaemonidae, o qual é infectado pela ingestão de restos de vísceras de peixes mortos contendo oocistos esporulados, enquanto a esporogonia ocorre no fígado de peixes teleósteos, pela ingestão do camarão infectado (FOURNIE; OVERSTREET, 1983; OVERSTREET; HAWKINS; FOURNIE, 1984; FOURNIE; HAWKINS; OVERSTREET, 1985; FOURNIE et al., 2000). Todavia, o ciclo de vida deste gênero ainda não está completamente elucidado, pois não se sabe ao certo quais hospedeiros invertebrados estão envolvidos nas diferentes espécies de *Calyptospora* descritas, visto que, uma ou mais espécies de camarões podem estar envolvidas nos ciclos de transmissão (NEGRÃO et al., 2019).

3. REFERÊNCIAS

- ADL, S. M. et al. The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 52, n. 5, p. 399–451, 2005.
- ADLARD, R. D.; MILLER, T. L.; SMIT, N. J. The butterfly effect: Parasite diversity, environment, and emerging disease in aquatic wildlife. **Trends in Parasitology**, v. 31, n. 4, p. 160–166, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2014.11.001>>.
- AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C. Manejo e monitoramento de recursos pesqueiros: perspectivas para o reservatório de Segredo. In: AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C. (Ed.). **Reservatório de Segredo: bases ecológicas para o manejo**. EDUEM ed. [s.l: s.n.]p. 319–364.
- AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C.; PELICICE, F. M. **Ecologia e manejo de recursos pesqueiros em reservatórios do Brasil**. Eduem ed. [s.l: s.n.]
- AGOSTINHO, A. A.; JÚLIO, H. F. J.; PETRERE, J. M. Itaipu reservoir (Brazil): impacts

of the impoundment on the fish fauna and fisheries. In: COWX, I. G. (Ed.). **Rehabilitation of freshwater fishes**. Bodman ed. [s.l.: s.n.]p. 171–184.

AGOSTINHO, A. A.; PELICICE, F. M.; GOMES, L. C. Dams and the fish fauna of the Neotropical region: impacts and management related to diversity and fisheries. **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, n. 4, p. 1119–1132, 2008.

AGOSTINHO, C. S. Reproductive aspects of piranhas *Serrasalmus spilopleura* and *Serrasalmus marginatus* into the upper Paraná River, Brazil. **Brazilian journal of biology = Revista brasleira de biologia**, v. 63, n. 1, p. 1–6, 2003.

AGOSTINHO, C. S.; HAHN, N. S.; MARQUES, E. E. Patterns of food resource use by two congeneric species of piranhas (*Serrasalmus*) on the Upper Paraná River floodplain. **Brazilian journal of biology = Revista brasleira de biologia**, v. 63, n. 2, p. 177–182, 2003.

AGOSTINHO, C. S.; JÚLIO, H. F. Observation of an invasion of the piranha *Serrasalmus marginatus* Valenciennes, 1847 (Osteichthyes, Serrasalminidae) into the Upper Paraná River, Brazil. **Acta Scientiarum - Biological and Health Sciences**, v. 24, n. 2, p. 391–395, 2002.

ALBUQUERQUE, M. C. de; BRASIL-SATO, M. de C. First report of *Calyptospora* sp. (Apicomplexa, Calyptosporidae) in forage characid fish from the Três Marias Reservoir, São Francisco Basin, Brazil. **European Journal of Protistology**, v. 46, n. 2, p. 150–152, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejop.2009.12.005>>.

ALEXANDRE, P. C. et al. Relação estoque-recrutamento para as piranhas *Serrasalmus marginatus* (Valenciennes, 1847) e *Serrasalmus maculatus* (Kner, 1860) no rio Baía, alto rio Paraná. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 26, n. 3, p. 303–307, 2004.

ALMEIDA, F. F. M. et al. **Nota Explicativa do Mapa Geológico do Estado de São Paulo**. IPT ed. São Paulo: Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT, monografias n6), 1981.

ASSANE, I. M. et al. Phenotypic and genotypic characterization of *Aeromonas jandaei* involved in mass mortalities of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) in Brazil. **Aquaculture**, v. 541, n. April, p. 736848, 2021.

AZEVEDO, C.; MATOS, E.; MATOS, P. Ultrastructural data on sporogony of the

coccidian parasite *Calyptospora spinosa* from the liver of the Amazonian fish, *Crenicichla lepidota* Heckel. **Journal of Fish Diseases**, v. 18, n. 6, p. 475–479, 1995.

AZEVEDO, C.; MATOS, P.; MATOS, E. Morphological data of *Calyptospora spinosa* n. sp. (Apicomplexa, Calyptosporidae) parasite of *Crenicichla lepidota* HECKEL, 1840 (Teleostei) from Amazon river. **European Journal of Protistology**, v. 29, n. 2, p. 171–175, 1993.

AZEVEDO, R. K. de et al. Expanded description of *Lamproglena monodi* (Copepoda: Lernaeidae), parasitizing native and introduced fishes in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 3, p. 263–269, 2012.

BARTOŠOVÁ-SOJKOVÁ, P. et al. Epicellular Apicomplexans: Parasites “On the Way In”. **PLoS Pathogens**, v. 11, n. 9, p. 1–9, 2015.

BEHR, E. R.; SIGNOR, C. A. Distribuição e alimentação de duas espécies simpátricas de piranhas *Serrasalmus maculatus* e *Pygocentrus nattereri* (Characidae, Serrasalminae) do rio Ibicuí, Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia. Série Zoologia**, v. 98, n. 4, p. 501–507, 2008.

BÉKÉSI, L.; MOLNÁR, K. *Calyptospora tucunarensis* n. sp. (Apicomplexa: Sporozoa) from the liver of tucunare *Cichla ocellaris* in Brazil. **Systematic Parasitology**, v. 18, n. 2, p. 127–132, 1991.

BERNET, D. et al. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. **Journal of Fish Diseases**, v. 22, p. 25–34, 1999.

BERTO, B. P.; MCINTOSH, D.; LOPES, C. W. G. Studies on coccidian oocysts (Apicomplexa: Eucoccidiorida). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, v. 23, n. 1, p. 1–15, 2014.

BITTENCOURT, L. S. et al. Parasites of native Cichlidae populations and invasive *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) in tributary of Amazonas River (Brazil). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, v. 23, n. 1, p. 44–54, 2014.

BONAR, C. J. et al. Hepatic *Calyptospora* sp. (Apicomplexa) infection in a wild-born, aquarium-held clutch of juvenile arapaima *Arapaima gigas* (Osteoglossidae). **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 70, n. 1–2, p. 81–92, 2006.

BRITSKI, H. A.; SILIMON, K. Z. de S.; LOPES, B. S. **Peixes do Pantanal- Manual de**

identificação. 2ª edição ed. [s.l: s.n.]

BUCKUP, P. A.; MENEZES, N. A.; GHAZZI, M. S. **Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil.** Museu Naci ed. [s.l: s.n.]

BUSH, A. O. et al. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. **Journal of Parasitology**, v. 83, n. 4, p. 575–583, 1997.

CANONICO, G. C. et al. The effects of introduced tilapias on native biodiversity. **Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems**, v. 15, n. 5, p. 463–483, 2005.

CARVALHO, L. N. et al. Feeding habits and habitat use of three sympatric piranha species in the Pantanal wetland of Brazil. **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, v. 18, n. 2, p. 109–116, 2007. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/281928549_Feeding_habits_and_habitat_use_of_three_sympatric_piranha_species_in_the_Pantanal_wetland_of_Brazil>.

CASAL, G. et al. Morphological and ultrastructural redescription of *Calyptospora serrasalmi* Cheung, Nicrelli & Ruggieri, 1986 (Apicomplexa: Calyptosporidae), a parasite found in two new host species of the genus *Serrasalmus*. **Brazilian Journal of Morphological Sciences**, v. 24, n. 1, p. 11–16, 2007.

CASTRO, P. M. G. de et al. Mapeamento da pesca artesanal ao longo do médio e baixo Rio Tietê (São Paulo, Brasil). **Série Relatórios Técnicos, São Paulo**, v. 33, p. 1–34, 2008.

CASTRO, P. M. G. de; MARUYAMA, L. S.; PAIVA, P. de. Pesca artesanal no médio e baixo rio Tietê (São Paulo, Brasil): pontos de desembarque e estimativa de número de pescadores. **Bioikos**, v. 22, n. 1, p. 15–27, 2008. Disponível em: <<https://seer.sis.puc-campinas.edu.br/seer/index.php/bioikos/article/view/815>>.

CETESB. **SÉRIE RELATÓRIOS: Qualidade das águas interiores no estado de São Paulo 2019.** [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://cetesb.sp.gov.br/aguas-interiores/publicacoes-e-relatorios/>>.

CHEUNG, P. J.; NIGRELLI, R. F.; RUGGIERI, G. D. *Calyptospora serrasalmi* sp. nov. (Coccidia: Calyptosporidae) from liver of the black piranha, *Serrasalmus niger* Schomburgk. **Journal of Aquaculture & Aquatic Sciences**, v. 4, p. 54–57, 1986.

COLAUTTI, R. I. et al. Is invasion success explained by the enemy release hypothesis? **Ecology Letters**, v. 7, n. 8, p. 721–733, 2004.

COSTA, A. C. et al. Alimentação da pirambeba *Serrasalmus spilopleura* Kner, 1858 (Characidae; Serrasalminae) em um reservatório do Sudeste brasileiro. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 27, n. 4, p. 365–369, 2005.

COX, F. E. G. The evolutionary expansion of the Sporozoa. **International Journal for Parasitology**, v. 24, n. 8, p. 1301–1316, 1994.

CREMONTE, F.; BALSEIRO, P.; FIGUERAS, A. Occurrence of *Perkinsus olseni* (Protozoa: Apicomplexa) and other parasites in the venerid commercial clam *Pitar rostrata* from Uruguay, southwestern Atlantic coast. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 64, n. 1, p. 85–90, 2005.

CUCHEROUSSET, J.; OLDEN, J. D. Ecological Impacts of Non-native Freshwater Fishes. **Fisheries Bethesda**, v. 36, n. 5, p. 215–230, 2011. Disponível em: <http://www.fish.washington.edu/research/oldenlab/pdf/2011/Fisheries_2011c_Inv.pdf>.

DAVID, G. S. et al. Artes de pesca artesanal nos reservatórios de barra bonita e bariri: Monitoramento pesqueiro na bacia do médio Rio Tietê. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 42, n. 1, p. 29–49, 2016.

DAVIES, A. J.; BALL, S. J. The Biology of Fish Coccidia. **ADVANCES IN PARASITOLOGY**, v. 32, p. 293–366, 1993.

DE MELO, G. S. R.; DE SANTANA, H. S.; DEI TOS, C. Ovarian histology and fecundity in the evaluation of the reproduction of the invasive species *Serrasalmus marginatus* (Characidae) on a neotropical floodplain. **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, v. 39, n. 3, p. 339–347, 2017.

DIAS, L. de N. S. **FAUNA MICROPARASITÁRIA DE *Brachyplatystoma rousseauxii* E *Mugil curema* DESEMBARCADOS NA AMAZÔNIA ORIENTAL**. 2013. Universidade Federal do Pará, Belém-PA, 2013. Disponível em: <<http://ir.obihiro.ac.jp/dspace/handle/10322/3933>>.

DOGGA, S. K. et al. Phylogeny, Morphology, and Metabolic and Invasive Capabilities of Epicellular Fish Coccidium *Goussia janae*. **Protist**, v. 166, n. 6, p. 659–676, 2015.

- DUSZYNSKI, D. W.; SOLANGI, M. A.; OVERSTREET, R. M. A new and unusual eimerian (Protozoa: Eimeriidae) from the liver of the gulf killifish, *Fundulus grandis*. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 15, n. 4, p. 543–552, 1979.
- EIRAS, J. C. et al. Checklist of Protozoan parasites of fishes from Brazil. **Zootaxa**, v. 25, n. 3221, p. 1–25, 2012.
- EIRAS, J. C. Apicomplexa. In: PAVANELLI, G. C.; TAKEMOTO, R. M.; EIRAS, J. C. (Ed.). **Parasitologia de peixes de água doce do Brasil**. Maringá: EDUEM, 2013. p. 217–231.
- EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C. **Métodos de Estudo e Técnicas laboratoriais em Parasitologia de Peixes**. 2 ed ed. Maringá: Eduem, 2006.
- EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C. APICOMPLEXA. In: EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C. (Ed.). **Diversidade dos Parasitas de peixes de água doce do Brasil**. Clichetec ed. [s.l: s.n.]p. 49–58.
- ESPÍNOLA, L. A.; FERREIRA, H.; JUNIOR, J. Espécies invasoras: concertos, modelos e atributos. **Interciencia**, v. 32, n. 9, p. 580–585, 2007.
- FELSENSTEIN, J. Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using the Bootstrap. **Evolution**, v. 39, n. 4, p. 783–791, 1985.
- FERREIRA, F. S. et al. Trophic ecology of two piranha species, *Pygocentrus nattereri* and *Serrasalmus marginatus* (Characiformes, Characidae), in the floodplain of the Negro River, Pantanal. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 26, n. 4, p. 381–391, 2014.
- FOURNIE, J. W. et al. Life cycle of *Calyptospora funduli* (Apicomplexa: Calyptosporidae). **Journal of Parasitology**, v. 86, n. 3, p. 501–505, 2000.
- FOURNIE, J. W.; HAWKINS, W. E.; OVERSTREET, R. M. *Calyptospora empristica* n. sp. (Eimeriorina: Calyptosporidae) from the Liver of the Starhead Topminnow, *Fundulus notti*. **The Journal of Protozoology**, v. 32, n. 3, p. 542–547, 1985.
- FOURNIE, J. W.; OVERSTREET, R. M. True Intermediate Hosts for *Eimeria funduli* (Apicomplexa) from Estuarine Fishes. **The Journal of Protozoology**, v. 30, n. 4, p. 672–675, 1983.
- FOURNIE, J. W.; OVERSTREET, R. M. Host specificity of *Calyptospora funduli*

(Apicomplexa: Calyptosporidae) in atheriniform fishes. **Journal of Parasitology**, v. 79, n. 5, p. 720–727, 1993.

FRIEND, S. E.; LOVY, J.; HERSHBERGER, P. K. Disease Surveillance of Atlantic herring: Molecular characterization of hepatic coccidiosis and a morphological report of a novel intestinal coccidian. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 120, n. 2, p. 91–107, 2016.

GALLI, P. et al. Introduction of alien host-parasite complexes in a natural environment and the symbiota concept. **Hydrobiologia**, v. 548, n. 1, p. 293–299, 2005.

GARCÍA-BERTHOU, E.; MORENO-AMICH, R. Multivariate analysis of covariance in morphometric studies of the reproductive cycle. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 50, n. 7, p. 1394–1399, 1993.

GÉRY, J. **Characoids of the world**. TFH ed. Neptune City: Tropical Fish Hobbyist Publications, 1977.

GIAMAS, M. T. D. et al. A Ictiofauna Da Represa De Ponte Nova , Salesópolis (São Paulo) - Bacia Do Alto Tietê. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 30, n. 1, p. 25–34, 2004.

GIDO, K. B.; SCHAEFER, J. F.; PIGG, J. Patterns of fish invasions in the Great Plains of North America. **Biological Conservation**, v. 118, p. 121–131, 2004.

GOTHERMAN, H.; CLYMO, R. S.; OHNSTAD, M. A. M. **Methods for physical and chemical analysis of fresh water**. Osney Mead: Blackwell Sci, 1978.

GRAÇA, W. J. da; PAVANELLI, C. S. **Peixes da planície de inundação do Alto rio Paraná e áreas adjacentes**. Maringá: EDUEM, 2007.

HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST : PALEONTOLOGICAL STATISTICS SOFTWARE PACKAGE FOR EDUCATION AND DATA ANALYSIS. **Paleotol Electronic**, v. 4, n. 1, p. 1–9, 2001.

HUMASON, G. L. **Animal Tissue Techniques**. San Francisco: W. H. Freeman and Company, 1972.

JÈGU, M. Subfamily Serrasalminae. In: REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS, C. J. (Ed.). **Checklist of the Freshwater Fishes of South and Central America**. Edipucrs ed. [s.l: s.n.]p. 182–196.

JIRKŮ, M. et al. The Phylogeny of *Goussia* and *Choleoeimeria* (Apicomplexa; Eimeriorina) and the Evolution of Excystation Structures in Coccidia. **Protist**, v. 153, n. December, p. 379–390, 2002.

JIRKŮ, M. et al. A model for taxonomic work on homoxenous coccidia: Redescription, host specificity, and molecular phylogeny of *Eimeria ranae* Dobell, 1909, with a review of Anuran-Host *Eimeria* (Apicomplexa: Eimeriorina). **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 56, n. 1, p. 39–51, 2009.

KASSAMBARA, A. **ggpubr: “ggplot2” Based Publication Ready Plots**R package, , 2020. . Disponível em: <<https://cran.r-project.org/package=ggpubr>>.

KIMURA, M. A. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of Molecular Evolution**, v. 16, n. 2, p. 111–120, 1980.

KOROLEFF, F. Determination of nutrients. In: GRASSHOFF, K. (Ed.). **Methods of seawater analysis**. Weinheim: Verlag Chemie, 1976. p. 117–181.

KUMAR, S. et al. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. **Molecular Biology and Evolution**, v. 35, n. 6, p. 1547–1549, 2018.

LACERDA, A. C. F. et al. Comparative parasitism of the fish *Plagioscion squamosissimus* in native and invaded river basins. **Journal of Parasitology**, v. 98, n. 4, p. 713–717, 2012.

LACERDA, A. C. F. et al. Introdução de peixes e seus parasitos. In: PAVANELLI, G. C.; TAKEMOTO, R. M.; EIRAS, J. C. (Ed.). **Parasitologia de peixes de água doce do Brasil**. Eduem ed. [s.l: s.n.]p. 169–193.

LEGENDRE, P.; LEGENDRE, L. **Ecologia Numérica**. 3^a edição ed. [s.l.] Elsevier, 2012. v. 24

LEVINE, N. D. et al. A Newly Revised Classification of the Protozoa. **The Journal of Protozoology**, v. 27, n. 1, p. 37–58, 1980.

LOWE-MCCONNELL, R. H. **Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais**. Edusp ed. São Paulo: LILACS, 1999.

MACKERETH, F. J. H.; HERON, J.; TALLING, J. F. Water analysis: some revised methods for limnologists. **Ambleside: Freshwater Biological Association Scientific**, v. 36, p. 1978, 1978.

MAIA, J. P. M. da C. **Diversity, infection patterns and host-parasite associations of apicomplexan parasites in reptiles**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://repositorio-aberto.up.pt/handle/10216/82096>>.

MARCENIUK, A. P.; HILSDORF, A. W. da S.; LANGEANI, F. A ictiofauna de cabeceiras do rio Tietê, São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 11, n. 3, p. 217–236, 2011.

MARQUES, H. et al. Length – weight and length – length relationships for 23 fish species of Porto Primavera reservoir , Upper Paraná River , Brazil. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 32, p. 1342–1346, 2016.

MARUYAMA, L. S. et al. ESTUDO DA PRODUÇÃO PESQUEIRA DO MÉDIO RIO TIETÊ, NOS ANOS DE 2003 E 2004. **Série Relatórios Técnicos, São Paulo**, v. 42, n. jun, p. 1–15, 2010a.

MARUYAMA, L. S. et al. PRODUÇÃO PESQUEIRA DO BAIXO RIO TIETÊ, NOS ANOS DE 2003-2004. **Série Relatórios Técnicos, São Paulo**, v. 45, n. nov, p. 1–16, 2010b.

MOLNÁR, K. Phylum Apicomplexa. In: WOO, P. T. (Ed.). **Fish diseases and disorders. Volume 1: protozoan and metazoan infections**. CABI ed. [s.l.] Oxfordshire, 2006. p. 183–204.

MOLNÁR, K. et al. *Eimeria* that infect fish are diverse and are related to, but distinct from, those that infect terrestrial vertebrates. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 12, n. 8, p. 1810–1815, 2012.

MORRISON, D. A. Evolution of the Apicomplexa: where are we now? **Trends in Parasitology**, v. 25, n. 8, p. 375–382, 2009.

NEGRÃO, M. C. da S. et al. Prevalence and molecular characterisation of *Calyptospora* parasites Overstreet, Hawkins and Fournié, 1984 (Apicomplexa: Calyptosporidae) in fishes from the eastern Amazon, Brazil. **Parasitology International**, v. 73, n. August, p. 101975, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.parint.2019.101975>>.

NOVAES, J. L. C. ESTUDO COMPARATIVO DA PESCA ARTESANAL EM DOIS GRANDES RESERVATÓRIOS DO ALTO PARANÁ: BARRA BONITA (RIO TIETÊ) E JURUMIRIM (RIO PARANAPANEMA). 2008. **Universidade Estadual Paulista**, 2008.

OKSANEN, J. et al. **Vegan: Community Ecology Package**R package, , 2016. . Disponível em: <<http://cran.r-project.org/package=vegan>>.

OLIVEIRA, J. E. F. de et al. Hepatic coccidiosis in *Serrasalmus rhombeus* linnaeus, 1766 from the amazon basin: Morphological and histopathological aspects. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, v. 30, n. 1, p. 1–8, 2021.

OLIVEIRA, M. et al. *Calyptospora funduli* (Apicomplexa, Calyptosporidae) in the liver of the gulf toadfish, *Opsanus beta*. **Journal of the Helminthological Society of Washington**, v. 60, n. 2, p. 273–277, 1993.

ORSI, M. L.; AGOSTINHO, Â. A. Introdução de espécies de peixes por escapes acidentais de tanques de cultivo em rios da Bacia do Rio Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 16, n. 2, p. 557–560, 1999.

OTA, R. P. et al. Serrasalmidae. In: QUEIROZ, L. J. DE et al. (Ed.). **Peixes do rio madeira**. São Paulo: SantoAntônio, 2013. Iip. 14–47.

