

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

(ZOOLOGIA)

HELMINTOS PARASITOS DE RÉPTEIS PROCEDENTES DE CINCO ESTADOS BRASILEIROS

ENZO EMMERICH PAULA DE CASTRO

Tese apresentada ao Instituto de Biociências de Botucatu,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor
em Ciências Biológicas (Zoologia).

BOTUCATU

2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

(ZOOLOGIA)

HELMINTOS PARASITOS DE RÉPTEIS PROCEDENTES DE CINCO ESTADOS BRASILEIROS

Doutorando: ENZO EMMERICH PAULA DE CASTRO

Orientador: Prof. Tit. REINALDO JOSÉ DA SILVA

Tese apresentada ao Instituto de Biociências de Botucatu,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor
em Ciências Biológicas (Zoologia).

BOTUCATU

2024

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Castro, Enzo Emmerich Paula de.

Helmintos parasitos de répteis procedentes de cinco estados brasileiros / Enzo Emmerich Paula de Castro. - Botucatu, 2024

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Reinaldo José da Silva
Capes: 21300003

1. Helmintologia. 2. Nematoda. 3. Répteis.

Palavras-chave: Helmintologia; Nematoda; Répteis.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE ENZO EMMERICH PAULA DE CASTRO, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (ZOOLOGIA), DO INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 28 dias do mês de fevereiro do ano de 2024, às 08:30 horas, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de ENZO EMMERICH PAULA DE CASTRO, intitulada **Helmintos parasitos de répteis procedentes de cinco estados brasileiros**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Tit. REINALDO JOSÉ DA SILVA (Orientador - Participação Virtual) do Departamento de Biodiversidade e Bioestatística / Instituto de Biociências de Botucatu UNESP, Prof. Dr. DRAUSIO HONORIO MORAIS (Participação Virtual) do Instituto de Ciências Agrárias / Universidade Federal de Uberlândia, Prof. Dr. SAMUEL VIEIRA BRITO (Participação Virtual) do Centro de Ciências de Chapadinha / Universidade Federal do Maranhão - UFMA, Prof. Dr. MAX RONDON WERNECK (Participação Virtual) do Instituto BW para a conservação e medicina da fauna marinha, Prof. Dr. FABIANO MATOS VIEIRA (Participação Virtual) do Colegiado de Ciências Biológicas / Universidade Federal do Vale do São Francisco. Após a exposição pelo doutorando e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, o discente recebeu o conceito final **APROVADO**. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo Presidente da Comissão Examinadora.

Documento assinado digitalmente
 REINALDO JOSE DA SILVA
Data: 16/05/2024 10:15:33-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Tit. REINALDO JOSÉ DA SILVA

Agradecimentos

Aos meus familiares pois deles me provém meus pilares.

Expresso a minha gratidão a quem me conduziu no trilha da parasitologia, meu orientador Prof. Tit. Reinaldo José da Silva, em que por anos me ensinou, me advertiu, criticou e soube com as palavras certas, muitas vezes rígidas e por horas descontraídas me direcionar na área científica.

Agradeço ao Prof. Drausio Honório Moraes por me mostrar o trabalho a campo em herpetofauna, vivenciei as dificuldades e belezas em que a nossa fauna e flora podem proporcionar.

Aos pesquisadores do Instituto de Pesca que me apresentaram a ciência e por ela eu persisti e pude contribuir de alguma forma.

Aos professores e pesquisadores parasitologistas do México, em quem tive oportunidade de encontrá-los em seu país e partilhar conhecimento.

A todos os meus colegas do Laboratório de Parasitologia de Animais Silvestres (LAPAS), os que já saíram e os atuais integrantes, obrigado pelo convívio e trabalho.

Aos animais, a todos os répteis que tive contato e fiz ciência, foram intrínsecos para mim e são de notável relevância para o ecossistema. Espero que dos parasitos coletados destes sirvam de pesquisa para muitos anos posteriores.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida para realização deste projeto.

**A maior recompensa para o homem que
trabalha é a consciência de ter feito o bem.**

(Vital Brasil)

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	2
CAPÍTULO I	3
INTRODUÇÃO	4
MATERIAIS E MÉTODOS	5
Área de estudo	5
Coleta e processamento dos helmintos	12
RESULTADOS	14
HELMINTOS DE SQUAMATA, LACERTILIA	19
<i>Parapharyngodon</i> spp.	19
<i>Physaloptera</i> cf. <i>retusa</i>	22
<i>Strongyluris oscar</i>	25
HELMINTOS DE SQUAMATA, SERPENTES	26
<i>Piratuba</i> sp.	26
<i>Oswaldocruzia</i> sp.	30
<i>Kalicephalus costatus</i>	33
<i>Physalopteroides venancioi</i> (Lent, Freitas e Proenca, 1946)	35
<i>Infidum similis</i> Travassos, 1916	38
<i>Travtrema stenocotyle</i> (Cohn, 1902)	39
HELMINTOS DE TESTUDINES, QUELÔNIOS	41
<i>Chapiniella diazi</i>	41
<i>Paraorientatractis semiannulata</i>	44
<i>Paratractis hystrix</i>	45
<i>Ancyracanthus pinnatifidus</i>	49
<i>Orientatractis</i> spp.	52
<i>Serpinema cayennensis</i>	59
HELMINTOS DE CROCODYLIA	62
<i>Paradiplostomum abbreviatum</i>	62
<i>Herpetodiplostomum caimancola</i>	64
<i>Proterodiplostomum</i> spp.	67
<i>Pachypsolus sclerops</i>	71
<i>Polyacanthorhynchus rhopalorhynchus</i>	73

<i>Brevimulticaecum stekhoveni</i>	77
<i>Toxocara</i> cf. <i>mystax</i>	80
<i>Nematophila</i> spp.	83
<i>Spiroxys</i> sp. <i>Schneider, 1866</i>	87
DISCUSSÃO	90
REFERÊNCIAS	92
CAPÍTULO II	106
First molecular and SEM assessment of <i>Ochetosoma heterocoelium</i> (Travassos, 1921) (Digenea: Ochetosomatidae) from Brazil and contribution to the morphology and classification of the species.	106
CAPÍTULO III	129
A new species of <i>Euparadistomum</i> (Digenea, Dicrocoeliidae) parasite of <i>Tropidurus oreadicus</i> (Squamata, Tropiduridae) in South America, supported by an integrative taxonomy	129

RESUMO

As pesquisas com parasitos são de suma importância para o conhecimento da biodiversidade existente em todo mundo, conduzindo a trabalhos para entender as lacunas quanto as suas funções ecológicas, a relação do hospedeiro-parasito, e de forma a ampliar os registros de novos locais de ocorrência. Neste estudo foi apresentado o registro de helmintos parasitando 21 espécies de répteis na região Centro-Oeste e Nordeste e Sudeste, distribuídos em 5 Estados do Brasil, sendo coletados e identificados diversos helmintos pertencentes aos táxons: Nematoda, Cestoda, Trematoda e Acanthocephala. O trabalho apresenta os órgãos infectados, a carga parasitária, morfologia assim como a diversidade de hospedeiros, parasitos e novas localidades geográficas para eles. Ao todo, 134 espécimes de répteis hospedeiro foram coletados e examinados para o estudo de helmintos. O presente trabalho demonstra a riqueza de helmintos, foram ao todo 63 táxons, aumentando o conhecimento dos parasitas de répteis para a região Neotropical. Além disso é exposto o primeiro sequenciamento de DNA e análise em microscopia eletrônica de varredura do digenético *Ochetosoma heterocoelium* parasita da serpente *Bothrops moojeni* no Brasil, com novos registros de morfologia e reclassificação. Também foi descrita uma nova espécie de digenético pertencente ao gênero *Euparadistomum* utilizando taxonomia integrativa.

ABSTRACT

Research with parasites is important for the knowledge of the existing biodiversity around the world, leading the work to understand the gaps regarding their ecological functions, host-parasite relationship, and to expand the records of new sites of parasite occurrence. In this study, the record of helminths parasitizing 21 species of reptiles in the Midwest, Northeast and Southeast regions, distributed in 5 States of Brazil, was presented and several helminths belonging to taxa: Nematoda, Cestoda, Trematoda e Acanthocephala were collected and identified. The study presents the infected organs, the parasitic load, morphology as well as the diversity of hosts, parasites, and new geographic locations for them. In all, 134 host reptiles were collected and were examined for the study of helminths. The study presents the richness of helminths, there were a total of 63 taxa, increasing the knowledge of parasites of reptiles in the Neotropical region. Furthermore, the first DNA sequencing and scanning electron microscopy analysis of the digenetic *Ochetosoma heterocoelium* parasite of the snake *Bothrops moojeni* in Brazil is presented, with new records of morphology and reclassification. A new species of digenean belonging to the genus *Euparadistomum* was also described, with integrative taxonomy being carried out.

CAPÍTULO I

HELMINTOS PARASITOS DE RÉPTEIS PROCEDENTES DE CINCO ESTADOS BRASILEIROS

INTRODUÇÃO

Os números de espécies de répteis descritas vêm aumentando anualmente, sendo registradas aproximadamente 12.000 espécies em todo o mundo, tornando o grupo um dos maiores em diversidade de vertebrados juntamente com as aves e ficando atrás apenas de peixes que possui em torno de 25.000 espécies catalogadas (Uetz *et al.*, 2023).

O Brasil possui a terceira maior riqueza de fauna de répteis no mundo com 856 espécies catalogadas, considerando sua diversidade climática e demográfica o país exibe um vasto potencial para a descoberta de novas espécies de répteis (Guedes *et al.*, 2023). Similarmente, considerando os helmintos parasitos de répteis, novos registros de hospedeiros, assim como novas descrições de espécies têm aumentado ao longo dos anos.

Desde o início do século XX relevantes contribuições para o estudo da helmintofauna em répteis no Brasil vem sendo publicadas, muitas delas iniciadas por Travassos (1920). A partir de então vários autores vem contribuindo para um melhor conhecimento da diversidade desses helmintos (Ávila e Silva, 2013; Quirino *et al.*, 2018; Mascarenhas *et al.*, 2022).

As pesquisas com parasitos são de suma importância para o conhecimento da biodiversidade existente em todo mundo, conduzindo a trabalhos para entender as lacunas quanto as suas funções ecológicas, a relação do hospedeiro-parasito, e de forma a ampliar os registros de novos locais de ocorrência (Marcogliese, 2005; Campião *et al.*, 2015).

Esforços visando a categorização e curadoria da fauna sempre tendem a crescer e devido à grande necessidade, as suas atualizações são ininterruptas, são trabalhos intrínsecos pois permitem avanços futuros em inúmeras áreas como a biogeografia, ecologia, taxonomia, sistemática e mesmo abordagens recentes como a saúde única (Guedes *et al.*, 2023).

Os parasitas desempenham um papel de grande importância no controle populacional de alguns vertebrados (Watson, 2013) assim como exercem um papel importante como elemento de conservação (Gómez e Nichols, 2013).

Neste estudo foi apresentado o registro de 21 espécies de répteis coletados na região Centro-Oeste Nordeste e Sudeste, distribuídos em 5 estados do Brasil, as áreas de coleta abrangeram áreas de transição entre Mata Atlântica, Cerrado e Pantanal. Foram coletados e identificados diversos helmintos pertencentes aos filos Nematoda e Platyhelminthes, compostos pelas classes Cestoda e Trematoda, e filo Acanthocephala, ao todo foram 63 táxons parasitos coletados em répteis.

O trabalho relata os órgãos infectados, a carga parasitária, assim como a diversidade de hospedeiros, parasitos e novas localizações para eles.

MATERIAIS E MÉTODOS

Área de estudo

O trabalho foi realizado com materiais procedentes de três regiões brasileiras. No Centro-Oeste a pesquisa se desenvolveu nos estados de Goiás, Mato Grosso do Sul e Mato Grosso, na região Sudeste no estado de São Paulo e no Nordeste foram cedidas amostras do estado de Piauí. As coordenadas geográficas estão apresentadas para os pontos de coleta (**Tabela 1**). Os mapas foram feitos com o uso do programa QGIS version 3.28.15.

No estado de São Paulo as coletas dos répteis foram realizadas no município de Boa Esperança do Sul em áreas próximas à Fazenda São Sebastião do Paraíso, onde foi montada a base do trabalho de coleta e laboratório a campo; no município de Gavião Peixoto no Sítio Santa Júlia e município de Araraquara no Sítio Carandá (**Figura 1**).

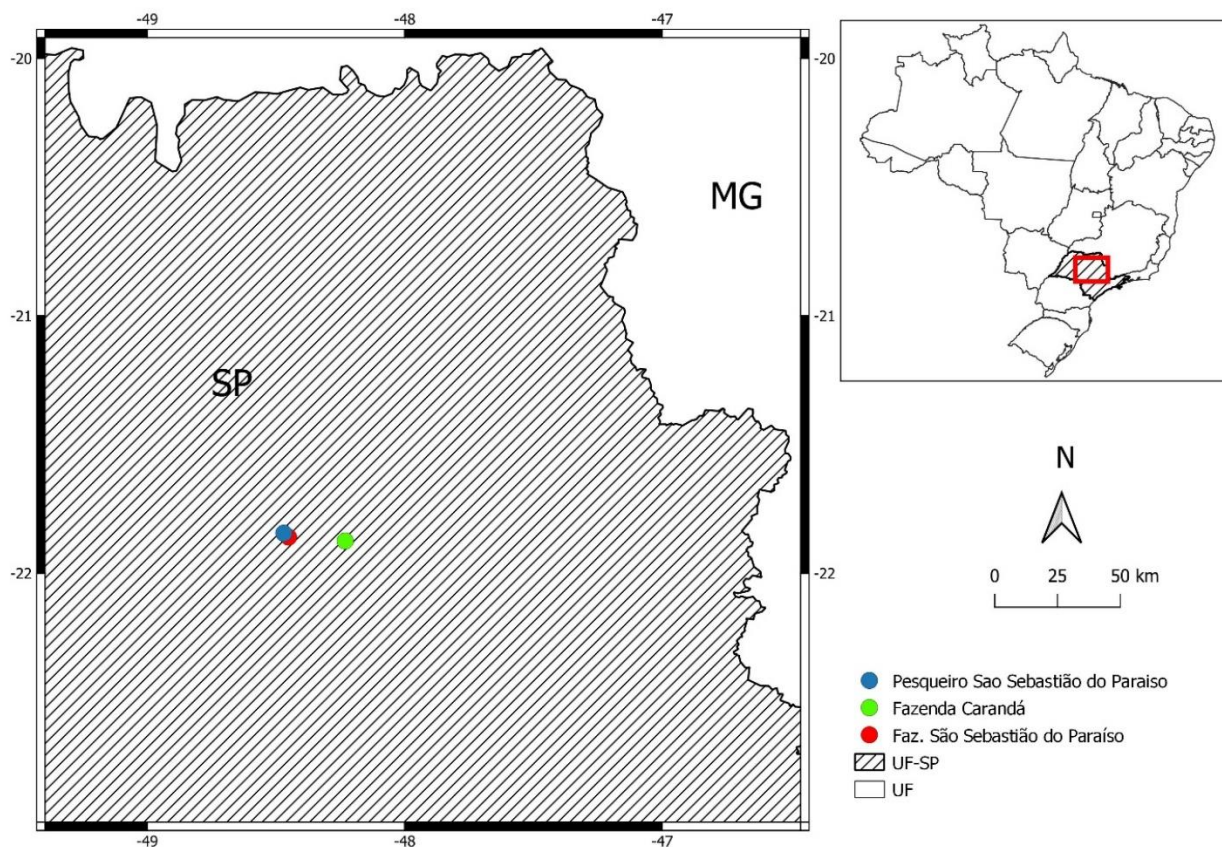


Figura 1 Localidades de coleta no estado de São Paulo.

No estado do Mato Grosso do Sul, as coletas foram realizadas na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Cisalpina, no município de Brasilândia, MS (Figura 2).

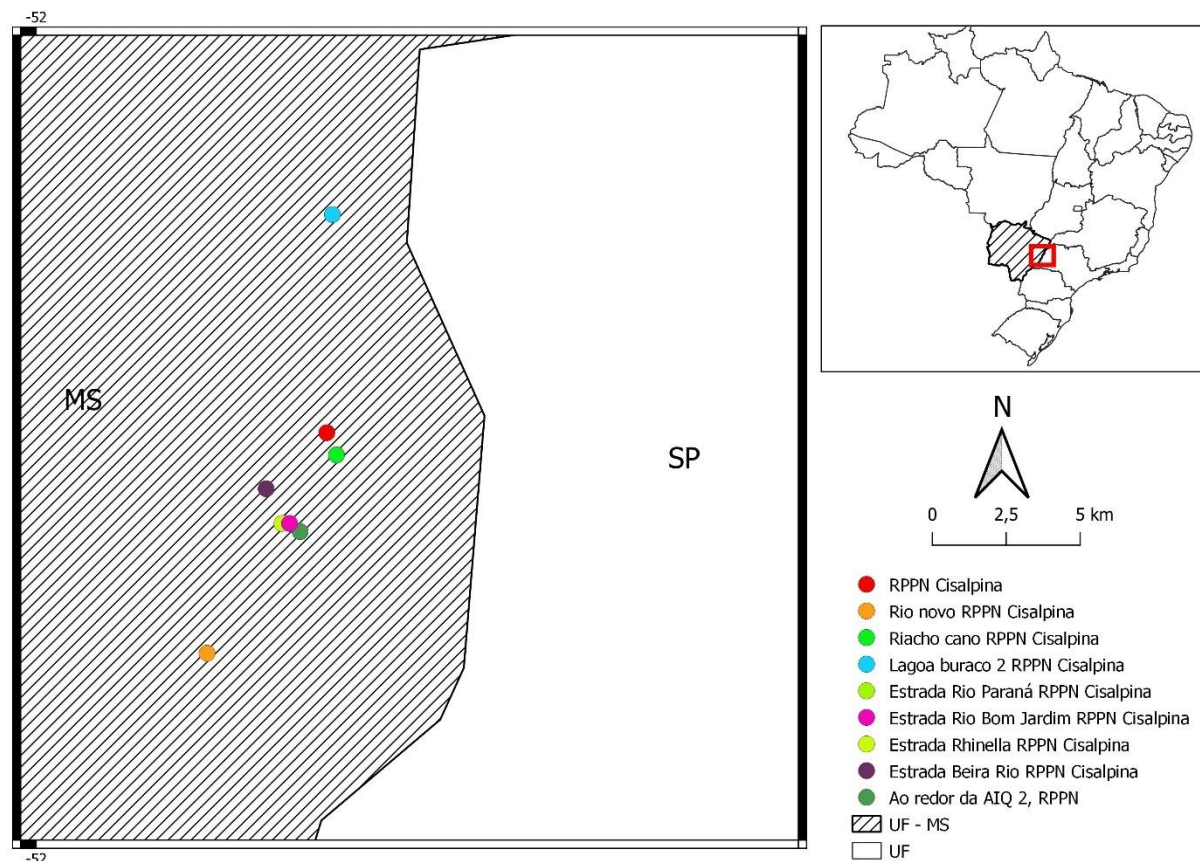


Figura 2 Reserva Particular do Patrimônio Natural RPPN – Cisalpina localizada no município de Brasilândia, Mato Grosso do Sul, Brasil.

No estado de Goiás, as coletas foram realizadas no município de Britânia e Itacaiu (**Figura 3**), para o estado do Mato Grosso, as coletas foram realizadas em áreas dos municípios de Araguaiana, Cocalinho, Barra do Garças e Nova (**Figura 4**).

Para o estado do Piauí as coletas foram feitas no município de Piracuruca no Parque Nacional de Sete Cidades (**Figura 5**).

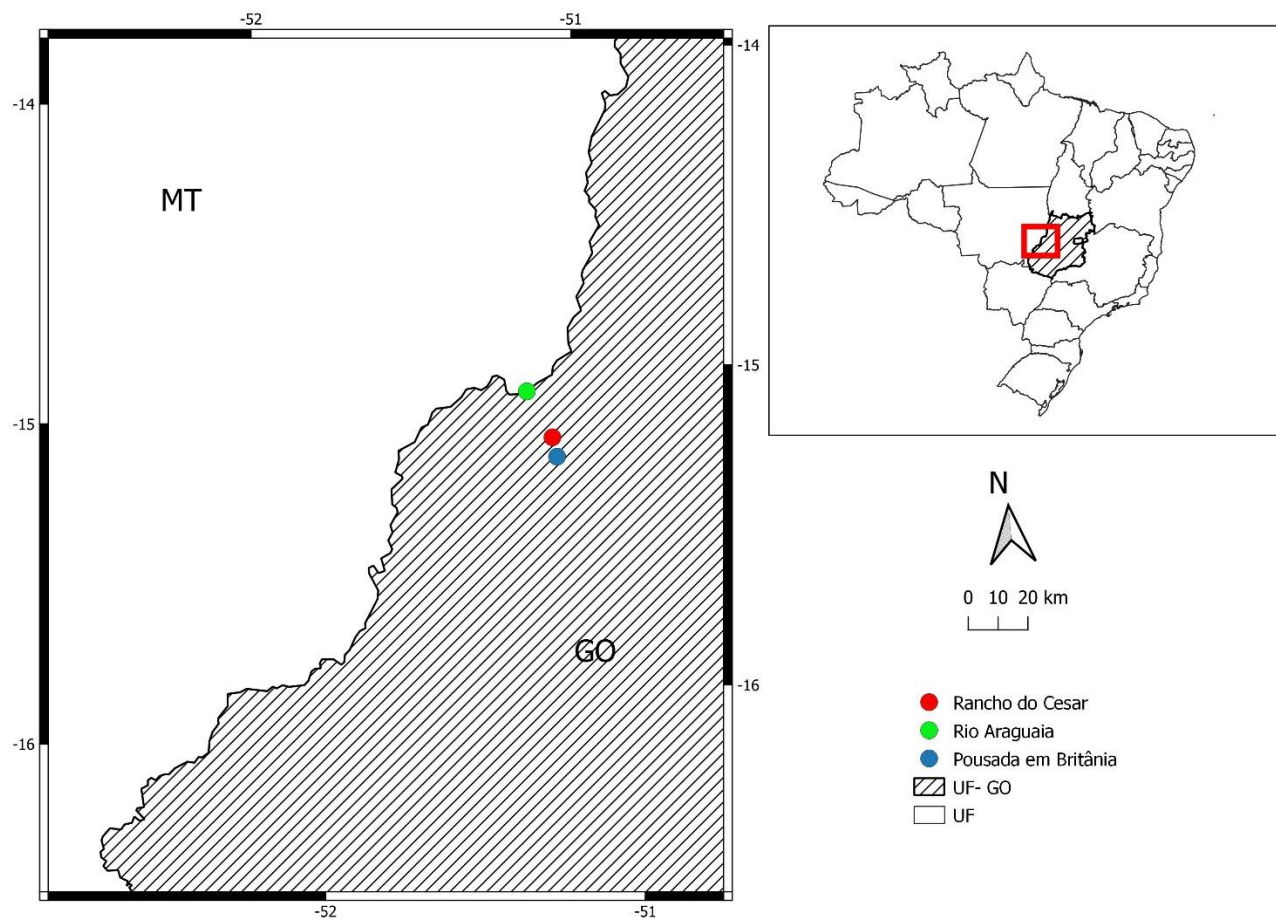


Figura 3 Localidades de coleta no estado de Goiás.

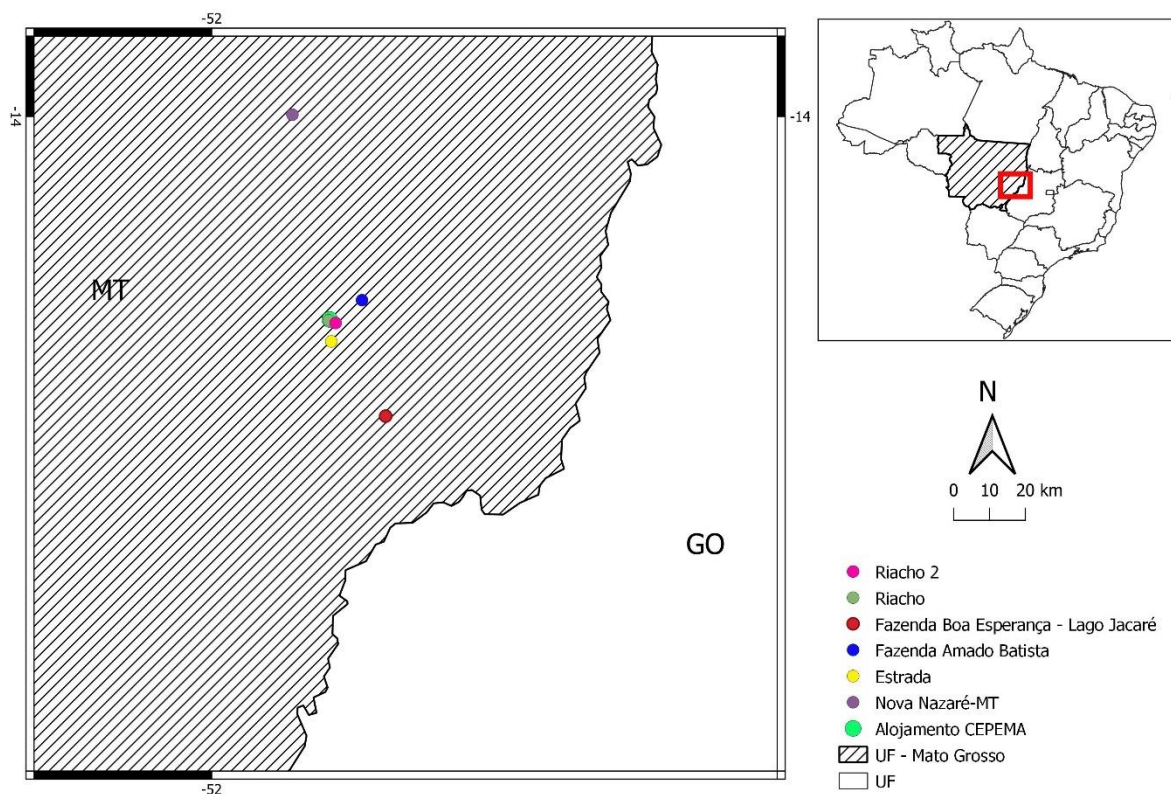


Figura 4 Localidades de coleta no estado do Mato Grosso.

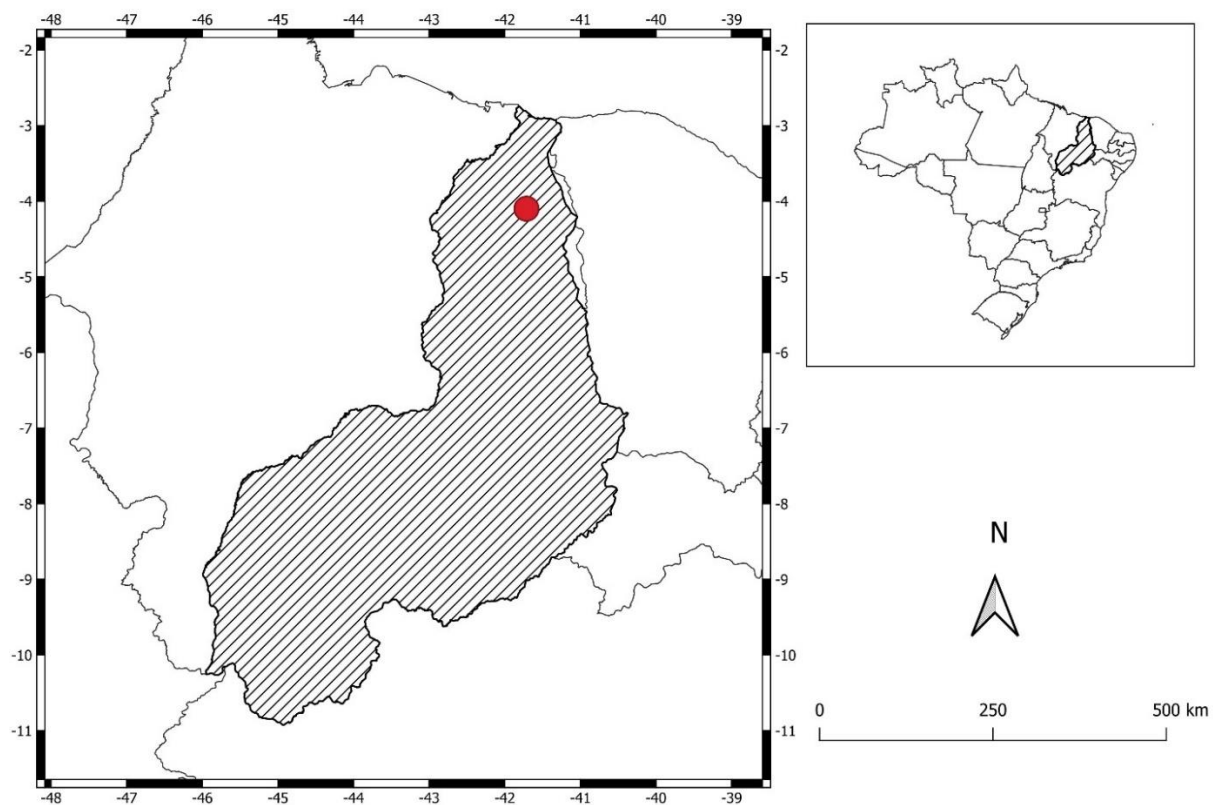


Figura 5 Localidade de coleta no estado do Piauí no Parque Nacional de Sete Cidades.

Tabela 1: Lista de Localidades amostradas com suas respectivas coordenadas geográficas. SP = São Paulo; MS = Mato Grosso do Sul; MT = Mato grosso; GO = Goiás; PI = Piauí.

Localidade	Município	Estado	Coordenadas
Faz. São Sebastião do Paraíso	Boa Esperança do Sul	SP	21°51'36.83"S, 48°27'3.56"O
Fazenda Carandá	Araraquara	SP	21°52'30.28"S, 48°13'50.78"O
Pesqueiro - Faz. São Sebastião do Paraíso	Gavião Peixoto	SP	21°50'41.83"S, 48°28'10.24"O
RPPN Cisalpina	Brasilândia	MS	21°15'34.36"S, 51°54'18.96"O
Riacho cano RPPN Cisalpina	Brasilândia	MS	21°16'0.49"S, 51°54'7.65"O
Lagoa buraco 2 RPPN Cisalpina	Brasilândia	MS	21°11'18.00"S, 51°54'12.40"O
Estrada rio Paraná RPPN Cisalpina	Brasilândia	MS	21°13'38.20"S, 51°52'37.10"O
Ao redor da AIQ 2, RPPN Cisalpina	Brasilândia	MS	21°17'30.60"S, 51°54'50.30"O
Estrada Rio Bom Jardim RPPN Cisalpina	Brasilândia	MS	21°17'20.98"S, 51°55'2.76"O
Estrada Rhinella RPPN Cisalpina	Brasilândia	MS	21°17'41.10"S, 51°55'11.60"O
Rio novo RPPN Cisalpina	Brasilândia	MS	21°19'53.47"S, 51°56'39.61"O
Estrada Beira Rio RPPN Cisalpina	Brasilândia	MS	21°16'40.23"S, 51°55'30.20"O
Alojamento CEPEMA	Cocalinho	MT	14°31'40.16"S, 51°41'34.07"O
Riacho 2	Araguaiana	MT	14°32'51.38"S, 51°40'47.96"O
Fazenda Boa Esperança - Lago Jacaré	Cocalinho	MT	14°46'44.82"S, 51°32'50.86"O
Riacho	Nova Xavantina	MT	14°31'48.03"S, 51°41'43.88"O
Faz. Amado Batista	Cocalinho	MT	14°28'39.27"S, 51°36'31.95"O
Estrada	Araguaiana	MT	14°35'5.29"S, 51°41'19.15"O
Pousada em Britânia	Britânia	GO	15°14'27.90"S, 51° 9'26.80"O
Rancho do Cesar	Britânia	GO	15°10'45.21"S, 51°10'0.12"O
Rio Araguaia	Itacaiú	GO	15° 1'43.88"S, 51°14'2.51"O
Parque Nacional de Sete Cidades	Piracuruca	PI	4° 5'54.15"S, 41°42'47.42"O

Coleta e processamento dos helmintos

Nas coletas a campo, os répteis hospedeiros foram capturados por busca ativa nos períodos diurno e noturno. Os lagartos foram avistados em transectos aleatórios e mortos utilizando duas carabinas de pressão CBC® Montenegro F22 B12-6 com calibre de 4,5 mm e outra com 5,5 mm (McDiarmid, 2012). Os demais exemplares foram coletados a mão ou utilizando armadilhas de pitfall (Cechin e Martins, 2000), distribuídas em diversos pontos amostrados a fim de coletar animais de diferentes ambientes. Os animais coletados a mão ou em pitfall eram acondicionados em sacos plásticos e mantidos nestes, até o momento da eutanásia, os que foram abatidos com carabina de pressão as necrópsias foram realizadas no mesmo momento. Para os Testudines aquáticos os animais foram pescados com anzol, os terrestres foram capturados a mão e acondicionados em caixas até a necropsia. Os crocodilianos foram contidos e capturados utilizando varas com laço, após a contenção são imobilizadas as bocas e membros e os animais acondicionados em local seguro (Jesus Filho *et al.*, 2021). As serpentes foram contidas usando gancho ou pinçao e após a captura foram armazenadas em caixa de contenção (Melgarejo-Giménez, 2002). Os hospedeiros foram eutanasiados com alta dosagem de tiopental sódico (Thiopentax®), a necropsia foi realizada com a incisão da cavidade abdominal, seguida de remoção e separação dos órgãos para que fosse feita triagem dos helmintos com o auxílio de um microscópio estereoscópico. Após a coleta dos órgãos, os animais foram fixados em formol 10%, armazenados em álcool 70% e depositados na Coleção Herpetologica da Universidade Regional do Cariri (URCA-H).

Os nematoides coletados nos órgãos dos hospedeiros durante a necrópsia foram posteriormente lavados em solução fisiológica de cloreto de sódio 0,9% e fixados em solução aquecida a 70 °C de AFA (álcool-formol-ácido acético) (Andrade, 2000) e, então, preservados em álcool 70%.

Para os cestoides e trematódeos a fixação se deu por leve compressão entre lamínulas e lâminas em AFA por 10 min para posterior preservação em álcool 70%. Alguns platelmintos foram fixados sem a utilização de compressão em solução aquecida

(70 °C) de AFA. Os acantocéfalos após realizada a triagem dos órgãos, permaneceram em água até a eversão total da probóscide e preservados em álcool 70%.

A coleta dos répteis foi autorizada pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) e Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) #60640-1. Os procedimentos seguiram os princípios éticos de pesquisa em animais aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto de Biociências, Unesp, Campus de Botucatu (CEUA #1061).

Para a identificação taxonômica os nematoides foram clarificados com lactofenol de Aman (Amato e Amato, 2010) em lâminas temporárias. Os platelmintos e acantocéfalos foram corados em carmim, desidratados em série alcoólica e diafanizados com eugenol em lâminas temporárias (Amato e Amato, 2010).

Os helmintos foram então analisados em sistema computadorizado de análise de imagens (Leica Application Suite - LAS V3.8), associado ao microscópio Leica DM 5000 B com sistema de contraste por interferência diferencial (DIC).

RESULTADOS

Os dados da biodiversidade de helmintos de répteis encontrados em cinco localidades no Brasil pertencentes aos estados de São Paulo, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Piauí são demonstradas nesse trabalho associado a informações relacionadas ao total de espécimes coletadas, número hospedeiros de parasitados e quantidade de helmintos coletados.

Foram analisadas amostras coletadas em hospedeiros pertencentes a 21 espécies, distribuídos em um total de 134 espécimes capturados e, destas, 93 espécimes foram positivos para a presença de helmintos totalizando 69% da amostragem. Uma grande quantidade de helmintos foi coletada em todos os hospedeiros estudados. O número exato não pode ser aproximado pois devido a características de ciclo evolutivo de alguns parasitos dos integrantes de Testudines a quantidade de helmintos encontrada nos hospedeiros é muito alta e impossível de ser quantificada.

Em relação aos parasitos é dada a identificação a nível de gênero e espécie a qual eles pertencem, sítio de infecção e estágio evolutivo onde foram encontrados adultos, larvas e cistos (**Tabela 2**). Quatro grupos distintos pertencentes aos helmintos foram identificados, são eles: Acanthocephala, Nematoda, Trematoda e Cestoda

Tabela 2. Dados dos hospedeiros com seus respectivos parasitos. NE= Número de Hospedeiro Encontrado; NP= Número de Hospedeiro parasitado; NHC= Número de helmintos coletados; SI= Sitio de infecção; CAV= Cavidade; EST= Estômago; ID= Intestino Delgado, IG= Intestino Grosso; PUL= Pulmão; VB= Vesícula Biliar; GO= Goiás; MT= Mato Grosso; MS= Mato Grosso do Sul; PI- Piauí; SP= São Paulo.