OVERSTREET, R. M. Species of *Eimeria* in Nonepithelial Sites. **The Journal of Protozoology**, v. 28, n. 2, p. 258–260, 1981.

OVERSTREET, R. M.; HAWKINS, W. E.; FOURNIE, J. W. The Coccidian Genus *Calyptospora* n. g. and Family Calyptosporidae n. fam. (Apicomplexa), with Members Infecting Primarily Fishes. **The Journal of Protozoology**, v. 31, n. 2, p. 332–339, 1984.

OYAKAWA, O. T.; MENEZES, N. A. Checklist dos peixes de água doce do Estado de São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 11, n. 1, p. 19–31, 2011.

PELICICE, F. M.; AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C. Biodiversidade e conservação de peixes na planície de inundação do alto rio Paraná. **Cadernos da Biodiversidade**, v. 5, n. 1, p. 34–44, 2005. Disponível em: <<http://repositorio.uem.br:8080/jspui/handle/1/5167>>.

PERKINS, S. E. et al. Parasite community dynamics in an invasive vole – From focal introduction to wave front. **International Journal for Parasitology: Parasites and**

Wildlife, v. 6, n. 3, p. 412–419, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2017.07.005>>.

PERRINGS, C. et al. How to manage biological invasions under globalization. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 20, n. 5, p. 212–215, 2005.

POULIN, R. Invasion ecology meets parasitology: Advances and challenges. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 6, n. 3, p. 361–363, 2017.

R CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing** Vienna, Austria R Foundation for Statistical Computing, , 2020. . Disponível em: <<http://www.r-project.org/>>.

RAICK, X. et al. Yellow-eyed piranhas produce louder sounds than red-eyed piranhas in an invasive population of *Serrasalmus marginatus*. **Journal of Fish Biology**, v. 97, n. 6, p. 1676–1680, 2020.

RALPH LAINSON, F. R. S. A protozoologist in Amazônia: Neglected parasites, with particular reference to members of the Coccidia (Protozoa: Apicomplexa). **Ciência e Cultura (Brazilian Association for the Advancement of Science)**, v. 44, n. 2/3, p. 81–93, 1992.

RAMBALDI, D. M.; OLIVEIRA, D. A. S. de. Fragmentação de Ecossistemas: Causas, efeitos sobre a biodiversidade e recomendações de políticas públicas. **MMA/SBF** ed. [s.l: s.n.]

RAMBAUT, A. **FigTree**, 2012. . Disponível em: <<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>>.

RAMOS, A. B. M. A. et al. COCCIDIOSE HEPÁTICA EM *Aspistor quadriscutis*, Valenciennes, 1840 (TELEOSTEI: ARIIDAE) CAPTURADOS NO ESTUÁRIO DO NORDESTE PARAENSE, AMAZÔNIA, BRASIL. **Archives of Veterinary Science**, v. 23, n. 3, p. 63–67, 2018.

REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS JR, C. J. **Checklist of the freshwater fishes of South and Central América**. EDIPUCRS ed. [s.l: s.n.]

RIBEIRO, M. L. T. B. **Observando o Tietê**. São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica, Núcleo União Pró-Tietê, 2004.

RICHARDSON, D. M. et al. Naturalization and invasion of alien plants : concepts and definitions. **Diversity and Distributions**, v. 6, n. 2, p. 93–107, 2000.

ROCHE, D. G. et al. Higher parasite richness, abundance and impact in native versus introduced cichlid fishes. **International Journal for Parasitology**, v. 40, n. 13, p. 1525–1530, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2010.05.007>>.

SANTIAGO, H. et al. Morphology and histopathology of *Calyptospora* sp. (Apicomplexa: Calyptosporidae) in speckled peacock bass, *Cichla temensis* Humboldt, 1821 (Perciformes: Cichlidae), from the Marajó-Açu River, Marajó Island, Brazil. **Parasitology Research**, v. 110, n. 6, p. 2569–2572, 2012.

SANTOS, G. M. dos; FERREIRA, E. J. G.; ZUANON, J. A. S. **Peixes comerciais de Manaus**. 2a edição ed. Manaus: Editora INPA, 2006.

SAZIMA, I.; MACHADO, F. A. Underwater observations of piranhas in western Brazil. **Environmental Biology of Fishes**, v. 28, p. 17–31, 1990. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/BF00751026>>.

SEBASTIÃO, F. de A. **Validação de técnicas moleculares para o diagnóstico de bactérias em peixes, visando redução de tempo e custo**. 2015. Universidade Estadual Paulista- Unesp, 2015. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/123993>>.

SELECHNIK, D. et al. The things they carried: The pathogenic effects of old and new parasites following the intercontinental invasion of the Australian cane toad (*Rhinella marina*). **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 6, n. 3, p. 375–385, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2016.12.001>>.

SIGRH. **RELATÓRIO DE SITUAÇÃO DOS RECURSOS HÍDRICOS 2017**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <www.sigrh.sp.gov.br/cbhrb/documentos>.

SILVA, M. C. da et al. *Calyptospora* sp. in *Brachyplatystoma vaillantii* trapped at the Vigia, State of Pará, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 2, p. 176–178, 2012.

SILVA, M. F. da et al. Gastric coccidiosis in *Thoracocharax stellatus* caused by *Goussia guamaensis* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the Amazon region. **Journal of Fish Diseases**, v. 42, n. 6, p. 905–912, 2019a.

SILVA, M. F. da et al. Morphology and Phylogeny of *Calyptospora paranaidji* n. sp.

(Eimeriorina: Calyptosporidae), an Apicomplexan Parasite of the Hepatic Tissue of *Cichla piquiti* Kullander & Ferreira, 2006, From a Reservoir in the Brazilian Amazon Region. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 66, n. 4, p. 608–616, 2019b.

SILVA, M. F. et al. Hepatic Coccidiosis in *Triporthus angulatus* Spix & Agassiz, 1829 (Characiformes: Triporthidae), a Tropical Fish from the Eastern Brazilian Amazon, with the Description of a New Species of *Calyptospora* (Apicomplexa: Calyptosporidae). **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 67, n. 3, p. 352–358, 2020.

SLODKI, J. et al. Tick-Transmitted Diseases Caused by Apicomplexa. **Acta Protozoologica**, v. 50, n. January, p. 155–161, 2011. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/260225616_Tick-Transmitted_Diseases_Caused_by_Apicomplexa>.

SMIT, N. J.; MALHERBE, W.; HADFIELD, K. A. Alien freshwater fish parasites from South Africa: Diversity, distribution, status and the way forward. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 6, n. 3, p. 386–401, 2017.

SOLANGI, M. A.; OVERSTREET, R. M. Biology and Pathogenesis of the Coccidium *Eimeria funduli* Infecting Killifishes. **The Journal of Parasitology**, v. 66, n. 3, p. 513–526, 1980.

SOLDATI, D.; FRANCOIS, J.; LEBRUN, M. Microneme proteins : structural and functional requirements to promote adhesion and invasion by the apicomplexan parasite *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, v. 31, p. 1293–1302, 2001.

SOUZA, W. De et al. Organização estrutural do taquizoíto de *Toxoplasma gondii*. **Scientia Medica**, v. 20, n. 1, p. 131–143, 2010.

STEINHAGEN, D.; DAVIES, A. J. Diseases caused by apicomplexans. In: EIRAS, J. et al. (Ed.). **Fish diseases**. Vol 1 ed. Jersey: Science Publishers, 2008. 1p. 517–567.

SVERLIJ, S. B. et al. **Peces del Rio Uruguay : guia ilustrada de las especies mas comunes del Rio Uruguay inferior y el embalse de Salto Grande**. [s.l: s.n.].

TALEVICH, E.; MIRZA, A.; KANNAN, N. Structural and evolutionary divergence of eukaryotic protein kinases in Apicomplexa. **BMC Evolutionary Biology**, v. 11, n. 1, 2011.

TENTER, A. M. et al. The conceptual basis for a new classification of the coccidia.

International Journal for Parasitology, v. 32, n. 5, p. 595–616, 2002.

TOMLEY, F. M. et al. EtMIC4 : a microneme protein from *Eimeria tenella* that contains tandem arrays of epidermal growth factor-like repeats and thrombospondin type-I repeats q. **International Journal for Parasitology**, v. 31, p. 1303–1310, 2001.

TORLONI, C. E. C. et al. Produção pesqueira e composição das capturas em reservatórios sob concessão da CESP nos rios Tietê, Paraná e Grande, no período de 1986 a 1991. **Série Produção Pesqueira**, v. 1, p. 73 P, 1993.

TROCA, D. F. A.; VIEIRA, J. P. Potencial invasor dos peixes não nativos cultivados na região costeira do Rio Grande do Sul, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 38, n. 2, p. 109–120, 2012.

TUNDISI, J. G. Reservatórios como sistemas Complexos: Teoria, aplicações e perspectivas para usos múltiplos. In: HENRY, R. (Ed.). **Ecologia de reservatórios: Estrutura, função e aspectos sociais**. Botucatu: FUNDIBIO/FAPESP, 1999. p. 19–38.

TUNDISI, J. G. et al. A bacia hidrográfica do Tietê/Jacaré: Estudo de caso em pesquisa e gerenciamento. **Estudos Avancados**, v. 22, n. 63, p. 159–172, 2008.

VALIGUROVÁ, A. et al. Protococcidian *Eleutheroschizon duboscqi* , an Unusual Apicomplexan Interconnecting Gregarines and Cryptosporidia. **PLoS ONE**, v. 10, n. 4, p. 1–27, 2015.

VELASCO, M. et al. Morfologia e nova ocorrência de um coccídio hepatopancreático parasita de peixe amazônico. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 55, n. 3, p. 231–235, 2012.

VIDEIRA, M. et al. An anatomopathological study of hepatic coccidiosis (*Calyptospora* sp.) in the Acará-Pixuna, *Aequidens Plagiozonatus* Kullander, 1984 from the Brazilian State of Pará. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 1, p. 91–94, 2013.

VILLARES, G. A.; GOMIERO, L. M.; GOITEIN, R. Feeding of *Serrasalmus maculatus* (Kner, 1858) (characiformes; serrasalmidae) in the Sorocaba river, São Paulo State, Brazil. **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, v. 30, n. 3, p. 267–273, 2008.

VITTI, D. M. de C. et al. Acurácia horizontal do mapeamento de um trecho da área de concessão da UHE de Bariri, SP com imagens de alta resolução coletadas com RPAS. In:

Anais do XVIII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto -SBSR, Santos- SP. **Anais...** Santos- SP: Galoá Proceedings, 2017.

VITULE, J. Introdução de peixes em ecossistemas continentais brasileiros: revisão, comentários e sugestões de ações contra o inimigo quase invisível. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 4, n. 2, p. 111–122, 2009.

VITULE, J. R. S.; FREIRE, C. A.; SIMBERLOFF, D. Introduction of non-native freshwater fish can certainly be bad. **Fish and Fisheries**, v. 10, n. 1, p. 98–108, 2009.

WHIPPS, C. M. et al. Phylogeny of fish-infecting Calyptospora species (Apicomplexa: Eimeriorina). **Parasitology Research**, v. 111, n. 3, p. 1331–1342, 2012.

WICKHAM, H. **ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis**New YorkSpringer-Verlag, , 2016. .

XAVIER, R. et al. Phylogenetic analysis of apicomplexan parasites infecting commercially valuable species from the North-East Atlantic reveals high levels of diversity and insights into the evolution of the group. **Parasites and Vectors**, v. 11, n. 1, p. 1–12, 2018.

XAVIER, R. et al. Effects of *Goussia* infecting the blue whiting and phylogenetic placement of *Goussia* infecting marine fish off Northern Portugal. **Parasitology Research**, v. 119, p. 2139–2147, 2020.

Relação parasita-hospedeiro, prevalência, morfologia e caracterização molecular de *Calyptospora* (Apicomplexa: Calyptosporidae) infectando serrasalmídeos na bacia do Médio Tietê– SP

RESUMO

O cursos hidrográficos do Brazil contêm uma enorme diversidade de peixes e outros animais aquáticos, os quais estão potencialmente expostos a parasitas em diferentes fases de seu ciclo de vida. Coccidianos do filo Apicomplexa são parasitas intracelulares obrigatórios que infectam vertebrados e invertebrados. Calyptosporidae, é a única família da classe Coccidea com apenas um gênero descrito, parasita de tecidos e órgãos de peixes e invertebrados aquáticos. Em contraste com outros apicomplexos da subordem Eimeriorina, a diversidade e ecologia das espécies de *Calyptospora* têm sido pouco investigada, com escasso conhecimento sobre suas relações filogenéticas, ciclo de vida e patogenicidade. Neste estudo, *Serrasalmus maculatus* foi coletada em diferentes períodos no rio Tietê, SP. O estudo taxonômico dos parasitas foi realizado a partir da análise morfológica, morfométrica, molecular e filogenética do parasita e patológica do fígado. Foram observados oocistos no tecido hepático de 64,7% das piranhas coletadas, com alterações leves a moderadas que não comprometeram a função do órgão. Tecidos hepáticos de *S. maculatus* infectados por *Calyptospora* foram utilizados para detectar os parasitas em PCR com primers específicos e amplificação de uma região do gene 18S rRNA. As sequências obtidas de *S. maculatus* foram idênticas e apresentaram 98% de similaridade com *Calyptospora gonzaguenis* e com *Calyptospora serrasalmi*. Este estudo é o primeiro a relatar a ocorrência de espécie de *Calyptospora* no tecido hepático de um novo hospedeiro em uma nova região geográfica.

Palavras- chave: Apicomplexa, *Calyptospora* spp., gene 18S rRNA, piranha amarela, rio Tietê.

1. INTRODUÇÃO

As invasões biológicas como consequência da ação antrópica devido à construção de barragens (AGOSTINHO; PELICICE; GOMES, 2008), comercialização de diferentes espécies de peixes, translocação global e a introdução de peixes de água doce em regiões não nativas, criaram uma oportunidade ideal para a introdução conjunta de seus parasitas (SMIT; MALHERBE; HADFIELD, 2017), bem como, um fator potencial para o desequilíbrio nas interações parasita-hospedeiro (GALLI et al., 2005).

As comunidades de peixes de água doce presentes nas bacias hidrográficas do estado de São Paulo são diversas. Existem cerca de 391 espécies, que correspondem a aproximadamente 15% do total estimado para todo o território brasileiro (OYAKAWA; MENEZES, 2011). No entanto, pouco se sabe sobre as relações parasitárias entre os coccidianos e a ampla diversidade de animais aquáticos no Brasil (EIRAS et al., 2012) e propriamente nos cursos hidrográficos do estado de São Paulo.

Coccidianos do filo Apicomplexa são parasitas intracelulares obrigatórios, que infectam vertebrados (heterotérmicos e homeotérmicos) e invertebrados, com impacto econômico e sanitário nos humanos e animais (SLODKI et al., 2011; BARTOŠOVÁ-SOJKOVÁ et al., 2015; MAIA, 2015; SILVA et al., 2020). Em peixes, é considerada uma doença “negligenciada”, uma vez que o ciclo de vida desses parasitas ainda não foi totalmente elucidado (BARTOŠOVÁ-SOJKOVÁ et al., 2015). Como este parasita ainda é pouco estudado, entendimento sobre seu ciclo de vida e sua patogenicidade ainda não foram completamente entendidos. Em contrapartida, a complexa relação evolutiva entre esses parasitas foi amplamente discutida (TENTER et al., 2002; MORRISON, 2009; XAVIER et al., 2018).

O clado *Calyptospora* revela um táxon monofilético distinto de outras espécies coccidianas (WHIPPS et al., 2012). Este gênero, tem como sítio de infecção o tecido hepático de peixes teleósteos de água doce e salgada (CHEUNG et al., 1986; SANTIAGO et al., 2012). No entanto, nos últimos anos, o interesse pela diversidade e dinâmica desses organismos parasitas, demonstrou características importantes de invasão parasitária e ecologia de transmissão (NEGRÃO et al., 2019), ocorrendo em órgãos tais como gônadas, vesícula biliar, tecido adiposo, coração, intestino e ovários de várias espécies de peixes

amazônicos (AZEVEDO et al., 1993; BONAR et al., 2006; ALBUQUERQUE; BRASILEIRO, 2010; NEGRÃO et al., 2019; SILVA et al., 2020).

Parasitas desse gênero são comumente encontrados parasitando peixes de águas tropicais da região amazônica, porém, relatos na literatura internacional sobre sua diversidade são escassos, sendo descritos apenas sete espécies em peixes nos Estados Unidos: *Calyptospora funduli* Duszynski et al. 1979, *Calyptospora empristica* Fornie et al. 1985 e *Calyptospora serrasalmi* Cheung et al. 1986 em *S. niger* e no Brasil: *Calyptospora tucunarensis* Békési and Molnár, 1991 em *Cichla ocellaris* Bloch and Schneider, 1801; *Calyptospora spinosa* Azevedo et al. 1993 em *Crenicichla lepidota* Heckel, 1840; *Calyptospora paranaidji* Silva et al. 2019b em *Cichla piquiti* Kullander and Ferreira, 2006; e *Calyptospora gonzaguensis* Silva et al. 2020 descrita em *T. angulatus*.

Os avanços científicos sobre os caliptosporídeos em peixes são poucos e existem informações limitadas sobre a importância da coccidiose em peixes tropicais e os mecanismos de sua invasão parasitária. Desta forma, este estudo descreve pela primeira vez a ocorrência de espécies de *Calyptospora* no tecido hepático da piranha amarela *Serrasalmus maculatus* Kner, 1858, na bacia hidrográfica do Rio Tietê, São Paulo, bem como a interação entre o parasitismo, índice hepatossomático, sexo e comprimento.

2. MATERIAS E MÉTODOS

2.1. Área de estudo e captura dos peixes

Este estudo foi realizado no trecho médio do rio Tietê, próximo a uma piscicultura comercial produtora de tilápia em tanque-rede, localizada no município de Arealva, no estado de São Paulo, Brasil (22°05'21.8"S 48°51'44.7"W) (Fig. 8). Um total de 88 exemplares de *S. maculatus* foram capturados em outubro de 2020 e março de 2021, pela equipe do Laboratório de Microbiologia e Parasitologia de Organismos Aquáticos (LAPOA) do Centro de Aquicultura da Unesp (CAUNESP), juntamente com o auxílio de pescadores locais, utilizando varas de pesca. A captura dos animais foi autorizada pelo Ministério do Meio Ambiente do Brasil (licença SISBIO nº 69947).

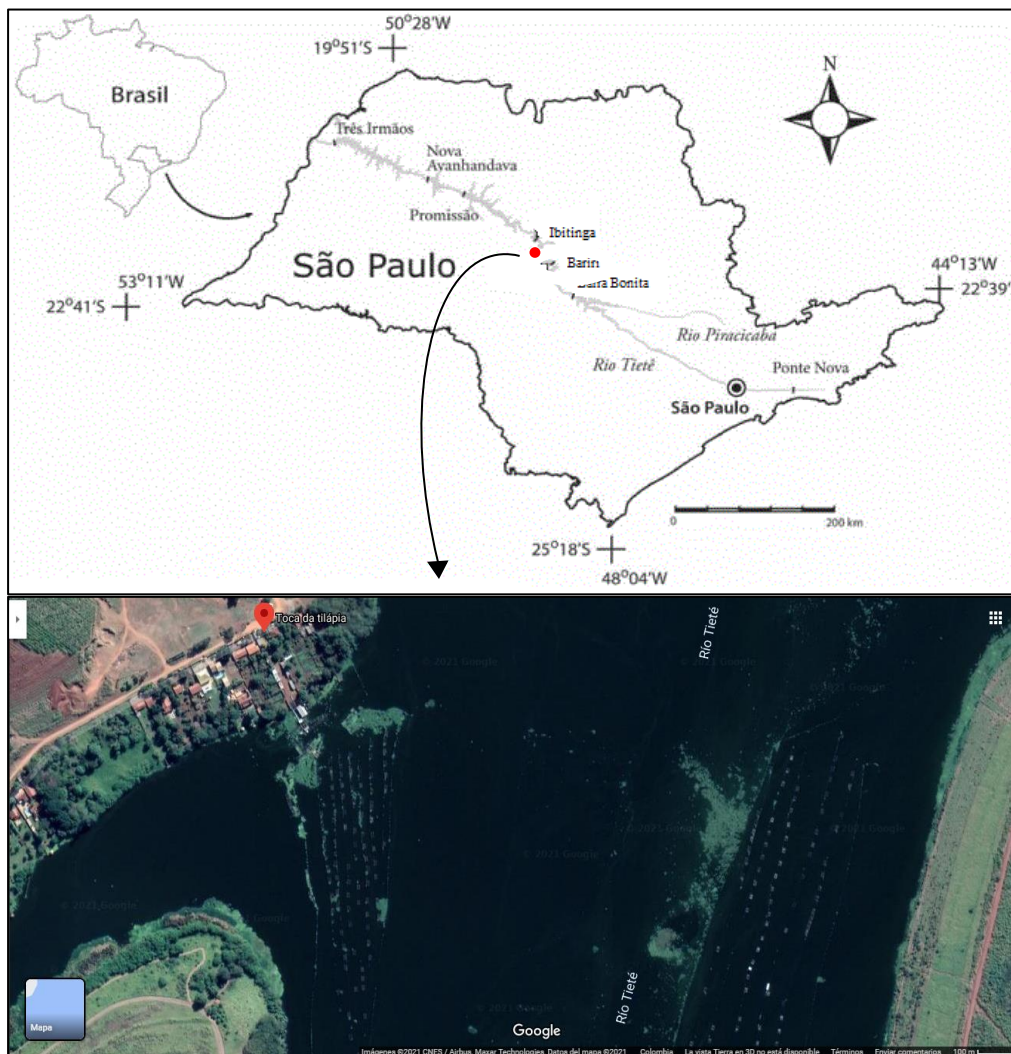


Figura 8. Local da amostragem realizada no trecho médio do Rio Tietê, município de Arealva- SP, próximo a Piscicultura Toca da Tilápia. Fonte: Google Maps; desenho tomado de VITTI et al. (2017).

Imediatamente, após a captura dos animais, estes foram anestesiados em solução alcóolica de benzocaína (100 mg.L^{-1}), aspergida diretamente nas brânquias com auxílio de um borrifador, para melhor manejo e bem estar dos peixes, afim de obter dados biométricos, como o peso (W em gr), comprimento total (TL em cm) e comprimento padrão (SL em cm). O fator de condição de Fulton foi determinado ($K = W/TL \times 100$). Logo após, os peixes foram identificados, fotografados individualmente para caracterização taxonômica (a nível de espécie) e eutanasiados por comoção cerebral. Os peixes foram individualmente armazenados em sacos plásticos e mantidos sob

refrigeração em caixas de isopor contendo gelo, até serem transportados ao Laboratório de Microbiologia e Parasitologia de Organismos Aquáticos (LAPOA), Jaboticabal- SP, onde foram necropsiados.

A identificação das espécies das piranhas coletadas neste estudo foi realizada pelo Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura da Universidade Estadual de Maringá, e amostras depositadas e cadastradas na coleção do Nupélia/UEM (lote do voucher NUP22739). Os exemplares de crustáceos coletados foram identificados pelo Laboratório de Morfologia de Invertebrados da UNESP/FCAV- Jaboticabal, SP.

Todos os procedimentos com os animais seguiram os princípios éticos adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, sendo que o estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, São Paulo, Brasil (Protocolo nº 349/21).

2.2. Identificação morfológica dos parasitas

Na identificação dos parasitas, os peixes foram dissecados e quando possível o fígado pesado (LW em gr) para o cálculo do índice hepatossomático ($IHS = LW/W \times 100$). Pequenos fragmentos de tecido hepático foram macerados entre lâmina e laminula para observação dos oocistos em microscópio óptico (Nikon E200®). Os procedimentos de necropsia dos peixes, coleta, fixação, conservação e montagem dos parasitas para identificação foram realizados de acordo com EIRAS; TAKEMOTO; PAVANELLI, (2006).

Após confirmação da infecção, as lâminas com o tecido hepático contendo oocistos foram fotografadas em microscópio óptico (Leica®DM2500), acoplado a um sistema de captura de imagens (Leica®DFC295), para determinar a morfometria dos parasitas através da medição dos oocistos maduros ($n = 304$) ou seja, diâmetro do oocisto, comprimento e largura do esporocisto e a relação comprimento: largura (L: W) entre o comprimento do esporocisto e a largura do oocisto (diâmetro) (BÉKÉSI; MOLNÁR, 1991). As dimensões morfométricas dos oocistos foram processadas pelo software Leica

Application Suite (LAS), e os dados comparados com estudos na literatura para as espécies existentes do gênero *Calyptospora*.

2.3.Histopatologia do fígado

Amostras de fígado de *S. maculatus* (n =34) infectadas e não infectadas foram selecionadas para análise histológica. Fixadas em solução de Davidson por 24 h (formaldeído puro, etanol 95%, ácido acético e água destilada), incluídas em parafina, seccionadas em micrótomo (3 µm de espessura) e coradas com hematoxilina-eosina (H&E) (HUMASON, 1972). As lâminas foram fotografadas e as lesões analisadas e descritas. A análise das estruturas morfológicas do parasita foi realizada com auxílio de fotomicroscópio Leica®DM2500, equipado com câmara Leica®DFC295 e analisador de imagens Leica Application Suite (LAS).

2.4.Microscopia eletrônica de transmissão (TEM)

Para a realização da microscopia eletrônica de transmissão, pequenos fragmentos de fígado infectado com oocistos (1-2 mm) obtidos das piranhas estudadas (n=12), foram fixados em glutaraldeído a 3%, preparado com água destilada em tampão fosfato de sódio 0,1 mol l⁻¹ (pH 7,2). As amostras foram pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1%, coradas “em bloco” com acetato de uranila 1%, desidratadas em série crescente de etanol (50% – 100%) e incluídas em resina Epon-Araldite. O processamento das amostras foi realizado no Laboratório de Morfologia de Invertebrados da UNESP/FCAV- Jaboticabal. As estruturas membranosas internas do coccídeo serão analisadas posteriormente no Laboratório Multiusuário de Microscopia Eletrônica (LMME) da USP- Ribeirão Preto (análise em andamento).

2.5.Análise molecular

2.5.1. Extração de DNA e sequenciamento

Para análise molecular, pequenos fragmentos do tecido hepático infectado com oocistos de *Calyptospora* sp. de *S. maculatus* (n =9), foram coletados e fixados em etanol 100%. Após, o conteúdo foi armazenado em tubo de microcentrífuga (1,5 ml) e o DNA

extraído utilizando o Kit para extração de DNA (PureLink® Genomic - Invitrogen, EUA), seguindo as recomendações do fabricante. A integridade do DNA verificada em gel de agarose a 1%.

Um fragmento do gene 18S rRNA do parasita foi amplificado por reação em cadeia da polimerase (PCR), utilizando os iniciadores mrF (5'-GGC-CGG-CGA-TAG-ATC-ATT-CA-3') e mrR (5'-CGA-CAC-GCA-AAG-TCC-CTC-TA-3') (NEGRÃO et al., 2019), amplificando um fragmento de aproximadamente 1.300 pb do gene 18S rRNA de *Calyptospora* spp. O volume final da reação de PCR foi de 12.5 µl contendo 1.25 µl de Buffer, 1.5 µl de dNTP, 0.37 µl de MgCl₂, 0.5 µl de cada iniciador (10 mM), 0.05 µl Taq polimerase (Invitrogen), 0.5 µl da amostra de DNA e 7.8 µl de água MilliQ. A amplificação foi realizada em termociclador ProFlex™ PCR System (Life technologies) com desnaturação inicial a 95 °C por 2 min, seguido por 34 ciclos de 95 °C por 30 s, 60 °C por 30 s, 72 °C por 30 s, e uma extensão final a 15 °C durante 3 min.

Os produtos da PCR foram submetidos a eletroforese em gel de agarose a 1.5% (0.75gr de agarose e 50 mL TBE1x) e o tamanho de bandas analisada por comparação direta com o marcador de peso molecular 1 Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen By Life Technologies, Maryland, EUA). O DNA obtido de fragmentos da nadadeira dos peixes (extraído como descrito anteriormente) foi utilizado como controle para verificar a ausência de amplificação do DNA do hospedeiro, confirmando a presença única do DNA dos parasitas na PCR.

Todas essas etapas foram realizadas no Laboratório de Genética em Aquicultura e Conservação (LaGeAC), do Centro de Aquicultura da Unesp (CAUNESP), Jaboticabal-SP.

O sequenciamento das amostras foi realizado pelo Laboratório Multiusuário Centralizado para Sequenciamento de DNA em Larga Escala e Análise de Expressão Gênica – LMSeq da UNESP/FCAV- Jaboticabal. Os fragmentos amplificados foram purificados e sequenciados com o kit “Big Dye Terminator” v3.1 e submetidos ao sequenciador ABI PRISM 3130xL DNA Analyzer (Applied Biosystems). O sequenciamento foi realizado na direção 5'→3' (Forward).

2.5.2. Alinhamento da sequência e análise filogenética

As sequências de DNA obtidas foram visualizadas e analisadas nos programas CodonCode Aligner (v. 9.0.2) (RICHTERICH, 2004) e AliView (v. 1.26) (LARSSON, 2014). As extremidades das sequências foram removidas de forma automática, mantendo apenas a porção de alta qualidade (taxa de erro $\leq 0,1$; Phred ≥ 20). As sequências foram identificadas utilizando a Ferramenta de Busca de Alinhamento Básico Local de nucleotídeos (BLASTn), da Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos da América (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Identidade igual ou superior a 98% e sua significância (e-value) foram os principais critérios utilizados para identificação. Todas as sequências foram depositadas no banco de dados do Centro Nacional de Informação Biotecnológica dos Estados Unidos da América (NCBI). O número de acesso, local de origem, data de coleta, hospedeiro e tamanho do amplicon de alta qualidade está apresentado na Tabela 2.

A análise evolutiva foi realizada utilizando métodos descritos anteriormente (SEBASTIÃO, 2015; ASSANE et al., 2021). Resumidamente, sete sequências de *Calyptospora* do presente estudo, 14 sequências de diferentes gêneros da subordem Eimeriorina (*Calyptospora* (8), *Goussia* (5), *Eimeria* (1)) isoladas de peixes e duas sequências de Adeleorina (*Adelina* (1) e *Kossia* (1)) isoladas de centopeia e caracol foram obtidas do banco de dados do NCBI e utilizadas para análise evolutiva. *Adelina dimidiata* (número de acesso DQ096835) e *Klossia helicina* (número de acesso HQ224955) foram utilizadas como grupo externo.

As 23 sequências foram alinhadas utilizando a ferramenta MAFFT (v. 7.471) no Ambiente Extremo de Descoberta de Ciência e Engenharia (X SEDE). Em seguida, estas foram processadas no programa AliView (v. 1.26) (LARSSON, 2014) e analisadas no programa MEGA (v. 10.1.8) (KUMAR et al., 2018) e jModeltest2 (v. 2.1.10) no X SEDE (DARRIBA et al., 2012), para determinar os melhores modelos de substituição molecular que inferirão na história evolutiva pelo método de Máxima Verossimilhança (ML) e Inferência Bayesiana (BI), respectivamente. Os modelos utilizados em cada análise foram escolhidos com base nos menores valores do critério de informação Bayesiano (BIC) estimados.

Na inferência pelo método de ML foi usado o modelo Kimura de dois parâmetros (KIMURA, 1980). A árvore com a maior probabilidade de log (árvore de consenso bootstrap), inferida de 10000 repetições, foi considerada para representar a história evolutiva dos táxons analisados (FELSENSTEIN, 1985). Ramificações correspondentes a partições reproduzidas em menos de 50% das réplicas de bootstrap foram reduzidas. A porcentagem de árvores replicadas nas quais os táxons associados agrupados no teste de bootstrap (10000 repetições) foram mostradas ao lado dos ramos (FELSENSTEIN, 1985).

A porcentagem de árvores nas quais os táxons associados se agruparam foi mostrada ao lado dos galhos. A (s) árvore (s) inicial (is) para a busca heurística foi obtida automaticamente pela aplicação dos algoritmos Neighbour-Join e BioNJ a uma matriz de distâncias pareadas estimadas usando a abordagem de máxima verossimilhança composta (MCL) e, em seguida, selecionando a topologia com valor log de verossimilhança superior. Uma distribuição Gama discreta foi usada para modelar as diferenças de taxa evolutiva entre os locais (5 categorias (+ G, parâmetro = 0,1914)). A análise foi conduzida no programa MEGA (v. 10.1.8) (KUMAR et al., 2018) e envolveu 276 posições das 23 sequências de nucleotídeos. A árvore foi desenhada em escala, com comprimentos de galhos medidos em número de substituições por local.

A inferência pelo método de BI foi conduzida no MrBayes no X SEDE, utilizando o modelo de Kimura de 2 parâmetros (KIMURA, 1980) com distribuição Gama discreta (K80+G) para modelar as diferenças de taxa evolutiva entre os locais (4 categorias (+ G, parâmetro = 0,1710) e proporção de locais invariáveis igual a 0). A análise foi executada em em 4 cadeias (uma delas fria) em quadruplicata, simultâneas e independentes, para 50000000 gerações. A cadeia de Markov foi amostrada a cada 1000 ciclos e as primeiras 12500 árvores foram descartadas.

A árvore consenso da inferência pelo método de ML e BI foi visualizada no programa Figtree (v. 1.4.4) (RAMBAUT, 2012) e refinada no programa CorelDRAW 2017 (Corel Corporation, Ottawa, Canada).

Tabela 2. Número de acesso do GenBank para as sequências de nucleotídeos depositadas.

Nº acesso	Identificação	Origem	Data coleta	Hospedeiro	Tamanho (pb)	Similiaridade
MZ452659	KP0321	médio Tietê-SP	mar/21	<i>S. maculatus</i>	466	<i>C. gonzaguensis</i>
MZ452660	KP3521	médio Tietê-SP	mar/21	<i>S. maculatus</i>	206	<i>C. serrasalmi</i>
MZ452661	KP0520	médio Tietê-SP	out/20	<i>S. maculatus</i>	492	<i>C. gonzaguensis</i>
MZ452662	KP0420	médio Tietê-SP	out/20	<i>S. maculatus</i>	414	<i>C. gonzaguensis</i>
MZ452663	KP0120	médio Tietê-SP	out/20	<i>S. maculatus</i>	503	<i>C. gonzaguensis</i>
MZ452664	KP1420	médio Tietê-SP	out/20	<i>S. maculatus</i>	400	<i>C. serrasalmi</i>
MZ452665	KP2120	médio Tietê-SP	out/20	<i>S. maculatus</i>	493	<i>C. gonzaguensis</i>
MZ452666	KP2220	médio Tietê-SP	out/20	<i>S. maculatus</i>	311	<i>C. serrasalmi</i>
MZ452667	KP2420	médio Tietê-SP	out/20	<i>S. maculatus</i>	340	<i>C. serrasalmi</i>

2.6. Análises estatística

A prevalência (P) de infecção dos parasitas em *S. maculatus* foi estimado conforme BUSH et al. (1997). Para determinar o índice hepatossomático dos indivíduos, utilizou-se a fórmula $IHS = (Wf/Wt)100$ (Wf = peso do fígado, Wt = peso total). Para avaliar se os indivíduos apresentaram diferenças quanto ao índice hepatossomático, foi empregado a análise de covariância (ANCOVA). Aplicou-se o índice e comprimento dos indivíduos como resposta variável e covariável no modelo, respectivamente. O parasitismo (parasitado e não-parasitado) e o sexo dos indivíduos foi utilizado como fator fixo. Na ANCOVA foi testado o pressuposto de paralelismo (inclinação homogênea), da ANCOVA padrão por meio da interação entre sexo, parasitismo e o comprimento (GARCÍA-BERTHOU; MORENO-AMICH, 1993). Os procedimentos estatísticos foram realizados no software R versão 4.0.2 (R CORE TEAM, 2020) com os pacotes vegan (OKSANEN et al., 2016), ggpubr (KASSAMBARA, 2020) e ggplot2 (WICKHAM, 2016).

3. RESULTADOS

Dos 88 exemplares (machos $n=20$ e fêmeas $n=60$, de sexo definido) de *S. maculatus* coletados (peso médio de $218,07 \pm 106,08$ g e comprimento total de $19,3 \pm 3,16$ cm), 64,7% encontraram-se parasitados com oocistos de *Calypsozona* spp. O sítio de infecção de todos os peixes amostrados foi o tecido hepático.

O índice de prevalência parasitária por *Calyptospora* spp., nos meses de coleta encontra-se na Tabela 3. *Serrasalmus maculatus* foi a espécie mais encontrada nos dois meses de coleta, com mais da metade dos indivíduos parasitados por *Calyptospora* spp., com prevalência de 70% no mês de outubro de 2020 e de 62,06% em março de 2021, evidenciando a presença do parasita em duas estações do ano.

Tabela 3. Prevalência (%) de *Calyptospora* sp. nos meses de outubro de 2020 e Março de 2021.

Mês/Ano	Prevalência (%)	N° capturas
Outubro/2020	70	30
Março/2021	62,06	58
Total	64,7	88

Exemplares de *S. maculatus* apresentaram diferenças no índice hepatossomático (Tabela 4), porém, não podemos inferir se os parasitas realmente afetam diretamente ou não o fígado. Os resultados demonstraram que os indivíduos parasitados apresentaram valores menores para o índice hepatossomático em peixes maiores do que os indivíduos não parasitados (Fig. 9). Já com relação ao sexo, foram encontradas diferenças significativas, em que os machos apresentaram valores maiores de índice hepatossomático que as fêmeas (Fig. 10).

Tabela 4. Análise de covariância (ANCOVA), comparando o índice hepatossomático de *Serrasalmus maculatus* parasitadas e não-parasitadas e com relação ao sexo.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Valor de F	Valor de p
Índice	1	20,79	0,00
Parasitismo	1	0,03	0,95
Sexo	1	9,52	0,00

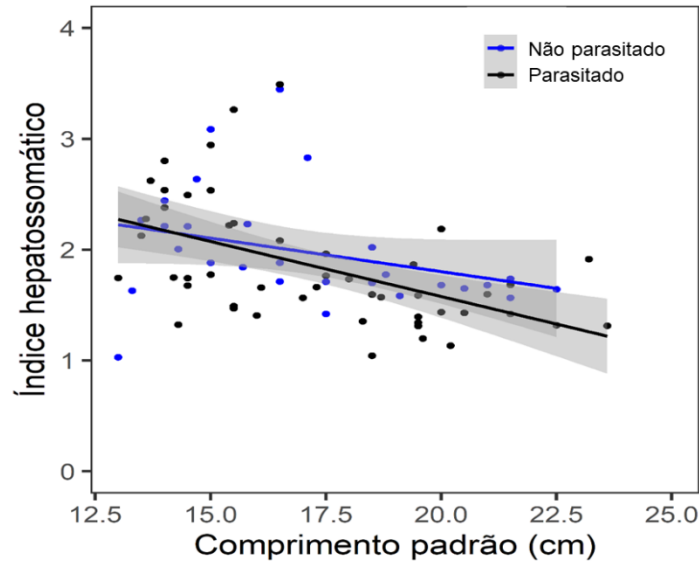


Figura 9. Análise de regressão (ANCOVA) para o índice hepatossomático de *Serrasalmus maculatus* entre os indivíduos parasitados e não-parasitados.

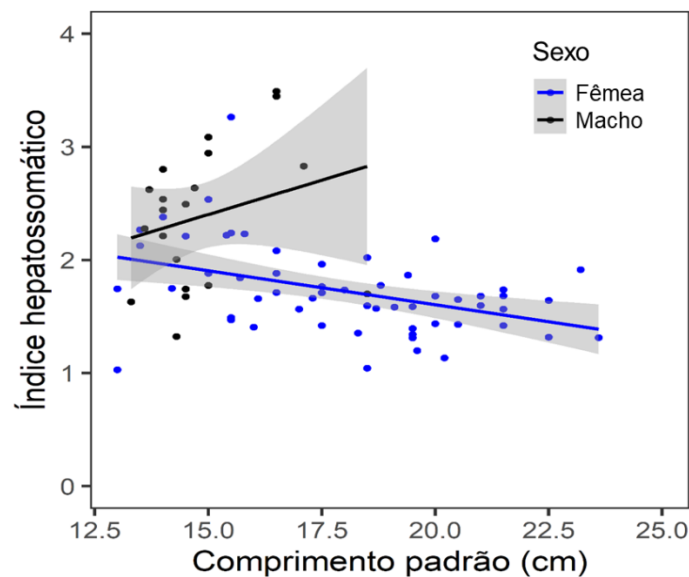


Figura 10. Análise de regressão (ANCOVA) comparando o índice hepatossomático de *Serrasalmus maculatus* entre machos e fêmeas.

Após a necropsia, macroscopicamente no fígado de *S. maculatus* foi observado manchas com coloração mais clara, de aspecto esbranquiçado, indicando maior concentração de oocistos nessa região, bem como mudanças na coloração do órgão, o qual demonstrou-se pálido ou amarelados (Fig. 11 *a,b*). Também foi observado um padrão de agregação parasitária difuso no fígado. Todos os peixes infectados

apresentaram oocistos no tecido hepático, os quais estavam completamente esporulados e alguns imaturos, aglomerados e/ou encapsulados em cistos, como também isolados, distribuídos por todo o parênquima (Fig. 12 *a,b,c*) quando observados microscopia óptica.

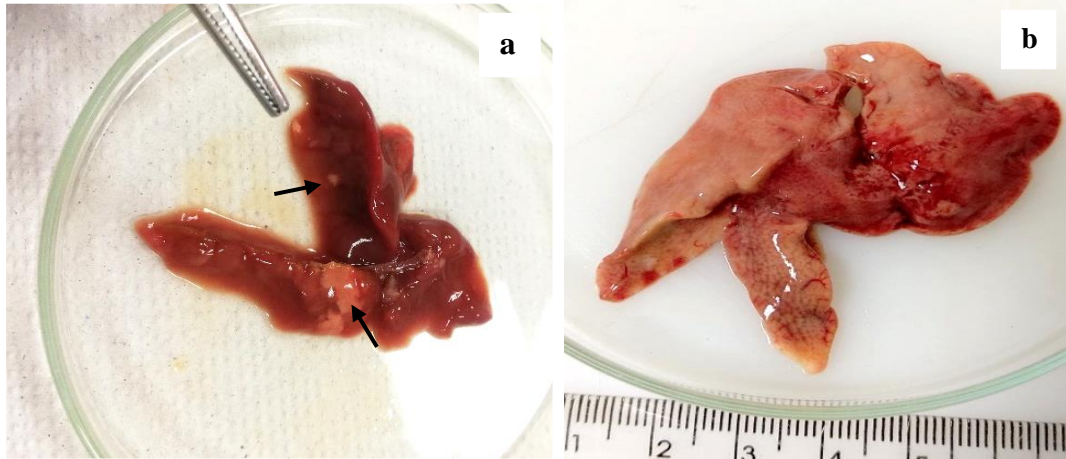


Figura 11. Fígado de *Serrasalmus maculatus* a) evidenciando manchas esbranquiçadas no fígado, com padrão multifocal (setas brancas); b) mudanças na coloração de pálida à amarelado.