Hospedeiro	NE	NP	NHC	Helminto	Grupo	Estágio	SI	Localidade
Squamata, Lacertilia								
<i>Ameiva ameiva</i>	3	3	1	filarídeo fêmea	Nematoda	Adulto	IG	MS
<i>Anolis meridionalis</i>	1	1	2	Possível larva filarídeo	Nematoda	Larva	EST	MS
			14	<i>Physaloptera</i> sp.	Nematoda	Larva	EST	MS
			1	<i>Spiroxys</i> sp.	Nematoda	Larva/Cisto	EST	MS
			1	<i>Cosmocercidae</i> fêmea	Nematoda	Adulto	IG	PI
<i>Tropidurus hispidus</i>	14	14	8	<i>Parapharyngodon alvarengai</i>	Nematoda	Adulto	IG	PI
			13	<i>Physaloptera lutzi</i>	Nematoda	Adulto	EST	PI
			21	<i>Physaloptera</i> sp.	Nematoda	Adulto	EST, ID, IG	PI
			6	<i>Rhabdias</i> sp.	Nematoda	Adulto	PUL	PI
			43	<i>Strongyluris</i> sp.	Nematoda	Adulto	ID, IG	PI
<i>Tropidurus oreadicus</i>	58	30	1	<i>Brevimulticaecum</i> sp.	Nematoda	Larva/Cisto	CAV	MS
			6	<i>Parapharyngodon</i> cf. <i>senisfaciecaudus</i>	Nematoda	Adulto	IG	MS; MT
			11	<i>Parapharyngodon</i> sp.	Nematoda	Adulto	IG	MT
			10	<i>Parapharyngodon</i> sp.	Nematoda	Larvas	ID; IG	MS
			4	<i>Physaloptera</i> cf. <i>retusa</i>	Nematoda	Adulto	EST	MT
			6	<i>Physaloptera</i> sp.	Nematoda	Larva	EST, ID	MS; MT
			1	<i>Physalopteroides</i> sp.	Nematoda	Adulto	EST	MT
			1	Larva rabditoide	Nematoda	Larva	IG	MT
			2	<i>Strongyluris oscar</i>	Nematoda	Adulto	IG	MT
			4	Filarídeo	Nematoda	Larva	CAV	MS
<i>Hemidactylus mabouia</i>	13	6	10	Centrorhynchidae	Acanthocephala	Larva	CAV	MS
			8	<i>Parapharyngodon</i> sp.	Nematoda	Adulto	IG	MS; GO

			16	<i>Physaloptera</i> sp.	Nematoda	Larva	EST; IG	MS
			1	<i>Spiroxys</i> sp.	Nematoda	Larva	Mesentério	MS
Squamata, Serpentes								
<i>Bothrops moojeni</i>	12	9	30	<i>Infidum infidum</i>	Trematoda	Adulto	VB	SP
			2	<i>Piratuba</i> sp.	Nematoda	Adulto	CAV	SP
			2	<i>Physaloptera</i> sp.	Nematoda	Larva	EST	MS
			458	<i>Renifer heterocoelium</i>	Trematoda	Adulto	Boca/Esôfago	SP
			38	<i>Travtrema stenocotyle</i>	Trematoda	Adulto	IG	MS
<i>Chironius</i> sp.	1	1	1	<i>Cosmocercidae</i> fêmea	Nematoda	Adulto	IG	MT
			3	<i>Oswaldocruzia</i> sp.	Nematoda	Adulto	IG	MT
			19	Cistacanto de <i>Oligacanthorhynchidae</i>	Acanthocephala	Larva	CAV	MT
<i>Crotalus durissus</i>	1	1	10	Cistacanto de <i>Oligacanthorhynchidae</i>	Acanthocephala	Larva	IG/Serosa	MT
<i>Erythrolamprus poecilogyrus</i>	3	3	1	<i>Cosmocercidae</i> fêmea	Nematoda	Adulto	ID	MS
			1	<i>Infidum infidum</i>	Trematoda	Adulto	VB	MS
			4	<i>Infidum similis</i>	Trematoda	Adulto	Canal VB	MS
			1	<i>Kalicephalus</i> sp.	Nematoda	Jovem	EST	MS
			1	<i>Physaloptera</i> sp.	Nematoda	Jovem	ID	MS
<i>Helicops angulatus</i>	1	1	1	<i>Infidum similis</i>	Trematoda	Adulto	VB	GO
			12	<i>Brevimulticaecum</i> sp.	Nematoda	Larva	EST	GO
<i>Helicops infrataeniatus</i>	5	3	Vários	<i>Brevimulticaecum</i> sp.	Nematoda	Larva/Cisto	EST	MS
<i>Leptodeira annulata</i>	3	3	1	<i>Physaloptera</i> sp.	Nematoda	Larva	EST	GO
<i>Oxyrhopus rhombifer</i>	2	1	3	<i>Kalicephalus costatus</i>	Nematoda	Adulto	ID	MT
			Vários	Cistacanto	Acanthocephala	Jovem	CAV	MT
<i>Oxyrhopus trigeminus</i>	1	1	18	Cistacanto de <i>Echinorhynchidae</i>	Acanthocephala	Jovem	CAV	MT
<i>Pseudoboa nigra</i>	5	5	3	Cistacanto de <i>Echinorhynchidae</i>	Acanthocephala	Jovem	CAV	MT
			1	<i>Infidum infidum</i>	Trematoda	Adulto	VB	MS
			9	<i>Physalopteroides venancioi</i>	Nematoda	Adulto	ESO/EST	MS
			5	<i>Physalopteroides</i> sp. fêmea	Nematoda	Adulto	EST	MS
<i>Xenodon matogrossensis</i>	1	1	2	Larva plerocercóide	Cestoda	Adulto	CAV	MT

Crocodylia <i>Caiman crocodilus</i>	4	4	19	Cosmocercoidea	Nematoda	Adulto	EST; ID	MT
			23	<i>Toxocara</i> cf. <i>mystax</i>	Nematoda	Adulto	ID	MT
			33	Onchocercidae	Nematoda	Adulto	CAV	MT
			107	<i>Brevimulticaecum</i> cf. <i>baylisi</i>	Nematoda	Adulto	EST	MT
			36	<i>Brevimulticaecum</i> sp.	Nematoda	Adulto	EST	MT
			30	<i>Contracaecum</i> sp.	Nematoda	Adulto	EST	MT
			5	Nematoda	Nematoda	Larva	CAV; IG	MT
			34	<i>Polyacanthorhynchus</i> <i>rhopalorhynchus</i>	Acanthocephala	Adulto	ID	MT
			1	<i>Herpetodiplostomum caimancula</i>	Trematoda	Adulto	ID	MT
			1	<i>Pachypsolus sclerops</i>	Trematoda	Adulto	IG	MT
			11	<i>Paradiplostomum abbreviatum</i>	Trematoda	Adulto	ID	MT
			52	<i>Proterodiplostomum breve</i>	Trematoda	Adulto	ID	MT
			26	<i>Proterodiplostomum globulare</i>	Trematoda	Adulto	ID	MT
			19	<i>Proterodiplostomum medusae</i>	Trematoda	Adulto	ID	MT
			12	<i>Proterodiplostomum</i> sp.	Trematoda	Adulto	ID	MT
			2	Digenético não identificado	Trematoda	Jovem	ID	MT
Testudines								
<i>Chelonoidis carbonarius</i>	1	1	2	<i>Chapiniella diazi</i>	Nematoda	Adulto	IG	MT
<i>Phrynops geoffroanus</i>	2	2	9	<i>Serpinema monospiculatus</i>	Nematoda	Adulto	EST	SP; GO
			6	<i>Spiroxys</i> sp.	Nematoda	Adulto	EST	GO
			1			Larva		
				Filarídeo	Nematoda	encistada	CAV; PUL	SP
			3	Nematoda	Nematoda	Larva	CAV	GO
<i>Podocnemis expansa</i>	2	2	26	<i>Cheloniodiplostomum testudinis</i>	Trematoda	Adulto	ID	GO; SP
			2	<i>Nematophila grandis</i>	Trematoda	Adulto	IG	GO
			183	<i>Nematophila</i> sp.	Trematoda	Adulto	EST	GO

<i>Podocnemis unifilis</i>	1	1	Vários	Cisticercoide	Cestoda	Larva	ID	GO
			8	<i>Nematophila</i> sp.	Trematoda	Adulto	EST; IG	GO
			1	<i>Ancyracanthus</i> sp. fêmea	Nematoda	Adulto	ID	GO
			Vários	<i>Orientatractis</i> sp. 1	Nematoda	Adulto	EST; ID	GO
			2	<i>Orientatractis</i> sp. 2	Nematoda	Adulto	EST	GO
			1	<i>Orientatractis</i> sp. 3	Nematoda	Adulto	EST	GO
			Vários	<i>Paratractis hystrix</i>	Nematoda	Adulto	EST; ID	GO
			Vários	<i>Paraorientatractis semiannulata</i>	Nematoda	Adulto	EST; ID	GO
			1	<i>Serpinema cayennensis</i>	Nematoda	Adulto	ID	GO

HELMINTOS DE SQUAMATA, LACERTILIA

Reino Animalia

Filo Nematoda

Classe Chromadorea

Ordem Rhabdida

Família Pharyngodonidae Travassos, 1919

Parapharyngodon spp. Freitas, 1957

(Figura 6)

Boca com três lábios. Cutícula com estriações transversais. Sem cavidade bucal. Esôfago com bulbo posterior. Presença ou não de asa lateral. Machos com cauda abruptamente comprimida ao nível do orifício genital e dirigida dorsalmente. Um par de papila pré-anal, um par ad-anal, um par pós-anal, uma papila ímpar na região da cloaca e um par na cauda. Espículo com ponta afiada. Fêmeas com cauda terminando em uma abrupta constrição após o ânus.

Para o estado do Piauí um exemplar de *Tropidurus hispidus* (Spix, 1825) foi encontrado parasitado por oito indivíduos de *Parapharyngodon alvarengai* Freitas, 1957 no intestino grosso. No município de Brasilândia, Mato Grosso do Sul, um exemplar de *Hemidactylus mabouia* (Moreau de Jonnés, 1818) estava parasitado com 1 fêmea de *Parapharyngodon* sp. no intestino grosso; 9 indivíduos de *Tropidurus oreadicus* Rodrigues, 1987 estavam parasitados ao todo com 22 *Parapharyngodon* sp. situados no intestino delgado e intestino grosso e um indivíduo de *T. oreadicus* foi encontrado parasitado por 2 *Parapharyngodon* cf. *senisfaciecaudus* Freitas, 1957 no intestino grosso. Em Britânia, Goiás, um exemplar de *H. mabouia* estava parasitado por 3 *Parapharyngodon* sp. no intestino grosso. No município de Cocalinho, Goiás um indivíduo de *Tropidurus oreadicus* estava parasitado com 4 *Parapharyngodon* cf. *senisfaciecaudus* no intestino grosso; um indivíduo com 3 fêmeas de *Parapharyngodon* sp. no intestino grosso e outro hospedeiro da mesma espécie foi encontrado 1 *Parapharyngodon* cf. *alvarengai* no intestino grosso.

Parapharyngodon spp. são conhecidas por parasitarem uma grande variedade de répteis (Castilho e Acosta, 2022) dentre esses a subordem Lacertilia são os mais frequentes parasitados (Velarde-Aguilar *et al.*, 2015). Já os anfíbios são seus hospedeiros em menor

número. Globalmente distribuídas (Filho *et al.*, 2015), possui 55 espécies válidas em todo o mundo, 11 são registradas para a região Neotropical sendo 10 são registradas no Brasil (Ferreira *et al.*, 2021; Santos *et al.*, 2022)

As espécies se caracterizam pela morfologia do lábio cloacal anterior, localização do ovário, número de papilas cloacais e formato dos ovos (Anderson *et al.* 2009). Velarde-Aguilar *et al.* (2015) recomendam que se observe a morfometria do comprimento da asa lateral como uma importante componente taxonômico para o grupo. Em relação ao ciclo biológico, segundo Anderson (2000), membros pertencentes aos faringonídeos no qual *P. alvarengai* faz parte, apresentam ciclo monóxeno, isso sugere que *Parapharyngodon* spp. possam apresentar esse ciclo.

O gênero *Thelandros* Wedl, 1862 possui espécies com características morfológicas muito parecidas com *Parapharyngodon* spp. colocando a validade dessa última sobre questão, sendo sinonimizada diversas vezes e foi aceita como subgênero até por fim se concretizar como gênero. A característica mais importante que separam os dois se dá pela morfologia dos ovos (Bursey *et al.*, 2013), demais caracteres já foram usados para separar ambas as espécies do gênero presentes na cauda do macho, no entanto Pereira *et al.* (2018) demonstrou por meio de análises morfológicas e moleculares que essa estrutura representa uma convergência evolutiva e a análise mais intrínseca para diferenciá-los se dá pelos ovos. As espécies de *Parapharyngodon* apresentam os ovos com opérculo subterminal e estágios iniciais de clivagem quando depositados, enquanto em *Thelandros* spp. o opérculo é terminal e estão embrionados quando eliminados da fêmea (Velarde-Aguilar *et al.*, 2015).

Santos *et al.* (2022) sugere que a adaptação ambiental é um evento importante para a diferenciação das espécies do gênero na região amazônica, ao descrever *Parapharyngodon curupira* Santos, Jesus, Macedo, Santos & Vasconcelos Melo, 2022 em *Osteocephalus taurinus* Steindachner, 1862, um hospedeiro que sua população pode ter sido separada há muito tempo durante o surgimento do Rio Amazonas, as condições ambientais interferem nos hospedeiros e nos parasitos devido a adaptação no ambiente e por consequência a diferenciação dos nematoides. A especificidade dos nematoides parasitas de répteis é geralmente baixa e sua distribuição geográfica é de maior importância no processo de especiação (Pereira *et al.*, 2017a).

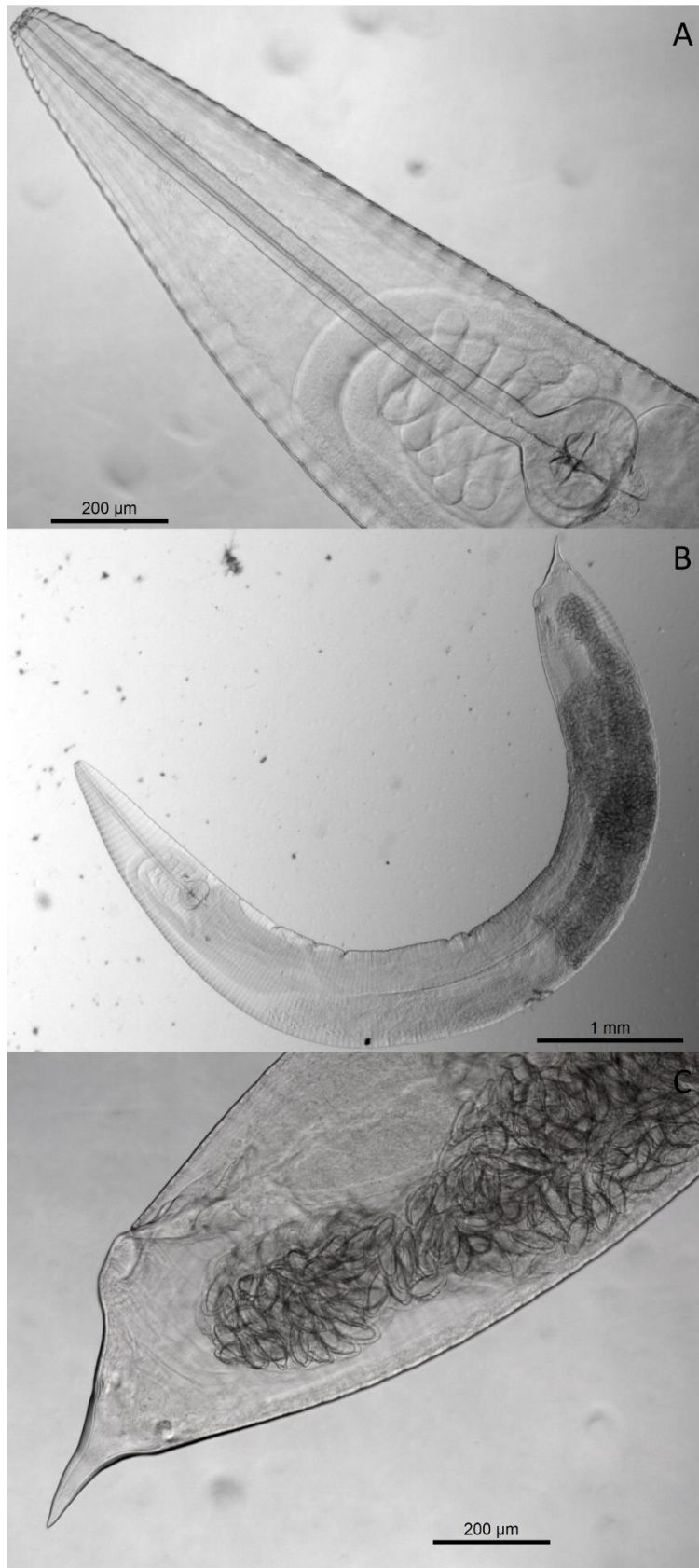


Figura 6 *Parapharyngodon* sp. de intestino grosso de *Hemidactylus mabouia*. A= região anterior; B= corpo inteiro de uma fêmea; C= região posterior da fêmea.

Reino Animalia
Filo Nematoda
Classe Chromadorea
Ordem Rhabdida
Família Physalopteridae Leiper, 1908
Physaloptera cf. *retusa* (Rudolphi, 1819)
(Figura 7)

Dois grandes pseudolábios laterais triangulares. Colarete cefálico. Esôfago dividido em duas partes, uma parte anterior muscular e uma parte posterior glandular. Machos com largas asas caudais com papilas sésseis.

Foram coletados quatro espécimes de *Physaloptera* cf. *retusa* no estômago de *Tropidurus oreadicus* no município de Cocalinho no estado do Mato Grosso, uma larva de *Physaloptera* sp. foi coletada em outro indivíduo de *T. oreadicus* na mesma localidade.

Para o município de Brasilândia, Mato Grosso do Sul um exemplar de *Hemidactylus mabouia* estava parasitado com 14 larvas de *Physaloptera* sp. no estômago e duas larvas no intestino grosso, um exemplar de *Anolis meridionalis* Boettger, 1885 estava parasitado com 14 larvas de *Physaloptera* sp. no estômago. Um indivíduo de *T. oreadicus* estava parasitado com uma larva *Physaloptera* sp. no estômago e outra no intestino delgado, em outro hospedeiro da mesma espécie foi encontrada uma fêmea de *Physaloptera* sp. no intestino delgado. Em uma serpente capturada pertencente a espécie *Bothrops moojeni* Hoge, 1966 foram encontradas em seu estômago após a necropsia duas larvas de *Physaloptera* sp.

No município de Britânia, Goiás um exemplar de *Leptodeira annulata* (Linnaeus, 1758) estava parasitada com uma larva de *Physaloptera* sp. no estômago.

No estado do Piauí foram coletados 3 indivíduos de *Tropidurus hispidus*, parasitados ao todo por 13 nematoides pertencentes a espécie *Physaloptera lutzi* Cristofaro, Guimarães & Rodrigues, 1976 coletados no estômago, outros nove espécimes *T. hispidus* estavam parasitados com 26 espécimes de *Physaloptera* sp. incluindo adultos e larvas localizados no estômago, intestino delgado e celoma.

O gênero *Physaloptera* Rudolphi, 1819 inclui 104 espécies em todo o mundo incluindo espécies válidas e species inquirenda, parasitando o estômago de anfíbios, répteis, aves e mamíferos (Pereira *et al.* 2012; Pereira *et al.* 2014), para a região Neotropical possui em torno

de 30 espécies e destes, 7 espécies são descritas parasitando répteis no Brasil, são eles: *Physaloptera baina* Pereira, Alves, Rocha, Lima & Luque, 2014; *Physaloptera bonnei* Ortlepp, 1922; *Physaloptera liophis* Vicente e Santos, 1974; *Physaloptera lutzi* Cristófar, Guimarães e Rodrigues, 1976; *Physaloptera monodens* Molin, 1860; *Physaloptera obtusissima* Molin, 1860; *Physaloptera retusa* Rudolphi, 1819 e *Physaloptera tupinambae* Pereira, Alves, Rocha, Souza Lima and Luque, 2012 (Pereira *et al.* 2014; Macedo *et al.*, 2023).

Physaloptera retusa é a mais comum do gênero, sendo relatadas em várias espécies de répteis hospedeiros e distribuídas em diversos países na região Neotropical (Ávila e Silva, 2010; Ávila *et al.*, 2011; Ávila e Silva, 2013).

No seu ciclo de vida os ovos eliminados pelo hospedeiro definitivo se desenvolvem em larvas infectantes que podem ser ingeridas por um besouro coprófago, grilo e dentre outros insetos, o ciclo se fecha quando gatos e outros mamíferos além de répteis, anfíbios e aves ingerem o hospedeiro intermediário infectado (Quadros *et al.*, 2014; Taylor *et al.*, 2017).

O gênero se caracteriza pela presença de um colar cefálico na região anterior, por pseudolábios laterais com dentes (González-Rivas *et al.*, 2022). A sua identificação a nível de espécie é baseada na morfologia da asa caudal do macho, ornamentada com papilas pedunculadas e sésseis e do tamanho dos espículos (Vicente *et al.*, 1993). As fêmeas pertencentes as espécies de *Physaloptera* possuem uma grande variação em número dos ramos uterinos, compreendendo de dois a quatro ramos, essa característica contribui para a sua identificação, especificamente as espécies da região neotropical que parasitam répteis apresentam dois ramos uterinos (Macedo *et al.*, 2023).



Figura 7 *Physaloptera* sp. coletados em três répteis hospedeiros. A= região anterior de uma larva de coletada no estômago de *Pseudoboa nigra*; B= Cauda de um macho de *Physaloptera lutzi* coletado em *Tropidurus hispidus*; C= Larva de *Physaloptera* sp. de estômago de *Leptodeira annulata*.

Reino Animalia
Filo Nematoda
Classe Chromadorea
Ordem Rhabdida
Família Heterakidae Railliet & Henry, 1912
Strongyluris oscar Travassos, 1923
(Figura 8)

Corpo esbranquiçado, alongado, afinado na região anterior dos machos e anterior e posterior nas fêmeas. Cutícula espessa com nítidas estriações transversais ao longo do corpo e presente uma constrição na base da extremidade cefálica. Três lábios bem desenvolvidos. Asa lateral ausente. Esôfago muscular subdividido em faringe anterior, seguido de uma valva muscular fracamente estriada, longo e estreito corpus e posterior bulbo em formato piriforme com valva muscular. Anel nervoso circundando o esôfago próximo a região anterior. Poro excretor evidente suportado por pequenas camadas musculares, se exteriorizando próximo ao terço posterior do esôfago não atingindo a região do bulbo.

Dois parasitos pertencentes a espécie *S. oscar* foram encontrados no intestino grosso, de um exemplar de *T. oreadicus* coletado no município de Cocalinho, Mato Grosso. Em Brasilândia, Mato Grosso do Sul quatro exemplares de *T. hispidus* estavam parasitados ao todo com 43 *S. oscar* nos intestinos.

Strongyluris spp. possuem uma ampla distribuição geográfica e diversidade de hospedeiros, são relatados parasitando o estômago e intestino de lagartos, distribuídos no Brasil, Argentina, Paraguai, Equador, Peru e Bolívia. Ao todo, são reconhecidas 31 espécies sendo que cinco espécies ocorrem na região Neotropical: *S. acaudata* Caballero, 1941, *Strongyluris panamensis* Bursey, Goldberg et Telford Jr., 2003 e *Strongyluris similis* Caballero, 1934 e apenas duas são reportadas no Brasil *S. oscar* e *Strongyluris amazonicus* Santos, Melo, Nazaré, Furtado & Giese, 2013, sendo que esta última, devido a grandes similaridades morfológicas, morfométricas, geográficas e de hospedeiros suspeita-se que seja sinônima de *S. oscar* (Ávila e Silva, 2010; Pereira *et al.*, 2017b). Pereira *et al.* (2017b), ao analisarem espécimes de coleção notaram que *S. oscar* é específico para os hospedeiros pertencentes à família Tropiduridae.

Pereira *et al.* (2017b) demonstraram que *S. oscar* possui uma grande variedade morfológica principalmente em relação ao comprimento do corpo, no entanto as estruturas morfológicas não sofreram variações intraespecífica. Espécies desse gênero possuem baixa especificidade parasita-hospedeiro a nível de espécie e uma ampla distribuição geográfica, o que justifica a variação biométrica, que pode acontecer devido diversos fatores tais como: quantidade de carga parasitária, características do hospedeiro, atributos ambientais e interação gene-ambiente.

A principal característica para a diagnose de *Strongyluris* é o número e arranjo de suas papilas caudais, no entanto essas estruturas são bastante similares e sua identificação deve-se muito a visão pessoal dos taxonomistas, algumas estruturas já foram relatadas como papilas em trabalhos anteriores, que após o uso da microscopia eletrônica de varredura mostrou-se ser um sulco cuticular, evidenciando a importância do uso dessa técnica para classificação do grupo (Pereira *et al.*, 2017b).

HELMINTOS DE SQUAMATA, SERPENTES

Reino Animalia

Filo Nematoda

Classe Chromadorea

Ordem Rhabditida

Família Onchocercidae Leiper, 1911

Piratuba sp. Lent & Freitas, 1941

(Figura 9)

Corpo com cutícula estriada longitudinalmente, boca simples, cápsula bucal rudimentar, esôfago dividido em duas partes (anterior muscular e posterior glandular), fêmeas anfidelfas, vulva situada no meio do corpo com ovejetor longo, cauda digitiforme tanto nos machos quanto nas fêmeas, vivíparas, macho com uma papila, ausência de gubernáculo e espículos iguais não filiformes.

Dois exemplares de nematoides do gênero *Piratuba* pertencentes à família Onchocercidae foram encontrados na cavidade de uma serpente da família Viperidae, *Bothrops moojeni* coletada no município de Boa Esperança do Sul, São Paulo.

As espécies de *Piratuba* foram descritas parasitando os seguintes hospedeiros: *Ameiva ameiva* Linnaeus, 1758, *Anolis punctatus* Daudin, 1802, *Gymnodactylus geckoides* Spix, 1825, *Kentropyx calcarata* Spix, 1825, *Plica umbra* Linnaeus, 1758, *Polychrus marmoratus* Linnaeus, 1758, *Tropidurus guarani* Alvarez, Cei & Scolaro, 1994, *Tropidurus torquatus* (Wied-Neuwied, 1820) (Ávila e Silva, 2010; Lima *et al.*, 2017). Todos os hospedeiros relatados são lagartos, portanto este é o primeiro registro de parasitismo para as espécies do gênero *Piratuba* infectando serpentes.

As espécies do gênero *Piratuba* foram descritas na literatura parasitando hospedeiros distribuídos entre a América Central e Sul. Quatro espécies do gênero *Piratuba* são conhecidas na América do Sul, que incluem: *P. digiticauda*, *Piratuba lainsoni* Bain, 1974, *Piratuba scaffi* Bain, 1974 e *Piratuba shawi* Bain, 1974 (Vicente *et al.*, 1993; Bursey *et al.*, 2005).

As espécies desse gênero são identificadas com mais facilidade quando estudadas no estágio das microfilárias, no entanto em indivíduos adultos, os padrões da papila caudal e comprimento do espículo são caracteres de importância para separá-las (Bain, 1974; Bursey *et al.*, 2005).

Seu ciclo de vida é heteroxeno, uma característica dos indivíduos pertencentes a Onchocercida e a outros nematoides, que usam artrópodes como hospedeiros intermediários que liberam juvenis de terceiro estágio na pele dos hospedeiros definitivos quando estes estão se alimentando (Anderson, 2000).

A espécie de estudo se assemelha a *P. shawi* por coincidir com a morfometria do tamanho do espículo (Bain, 1974), no entanto foi visualizado apenas uma papila grande próxima a cloaca, não há na literatura espécies desse gênero com apenas uma papila, são descritas espécies de *Piratuba* com papilas mais numerosas, tal como *P. digiticauda* que possui quatro papilas caudais terminais, *P. shawi* apresenta mais de 20 papilas caudais terminais (Bursey *et al.*, 2007), portanto, a análise morfológica realizada, na qual não apresenta características análogas as espécies já descritas, sugere que este pode ser um registro de uma nova espécie.

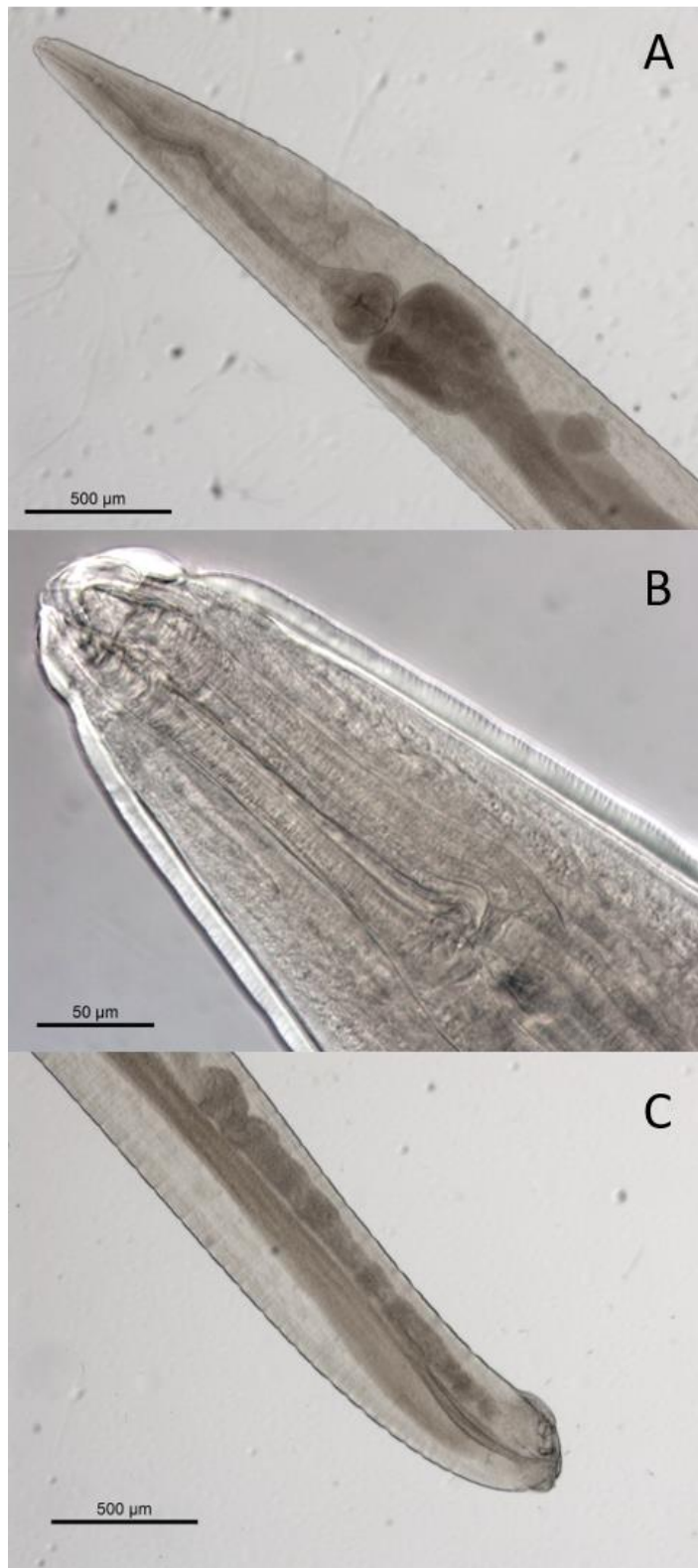


Figura 8 *Strongyluris oscaris* de intestino grosso de *Tropidurus oreadicus*. A= região anterior; B= região anterior, evidenciando lábios e esôfago muscular; C= Região posterior do macho.

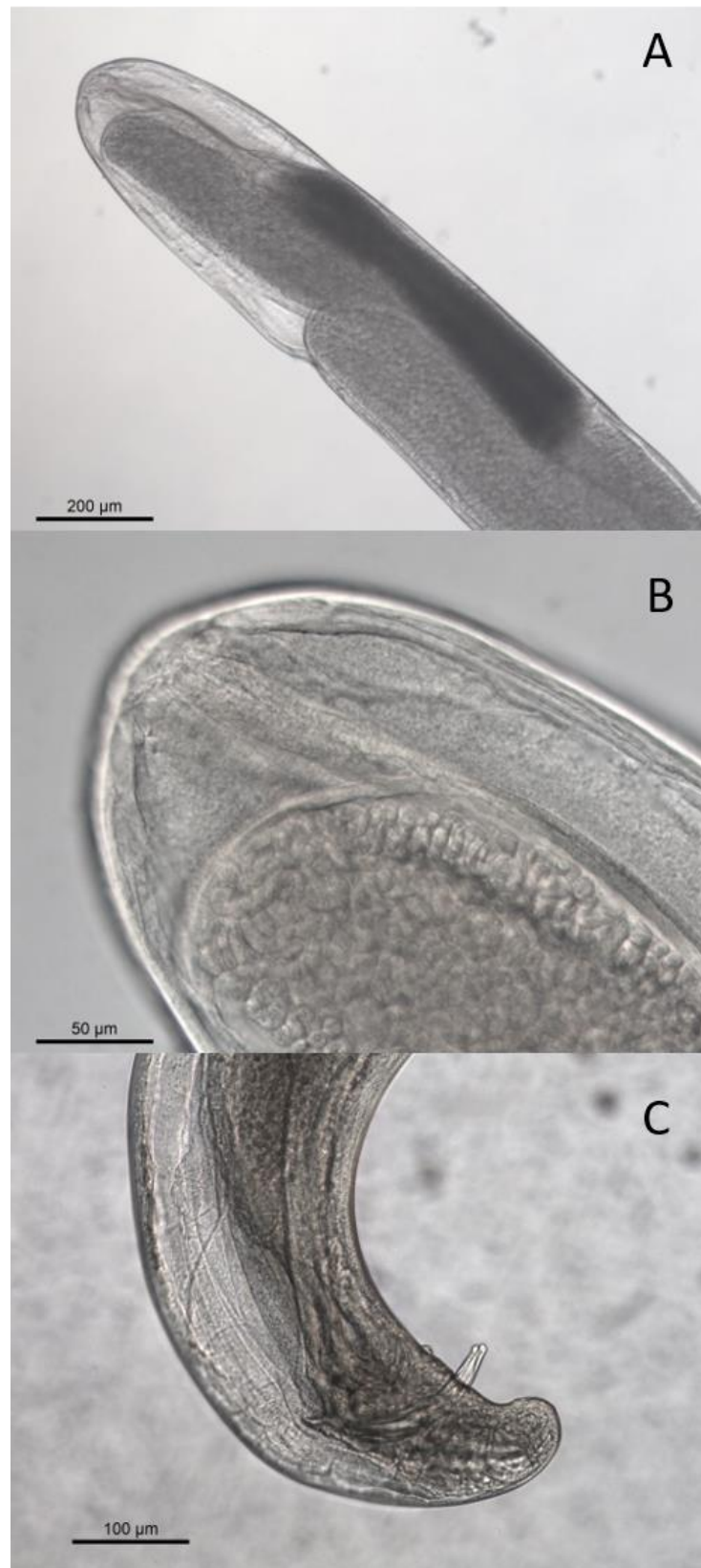


Figura 9 Espécime do gênero *Piratuba* de cavidade de *Bothrops moojeni*. A= região anterior; B= detalhe da região anterior, evidenciando esôfago; C= Região posterior do macho.

Reino Animalia
Filo Nematoda
Classe Secernentea
Ordem Strongylida
Família Molineidae Durette-Desset & Chabaud, 1977
Oswaldocruzia sp. Travassos 1917
(Figura 10)

Cabeça com dilatação cefálica dividida em duas partes: uma anterior mais larga e outra posterior mais estreita, cutícula fina com estrias que percorrem todo o corpo chamadas de sinlofes, esôfago claviforme, anel nervoso que se situa no meio do esôfago, deirídios em formato triangular posterior ao poro excretor. Machos com presença de bolsa copuladora na região posterior, compostas por raios musculosos com padrões variando conforme a sua disposição, presença de dois pares de papilas bursais. Espículos ramificados, divididos em forquilha, sapato e lâmina com variação na quantidade de seus processos terminais presente na lâmina. Fêmeas com vulva, algumas apresentando lábios conspícuos, na metade do corpo, vagina vera, ovojector dividido em: vestíbulo, esfíncter e infundíbulo, cauda terminando em um espinho caudal, anfidelfa, ovos em mórula no útero.

Três exemplares de *Oswaldocruzia* sp. foram encontrados no intestino grosso de uma serpente pertencente ao gênero *Chironius* sp. Fitzinger, 1826 coletada no estado do Mato Grosso.

As espécies pertencentes ao gênero *Oswaldocruzia* habitam o estômago e intestino delgado e em casos de infecção elevada podem ser encontrados no intestino grosso, principalmente de anfíbios e em menor número parasitando répteis (Lent *et al.*, 1946; Durette-Desset *et al.*, 2006). Todavia, Novokhatskaya (2007) registrou um caso de *Oswaldocruzia filiformes* Goeze, 1782 no intestino de um peixe da espécie *Lota lota* Linnaeus, 1758, essa espécie tem como dieta a ingestão de anfíbios, demonstrando a participação de um peixe como possível hospedeiro no ciclo de vida desse grupo de nematoide.

São nematoides cosmopolitas com biologia pouco compreendida (Baker, 1978; Hendrikx e Moppes, 1983). Possui grande riqueza de espécies, sendo registradas mais de 90 espécies em todo mundo (Bursey e Goldberg, 2011; Guerrero, 2013).

Em seu ciclo monoxeno, nas fezes as larvas se desenvolvem até a fase infectante, a infecção se dá pela penetração na pele do anfíbio hospedeiro (Baker, 1978). Hendrikx e Moppes (1983) conduziram experimentos em laboratório sobre o ciclo de vida de *O. filiformes*, demonstrou que após a infecção e a L3 atingir o estômago, a larva irá penetrar na mucosa gástrica e após alguns dias retorna novamente ao lúmen do estômago, migra para o lúmen do intestino onde irá realizar novas mudas até atingir a fase adulta (Hendrikx e Moppes, 1983).