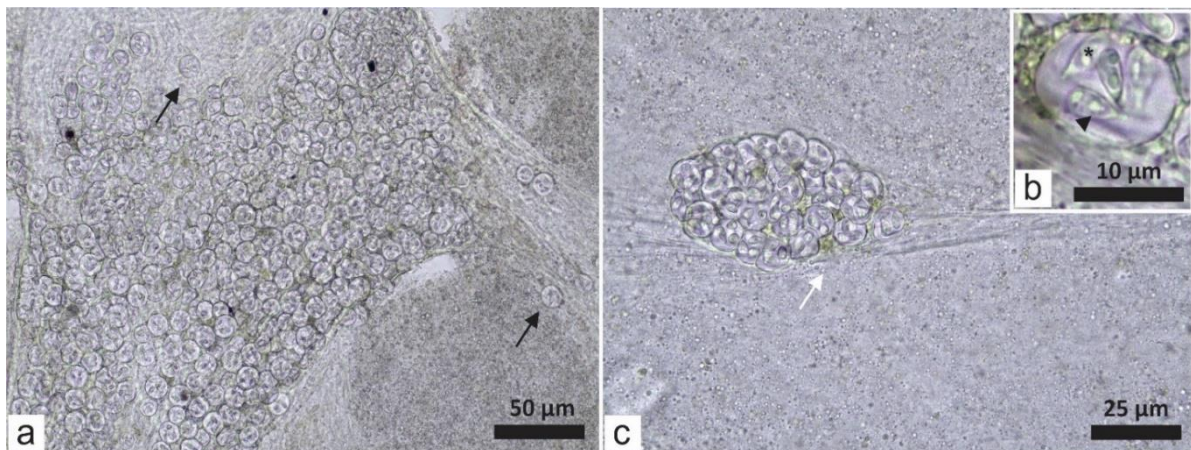


Figura 12. *Calyptospora* sp., localizado no parênquima hepático de *Serrasalmus maculatus*. a) Oocistos aglomerados e individuais (setas); b) esporocistos dentro do oocisto (*), e presença de dois esporozoitos (ponta da seta); c) agregação de oocistos, formando um encapsulado (seta branca).

Os oocistos esporulados identificados em *S. maculatus* eram ovoides, com $11,4 \pm 1,8 \mu\text{m}$ de diâmetro ($n= 306$) e os esporocistos piriformes com $5,4 \pm 0,7 \mu\text{m}$ de comprimento e $2,6 \pm 0,3 \mu\text{m}$ de largura, L / W 2,1. A comparação dos parâmetros morfométricos de *Calyptospora* sp. (deste estudo) com os caliptosporídeos descritos anteriormente, revelaram pouca semelhança com outros espécimes de *Calyptospora* coletados de espécies amazônicas brasileiras, pois as medidas eram de menor tamanho (Tabela 5).

Tabela 5. Comparação morfométrica de oocistos e esporocistos de *Calyptospora* spp. em diferentes espécies de peixes de água doce no Brasil.

Espécie	SI / FE	Esporocisto			L:W	Local	Autor
		OD	Comprimento	Largura			
<i>C. tucunarensis</i>	Fígado/Elipsoide	24,3 (2,1)	8,3 (1,3)	3,7 (1,1)	2,92	Ceará	BÉKÉSI; MOLNÁR, (1991)
<i>C. spinosa</i>	Fígado, gonada e ovários/Elipsoide	22,3 (1,6)	9,2 (0,4)	3,9 (0,4)	2,42	Pará	AZEVEDO; MATOS; MATOS (1993)
<i>C. serrasalmi</i> ¹	Fígado/Piriforme	23,8 (1,5)	11 (0,7)	5,7 (0,5)	2,16	Amazônia	CHEUNG; NIGRELLI; RUGGIERI (1986)
<i>C. serrasalmi</i> ²	Fígado/Piriforme	25,4 (0,6)	11,7 (1)	5,9 (0,4)	2,17	Pará	CASAL et al. (2007)
<i>C. paranaidji</i>	Fígado/Piriforme	22,1 (1,5)	9,7 (0,5)	4,6 (0,6)	2,28	Maranhão	SILVA et al. (2019b)
<i>C. gonzaguensis</i>	Fígado, vesícula biliar, tecido adiposo/Piriforme	19,6 (1,4)	9,2 (0,6)	3,9 (0,2)	2,13	Maranhão	SILVA et al. (2020)
<i>Calyptospora</i> sp. ¹	Fígado/Piriforme	19 (4,2)	9 (1,4)	4 (0,4)	2,11	Manaos	BONAR et al. (2006)
<i>Calyptospora</i> sp. ²	Intestino, fígado /Elipsoide	24,5	11,5	4,5	2,13	Minas Gerais	ALBUQUERQUE; BRASIL-SATO (2010)
<i>Calyptospora</i> sp. ³	Fígado/Piriforme	20,8	8,9	4,1	2,43	Pará	SILVA et al. (2012)
<i>Calyptospora</i> sp. ⁴	Fígado/Piriforme	28,6	11,3	6,5	2,53	Pará	DIAS, (2013)
<i>Calyptospora</i> sp. ⁵	Fígado/Piriforme	17,4 (1,0)	8,3 (1,1)	4,3 (0,8)	2,1	Pará	OLIVEIRA et al. (2021)
<i>Calyptospora</i> sp. ⁶	Fígado/Piriforme	11,4 (1,8)	5,4 (0,7)	2,6 (0,3)	2,1	São Paulo	Presente estudo

Sítio infecção (SI); Formato esporocisto (FE); Diâmetro do oocisto (OD);

L: W = razão comprimento do esporocisto-largura do oocisto (diâmetro); medidas em μm .

O estudo sobre as alterações observadas no tecido hepático de *S. maculatus* indicou a presença de vacúolos parasitóforos próximos as regiões mais vascularizadas e ductos biliares do parênquima hepático (Figura 13 *b,c,d*). Também foram observadas variações no processo de infecção, desde deslocamento dos cordões de hepatócitos, com pequenas alterações na estrutura e arquitetura do tecido até uma inflamação generalizada, envolvendo a ativação do sistema reticuloendotelial (BERNET et al., 1999), evidenciando a presença de centros de melanomacrófagos em diferentes regiões do fígado (Fig. 13 *a,b*).

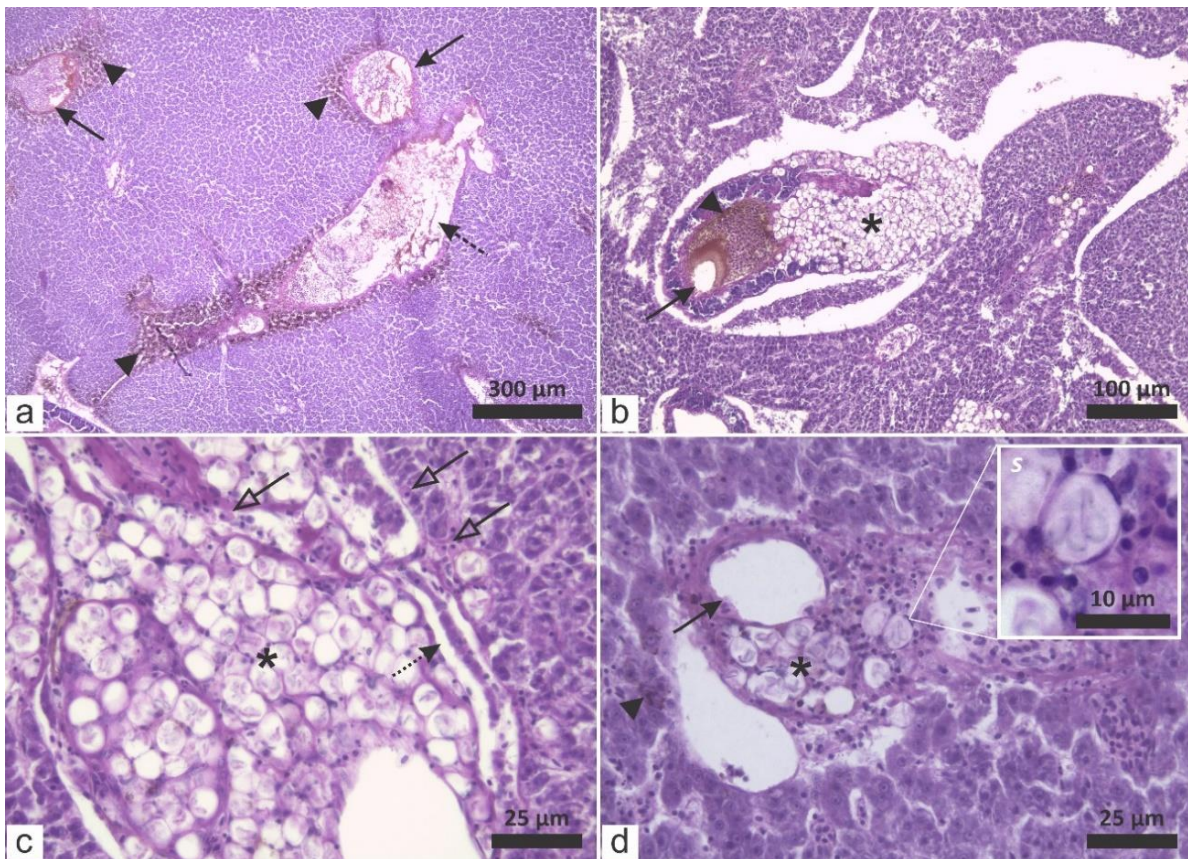


Figura 13. Cortes histológicas realizados no fígado de *Serrasalmus maculatus* corados com Haematoxilina-Eosina; a) fotomicrografia de dois ductos biliares grandes (seta) e uma veia (seta tracejada) cercada por centros de melanomacrófagos (ponta da seta); b) Aglomeração de vacúolos parasitóforos (*), perto ao ducto biliar (seta) rodeado por centros de melanomacrófagos (ponta da seta); c) agregação parasitária de oocistos (*), com deslocamento dos cordões de hepatócitos (seta pontilhada), e presença de células eosinofílicas (seta vazia); d) aglomeração de oocistos (*) envolta de um ducto biliar (seta), e presença de alguns centros de melanomacrófagos (ponta da seta); s. esporocistos dentro de um oocisto.

Comparações filogenéticas

Em relação à caracterização molecular dos parasitas, as sequências obtidas foram empregadas apenas para *S. maculatus*. As sequências de **KP0120** (503 pb), **KP0420** (414 pb), **KP0520** (492 pb), **KP2120** (493 pb) e **KP0321** (466 pb) apresentaram maior similaridade ($\geq 98\%$) (com $\geq 99\%$ de cobertura e alta significância (e-value = 0)) com a sequência de *Calyptospora gonzaguensis* MN704279 associada à infecção hepática de *T. angulatus* no rio Tocantins, Brasil. Em relação a outras espécies de *Calyptospora* já descritas, como *C. funduli*, *C. paranaidji*, *C. serrasalmi* e *C. spinosa*, a cobertura e similaridade foram muito baixas ($\leq 93\%$ e $\leq 95\%$, respectivamente), não obstante a alta significância dos alinhamentos (e-value = 0). Com base nestas informações, as sequências foram identificadas como sendo de *C. gonzaguensis*.

As sequências de **KP1420** (400 pb), **KP2220** (311 pb), **KP2420** (340 pb), **KP3521** (204 pb) apresentaram maior similaridade (mais de 98%) com sequências de *C. serrasalmi* depositadas no banco de dados do Centro Nacional de Informação Biotecnológica dos Estados Unidos da América (NCBI), e por essa razão foram identificadas como *C. serrasalmi*.

Na inferência das relações evolutivas entre as espécies de *Calyptospora* deste estudo com diferentes espécies de Eimeriorina e Adeleorina isoladas de peixes (Eimeriorina), centopeia (Adeleorina) e caracol (Adeleorina), as sequências de *Calyptospora* do presente estudo se agruparam com as espécies de *Calyptospora* já descritas em um clado robusto, com bootstrap da inferência pelo método de Máxima Verossimilhança (BP) igual 82 e probabilidade posterior (PP) da inferência Bayesiana igual a 0,96 (Fig. 14). No entanto, *C. funduli* foi o único táxon que se agrupou em subclado robusto (PP = 0,95).

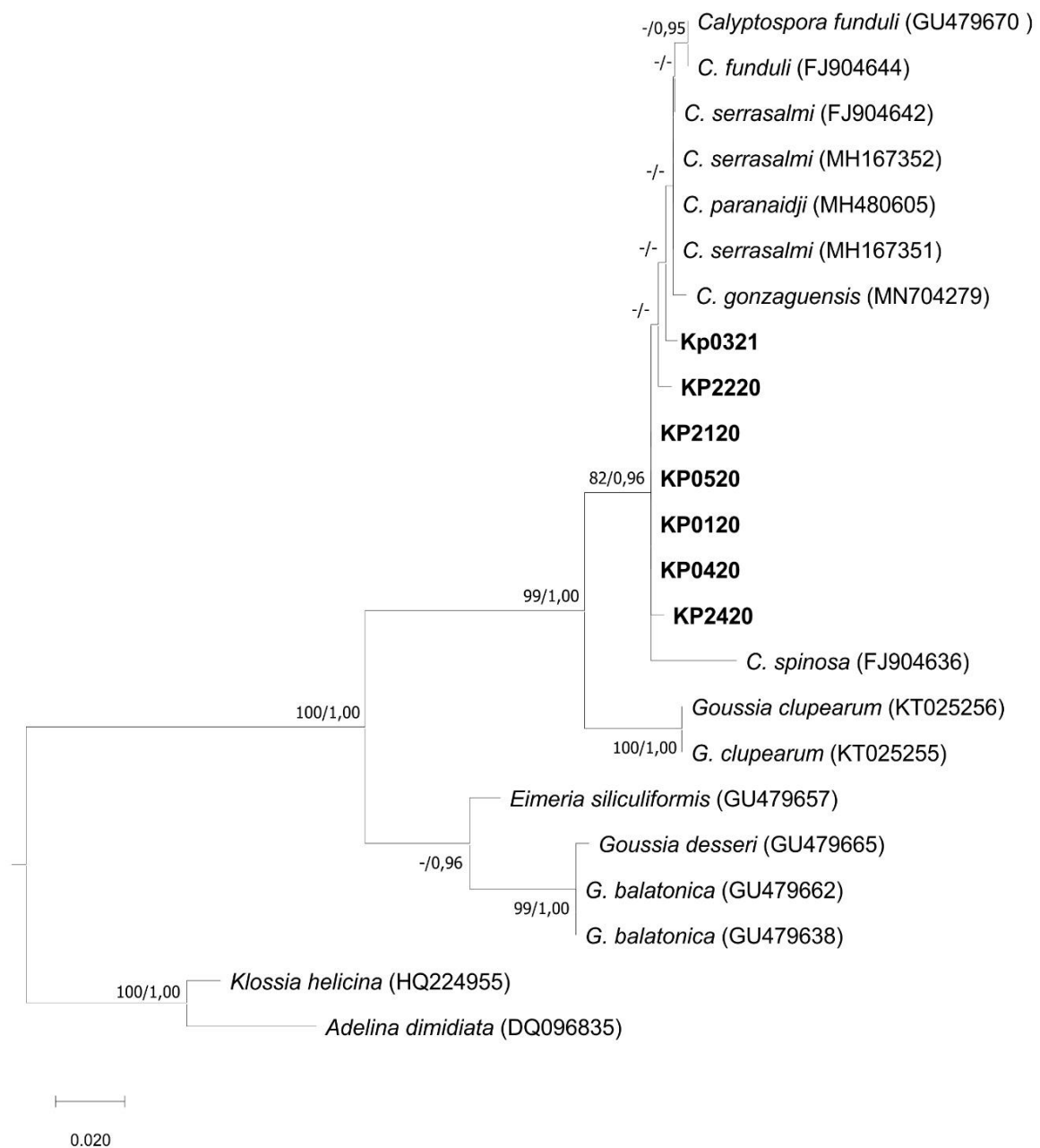


Figura 14. Árvore filogenética enraizada inferida pelos métodos de Máxima Verossimilhança (ML) e Inferência Bayesiana (BI) com base em análises de sequências do gene 18S rRNA de *Calyptospora* isolados de peixes (deste estudo, em negrito) e 16 sequências de diferentes espécies de Eimeriorina e Adeleorina, disponíveis no banco de dados do NCBI. *Adelina dimidiata* DQ096835 e *Klossia helicina* HQ224955 foram utilizadas como grupos externos. Os valores de suporte são para os valores de bootstrap de ML ($\geq 70\%$) / probabilidades posteriores de BI ($\geq 0,70$) (BP / PP).

4. DISCUSSÃO

Os casos de infecção por caliptosporídeos nas bacias hidrográficas brasileiras são raras quando comparados às infecções endoparasitárias de diagnóstico mais comuns. A prevalência por *Calyptospora* spp. no tecido hepático de *S. maculatus* foi de 64.7%, semelhante a observada em *Cichla temensis* Heckel, 1840 (56,0%) (SANTIAGO et al., 2012), *Brachyplatystoma vaillantii* Valenciennes, 1940 (60,0%) (SILVA et al., 2012), *C. lepidota* (63,0%) (AZEVEDO et al., 1993), *C. ocellaris* (100%) (BÉKÉSI; MOLNÁR, 1991) e 100% em espécies carnívoras coletadas por . Todavia, os peixes deste estudo não apresentaram sinais característicos de doença ou registro de mortalidade durante o período amostral, diferente do esperado, uma vez que os peixes parasitados e doentes podem ter sido predados por outros peixes ou pássaros ou pelo fato dos peixes amostrados terem sido capturados com linha e anzol, que impossibilita a captura de peixes doentes.

Os oocistos coletados do tecido hepático das piranhas foram identificados como pertencentes ao gênero *Calyptospora* (OVERSTREET; HAWKINS; FOURNIE, 1984), devido à morfologia esférica, formando vacúolos parasitóforos com quatro esporocistos, de formato piriforme. Morfologicamente, resultados semelhantes foram descritos por BONAR et al. (2006); NEGRÃO et al. (2019); OLIVEIRA et al. (2021). A descrição morfológica dos oocistos neste estudo demonstrou a forma piriforme dos esporocistos, todavia, os oocistos são menores do que os dados encontrados na literatura e diferem das espécies de *Calyptospora* já descritas (SILVA et al., 2019b, 2020).

Oocistos de *C. gonzaguensis* e *C. serrasalmi* foram encontrados apenas no fígado e pâncreas intra-hepático (em conjunto hepatopâncreas) de *S. maculatus*. Macroscopicamente, foram encontradas alterações patológicas como inchaço e aparência esbranquiçada, o que parece ser comum em infecções por *Calyptospora* spp., como relatado por CHEUNG et al. (1986); BÉKÉSI; MOLNÁR, (1991); ALBUQUERQUE; BRASIL-SATO, (2010); VELASCO et al. (2012) e VIDEIRA et al. (2013). Sabe-se que este parasita também tem a capacidade de parasitar outros órgãos como gônadas, ovários, intestino, coração, vesícula biliar e tecido adiposo (AZEVEDO et al. 1993; ALBUQUERQUE; BRASIL-SATO, 2010; NEGRÃO et al., 2019; SILVA et al., 2020). Embora as piranhas parasitadas não apresentem sinais clínicos de doença, em peixes de criação pode ser diferente e esta doença silenciosa pode ser fatal.

A análise histológica realizada no fígado das piranhas demonstrou que a presença dos oocistos causou uma resposta inflamatória leve e ativação do sistema reticuloendotelial, com leves compressões dos hepatócitos adjacentes. No entanto, outros estudos relataram degeneração severa do fígado (BÉKÉSI; MOLNÁR, 1991), hipertrofia e destruição nuclear e citoplasmática (AZEVEDO et al., 1993). Neste estudo, apesar das alterações macro e microscópicas provocadas pela elevada quantidade de oocistos no fígado, a função do órgão não foi comprometida, pois não foram identificados processos inflamatórios graves ou lise tecidual e os peixes não apresentavam nenhum sinal de doença. Resultados semelhantes foram encontrados por outros pesquisadores em várias espécies de peixes infectadas pelo mesmo parasita (AZEVEDO et al., 1993; BONAR et al., 2006; VELASCO et al., 2012; VIDEIRA et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2021). Curiosamente, apesar dos danos macro e microscópicos observados na infecção por *Calyptospora* spp., processos inflamatórios severos e lise tecidual não foram registrados neste estudo.

O índice hepatossomático (IHS) correlacionado com o comprimento padrão e sexo tem sido utilizado como indicador da parasitose por *Calyptospora* spp. em peixes. O índice hepatossomático representa o percentual de massa do fígado em relação ao peso corporal e é uma forma de quantificar o estoque de energia (glicogênio) no fígado. Também está relacionado com a mobilização das reservas energéticas necessária para o processo de vitelogênese, reprodução, e desova durante a estação chuvosa ou preparação para o inverno. Neste estudo, a correlação do índice hepatossomático com o sexo evidenciou diferença, em que o índice das fêmeas diminuiu quando comparado com os machos, provavelmente devido ao período reprodutivo que ocorre no período das chuvas no estado de São Paulo nos meses de janeiro a abril. Na correlação do índice entre peixes parasitados e não parasitados, o esperado seria que os parasitados apresentassem um valor maior, todavia, isto não ocorreu, inferindo que o parasitismo por *Calyptospora* não interfere no índice hepatossomático do peixe. Este fato pode ser atribuído ao ciclo de vida bastante longo dos Apicomplexa (EIRAS, 2013) e sua ocorrência, que provavelmente dura todo o ano (VELASCO et al., 2012), bem como, as alterações que o parasita provoca no fígado das piranhas não são severas e não causam mortalidade. Porém, estudos mais aprofundados sobre o parasitismo e a correlação entre o sexo e índice hepatossomático são necessários.

Outro fato observado neste estudo é que a maioria dos peixes parasitados eram maiores (em comprimento padrão), quando comparado aos não parasitados, possivelmente em função da maior ingestão de alimentos e pelo consumo de crustáceos (camarões de água doce), que faz parte da dieta dos serrasalmídeos e é o hospedeiro intermediário do ciclo de vida de *Calyptospora*. Todavia, variáveis externas como a captura dos animais com varas, deve ser considerada, provavelmente selecionando apenas animais saudáveis, interferindo nos resultados estatísticos.

Caliptosporídeos já foram descritos causando infecções hepáticas em outros serrasalmídeos, *S. niger*, *Serrasalmus striolatus* e *Serrasalmus rhombeus* (CHEUNG et al., 1986; CASAL et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2021). *Calyptospora serramalmi*, isolada e identificada a partir de um hospedeiro Serrasalmídeo, aparentemente não apresenta especificidade parasitária, podendo infectar outros clados taxonômicos, como relatado em *G. proximus* e *H. malabaricus* (NEGRÃO et al., 2019), evidenciando a ecologia de transmissão deste microparasita eucariota em diferentes hospedeiros.