Os girinos não são infectados por larvas de *Oswaldocruzia* por questões ecológicas, os nematoides são péssimos nadadores e se dissipariam facilmente em ambiente aquático desse modo não conseguindo penetrar na pele de seus hospedeiros (Baker, 1978). Ainda segundo Baker (1978), a época de transformação dos girinos corresponde ao pico de população de anfíbios e a abundância de anfíbios neste período é quando ocorre a fase de maior desenvolvimento e transmissão de *Oswaldocruzia pipiens* Walton, 1929.

Oswaldocruzia spp. se caracterizam por pertencer a um grupo muito homogêneo por apresentarem caracteres morfológicos muitos semelhantes e baixa especificidade do parasita-hospedeiro, contudo a análise minuciosa das estruturas como a bolsa copuladora, espículos e sinlofes são imprescindíveis para que seja feita a correta diferenciação das espécies (Slimane *et al.*, 1996).

É intrínseco que para a distinção das espécies seja analisada a morfologia dos sinlofes, estruturas essas que só são possíveis de visualizá-las quando feito cortes transversais no corpo do nematoide na região do esôfago e meio do corpo (Slimane *et al.*, 1996).

No presente estudo, há apenas um macho e uma fêmea coletados no hospedeiro, por ter um exemplar de cada sexo não foi possível fazer corte transversal para o estudo dos sinlofes.

Três espécies de *Oswaldocruzia* são próximas dos indivíduos do estudo por possuírem características da bolsa copuladora, cristas cuticulares e dilatação cervical como a do estudo, mas diferem expressivamente quanto a morfologia e morfometria do órgão reprodutor masculino e dilatação cefálica: *Oswaldocruzia albareti* Slimane & Durette-Desset, 1996, *Oswaldocruzia binae* Slimane & Durette-Desset, 1996 e *Oswaldocruzia petterae* Slimane & Durette-Desset, 1996.

Oswaldocruzia petterae possui a lâmina do espículo dividida em seis processos distais, na espécie do presente estudo possui quatro processos terminais, espículo menores de 140 µm vs 160 µm da espécie de estudo, no entanto é similar quanto a divisão mais distal da lâmina

do espículo. A espécie *O. albareti* se diferencia por possuir a terminação menos distal da lâmina e espículos maiores de 190 μm . *Oswaldocruzia binae* se distingue por apresenta espículos maiores com 190 μm . Todas as espécies comparadas possuem dilatação cefálica simples vs. dilatação dupla da espécie de estudo, com base no exposto trata-se de uma possível nova espécie a ser descrita.

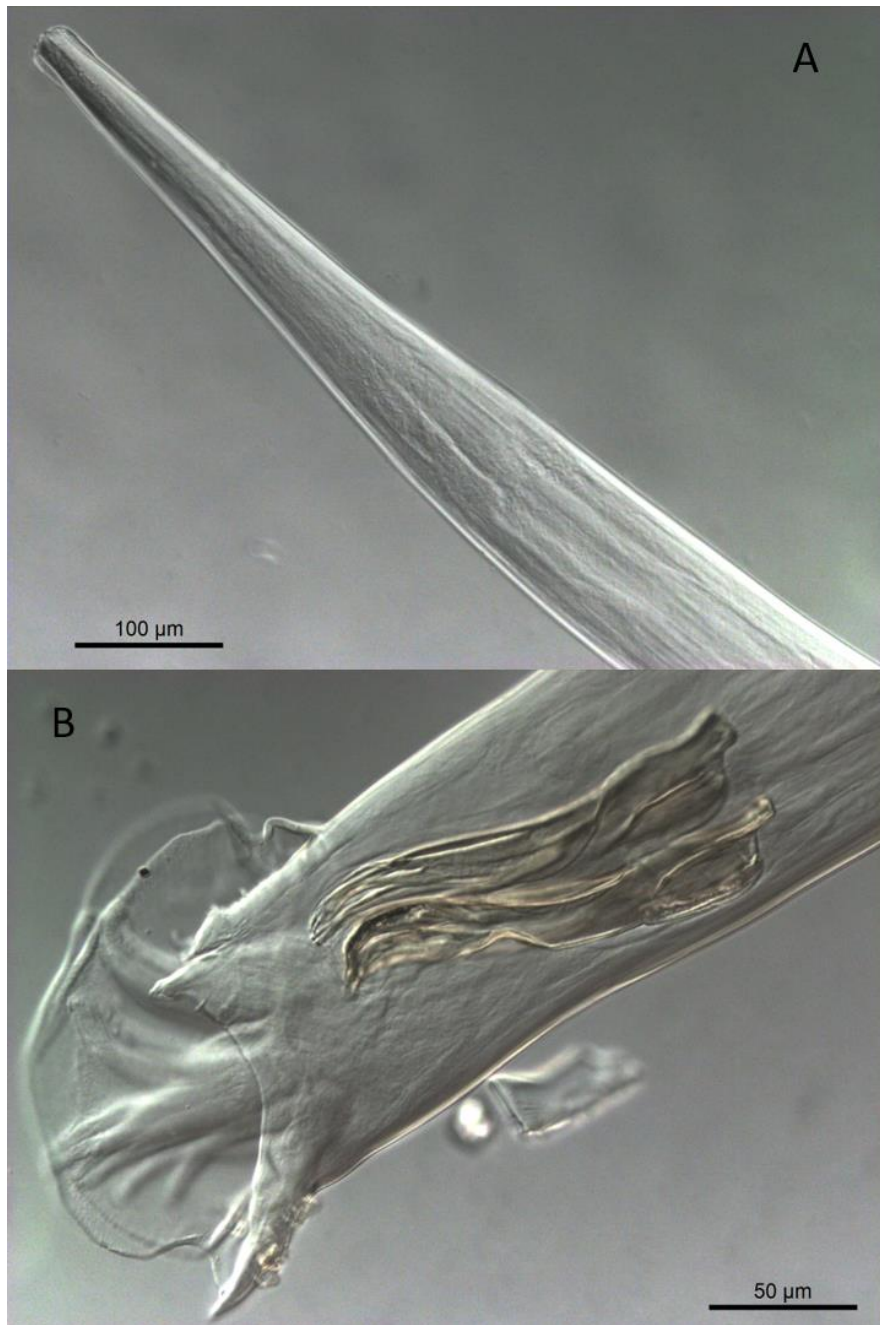


Figura 10 Espécime do gênero *Oswaldocruzia* de intestino grosso de *Chironius* sp. A= região anterior; B= região posterior evidenciando espículos e bolsa copuladora.

Reino Animalia
Filo Nematoda
Classe Chromadorea
Ordem Rhabdida
Família Diaphanocephalidae Travassos, 1920

Kalicephalus costatus Rudolphi, 1819

(Figura 11)

Cápsulas bucais com peças quitinizadas. Ausência de processos quitinosos se projetando dentro da cavidade bucal. Bolsa copuladora trilobada, espículos iguais alados. Fêmea com extremidade posterior longa e cônica. Vulva na porção posterior do corpo. Ovíparas.

Foram coletados três espécimes de *K. costatus* no intestino delgado do hospedeiro *Oxyrhopus rhombifer* Duméril, Bibron & Duméril, 1854 no município de Araguaiana, Mato Grosso. Na serpente *Erythrolamprus poecilogyrus* (Wied, 1824) foi coletado um jovem de *Kalicephalus* sp. em Brasilândia, Mato Grosso do Sul.

Kalicephalus spp. são parasitas de esôfago, estômago e intestino de serpentes e lagartos. Algumas espécies do gênero foram sinonimizadas, o que levou a redução da riqueza de espécies nesse gênero, hoje são conhecidas mais de trinta espécies em todo o mundo arranjadas em seis grupos de acordo com as características morfológicas de sua cápsula bucal, útero, espículos e bolsa copuladora (Kuzmin *et al.*, 2013).

Na América do Sul são registradas cinco espécies: *K. costatus*, *Kalicephalus appendiculatus* Molin, 1861, *Kalicephalus inermis* Molin, 1861, *Kalicephalus subulatus* Molin, 1861 e *Kalicephalus rectiphilus* Harwood, 1932 (Ramallo, 2005). No Brasil, há relatos de *K. costatus* parasitando uma grande diversidade de espécies de serpentes (Vicente *et al.*, 1993; Tavares *et al.*, 2017; Lacerda *et al.*, 2023). Espécies de *Kalicephalus* são pouco específicas, apresentam baixa especificidade de hospedeiros, são encontradas em uma diversidade de espécies de serpentes em todo mundo (Matt *et al.*, 2020)

Ávila e Silva (2010) em sua revisão de helmintos de répteis encontraram um registro de *Kalicephalus* sp. parasitando lagarto da espécie *Tupinambis teguixin* (Linnaeus, 1758) no entanto os próprios autores citam que as espécies do gênero são restritas para serpentes. Kuzim *et al.* (2013) não corroboram e mencionam que lagartos são seus hospedeiros. É

necessário que haja registros dos hospedeiros com maior aprofundamento, para que comprove que não tenha ocorrido erro de identificação ou infecção acidental de membros pertencentes a *Kalicephalus* em lagartos.

No seu ciclo de vida ovos de casca fina em mórula são depositados por répteis infectados e se desenvolvem rápido, ao saírem dos ovos e em condições ambientais favoráveis, se transformam em larvas de terceiro estágio, acredita-se que as serpentes se infectam por via oral, as larvas se encistam na parede do trato gastrointestinal e se desenvolvem em adultos (Larki *et al.*, 2023).

Os calicefalídeos causam várias patologias gastrointestinais que vão de anorexia, enterite, dispneia, disenteria e se associadas com infecções secundárias bacterianas podem causar a morte (Larki *et al.*, 2023).



Figura 11 *Kalicephalus costatus* de intestino delgado de *Oxyrhopus rhombifer*. A= região anterior; B= região posterior do macho; C= região posterior da fêmea.

Reino Animalia

Filo Nematoda

Classe Chromadorea

Ordem Rhabdida

Família Physalopteridae Leiper, 1908

Physalopteroides venancioi (Lent, Freitas e Proenca, 1946)

(Figure 12)

No momento da coleta apresentam coloração branca, cilíndricos. Presença de colarete cefálico circundado com dois lábios laterais arredondados. Apresentam um conjunto de três dentes apenas no sub-lábio direito. Dois espículos de tamanhos desiguais, espículo esquerdo ligeiramente maior que o direito. Cauda da fêmea curta e cônica.

Na Reserva Cispina em Brasilândia, Mato Grosso do Sul, Brasil foram coletados dois exemplares da serpente *Pseudoboa nigra* (Duméril, Bibron & Duméril, 1854), um exemplar estava parasitado com três indivíduos de *P. venancioi* no esôfago e seis indivíduos no estômago. Outro exemplar de *P. nigra* foi encontrada durante a necropsia cinco fêmeas de *Physalopteroides* sp. no estômago.

O gênero *Physalopteroides* foi criado por Wu e Liu (1940) na China e propôs a espécie tipo *Physalopteroides dactyluris* parasitando a serpente asiática *Ahaetulla prasina* (Boie, 1827). Atualmente 20 espécies são descritas em anfíbios e répteis presentes nas regiões, Afrotropical, Australiana, Madagascar, Neártica, Neotropical, Oceania, Oriental, Paleártica, Panamenha, Sara arábica e Sino japonesa (Bursey e Goldberg, 2016).

Vrcibradic et al. (2000) sinonimizaram *P. dactyluris* registrada no Brasil por não ter características que as distinguisse e ser parasita de um outro continente, demonstrando que *P. venancioi* é a única espécie para o gênero conhecida na América do Sul.

Representantes do gênero *Physaloptera* Rudolphi, 1819 são muito semelhantes morfológicamente com *Physalopteroides* spp. mas características distintas separam esses grupos como: região anterior apresentando dentes em apenas um lábio, vulva pré-equatorial, cauda cônica, ovos de casca grossa, espículos quitinizados e desiguais e papilas caudais pedunculadas (Goswami et al., 2016).

Com ciclo desconhecido, sabe-se que fisalopterídeos precisam de um inseto como hospedeiro intermediário, quando os hospedeiros definitivos ingerem um inseto com larva infectante, este vai albergar a forma adulta do parasito (Anderson, 2000).

Na Índia o status do gênero permaneceu controverso por muitos anos pois as características morfológicas entre as espécies são muito parecidas, e a falta de dados moleculares gerava essa incerteza (Goswami *et al.*, 2016). Para a taxonomia de nematoides os principais caracteres avaliados para a diagnose de espécies se dão pelo estudo da estrutura do esôfago, faringe, e órgão reprodutivos dos machos e das fêmeas, a identificação torna-se difícil em nematoides pois os caracteres que servem para diferenciá-los podem se sobrepor, diante disso Goswami *et al.* (2016) utilizando a morfologia com o acréscimo de técnicas moleculares fizeram o primeiro sequenciamento do gene 18S para a espécie de *Physalopteroides*.

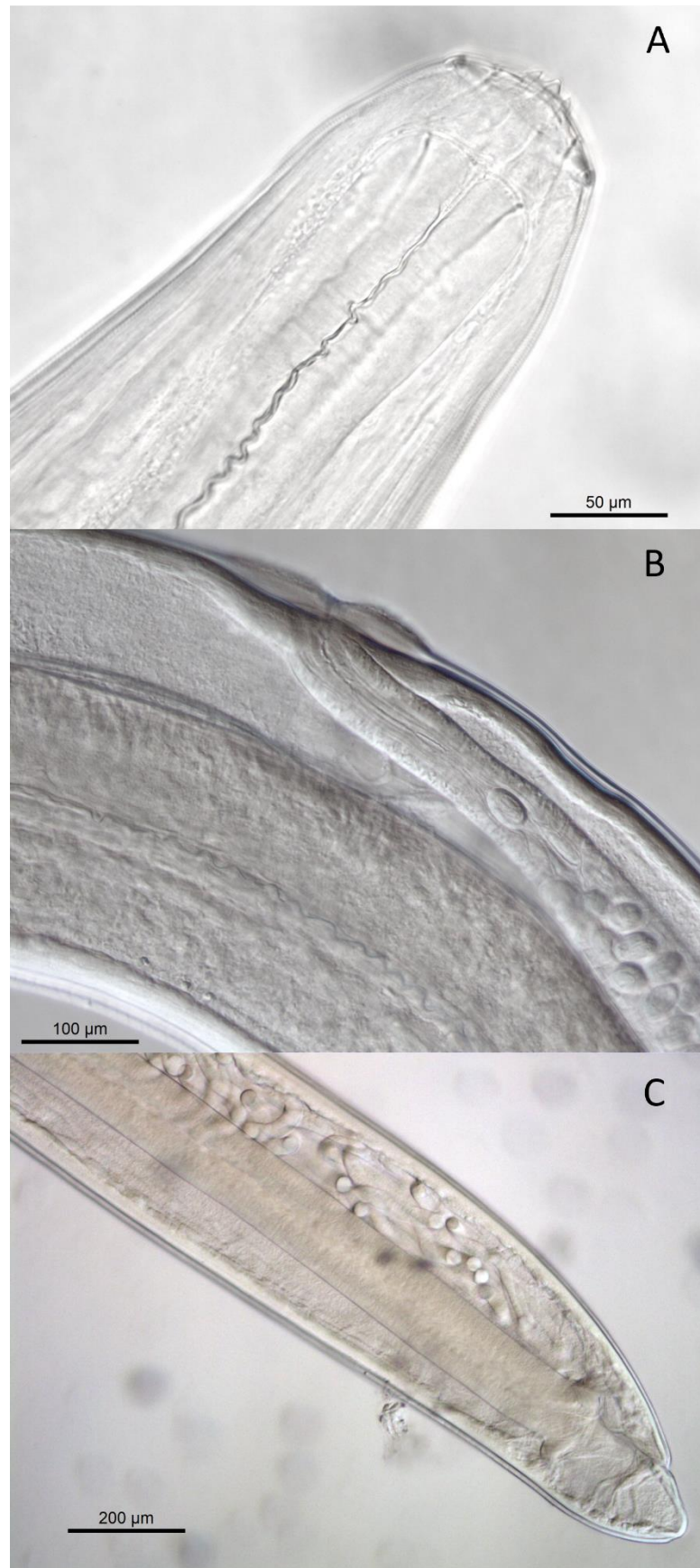


Figure 12 *Physalopteroides venancioi* no estômago de serpente *Pseudoboa nigr*a. A= região anterior, detalhe dos dentes; B= vagina da fêmea; C= região posterior da fêmea.

Reino Animalia
Filo Platyhelminthes
Classe Trematoda
Ordem Plagiorchiida
Família Dicrocoeliidae Looss, 1899
Infidum spp. Travassos, 1916
(Figura 13)

Esôfago longo. Bolsa do cirro volumosa. Acetábulo situado pouco acima do meio do corpo. Cecos intestinais muito largos. Testículos ligeiramente alongados e lobados, afastados e situados na zona acetabular. Ovário pós-testicular, parcialmente na zona do testículo de forma redonda. Vitelária na linha mediana do corpo. Útero pós-ovariano.

Foi coletado um exemplar da serpente *Erythrolamprus poecilogyrus* na Reserva Cispina em Brasilândia, Mato Grosso, Brasil, durante a necropsia foram coletados seis digenéticos pertencente a espécie *I. similis* no canal da vesícula biliar. Nas proximidades do Rio Vermelho em Britânia, Goiás foi coletado um exemplar de *Helicops angustus* (Linnaeus, 1758) e durante a necropsia foi coletado um indivíduo de *I. similis* na vesícula biliar. Em 6 indivíduos de *B. moojeni* foram encontrados 30 exemplares pertencentes a *Infidum infidum* (Gomes de Faria, 1910), em *Erythrolamprus poecilogyrus* 1 indivíduo de *Infidum infidum* foi encontrado e em *P. nigra* também um indivíduo da espécie.

A família Dicrocoeliidae compreende mais de 400 espécies e possuem uma taxonomia controversa, se localizam em várias regiões do mundo, seus membros parasitam a vesícula biliar e os ductos biliares de aves e mamíferos placentários e ocasionalmente répteis e marsupiais (Martínez-Salazar *et al.*, 2016).

Integrantes do gênero *Infidum* Travassos, 1916 se distribuem na Região Neotropical presente nos países: Argentina, Bolívia, Brasil, no arquipélago do Equador nas Ilhas Galápagos e México, tendo como sítio de infecção a vesícula biliar e os ductos biliares assim como os membros de sua família (Martínez-Salazar *et al.*, 2016).

Reino Animalia
Filo Platyhelminthes
Classe Trematoda
Ordem Plagiorchiida
Família Plagiorchiidae Lühe, 1901
Travtrema stenocotyle (Cohn, 1902)
(Figura 14)

Corpo pequeno levemente alongado. Faringe presente. Cecos intestinais um pouco sinuosos. Poro genital pré-acetabular, intercecal, após a bifurcação do ceco. Bolsa do cirro grande, pré-acetabular. Ovário pós-acetabular. Testículos pós-ovariano. Vitelária em pequeno número. Útero localizado na região posterior.

Na serpente *B. moojeni* coletada em Brasilândia Mato Grosso do Sul, foram encontrados 14 indivíduos de *T. stenocotyle* no intestino grosso

Travtrema spp. são comumente encontradas em anfíbios e répteis (Fernandes e Kohn 2014; Campião *et al.*, 2014) e apenas a espécie *Travtrema stenocotyle* ocorre para a América do Sul. Há registros de *T. stenocotyle* em 17 espécies de serpentes distribuídas na Argentina, Brasil, Paraguai e Uruguai (Fernandes e Kohn 2014) e no anfíbio *Leptodactylus podicipinus* (Cope, 1862) para o Brasil (Campion *et al.*, 2009). Dentre as serpentes brasileiras 13 espécies são encontradas parasitadas por *T. stenocotyle* (Fernandes e Kohn 2014).

Anfíbios podem agir como hospedeiro intermediário para a espécie, metacercárias já foram encontradas em diversos órgãos como faringe, músculo, mesentério e cavidade do corpo deles (Müller *et al.*, 2021).

A família Plagiorchiidae é pouco compreendida e estudada em relação ao grupo de Digenea, portanto suas relações filogenéticas e relações evolutivas são controversas, as confusões para o grupo podem ser explicadas também pela grande diversidade de espécies, homoplasia, descrição morfológica deficiente, caracteres de identificação pouco confiáveis e filogenias baseadas apenas em dados morfológicos (Müller *et al.*, 2021).

Devido ao exposto vários táxons para este grupo estão esperando para serem acomodados nas respectivas famílias apropriadas, isso pode ocorrer com *T. stenocotyle*. Para uma correta reorganização mais dados de sistemática, ecologia e evolução devem ser

estudadas assim como novas inclusões de táxons a análises filogenéticas para acomodar o gênero a uma diferente família (Müller *et al.*, 2021).



Figura 13 *Infidum similis* de canal da vesícula biliar de *Erythrolamprus poecilogyrus*.

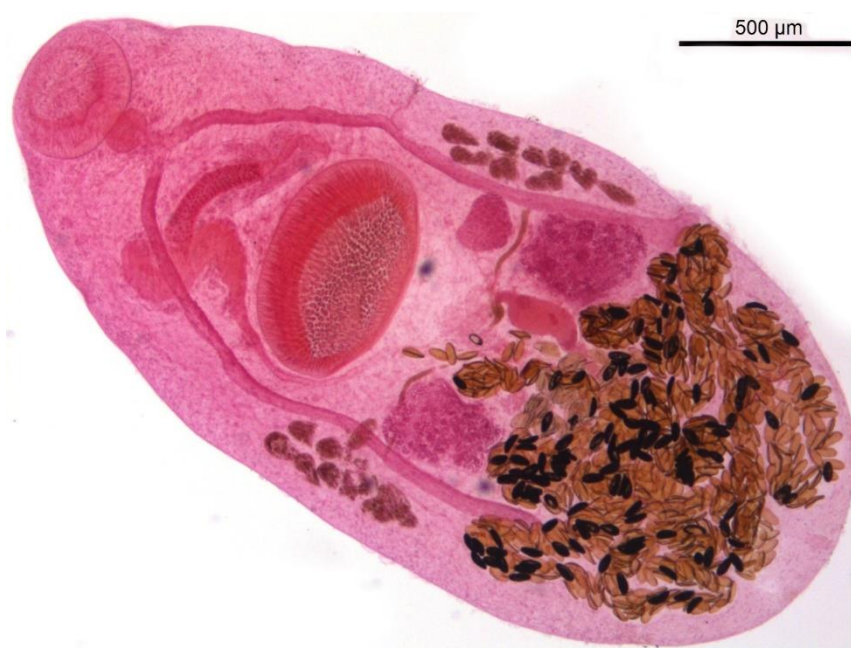


Figura 14 *Travtrema stenocotyle* de intestino grosso de *Bothrops moojeni*.

HELMINTOS DE TESTUDINES, QUELÔNIOS

Reino Animalia

Filo Nematoda

Classe Chromadorea

Ordem Rhabdida

Família Strongylidae Baird, 1853

Chapiniella diazi Chabaud e Tcheprakoff, 1977

(Figura 15)

Nematoides curtos e finos, com cutícula inflada marcada por anulações. Cápsula bucal curta e com pouca profundidade, em forma de anel, com estruturas externas em forma de coroa de folhas longas e delgadas. Esôfago longo e delgado, ligeiramente aumentado posteriormente. Anel nervoso no meio do esôfago. Poro excretor ventral e papilas cervicais laterais (deirídeos) em forma de cerda, pequenos. Espículos alados com pontas levemente curvas. Cauda curta da fêmea.

Dois indivíduos de *C. diazi* foram encontrados do intestino grosso de um jabuti pertencente a espécie *C. carbonarius* na localidade de Nova Nazaré, Mato Grosso. São conhecidas seis espécies em todo mundo, sendo três descritas na América do Sul: *Chapiniella variabilis* Chapin, 1924 em *C. carbonarius* e *Chelonoidis denticulatus* (Linnaeus, 1766); *Chapiniella larensis* Diaz-Ungria e Gallardo, 1968 e *C. diazi* ambas descritas em *C. denticulatus* (Chabaud e Tcheprakoff, 1977; Lichtenfels e Stewart, 1981 Mascarenhas e Müller, 2021), e outras três espécies: *Chapiniella chitwoodae* Lichtenfels e Stewart, 1981, *Chapiniella gallatii* Lichtenfels e Stewart, 1981 foram descritas nos Estados Unidos em *Gopherus polyphemus* (Daudin, 1801) e *Chapiniella jellisoni* Lichtenfels e Stewart, 1981 no sudeste da Ásia em uma tartaruga de espécie não definida (Lichtenfels e Stewart, 1981).

Lichtenfels e Stewart (1981) baseandos em sua descoberta de táxons de *Chapiniella* ocorrendo na América do Norte em *Gopherus polyphemus* (Daudin, 1801) e Ásia em *Cuora amboinensis* (Daudin, 1801) e levando em conta que anteriormente todas as espécies tinham sido descritas na América do Sul, concluíram que este é um grupo com fauna muito maior do que se acreditava ser, e indica uma evidência geográfica de que as espécies de *Chapiniella* podem ter evoluído em tartarugas muito antes da deriva continental. Com base em análises

morfológicas, acredita-se que *Chapiniella* spp. pertencem ao grupo mais primitivo de membros da superfamília Strongyloidea (Lichtenfels, 1980).

Há apenas um casal na amostra, portanto, foi analisada a morfometria do macho e da fêmea. Pela morfometria, os exemplares se apresentam mais próximos de *C. diazi* por possuir espículos, cavidade bucal e coroa de folhas com medidas semelhantes.

Chapiniella variabilis ocorre no mesmo hospedeiro que o do presente estudo, *C. carbonarius* no estado do Piauí, no entanto, não há registros de *C. diazi* para este hospedeiro e para o estado do Mato Grosso. *Chapiniella diazi* é relatada apenas infectando *C. denticulatus* (Chabaud e Tchepprakoff, 1977), sugerindo uma nova ocorrência de hospedeiro e localidade.

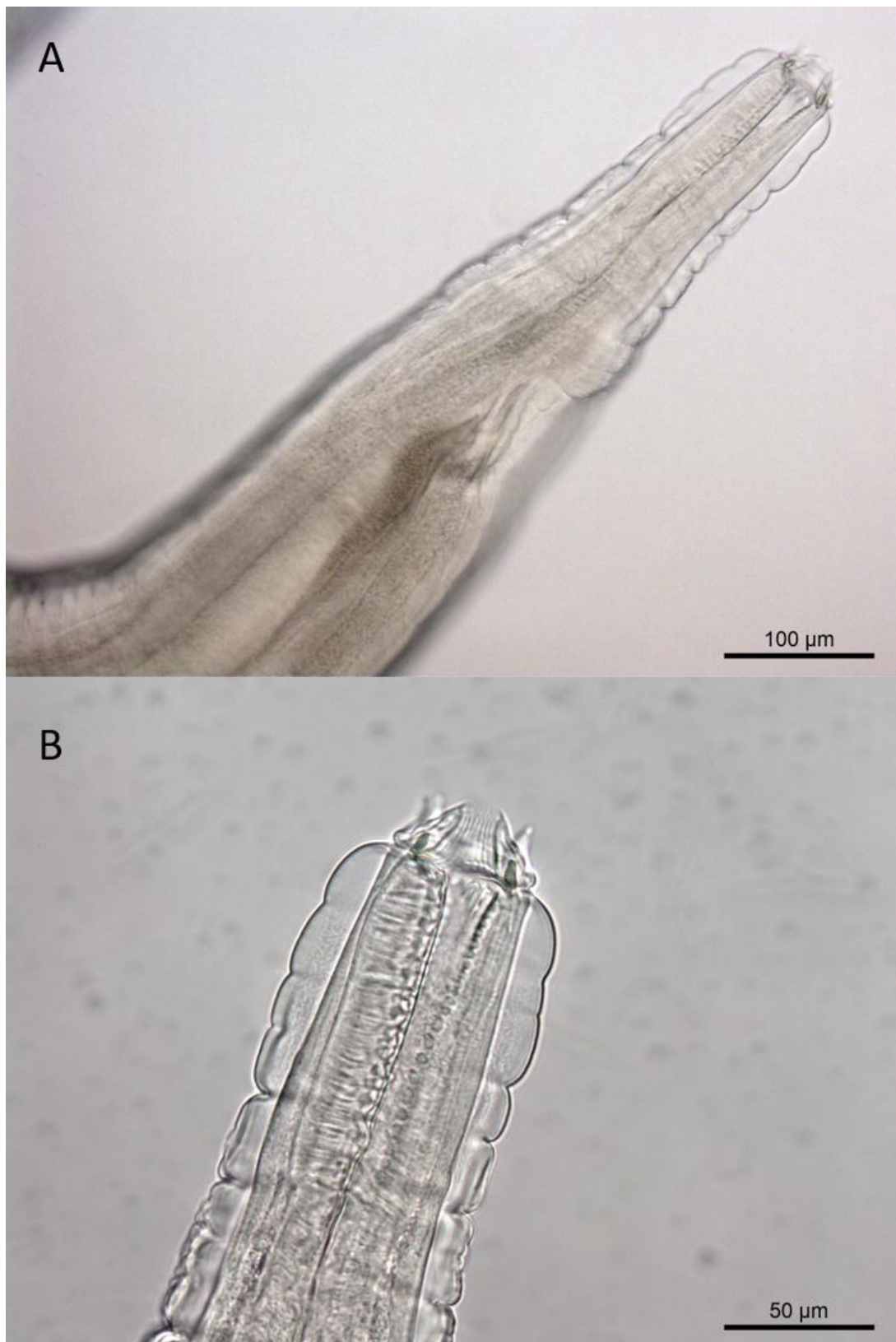


Figura 15 *Chapiniella diazi* de intestino grosso de *Chelonoidis carbonarius*. A= região anterior; B= detalhe da boca.

Reino Animalia

Filo Nematoda

Classe Chromadorea

Ordem Rhabdida

Família Atractidae Railliet, 1917

Paraorientatractis semiannulata Gibbons, Khalil & Marinkelle, 1997

(Figura 16)

A morfologia geral para as espécies do gênero apresenta: corpo alongado e enrolado. Região dorsal ornamentado com raios transversais em forma de meio anéis, na região ventral não há presença desses raios. Raio longitudinais laterais bem desenvolvidos. Cauda de ambos os sexos terminando em um apêndice caudal. Abertura terminal da boca em forma de funil, quatro lábios. Dois grandes anfídeos laterais. Papilas arredondas, projetando-se apenas ligeiramente da superfície do corpo, Esôfago dividido. Poro excretor se abre próximo ao bulbo do esôfago. Machos com papilas caudais. Espículos de tamanhos desiguais. Gubernáculo presente. Vulva pequena abrindo-se próxima ao ânus. Vivíparas.

Incontáveis indivíduos de *P. semiannulata* foram encontrados no estômago e intestino delgado de um exemplar necropsiado de *Podocnemis unifilis* (Troschel, 1848) coletado no Rio Araguaia, no município de Itacaiú, Goiás. *Paraorientatractis semiannulata* tem como localidade exclusivamente a América do Sul, foi descrito pela primeira vez *parasitando* *P. unifilis* no estado do Pará e dez anos depois foi encontrado da mesma espécie de hospedeiro no Peru (Gibbons *et al.*, 1997; Salizar e Sanchez, 2007). O presente trabalho apresenta uma nova localidade para o parasito em questão.

Paraorientatractis semiannulata é a única espécie descrita para o gênero (Gibbons *et al.*, 1997; Salizar e Sanchez, 2007; Mascarenhas e Müller, 2021). *Orientatractis* Petter, 1966 é um gênero com espécies muito próximas morfologicamente comparado com *P. semiannulata* por ter estruturas muito parecidas como as estruturas cefálicas com quatro estruturas bicornadas rodeando a boca e asa lateral bem desenvolvida, mas elas diferem pelo número de lábios, seis lábios em *Orientatractis* spp. e quatro lábios em *P. semiannulata* e este último apresentar as ornamentações na região dorsal (Gibbons *et al.*, 1997; González e Mariaux, 2017). A espécime do estudo difere de todas as outras espécies dentro da família Atractidae

ao qual ela pertence pela distinta morfologia da região cefálica, as ornamentações na região dorsal e asa lateral estriadas (Gibbons *et al.*, 1997).

Para os espécimes do presente estudo, a grande maioria da morfometria realizada está aumentada em comparação com *P. semiannulata* da descrição original, porém poucas dezenas de micrometros. Os indivíduos estudados mostraram ter seis papilas na região da cloaca enquanto a descrição original possui oito pares de papilas.

Há poucos trabalhos relatados para este gênero, estudos moleculares, de ciclo de vida são inexistentes, seria de grande importância que mais pesquisas para o grupo fossem realizadas.

Reino Animalia

Filo Nematoda

Classe Chromadorea

Ordem Rhabdida

Família Atractidae

Paratractis hystrix Diesing, 1851

(Figura 17)

Corpo alongado, afinando nas extremidades. Projeções espinhosas ao longo de toda superfície do corpo das fêmeas, nos machos a presença de espinhos se restringe apenas na região anterior e região dorsal da cauda. Boca com três lábios distintos. Um dorsal e dois lábios subventrais. Lábio dorsal apresenta duas papilas, os lábios subventrais carregam cada um uma única papila e uma anfídeo. Cada papila forma quatro pequenas projeções. A base dos anfídeos e das quatro papilas formam seis grandes estruturas elevadas na margem externa da região anterior. Esôfago dividido em duas partes terminando em bulbo. Poro excretor grande, posterior ao esôfago estriado radialmente.

Os espículos dos espécimes apresentaram tamanhos iguais ou próximos da descrição original da espécie, porém a medida do esôfago não coincidiu.

Incontáveis espécies de *P. hystrix* foram coletados no estômago e intestino delgado, de um exemplar necropsiado de *P. unifilis* coletado no Rio Araguaia, no município de Itacaiú, Goiás.

A presença de projeções espinhosas ao longo da superfície do corpo é uma das principais característica que separa a espécie desse gênero dentro de outros membros da família Atractidae que possuem corpo liso, no entanto, espécie de *Buckleyattractis* Khalil & Gibbons, 1988 e *Podocnemattractis* Gibbons, Khalil & Marinkelle, 1995 possuem essas estruturas em forma de projeções espinhosas o longo do corpo, essas últimas espécies são nitidamente separadas morfologicamente por apresentar diferentes arranjos das projeções espinhosas e distinções quanto as estruturas na região cefálica (Khalil e Gibbons, 1988; Gibbons *et al.*, 1995).

Paratractis hystrix foi relatada infectando as seguintes espécies de Testudines: *Peltocephalus dumerilianus* (Schweigger, 1812) no Brasil e Peru, *Podocnemis erythrocephala* (Spix, 1824) no Brasil, *Podocnemis expansa* (Schweigger, 1812) Colômbia, *P. Unifilis* na Colômbia, *Podocnemis vogli* Müller, 1935 na Colômbia (Mascarenhas e Müller, 2021), portanto, esse é o primeiro registro de *P. hystrix* infectando *P. unifilis* no Brasil.

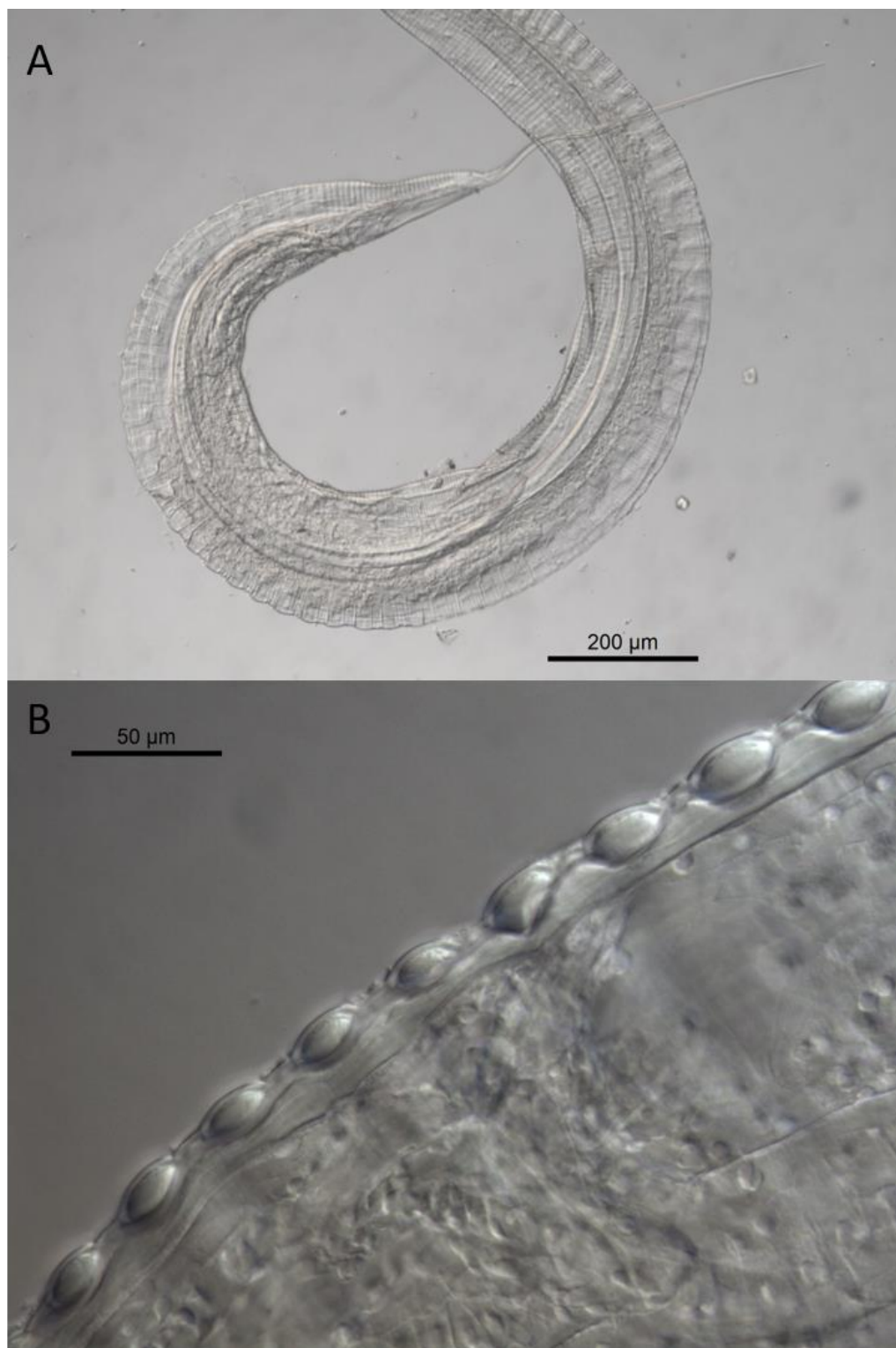


Figura 16 *Paraorientatractis semiannulata* de estômago e intestino delgado de *Podocnemis unifilis*. A= corpo evidenciando a cauda; B= detalhe das ondulações da cutícula na região ventral.