Coccídios são comuns em peixes marinhos e de água doce. Espécies do gênero *Calyptospora* foram encontrados parasitando peixes de microregiões salgadas, como *Aspistor quadriscutis* Valenciennes, 1840 (RAMOS et al., 2018) e *C. temensis* (SANTIAGO et al., 2012) no estado do Pará. A identificação e o registro geográfico de um coccídeo Calyptosporidae não descrito na região sudeste (presente estudo), mostra os possíveis mecanismos coevolutivos de adaptação em novos ambientes. Pesquisas sobre o ciclo de vida de *Calyptospora* no rio Tietê são necessárias para identificar o hospedeiro intermediário envolvido no ciclo deste parasita neste local.

Estudos filogenéticos de espécies de *Calyptospora* a partir do *ssrDNA* revelam um táxon monofilético distinto de outras espécies coccidianas (WHIPPS et al., 2012). O clado *Calyptospora* não formou um agrupamento monofilético com as espécies *Goussia* e *Eimeria* (Fig. 14). A filogenia baseada no 18S rRNA obtida neste estudo observou um arranjo semelhante ao encontrado em estudos anteriores, com um clado único, composto somente por espécies do gênero *Calyptospora* (NEGRÃO et al., 2019; SILVA et al., 2019b). Apesar das sequências estudadas estarem alinhadas e agrupadas no mesmo clado Calyptosporidae com valores de suporte forte, elas diferem quanto às suas relações evolutivas, formando subclados não muito bem definidos. Isto pode ter ocorrido devido aos pequenos fragmentos de pares de bases do nosso estudo.

O registro de *C. gonzaguensis* e *C. serrasalmi* em *S. maculatus*, reforça a ideia de que *Calyptospora* possui baixa especificidade em relação a seus hospedeiros vertebrados, como relatado por NEGRÃO et al. (2019), que identificou *C. serrasalmi* em duas famílias de peixes, *G. proximidades* (Cichlidae) e *H. malabaricus* (Erythrinidae). FOURNIE; OVERSTREET (1993) relataram o sucesso da infecção experimental por *C. funduli* em cinco diferentes famílias de peixes.

Este estudo representa uma importante contribuição sobre a diversidade e dinâmica de *Calyptospora* sp. na região sudeste, sendo este o primeiro registro de *C. gonzaguensis* e *C. serrasalmi* em *S. maculatus* e o estabelecimento do filo Apicomplexa no Rio tietê, em como os possíveis transmissores e/ou hospedeiros intermediários. Todavia, análises moleculares e filogenéticas com um número maior de pares de bases do gene estudado são necessários. Também, informações sobre extensão geográfica, transmissão, especificidade do hospedeiro, patogenicidade e tolerâncias ambientais são necessárias para conhecer e entender a diversidade destes parasitas em região Neotropical.

5. REFERÊNCIAS

AGOSTINHO, A. A.; PELICICE, F. M.; GOMES, L. C. Dams and the fish fauna of the Neotropical region: impacts and management related to diversity and fisheries. **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, n. 4, p. 1119–1132, 2008.

ALBUQUERQUE, M. C. de; BRASIL-SATO, M. de C. First report of *Calyptospora* sp. (Apicomplexa, Calyptosporidae) in forage characid fish from the Três Marias Reservoir, São Francisco Basin, Brazil. **European Journal of Protistology**, v. 46, n. 2, p. 150–152, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejop.2009.12.005>>.

ASSANE, I. M. et al. Phenotypic and genotypic characterization of *Aeromonas jandaei* involved in mass mortalities of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) in Brazil. **Aquaculture**, v. 541, n. April, p. 736848, 2021.

AZEVEDO, C.; MATOS, P.; MATOS, E. Morphological data of *Calyptospora spinosa* n. sp. (Apicomplexa, Calyptosporidae) parasite of *Crenicichla lepidota* HECKEL, 1840 (Teleostei) from Amazon river. **European Journal of Protistology**, v. 29, n. 2, p. 171–175, 1993.

BARTOŠOVÁ-SOJKOVÁ, P. et al. Epicellular Apicomplexans: Parasites “On the Way In”. **PLoS Pathogens**, v. 11, n. 9, p. 1–9, 2015.

BÉKÉSI, L.; MOLNÁR, K. *Calyptospora tucunarensis* n. sp. (Apicomplexa: Sporozoa) from the liver of tucunare *Cichla ocellaris* in Brazil. **Systematic Parasitology**, v. 18, n. 2, p. 127–132, 1991.

BERNET, D. et al. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. **Journal of Fish Diseases**, v. 22, p. 25–34, 1999.

BONAR, C. J. et al. Hepatic *Calyptospora* sp. (Apicomplexa) infection in a wild-born, aquarium-held clutch of juvenile arapaima *Arapaima gigas* (Osteoglossidae). **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 70, n. 1–2, p. 81–92, 2006.

BUSH, A. O. et al. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. **Journal of Parasitology**, v. 83, n. 4, p. 575–583, 1997.

CASAL, G. et al. Morphological and ultrastructural redescription of *Calyptospora serrasalmi* Cheung, Nicrelli & Ruggieri, 1986 (Apicomplexa: Calyptosporidae), a parasite found in two new host species of the genus *Serrasalmus*. **Brazilian Journal of Morphological Sciences**, v. 24, n. 1, p. 11–16, 2007.

CHEUNG P J; NIGRELLI, R. F.; RUGGIERI, G. D. *Calyptospora serrasalmi* sp. nov. (Coccidia: Calyptosporidae) from liver of the black piranha, *Serrasalmus niger* Schomburgk. **Journal of Aquariculture & Aquatic Sciences**, v. 4, p. 54–57, 1986.

DIAS, L. de N. S. **FAUNA MICROPARASITÁRIA DE *Brachyplatystoma rousseauxii* E *Mugil curema* DESEMBARCADOS NA AMAZÔNIA ORIENTAL**. 2013. Universidade Federal do Pará, Belém-PA, 2013. Disponível em: <<http://ir.obihiro.ac.jp/dspace/handle/10322/3933>>.

EIRAS, J. C. et al. Checklist of Protozoan parasites of fishes from Brazil. **Zootaxa**, v. 25, n. 3221, p. 1–25, 2012.

EIRAS, J. C. Apicomplexa. In: PAVANELLI, G. C.; TAKEMOTO, R. M.; EIRAS, J. C. (Ed.). **Parasitologia de peixes de água doce do Brasil**. Maringá: EDUEM, 2013. p. 217–231.

EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C. **Métodos de Estudo e Técnicas laboratoriais em Parasitologia de Peixes**. 2 ed ed. Maringá: Eduem, 2006.

FELSENSTEIN, J. Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using the Bootstrap. **Evolution**, v. 39, n. 4, p. 783–791, 1985.

FOURNIE, J. W.; OVERSTREET, R. M. Host specificity of *Calyptospora funduli* (Apicomplexa: Calyptosporidae) in atheriniform fishes. **Journal of Parasitology**, v. 79, n. 5, p. 720–727, 1993.

GALLI, P. et al. Introduction of alien host-parasite complexes in a natural environment and the symbiota concept. **Hydrobiologia**, v. 548, n. 1, p. 293–299, 2005.

GARCÍA-BERTHOU, E.; MORENO-AMICH, R. Multivariate analysis of covariance in morphometric studies of the reproductive cycle. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 50, n. 7, p. 1394–1399, 1993.

HUMASON, G. L. **Animal Tissue Techniques**. San Francisco: W. H. Freeman and Company, 1972.

KASSAMBARA, A. **ggpubr: “ggplot2” Based Publication Ready Plots**R package, , 2020. . Disponível em: <<https://cran.r-project.org/package=ggpubr>>.

KIMURA, M. A. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of Molecular Evolution**, v. 16, n. 2, p. 111–120, 1980.

KUMAR, S. et al. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. **Molecular Biology and Evolution**, v. 35, n. 6, p. 1547–1549, 2018.

MAIA, J. P. M. da C. **Diversity, infection patterns and host-parasite associations of apicomplexan parasites in reptiles**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://repositorio-aberto.up.pt/handle/10216/82096>>.

MORRISON, D. A. Evolution of the Apicomplexa: where are we now? **Trends in Parasitology**, v. 25, n. 8, p. 375–382, 2009.

NEGRÃO, M. C. da S. et al. Prevalence and molecular characterisation of *Calyptospora* parasites Overstreet, Hawkins and Fournié, 1984 (Apicomplexa: Calyptosporidae) in fishes from the eastern Amazon, Brazil. **Parasitology International**, v. 73, n. August, p. 101975, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.parint.2019.101975>>.

OKSANEN, J. et al. **Vegan: Community Ecology Package**R package, , 2016. . Disponível em: <<http://cran.r-project.org/package=vegan>>.

OLIVEIRA, J. E. F. de et al. Hepatic coccidiosis in *serrasalmus rhombeus* linnaeus, 1766 from the amazon basin: Morphological and histopathological aspects. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, v. 30, n. 1, p. 1–8, 2021.

OVERSTREET, R. M.; HAWKINS, W. E.; FOURNIE, J. W. The Coccidian Genus *Calyptospora* n. g. and Family Calyptosporidae n. fam. (Apicomplexa), with Members Infecting Primarily Fishes. **The Journal of Protozoology**, v. 31, n. 2, p. 332–339, 1984.

OYAKAWA, O. T.; MENEZES, N. A. Checklist dos peixes de água doce do Estado de São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 11, n. 1, p. 19–31, 2011.

R CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**Vienna, AustriaR Foundation for Statistical Computing, , 2020. . Disponível em: <<http://www.r-project.org/>>.

RAMBAUT, A. **FigTree**, 2012. . Disponível em: <<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>>.

RAMOS, A. B. M. A. et al. COCCIDIOSE HEPÁTICA EM *Aspistor quadriscutis*, Valenciennes, 1840 (TELEOSTEI: ARIIDAE) CAPTURADOS NO ESTUÁRIO DO NORDESTE PARAENSE, AMAZÔNIA, BRASIL. **Archives of Veterinary Science**, v. 23, n. 3, p. 63–67, 2018.

SANTIAGO, H. et al. Morphology and histopathology of *Calyptospora* sp. (Apicomplexa: Calyptosporidae) in speckled peacock bass, *Cichla temensis* Humboldt, 1821 (Perciformes: Cichlidae), from the Marajó-Açu River, Marajó Island, Brazil. **Parasitology Research**, v. 110, n. 6, p. 2569–2572, 2012.

SEBASTIÃO, F. de A. **Validação de técnicas moleculares para o diagnóstico de bactérias em peixes, visando redução de tempo e custo**. 2015. Universidade Estadual Paulista- Unesp, 2015. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/123993>>.

SILVA, M. C. da et al. *Calyptospora* sp. in *Brachyplatystoma vaillantii* trapped at the Vigia, State of Pará, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 2, p. 176–178, 2012.

SILVA, M. F. da et al. Morphology and Phylogeny of *Calyptospora paranaidji* n. sp.

(Eimeriorina: Calyptosporidae), an Apicomplexan Parasite of the Hepatic Tissue of *Cichla piquiti* Kullander & Ferreira, 2006, From a Reservoir in the Brazilian Amazon Region. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 66, n. 4, p. 608–616, 2019.

SILVA, M. F. et al. Hepatic Coccidiosis in *Triporthesus angulatus* Spix & Agassiz, 1829 (Characiformes: Triporthesidae), a Tropical Fish from the Eastern Brazilian Amazon, with the Description of a New Species of *Calyptospora* (Apicomplexa: Calyptosporidae). **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 67, n. 3, p. 352–358, 2020.

SLODKI, J. et al. Tick-Transmitted Diseases Caused by Apicomplexa. **Acta Protozoologica**, v. 50, n. January, p. 155–161, 2011. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/260225616_Tick-Transmitted_Diseases_Caused_by_Apicomplexa>.

SMIT, N. J.; MALHERBE, W.; HADFIELD, K. A. Alien freshwater fish parasites from South Africa: Diversity, distribution, status and the way forward. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 6, n. 3, p. 386–401, 2017.

TENTER, A. M. et al. The conceptual basis for a new classification of the coccidia. **International Journal for Parasitology**, v. 32, n. 5, p. 595–616, 2002.

VELASCO, M. et al. Morfologia e nova ocorrência de um coccídeo hepatopancreático parasita de peixe amazônico. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 55, n. 3, p. 231–235, 2012.

VIDEIRA, M. et al. An anatomopathological study of hepatic coccidiosis (*Calyptospora* sp.) in the Acará-Pixuna, *Aequidens Plagiozonatus* Kullander, 1984 from the Brazilian State of Pará. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 1, p. 91–94, 2013.

VITTI, D. M. de C. et al. Acurácia horizontal do mapeamento de um trecho da área de concessão da UHE de Bariri, SP com imagens de alta resolução coletadas com RPAS. In: Anais do XVIII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto -SBSR, Santos- SP. **Anais...** Santos- SP: Galoá Proceedings, 2017.

WHIPPS, C. M. et al. Phylogeny of fish-infecting *Calyptospora* species (Apicomplexa: Eimeriorina). **Parasitology Research**, v. 111, n. 3, p. 1331–1342, 2012.

WICKHAM, H. **ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis** New YorkSpringer-

Verlag, , 2016. .

XAVIER, R. et al. Phylogenetic analysis of apicomplexan parasites infecting commercially valuable species from the North-East Atlantic reveals high levels of diversity and insights into the evolution of the group. **Parasites and Vectors**, v. 11, n. 1, p. 1–12, 2018.

Primeira ocorrência de coccidiose hepática em *Serrasalmus marginatus* Valenciennes, 1837, espécie invasora da bacia do Rio Tietê – SP

RESUMO

Espécies invasoras vem crescendo exponencialmente nas últimas décadas e seu estabelecimento no ambiente introduzido comprometem a ictiofauna parasitária de várias partes do planeta. Apicomplexos da subordem Eimeriorina compreende várias espécies que parasitam peixes marinhos e de água doce. Comparado com outros gêneros, a diversidade, distribuição geográfica e ecologia das espécies do gênero *Calyptospora* têm sido pouco exploradas nos ecossistemas aquáticos brasileiros. Desta forma, este trabalho teve como objetivo descrever as alterações anatomopatológicas provocadas pelo parasitismo por *Calyptospora* sp. em espécimes de *Serrasalmus marginatus* Valenciennes, 1837 provenientes do trecho médio do rio Tietê, São Paulo, Brasil. Fragmentos teciduais do hepatopâncreas foram avaliados e processados, dos quais 28,5% encontravam-se parasitados com vários oocistos maduros e imaturos, agrupados ou isolados, com quatro esporocistos de formato piriforme, com um padrão de infecção difuso. Com os resultados obtidos na análise histopatológica, pode-se descrever que processos inflamatórios, presença de centros melanomacrofágicos e a compressão dos hepatócitos estão envolvidos na resposta do hospedeiro ao parasito, sendo observado também áreas de degeneração tecidual e necrose. Desta maneira, este é o primeiro registro do parasitismo por *Calyptospora* sp. em *S. marginatus*, no rio Tietê-SP, demonstrando que o parasito causa danos teciduais severos nesta espécie.

Palavras-chave: *Calyptospora* sp, Co-introdução, Invasor, Parasitas de peixes, *Serrasalmus marginatus*.

1. INTRODUÇÃO

Diversas comunidades de peixes de água doce estão presentes nas bacias hidrográficas do Estado de São Paulo. O Tietê é o segundo maior rio do estado de São Paulo, sendo considerado um dos rios mais importantes economicamente para a região sudeste, banhando no seu trajeto numerosos municípios ribeirinhos (ALMEIDA et al., 1981; RIBEIRO, 2004). Seu curso ocorre em sistema de cascata nos trechos médio e baixo, pelas represas de Barra Bonita, Bariri, Ibitinga, Promissão, Nova Avanhandava e Três Irmãos (CASTRO et al., 2008), cujos múltiplos represamentos podem ser utilizados para a piscicultura ou pesca (MARUYAMA et al., 2010a).

No entanto, a construção de inúmeras barragens hidrelétricas de grande porte neste importante rio, desencadeou mudanças aceleradas no ambiente e, conseqüentemente, alterações na dinâmica de toda a biota, incluindo variações na composição e abundância de espécies de peixes e perturbações no equilíbrio dinâmico existente entre os hospedeiros e seus parasitas (GIAMAS et al., 2004; AGOSTINHO; PELICICE; GOMES, 2008).

A translocação global e a introdução de peixes de água doce em algumas regiões ocorre não somente para sua locomoção, mas também propiciaram condições adequadas para a introdução de sua fauna parasitária, permitindo que estes parasitas encontrem novos hospedeiros, antes não parasitados (GALLI et al., 2005; SMIT; MALHERBE; HADFIELD, 2017). Deste modo, a mudança do parasita de um hospedeiro para outro e sua interação com o ambiente são riscos ecológico e econômico, muitas vezes desconsiderados, que resultam no surgimento de doenças difíceis de serem previstas em ambientes marinho e de água doce (ADLARD; MILLER; SMIT, 2015).

Os coccídios são protistas, pertencentes ao filo Apicomplexa e parasitas intracelulares obrigatórios. São descritos em todas as classes de vertebrados, representando um risco para os humanos e animais, com potencial invasor (SLODKI et al., 2011). São conhecidos quatro gêneros que infectam peixes marinhos e de água doce, *Calyptospora*, *Eimeria*, *Crystallospora* e *Cryptosporidium* (NEGRÃO et al., 2019).

O gênero *Calyptospora* inclui espécies com ciclo de vida heteroxeno, parasitando diferentes espécies de peixes e camarões (AZEVEDO et al., 1993, 1995; NEGRÃO et al., 2019). Seus oocistos são encontrados em sua maioria no fígado dos peixes, mas podem ocorrer em outros órgãos, como no intestino e vesícula biliar (ALBUQUERQUE;

BRASIL-SATO, 2010; SILVA et al., 2020). A descrição de espécies deste gênero em peixes é pouco frequente (WHIPPS et al., 2012), sendo relatadas apenas sete espécies, das quais cinco foram descritas em peixes da região amazônica no Brasil (ALBUQUERQUE; BRASIL-SATO, 2010; SILVA et al., 2020). As sete espécies descritas até o momento são a *Calyptospora funduli* Duszynski et al. 1979, *Calyptospora empristica* Fournie et al. 1985 e *Calyptospora serrasalmi* Cheung et al. 1986, descritas nos EUA e *Calyptospora tucunarensis* Békési; Molnár, 1991; *Calyptospora spinosa* Azevedo et al. 1993; *Calyptospora paranaidji* Silva et al. 2019b e *Calyptospora gonzaguensis* Silva et al. 2020 registradas no Brasil.

Serrasalmus marginatus, vulgarmente conhecida como piranha branca pertence a ordem Characiformes, família Serrasalmidae e ocorre na região Neotropical, amplamente distribuída pelos rios do Pantanal e na bacia do rio Paraguai-Paraná (SAZIMA; MACHADO, 1990). Nativa da bacia do baixo rio Paraná e invasora da bacia do alto rio Paraná após a construção da barragem de Itaipu, em novembro de 1982, que resultou no afogamento da barreira geográfica natural (salto de Sete Quedas), com consequente mistura de ictiofaunas e sua colonização até o trecho Médio do rio Tietê (presente estudo) (AGOSTINHO; JÚLIO; PETRERE, 1994; AGOSTINHO; JÚLIO, 2002; AGOSTINHO; HAHN; MARQUES, 2003).

Apesar da grande disseminação desta espécie por vários rios do Brasil, os registros da diversidade de parasitas que acometem esse hospedeiro são escassos. Desta forma, este estudo é o primeiro relato da ocorrência de um coccídio (*Calyptospora* sp.) parasitando um novo hospedeiro, *S. marginatus* no rio Tietê, estado de São Paulo. Os aspectos morfológicos e histopatológicos do parasitismo também foram descritos. Este estudo também representa uma extensão da distribuição geográfica de *Calyptospora* sp. nas diferentes bacias hidrográficas brasileiras e mostra os possíveis mecanismos coevolutivos de adaptação do parasita em novos ambientes.

2. MATERIAS E MÉTODOS

2.1. Coleta de peixes e parasitas

Um total de 14 espécimes de *S. marginatus*, foram coletados no trecho médio do rio Tietê (22°05'21.8"S 48°51'44.7"W) próximo à cidade de Arealva, estado de São Paulo, Brasil, durante os meses de maio, agosto e dezembro de 2019. Os exemplares foram

capturados com varas de pesca pela equipe do Laboratório de Microbiologia e Parasitologia de Organismos Aquáticos (LAPOA) do Centro de Aquicultura da Unesp (CAUNESP), juntamente com pescadores locais. A captura dos animais foi autorizada pelo Ministério do Meio Ambiente do Brasil (licença SISBIO nº 69947).

Após a captura, os peixes foram anestesiados em solução alcóolica de benzocaína (100 mg.L⁻¹), através de aspersão direta nas brânquias com auxílio de um borrifador. Em seguida, foram pesados e medidos (comprimento padrão e total). Logo após, os peixes foram fotografados individualmente para caracterização taxonômica (a nível de espécie), eutanasiados por comoção cerebral, armazenados individualmente em sacos plásticos e refrigerados em caixas de isopor contendo gelo, até serem transportados ao Laboratório de Microbiologia e Parasitologia de Organismos Aquáticos (LAPOA), Jaboticabal- SP, onde foram dissecados para observação microscópica dos parasitas.

A classificação taxonômica das piranhas amostradas durante este experimento, foi realizada pelo Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura da Universidade Estadual de Maringá (UEM). O exemplar analisado foi depositado e cadastrado na coleção do Nupélia/UEM (lote do voucher NUP22738).

Após confirmação da ocorrência do parasita no fígado, através da observação do órgão em microscópio óptico (Nikon E200®), o órgão infectado com oocistos de *Calyptospora* foi coletado. Também foi verificada as possíveis lesões macroscópicas causadas pelo parasita nos órgãos internos de cada espécime através de análise em estereoscópico. Os procedimentos de necropsia dos peixes, coleta, fixação, conservação e montagem dos parasitas para identificação foram realizados de acordo com EIRAS et al. (2006).

Todos os procedimentos com os animais seguiram os princípios éticos adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, sendo que o estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, São Paulo, Brasil (Protocolo nº 349/21).

2.2. Identificação morfológica do parasita e histopatologia

Para a identificação dos parasitas, as lâminas contendo pequenos fragmentos macerados do fígado infectado com oocistos foram fotografadas em microscópio óptico (Leica®DM2500), acoplado a um sistema de captura de imagens (Leica®DFC295), para obter medidas morfométricas dos parasitas através da medição dos oocistos maduros (n= 14) ou seja, diâmetro do oocisto (OL), comprimento (SL) e largura do esporocisto (SW) e a relação comprimento: largura (L: W) entre o comprimento do esporocisto e a largura do oocisto (diâmetro) (BÉKÉSI; MOLNÁR, 1991). As dimensões foram processadas pelo software Leica Application Suite (LAS) e os dados morfométricos comparados com estudos anteriores para as espécies do gênero *Calyptospora*, usando análise de componentes principais (PCA). A transformação de Hellinger foi aplicada ao banco de dados (LEGENDRE; LEGENDRE, 2012) e a PCA foi realizada no software R 3.2.4 (R CORE TEAM, 2020), com o auxílio do pacote vegan (OKSANEN et al., 2016). O cálculo do índice parasitário de prevalência (P) foi calculado conforme (BUSH et al., 1997).

Análise de similaridade e de parâmetros morfométricos das duas espécies de *Calyptospora* isoladas de *S. maculatus* (*Calyptospora* sp⁶, estudo capítulo II) e *S. marginatus* neste estudo (*Calyptospora* sp⁷) foram usadas para avaliar a similaridade (Morisita) e a distância Euclidiana entre as espécies isoladas com outras descritas na literatura. O agrupamento hierárquico usando o método UPGMA foi realizado no programa PAST (v. 4.03) (HAMMER; HARPER; RYAN, 2001) e o dendograma foi refinado no CorelDRAW 2017 (Corel Corporation, Ottawa, Canadá).

Para a análise das estruturas morfológicas do parasita e danos estruturais ao tecido hepático do hospedeiro, um fragmento fresco do fígado (n =1) infectado pelo parasita foi selecionado, fixado em solução de Davidson por 24 h (formaldeído puro, etanol 95%, ácido acético e água destilada), incluído em parafina, microtomizados na espessura de 3 µm e corado com hematoxilina – eosina (H&E) e Tricômico de Masson (HUMASON, 1972). As lâminas foram fotografadas com auxílio de um fotomicroscópio (Leica®DM2500), equipado com uma câmara (Leica®DFC295) e analisador de imagens Leica Application Suite (LAS) e posteriormente analisadas.

2.3. Variáveis limnológicas

Amostras da água foram coletadas em dois pontos previamente demarcados, um dentro da piscicultura e outra num ponto distante da mesma, sendo armazenadas em garrafas apropriadas de 1L, acondicionadas em gelo e processadas no Laboratório de Análise de Água do Caunesp. Foram realizadas análises de amônia total ($\mu\text{g/L}$) (KOROLEFF, 1976), nitrato ($\mu\text{g/L}$), nitrito ($\mu\text{g/L}$) (GOTHERMAN; CLYMO; OHNSTAD, 1978) e fósforo total ($\mu\text{g/L}$) (MACKERETH; HERON; TALLING, 1978). No momento da coleta da água, também foi aferido nos mesmos pontos o oxigênio dissolvido (mg/L), temperatura ($^{\circ}\text{C}$), pH, condutividade ($\mu\text{s/cm}$) e salinidade (ppt) com auxílio de uma sonda multiparâmetros U – 52G (Horiba®, Japan).

3. RESULTADOS

Foram capturados e amostrados durante este estudo 14 piranhas brancas no médio Rio Tiête, com peso médio de $38,8 \pm 16,2$ g, comprimento total de $13,6 \pm 1,5$ cm e $11,6 \pm 1,4$ cm de comprimento padrão. Com relação a infecção por *Calyptospora* sp., foram encontrados oocistos no fígado de 28,5% dos 14 espécimes de *S. marginatus* capturados. *Serrasalmus marginatus* apresentou baixa abundância na área de estudo durante todo o período de amostragem, com prevalência nula no mês de dezembro de 2019 devido a não captura da espécie neste período (Tabela 6).

Tabela 6. Número de espécimes de *Serrasalmus marginatus* capturados no período de amostragem e índice parasitário (P) de *Calyptospora* sp.

Mês/2019	Prevalência (%)	Peixes coletados
Maio	30	10
Agosto	25	4
Dezembro	0	0
Total	28.5	14

Os parâmetros morfométricos de *Calyptospora* sp. obtidos neste estudo foram diferentes de outras espécies do mesmo gênero descritas anteriormente, apresentando

tamanho menor e pouca similaridade com os caliptosporídeos descritos em peixes amazônicos no Brasil (Tabela 7).

Tabela 7. Parâmetros morfométricos das espécies descritas da família Calyptosporidae em peixes de água doce.

Espécie	Órgão alvo	Oocisto Diâmetro	Esporocisto		L:W	Formato	Autor
			Comprimento	Largura			
<i>C. funduli</i> ¹	Fígado	25 (1,5)	10 (1)	6 (1)	2,5	Ovóide	Duszynski et al. (1979)
<i>C. funduli</i> ²	-	20	8,5 (0,7)	2,5 (0,7)	2,35	Ovóide	Oliveira et al. (1993)
<i>C. empristica</i>	Fígado	22 (2,4)	9 (1,5)	5,4 (1,5)	2,44	Elipsóide	Fournie et al. (1985)
<i>C. serrasalmi</i> ¹	Fígado	23,8 (1,5)	11 (0,7)	5,7 (0,5)	2,16	Piriforme	Cheung et al. (1986)
<i>C. serrasalmi</i> ²	Fígado	25,4 (0,6)	11,7 (1)	5,9 (0,4)	2,17	Piriforme	Casal et al. (2007)
<i>C. tucunarensis</i>	Fígado	24,3 (2,1)	8,3 (1,3)	3,7 (1,1)	2,92	Frigideira Elipsóide	Békési e Molnár (1991)
<i>C. spinosa</i>	Fígado, gonada e ovários	22,3 (1,6)	9,2 (0,4)	3,9 (0,4)	2,42	Elipsóide	Azevedo et al. (1993)
<i>C. gonzaguensis</i>	Fígado, vesícula biliar, tecido adiposo	19,6 (1,4)	9,2 (0,6)	3,9 (0,2)	2,13	Piriforme	Silva et al. (2020)
<i>C. paranaidji</i>	Fígado	22,1 (1,5)	9,7 (0,5)	4,6 (0,6)	2,28	Piriforme	Silva et al. (2019)
<i>Calyptospora</i> sp ¹	Fígado	19 (4,2)	9 (1,4)	4 (0,4)	2,11	Piriforme	Bonar et al. (2006)
<i>Calyptospora</i> sp ²	Intestino	24,5	11,5	4,5	2,13	-	Albuquerque e Brasil- Sato, (2010)
<i>Calyptospora</i> sp ³	Fígado	20,8	8,9	4,1	2,34	Piriforme	Silva et al. (2012)
<i>Calyptospora</i> sp ⁴	Fígado	28,6	11,3	6,5	2,53	Piriforme	Dias, (2013)
<i>Calyptospora</i> sp ⁵	Fígado	17,4	8,33	4,29	2,08	Piriforme	Oliveira et al. (2021)
<i>Calyptospora</i> sp ⁶	Fígado	11,4 (1,8)	5,4 (0,7)	2,6 (0,3)	2,1	Piriforme	Estudo capítulo II
<i>Calyptospora</i> sp ⁷	Fígado	9,7 (0,8)	4,7 (0,3)	2,2 (0,2)	2,0	Piriforme	Presente estudo

Medidas em μm ; L: W = razão entre o comprimento do esporocisto e a largura do oocisto (diâmetro).

A infecção por *Calyptospora* sp. ocorreu apenas no tecido hepático das piranhas. Macroscopicamente, após a necropsia observou-se que o fígado apresentou tamanho aumentado e coloração pálida em algumas áreas (Fig. 15 c), indicativo de elevada agregação parasitária nessa área ou com múltiplos pontos brancos distribuídos por todo o órgão (Fig. 15 a,b) com um padrão difuso. Todavia, os peixes capturados não apresentaram sinais de doença ou morbidade, sendo classificados como aparentemente saudáveis.

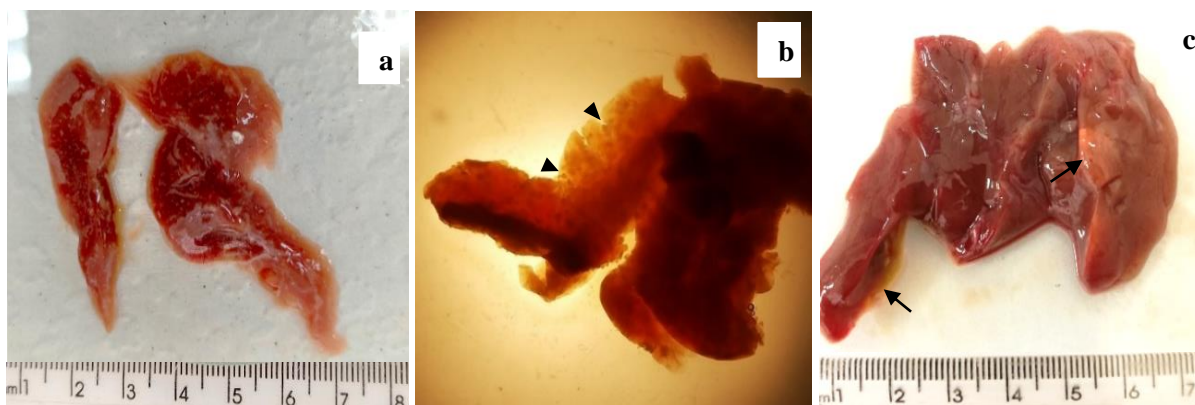


Figura 15. a) Fígado de *Serrasalmus marginatus*, com múltiplos pontos amarelados de padrão difuso; b) Fígado observado em estereomicroscópio, com a presença de vários pontos pretos (ponta da seta) devido à agregação parasitária de *Calyptospora* sp.; c) presença de manchas de coloração mais clara (seta).

A morfologia do esporocisto encontrado no fígado foi consistente com a do gênero *Calyptospora*. Todos os espécimes infectados apresentavam oocistos completamente esporulados, incolores, homogêneos, com forma esférica, medindo $9,7 \pm 0,8 \mu\text{m}$ de diâmetro, formando vacúolos parasitóforos com quatro esporocistos com $4,7 \pm 0,3 \mu\text{m}$ de comprimento e $2,2 \pm 0,2 \mu\text{m}$ de largura, L / W 2,0, formato piriforme e cada um com dois esporozoítos (Fig. 16 a,b).

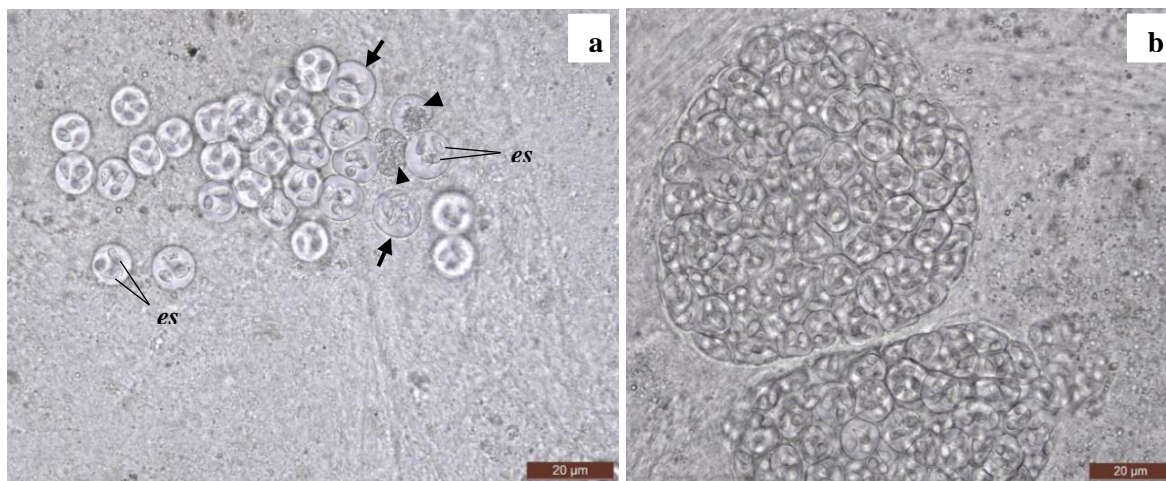


Figura 16. a) Observação a fresco de oocistos de *Calyptospora* sp. (seta), parasitando o fígado de *Serrasalmus marginatus*, contendo quatro esporocistos (es) e a presença de esporocistos imaturos (ponta da seta); b) Oocistos maduros aglomerados, formando um encapsulado.

A análise dos cortes histológicos de fígado revelou a presença de inúmeros oocistos homogêneos, circulares, de paredes finas, centralizados por esporocistos levemente acidofílicos, frequentemente piriformes, próximos às regiões mais vascularizadas do parênquima hepatopancreático ou a presença dos cistos dentro dos vasos sanguíneos (Fig. 19 a,b,c).

Os oocistos causaram uma resposta inflamatória em algumas regiões do órgão, com evidências de processos inflamatórios e ativação do sistema reticuloendotelial, observando-se *centros de melanomacrófagos* em torno dos oocistos (Fig. 17a,c), *células granulares eosinofílicas* (CGE) e células mononucleares (linfócitos) (Fig. 17e,f). Também foi observada leves compressões dos hepatócitos adjacentes na presença do parasito, áreas de degeneração tecidual, fibrose hepática localizada e lise tecidual (necrose) (Fig. 17b,d), com células hepáticas exibindo fragmentação do núcleo e/ou encolhimento e condensação do núcleo e cromatina.

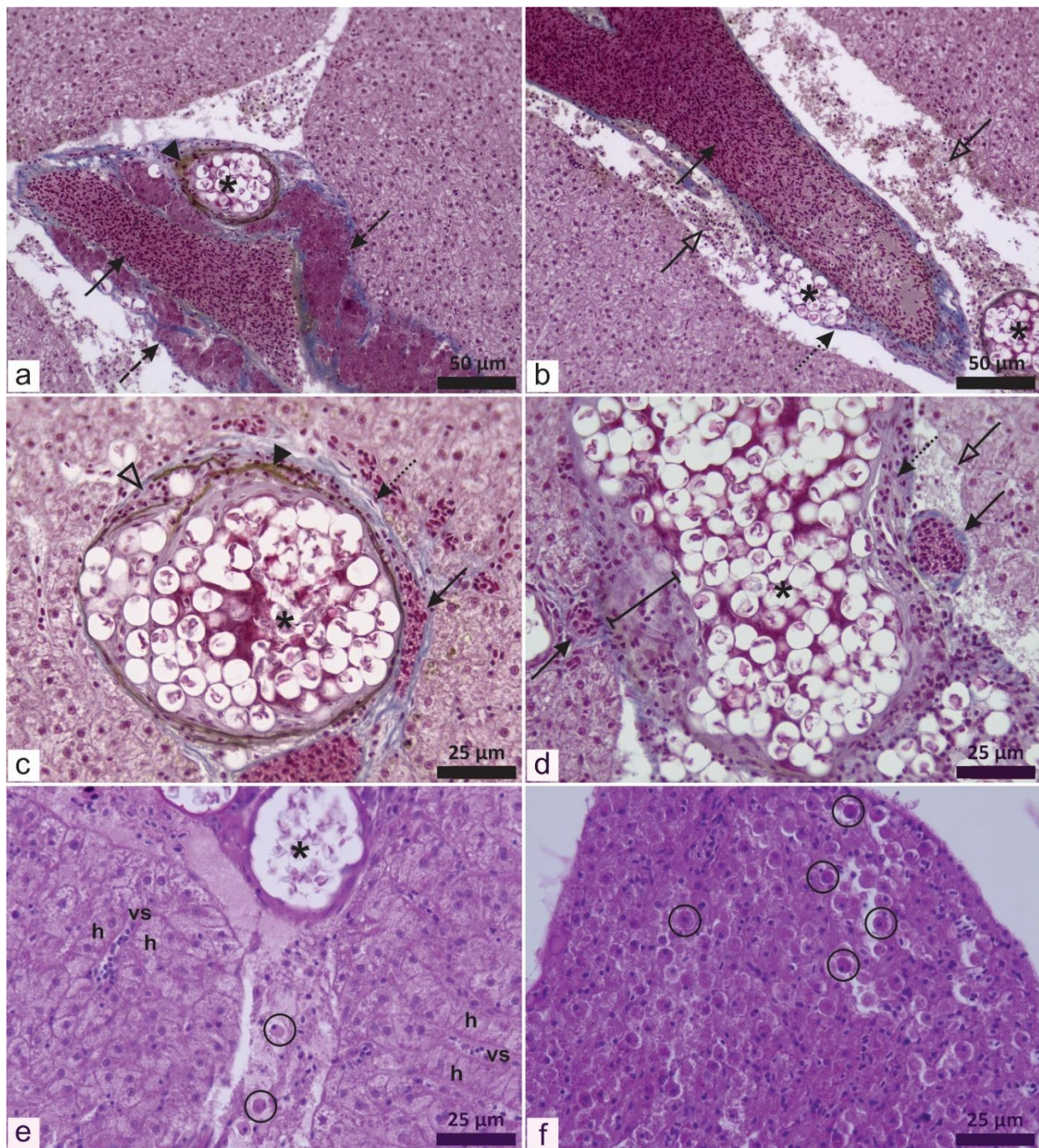


Figura 17. Cortes histológicas do hepatopâncreas de *Serrasalmus marginatus* na coloração Tricômico de Masson; a) aglomerado parasitário de oocistos (*), circundado por centros de melanomacrófagos (ponta da seta) e próximo a um grande vaso sanguíneo (seta), observe a presença de tecido pancreático (seta tracejada); b) Degeneração tecidual e necrose dos hepatócitos (seta vazia), evidenciando aglomeração de vacúolos parasitóforos (*), delimitado por tecido conjuntivo (seta pontilhada) do grande vaso (seta); c) oocistos encapsulados (*) dentro de um vaso sanguíneo (seta), cercado por

centros de melanomacrófagos (ponta da seta) e delimitado por tecido conjuntivo (fibroblastos) (seta pontilhada), com infiltrado de células mononucleares (ponta da seta vacia); d) Oocistos (*) disseminados no tecido hepático, contornados com tecido conjuntivo (seta pontilhada) e próximos a pequenos vasos sanguíneos (seta), evidenciando-se degeneração tecidual (barra), necrose celular por compressão (seta vazia). Na coloração H-E, e) Parasitas encapsulados (*), observa-se vaso sinosoide (vs) entre dois cordões hepáticos (h); f) ativação do sistema reticuloendotelial, destacando alguns eosinófilos (círculo) infiltrados no tecido hepático.

Os dois primeiros eixos da PCA, que explicaram 88,92% da variância, foram influenciados principalmente pela relação comprimento-largura entre o oocisto e esporocisto. *Calyptospora* sp⁷. identificada neste estudo foi considerada distinta das demais espécies (Fig. 18). Esse aspecto foi confirmado no dendrograma de similaridade, indicando que a distância euclidiana de *Calyptospora* sp. 6 e 7 foi menor, em comparação dos outros Calyptosporídeos descritos (Fig. 19).

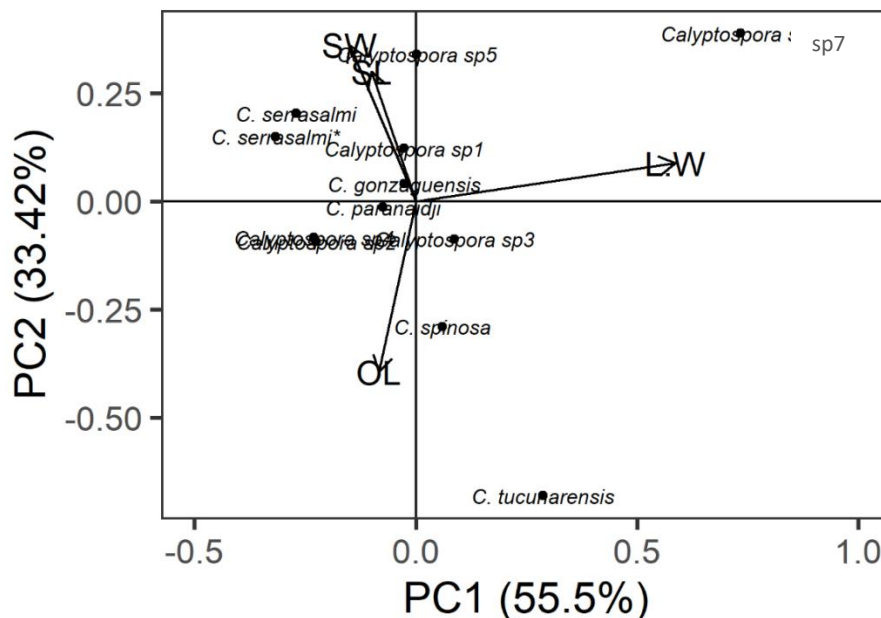


Figura 18. Análise de Componentes Principais (PCA) dos parâmetros morfométricos de oocistos e esporocistos de coccídeos do gênero *Calyptospora*. OL = comprimento do oocisto; SL = comprimento do esporocisto; SW = largura do esporocisto; L:W = relação comprimento: largura entre o oocisto e o esporocisto.