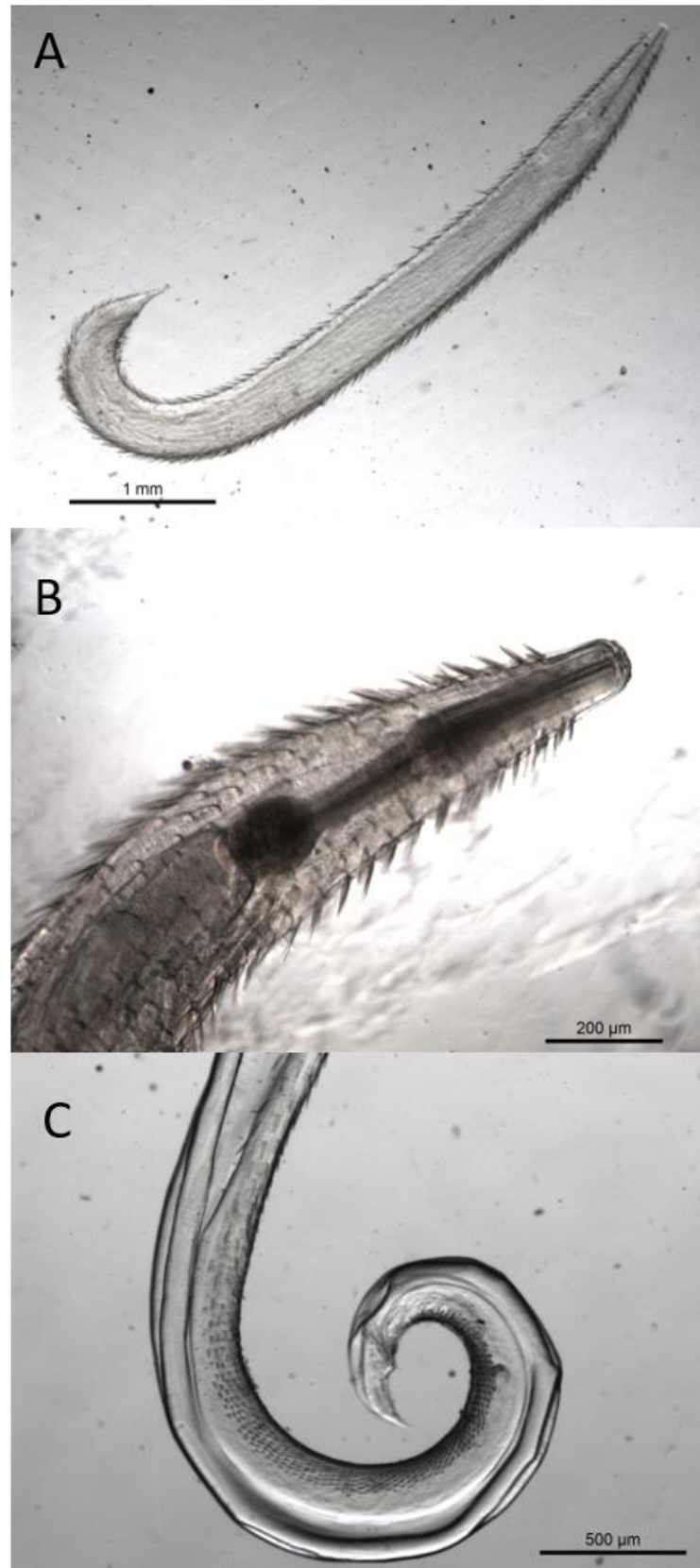


Figura 17 *Paratractis hystrix* de estômago e intestino delgado de *Podocnemis unifilis*. A= corpo inteiro; B= região anterior; C= região posterior do macho que tem característica espinhos ventrais nessa região.

Reino Animalia
Filo Nematoda
Classe Chromadorea
Ordem Rhabdida
Família Gnathostomatidae Railliet, 1895
Ancyracanthus pinnatifidus Diesing, 1838
(Figura 18)

Região anterior formada por dois largos pseudolábios em forma de cúpula, dois longos apêndices quitinizados, ramificados direcionados posteriormente, nascendo na base de cada pseudolábio. Parte anterior do esôfago rodeado por quatro sacos cervicais. Esôfago longo. Região posterior da fêmea curta e cauda ligeiramente dobrada. Vulva no terço posterior do corpo. Vagina longa. Ovípara. Ovos ovais.

Uma fêmea pertencente a espécie *A. pinnatifidus* foi encontrada no intestino delgado, de um exemplar necropsiado de *P. unifilis* coletado no Rio Araguaia, no município de Itacaiú, Goiás.

O gênero *Ancyracanthus* possui três espécies, a saber: *A. pinnatifidus* parasitando o trato gastrointestinal de quelônios das espécies: *Peltocephalus dumerilianus* (Schweigger, 1812) no Brasil, *P. expansa* no Brasil e *P. unifilis* no Peru; *Ancyracanthus schubarti* Kohn, Gomes & Motta, 1968 parasitando estômago e intestino de peixes pertencentes aos gêneros *Leporinus* Agassiz, 1829, *Leporellus* Lütken, 1875 e *Hypomasticus* Borodin 1929 no Brasil, e *Ancyracanthus electrophori* Virgilio, Nogueira, Takemoto, Passere, Oliveira, Meneguetti, Camargo, Pereira, 2023 parasitando a mucosa do estômago de *Electrophorus varii* Santana, Wosiacki, Crampton, Sabaj, Dillman, Mendes-Júnior & Castro e Castro, 2019 (Moravec, 1998; Sánchez *et al.*, 2006; Mascarenhas e Müller, 2021).

As espécies deste gênero possuem na região anterior nítidos apêndices, largos e ramificados que tem como função aderir na mucosa intestinal, esta adesão ocorre de uma forma muito forte, que ao retirar o parasito sem os devidos cuidados pode ocasionar severas lesões no órgão (Sánchez *et al.*, 2006). Os apêndices são estruturas importantes para diferenciar as espécies.

Virgilio *et al.* (2023) descreveram *A. electrophori* por possuir um apêndice cefálico bifurcado em sua metade distal terminando em um ramo com duas pontas espiniformes e

outro ramo com quatro pontas espiniformes. *Ancyracanthus schubarti* possui os apêndices cefálicos com ramos irregulares em número e formato, terminando em pontas bífidas ou simples (Moravec, 1998), *A. pinnatifidus* possui o apêndice cefálico distinto em forma de pena (Vicente *et al.*, 1993), coincidindo com a mesma morfologia do espécime do presente estudo.

Os dados morfométricos do presente trabalho apresentaram-se com medidas muito abaixo da variação morfométrica para a espécie publicada por Vicente *et al.* (1993), no entanto, Virgilio *et al.* (2023), ao descreverem *A. electrophori*, demonstraram que há grandes variações morfométricas nos indivíduos estudados, no entanto a morfologia das estruturas destes foram consistentes, desprezando a medição como caractere de diagnose para o grupo.

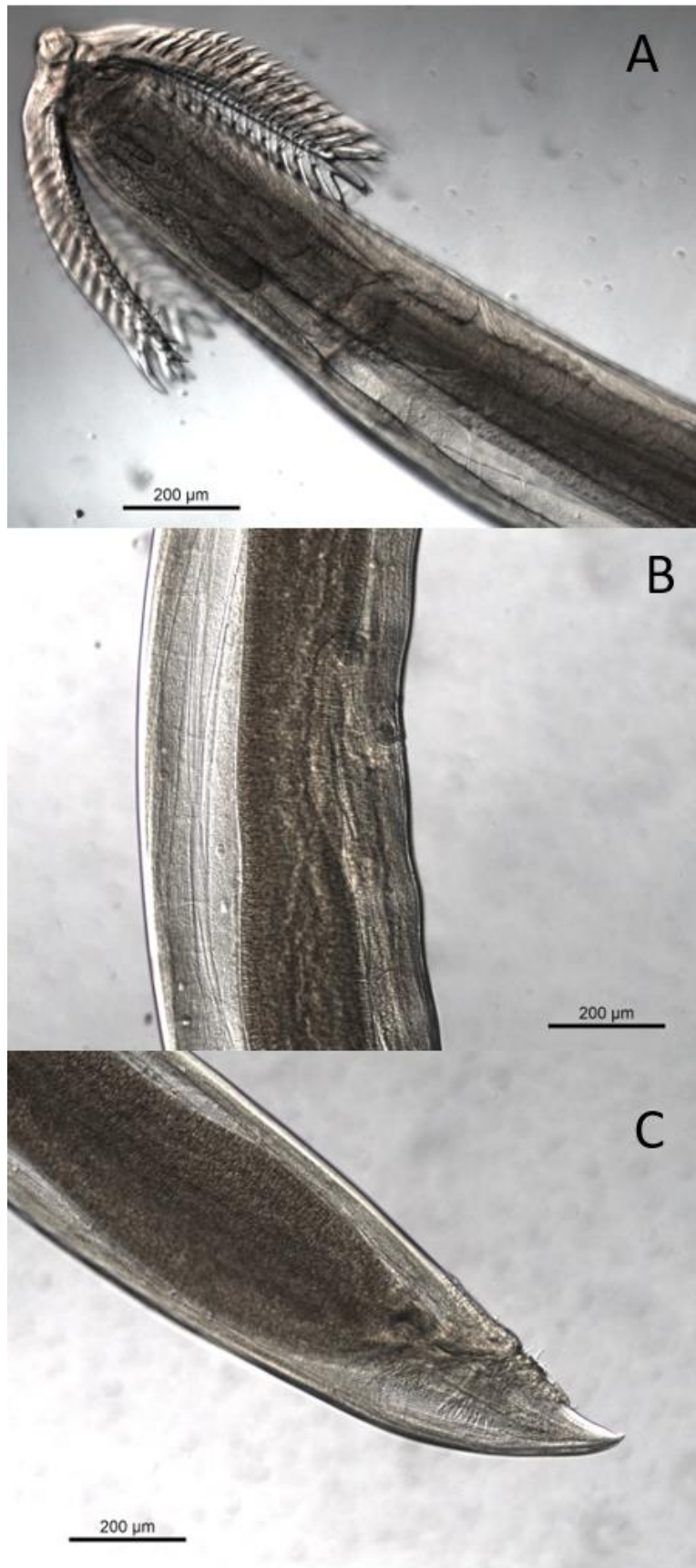


Figura 18 Fêmea de *Ancyracanthus pinnatifidus* do intestino delgado de *Podocnemis unifilis*.
A= região anterior; B= vagina; C= cauda.

Reino Animalia
Filo Nematoda
Classe Chromadorea
Ordem Rhabdida
Família Atractidae
Orientattractis spp.
(Figura 19, Figura 20, Figura 21)

Foram encontrados incontáveis *Orientattractis* spp. no estômago e intestino delgado de um exemplar necropsiado de *P. unifilis* coletado no Rio Araguaia, no município de Itacaiú, Goiás.

Orientattractis spp. possuem uma grande distribuição geográfica abrangendo quatro continentes: África, América, Ásia e Oceania, tendo como hospedeiros os peixes, répteis e uma espécie do gênero com ocorrência de parasitismo em anfíbio (Petter, 1966; González-Solís e Moravec, 2004; Gibbons e Platt, 2006; Bursey *et al.*, 2014; Moravec *et al.*, 2015; Cavalcante *et al.*, 2017; González-Solís e Mariaux, 2017; Liu *et al.*, 2018; Jesus *et al.*, 2020).

Até o presente momento, 10 espécies de *Orientattractis* foram descritas: *Orientattractis asymmetrica* Gibbons & Platt, 2006 em *Rhinoclemmys pulcherrima* (Gray, 1855); *Orientattractis brycini* González-Solís & Mariaux, 2017 nos peixes *Brycinus macrolepidotus* Valenciennes, 1850 e *Xenocharax spilurus* Günther, 1867; *Orientattractis campechensis* González-Solís & Moravec, 2004 nos peixes *Vieja bifasciata* (Steindachner, 1864) e *Cincelichthys pearsei* (Hubbs, 1936); *Orientattractis chiapasensis* González-Solís & Moravec, 2004 nos peixes *Chuco intermedium* (Günther, 1862) e *Tomocichla tuba* (Meek, 1912); *Orientattractis hamabatrachos* Bursey, Goldberg & Kraus, 2014 no anfíbio *Austrochaperina basipalmata* (Van Kampen, 1906); *Orientattractis leiperi* Buckley, 1969 em *P. unifilis*; *Orientattractis levanhoai* Petter, 1966 em *Indotestudo elongata* (Blyth, 1854); *Orientattractis longicaudata* Liu, Li & Zhang, 2018 em *I. elongata*; *Orientattractis mekongensis* Moravec, Kamchoo & Pachanawan, 2015 nos peixes *Pangasius bocourti* Sauvage, 1880 e *Helicophagus leptorhynchus* Ng & Kottelat, 2000 e *Orientattractis moraveci* Cavalcante, Silva, Santos, Chagas-Moutinho & Santos, 2017 no peixe *Pimelodus blochii* Valenciennes, 1840 (Petter, 1966; González-Solís e Moravec, 2004; Gibbons e Platt, 2006; Bursey *et al.*, 2014; Moravec *et al.*,

2015; Cavalcante *et al.*, 2017; González-Solís e Mariaux, 2017; Liu *et al.*, 2018; Jesus *et al.*, 2020).

A quantidade abundante de helmintos coletados corrobora com Jesus *et al.* (2020), que encontraram indivíduos de *O. leiperi* também no estômago de *P. unifilis*. Isto pode ser explicado pois membros da família Atractidae possui um ciclo de vida diferenciado, no qual os ovos eclodem e larvas se desenvolvem até terceiro estágio dentro do útero da fêmea, favorecendo então a autoinfecção por essas larvas no hospedeiro, portanto devido à viviparidade das fêmeas o ciclo se completa no mesmo órgão de infecção do estágio adulto do parasito e contribui para uma alta abundância de infecção (Anderson, 2000; Jesus *et al.*, 2020).

A transmissão desse grupo de parasitos entre seus hospedeiros não é compreendida (Anderson, 2000). Acredita-se que a transmissão ocorre quando o hospedeiro já adquiriu a maturação sexual e durante a cópula deles (Petter, 1966). Zonas de intenso uso de habitat podem contribuir para a infecção pois os quelônios dividem o mesmo espaço para alimentação, reprodução, aquecimento e cuidados parentais (Leão *et al.*, 2019; Jesus *et al.*, 2020).

A viviparidade contribuiu para que os membros da família Atractidae parasitassem vários hospedeiros não relacionados como anfíbios, peixes e répteis devido a infecções por via oral ou venérea, esta transmissão não seria possível se fosse feita por uma rota de infecção percutânea, pois a larva teria que desenvolver no ambiente, fato este que também contribuiu para que houvesse uma distribuição geográfica bem ampla do parasitismo envolvendo diversos continentes (Baker, 1982; González-Solís e Mariaux, 2017).

O gênero *Orientattractis* foi proposto por Petter (1966) para alocar nematoides com presença de estruturas esclerotizadas que circundam a região da boca e seu formato distinto. As características usadas para diferenciar as espécies se dá pelo estudo da distribuição e quantidades de papilas caudais, formato e tamanho dos espículos, gubernáculo e morfologia e comprimento da cauda (Jesus *et al.*, 2020).

Os gêneros *Orientattractis* Peter, 1966, *Paraorientattractis* e *Klossinemella* Costa, 1961 são intimamente relacionados dentro da família Atractidae, as características morfológicas que os diferenciam são as estruturas esclerotizadas que circundam a boca, quanto ao número e formato (González-Solís e Mariaux, 2017). As espécies de *Klossinemella* possuem oito estruturas esclerotizadas em forma de Y enquanto *Orientattractis* e *Paraorientattractis*

possuem quatro estruturas esclerotizadas em formato bicornio, *Paraorientatractis* possui nítidas ornamentações na superfície dorsal (González-Solís e Moravec, 2004; González-Solís e Mariaux, 2017).

Três padrões morfológicos distintos de *Orientatractis* spp. foram coletados no hospedeiro do quelônio. *Orientatractis* sp. 1 (**Figura 19**) foram encontrados incontáveis espécimes no estômago e intestino delgado, a maioria dos indivíduos de *Orientatractis* medidos (**Tabela 3**) apresentaram morfometria de cauda dos machos próximas de quatro espécies do gênero: *O. chiapasensis*; *O. hamabatrachos*; *O. mekongensis* e *O. moraveci*, no entanto o tamanho do órgão reprodutor masculino não foi próximo de nenhuma das espécies citadas e nem das demais espécies descritas em todo o mundo, sugerindo que *Orientatractis* sp.1 é uma nova espécie a ser descrita.

Três indivíduos apresentaram cauda de comprimento grande ($> 800 \mu\text{m}$), dois deles tinham as papilas caudais muito grandes com estrias ao longo do corpo bem marcantes que foi denominado como *Orientatractis* sp.2 (**Figura 20**). *Orientatractis asymetrica* Gibbons & Platt, 2006 e *O. leiperi* Buckley, 1969, possuem caudas com comprimentos próximos a espécie estudada, no entanto, apenas *O. leiperi* possui espículos com tamanhos equivalentes, *O. asymetrica* possui espículos muito menores. *Orientatractis* sp. 2 possui um comprimento total, largura do corpo e cauda maior que *O. leiperi* além de diferenças quanto ao número e tamanho de papilas caudais. *Orientatractis* sp. 2 é uma nova espécie a ser descrita.

O último morfotipo identificado para o grupo, *Orientatractis* sp. 3 (**Figura 21**), difere da espécie morfológicamente mais próxima a ele, *O. campechensis*, por ter um comprimento do corpo menor, órgão reprodutor de tamanho menor e números de papilas caudais muito mais numerosas que a espécie descrita, portanto *Orientatractis* sp. 3 possui caracteres morfológicos ainda não encontrados em outras espécies do gênero, portanto, podem pertencer a uma espécie nova (**Tabela 3**). Vale salientar que há apenas duas espécies registradas na América do Sul; *O. leiperi* parasitando *P. unifilis* no estado do Pará e *O. moraveci* parasitando um peixe da espécie *Pimelodus blochii* no estado do Acre.

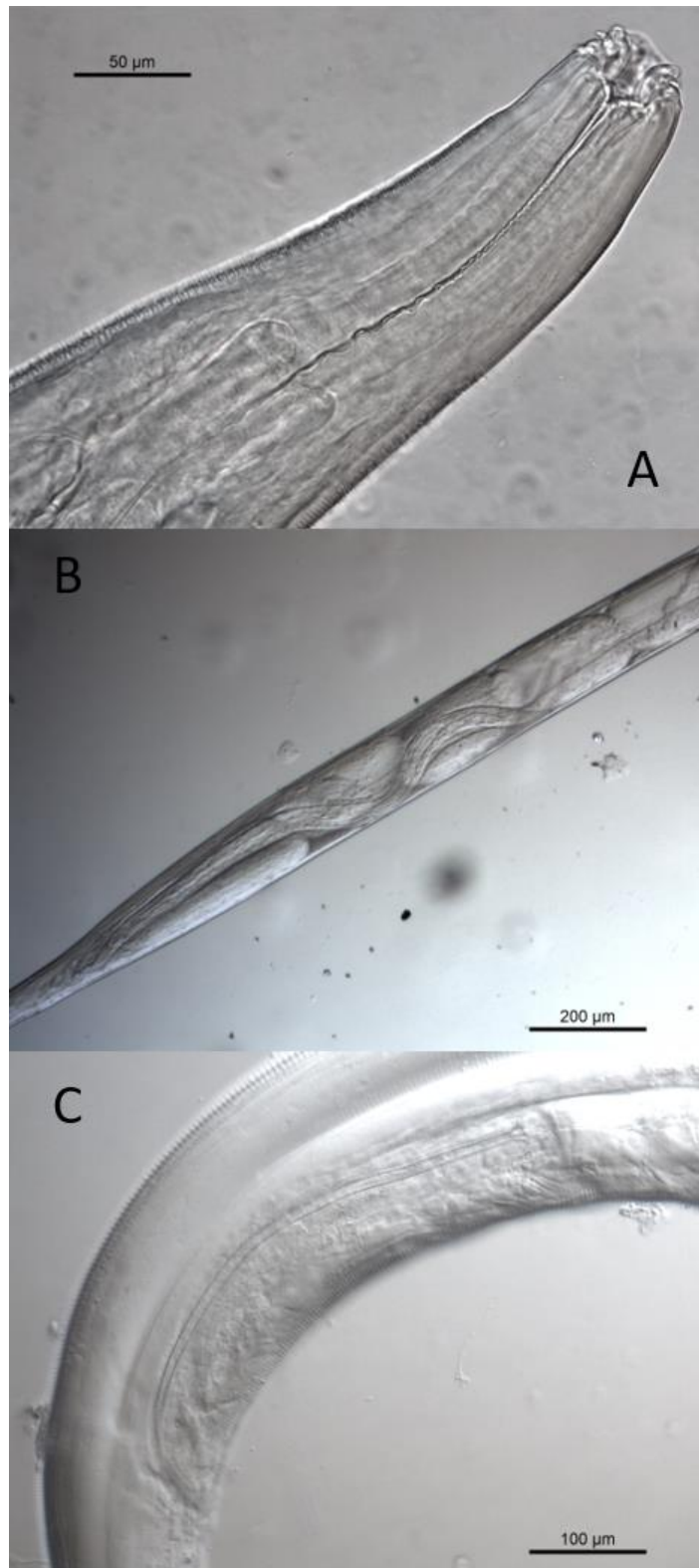


Figura 19 *Orientatractis* sp. 1 de estômago e intestino delgado de *Podocnemis unifilis*. A= região anterior; B= útero com larva; C= região posterior do macho com evidência do espículo.

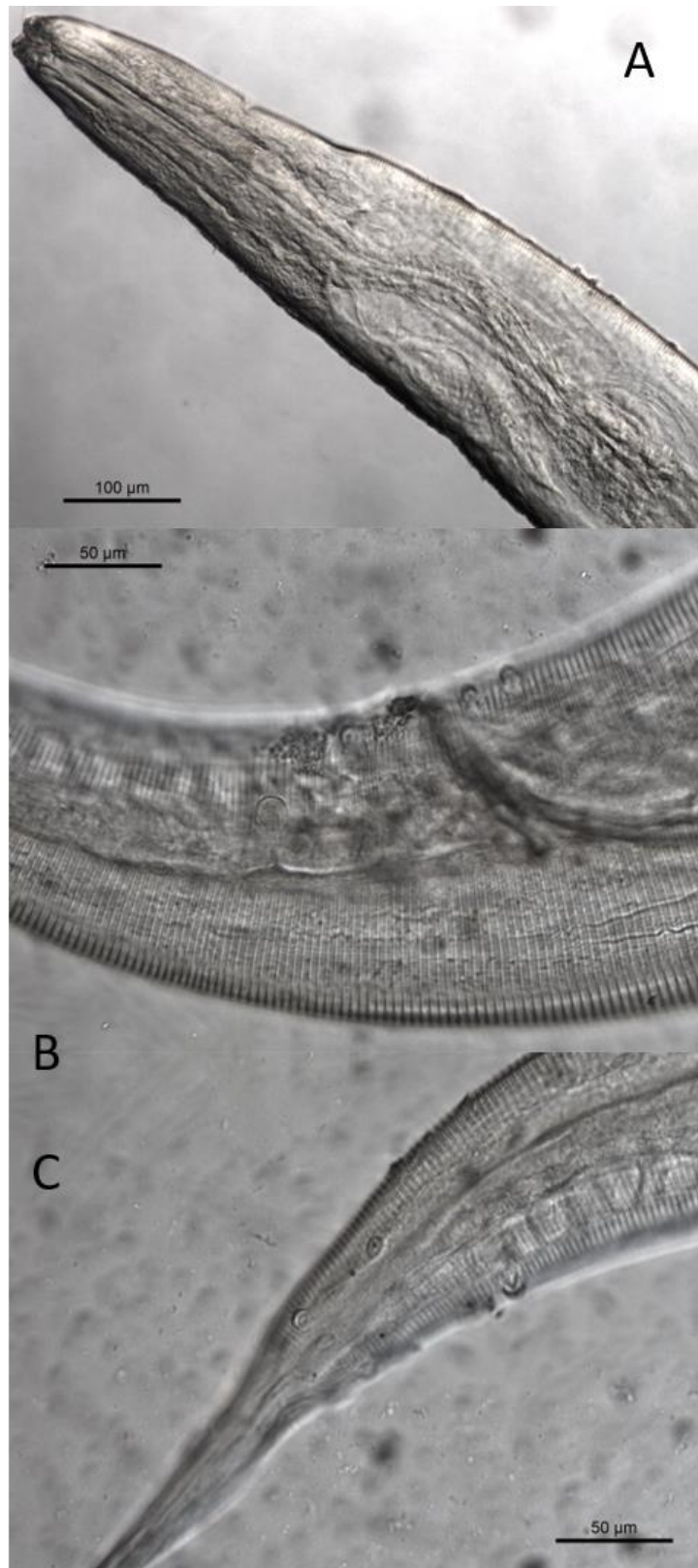


Figura 20 *Orientatractis* sp. 2 de estômago de *Podocnemis unifilis*. A= região anterior; B= região da cloaca, detalhe das papilas grandes; C= região caudal, detalhe das papilas grandes.

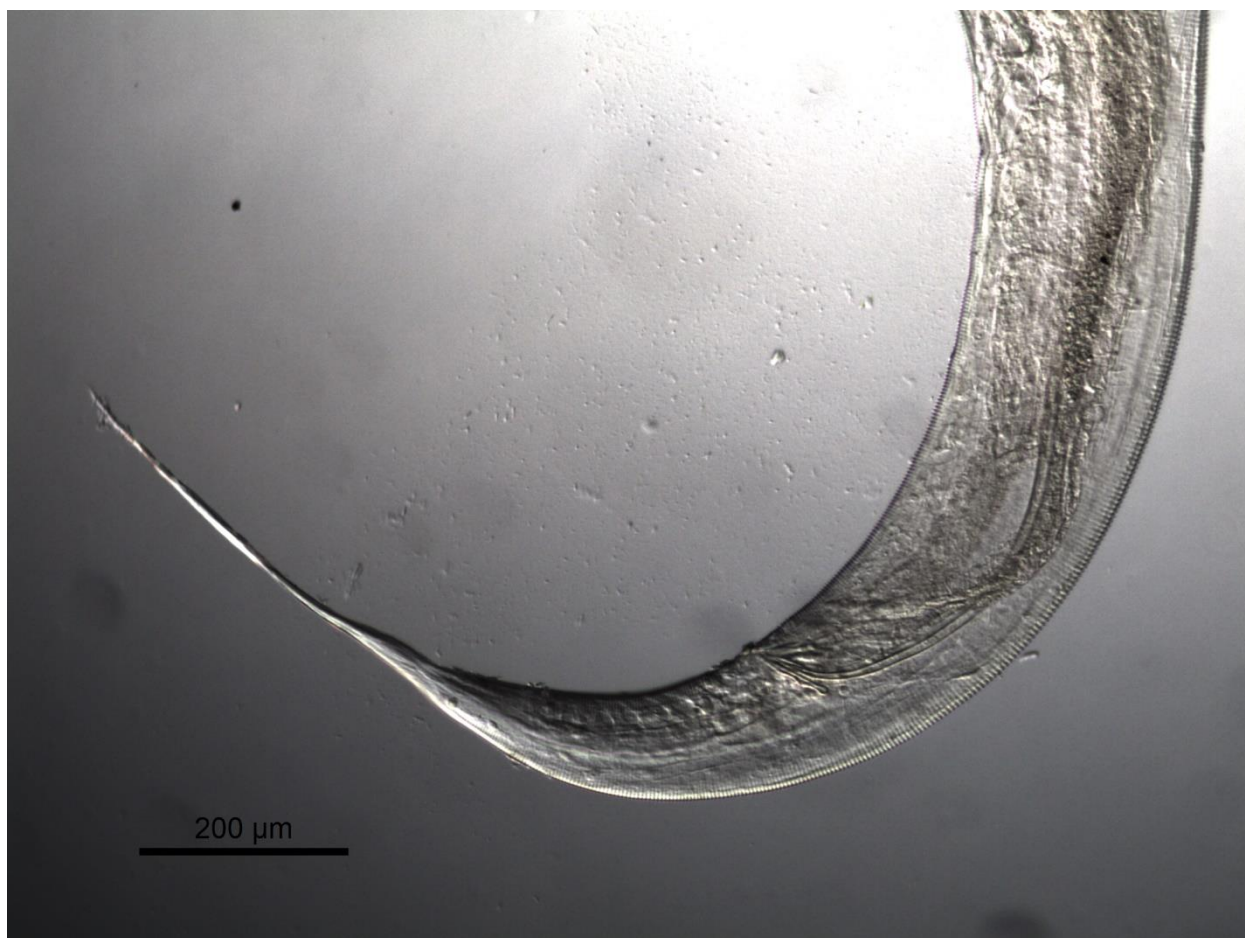


Figura 21 *Orientatractis* sp. 3 de estômago de *Podocnemis unifilis*. Região anterior.

Tabela 3. Morfometria de todas as espécies do gênero *Orientattractis* descritas na literatura e as espécies novas relatadas no atual estudo, com suas principais estruturas morfológicas que as diferenciam.

<i>Orientattractis</i> spp. (machos)	Comprimento (mm)	Espículo direito	Espículo esquerdo	Gubernáculo	Cauda	Papilas da cauda
<i>O. asymmetrica</i>	4.1–4.3	86–104	220–239	56–66	0.836- 0.952	4: 2: 3 + 1 (10 pares)
<i>O. brycini</i>	2.6-3.1	75-90	130-158	29-39	207-257	1: 3: 4 (8 pares)
<i>O. campechensis</i>	3.0-3.5	84-106	430-506	62-74	608-722	0: 5: 4 + 1 (9 pares)
<i>O. chiapasensis</i>	2.7-3.0	60-68	204-238	44-49	460-505	0: 5: 4 + 1 (9 pares)
<i>O. hamabatrachos</i>	3.2-4.3	79-98	146-165	55-67	306-408	2: 1: 5 + 1 (8 pares)
<i>O. leiperi</i>	3.0-3.9	160	470	76		3: 1: 5 + 1 (9 pares)
<i>O. leiperi</i> redescrição	3.12-3.37	90-119	416-491	58-69	648-781	3: 1: 5 + 1 (9 pares)
<i>O. levanhoai</i>	3.3	90	170	40	-	3: 0: 5
<i>O. longicaudata</i>	4.64–5.24	108– 157	325–383	92–125	1.98-2.26	1: 4: 5 + 1 (10 pares)
<i>O. mekongensis</i>	5.3-6.6	90-105	306-384	33-51	435-680	2: 1: 5 (8 pares)
<i>O. moraveci</i>	2.09–3.13	69–100	161–198	38–58	225-270	3: 2: 5: (10 pares)
<i>Orientattractis</i> sp. 1	1.51-3.52	32-56	144-214		273-474	8-15 pares, 3-6 ímpares
<i>Orientattractis</i> sp. 2	4.24-4.32	104	451-571		815-929	8 pares, 3 ímpares
<i>Orientattractis</i> sp. 3	2.8	49	470			> 14 pares

Reino Animalia
Filo Nematoda
Classe Chromadorea
Ordem Rhabdida
Família Camallanidae Railliet & Henry, 1915
Serpinema spp. Harmoster, Svitin e Du Preez, 2019
(Figura 22)

Corpo pequeno enrolado ventralmente. Abertura oral abrindo em uma fenda transversal. Cápsula bucal pequena com presença de duas válvulas, cada uma suportada por raios longitudinais orientados ventralmente e dorsalmente. Esôfago constituído de uma parte anterior muscular e posterior glandular. Região anterior do esôfago se estreitando posteriormente e alargando na região do bulbo. Anel nervoso envolvendo a região anterior do esôfago muscular. Poro excretor localizado na região ventral do corpo, após o esôfago muscular. Machos com um só espículo. Gubernáculo ausente. Asas caudais bem desenvolvidas. Cauda curta e estreita, com uma ponta arredondada nos machos.

Um macho pertencente a espécie *S. cayennensis* foi encontrado no intestino delgado, de um exemplar necropsiado de *P. unifilis* coletado no Rio Araguaia, no município de Itacaiú, Goiás. Nove espécimes de *Serpinema monospiculatus* Freitas & Dobbin Jr., 1962 foram coletadas em *Phrynops geoffroanus* no município de Nova Xavantina, Mato Grosso.

Parasitando o trato gastrointestinal dos quelônios são relatadas as seguintes espécies com seus respectivos hospedeiros: *Serpinema amazonicus* (Ribeiro, 1940) em *P. expansa* e *P. unifilis* coletados no Brasil e Peru; *Serpinema cayennensis* Harmoster, Svitin & Preez, 2019 em *Rhinoclemmys punctularia* (Daudin, 1801), na Guiana Francesa; *Serpinema maghati* (Sprehn, 1932) em *Kinosternon integrum* Le Conte, 1854 na Bolívia, *Kinosternon scorpioides* (Linnaeus, 1766) no Brasil; *Serpinema microcephalus* (Dujardin, 1845) em *Peltocephalus dumerilianus* e *P. expansa* no Brasil; *Serpinema monospiculatus* Freitas & Dobbin Jr., 1962 em *Kinosternon scorpioides* no Brasil, *Mesoclemmys nasuta* (Schweigger, 1812) no Brasil, *Mesoclemmys turbeculata* (Lüderwaldt, 1926) no Brasil e *Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812) no Brasil (Mascarenhas e Müller, 2021). Portanto, este é o primeiro registro *P. unifilis* infectado por *S. cayennensis*.

Hidalgo-Vila *et al.* (2011) realizando estudos com *Trachemys scripta elegans* Wied, 1838 na Espanha encontraram espécimes de *S. microcephalus* infectando o pâncreas de três hospedeiros desses quelônios, constatando um caso inédito de parasitismo nesse órgão.

O ciclo de vida de *Serpinema* spp. é pouco conhecido, acredita-se que tartarugas de água doce podem se infectar ao ingerirem copépodes como hospedeiro intermediário ou se alimentar de um hospedeiro paratênico como os peixes (Moravec, 1998), no entanto, Gonzáles e Hammann (2007) identificaram larva de terceiro estágio de uma espécie de *Serpinema* infectando um anfíbio membro da família Hylidae.

Serpinema cayennensis pode ser claramente diferenciada das demais espécies do gênero pelo número de papilas caudais, formato do espículo e desenvolvimento dos lábios vulvares (Harnoster *et al.*, 2019). Os espécimes do estudo possuem a quantidade de papilas pré cloacais, tamanho de espículo e número de cristas da cápsula bucal que coincidem com *C. cayennensis*.

O gênero *Serpinema* Yeh, 1960 foi criado a partir do gênero *Camallanus* Railliet e Henry, 1915 para incluir as espécies que parasitam tartarugas de água doce, dentro da subfamília Camallaninae (Harnoster *et al.*, 2019), praticamente todos os gêneros são diferenciados pelas estruturas presentes na cápsula bucal, no entanto vários pesquisadores contestam essa afirmação e consideram que *Serpinema* deveria ser considerado um subgênero de *Camallanus* (Harnoster *et al.*, 2019). Harnoster *et al.* (2019) ao descreverem *S. cayennensis*, realizaram análises moleculares para o grupo que evidenciaram a separação dos gêneros, as duas espécies sequenciadas de *Serpinema* se alojaram no mesmo clado enquanto *Camallanus* spp. permaneceram em um subclado separado, portanto, os autores sugerem que que essa espécie deve ser assinalada dentro do gênero *Serpinema*.

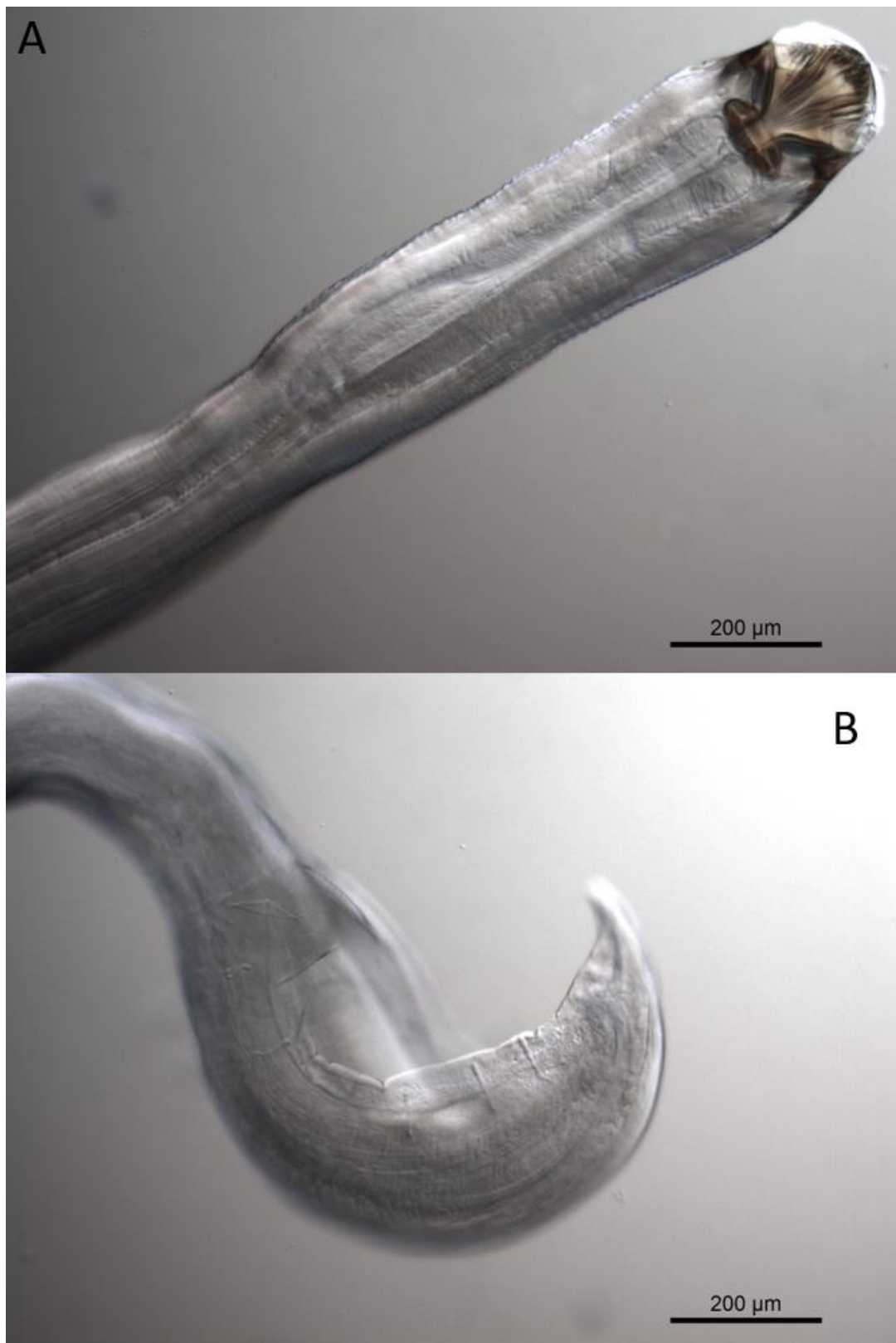


Figura 22 *Serpinema cayennensis* de intestino delgado de *Podocnemis unifilis*. A= região anterior; B= cauda do macho.

HELMINTOS DE CROCODYLIA

Reino Animalia

Filo Platyhelminthes

Classe Trematoda

Ordem Diplostomida

Família Proterodiplostomidae Dubois, 1936

Paradiplostomum abbreviatum Brandes, 1888

(Figura 23)

Corpo claramente dividido em duas partes. A divisão do corpo se dá por uma constrição transversal no nível da extrema parte posterior das glândulas vitelárias e ovário. Parte anterior em formato foliáceo e posterior curta e cilíndrica, ocupada largamente por uma espécie de bolsa copuladora que é bem desenvolvida. Órgão tribocítico pequeno e esférico. Ceco lateral atingindo a base da bolsa copuladora, testículos subesféricos, testículo anterior no limite da divisão das duas partes do corpo, ovário subesférico. Útero ventral intertesticular.

Foram coletados 11 helmintos parasitos pertencentes a espécie *P. abbreviatum* no intestino delgado de um exemplar necropsiado de *Caiman crocodilus* Linnaeus, 1758 coletado no município de Cocalinho, Mato Grosso.

Paradiplostomum abbreviatum tem registro em três espécies pertencentes a ordem Crocodilia: *C. crocodilus*, *Caiman latirostris* Daudin, 1802 e *Caiman yacare* Daudin, 1801 (Lunaschi e Sutton, 1990; Catto e Amato, 1994).

Paradiplostomum La Rue, 1926 foi criado para acomodar digenéticos intestinais pertencentes aos crocodilianos (Dharejo *et al.*, 2011), no entanto, *Paradiplostomum spatulatum* Dharejo, Bilqees & Khan, 2011 descrito na ave *Egretta garzetta* Linnaeus, 1766 no Paquistão e *Paradiplostomum ptychocheilus* Faust, 1917 parasitando patos nos Estados Unidos, difere muito da classe de hospedeiros ao qual o grupo foi proposto originalmente. A morfologia geral desses digenéticos em aves são bastante distintas de *P. abbreviatum* e as espécies em crocodilianos foram registradas no Brasil e Argentina (Van Haitsma, 1930; Lunaschi e Sutton, 1990; Dharejo *et al.*, 2011). Portanto, *Paradiplostomum* spp. parasitando aves, por ser um grupo longe de crocodilianos, as localidades muitos distante tendo

ocorrência em outro continente, e a morfologia se apresentar dissemelhante, sugere que essas espécies sejam revistas.

O registro anterior de *P. abbreviatum* no Brasil foi em Corumbá, Mato Grosso do Sul (Catto e Amato, 1994), logo os espécimes do presente estudo são uma nova ocorrência de localidade.

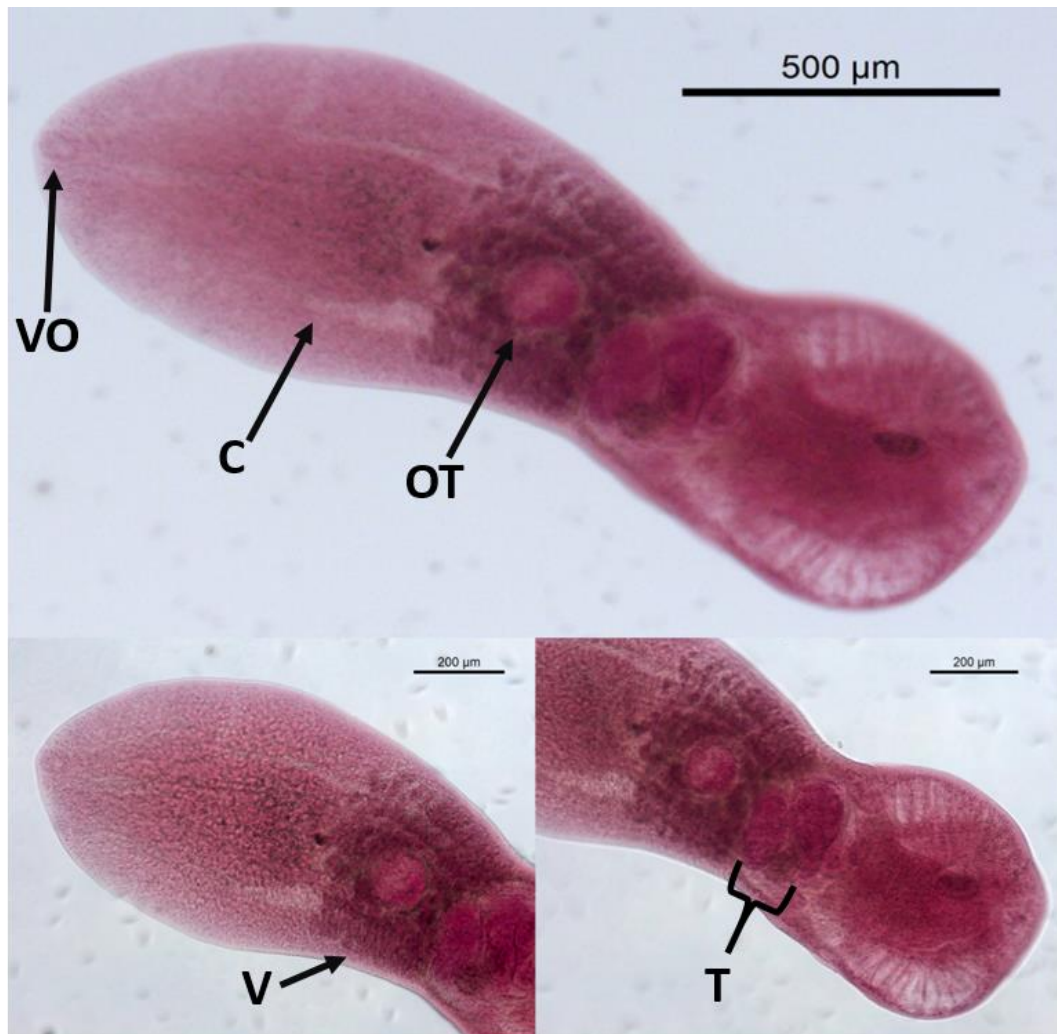


Figura 23 Espécime de *Paradiplostomum abbreviatum* de intestino delgado de *Caiman crocodilus*. C = Ceco; OT = Órgão Tribocítico; T = Testículos; V = Vitelária; VO = Ventosa Oral.

Reino Animalia

Filo Platyhelminthes

Classe Trematoda

Ordem Diplostomida

Família Proterodiplostomidae

Herpetodiplostomum caimancola (Dollfus, 1935) Dubois, 1936

(Figura 24)

Corpo indistintamente bipartido. Região anterior (*forebody*) alongada, em forma de língua. Região posterior (*hindbody*) menor que o *forebody*. Acetábulo mais largo que a ventosa oral. Órgão tribocítico elíptico. Faringe pequena. Distância da bifurcação do ceco intestinal bem anterior ao acetábulo. Ceco não atingindo a região posterior. Testículos em tandem, ocupando a metade do *hindbody*. Glândulas vitelárias atingindo a metade do acetábulo.

Foi coletado apenas um helminto parasito pertencente a espécie *H. caimancola* no intestino delgado de um exemplar necropsiado de *C. crocodilus* coletado no município de Barra do Garças, Mato Grosso.

Herpetodiplostomum é um gênero pequeno dentro dos proterodiplostomídeos digenéticos parasitando os crocodilianos (Achatz *et al.*, 2021). Anteriormente, esse gênero possuía inúmeras espécies as quais foram sendo sinonimizadas de acordo com suas características morfológicas, atualmente apenas três espécies são válidas: *H. caimancola* parasitando *C. crocodilus*, *C. latirostris*, *C. yacare* e *Melanosuchus niger* Spix, 1825 na região Neotropical; *Herpetodiplostomum gavialis* (Narain, 1930) parasitando gaviais na Índia, e *Herpetodiplostomum vogti* Achatz, Brito, Fecchio, Tkach, 2021 parasitando *Phrynosoma geoffroanus* em Cuiabá, Mato Grosso (Narain, 1930; Dubois, 1979; Fernandes e Kohn, 2014; Achatz *et al.*, 2021).

Morfológicamente, os digenéticos do gênero *Herpetodiplostomum* são muito similares com outros membros de proterodiplostomídeos pertencentes ao gênero *Cheloniodiplostomum* parasitos de quelônios, este último foi originalmente incluído dentro de *Herpetodiplostomum*. Estes dois gêneros são separados pela presença de papilas no órgão tribocítico e a região anterior das glândulas vitelárias não ultrapassam o limite posterior do acetábulo em *Herpetodiplostomum* spp., enquanto *Cheloniodiplostomum* spp. há ausência

dessas papilas e as glândulas vitelárias se estendem além da região anterior do acetábulo (Niewiadomska, 2002; Tkach *et al.*, 2020).

Há uma grande divergência entre essa distinção dos gêneros pois *C. testudinis* Dubois, 1936, a espécie tipo para o gênero, possui um órgão tribocítico com papilas (Dubois, 1936). Achatz *et al.* (2021), ao descreverem *H. vogti*, observaram as papilas no órgão de fixação reduzidas que foram fracamente vistas mesmo utilizando um equipamento óptico de boa qualidade. Segundo os autores, é possível que espécies de *Cheloniodiplostomum* descritas anteriormente possam ter papilas poucas desenvolvidas que não foram relatadas.

As estruturas dos aparelhos reprodutivos em proterodiplostomídeos segundo Tkach *et al.* (2020) são de extrema importância para a separação dos gêneros pertencentes a este grupo. No entanto, Achatz *et al.* (2021) constataram que essas estruturas são idênticas tanto em espécies de *Cheloniodiplostomum* quanto em *Herpetodiplostomum*, além da diferença sutil na posição das vitelárias não ser um caractere marcante, os autores propõem que *Cheloniodiplostomum* seja sinônimo e retornou este último para *Herpetodiplostomum*. Testes de DNA seriam intrínsecos para comprovar que são sinônimos, mas até o presente momento não há sequências genéticas para esses gêneros.

Achatz *et al.* (2021) citaram que as diferenças nas posições das vitelárias eram muito sutis para separar o gênero, no entanto os próprios autores usaram deste caractere como um dos métodos para diferenciar as espécies de *Herpetodiplostomum*. Em relação à morfologia dessas estruturas, no espécime do presente estudo, as glândulas vitelárias atingem a metade do acetábulo diferindo da descrição original de *H. caimancola* por não chegar a atingir no nível do acetábulo. *Herpetodiplostomum testudinis*, *H. brevis* e *H. argentinensis* são as únicas espécies do grupo que parasitam de quelônios, isto pode ser explicado pois a distribuição geográfica dos hospedeiros dessas espécies sobrepõe a dos jacarés e pode ter havido uma migração de hospedeiros definitivos (Achatz *et al.*, 2021).

Segundo Achatz *et al.* (2021), *H. gavialis* pode não ser uma espécie válida dentro do grupo por não ter sido descrito o órgão paraprostático na descrição original, estrutura essa que é característica para os *Herpetodiplostomum* spp., além de sua localidade ser singular, na Índia, todas as outras espécies se localizam na região Neotropical e parasitam jacarés e tartarugas, e *H. gavialis* parasita gaviais.

Membros de *Cheloniodiplostomum* Sudarikov, 1960 foram originalmente colocados dentro de *Herpetodiplostomum*, Achatz *et al.*, 2021 demonstraram que as características

morfológicas que diferenciam o grupo possuem falta de consistência e sinonimizou *Cheloniodiplostomum*.



Figura 24 Espécime de *Herpetodiplostomum caimancola* de intestino delgado de *Caiman crocodilus*. A= Acetábulo; T = Testículos.

Reino Animalia
Filo Platyhelminthes
Classe Trematoda
Ordem Diplostomida
Família Proterodiplostomidae
Proterodiplostomum spp. Dubois, 1936
(Figura 25, Figura 26, Figura 27)

Corpo bipartido. Região anterior (*forebody*) em forma de espátula. Região posterior (*hinbody*) alongado, cilíndrico. Testículos em tandem. Ovário pré-testicular. Vitelária se iniciando na região do acetábulo e em direção a região posterior. Glândula paraprostática bem desenvolvida.

Este gênero compreende espécies que são exclusivamente parasitos de jacarés da América do Sul, até pouco tempo atrás cinco espécies eram válidas para o gênero: *Proterodiplostomum breve* Catto & Amato, 1994 parasitando *Caiman yacare* no Brasil; *Proterodiplostomum globulare* Catto & Amato, 1994 parasitando *C. yacare* no Brasil; *P. Proterodiplostomum longum* (Brandes, 1888) Dubois, 1936 parasitando cinco hospedeiros: *Caiman* sp., *M. niger*, *Paleosuchus* sp. no Brasil, *C. yacare* no Paraguai, *C. crocodilus* na Venezuela, *Proterodiplostomum medusae* Dubois, 1936 parasitando *C. crocodilus* no Brasil e Venezuela, *Caiman* sp. e *C. yacare* no Brasil, e *Proterodiplostomum tumidulum* Dubois, 1936 parasitando *C. crocodilus* no Brasil (Fernandes e Kohn, 2014).

O gênero *Proterodiplostomum* possuía o maior número de espécies dentro de proterodiplostomídeos, mas Tkach *et al.* (2020), ao revisarem esse grupo, demonstraram que apenas três espécies eram válidas: *P. longum*, *P. tumidulum* e *P. medusae*. Além disso, criaram o gênero *Proteroduboisia* para alocar *P. globulare* que possui estruturas morfológicas e grande divergência molecular que não condizem com os *Proterodiplostomum* spp. No entanto, Achatz *et al.* (2022), excluíram *P. medusae* de *Proterodiplostomum* devido à ausência de uma estrutura muscular em forma de ventosa no átrio genital, comum para o grupo, e os autores realizando análise filogenética observaram que *P. medusae* agrupou como grupo irmão de todas as espécies de *Proterodiplostomum* em um ramo longo e bem suportado. Este ramo na árvore filogenética indica uma diferença expressiva dos membros de *Proterodiplostomum*,

sendo então estabelecido de acordo com a morfologia e análises moleculares um novo gênero, *Nattererodiplostomum*, para alocar *P. medusae*.

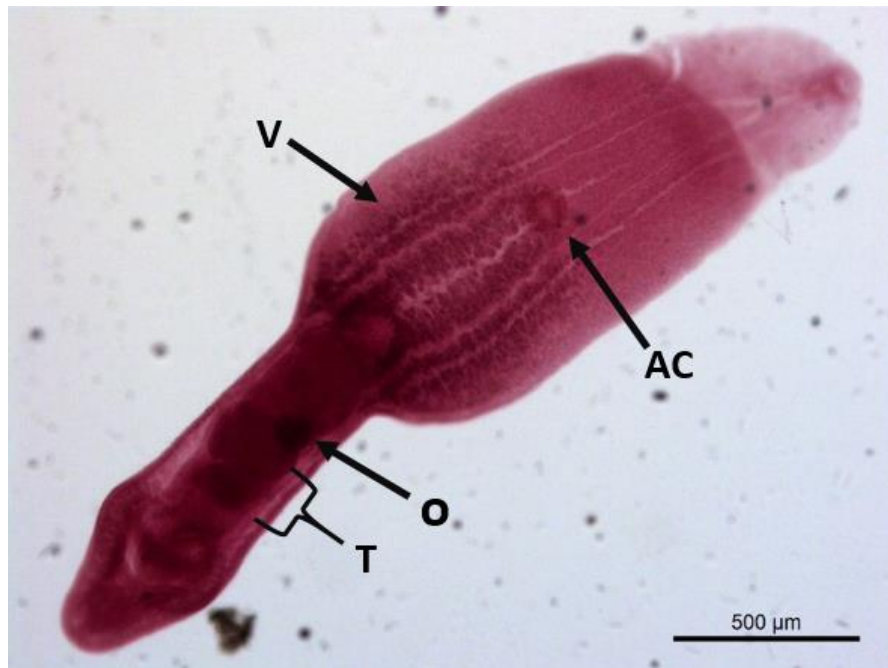


Figura 25 Espécime de *Proterodiplostomum breve* de intestino delgado de *Caiman crocodilus*. AC = Acetábulo; O = Ovário; T = Testículos; V = Vitelária.

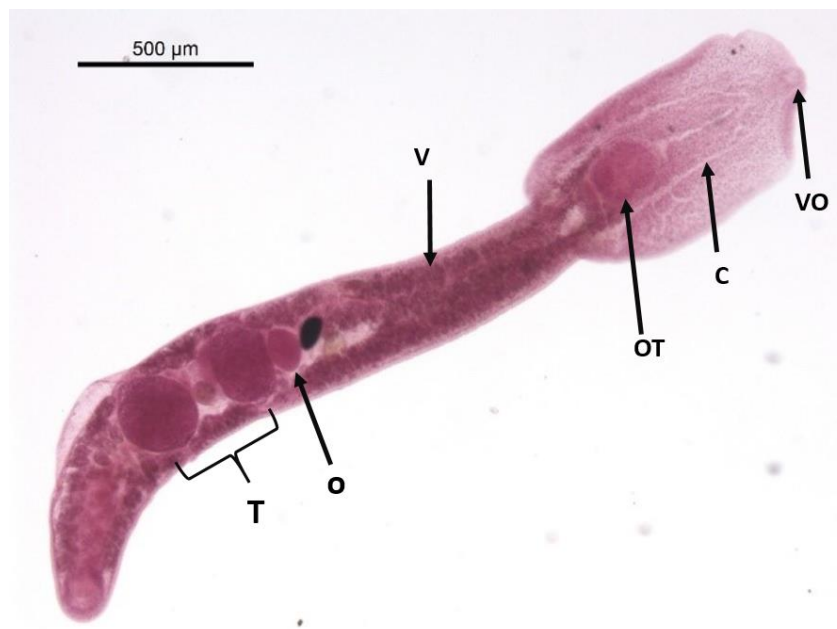


Figura 26 Espécime de *Proterodiplostomum globulare* de intestino delgado de *Caiman crocodilus*. C = Ceco; O = Ovário; OT = Órgão Tribocítico; T = Testículos; V = Vitelária; VO = Ventosa Oral.



Figura 27 Espécime de *Proterodiplostomum medusae* de intestino delgado de *Caiman crocodilus*. C = Ceco; T = Testículos

Foi encontrado também dois exemplares jovens de diplostomídeos em um dos hospedeiros, os quais não puderam ser identificados (**Figura 28**).

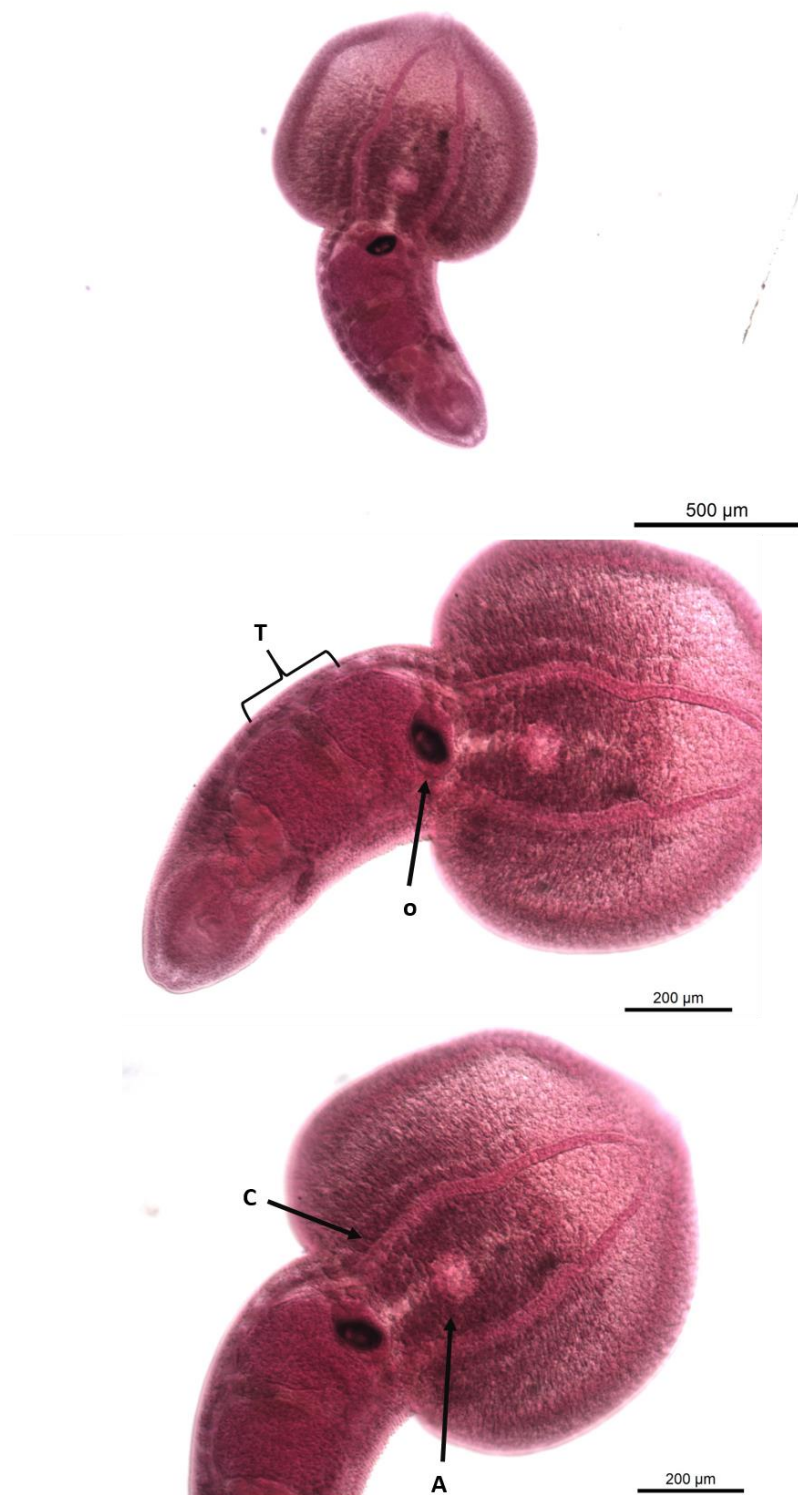


Figura 28 Espécime jovem de diplostomídeo de intestino delgado de *Caiman crocodilus*. A= Acetábulo; C = Ceco; O = Ovário; T = Testículos.

Reino Animalia
Filo Platyhelminthes
Classe Trematoda
Ordem Plagiorchiida
Família Pachypsolidae Yamaguti, 1958
Pachypsolus sclerops Travassos, 1922
(Figura 29)

Corpo elíptico. Ventosa oral larga. Acetábulo bem evidente, mais largo do que a ventosa oral, presente na região equatorial ocupando boa parte do tamanho do corpo. Esôfago curto. Ceco dividido, bastante sinuoso. Testículos largos, e oblíquos. Vitelária posterior ao acetábulo, restrita a região posterior do corpo.

Foi coletado apenas um helminto parasito pertencente a espécie *P. sclerops* no intestino grosso de um exemplar necropsiado de *C. crocodilus* capturado no município de Barra do Garças, Mato Grosso.

Para a América do Sul, *P. sclerops* possui registro no Brasil em *C. crocodilus*, *C. yacare* e *Paleosuchus palpebrosus* Cuvier, 1807, habitando o intestino e cloaca dos hospedeiros (Fernandes e Kohn, 2014).

A família Pachypsolidae é composta apenas pelo gênero *Pachypsolus*, dentro desse grupo há poucas espécies. São encontradas parasitando o trato digestivo de quelônios marinhos e crocodilianos (Blair, 2008). *Pachypsolus sclerops* foi descrito originalmente em um crocodiliano da América do Sul e as demais espécies pertencentes a este gênero foram descritas em quelônios marinhos (Ponce de León *et al.*, 1996).

Sete espécies foram descritas para o gênero: *Pachypsolus irroratus* (Rudolphi, 1819) Looss, 1901 encontrados nos hospedeiros, *Caretta caretta* (LINNAEUS, 1758) e *Chelonia mydas* (LINNAEUS, 1758); *Pachypsolus lunatus* Looss, 1901 em *C. caretta*; *Pachypsolus ovalis* Linton, 1910 em *C. caretta*, *C. mydas* e *Eretmochelys imbricata* (LINNAEUS, 1766) *Pachypsolus tertius* Pratt, 1914 em *C. caretta*; *Pachypsolus brachus* Barker, 1922 em *E. imbricata* e *C. mydas*; *Pachypsolus puertoricensis* Fischthal & Acholonu, 1976 em *E. imbricata* e *P. sclerops* em *C. crocodilus* (Euzet *et al.*, 1972; Blair e Limpus, 1982). *Pachypsolus sclerops* possui ecologia distinta e características morfológicas particulares que claramente se distingue das demais espécies (Euzet *et al.*, 1972). Blair e Limpus, (1982) consideram que as demais espécies do

gênero que parasitam tartarugas marinhas são muito semelhantes entre si e representam uma única espécie, *P. irroratus*, reconhecendo então que são válidas *P. irroratus* com ampla distribuição no mundo e *P. sclerops* com distribuição exclusiva para a América Latina.

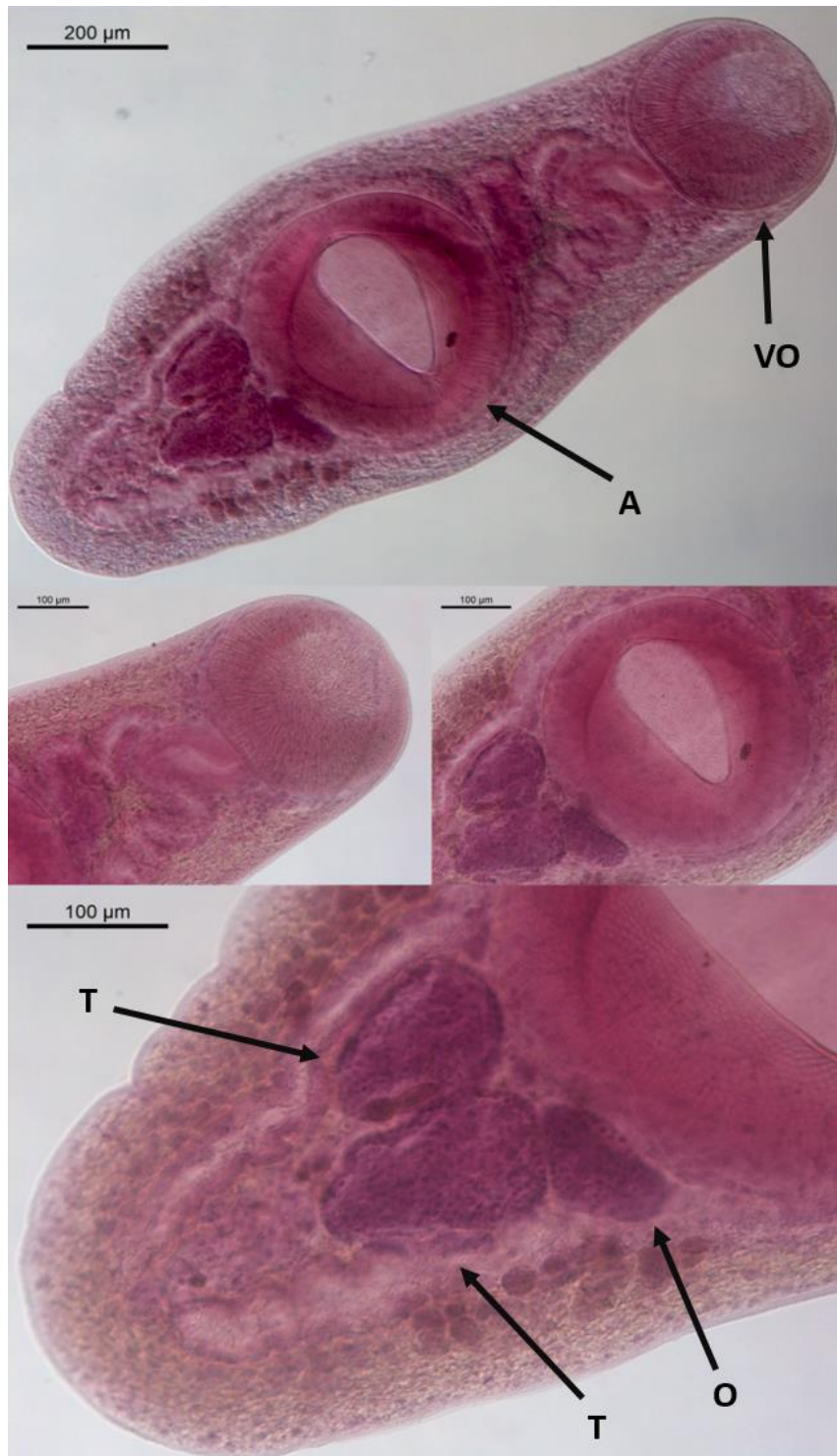


Figura 29 Espécime de *Pachypsolus sclerops* de intestino grosso de *Caiman crocodilus*. A= Acetábulo; O = Ovário; T = Testículos; VO = Ventosa Oral.

Reino Animalia
Filo Acanthocephala
Classe Polyacanthocephala
Ordem Polyacanthorhynchida
Família Polyacanthorhynchidae Golvan, 1956
Polyacanthorhynchus rhopalorhynchus Diesing, 1851
(Figura 30, Figura 31)

Tronco muito longo. Probóscide claviforme, com numerosos ganchos longitudinais que diminuam de tamanho ao longo do sentido posterior.

Foram coletados 30 helmintos pertencentes ao filo Acanthocephala, espécie *Polyacanthorhynchus rhopalorhynchus* parasitando o intestino delgado de três indivíduos de *Caiman crocodilus* coletados em propriedades rurais dos municípios de Barra do Garças e Cocalinho ambos no estado do Mato Grosso.

Há registros de ocorrência de *P. rhopalorhynchus* para *C. yacare* (Tavares *et al.*, 2017) além de peixes como *Hoplias malabaricus* Bloch, 1794 e *Arapaima gigas* Schinz, 1822 (Amin, 1996; Santos *et al.*, 2008).

Santos *et al.* (2008) realizaram um estudo de helmintofauna em *A. gigas* em lagoas temporárias isoladas do rio Araguaia e lagoas com ligação com permanente a este rio, na mesma cidade que o presente estudo. Ao contrário de um hospedeiro crocodiliano, os autores encontraram *P. rhopalorhynchus* parasitando o peixe citado.

Os acantocéfalos possuem ciclo de vida heteróximo, requerem um hospedeiro intermediário como ostrácos e copépodes e hospedeiro definitivos como as aves, mamíferos, peixes e répteis (Santana *et al.*, 2017). Cistacantos de *P. rhopalorhynchus* se alojam nas vísceras de peixes de água doce que fazem parte da dieta de crocodilianos (Catto, 1991; Amin *et al.*, 1996).

São parasitos que causam um dano tecidual no órgão que ele se fixa no hospedeiro, devido as proglotes com ganchos que são inseridas na parede do intestino (Amin *et al.*, 2015). O órgão de fixação chamado de probóscide é bem desenvolvido para esse grupo (Amin e Dezfúli, 1995). Os números de linhas de ganchos e sua quantidade presentes na probóscide são caracteres para identificação das espécies (Catto, 1991; Amin e Dezfúli, 1995).

Ao todo, são descritas seis espécies distribuídas na América Latina e África: *Polyacanthorhynchus caballeroi* Diaz-Ungria & Rodrigo 1960 em *C. yacare*; *Polyacanthorhynchus echiyensis* Echi, Suresh, Sanil, Iyaji, Nwani, Ejere, 2015 no peixe *Synodontis batensoda* Rüppell, 1832; *Polyacanthorhynchus kenyensis* Schmidt & Canaris, 1967 nos peixes *Tilapia* sp., *Micropterus salmoides* (Lacepède, 1802; *Polyacanthorhynchus macrorhynchus* (Diesing, 1851) em *Caiman* sp.; *Polyacanthorhynchus nigerianus* Echi, Suresh, Sanil, Iyaji, Nwani, Ejere, 2015 no peixe *Synodontis batensoda* Rüppell, 1832 e *Polyacanthorhynchus rhopalorhynchus* em *C. crocodilus* (Schmidt e Canaris, 1967; Amirthalingam, 1973; Amin e Dezfuli, 1995; Amin *et al.*, 1996; García-Varela e Nadler, 2006; Echi *et al.*, 2015; Santana *et al.*, 2017).

Echi *et al.* (2015) propuseram duas espécies: *P. echiyensis* e *P. nigerianus* parasitando um peixe, *Synodontis batensoda* Rüppell, 1832 coletado no continente africano, no entanto, os autores não se basearam em parâmetros morfológicos, mas fizeram apenas estudos moleculares e compararam com única espécie até então depositada no GenBank/NCBI, *P. caballeroi*. Sugere-se que seja feito uma revisão morfológica para essas duas espécies em questão.

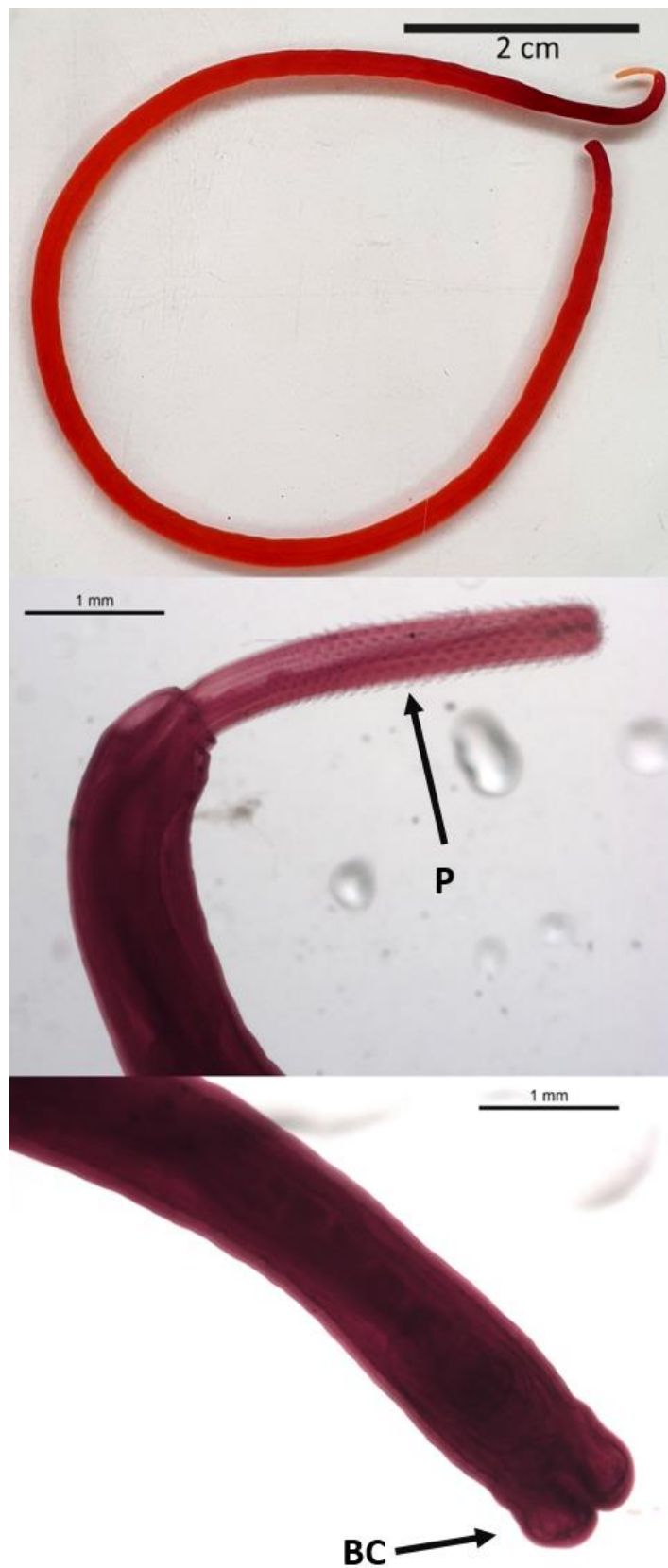


Figura 30 Adulto de *Polyacanthorhynchus rhopalorhynchus*. Coletado no intestino de *Caiman crocodilus*. BC = Bolsa copuladora; P = Probóscide.