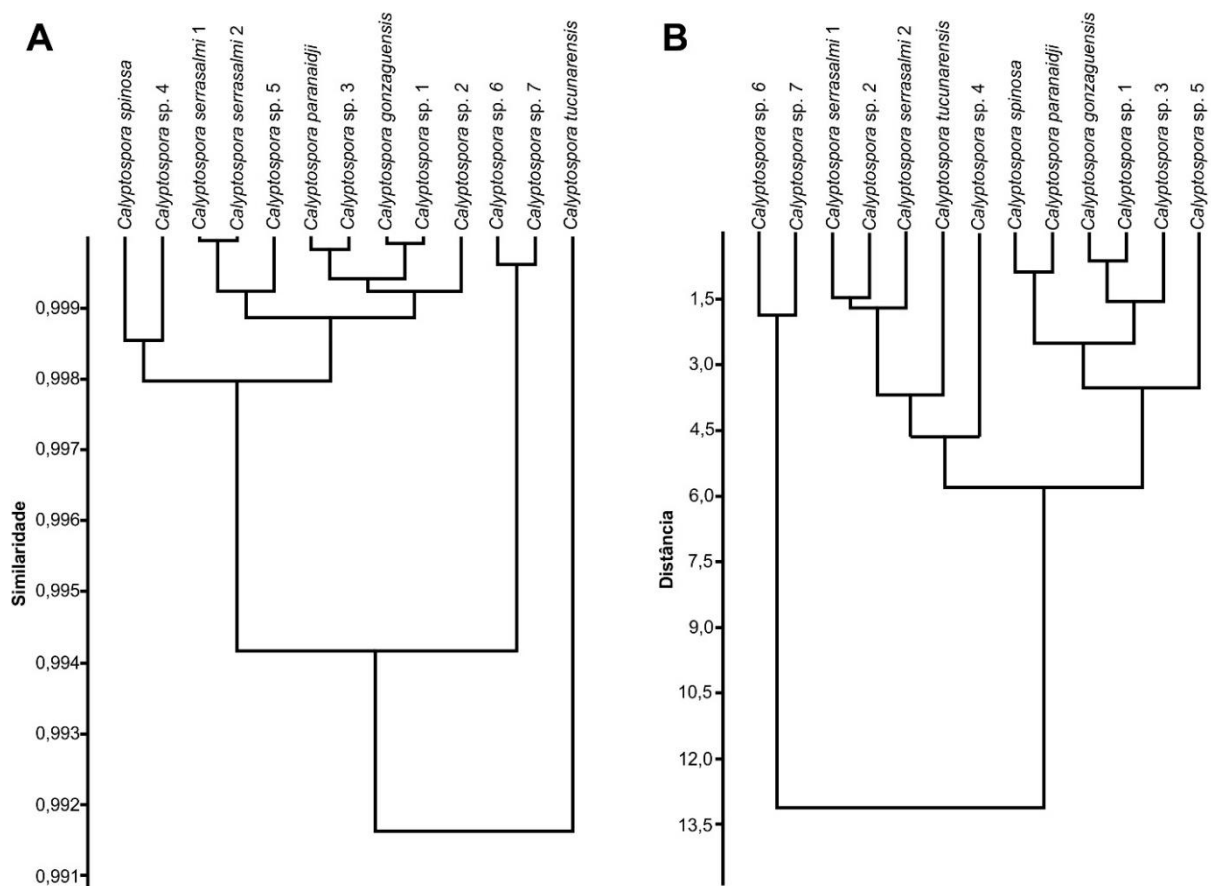


Figura 19. Dendrograma de similaridade. **A.** índice de similaridade de Morisita. **B.** Distância Euclidiana.

Os resultados das análises limnológicas realizadas demonstraram que estão dentro do recomendado para o reservatório de Ibitinga comparado com o último relatório de Qualidade das águas interiores no estado de São Paulo pela CETESB, (2020) (Tabela 8), porém não foi possível comprovar correlação das variáveis e o parasitismo, devido ao baixo número de peixes (n°) capturados por coleta.

Tabela 8. Variáveis limnológicas estudadas no médio Tietê durante as coletas.

Parâmetros	Maió/2019	Agosto/2019	Dezembro/2019
Temperatura (°C)	27,2	20,7	26,4
Oxigênio Dissolvido (mg/L)	6,5	7,8	7,5
pH	7,9	8,09	8,2
Condutividade (µs)	172,7	230	283
Nitrato (µg/L)	453,97	793,57	833,40
Nitrito (µg/L)	9,26	40,65	49,06
Amônia (µg/L)	22,91	50,58	28,28
Fósforo total (µg/L)	102,12	100,26	99,35

4. DISCUSÃO

Os casos de infecção por caliptosporídeos nas bacias hidrográficas brasileiras são extremamente raros quando comparados às infecções endoparasitárias de diagnóstico mais comuns, principalmente por desconhecimento do parasita. Desta forma, este estudo representa uma importante contribuição sobre a diversidade e dinâmica do gênero *Calyptospora* na região sudeste, pois até o momento, não existem relatos sobre sua ocorrência em *S. marginatus* no rio Tietê.

A morfologia do esporocisto encontrado no fígado de todos os exemplares de *S. marginatus* foi consistente com a do gênero *Calyptospora*, todavia, sugerindo se tratar de uma nova espécie, pois os parâmetros morfométricos foram diferentes, com tamanho bem menor de outras espécies do mesmo gênero já descritas em peixes amazônicos no Brasil (AZEVEDO et al., 1993; SILVA et al., 2019b, 2020), o que foi confirmado pela Análise dos Componentes Principais (PCA), em que *Calyptospora* sp.⁷ identificada neste estudo foi semelhante a *Calyptospora* sp.⁶, embora essa relação tenha sido negativa para as demais espécies em ambos os eixos.

Neste estudo, 4 dos 14 exemplares de *S. marginatus* capturados estavam infectados com oocistos de *Calyptospora* sp. Sabe-se que este parasita ocorre com maior frequência em peixes de hábito alimentar carnívoro, uma vez que estes ingerem camarão infectado pelo parasita. Já, os camarões são infectados devido a ingestão de vísceras de peixes

mortos contendo oocistos esporulados de *Calyptospora* sp., fechando o ciclo do parasita (OVERSTREET et al., 1984; NEGRÃO et al., 2019). Caliptosporídeos já foram descritos causando infecções hepáticas em outros serrasalmídeos, como em *S. niger* (CHEUNG et al., 1986), *S. striolatus* (CASAL et al., 2007) e *S. rhombeus* (OLIVEIRA et al., 2021).

A taxa de infecção por *Calyptospora* sp. em *S. marginatus* foi relativamente baixa (28,5%), com prevalência de oocistos do parasita no fígado dos hospedeiros nos meses de maio e agosto. Este fato pode ter ocorrido devido ao parasita ter um ciclo de desenvolvimento anual, com formação dos oocistos somente na primavera (MOLNÁR et al., 2012), o que propiciaria a infecção dos peixes provavelmente nos meses subsequentes, já nas estações do verão, outono e inverno. Estudo de infecção experimental em *F. grandis* alimentado com camarão infectado com oocisto esporulado do parasita demonstrou que os peixes pequenos apresentaram oocistos esporulados (quatro esporoblastos) após 25-30 dias da infecção, já os peixes maiores, apresentaram oocistos após 60-65 dias da infecção (SOLANGI; OVERSTREET, 1980).

Com relação as alterações provocadas no fígado das piranhas infectadas com oocistos do parasita, foi observado inchaço e algumas áreas com aparência esbranquiçada. Descrições semelhantes com este padrão de infecção foram relatadas para *C. temensis* (VELASCO et al., 2012) e *A. plagiozonatus* (VIDEIRA et al., 2013). A análise histológica realizada no órgão revelou que a presença dos oocistos causou uma resposta inflamatória e ativação do sistema reticuloendotelial, com leves compressões dos hepatócitos adjacentes. A associação de corpos melanomacrófagos com vacúolos parasitóforos são comuns em infecções por caliptosporídeos no fígado de peixes (VIDEIRA et al., 2013; SILVA et al., 2019b, 2020; OLIVEIRA et al., 2021). Resultados semelhantes foram encontrados neste estudo. À medida que os oocistos proliferam, eles geram mudanças na arquitetura tecidual, formação de encapsulados ou granulomas revestidos com tecido fibroso (SOLANGI; OVERSTREET, 1980; FOURNIE; OVERSTREET, 1993; RAMOS et al., 2018), também danos são evidentes no nível celular, como fragmentação do núcleo e destruição de estruturas citoplasmáticas, resultado da compressão dos hepatócitos (AZEVEDO; MATOS; MATOS, 1993). Esse padrão histopatológico foi evidenciado neste estudo.

Entretanto, para peixes produzidos em cativeiro este não seria o cenário, uma vez que os peixes são produzidos em condições estressantes, como elevada densidade de estocagem, manejo constante, qualidade da água inadequada e manejo nutricional

deficiente e essas alterações no fígado, com destruição de aproximadamente 85% dos hepatócitos e tecido pancreático seriam fatais, causando elevada taxa de mortalidade dos peixes. Assim, é muito importante a análise periódica deste parasita em peixes de vida livre e de produção (peixes criados em tanques-redes em reservatórios e rios) ao longo do ano e em diferentes estações, permitindo um melhor entendimento da prevalência desse parasita nessas espécies de peixes e os danos por ele causados.

A identificação de *Calyptospora* sp. infectando *S. marginatus* na região sudeste foi descrita pela primeira vez neste estudo, sugerindo que o parasita pode ter sido introduzido junto com a piranha nesta região ou esta foi infectada pelo parasita durante seu estabelecimento na bacia do rio Tietê, uma vez que indivíduos introduzidos em um novo território podem trazer consigo uma parte ou todos seus parasitas nativos, disseminando-os e/ou infestar as espécies pertencentes ao ambiente introduzido (LACERDA et al., 2013). Embora, esta espécie de parasita já possa estar dissimulada no rio Tietê há muito tempo, no Brasil existem poucos relatos sobre a ocorrência de Calyptosporiidae parasitas de peixe. Podemos inferir que isto ocorre não pela inexistência deste grupo de parasitos, mas pela escassez de pesquisas sobre eles.

Desta forma, podemos inferir que *Calyptospora* sp. não está restrita a uma zona geográfica determinada e tem a facilidade em infectar diferentes espécies de peixes. Assim, que ações antropogênicas impactam toda a dinâmica populacional de uma espécie de peixe e também toda a sua fauna parasitária acompanhante. Nitidamente, novos estudos são necessários para compreender a ecologia deste importante parasita na piranha e em outras espécies de peixes, com a realização de análises morfológicas e moleculares para a identificação das espécies existentes e de novas espécies, correlacionando a ocorrência em diferentes estações do ano, com os órgãos alvos e os danos gerados deste microorganismo parasita.

5. CONCLUSÃO

- Este foi o primeiro relato da ocorrência de *Calyptospora* sp., infectando *S. marginatus* no rio Tietê;
- O parasita *Calyptospora* spp., provoca alterações macro e microscópicas no fígado de *S. marginatus* e *S. maculatus*, todavia, sem causar mortalidade ou morbidade;
- A morfologia de *Calyptospora* spp. deste estudo foi diferente de outras espécies do mesmo gênero descritas anteriormente, apresentando tamanho menor e pouca similaridade com os caliptosporídeos descritos no Brasil.

6. REFERÊNCIAS

- ADL, S. M. et al. The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 52, n. 5, p. 399–451, 2005.
- ADLARD, R. D.; MILLER, T. L.; SMIT, N. J. The butterfly effect: Parasite diversity, environment, and emerging disease in aquatic wildlife. **Trends in Parasitology**, v. 31, n. 4, p. 160–166, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2014.11.001>>.
- AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C. Manejo e monitoramento de recursos pesqueiros: perspectivas para o reservatório de Segredo. In: AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C. (Ed.). **Reservatório de Segredo: bases ecológicas para o manejo**. EDUEM ed. [s.l: s.n.]p. 319–364.
- AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C.; PELICICE, F. M. **Ecologia e manejo de recursos pesqueiros em reservatórios do Brasil**. Eduem ed. [s.l: s.n.]
- AGOSTINHO, A. A.; JÚLIO, H. F. J.; PETRERE, J. M. Itaipu reservoir (Brazil): impacts of the impoundment on the fish fauna and fisheries. In: COWX, I. G. (Ed.). **Rehabilitation of freshwater fishes**. Bodman ed. [s.l: s.n.]p. 171–184.
- AGOSTINHO, A. A.; PELICICE, F. M.; GOMES, L. C. Dams and the fish fauna of the Neotropical region: impacts and management related to diversity and fisheries. **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, n. 4, p. 1119–1132, 2008.

AGOSTINHO, C. S. Reproductive aspects of piranhas *Serrasalmus spilopleura* and *Serrasalmus marginatus* into the upper Paraná River, Brazil. **Brazilian journal of biology = Revista brasleira de biologia**, v. 63, n. 1, p. 1–6, 2003.

AGOSTINHO, C. S.; HAHN, N. S.; MARQUES, E. E. Patterns of food resource use by two congeneric species of piranhas (*Serrasalmus*) on the Upper Paraná River floodplain. **Brazilian journal of biology = Revista brasleira de biologia**, v. 63, n. 2, p. 177–182, 2003.

AGOSTINHO, C. S.; JÚLIO, H. F. Observation of an invasion of the piranha *Serrasalmus marginatus* Valenciennes, 1847 (Osteichthyes, Serrasalmidae) into the Upper Paraná River, Brazil. **Acta Scientiarum - Biological and Health Sciences**, v. 24, n. 2, p. 391–395, 2002.

ALBUQUERQUE, M. C. de; BRASIL-SATO, M. de C. First report of *Calyptospora* sp. (Apicomplexa, Calyptosporidae) in forage characid fish from the Três Marias Reservoir, São Francisco Basin, Brazil. **European Journal of Protistology**, v. 46, n. 2, p. 150–152, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejop.2009.12.005>>.

ALEXANDRE, P. C. et al. Relação estoque-recrutamento para as piranhas *Serrasalmus marginatus* (Valenciennes, 1847) e *S. maculatus* (Kner, 1860) no rio Baía, alto rio Paraná. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 26, n. 3, p. 303–307, 2004.

ALMEIDA, F. F. M. et al. **Nota Explicativa do Mapa Geológico do Estado de São Paulo**. IPT ed. São Paulo: Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT, monografias n6), 1981.

ASSANE, I. M. et al. Phenotypic and genotypic characterization of *Aeromonas jandaei* involved in mass mortalities of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) in Brazil. **Aquaculture**, v. 541, n. April, p. 736848, 2021.

AZEVEDO, C.; MATOS, E.; MATOS, P. Ultrastructural data on sporogony of the coccidian parasite *Calyptospora spinosa* from the liver of the Amazonian fish, *Crenicichla lepidota* Heckel. **Journal of Fish Diseases**, v. 18, n. 6, p. 475–479, 1995.

AZEVEDO, C.; MATOS, P.; MATOS, E. Morphological data of *Calyptospora spinosa* n. sp. (Apicomplexa, Calyptosporidae) parasite of *Crenicichla lepidota* HECKEL, 1840 (Teleostei) from Amazon river. **European Journal of Protistology**, v. 29, n. 2, p. 171–175, 1993.

AZEVEDO, R. K. de et al. Expanded description of *Lamproglena monodi* (Copepoda: Lernaecidae), parasitizing native and introduced fishes in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 3, p. 263–269, 2012.

BARTOŠOVÁ-SOJKOVÁ, P. et al. Epicellular Apicomplexans: Parasites “On the Way In”. **PLoS Pathogens**, v. 11, n. 9, p. 1–9, 2015.

BEHR, E. R.; SIGNOR, C. A. Distribuição e alimentação de duas espécies simpátricas de piranhas *Serrasalmus maculatus* e *Pygocentrus nattereri* (Characidae, Serrasalminae) do rio Ibicuí, Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia. Série Zoologia**, v. 98, n. 4, p. 501–507, 2008.

BÉKÉSI, L.; MOLNÁR, K. *Calyptospora tucunarensis* n. sp. (Apicomplexa: Sporozoa) from the liver of tucunare *Cichla ocellaris* in Brazil. **Systematic Parasitology**, v. 18, n. 2, p. 127–132, 1991.

BERNET, D. et al. Histopathology in fish : proposal for a protocol to assess aquatic pollution. **Journal of Fish Diseases**, v. 22, p. 25–34, 1999.

BERTO, B. P.; MCINTOSH, D.; LOPES, C. W. G. Studies on coccidian oocysts (Apicomplexa: Eucoccidiorida). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, v. 23, n. 1, p. 1–15, 2014.

BITTENCOURT, L. S. et al. Parasites of native Cichlidae populations and invasive *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) in tributary of Amazonas River (Brazil). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, v. 23, n. 1, p. 44–54, 2014.

BONAR, C. J. et al. Hepatic *Calyptospora* sp. (Apicomplexa) infection in a wild-born, aquarium-held clutch of juvenile arapaima *Arapaima gigas* (Osteoglossidae). **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 70, n. 1–2, p. 81–92, 2006.

BRITSKI, H. A.; SILIMON, K. Z. de S.; LOPES, B. S. **Peixes do Pantanal- Manual de identificação**. 2ª edição ed. [s.l: s.n.]

BUCKUP, P. A.; MENEZES, N. A.; GHAZZI, M. S. **Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil**. Museu Naci ed. [s.l: s.n.]

BUSH, A. O. et al. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. **Journal of Parasitology**, v. 83, n. 4, p. 575–583, 1997.

CANONICO, G. C. et al. The effects of introduced tilapias on native biodiversity. **Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems**, v. 15, n. 5, p. 463–483, 2005.

CARVALHO, L. N. et al. Feeding habits and habitat use of three sympatric piranha species in the *Pantanal wetland* of Brazil. **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, v. 18, n. 2, p. 109–116, 2007. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/281928549_Feeding_habits_and_habitat_use_of_three_sympatric_piranha_species_in_the_Pantanal_wetland_of_Brazil>.

CASAL, G. et al. Morphological and ultrastructural redescription of *Calyptospora serrasalmi* Cheung, Nicrelli & Ruggieri, 1986 (Apicomplexa: Calyptosporidae), a parasite found in two new host species of the genus *Serrasalmus*. **Brazilian Journal of Morphological Sciences**, v. 24, n. 1, p. 11–16, 2007.

CASTRO, P. M. G. de et al. Mapeamento da pesca artesanal ao longo do médio e baixo Rio Tietê (São Paulo, Brasil). **Série Relatórios Técnicos, São Paulo**, v. 33, p. 1–34, 2008.

CASTRO, P. M. G. de; MARUYAMA, L. S.; PAIVA, P. de. Pesca artesanal no médio e baixo rio Tietê (São Paulo, Brasil): pontos de desembarque e estimativa de número de pescadores. **Bioikos**, v. 22, n. 1, p. 15–27, 2008. Disponível em: <<https://seer.sis.puc-campinas.edu.br/seer/index.php/bioikos/article/view/815>>.

CETESB. **SÉRIE RELATÓRIOS: Qualidade das águas interiores no estado de São Paulo 2019**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://cetesb.sp.gov.br/aguas-interiores/publicacoes-e-relatorios/>>.

CHEUNG, P. J.; NIGRELLI, R. F.; RUGGIERI, G. D. *Calyptospora serrasalmi* sp. nov. (Coccidia: Calyptosporidae) from liver of the black piranha, *Serrasalmus niger* Schomburgk. **Journal of Aquariculture & Aquatic Sciences**, v. 4, p. 54–57, 1986.

COLAUTTI, R. I. et al. Is invasion success explained by the enemy release hypothesis? **Ecology Letters**, v. 7, n. 8, p. 721–733, 2004.

COSTA, A. C. et al. Alimentação da pirambeba *Serrasalmus spilopleura* Kner, 1858 (Characidae; Serrasalminae) em um reservatório do Sudeste brasileiro. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 27, n. 4, p. 365–369, 2005.

COX, F. E. G. The evolutionary expansion of the Sporozoa. **International Journal for Parasitology**, v. 24, n. 8, p. 1301–1316, 1994.

CREMONTE, F.; BALSEIRO, P.; FIGUERAS, A. Occurrence of *Perkinsus olseni* (Protozoa: Apicomplexa) and other parasites in the venerid commercial clam *Pitar rostrata* from Uruguay, southwestern Atlantic coast. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 64, n. 1, p. 85–90, 2005.

CUCHEROUSSET, J.; OLDEN, J. D. Ecological Impacts of Non-native Freshwater Fishes. **Fisheries Bethesda**, v. 36, n. 5, p. 215–230, 2011. Disponível em: <http://www.fish.washington.edu/research/oldenlab/pdf/2011/Fisheries_2011c_Inv.pdf>.

DAVID, G. S. et al. Artes de pesca artesanal nos reservatórios de barra bonita e bariri: Monitoramento pesqueiro na bacia do médio Rio Tietê. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 42, n. 1, p. 29–49, 2016.

DAVIES, A. J.; BALL, S. J. The Biology of Fish Coccidia. **ADVANCES IN PARASITOLOGY**, v. 32, p. 293–366, 1993.

DE MELO, G. S. R.; DE SANTANA, H. S.; DEI TOS, C. Ovarian histology and fecundity in the evaluation of the reproduction of the invasive species *Serrasalmus marginatus* (Characidae) on a neotropical floodplain. **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, v. 39, n. 3, p. 339–347, 2017.

DIAS, L. de N. S. **FAUNA MICROPARASITÁRIA DE *Brachyplatystoma rousseauxii* E *Mugil curema* DESEMBARCADOS NA AMAZÔNIA ORIENTAL**. 2013. Universidade Federal do Pará, Belém-PA, 2013. Disponível em: <<http://ir.obihiro.ac.jp/dspace/handle/10322/3933>>.

DOGGA, S. K. et al. Phylogeny, Morphology, and Metabolic and Invasive Capabilities of Epicellular Fish Coccidium *Goussia janae*. **Protist**, v. 166, n. 6, p. 659–676, 2015.

DUSZYNSKI, D. W.; SOLANGI, M. A.; OVERSTREET, R. M. A new and unusual eimerian (Protozoa: Eimeriidae) from the liver of the gulf killifish, *Fundulus grandis*. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 15, n. 4, p. 543–552, 1979.