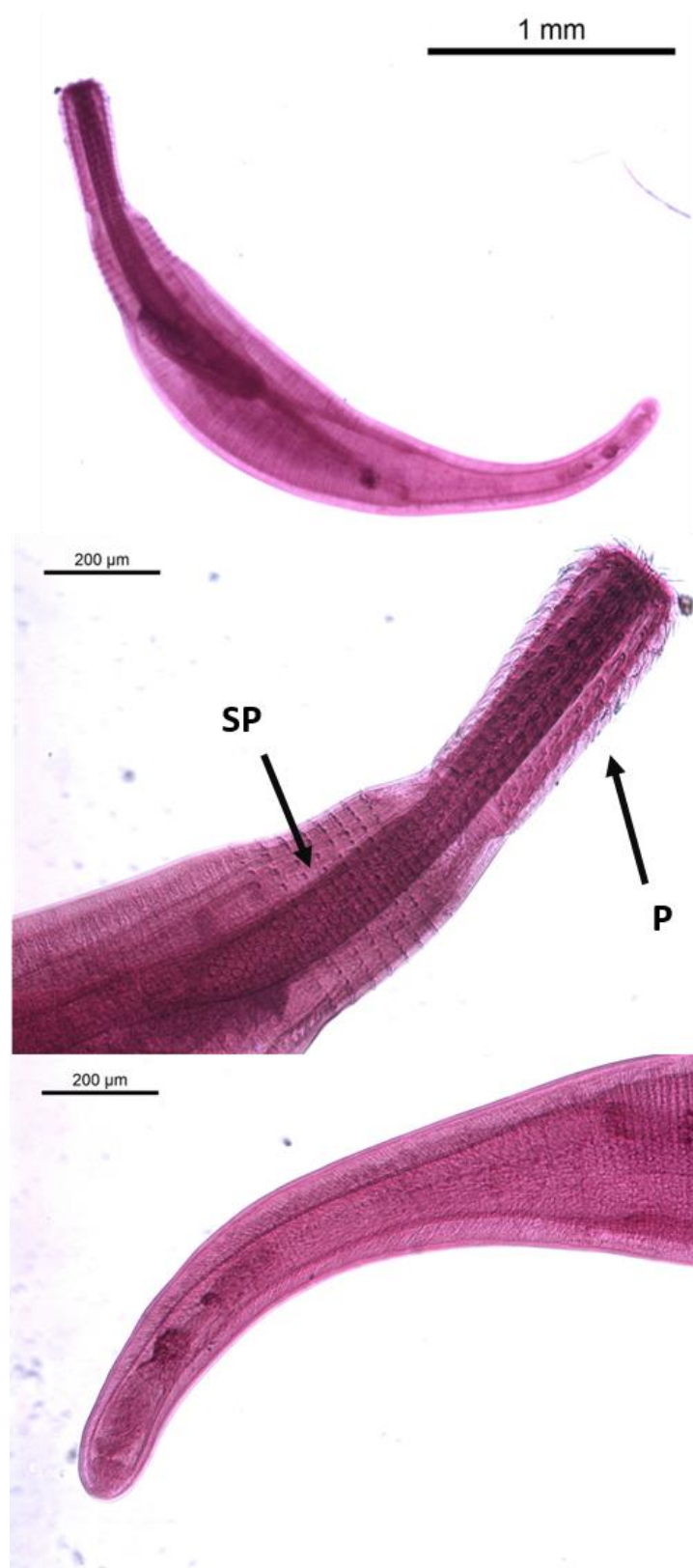


Figura 31 Jovem de *Polyacanthorhynchus rhopalorhynchus*. Coletado no intestino de *Caiman crocodilus*. SP = Saco da Probóscide; P = Probóscide.

Reino Animalia

Filo Nematoda

Classe Chromadorea

Ordem Rhabdida

Família Heterocheilidae

Brevimulticaecum stekhoveni (Baylis 1947)

(Figura 32)

Lábios de grande volume. Esôfago terminando em ventrículo com quatro apêndices.

Foram encontrados 107 *B. stekhoveni* parasitando o estômago de um indivíduo de *C. crocodilus* e inúmeros *Brevimulticaecum* sp. encontrados em dois indivíduos do mesmo hospedeiro, capturados em propriedades rurais no município de Cocalinho pertencente ao estado do Mato Grosso. Doze larvas encistadas de *Brevimulticaecum* sp. foram encontradas na serpente *Helicops angulatus* no município de Brasilândia pertencente ao estado do Mato Grosso do Sul. Inúmeras larvas de *Brevimulticaecum* sp. encontradas em três indivíduos de *Helicops infrataeniatus* Jan, 1865 no município de Brasilândia pertencente ao estado do Mato Grosso do Sul. Uma larva encistada de *Brevimulticaecum* sp. em *Tropidurus oreadicus* capturado no município de Brasilândia pertencente ao estado do Mato Grosso do Sul, por ser tratarem de larvas não foi possível a sua identificação a nível de espécie.

Dez espécies pertencentes ao gênero foram descritas para a África, América e Oceania (Vieira *et al.*, 2010). Na América do Sul são encontradas quatro espécies parasitando principalmente o estômago e em poucos casos o esôfago, são elas: *B. baylisi* em *C. crocodilus*; *Brevimulticaecum gibsoni* (Sprent, 1979) em *M. niger*; *Brevimulticaecum stekhoveni* (Baylis 1947) em *C. crocodilus*, *C. latirostris* e *M. niger* e *Brevimulticaecum pinto* Sprent, 1979 em *C. crocodilus*.

O crocodiliano *C. crocodilus* é hospedeiro de várias espécies de nematoides pertencentes as famílias Ascarididae, Anisakidae e Trichinellidae (Tellez, 2013), particularmente o gênero *Brevimulticaecum* pertence à família Heterocheilidae (Santana *et al.*, 2023).

O gênero é caracterizado por possuir boca com três lábios em forma de diamante, margem distais dos lábios separadas da região cefálica por um sulco distinto, três interlábios bem desenvolvidos e apêndices ventriculares (Vicente *et al.*, 1993, Gibbons, 2010). *B.*

*stekhoveni*é distinto das outras espécies congêneres por apresentar ventrículo com 5 apêndices.

Sobre o ciclo de vida os crocodilianos, raias de água doce e teleósteos são considerados seus hospedeiros definitivos, larvas de *Brevimulticaecum* foram encontradas nos anfíbios, serpentes e peixes de água doce que são seus hospedeiros intermediários (Vieira *et al.*, 2010).

Santana *et al.* (2023) ao analisarem *B. baylisi* dentro do estômago de *C. crocodilus* encontraram úlceras devido a infecção do nematoide, alterações na muculatura, fibroses e reações inflamatórias nas áreas em que eles se fixaram. Apesar das lesões patológicas encontradas no estômago, Cardoso et al, (2013) demonstraram em seu estudo que todos os crocodilianos examinados estavam em perfeita condição nutricional sugerindo que essas lesões têm efeito mínimo para os crocodilianos.



Figura 32 *Brevimulticaecum cf. baylisi* de estômago de *Caiman crocodilus*. A= região anterior; B= ventrículo; C= região posterior do macho, evidenciando o ventrículo.

Reino Animalia

Filo Nematoda

Classe Secernentea

Ordem Ascaridida

Família Ascarididae

Toxocara cf. mystax (Zeder, 1800)

(Figura 33)

Extremidade anterior curvada ventralmente, asas cervicais em forma de ponta de flecha com bordas posteriores de maior largura.

Em Cocalinho, Mato Grosso foram coletados 3 *C. crocodilus* parasitados por *Toxocara cf. mystax* no intestino delgado em duas fazendas, sendo o número de nematoides coletados no hospedeiro de: 3 exemplares, 7 exemplares e 13 exemplares em cada crocodiliano.

Atualmente há 26 espécies de *Toxocara* Stiles & Hassall, 1905 descritas em todo mundo (Ziegler e Macpherson, 2019). No trabalho realizado por Zhao *et al.* (2015) sobre parasitas intestinais em *Alligator sinensis* Fauvel, 1879, na China, foi identificado *Toxocara* spp. no hospedeiro. Os autores também mencionaram outras fontes literárias que relatam a presença de *Toxocara* spp. Contudo, ao revisar essas literaturas, observou-se que nenhuma delas registrou a ocorrência de espécies do gênero.

Tarczyński (1957) alertou sobre a importância na área da saúde humana sobre infecções de *T. mytax* em seres humanos demonstrando seu potencial zoonótico, anteriormente a infecção em humanos era considerada casos excepcionais de pouca relevância sendo comum apenas em animais. Espécies do gênero *Toxocara* Stiles, 1905 representa uma das mais comuns zoonoses causadas por helmintos, particularmente *Toxocara canis* (Werner, 1782) Stiles, 1905 e *Toxocara cati* (Schrank, 1788) (Poulsen *et al.*, 2015).

No seu ciclo evolutivo após o hospedeiro ingerir ovos larvados de segundo estágio que podem estar presentes no solo ou em superfícies contaminadas com fezes de animais contaminados, assim como a ingestão de hospedeiro intermediários que podem ser roedores, minhocas, baratas, galinhas ovinos e dentre outros animais, as larvas penetram na parede do estômago e migram para fígado pulmões e traqueia retornando novamente para o estômago

onde ocorre desenvolvimento da larva no conteúdo estomacal e intestino (Otranto e Eberhard, 2011; Taylor *et al.*, 2017)

Sprent (1956) comenta que, embora vários autores façam uso da espécie *T. mystax*, não há dúvida de que está ainda é considerada como sinônimo de *T. cati*. Anos após Ziegler e Macpherson, (2019) também corroboram afirmando que a espécie era aceita como *T. mystax* mas posteriormente descobriram que trata-se da mesma espécie *T. cati*, sendo está a espécie válida. Contudo mais recentemente já se admite que *T. cati* é uma sinonímia de *T. mystax* por vários registros na literatura (Krone *et al.*, 2008; Darabi *et al.*, 2021; Sidikhov *et al.* 2023; Shakarboev e Berdibaev, 2023).

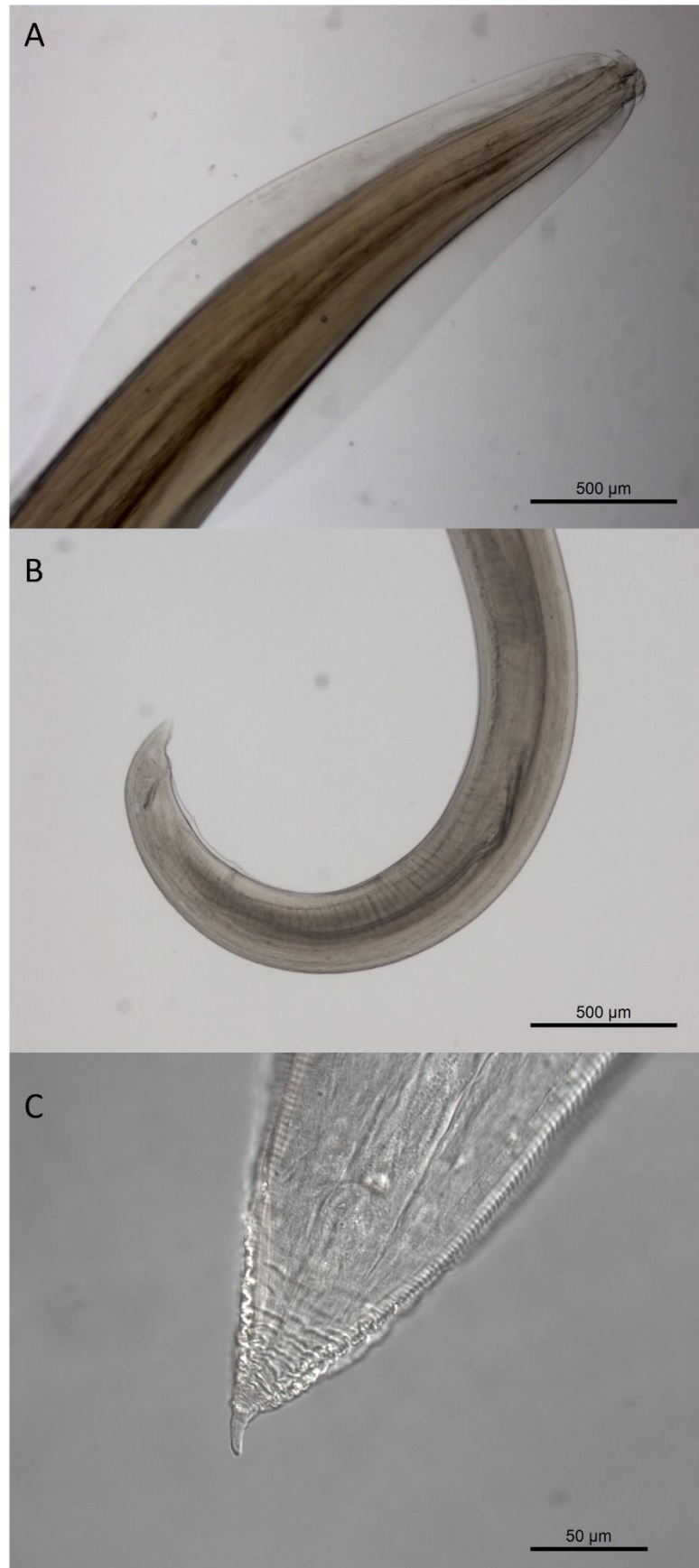


Figura 33 *Toxocara* cf. *mystax* de intestino delgado de *Caiman crocodilus*. A= região anterior; B= região posterior do macho; C= cauda.

HELMINTOS DE TESTUDINES

Reino Animalia

Filo Platyhelminthes

Classe Trematoda

Ordem Plagiorchiida

Família Cladorchiidae Fiscoeder, 1901

Nematophila spp. (Diesing, 1839) Travassos, 1934

(Figura 34, Figura 35, Figura 36)

Corpo grande, oval e largo, ventralmente côncavo. Tegumento espesso sem espinhos. Acetábulo pequeno ou médio comparado com o corpo, ventral, situado na parte extrema posterior. Esôfago curto. Ceco terminando próximo ao acetábulo. Testículos no meio do corpo intercecais. Saco do cirro não é fortemente desenvolvido. Vitelária extracecal, lateral ao corpo.

Apenas um exemplar de *Nematophila* sp. foi encontrado no intestino grosso de um exemplar necropsiado de *Phrynops geoffroanus* Schweigger, 1812, no rio Vermelho, município de Britânia, Goiás. Foram necropsiados dois hospedeiros de *Podocnemis expansa* Schweigger, 1812 sendo que em um deles foram encontrados 12 exemplares de *Nematophila* sp. no estômago e no outro hospedeiro 171 exemplares de *Nematophila* sp. também no estômago, ambos os hospedeiros foram coletados na mesma região no rio Araguaia no município de Itacaiú, Goiás. Um hospedeiro de *P. unifilis* foi necropsiado e foram encontrados em seu estômago, sete exemplares de *Nematophila grandis* (Diesing, 1839) Travassos, 1934, no rio Araguaia no município de Itacaiú, Goiás.

Diferentes quelônios de água doce hospedeiros de espécies de *Nematophila* são registrados na América Central e América do Sul (Salízar e Sánchez, 2004). Foi reportado *N. grandis* parasitando quelônios do vale do Amazonas os seguintes hospedeiros: *Chelus fimbriata* Schneider, 1783; *Phrynops geoffroanus* Schweigger, 1812; *Mesoclemmys gibba* Schweigger, 1812; *Peltocephalus dumerilianus* Schweigger, 1812; e *P. expansa* (Travassos, 1934).

Atualmente há três espécies de *Nematophila*, todas parasitando diversos táxons de quelônios: *Nematophila argentinum* Cordero & Vogelsang, 1940 com registros na Argentina e

Colômbia; *N. grandis* com registros na Argentina e Brasil e *Nematophila venezuelensis* Cordero & Vogelsang, 1940 encontrados na Colômbia e Venezuela (Fernandes e Kohn, 2014).

Sánchez *et al.* (2006), em um estudo helmintológico de parasitos gastrointestinais de *P. unifilis* em Iquitos no Peru, demonstraram que 100% de *P. unifilis* estavam parasitados com *N. grandis* no estômago e intestino grosso.

Lenis e Vélez (2011) sugerem que seja feita uma revisão dos registros de *N. grandis* para América pois há espécies classificadas erroneamente, os autores também propuseram a criação do gênero *Pseudonematophila* que possui uma ventosa genital e exclusivas papilas no tegumento, transferindo então *Nematophila ovalis* para o gênero em questão. Logo é evidente que haja um complexo de espécies para o grupo.

A análise morfológica realizada até o momento aponta que estes espécimes do presente estudo possam ser espécies novas. Foram encontrados dois morfotipos distintos, o primeiro diferencia-se de *N. grandis* (**Figura 35**) por apresentar testículos muito robustos, cecos intestinais sinuosos e vitelária com folículos grandes, o segunda morfotipo (**Figura 36**) possui características morfológicas muito diferentes, que chama a atenção pelas suas dimensões, cujo comprimento é de cerca de 3 cm e muito espessa, o que dificultou a observação de estruturas internas. Apesar disso, a morfologia é consistente com o gênero *Nematophila*. *Nematophila argentinum* possui como característica o testículo obliquo, diferente dos testículos em tandem dos morfotipos do estudo e útero passando entres os testículos, do presente estudo o útero é dorsal aos testículos. Comparado com *N. venezuelensis*, este possui vitelárias muito menores.

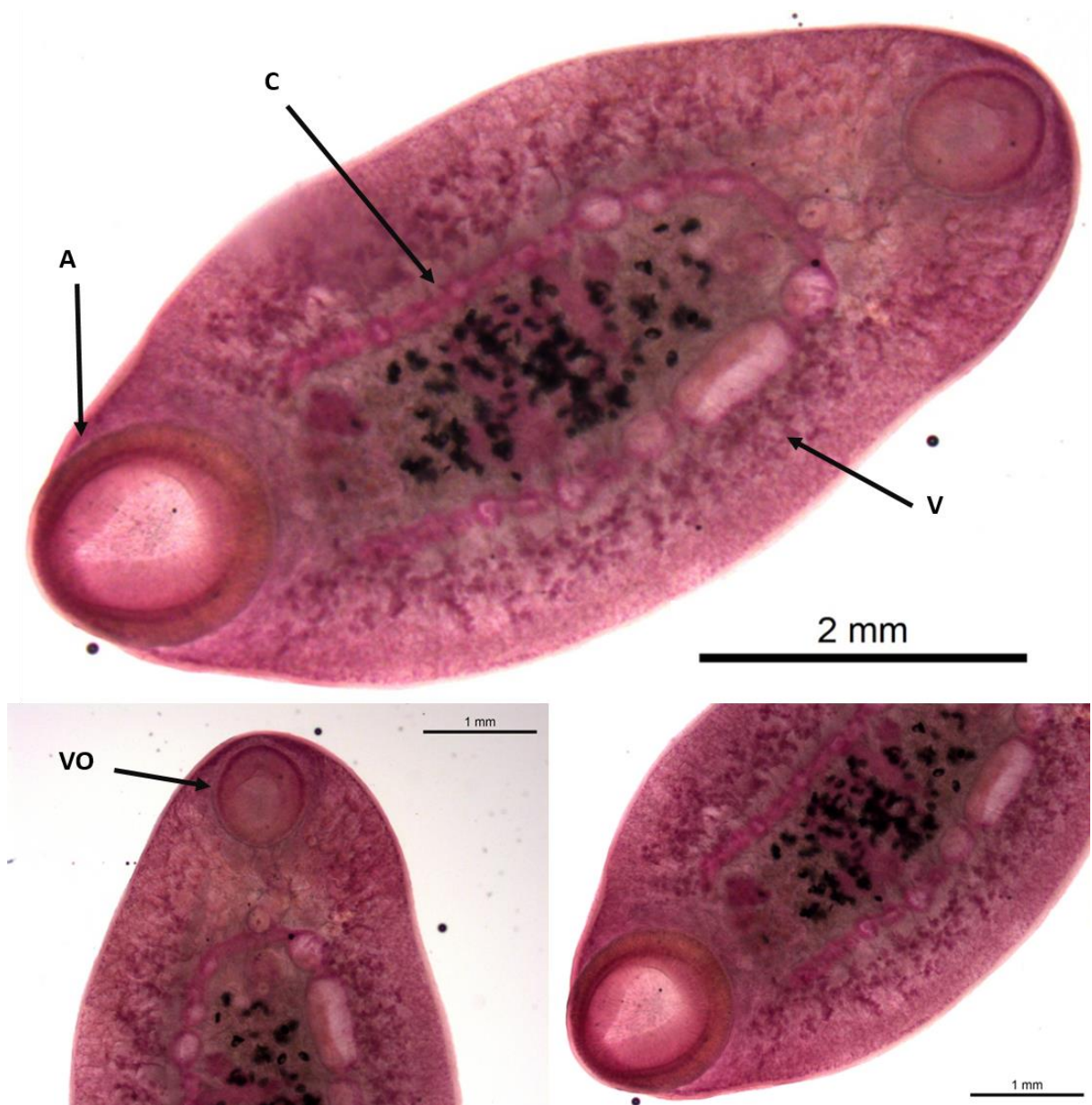


Figura 34 Espécime de *Nematophila grandis* coletado no intestino grosso de *Phrynosops geoffroanus*. A = Acetábulo; C = Ceco; V = Vitelária; VO = Ventosa Oral.



Figura 35 Espécime de *Nematophila* sp. 1 coletado no estômago de *Podocnemis expansa*. A = Acetábulo; C = Ceco; V = Vitelária.

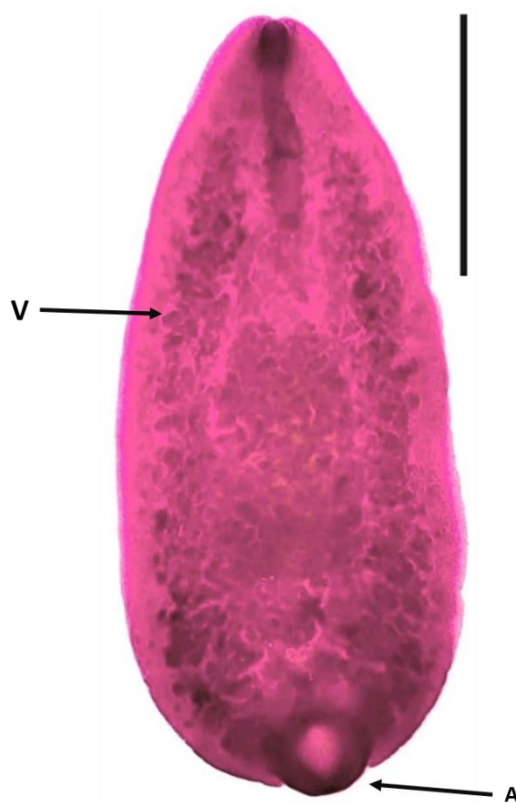


Figura 36 Espécime de *Nematophila* sp. 2 coletado no estômago de *Podocnemis unifilis*. Escala 1 cm. A = Acetábulo; V = Vitelária.

Reino Animalia
Filo Nematoda
Classe Chromadorea
Ordem Rabditida
Família Gnathostomatidae Railliet, 1895
Spiroxys sp. *Schneider, 1866*
(Figura 37, Figura 38)

Abertura oral é rodeada por dois lábios laterais trilobados grandes. Macho com asa caudal bem desenvolvida. Presença de papilas caudais. Espículos de tamanho desigual.

Um exemplar de *Phrynops geoffroanus* foi coletado no rio Vermelho pertencente ao município de Britânia, Goiás. Ao todo seis nematoides de *Spiroxys* sp. foram coletados no estômago do hospedeiro. Em Brasilândia, Goiás um exemplar de *Anolis meridionalis* estava parasitado com uma larva encistada no estômago de *Spiroxys* sp. e um exemplar de *Hemidactylus mabouia* foi encontrado também uma larva de *Spiroxys* sp. no mesentério.

Nematoides adultos do gênero *Spiroxys* são parasitos de trato gastrointestinal de anfíbios e répteis sendo mais prevalente em estômago e duodeno de quelônios (Berry, 1985), mais de 17 espécies são registradas em todo mundo parasitando quelônios não marinhos, ranídeos, urodelos e serpentes (Hasegawa *et al.*, 1998; Rakhshandehroo *et al.*, 2020), seus registros abrangem quase todas as regiões zoogeográficas do mundo (Berry, 1985).

Sobre a distribuição geográfica dos hospedeiros é possível que o gênero *Spiroxys* Schneider, 1866 possa ter surgido nas regiões Oriental e Holártica e possivelmente em quelônios não marinhos da subordem Cryptodira (Berry, 1985).

Santos *et al.* (2009) realizando um estudo de larvas de nematoide em peixes carnívoros no Reservatório de Três Marias no Rio São Francisco, Brasil encontraram larvas de terceiro estágio de *Spiroxys* sp. nas espécies: *Pygocentrus piraya* (Cuvier, 1819), *Serrasalmus brandtii* Lütken, 1875 e *Cichla kelberi* Kullander & Ferreira, 2006, estes registros promovem um novo entendimento do ciclo de vida desse parasito e indica que esses peixes carnívoros presentes neste local, servem de hospedeiro paratênico para *Spiroxys* sp. São relatados também como hospedeiro paratênico larvas de *Spiroxys* spp. em: ninfa de libélula, moluscos, outros peixes e anuros anfíbios (Mascarenhas e Müller, 2015).

Durante seu ciclo de vida, os quelônios infectados liberam ovos juntamente com as fezes na água, em um período de três dias as larvas eclodem dos ovos e são ingeridas por um copépoda, dentro da hemocele deste e se desenvolverá em larva de terceiro estágio tornando-se infectante, quando ocorrer a ingestão de um copépoda por um quelônio, seu hospedeiro definitivo, as larvas irão amadurecer até se tornarem adultas (Moravec, 1998).

O comportamento alimentar das espécies do gênero é pouco elucidado, algumas espécies invadem a parede estomacal formando úlceras, sugerindo que este grupo se alimenta do tecido do hospedeiro (Hasegawa *et al.*, 1998).

Larvas de *Spiroxys contortus* (Rudolphi, 1819) podem causar no hospedeiro graves granulomas no estômago com hiperemia, edema e pequenas áreas de necrose (Miclăuș *et al.*, 2014).

A introdução de novos animais representa um risco muito grande pois além de outros problemas ecológicos parasitos novos também são introduzidos para novos hospedeiros nativos, como é o caso da introdução de *S. contortus* na Polônia por uma tartaruga nativa mantida em um pet shop, que se infectou com o parasita ao ter entrado em contato com tartarugas exóticas neste ambiente (Demkowska-Kutrzepa *et al.*, 2021).

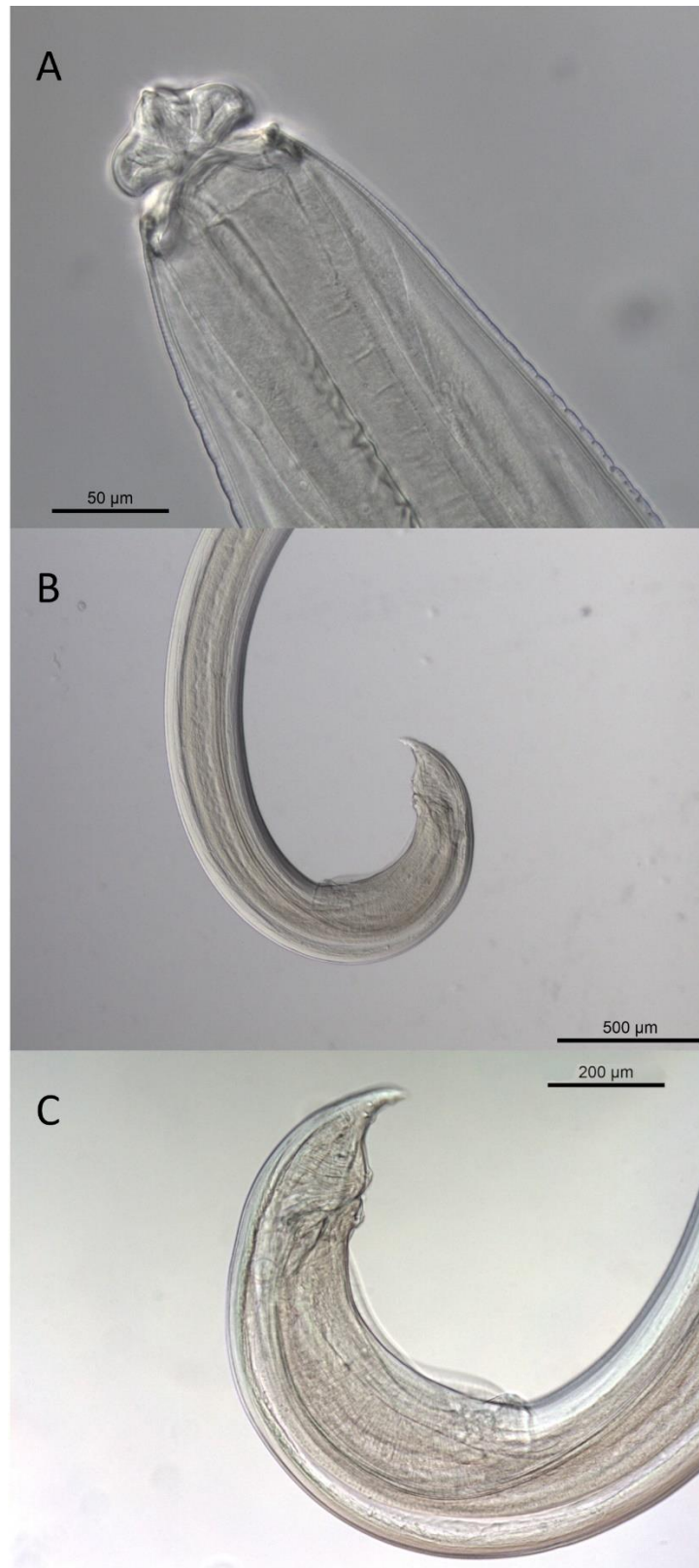


Figura 37 *Spiroxys* sp. de estômago e intestino delgado de *Phrynops geoffroanus*. A= região anterior; B= região posterior; C= cauda do macho.

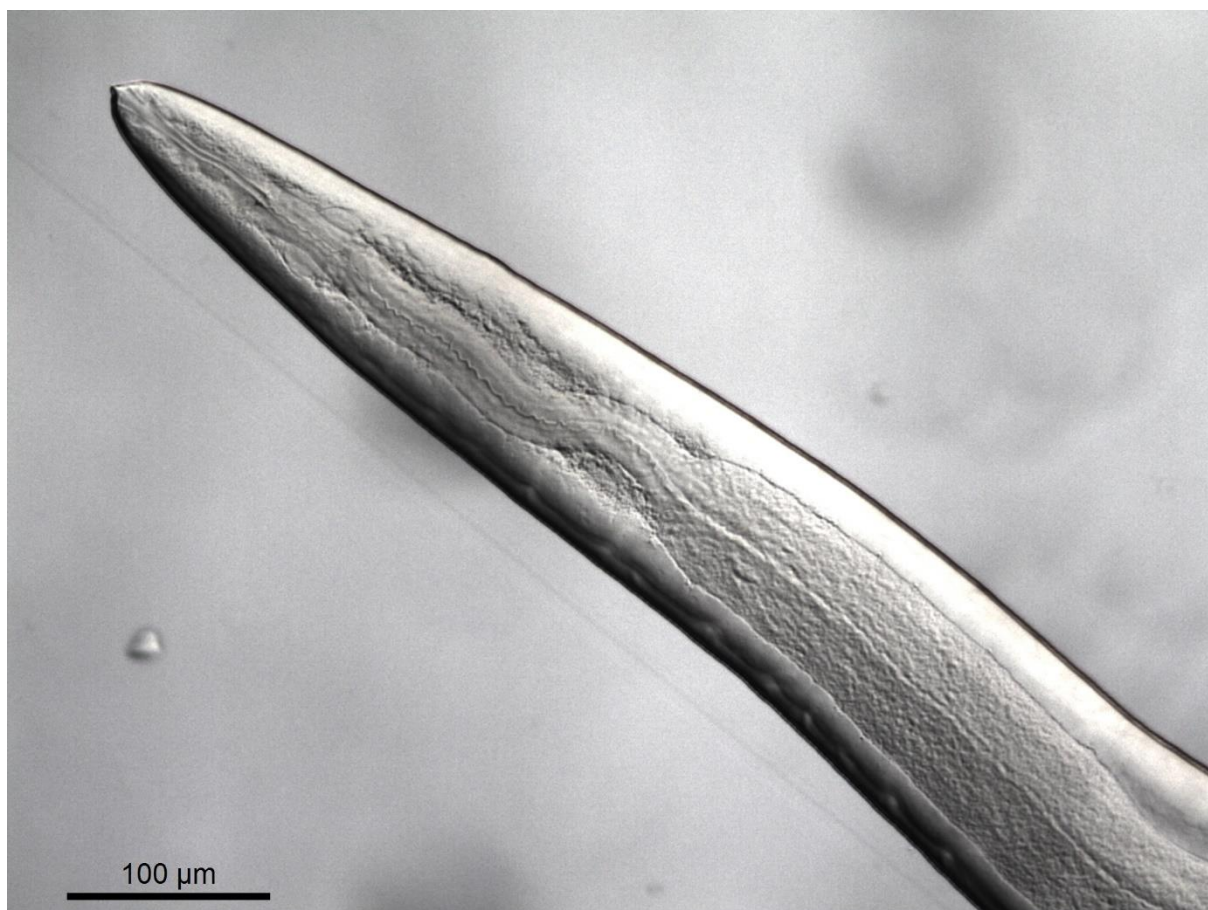


Figura 38 Larva de *Spiroxys* sp. em estômago de *Anolis meridionalis*, evidenciando a região anterior.

DISCUSSÃO

Ao todo, 134 espécimes representando 21 espécies de répteis foram coletados: *Ameiva ameiva*; *Anolis meridionalis*; *Bothrops moojeni*; *Caiman crocodilos*; *Chelonoidis carbonarius*; *Chironius* sp.; *Crotalus durissus*; *Erythrolamprus poecilogyrus*; *Helicops angulatus*; *Helicops infrataeniatus*; *Hemidactylus mabouia*; *Leptodeira annulata*; *Oxyrhopus rhombifer*; *Oxyrhopus trigeminus*; *Phrynos geoffroanus*; *Podocnemis expansa*; *Podocnemis unifilis*; *Pseudoboa nigra*; *Tropidurus hispidus*; *Tropidurus oreadicus*; *Xenodon matogrossensis*, posteriormente foi feita a necropsia e análise para coleta de endoparasitos. Na totalidade foram analisados 41 táxons pertencentes a Nematoda, 16 táxons de Trematoda, 5 táxons de Acanthocephala e 2 táxons de Cestoda.

Dados de riqueza de helmintos de répteis muitas vezes são representados em trabalhos onde foram checadas referências de pesquisas anteriores, esses dados são então

incorporados e apresentados como checklist, em alguns trabalhos os pesquisadores foram a campo, coletaram os répteis e demonstraram a biodiversidade de parasitos presentes na região. O presente estudo demonstrou uma riqueza de 63 táxons, um número expressivo pois demais estudos realizados a campo para a região centro-oeste retornaram uma riqueza em torno de 20 táxons, trabalhos em formato de checklist já retornaram valores na casa de centenas de táxons devido a robustez de referência prévias consultadas (Ávila e Silva, 2010; Ávila e Silva, 2011; Ávila *et al.*, 2011; Lacerda *et al.*, 2023).

Alguns hospedeiros apresentam uma grande abundância de helmintos como é o caso dos quelônios, este fato é explicado devido o ciclo de vida da maioria dos helmintos dependerem do ambiente aquático, no qual vários organismos que coabitam esse ambiente participam como hospedeiros, as tartarugas de água doce são consideradas de grande importância nesse ecossistema devido apresentam uma grande biomassa favorecendo o parasitismo (Mascarenhas *et al.*, 2022).

Ainda há falta de dados para os helmintos, em razão do desinteresse no estudo de certos grupos para uma região em específico, problemas epidemiológicos e possível risco de extinção dos hospedeiros, mostra-se necessário o valor de mais estudos envolvendo a fauna presente no nicho desses animais em situação de risco, a exatidão de estudos da helmintofauna para alguns grupos devem ser revertida pois o conhecimento dela é uma aliada a prevenção da fauna nativa (Demkowska-Kutrzepa *et al.*, 2021).

A relevância das pesquisas helmintológicas deve ser destacada devido não só importância para realização de trabalhos futuros a elas associadas, mas também para promover o conhecimento de todos os indivíduos e habitats que estão relacionados com o parasitismo.

Este estudo apresentou a riqueza de helmintos parasitas de répteis terrestres e aquáticos, incluindo potenciais novas espécies, dados morfológicos distintos, novos registros de parasitismo e locais, contribuindo para o conhecimento da helmintofauna de répteis na região Neotropical.