EIRAS, J. C. et al. Checklist of Protozoan parasites of fishes from Brazil. **Zootaxa**, v. 25, n. 3221, p. 1–25, 2012.

- EIRAS, J. C. Apicomplexa. In: PAVANELLI, G. C.; TAKEMOTO, R. M.; EIRAS, J. C. (Ed.). **Parasitologia de peixes de água doce do Brasil**. Maringá: EDUEM, 2013. p. 217–231.
- EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C. **Métodos de Estudo e Técnicas laboratoriais em Parasitologia de Peixes**. 2 ed ed. Maringá: Eduem, 2006.
- EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C. APICOMPLEXA. In: EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C. (Ed.). **Diversidade dos Parasitas de peixes de água doce do Brasil**. Clichetec ed. [s.l: s.n.]p. 49–58.
- ESPÍNOLA, L. A.; FERREIRA, H.; JUNIOR, J. Espécies invasoras: concertos, modelos e atributos. **Interciencia**, v. 32, n. 9, p. 580–585, 2007.
- FELSENSTEIN, J. Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using the Bootstrap. **Evolution**, v. 39, n. 4, p. 783–791, 1985.
- FERREIRA, F. S. et al. Trophic ecology of two piranha species, *Pygocentrus nattereri* and *Serrasalmus marginatus* (Characiformes, Characidae), in the floodplain of the Negro River, Pantanal. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 26, n. 4, p. 381–391, 2014.
- FOURNIE, J. W. et al. Life cycle of *Calyptospora funduli* (Apicomplexa: Calyptosporidae). **Journal of Parasitology**, v. 86, n. 3, p. 501–505, 2000.
- FOURNIE, J. W.; HAWKINS, W. E.; OVERSTREET, R. M. *Calyptospora empristica* n. sp. (Eimeriorina: Calyptosporidae) from the Liver of the Starhead Topminnow, *Fundulus notti*. **The Journal of Protozoology**, v. 32, n. 3, p. 542–547, 1985.
- FOURNIE, J. W.; OVERSTREET, R. M. True Intermediate Hosts for *Eimeria funduli* (Apicomplexa) from Estuarine Fishes. **The Journal of Protozoology**, v. 30, n. 4, p. 672–675, 1983.
- FOURNIE, J. W.; OVERSTREET, R. M. Host specificity of *Calyptospora funduli* (Apicomplexa: Calyptosporidae) in atheriniform fishes. **Journal of Parasitology**, v. 79, n. 5, p. 720–727, 1993.
- FRIEND, S. E.; LOVY, J.; HERSHBERGER, P. K. Disease Surveillance of Atlantic herring: Molecular characterization of hepatic coccidiosis and a morphological report of a novel intestinal coccidian. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 120, n. 2, p. 91–107, 2016.

- GALLI, P. et al. Introduction of alien host-parasite complexes in a natural environment and the symbiota concept. **Hydrobiologia**, v. 548, n. 1, p. 293–299, 2005.
- GARCÍA-BERTHOU, E.; MORENO-AMICH, R. Multivariate analysis of covariance in morphometric studies of the reproductive cycle. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 50, n. 7, p. 1394–1399, 1993.
- GÉRY, J. **Characoids of the world**. TFH ed. Neptune City: Tropical Fish Hobbyist Publications, 1977.
- GIAMAS, M. T. D. et al. A Ictiofauna Da Represa De Ponte Nova , Salesópolis (São Paulo) - Bacia Do Alto Tietê. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 30, n. 1, p. 25–34, 2004.
- GIDO, K. B.; SCHAEFER, J. F.; PIGG, J. Patterns of fish invasions in the Great Plains of North America. **Biological Conservation**, v. 118, p. 121–131, 2004.
- GOTHERMAN, H.; CLYMO, R. S.; OHNSTAD, M. A. M. **Methods for physical and chemical analysis of fresh water**. Osney Mead: Blackwell Sci, 1978.
- GRAÇA, W. J. da; PAVANELLI, C. S. **Peixes da planície de inundação do Alto rio Paraná e áreas adjacentes**. Maringá: EDUEM, 2007.
- HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST : PALEONTOLOGICAL STATISTICS SOFTWARE PACKAGE FOR EDUCATION AND DATA ANALYSIS. **Paleotol Electronic**, v. 4, n. 1, p. 1–9, 2001.
- HUMASON, G. L. **Animal Tissue Techniques**. San Francisco: W. H. Freeman and Company, 1972.
- JÈGU, M. Subfamily Serrasalminae. In: REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS, C. J. (Ed.). **Checklist of the Freshwater Fishes of South and Central America**. Edipucrs ed. [s.l: s.n.]p. 182–196.
- JIRKŮ, M. et al. The Phylogeny of *Goussia* and *Choleoeimeria* (Apicomplexa; Eimeriorina) and the Evolution of Excystation Structures in Coccidia. **Protist**, v. 153, n. December, p. 379–390, 2002.
- JIRKŮ, M. et al. A model for taxonomic work on homoxenous coccidia: Redescription, host specificity, and molecular phylogeny of *Eimeria ranae* Dobell, 1909, with a review of Anuran-Host *Eimeria* (Apicomplexa: Eimeriorina). **Journal of Eukaryotic**

Microbiology, v. 56, n. 1, p. 39–51, 2009.

KASSAMBARA, A. **ggpubr: “ggplot2” Based Publication Ready Plots**R package, , 2020. . Disponível em: <<https://cran.r-project.org/package=ggpubr>>.

KIMURA, M. A. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of Molecular Evolution**, v. 16, n. 2, p. 111–120, 1980.

KOROLEFF, F. Determination of nutrients. In: GRASSHOFF, K. (Ed.). **Methods of seawater analysis**. Weinheim: Verlag Chemie, 1976. p. 117–181.

KUMAR, S. et al. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. **Molecular Biology and Evolution**, v. 35, n. 6, p. 1547–1549, 2018.

LACERDA, A. C. F. et al. Comparative parasitism of the fish *Plagioscion squamosissimus* in native and invaded river basins. **Journal of Parasitology**, v. 98, n. 4, p. 713–717, 2012.

LACERDA, A. C. F. et al. Introdução de peixes e seus parasitos. In: PAVANELLI, G. C.; TAKEMOTO, R. M.; EIRAS, J. C. (Ed.). **Parasitologia de peixes de água doce do Brasil**. Eduem ed. [s.l: s.n.]p. 169–193.

LEGENDRE, P.; LEGENDRE, L. **Ecologia Numérica**. 3^a edição ed. [s.l.] Elsevier, 2012. v. 24

LEVINE, N. D. et al. A Newly Revised Classification of the Protozoa. **The Journal of Protozoology**, v. 27, n. 1, p. 37–58, 1980.

LOWE-MCCONNELL, R. H. **Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais**. Edusp ed. São Paulo: LILACS, 1999.

MACKERETH, F. J. H.; HERON, J.; TALLING, J. F. Water analysis: some revised methods for limnologists. **Ambleside: Freshwater Biological Association Scientific**, v. 36, p. 1978, 1978.

MAIA, J. P. M. da C. **Diversity, infection patterns and host-parasite associations of apicomplexan parasites in reptiles**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://repositorio-aberto.up.pt/handle/10216/82096>>.

MARCENIUK, A. P.; HILSDORF, A. W. da S.; LANGEANI, F. A ictiofauna de cabeceiras do rio Tietê, São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 11, n. 3, p. 217–236, 2011.

MARQUES, H. et al. Length – weight and length – length relationships for 23 fish species of Porto Primavera reservoir , Upper Paraná River , Brazil. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 32, p. 1342–1346, 2016.

MARUYAMA, L. S. et al. ESTUDO DA PRODUÇÃO PESQUEIRA DO MÉDIO RIO TIETÊ, NOS ANOS DE 2003 E 2004. **Série Relatórios Técnicos, São Paulo**, v. 42, n. jun, p. 1–15, 2010a.

MARUYAMA, L. S. et al. PRODUÇÃO PESQUEIRA DO BAIXO RIO TIETÊ, NOS ANOS DE 2003-2004. **Série Relatórios Técnicos, São Paulo**, v. 45, n. nov, p. 1–16, 2010b.

MOLNÁR, K. Phylum Apicomplexa. In: WOO, P. T. (Ed.). **Fish diseases and disorders. Volume 1: protozoan and metazoan infections**. CABI ed. [s.l.] Oxfordshire, 2006. p. 183–204.

MOLNÁR, K. et al. Eimeria that infect fish are diverse and are related to, but distinct from, those that infect terrestrial vertebrates. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 12, n. 8, p. 1810–1815, 2012.

MORRISON, D. A. Evolution of the Apicomplexa: where are we now? **Trends in Parasitology**, v. 25, n. 8, p. 375–382, 2009.

NEGRÃO, M. C. da S. et al. Prevalence and molecular characterisation of *Calyptospora* parasites Overstreet, Hawkins and Fournié, 1984 (Apicomplexa: Calyptosporidae) in fishes from the eastern Amazon, Brazil. **Parasitology International**, v. 73, n. August, p. 101975, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.parint.2019.101975>>.

NOVAES, J. L. C. **ESTUDO COMPARATIVO DA PESCA ARTESANAL EM DOIS GRANDES RESERVATÓRIOS DO ALTO PARANÁ: BARRA BONITA (RIO TIETÊ) E JURUMIRIM (RIO PARANAPANEMA)**. 2008. Universidade Estadual Paulista, 2008.

OKSANEN, J. et al. **Vegan: Community Ecology PackageR** package, , 2016. . Disponível em: <<http://cran.r-project.org/package=vegan>>.

OLIVEIRA, J. E. F. de et al. Hepatic coccidiosis in *Serrasalmus rhombeus* linnaeus, 1766 from the amazon basin: Morphological and histopathological aspects. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, v. 30, n. 1, p. 1–8, 2021.

OLIVEIRA, M. et al. *Calyptospora funduli* (Apicomplexa, Calyptosporidae) in the liver of the gulf toadfish, *Opsanus beta*. **Journal of the Helminthological Society of Washington**, v. 60, n. 2, p. 273–277, 1993.

ORSI, M. L.; AGOSTINHO, Â. A. Introdução de espécies de peixes por escapes acidentais de tanques de cultivo em rios da Bacia do Rio Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 16, n. 2, p. 557–560, 1999.

OTA, R. P. et al. Serrasalmidae. In: QUEIROZ, L. J. DE et al. (Ed.). **Peixes do rio madeira**. São Paulo: SantoAntônio, 2013. Iip. 14–47.

OVERSTREET, R. M. Species of *Eimeria* in Nonepithelial Sites. **The Journal of Protozoology**, v. 28, n. 2, p. 258–260, 1981.

OVERSTREET, R. M.; HAWKINS, W. E.; FOURNIE, J. W. The Coccidian Genus *Calyptospora* n. g. and Family Calyptosporidae n. fam. (Apicomplexa), with Members Infecting Primarily Fishes. **The Journal of Protozoology**, v. 31, n. 2, p. 332–339, 1984.

OYAKAWA, O. T.; MENEZES, N. A. Checklist dos peixes de água doce do Estado de São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 11, n. 1, p. 19–31, 2011.

PELICICE, F. M.; AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C. Biodiversidade e conservação de peixes na planície de inundação do alto rio Paraná. **Cadernos da Biodiversidade**, v. 5, n. 1, p. 34–44, 2005. Disponível em: <<http://repositorio.uem.br:8080/jspui/handle/1/5167>>.

PERKINS, S. E. et al. Parasite community dynamics in an invasive vole – From focal introduction to wave front. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 6, n. 3, p. 412–419, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2017.07.005>>.

PERRINGS, C. et al. How to manage biological invasions under globalization. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 20, n. 5, p. 212–215, 2005.

POULIN, R. Invasion ecology meets parasitology: Advances and challenges. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 6, n. 3, p. 361–363,

2017.

R CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing** Vienna, Austria R Foundation for Statistical Computing, , 2020. . Disponível em: <<http://www.r-project.org/>>.

RAICK, X. et al. Yellow-eyed piranhas produce louder sounds than red-eyed piranhas in an invasive population of *Serrasalmus marginatus*. **Journal of Fish Biology**, v. 97, n. 6, p. 1676–1680, 2020.

RALPH LAINSON, F. R. S. A protozoologist in Amazônia: Neglected parasites, with particular reference to members of the Coccidia (Protozoa: Apicomplexa). **Ciência e Cultura (Brazilian Association for the Advancement of Science)**, v. 44, n. 2/3, p. 81–93, 1992.

RAMBALDI, D. M.; OLIVEIRA, D. A. S. de. **Fragmentação de Ecossistemas: Causas, efeitos sobre a biodiversidade e recomendações de políticas públicas**. MMA/SBF ed. [s.l: s.n.]

RAMBAUT, A. **FigTree**, 2012. . Disponível em: <<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>>.

RAMOS, A. B. M. A. et al. COCCIDIOSE HEPÁTICA EM *Aspistor quadriscutis*, Valenciennes, 1840 (TELEOSTEI: ARIIDAE) CAPTURADOS NO ESTUÁRIO DO NORDESTE PARAENSE, AMAZÔNIA, BRASIL. **Archives of Veterinary Science**, v. 23, n. 3, p. 63–67, 2018.

REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS JR, C. J. **Checklist of the freshwater fishes of South and Central América**. EDIPUCRS ed. [s.l: s.n.]

RIBEIRO, M. L. T. B. **Observando o Tietê**. São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica, Núcleo União Pró-Tietê, 2004.

RICHARDSON, D. M. et al. Naturalization and invasion of alien plants : concepts and definitions. **Diversity and Distributions**, v. 6, n. 2, p. 93–107, 2000.

ROCHE, D. G. et al. Higher parasite richness, abundance and impact in native versus introduced cichlid fishes. **International Journal for Parasitology**, v. 40, n. 13, p. 1525–1530, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2010.05.007>>.

SANTIAGO, H. et al. Morphology and histopathology of *Calyptospora* sp. (Apicomplexa: Calyptosporidae) in speckled peacock bass, *Cichla temensis* Humboldt, 1821 (Perciformes: Cichlidae), from the Marajó-Açu River, Marajó Island, Brazil. **Parasitology Research**, v. 110, n. 6, p. 2569–2572, 2012.

SANTOS, G. M. dos; FERREIRA, E. J. G.; ZUANON, J. A. S. **Peixes comerciais de Manaus**. 2a edição ed. Manaus: Editora INPA, 2006.

SAZIMA, I.; MACHADO, F. A. Underwater observations of piranhas in western Brazil. **Environmental Biology of Fishes**, v. 28, p. 17–31, 1990. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/BF00751026>>.

SEBASTIÃO, F. de A. **Validação de técnicas moleculares para o diagnóstico de bactérias em peixes, visando redução de tempo e custo**. 2015. Universidade Estadual Paulista- Unesp, 2015. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/123993>>.

SELECHNIK, D. et al. The things they carried: The pathogenic effects of old and new parasites following the intercontinental invasion of the Australian cane toad (*Rhinella marina*). **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 6, n. 3, p. 375–385, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2016.12.001>>.

SIGRH. **RELATÓRIO DE SITUAÇÃO DOS RECURSOS HÍDRICOS 2017**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.sigrh.sp.gov.br/cbhrb/documentos>.

SILVA, M. C. da et al. *Calyptospora* sp. in *Brachyplatystoma vaillantii* trapped at the Vigia, State of Pará, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 2, p. 176–178, 2012.

SILVA, M. F. da et al. Gastric coccidiosis in *Thoracocharax stellatus* caused by *Goussia guamaensis* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the Amazon region. **Journal of Fish Diseases**, v. 42, n. 6, p. 905–912, 2019a.

SILVA, M. F. da et al. Morphology and Phylogeny of *Calyptospora paranaidji* n. sp. (Eimeriorina: Calyptosporidae), an Apicomplexan Parasite of the Hepatic Tissue of *Cichla piquiti* Kullander & Ferreira, 2006, From a Reservoir in the Brazilian Amazon Region. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 66, n. 4, p. 608–616, 2019b.

SILVA, M. F. et al. Hepatic Coccidiosis in *Triportheus angulatus* Spix & Agassiz, 1829 (Characiformes: Triportheidae), a Tropical Fish from the Eastern Brazilian Amazon, with

the Description of a New Species of *Calyptospora* (Apicomplexa: Calyptosporidae). **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 67, n. 3, p. 352–358, 2020.

SLODKI, J. et al. Tick-Transmitted Diseases Caused by Apicomplexa. **Acta Protozoologica**, v. 50, n. January, p. 155–161, 2011. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/260225616_Tick-Transmitted_Diseases_Caused_by_Apicomplexa>.

SMIT, N. J.; MALHERBE, W.; HADFIELD, K. A. Alien freshwater fish parasites from South Africa: Diversity, distribution, status and the way forward. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 6, n. 3, p. 386–401, 2017.

SOLANGI, M. A.; OVERSTREET, R. M. Biology and Pathogenesis of the Coccidium *Eimeria funduli* Infecting Killifishes. **The Journal of Parasitology**, v. 66, n. 3, p. 513–526, 1980.

SOLDATI, D.; FRANCOIS, J.; LEBRUN, M. Microneme proteins : structural and functional requirements to promote adhesion and invasion by the apicomplexan parasite *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, v. 31, p. 1293–1302, 2001.

SOUZA, W. De et al. Organização estrutural do taquizoíto de *Toxoplasma gondii*. **Scientia Medica**, v. 20, n. 1, p. 131–143, 2010.

STEINHAGEN, D.; DAVIES, A. J. Diseases caused by apicomplexans. In: EIRAS, J. et al. (Ed.). **Fish diseases**. Vol 1 ed. Jersey: Science Publishers, 2008. 1p. 517–567.

SVERLIJ, S. B. et al. **Peces del Rio Uruguay : guia ilustrada de las especies mas comunes del Rio Uruguay inferior y el embalse de Salto Grande**. [s.l: s.n.].

TALEVICH, E.; MIRZA, A.; KANNAN, N. Structural and evolutionary divergence of eukaryotic protein kinases in Apicomplexa. **BMC Evolutionary Biology**, v. 11, n. 1, 2011.

TENTER, A. M. et al. The conceptual basis for a new classification of the coccidia. **International Journal for Parasitology**, v. 32, n. 5, p. 595–616, 2002.

TOMLEY, F. M. et al. EtMIC4 : a microneme protein from *Eimeria tenella* that contains tandem arrays of epidermal growth factor-like repeats and thrombospondin type-I repeats q. **International Journal for Parasitology**, v. 31, p. 1303–1310, 2001.

TORLONI, C. E. C. et al. Produção pesqueira e composição das capturas em reservatórios sob concessão da CESP nos rios Tietê, Paraná e Grande, no período de 1986 a 1991. **Série Produção Pesqueira**, v. 1, p. 73 P, 1993.

TROCA, D. F. A.; VIEIRA, J. P. Potencial invasor dos peixes não nativos cultivados na região costeira do Rio Grande do Sul, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 38, n. 2, p. 109–120, 2012.

TUNDISI, J. G. Reservatórios como sistemas Complexos: Teoria, aplicações e perspectivas para usos múltiplos. In: HENRY, R. (Ed.). **Ecologia de reservatórios: Estrutura, função e aspectos sociais**. Botucatu: FUNDIBIO/FAPESP, 1999. p. 19–38.

TUNDISI, J. G. et al. A bacia hidrográfica do Tietê/Jacaré: Estudo de caso em pesquisa e gerenciamento. **Estudos Avancados**, v. 22, n. 63, p. 159–172, 2008.

VALIGUROVÁ, A. et al. Protococcidian *Eleutheroschizon duboscqi*, an Unusual Apicomplexan Interconnecting Gregarines and Cryptosporidia. **PLoS ONE**, v. 10, n. 4, p. 1–27, 2015.

VELASCO, M. et al. Morfologia e nova ocorrência de um coccídio hepatopancreático parasita de peixe amazônico. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 55, n. 3, p. 231–235, 2012.

VIDEIRA, M. et al. An anatomopathological study of hepatic coccidiosis (*Calyptospora* sp.) in the Acará-Pixuna, *Aequidens Plagiozonatus* Kullander, 1984 from the Brazilian State of Pará. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 1, p. 91–94, 2013.

VILLARES, G. A.; GOMIERO, L. M.; GOITEIN, R. Feeding of *Serrasalmus maculatus* (Kner, 1858) (characiformes; serrasalmidae) in the Sorocaba river, São Paulo State, Brazil. **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, v. 30, n. 3, p. 267–273, 2008.

VITTI, D. M. de C. et al. Acurácia horizontal do mapeamento de um trecho da área de concessão da UHE de Bariri, SP com imagens de alta resolução coletadas com RPAS. In: Anais do XVIII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto -SBSR, Santos- SP. **Anais...** Santos- SP: Galoá Proceedings, 2017.

VITULE, J. Introdução de peixes em ecossistemas continentais brasileiros: revisão, comentários e sugestões de ações contra o inimigo quase invisível. **Neotropical Biology**

and Conservation, v. 4, n. 2, p. 111–122, 2009.

VITULE, J. R. S.; FREIRE, C. A.; SIMBERLOFF, D. Introduction of non-native freshwater fish can certainly be bad. **Fish and Fisheries**, v. 10, n. 1, p. 98–108, 2009.

WHIPPS, C. M. et al. Phylogeny of fish-infecting Calyptospora species (Apicomplexa: Eimeriorina). **Parasitology Research**, v. 111, n. 3, p. 1331–1342, 2012.

WICKHAM, H. **ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis** New YorkSpringer-Verlag, , 2016. .

XAVIER, R. et al. Phylogenetic analysis of apicomplexan parasites infecting commercially valuable species from the North-East Atlantic reveals high levels of diversity and insights into the evolution of the group. **Parasites and Vectors**, v. 11, n. 1, p. 1–12, 2018.

XAVIER, R. et al. Effects of *Goussia* infecting the blue whiting and phylogenetic placement of *Goussia* infecting marine fish off Northern Portugal. **Parasitology Research**, v. 119, p. 2139–2147, 2020.