REFERÊNCIAS

- Achatz, T. J., Brito, E. S., Fecchio, A., & Tkach, V. V. (2021). Description and Phylogenetic Position of a New Species of *Herpetodiplostomum* from *Phrynops geoffroanus* in Brazil and a Reevaluation of *Cheloniodiplostomum*. *The Journal of Parasitology*, 107(3), 455-462.
- Achatz, T. J., Chermak, T. P., Junker, K., & Tkach, V. V. (2022). Integration of morphological and molecular data reveals further unknown diversity of the Proterodiplostomidae in crocodilians. *Systematics and Biodiversity*, 20(1), 1-18.
- Amato, J. F. R., & Amato, S. B. (2010). Técnicas gerais para coleta e preparação de helmintos endoparasitos de aves. *Ornitologia e conservação: ciência aplicada, técnicas de pesquisa e levantamento*, 16, 369-393.
- Amin, O. M., & Dezfuli, B. S. (1995). Taxonomic notes on *Polyacanthorhynchus kenyensis* (Acanthocephala: Polyacanthorhynchidae) from Lake Naivasha, Kenya. *The Journal of Parasitology*, 76-79.
- Amin, O. M., Heckmann, R. A., Inchausty, V. & Vasquez, R. (1996). Immature *Polyacanthorhynchus rhopalorhynchus* (Acanthocephala: Polyacanthorhynchidae) in venton, *Hoplias malabaricus* (Pisces) from Moca Vie River, Bolivia, with notes on its apical organ and histopathology. *Journal- of the Helminthological Society of Washington*, 63, 115-119.
- Amin, O. M., Heckmann, R. A., Ali, A. H., El Naggar, A. M., & Khamees, N. R. (2015). New features of *Neoechinorhynchus (Neoechinorhynchus) dimorphospinus* (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) from recent collections in the Arabian Gulf using SEM, with notes on histopathology. *Comparative Parasitology*, 82(1), 60-67.
- Amirthalingam, C. (1973). *Polyacanthorhynchus kenyensis* Schmidt and Canaris. *Sudan Notes and Records*, 54, 186-187.
- Anderson, R. M. (2000). *Nematode Parasites of Vertebrates: Their Development and Transmission*, 2nd ed. CABI Publishing, Wallingford, Oxon, U.K. 650 pp.
- Anderson, R. C., Chabaud, A. G., & Willmott, S. (Eds.). (2009). *Keys to the nematode parasites of vertebrates: archival volume*. Cabi.
- Andrade, C. M. (2000). *Meios e Soluções Comumente Empregados em Laboratórios*. Rio de Janeiro, Brazil, Editora Universidade Rural, 353 pp.

- Ávila, R. W., & Silva, R. J. (2010). Checklist of helminths from lizards and amphisbaenians (Reptilia, Squamata) of South America. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 16, 543-572.
- Ávila, R. W., & Da Silva, R. J. (2011). Helminths of lizards (Reptilia: Squamata) from Mato Grosso State, Brazil. *Comparative Parasitology*, 78(1), 129-139.
- Ávila, R. W., Cardoso, M. W., Oda, F. H., & Silva, R. J. (2011). Helminths from lizards (Reptilia: Squamata) at the Cerrado of Goiás state, Brazil. *Comparative Parasitology*, 78(1), 120-128.
- Ávila, R. W., & Silva, R. J. (2013). Helminths of lizards from the municipality of Aripuanã in the southern Amazon region of Brazil. *Journal of Helminthology*, 87(1), 12-16.
- Bain, O. (1974). Description de nouvelles filaires Oswaldofilariinae de lézards sud-américains; hypothèse sur l'évolution des filaires de reptiles. *Bulletin du Muséum national d'histoire naturelle*, 208, 169-200.
- Baker, M. R. (1978). Development and transmission of *Oswaldocruzia pipiens* Walton, 1929 (Nematoda: Trichostrongylidae) in amphibians. *Canadian Journal of Zoology*, 56(5), 1026-1031.
- Baker, M. R. (1982). Systematic relationships of the Atractidae and Cosmocercidae (Nematoda: Cosmocercidae): two new attractids parasitic in amphibians and fish. *Canadian Journal of Zoology*, 60(10), 2395-2402.
- Berry, G. N. (1985). A new species of the genus *Spiroxys* (Nematoda; Spiruroidea) from Australian chelonians of the genus *Chelodina* (Chelidae). *Systematic Parasitology*, 7(1), 59-68.
- Blair, D., & Limpus, C. J. (1982). Some Digeneans (Platyhelminthes) Parasitic in the Loggerhead Turtle, *Caretta Caretta* (L). In Australia. *Australian Journal of Zoology*, 30(4), 653-680.
- Blair, D. (2008). Family Pachypsoidae Yamaguti, 1958. In *Keys to the Trematoda*, Volume 3 (pp. 541-543). Wallingford UK: CABI.
- Bursey, C. R., Goldberg, S. R., & Parmelee, J. R. (2005). Gastrointestinal helminths from 13 species of lizards from Reserva Cuzco Amazónico, Peru. *Comparative Parasitology*, 72(1), 50-68.
- Bursey, C. R., Goldberg, S. R., & Telford, S. R. (2007). Gastrointestinal helminths of 14 species of lizards from Panama with descriptions of five new species. *Comparative Parasitology*, 74(1), 108-140.

- Burse, C. R., & Goldberg, S. R. (2011). New species of *Oswaldocruzia* (Nematoda: Molineidae) and other helminths in *Bolitoglossa subpalmata* (Caudata: Plethodontidae) from Costa Rica. *The Journal of Parasitology*, 97(2), 286-292.
- Burse, C, Drake, M., Cole R., Sterner III, M., Pinckney, R., Zieger U. (2013). New Species of *Parapharyngodon* (Nematoda: Pharyngodonidae) in *Rhinella marina* (Anura: Bufonidae) from Grenada, West Indies. *Journal of Parasitology*, 99(3), 475-479.
- Burse, C., Goldberg, S., & Kraus, F. (2014). New species of *Orientatractis* (Nematoda: Atractidae), new species of *Rondonia* (Nematoda: Atractidae) and other helminths in *Austrochaperina basipalmata* (Anura: Microhylidae) from Papua New Guinea. *Acta Parasitologica*, 59(1), 115-121.
- Burse, C. R., & Goldberg, S. R. (2016). A new species of *Physalopteroides* (Nematoda: Physalopteridae) in *Emoia atrocostata* (Squamata: Scincidae) from Peninsular Malaysia. *Comparative Parasitology*, 83(2), 221-226.
- Campião, K. M., Da Silva, R. J., & Ferreira, V. L. (2009). Helminth parasites of *Leptodactylus podicipinus* (Anura: Leptodactylidae) from south-eastern Pantanal, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Journal of Helminthology*, 83(4), 345-349.
- Campião, K. M., Morais, D. H., Dias, O. T., Aguiar, A., TOLEDO, G., Tavares, L. E. R., & Da Silva, R. J. (2014). Checklist of helminth parasites of amphibians from South America. *Zootaxa*, 3843(1), 1-93.
- Campião, K. M., Ribas, A. C. D. A., Morais, D. H., Silva, R. J., & Tavares, L. E. R. (2015). How many parasites species a frog might have? Determinants of parasite diversity in South American anurans. *PLOS one*, 10(10), e0140577.
- Cardoso, A. M. C., de Souza, A. J. S., Menezes, R. C., Pereira, W. L. A., & Tortelly, R. (2013). Gastric lesions in free-ranging black caimans (*Melanosuchus niger*) associated with *Brevimulticaecum* species. *Veterinary pathology*, 50(4), 582-584.
- Castilho, G. N., Acosta, J. (2022). *Parapharyngodon sanjuanensis* (Nematoda: Pharyngodonidae) parasitizing *Phymaturus* cf. *palluma* (Iguania, Liolaemidae) In San Juan Province, Argentina. *Neotropical Helminthology*, 16(2), 141-146.
- Catto, J. B. (1991). Taxonomia e ecologia dos helmintos parasitos de *Caiman crocodilus* yacare (Crocodylia: Alligatoridae) no Pantanal Mato-Grossense. UFRRJ.

- Catto, J. B., & Amato, J. F. R. (1994). Proterodiplostome parasites (Digenea, Proterodiplostomidae) of the caiman, *Caiman crocodilus yacare* (Reptilia, Crocodylia) in the Pantanal Mato-Grossense, Brazil, with the description of two new species. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 89, 539-551.
- Cavalcante, P. H., Silva, M. T., Santos, E. G., Chagas-Moutinho, V. A., & Santos, C. P. (2017). *Orientatractis moraveci* n. sp. and *Rondonia rondoni* Travassos, 1920 (Nematoda: Atractidae), parasites of *Pimelodus blochii* (Osteichthyes, Pimelodidae) from the Acre and Xapuri Rivers, Western Amazon, Brazil. *Parasitology*, 144(2), 226-236.
- Cechin, S. Z., & Martins, M. (2000). Eficiência de armadilhas de queda (pitfall traps) em amostragens de anfíbios e répteis no Brasil. *Revista brasileira de zoologia*, 17, 729-740.
- Chabaud, A. G., & Tcheprakoff, R. (1977). Sur *Chapiniella diazi* n. sp., strongylide parasite de *Testudo denticulata* au Vénézuéla. *Bulletin du Muséum national d'histoire naturelle Zoologie*, 326, 765-769.
- Darabi, E., Kia, E. B., Mohebbi, M., Mobedi, I., Zahabiun, F., Zarei, Z., ... & Khanaliha, K. (2021). Gastrointestinal Helminthic Parasites of Stray Cats (*Felis catus*) in Northwest Iran. *Iranian Journal of Parasitology*, 16(3), 418.
- Demkowska-Kutrzepa, M., Szczepaniak, K., Roczeń-Karczmarz, M., Palumbo, E. O., Studzińska, M., Różański, P., & Tomczuk, K. (2021). The first case of *Spiroxys contortus* in European pond turtle (*Emys orbicularis*) in the wild in Poland. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 16, 26-29.
- Dharejo, A. M., Bilqees, F. M., & Khan, M. M. (2011). *Paradiplostomum spatulatum* n. sp. (Trematoda: Proterodiplostomidae) from the bird little egret *Egretta garzetta* (Aves: Ardeidae) in Sindh Province, Pakistan. *Proceedings of Parasitology*, 51, 47-51.
- Dubois, G. (1936). Les diplostomes de reptiles (Trematoda: Proterodiplostomidae nov. fam.) du Musée de Vienne. *Bulletin de la Société Neuchâteloise des Sciences Naturelles*, 61, 5–80
- Dubois, G. (1979). Révision et nouvelle clé de détermination des Diplostomes de Reptiles (Trematoda: Proterodiplostomidae Dubois, 1936). *Bulletin de la Société Neuchâteloise des Sciences Naturelles*, 102, 39–48.
- Durette-Desset, M. C., Dos Anjos, L. A., & Vrcibradic, D. (2006). Three new species of the genus *Oswaldocruzia* Travassos, 1917 (Nematoda, Trichostrongylina, Molineoidea) parasites of *Enyalius* spp. (Iguanidae) from Brazil. *Parasite*, 13(2), 115-125.

- Echi, P. C., Suresh, K., Sanil, G., Iyaji, F. O., Nwani, C. D., & Ejere, V. C. (2015). Mitochondrial DNA resolution of two new sequences *Polyacanthorhynchus echiyensis* n. sp. and *Polyacanthorhynchus nigerianus* n. sp. (Polyacanthocephala: Acanthocephala) in a parentenic host from a tropical River. *Environment Conservation Journal*, 16(1&2), 13-17.
- Euzet, L., Combes, C., & Triquell, A. (1972). Sur deux trematodes de *Caretta caretta* (L.) des cotes Méditerranéennes françaises. *Vie et Milieu*, 157-167.
- Ferreira, A. C. S., Vieira, F. M., Da Silva, D. C. N., Ribeiro, L. B., Ferreira, J. A., & Muniz-Pereira, L. C. (2021). *Parapharyngodon hispidus* n. sp. (Nematoda: Pharyngodonidae) in *Tropidurus hispidus* (Spix) (Squamata: Tropiduridae) from Caatinga Biome of the Vale do São Francisco, state of Pernambuco, Brazil with a key for the Neotropical species of the genus *Parapharyngodon* Chatterji. *Zootaxa*, 4980(1), 185-200.
- Fernandes, B. M. M., & Kohn, A. (2014). South American trematodes parasites of amphibians and reptiles. *South American trematodes parasites of amphibians and reptiles*, p. 39-40.
- Filho, J. A. D. A., Brito, S. V., Almeida, W. D. O., Morais, D. H., & Ávila, R. W. (2015). A new species of *Parapharyngodon* (Nematoda: Pharyngodonidae) infecting *Dermatonotus muelleri* (Anura: Microhylidae) from Caatinga, Northeastern Brazil. *Zootaxa*, 4012(2), 386-390.
- García-Varela, M., & Nadler, S. A. (2006). Phylogenetic relationships among Syndermata inferred from nuclear and mitochondrial gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 40(1), 61-72.
- Gibbons, L. M., Khalil, L. F., & Marinkelle, C. J. (1995). A new nematode genus, *Podocnematractis*, for *Atractis ortleppi* Thapar, 1925 (Cosmocercoidea: Atractidae) and the description of another new species, *P. colombianaensis* from turtles *Podocnemis* spp. in Colombia. *Systematic Parasitology*, 30(1), 47-56.
- Gibbons, L. M., Khalil, L. F., & Marinkelle, C. J. (1997). *Paraorientatractis semiannulata* ng, n. sp. (Cosmocercoidea: Atractidae) from the Large Intestine of the SideNecked Turtle, *Podocnemis unifilis* Troschel, 1848 (Testudines: Pelomedusidae) in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92, 359-364.
- Gibbons, L. M., & Platt, T. R. (2006). *Rhinoclemmysnema* ng and three new species of nematodes of the family Atractidae (Cosmocercoidea), with notes on the helminth fauna of *Rhinoclemmys pulcherrima* (Testudines: Bataguridae) in Costa Rica. *Journal of Helminthology*, 80(4), 333-340.

- Gibbons, L. M. (Ed.). (2010). Keys to the nematode parasites of vertebrates: supplementary volume (Vol. 10). Cabi.
- Gómez, A., & Nichols, E. (2013). Neglected wild life: parasitic biodiversity as a conservation target. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 2, 222-227.
- Gonzalez, C. E., & Hamann, M. I. (2007). The first record of amphibians as paratenic hosts of *Serpinema* larvae (Nematoda; Camallanidae). *Brazilian Journal of Biology*, 67, 579-580.
- González-Rivas, C. J., Castillo, G. N., & Simoncelli, I. (2022). Nuevo registro de *Physaloptera retusa* Rudolphi 1819 (Nematoda, Physalopteridae) en *Salvator rufescens* (Günther 1871) (Squamata, Teiidae) en Argentina.
- González-Solís, D., & Moravec, F. (2004). Two new nematode species, *Orientatractis campechensis* n. sp. and *Orientatractis chiapasensis* n. sp. (Nematoda: Atractidae) from cichlid fishes in southern Mexico and Nicaragua. *The Journal of Parasitology*, 90(6), 1443-1449.
- González-Solís, D., & Mariaux, J. (2017). *Orientatractis brycini* sp. nov. (Nematoda: Atractidae) from characiform freshwater fishes in Gabon, Africa. *Revue Suisse de Zoologie*, 124(1), 1-8.
- Goswami, U., Chaudhary, A., Verma, C., & Singh, H. S. (2016). Molecular and ultrastructure characterization of two nematodes (*Thelandros scleratus* and *Physalopteroides dactyluris*) based on ribosomal and mitochondrial DNA sequences. *Helminthologia*, 53(2), 165-171.
- Guedes, T. B., Entiauspe-Neto, O. M., & Costa, H. C. (2023). Lista de répteis do Brasil: atualização de 2022. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7829013>
- Guerrero, R. (2013). Two new species of *Oswaldocruzia* (Nematoda: Trichostrongylina: Molineoidea) parasites of the cane toad *Rhinella marina* (Amphibia: Anura) from Peru. *Acta Parasitologica*, 58(1), 30-36.
- Harnoster, F., Svitin, R., & Preez, L. D. (2019). *Serpinema cayennensis* n. sp. (Nematoda: Camallanidae), a parasite of the freshwater turtle *Rhinoclemmys punctularia* Daudin (Reptilia: Testudines: Geoemydidae) from French Guiana: morphology and phylogenetic relationships with other turtle-parasitising camallanids. *Zootaxa*, 4679(1), 181-193.
- Hasegawa, H., Miyata, A., & Doi, T. (1998). *Spiroxys hanzaki* n. sp. (Nematoda: Gnathostomatidae) collected from the giant salamander, *Andrias japonicus* (Caudata: Cryptobranchidae), in Japan. *The Journal of parasitology*, 831-834.

- Hendrikx, W. M. L., & Van Moppes, M. C. (1983). *Oswaldocruzia filiformis* (Nematoda: Trichostrongylidae): Morphology of developmental stages, parasitic development and some pathological aspects of the infection in amphibians. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 69(4), 523-537.
- Hidalgo-Vila, J., Martínez-Silvestre, A., Ribas, A., Casanova, J. C., Pérez-Santigosa, N., & Díaz-Paniagua, C. (2011). Pancreatitis associated with the helminth *Serpinema microcephalus* (Nematoda: Camallanidae) in exotic red-eared slider turtles (*Trachemys scripta elegans*). *Journal of Wildlife Diseases*, 47(1), 201-205.
- Jesus, R. F., Cardoso, E. L., Willkens, Y., Furtado, A. P., Santos, J. N. D., & Melo, F. T. (2020). “Long time no see”: redescription of *Orientattractis leiperi* (Nematoda: Atractidae) parasite of *Podocnemis unifilis* (Testudines: Podocnemididae) from Pará State, Brazil. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 91.
- Jesus Filho, P. R., Freitas-Filho, R. F., Nóbrega, Y. C., & Barreto-Lima, A. F. (2021). Introdução a métodos de campo para estudos com crocodilianos brasileiros. In *Tratado de Crocodilianos do Brasil*, (96-119). Vitória.
- Khalil, L. F., & Gibbons, L. M. (1988). Two nematodes, *Parattractis hystrix* (Diesing, 1851) and *Buckleyattractis marinkelli* ng, n. sp. (Atractidae: Cosmocercoidea) from *Podocnemis* spp. in Colombia. *Systematic Parasitology*, 12(3), 187-198.
- Krone, O., Guminsky, O., Meinig, H., Herrmann, M., Trinzen, M., & Wibbelt, G. (2008). Endoparasite spectrum of wild cats (*Felis silvestris* Schreber, 1777) and domestic cats (*Felis catus* L.) from the Eifel, Pfalz region and Saarland, Germany. *European Journal of Wildlife Research*, 54, 95-100.
- Kuzmin, Y., Kinsella, J. M., Tkach, V. V., & Bush, S. E. (2013). New Species of *Kalicephalus* (Nematoda: Diaphanocephalidae) from a Snake, *Oxyrhabdium leporinum*, on Luzon Island, Philippines. *Comparative Parasitology*, 80(2), 240-246.
- Lacerda, G. M. C., Santana, J. D. A., de Araujo Filho, J. A., & Ribeiro, S. C. (2023). Checklist of parasites associated with ‘reptiles’ in Northeast Brazil. *Journal of Helminthology*, 97, e3.
- Larki, S., Alborzi, A., Bahramnejad, K., & Asadi, Z. (2023). The Occurrence of the Strongylid Nematodes, *Kalicephalus viparae viparae* (Nematoda: Diaphanocephalidae), in Viper Snakes, *Macrovipera lebetina* (Reptilia: Viperidae), Southwestern Iran. *Archives of Razi Institute*, 78(2), 611.

- Leão, S. P., Famelli, S., & Vogt, R. C. (2019). Home range of Yellow-Spotted Amazon River Turtles (*Podocnemis unifilis*) (Testudines: Podocnemididae) in the Trombetas River Biological Reserve, Pará, Brazil. *Chelonian Conservation and Biology*, 18(1), 10-18.
- Lenis, C., & Vélez, I. (2011). Digeneans in *Trachemys callirrostris callirrostris* and *Podocnemis lewyana* (Testudinata) from the Magdalena River, Colombia: description of *Pseudonematophila* n. gen. and amendment of *Nematophila* Travassos, 1934 (Cladorchiidae: Schizamphistominae). *Zootaxa*, 3095(1), 49-62.
- Lent, H., Freitas, J. F., & Proença, M. C. (1946). Alguns helmintos de batráquios colecionados no Paraguai. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 44, 195-214.
- Lichtenfels, J. R. (1980). Keys to genera of the Superfamily Strongyloidea. In R. C. Anderson, A. G. Chabaud, and S. Willmott, eds. *CIH Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates*. No. 7, nFarnham Royal, Bucks., England. Commonwealth Agricultural Bureaux.
- Lichtenfels, J. R., & Stewart, T. B. (1981). Three new species of *Chapiniella* Yamaguti, 1961 (Nematoda: Strongyloidea) from tortoises. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*. 48(2), 137-147.
- Lima, V. F., Brito, S. V., Araujo, J. A., Teles, D. A., Ribeiro, S. C., Teixeira, A. A., ... & Almeida, W. O. (2017). Helminth parasites of Phyllodactylidae and Gekkonidae lizards in a Caatinga ecological station, northeastern Brazil. *Biota Neotropica*, 17.
- Liu, B., Li, Z., & Zhang, L. (2018). A new species of *Orientatractis* (Nematoda: Atractidae) from the tortoise *Indotestudo elongata* (Blyth) in China. *Acta Parasitologica*, 63(4), 814-818.
- Lunaschi, L. I., & Sutton, C. A. (1990). Presencia de *Paradiplostomum abbreviatum* (Brandes, 1888) (Digenea: Proterodiplostomidae) en *Caiman latirostris* (Daud.) en Argentina.
- Macedo, L. C., Willkens, Y., Silva, L. M. O., Gardner, S. L., Melo, F. T. D. V., & Santos, J. N. D. (2023). "Revisiting the past": a redescription of *Physaloptera retusa* (Nemata, Physalopteridae) from material deposited in museums and new material from Amazon lizards. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 32, e017422.
- Marcogliese, D. J. (2005). Parasites of the superorganism: are they indicators of ecosystem health? *International Journal for Parasitology*, 35(7), 705-716.
- Martínez-Salazar, E. A., Rosas-Valdez, R., Gregory, T. R., & Violante-González, J. (2016). Molecular phylogenetic analysis of *Infidum similis*, including morphological data and estimation of its genome size. *The Journal of Parasitology*, 102(4), 468-475.

- Mascarenhas, C. S., & Müller, G. (2015). *Spiroxys contortus* (Gnathostomatidae) and *Falcaustra affinis* (Kathlaniidae) from *Trachemys dorbigni* (Emydidae) in southern Brazil. *Comparative Parasitology*, 82(1), 129-136.
- Mascarenhas, C. S., & Müller, G. (2021). Checklist of helminths associated with continental testudines from south america. *Neotropical Helminthology*, 15(1), 97-126.
- Mascarenhas, C. S., Chaviel, B. M., Bernardon, F. F., Wolter, J. H., Coimbra, M. A. A., & Müller, G. (2022). Gastrointestinal helminths associated with three species of freshwater turtles in the Pampa biome, southern Brazil. *Parasitology Research*, 1-9.
- Matt, C. L., Nagamori, Y., Stayton, E., & Brandão, J. (2020). *Kalicephalus* hookworm infection in four corn snakes (*Pantherophis guttatus*). *Journal of Exotic Pet Medicine*, 34, 62-66.
- McDiarmid, R. W. (Ed.). (2012). *Reptile biodiversity: standard methods for inventory and monitoring*. Univ of California Press.
- Melgarejo-Giménez, A. R. (2002). Criação e manejo de serpentes. In *Animais de Laboratório: criação e experimentação*, (pp. 145-199), Editora Editora Fiocruz.
- Moravec, F. (1998). Nematodes of freshwater fishes of the Neotropical Region (pp. 464-pp).
- Moravec, F., Kamchoo, K., & Pachanawan, A. (2015). New nematode species, *Orientatractis mekongensis* n. sp. (Atractidae) and *Neosynodontisia suratthaniensis* ng, n. sp. (Pharyngodonidae) from freshwater fishes in Thailand. *Systematic Parasitology*, 92, 197-209.
- Miclăuş, V., Gal, A. F., Cătoi, C., & Mihalca, A. D. (2014). Severe granulomatous gastric lesions following migration of *Spiroxys contortus* larvae (Nematoda: Spirurida) in European pond turtles, *Emys orbicularis*. *Helminthologia*, 51, 225-229.
- Müller, M. I., Emmerich, E., de Alcantara, E. P., Ungari, L. P., Ebert, M. B., Morais, D. H., O' Dwyer, L. H., & da Silva, R. J. (2021). First molecular assessment of two digenean parasites of the lancehead snake *Bothrops moojeni* Hoge, 1966 (Serpentes, Viperidae) in Brazil. *Parasitology Research*, 120(3), 971-977.
- Narain, D. (1930). *Neodiplostomum gavialis* n. sp. from the crocodile. *The Journal of Parasitology*, 16(3), 154-157.
- Niewiadomska, K. 2002. Family Proterodiplostomidae Dubois, 1936. In *Keys to the Trematoda*, Volume 1, D. I. Gibson, A. Jones, and R. A. Bray (eds.). CAB International and The Natural History Museum, Wallingford, London, U.K., p. 215–229.

- Novokhatskaya, O. V. (2007). Detection of the nematode *Oswaldocruzia filiformis* (Molineidae) in *Lota lota* [in russian]. Zoological Journal, 86(7), 891-892.
- Otranto, D., & Eberhard, M. L. (2011). Zoonotic helminths affecting the human eye. Parasites & vectors, 4(1), 1-21.
- Pereira, F. B., Alves, P. V., Rocha, B. M., de Souza Lima, S., & Luque, J. L. (2012). A new *Physaloptera* (Nematoda: Physalopteridae) parasite of *Tupinambis merianae* (Squamata: Teiidae) from southeastern Brazil. The Journal of Parasitology, 98(6), 1227-1235.
- Pereira, F. B., Alves, P. V., Rocha, B. M., de Souza Lima, S., & Luque, J. L. (2014). *Physaloptera baina* n. sp. (Nematoda: Physalopteridae) parasitic in *Salvator merianae* (Squamata: Teiidae), with a key to *Physaloptera* species parasitizing reptiles from Brazil. The Journal of Parasitology, 100(2), 221-227.
- Pereira, F. B., Campião, K. M., Luque, J. L., & Tavares, L. E. (2017a). *Parapharyngodon hugoi* n. sp., a new nematode (Oxyuroidea: Pharyngodonidae) of the tree frog *Trachycephalus typhonius* (Linnaeus) from the Brazilian Pantanal, including a key to the congeners from amphibians of the American continent. Systematic Parasitology, 94, 599-607.
- Pereira, F. B., Luque, J. L., & Tavares, L. E. (2017b). Redescription of the nematode parasites of lizards: *Strongyluris oscari* Travassos, 1923 (Heterakidae) from Brazil and *Pharyngodon mamillatus* (Linstow, 1897) (Pharyngodonidae) from Egypt. Acta Parasitologica, 62(4), 805-814.
- Pereira, F. B., Luque, J. L., & Tavares, L. E. R. (2018). Integrative approach on Pharyngodonidae (Nematoda: Oxyuroidea) parasitic in reptiles: Relationship among its genera, importance of their diagnostic features, and new data on *Parapharyngodon baina*. PLoS One, 13(7), e0200494.
- Petter, A. J. (1966). Équilibre des espèces dans les populations de nématodes parasites du colon des tortues terrestres. pp. Prague, Academia
- Ponce de León, G. P. P., García-Prieto, L. U. I. S., & León-Régagnon, V. (1996). Gastrointestinal digenetic trematodes of olive ridley's turtle (*Lepidochelys olivacea*) from Oaxaca México. Taxonomy and infracommunity structure. Journal of the Helminthological Society of Washington, 63, 76-82.
- Poulsen, C. S., Skov, S., Yoshida, A., Skallerup, P., Maruyama, H., Thamsborg, S. M., & Nejsum, P. (2015). Differential serodiagnostics of *Toxocara canis* and *Toxocara cati* – is it possible? Parasite Immunology, 37(4), 204-207.

- Quadros, R. M., Marques, S. M. T., de Moura, A. B., & Antonelli, M. (2014). First report of the nematode *Physaloptera praeputialis* parasitizing a jaguarandi. *Neotropical Biology and Conservation*, 9(3), 186.
- Quirino, T. F., Ferreira, A. J. M. G., Silva, M. C., Silva, R. J., Morais, D. H., & Ávila, R. W. (2018). New records of helminths in reptiles from five states of Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 78, 750-754.
- Ramallo, G. (2005). Primer registro de *Kalicephalus costatus* (Nematoda, Diaphanocephalidae), parásito de *Liophis miliaris semiaureus* (Serpientes, Colubridae) de la provincia de Entre Ríos. *Cuadernos de Herpetología*, 19.
- Rakhshandehroo, E., Gholamhosseini, A., Ahmadi, A., Rakhshaninejad, M., & Heidari, A. A. (2020). An investigation on the helminth parasites of Caspian turtle (*Mauremys caspica*) with a taxonomic note on recovered *Falcaustra* Lane, 1915 (Nematoda: Kathlaniidae) and *Spiroxys* Schneider, 1866 species (Nematoda: Gnathostomatidae). *International Journal of Aquatic Biology*, 8(4), 246-252.
- Salízar, P., & Sánchez, L. (2004). Primer registro para el Perú de *Nematophila grandis* (Diesing, 1839) Travassos, 1934 (Trematoda, Diplodiscidae) en *Podocnemis unifilis* (Troschel, 1848) (Testudines, Pelomedusidae). *Revista Peruana de Biología*, 11(1), 37-40.
- Salizar, P., & Sanchez, L. (2007). Nuevos registros de nematodos en dos especies de tortugas (Reptilia: Testudines) en el Perú. *Neotropical Helminthology*, 1(1), 43-46.
- Sánchez, N., Tantaleán, M., Vela, D., & Méndez, A. (2006). Parásitos gastrointestinales de la taricaya, *Podocnemis unifilis* (Troschel, 1848) (Testudines: Podocnemididae) de Iquitos, Perú. *Revista Peruana de Biología*, 13(1), 119-120.
- Santana, H. P., Morey, G. A. M., Lima, J. P., & de Oliveira Malta, J. C. (2017). Influência de metazoários parasitas na morte de juvenis de *Arapaima gigas* (Schinz, 1822) criados em uma piscicultura na Amazônia Brasileira. *Revista Brasileira de Zoociências*, 18(2).
- Santana, R. L. S., de Carvalho, E. L., Conga, D. M. F., Aparicio, P. M., Pereira, W. L. A., & Giese, E. G. (2023). Redescription of *Brevimulticaecum baylisi* (Travassos, 1933) Sprent (1979) (Nematoda: Heterocheilidae), a parasite of *Caiman crocodilus* (Crocodylia: Alligatoridae) in the north-eastern Peruvian Amazon. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 43, 00905.

- Santos, S., Ceccarelli, P. S., & Luque, J. L. (2008). Helminths parasites do pirarucu, *Arapaima gigas* (Schinz, 1822) (Osteoglossiformes: Arapaimidae), no Rio Araguaia, Estado de Mato Grosso, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 17, 171-173.
- Santos, M. D., Albuquerque, M. C., Monteiro, C. M., Martins, A. N., Ederli, N. B., & Brasil-Sato, M. C. (2009). First report of larval *Spiroxys* sp. (Nematoda, Gnathostomatidae) in three species of carnivorous fish from Três Marias Reservoir, São Francisco River, Brazil. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 4(3), 306-311.
- Santos, A. N., Jesus, R. F., Macedo, L. C., Santos, J. N., & Vasconcelos Melo, F. T. (2022). New species of *Parapharyngodon* (Nematoda: Pharyngodonidae) parasite of *Osteocephalus taurinus* (Anura: Hylidae) from Northern Brazilian Amazon Region. *Systematic Parasitology*, 99(4), 437-445.
- Schmidt, G. D., & Canaris, A. G. (1967). Acanthocephala from Kenya with descriptions of two new species. *The Journal of Parasitology*, 634-637.
- Sidikhov, B. M., Yertleuova, B. O., Gabdullin, D. Y., & Dushayeva, L. Z. (2023). The prevalence of invasive diseases among cats in Uralsk. *Herald of Science of S.Seifullin Kazakh Agro Technical Research University: Veterinary Sciences*, 1 (1), 35-42.
- Shakarboev, E. B., & Berdibaev, A. S. (2023). Ecological and faunistic analysis of helminths of wild mammals from the order carnivora in Karakalpakstan. *Adv. Anim. Vet. Sci*, 11(11), 1801-1809.
- Slimane, B. B., Chabaud, A. G., & Durette-Desset, M. C. (1996). Les nématodes Trichostrongylina parasites d'amphibiens et de reptiles: Problèmes taxonomiques, phylétiques et biogéographiques. *Systematic Parasitology*, 35(3), 179-206.
- Sprent, J. F. A. (1956). The life history and development of *Toxocara cati* (Schrank 1788) in the domestic cat. *Parasitology*, 46(1-2), 54-78.
- Tarczynski, S. (1957). *Toxocara cams* and *T. mystax*-parasites of man. *Medycyna weterynaryjna*, 13(10), 581-582.
- Tavares, L. E. R., Campião, K. M., Costa-Pereira, R., & Paiva, F. (2017). Helminths endoparasitos de vertebrados silvestres em Mato Grosso do Sul, Brasil. *Iheringia. Série Zoologia*, 107.
- Taylor, M. A., Coop, R. L., & Wall, R. L. (2017). *Parasitologia Veterinária*, 4ª edição. Grupo GEN.
- Tellez, M. (2014). A checklist of host-parasite interactions of the order Crocodylia (Vol. 136). Univ of California Press.

- Tkach, V. V., Achatz, T. J., Pulis, E. E., Junker, K., Snyder, S. D., Bell, J. A., ... & de Vasconcelos Melo, F. T. (2020). Phylogeny and systematics of the Proterodiplostomidae Dubois, 1936 (Digenea: Diplostomoidea) reflect the complex evolutionary history of the ancient digenean group. *Systematic Parasitology*, 97, 409-439.
- Travassos, L. (1934). Synopse dos Paramphistomoidea. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 29, 19-178.
- Uetz, P., Freed, P., Aguilar, R., Reyes, F., Kudera, J. & Hošek, J. (eds.) (2023) The Reptile Database, <http://www.reptile-database.org>, accessed [February 2, 2024]
- Van Haitsma, J. P. (1930). Studies on the trematode family Strigeidae (Holostomidae) no. XX. *Paradiplostomum ptychocheilus* (Faust). *Transactions of the American Microscopical Society*, 49(2), 140-153.
- Velarde-Aguilar, M. G., Mata-López, R., Guillén-Hernández, S., & León-Règagnon, V. (2015). *Parapharyngodon* n. spp. (Nematoda: Pharyngodonidae) parasites of hylid frogs from Mexico and review of species included in the genus. *The Journal of parasitology*, 101(2), 212-230.
- Vicente, J. J., Rodrigues, H. D. O., Gomes, D. C., & Pinto, R. M. (1993). Nematóides do Brasil. Parte III: nematóides de répteis. *Revista Brasileira de Zoologia*, 10, 19-168
- Vieira, K. R. I., Vicentin, W., Paiva, F., Pozo, C. F., Borges, F. A., Adriano, E. A., ... & Tavares, L. E. R. (2010). *Brevimulticaecum* sp. (Nematoda: Heterocheilidae) larvae parasitic in freshwater fish in the Pantanal wetland, Brazil. *Veterinary Parasitology*, 172(3-4), 350-354.
- Virgilio, L. R., Nogueira, A., Takemoto, R. M., Passere, M. D., de Oliveira, A. V., Meneguetti, D. U. O., ... & Pereira, F. B. (2023). Morphological description and molecular characterization of *Ancyracanthus electrophori* n. sp. (Gnathostomatoidea: Gnathostomatidae): a new nematode parasitic in the electric eel *Electrophorus varii* (Gymnotiformes: Gymnotidae), from the Brazilian Amazon. *Journal of Helminthology*, 97, e9.
- Vrcibradic, D., Vicente, J. J., & Bursey, C. R. (2000). *Thubunaea dactyluris* sensu Fabio and Rolas, a synonym of *Physalopteroides venancioi* (Spirurida, Physalopteridae). *Journal of Parasitology*, 86(5), 1163-1165.
- Watson, M. J. (2013). What drives population-level effects of parasites? Meta-analysis meets life-history. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 2, 190-196.

- Wu, H. W., & Liu, C. K. (1940). Helminthological notes, II. Sinensia. Contributions from the Metropolitan Museum of Natural History., 11(5/6), 397-406.
- Ziegler, M. A., & Macpherson, C. N. (2019). *Toxocara* and its species. CABI Reviews, (2019), 1-27.
- Zhao, J., Zhou, Y., Wang, S., Tu, G., Tang, X., & Wu, X. (2015). Preliminary report on the intestinal parasites and their diversity in captive Chinese alligators. Nutricion Hospitalaria, 31(2), 813-819.

CAPÍTULO II

**First molecular and SEM assessment of *Ochetosoma heterocoelium* (Travassos, 1921)
(Digenea: Ochetosomatidae) from Brazil and contribution to the morphology and
classification of the species.**

First molecular and SEM assessment of *Ochetosoma heterocoelium* (Travassos, 1921) (Digenea: Ochetosomatidae) from Brazil and contribution to the morphology and classification of the species.

ABSTRACT

Ochetosoma heterocoelium (Travassos, 1921) was collected from the mouth and oesophagus of a pit viper, *Bothrops moojeni* Hoge, 1966 in São Sebastião do Paraíso Farm (21°51'48.26" S, 48°26'56.78" W), municipality of Boa Esperança do Sul, São Paulo State, Brazil. In this study, we provide the first molecular characterisation of this digenean using 28S rDNA sequences, and its phylogenetic position within the Plagiorchiida is assessed. In addition, new morphological features are added to the diagnosis of the species. Sequences of the 28S gene of *O. heterocoelium* were successfully obtained and aligned with 31 digenean species belonging to Plagiorchiida. Only two congeners, *O. aniarum* (Leidy, 1890) and *O. kansense* (Crow, 1913) have been sequenced for the 28S gene. The newly sequenced individuals of *O. heterocoelium* are 98.5% and 99.4% similar to *O. aniarum* and *O. kansensis*, respectively; *Ochetosoma* is not recovered as a monophyletic group. *Dasymetra nicolli* Holl and Allison, 1935, and *Lechriorchis tygarti* Talbot, 1933 are nested with *Ochetosoma*.

Keywords: Trematoda, Dicrocoeliidae, Plagiorchiidae, 28S rDNA, phylogeny.

1. Introduction

The family Ochetosomatidae Leão, 1945 and hence the *Ochetosoma* Braun, 1901 possess a rather complex taxonomic history. They were considered valid until Tkach (2008) conducted an extensive review of this plagiorchioid group and proposed the resurrection of Reniferidae Pratt, 1902 and hence *Renifer* Pratt, 1902 (Leão, 1945). This nomenclatural change was based on the argument that the generic name *Ochetosoma* was pre-occupied by a genus of a marine echiuroid worm, and then *Renifer* (and Reniferidae) were recognised as valid, even though *Ochetosoma* was older than *Renifer* since it was described by Braun (1901), whereas *Renifer* was described by Pratt (1902) and according to the International Code of Zoological

Nomenclature (ICZN) the first name has precedence. However, the argument by Tkach (2008) was mistaken because the proper echiuroid genus name is *Ochetostoma* Rüppell and Leuckart, 1828 and not *Ochetosoma* (Rüppell and Leuckart, 1828), as asserted by Tkach (2008). Based on this statement, the family name Ochetosomatidae must be recognized as valid, with *Ochetosoma* as the type-genus of the family.

Ochetosomatidae (Syn. Reniferidae) currently includes six genera, namely *Dasymetra* Nicoll, 1911, *Lechriorchis* Stafford, 1905, *Paralechriorchis* Byrd & Denton, 1938, *Pneumatophilus* Odhner, 1910, *Ochetosoma* Braun, 1901, and *Zeugorchis* Stafford, 1905 (Yamaguti, 1971; Tkach, 2008). In South America, only species of *Dasymetra* and *Ochetosoma* have been reported. The former with only one species, *Dasymetra tupinambis* Nasir & Diaz, 1971, and the latter with three species, *O. chironius* (Nasir & Diaz, 1971), *O. heterocoelium* (Travassos, 1921), and *O. monstruosum* (Braun, 1901) (Fernandes and Cohn, 2014).

Ochetosoma heterocoelium is a unique species reported to infect at least 20 species of snakes across Brazil. This species was described by Travassos (1921) and posteriorly reported in other hosts and geographical locations by Corrêa *et al.* (1990), Silva *et al.* (1999), Pinto *et al.* (2012), and Vicente-Ferreira *et al.* (2023). The species has also been found in Colombia. Lenis *et al.* (2009) re-described *O. heterocoelium* based on specimens collected in seven species of snakes. Currently, *O. heterocoelium* is known to parasitise the mouth, oral cavity, oesophagus, or intestine of *Bothrops cotiara* (Gomes, 1913), *B. jararaca* (Wied, 1824), *B. insularis* (Amaral, 1922), *B. moojeni* Hoge, 1966, *B. neuwiedi* Wagler in Spix, 1824, *Chironius bicarinatus* (Wied, 1820), *Ch. exoletus* (Linnaeus, 1758), *Ch. fuscus* (Linnaeus, 1758), *Drymarchon corais* (Boie, 1827), *Erythrolamprus aesculapii* (Linnaeus, 1766), *E. almadensis* (Wagler in Spix, 1824), *E. miliaris* (Linnaeus, 1758), *E. poecilogyrus* (Wied, 1824), *E. reginae* (Amaral, 1935), *E. typhlus* (Linnaeus, 1758), *Helicops modestus* Gunther, 1861, *Leptodeira annulata* (Linnaeus, 1758), *Palusophis bifossatus* (Raddi, 1820), *Philodryas patagoniensis* (Girard, 1858), *Pseudoboa coronata* Schneider, 1801, and *Xenodon merremii* (Wagler in Spix, 1824) (Travassos 1921; Correa *et al.* 1990; Silva *et al.* 1999; Pinto *et al.* 2012; Vicente-Ferreira *et al.* (2023)). *Ochetosoma heterocoelium* was also found in *Atractus lasallei* Amaral, 1931, *Bothriechis schlegelli* (Berthold, 1846), *Bothrops asper* (Garman, 1884), *Chironius carinatus* (Linnaeus, 1758), *Leptodeira septentrionalis* (Kennicott, 1859), *Leptophis ahaetulla* (Linnaeus, 1758), and *Porthidium nasutum* (Bocourt, 1868) in Colombia (Lenis *et al.* 2009).

The life cycle of *R. heterocoelium* has been elucidated and involves the physid snail *Stenophysa marmorata* (Guilding, 1928) as the first intermediate host which harbors xiphidiocercariae (López-Hernández *et al.* 2023). The metacercariae of this digenean were reported from the intestinal serosa of *Rhinella diptycha* (Cope, 1862) (Syn. *Rhinella schneideri* (Werner, 1894)) tadpoles in Brazil (Pinto and Melo 2012). This basic information did not exclude the possibility that other snails and amphibians are involved in the life cycle of this digenean species.

Recently, an integrative taxonomy approach has been employed for species delimitation of digenean parasites of snakes in Brazil (Müller *et al.* 2018, 2021). Thus far, 40 species of digeneans have been reported from snakes in Brazil, although only a small fraction of the snake diversity has been studied for parasites and they remain understudied, even though they are deeply threatened. During the course of an investigation on the parasite diversity of snakes of Brazil, specimens of *O. heterocoelium* were sampled from the mouth and oesophagus of the Brazilian lancehead, *B. moojeni* which is widely distributed across South American moist forests. In this study, we provide the first molecular characterization of *O. heterocoelium* using the 28S rDNA and we assess their phylogenetic position within the Plagiorchoidea; additionally, we add new morphological data of the species through light and scanning electron microscopy.

2. Material and Methods

One specimen of *B. moojeni* (Fig. 1) (male, adult, snout-vent length 78 cm and weight 185 g) was collected on December 3rd, 2019, at São Sebastião do Paraíso Farm (21°51'48.26" S, 48°26'56.78" W), municipality of Boa Esperança do Sul, São Paulo State, Brazil. The snake was killed using 50 mg/kg of sodium thiopental (Thiopentax®), administered intracerebrally. All procedures were submitted and authorized by the Ethics Committee on Animal Use of the Institute of Biosciences, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Authorization # 1061-CEUA) and by the Authorization and Information System in Biodiversity (SISBIO # 60640-1).

During the necropsy, digenean specimens were found in the mouth and oesophagus of the host. Some parasite specimens were fixed in an alcohol-formalin-acetic acid solution under the slight pressure of a coverslip for 10 min. Then, specimens were transferred to 70% alcohol

and stored for further processing. Other specimens were fixed using hot ethanol. Some specimens were directly transferred to vials with 96% ethanol PA for molecular study. Digenean specimens were stained with alcoholic chloride carmine solution, cleared with eugenol, and analyzed with a computerized system for image analysis (V3 Leica Application Suite, Leica Microsystems, Wetzlar, Germany) in a microscope with Differential Interference Contrast (DIC).

Some species were also studied through scanning electron microscopy (SEM). For this, the specimens were post-fixed in 0,5% osmium tetroxide, dehydrated in a graded alcohol series, and critically point-dried. The specimens were mounted on an aluminium stub using conductive double-sided tape, coated with gold–palladium, and examined with the use of a Quanta 200 SEM (FEI Company, Eindhoven, the Netherlands) at the Electron Microscopy Center of the Institute of Biosciences, São Paulo State University, municipality of Botucatu, Brazil.

The morphometrical data of flattened and non-flattened species were compared using the t-test or Mann-Whitney test, according to the normality of the data. The significance level used was 5%.

Digenean vouchers were deposited in the Helminthological Collection of the Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP), in the municipality of Botucatu, São Paulo State, Brazil, under #CHIBB 10624. The snake hosts were deposited at the Herpetological Collection of the Universidade Regional do Cariri URCA-H, municipality of Crato, Ceará State, Brazil.

DNA was extracted using the DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA), following the manufacturer's protocol. Fragments of the 28S rDNA gene were amplified using the primers 28dig and 1500R, amplifications were performed on a final volume of 25µl containing 12,5 µl of 2× MyFi 176 TM Mix (Bioline, Taunton, MA, USA), 3.0 µl of extracted DNA, 7.5 µl of pure water and 1.0 µl of each PCR primer. PCR products (2.0 µl) were run on an agarose gel (1%) using GelRed™ fluorescent nucleic acid dye and loading buffer to confirm amplicon size and yield. The COI was amplified using the primers JB3 and JB4 (Morgan and Blair 1998). Sequencing reactions were performed directly on the purified PCR products using a BigDye v3.1 Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) and sequences were run on an ABI 3500 DNA genetic analyzer (Applied Biosystems).

Contiguous sequences were assembled for phylogenetic analysis, in Sequencher™ 5.2.4 (Gene Codes, Ann Arbor, MI, USA). Sequences of partial 28S rDNA were aligned with representatives of the Plagiorchiida available in GenBank and the chosen outgroups were *Maritrema neomi* Tkach, 1998 (Microphallidae) (AF151927), *Pleurogenes claviger* (Rudolphi, 1819) (AF151925), and *Prosthogonimus ovatus* (Rudolphi, 1803) (AF151928). Newly obtained sequences were aligned using MUSCLE (Edgar 2004) implemented in Geneious version 11.1.4 (Kearse *et al.* 2012). To evaluate the occurrence of substitution saturation, we estimated the I_{ss} index in DAMBE 6 (Xia 2013). The best-fit model for nucleotide substitution in the resulting matrix was determined by the Akaike information criterion in jModelTest (Posada 2008). Phylogenetic analyses were performed using Bayesian inference and maximum likelihood (ML) using MrBayes and RaxML analyses carried out using the computational resource CIPRES (Miller *et al.* 2010). The Bayesian analysis was run with the nucleotide substitution model GTR+I+G. To search with the Markov chain Monte Carlo method, chains were run with 10,000,000 generations, saving one tree every 1000 generations. On the burn-in, the first 25% of generations were discarded, and the consensus trees were estimated using the remaining trees. Bayesian posterior probabilities (BPP) cut-off was considered > 90%. The supports for ML were determined by performing 1000 bootstrap replicates. The trees were visualized in FigTree v1.3.1 (Rambaut 2009). Genetic divergence was calculated using the Kimura 2-parameter model in MEGA7.0.20 software (Kimura 1980; Tamura *et al.* 2013).

3. Results

Four hundred and fifty-eight digenean specimens were found in the mouth and oesophagus of *B. moojeni*. The morphological analysis allowed us to identify these digeneans as *O. heterocoelium* (Figs. 2-3; Table 1).

Morphological characterization

Digeneans with elongated body, dorso-ventrally flattened. Spined tegument; dorsal spines reducing in size in anterior and posterior ends. Oral sucker subterminal, with a prominent muscular projection in anterior end. Pre-pharynx short. Pharynx small, wider than longer. Oesophagus relatively long, and slightly sinuous in some specimens. Intestinal caeca broad, short and slightly unequal, ending at mid-level of ventral sucker region; largest cecal branch varies in each individual, sometimes is right one, sometimes left one. Ventral sucker larger

than oral sucker, equatorial or pre-equatorial. Cirrus sac broad, oblique, containing voluminous protractile cirrus and large terminal seminal vesicle; extends from ventral sucker level slightly transversal to open in genital pore. Genital pore lateral, sinistral, at caecal bifurcation level. Two symmetric testes irregularly shaped, slightly lobed, post-equatorial, posterior to ventral sucker. Vas efferens of each testis connects directly to seminal vesicle at basis of cirrus sac. Ovary small, round to oval, located between right testis and ventral sucker. Vitelline follicles small, arranged in two clusters on each side of body, distributed from anterior region of ventral sucker to posterior end of testes. Uterus post-acetabular, starting in Mehlis' gland, extends to posterior region where has many loops and returns to anterior region to metraterm, posterior to cirrus sac. Eggs small, ovoid and operculate. Excretory vesicle Y-shaped.

Taxonomic remarks: The comparison between the morphology of flattened and non-flattened specimens showed that, except for the pre-pharynx length and width, ratio of oral sucker/ventral sucker length, ovary length and width, and eggs length and width, all other variables were enlarged in relation to the non-flattened specimens. Moreover, the cirrus sac of the non-flattened species could not be compared due to difficulties observing the structure in stained specimens (Table 1).

Molecular analysis

Three partial sequences of the 28S rDNA gene of *O. heterocoelium* were successfully sequenced and aligned with 34 digeneans species belonging to Plagiorchiida from 15 families available in GenBank. The final 28S rDNA alignment consisted of 1,304 bp (*Accession numbers will be given after manuscript acceptance*), after trimming to the shortest sequence. Members of the family Microphallidae Ward, 1901, Pleurogenidae Looss, 1899, and Prosthogonimidae Lühe, 1909 were used as outgroups (Fig. 1).

Phylogenetic analysis of 28S rRNA gene did not recover *Ochetosoma* as a monophyletic assemblage; *D. nicolli* and *L. tygarti* were nested with *Ochetosoma*, with *O. aniarum* as the sister taxa of two clades, one formed by *O. kansense* and *D. nicolli* plus *L. tygarti*, and one by *O. heterocoelium* and an unidentified ochetosomatid (Fig. 4). Furthermore, the family Ochetosomatidae was yielded as the sister group of species of digeneans parasitising snakes and amphibians included in the families: Dicrocoeliidae Cephalogonimidae, and Telorchidae (Fig. 4).

28S Intraspecific divergence among specimens of *O. heterocoelium* varied between 0 and 0.2%. Interspecific genetic divergence between *O. heterocoelium* and *O. aniarum* and *O. kansense* varied 1.2-1.3% and 0.6-0.8%, respectively. Moreover, the divergence between *O. heterocoelium* and *D. nicolli* varied from 1.1 to 1.4% and between 0.9 and 1.1% from *L. tygarti* (Figure 4).

For the mitochondrial COI gene, three partial sequences of *O. heterocoelium* were successfully sequenced and aligned with 29 digeneans belonging to the orders Bothriocephalidea, Diplostomida, Onchoproteocephalidea, Plagiorchiida, Prostomatida, and Rhinebothriidea available in GenBank. The final COI alignment consisted of 356 bp long (*Accession numbers will be given after manuscript acceptance*). For the phylogenetic analyses, sequences from 24 species from 17 families, were used and for outgroups were included family members of: Proteocephalidae La Rue, 1911, Rhinebothriidae Euzet, 1953 and Triaenophoridae Lönnberg, 1889 (Figure 5). All sequence fragments of *O. heterocoelium* showed 0% divergence between them. The genetically closest was Reniferidae gen. sp. which is the only sequence deposited for species of the genus with a divergence of 0.9% and 1.71%.

4. Discussion

The genus *Ochetosoma* includes about 36 species around the world (Yamaguti 1971). In South America, only three *Ochetosoma* species have been reported infecting snakes. *Ochetosoma heterocoelium* is the only species of this genus reported in Brazil (Fernandes and Cohn 2014). This species differs from the other congeners mainly in the extension of the intestinal caeca and the size of the cirrus sac (Dubois and Mahon 1959). After the original description by Travassos (1921), new morphological data on the species as well as new hosts and new geographical records have been published (Correa *et al.* 1999; Silva *et al.* 1999; Pinto *et al.* 2012; Vicente-Ferreira *et al.* 2023). We describe for the first time the presence of a prominent muscular projection in the anterior end of *O. heterocoelium* which was clearly observed in stained specimens and through SEM. We confirmed the presence of the structure by studying the holotype of *O. heterocoelium* deposited in the Coleção Helmintológica of the Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC 973d) (Fig. 6). Strangely, this structure was represented by Travassos (1921) and Correa *et al.* (1990) in the illustrations of these publications, but it was not mentioned in the description.

A redescription of *O. heterocoelium* based on specimens collected from several snake species in Colombia was more recently conducted by Lenis *et al.* (2009). However, when comparing the redescription provided by these authors with our specimens, we uncovered some important differences. For instance, the prominent muscular projection was not described or illustrated in the study by Lenis *et al.* (2009). We analyzed two voucher specimens deposited in the Colección Nacional de Helmintos, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México (CNHE 6459), and we confirmed that the specimens lacked such muscular projection associated with the oral sucker (Fig. 6). Furthermore, Travassos (1921) described the intestinal caeca of *O. heterocoelium* as broad, short, slightly unequal and ending in the ventral sucker level, with the longest being on the opposite side of the genital pore, i.e., the right cecum. Lenis *et al.* (2009) redescription shows the same but no further comments were provided about which cecum was longest. We conducted a detailed morphological study of 40 newly sampled specimens and found that this characteristic is variable *O. heterocoelium*; 40% of the specimens exhibited the right cecum to be the longest. Lenis *et al.* (2009) reported that *O. heterocoelium* possessed an efferent and defferent duct dorsal to the ventral sucker, although this is not observed in the illustrations. We observed, however, that *O. heterocoelium* lacks a defferent duct. Efferent ducts from each testis directly reach the seminal vesicle at the base of the cirrus sac (Fig. 6C). Lenis *et al.* (2009) described the position of the genital pore at the pharynx level which is actually is more consistent with other *Ochetosoma* species, such as *Ochetosoma ellipticus* Pratt 1902 and *Ochetosoma validum* (Nicol, 1911) (Tkach 2008). Instead, we observed that in all 40 individuals analyzed the genital pore always opens at the level of the oesophagus. Finally, Lenis *et al.* (2009) referred to the distribution of the vitelline follicles from the anterior end of the ventral sucker to the mid-level or end of the testes. However, in our study, the distribution of vitelline follicles extends beyond the posterior end (Fig. 6A, C). Based on these divergent morphologies pointed out here, we concluded that *O. heterocoelium* found in Colombia and reported by Lenis *et al.* (2009) must be considered as *species inquirenda* since it probably correspond to an undescribed species of *Ochetosoma*; molecular data will be necessary to confirm this hypothesis.

In Brazil, digeneans frequently are fixed. Fixation of digeneans using a slight coverglass pressure is sometimes useful for a better observation of internal anatomy. This methodology was commonly used by Brazilian helminthologists such as Travassos and as a result specimens deposited in parasite collections are mostly flattened; because of that, for an accurate

morphological comparison with newly sampled individuals, it is convenient to have some specimens fixed in the same way. In addition, we compared the morphology of our own specimens which were fixed by flattening and some using hot ethanol 70%. The majority of analysed variables were different (Table 1). However, comparing these data with other studies with morphometrical data of *O. heterocoelium* (Travassos 1921; Lenis *et al.* 2009; Pinto *et al.* 2012), we found that, irrespective of fixation procedure, the values obtained were consistent with the description of this digenean species.

For the first time, scanning electron microscopy was used to analyze *O. heterocoelium*. This method shows more accurately structures not easy visible when analyzed through light microscope. The spines that cover the entire body of the trematode are different in size, and the spines in the dorsal region near the anterior and posterior ends are reduced in size in relation to the spines in other areas of the parasite's body. The prominent muscular projection associated with the anterior portion of the oral sucker was also observed through SEM., a feature never reported for the species; the opening of the Laurer's canal was also observed using SEM.

Molecular analyses

The topology of the 28S phylogenetic tree is relatively congruent with that reported by Bernal *et al.* (2022). These authors demonstrated similar results for the position of *Opisthioglyphe ranae* Frölich, 1791 within the family Telorchidae. to that of the present study using 28S rDNA Maximum likelihood phylogeny of which was close to species belonging to the genus *Telorchis* Lühe, 1899, however, it differed by presenting a member of *Glypthelmins* Stafford, 1905 as the closest sister group. Studies carried out previously with the metacercariae of *Glypthelmins quieta* (Stafford 1900) Stafford 1905, demonstrated that this species penetrates the skin of amphibians, and encysts under the epidermis when the amphibian moults and subsequently ingests its skin, the metacercariae will encyst when it reaches the intestine. This unusual cycle suggests that this genus belongs to an evolutionary lineage separated within Plagiorchioidea (Smyth and Smyth 1980; Tkach 2001). Based on these data, it is evident that species of *Glypthelmins* have grouped in a clade further away from the family Ochetsomatidae.

Tkach *et al.* (2001) conducted a phylogenetic analysis of plagiorchiids showing Telorchidae as a closely related group to Ochetsomatidae. Morphologically, species included in these

families are morphologically similar and several traits of their life cycles are common (Macdonald and Brooks, 1989). Still, in our analysis, *Infidum similis*, a dicrocoeliid along with *Choledocystus hepaticus*, a plagiorchiid appear as the sister taxa of Ochetosomatidae. In a previous 28S phylogenetic analysis, at least *C. hepaticus* appeared as sister taxa of Ochetosomatidae (Razo-Mendivil *et al.* 2006); however, for a more reliable taxonomic classification, taxa should be added for molecular studies and included for phylogenetic analysis (Tkach *et al.* 2001).

In the present study, a difference in the phylogenetic position of Ochetosomatidae and Telorchidae was found in comparison to previous studies; some taxa were added, such as *Lechriorchis tygarti* and *Infidum infidum*.

The phylogenetic discrepancies uncovered in our study for members of the suborder Plagiorchida were frequent before molecular studies, especially for some families belonging to this suborder, including the members of the family Ochetosomatidae. There were several taxonomic reassessments for the group due to studies on phylogeny being based exclusively on morphological characters, but they were not useful in resolving the classification of these group of digeneans. As pointed out by Tkach *et al.* (2010), these highly derived digenetic groups exhibit high levels of homoplasy, and the life cycles are poorly

Species in the genus *Ochetosoma* are distributed in the Nearctic, Neotropical, Palearctic, and Eastern biogeographical regions (Dyer 1989; Santoro *et al.* 2011). According to Santoro *et al.* (2011), species of the genus found in areas other than the Americas may represent accidental infections due to the commerce of species around the world. have been introduced by the transport of hosts purposefully or accidentally from different locations, however, as *Ochetosoma* spp. have a complex cycle involving two intermediate hosts, it is quite curious that the complete cycle was maintained in exotic areas. Usually introduced animals lose their parasites due to the barriers that make the life cycle difficult in a new environment (Torchin *et al.* 2002; Taraschewski 2006).

Information on the life cycle of species of *Ochetosoma* is scarce, but it is known that their species exhibit a complex life cycle with three hosts, snails and amphibians as intermediate hosts, and snakes as definitive hosts. When these reptiles ingest an amphibian infected with the metacercariae, the adult parasites develop in the mouth and oesophagus and thus complete the parasite life cycle (Santoro *et al.* 2011). For *O. heterocoelium* the information on the life cycle is fragmentary. The metacercariae of *O. heterocoelium* adhered to the external

intestinal wall in amphibians was reported by Pinto and Mello (2012) in Brazil. In addition, a xiphidiocercaria from the physid snail *Stenophysa marmorata* from Brazil was recently identified as a member of Ochetosomatidae and possibly of the genus *Ochetosoma* (López-Hernández *et al.* 2023). The present study confirms the hypothesis of these authors. Our three sequences of *O. heterocoelium* grouped together with the sequence of the xiphidiocercaria, and the divergence is very low (0.2%), allowing us to conclude that the *S. marmorata* must be the first intermediate host for *O. heterocoelium* and amphibians act as the second intermediate host in the life cycle of this parasite.

Another ochetosomatid, *Dasymetra nicolli* grouped phylogenetically in the same clade as *O. heterocoelium*. The life cycle of *Dasymetra villicaeca* Byrd, 1935 is very similar to that of *O. aniarum*; both species infect the same definitive hosts and the larval stages infecting the same intermediate hosts (Byrd 1935). More sequence data is required to find a stable classification system for this group of plagiorchiid trematodes, and the study of the life cycle of more species will add relevant information to understand the phylogenetic interrelationships.

References

- Bespalaya YV, Kondakov AV, Travina OV, Khrebtova IS, Kropotin V, Aksenova OV, Gofarov MY, Lyubas AA, Tomilova AA and Vikhrev IV (2022) First record of metacercariae trematodes *Opisthioglyphe ranae* (Digenea: Telorchidae) and *Echinostoma bolschewense* (Digenea: Echinostomatidae) in *Dreissena polymorpha* (Bivalvia: Dreissenidae) from the Don and Volga river basins, Russia. *Ecologica Montenegrina* **54**, 57-76. <https://doi.org/10.37828/em.2022.54.8>
- Byrd EE (1935) Life History Studies of Reniferinae (Trematoda, Digenea) Parasitic in Reptilia of the New Orleans Area. *Transactions of the American Microscopical Society* **54**, 196-225. <https://doi.org/10.2307/3222133>
- Corrêa FMA, Paulino RC, Buononato MA and Federsoni Jr PA (1990) *Ochetosoma heterocoelium* (Travassos, 1921) (Trematoda: Digenea: Ochetosomatidae) in a new host. *Memórias do Instituto Butantan* **52**, 11-16.
- Dubois G and Mahon J (1959) Étude de quelques trématodes Nord-Américains (avec note sur la position systématique de *Parorchis* Nicoll 1907) suivie d'une revision des genres

- Galactosomum* Looss 1899 et *Ochetosoma* Braun 1901. *Bulletin de la Société des Sciences Naturelles de Neuchâtel* **82**, 191-229.
- Dyer WG and Ballard SR** (1989) Ochetosomatid digeneans from Illinois snakes. *Transactions of the Illinois State Academy of Science* **82**, 159-162.
- Edgar RC** (2004) MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. *BMC Bioinformatics* **5**, 1-19. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/1471-2105-5-113>
- Fernandes BMM and Kohn A** (2014) South American trematodes parasites of amphibians and reptiles. Oficina de Livros, Rio de Janeiro, 2014. <https://doi.org/https://doi.org/10.1590/S0102-09352003000200022>
- Johnson P, Calhoun DM, Moss WE, McDevitt-Galles T, Riepe TB, Hallas JM, Parchman TL, Feldman CR, Achatz TJ and Tkach VV** (2021) The cost of travel: How dispersal ability limits local adaptation in host–parasite interactions. *Journal of Evolutionary Biology* **34**, 512-524. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jeb.13754>
- Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Buxton S, Cooper A, Markowitz S and Duran C** (2012) Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* **28**, 1647-1649. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts199>
- Kimura MA** (1980) Simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* **16**, 111-120. <https://doi.org/10.1007/BF01731581>
- Leão, A. T.** (1945) Discussão em torno dos gêneros *Ochetosoma* Braun, 1901, e *Renifer* Pratt, 1902 (Trematoda). *Memórias do Instituto Butantan*, 18, 67-74.
- Lenis C, Arredondo JC and Calle JI** (2009) *Ochetosoma heterocoelium* (Digenea: Plagiorchiidae) en ofidios de Colombia. *Revista Mexicana de Biodiversidad* **80**, 603-609.
- López-Hernández D, de Melo, AL and Pinto, HA** (2023) *Stenophysa marmorata* (mollusca: physidae) as an intermediate host of a snake trematode of the family Reniferidae in Brazil. *Journal of Parasitology* **109**, 129-134.
- Macdonald CA and Brooks DR** (1989) Redescription of *Pseudotelorchis compactus* (Cable and Sanborn, 1970) Yamaguti, 1971 (Cercomeria: Trematoda: Digenea: Plagiorchiiformes) with discussion of its phylogenetic affinities. *Canadian Journal of Zoology* **67**, 1421-1424. <https://doi.org/10.1139/z89-201>

- Miller MA, Pfeiffer W, and Schwartz T** (2010) Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: Gateway Computing Environments Workshop (GCE), pp. 1-8. <https://doi.org/10.1109/GCE.2010.5676129>.
- Morgan JAT, and Blair D** (1998) Relative merits of nuclear ribosomal internal transcribed spacers and mitochondrial CO1 and ND1 genes for distinguishing among *Echinostoma* species (Trematoda). *Parasitology* **11**, 289–297.
- Müller MI, Emmerich E, Alcantara EP, Ungari LP, Ebert MB, Morais DH, O'Dwyer LH and Silva RJ** (2021) First molecular assessment of two digenean parasites of the lancehead snake *Bothrops moojeni* Hoge, 1966 (Serpentes, Viperidae) in Brazil. *Parasitology Research* **120**, 971-977. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s00436-020-07041-3>.
- Müller MI, Morais DH and Silva RJ** (2018) Molecular phylogenetic position of *Haplometroides intercaecalis* (Digenea, Plagiorchiidae). *Acta Parasitologica* **63**, 522-526. <https://doi.org/https://doi.org/10.1515/ap-2018-0062>.
- Pinto HA and Melo AL** (2012) Metacercariae of *Renifer heterocoelium* (Trematoda: Reniferidae) in tadpoles of *Rhinella schneideri* (Anura: Bufonidae) in Brazil. *Revista Mexicana de Biodiversidad* **83**, 553-556.
- Pinto HA, Mati VLT and Melo AL** (2012) New hosts and localities for trematodes of snakes (Reptilia: Squamata) from Minas Gerais State, Southeastern Brazil. *Comparative Parasitology* **79**, 238-246. <https://doi.org/https://doi.org/10.1654/4548.1>
- Posada, D** (2008) jModelTest: Phylogenetic Model Averaging, *Mol Biol Evol.* **25**, 1253–1256. <https://doi.org/10.1093/molbev/msn083>
- Pulis EE, Tkach VV, and Newman RA** (2011) Helminth parasites of the wood frog, *Lithobates sylvaticus*, in prairie pothole wetlands of the Northern Great Plains. *Wetlands* **31**, 675-685. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s13157-011-0183-6>
- Rambaut A** (2009) Molecular evolution, phylogenetics and epidemiology: Fig-Tree, <http://Tree.Bio.Ed.Ac.Uk/Software/Figtree/>
- Razo-Mendivil UJ, León-Règagnon V and de Leon, GPP** (2006). Monophyly and systematic position of *Glypthelmins* (Digenea), based on partial 18S rDNA sequences and morphological evidence. *Organisms Diversity & Evolution* **6**, 308-320.
- Rüppell E and Leuckart FS** (1828). Neue wirbellose Thiere des rothen Meers. In: *Rüppell, E. (Ed.) Atlas zu der Reise im nördlichen Afrika*. H. L. Brönner, Frankfurt am Main, pp.1-47. <https://www.biodiversitylibrary.org/page/37140869>

- Santoro M, Tkach VV, Mattiucci S, Kinsella JM and Nascetti G** (2011) *Renifer aniarum* (Digenea: Reniferidae), an introduced North American parasite in grass snakes *Natrix natrix* in Calabria, southern Italy. *Diseases of Aquatic Organisms* **95**, 233-240. <https://doi.org/https://doi.org/10.3354/dao02365>.
- Silva RJ, Rodrigues RR, Stein MFB, Sipoli GPM, Pinhão R and Lopes CAM** (1999) The detection of *Ochetosoma heterocoelium* (Travassos, 1921) (Trematoda: Digenea: Ochetosomatidae) in *Chironius exoletus* (Linnaeus, 1758) (Ophida: Colubridae). *Journal of Venomous Animals and Toxins* **5**, 1-4. <https://doi.org/https://doi.org/10.1590/S0104-79301999000100007>.
- Smyth JD, and Smyth MM** (1980) Frogs as host-parasite systems I: an Introduction to Parasitology Through the Parasites of *Rana temporaria*, *R. esculenta* and *R. pipiens*, Macmillan Press, London.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipinski A, and Kumar S** (2013) MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* **30**, 2725-2729. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>.
- Taraschewski H** (2006) Hosts and parasites as aliens. *Journal of Helminthology* **80**, 99-128. <https://doi.org/DOI:10.1079/JOH2006364>.
- Tkach VV** (2008) Family Plagiorchiidae Lühe, 1901. In: *Keys to the Trematoda*, V.3. CABI Wallingford UK, pp.295-325.
- Tkach VV, Snyder SD, and Swiderski Z** (2001) On the phylogenetic relationships of some members of Macroderoididae and Ochetosomatidae (Digenea, Plagiorchioidea). *Acta Parasitologica* **46**, 267-275.
- Torchin M, Lafferty KD and Kuris AM** (2002) Parasites and marine invasions. *Parasitology* **124**, 137-151. <https://doi.org/DOI:10.1017/S0031182002001506>.
- Travassos L** (1921) Contribuições para o conhecimento da fauna helmintológica brasileira. XII: sobre as espécies brasileiras da sub-família Brachycoelinae. *Archivos da Escola Superior de Agricultura e Medicina Veterinária, Nictheroy* **5**, 59-67.
- Vicente-Ferreira GS, do Nascimento EF, Grezzana KLG, Ávila RW and Garey MV** (2023) Range extension and first state record of the snake parasite *Renifer heterocoelium* (Trematoda: Digenea) in southern Brazil. *Herpetology Notes* **16**, 807-811.
- Xia X** (2013) DAMBE5: A Comprehensive Software Package for Data Analysis in Molecular Biology and Evolution. *Molecular Biology and Evolution* **30**, 1720-1728. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst064>

Yamaguti S. (1971) *Synopsis of digenetic trematodes of vertebrates*. V. I and II. Keigaku Publishing Co., Tokyo. 1074p.



Figure 1. Specimen of *Bothrops moojeni* Hoge, 1966 (Viperidae) from São Sebastião do Paraíso Farm, municipality of Boa Esperança do Sul, São Paulo State, Brazil.

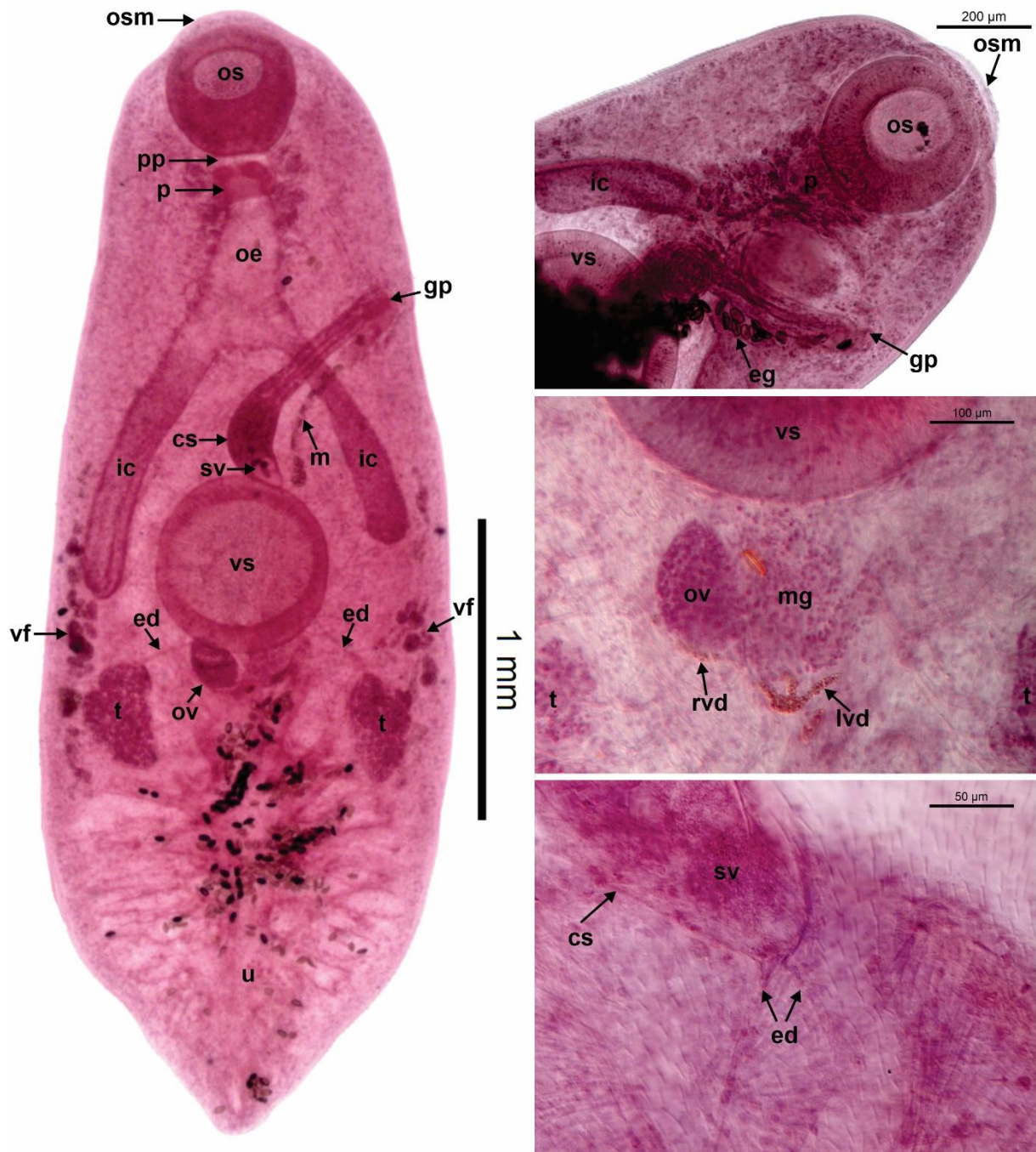


Figure 2. Specimen of *Ochetosoma heterocoelium* (Travassos, 1921) (Ochetosomatidae) ex *Bothrops moojeni* (Viperidae) from the São Sebastião do Paraíso Farm municipality of Boa Esperança do Sul, São Paulo State, Brazil. cs – cirrus sac; eg - eggs; ic – intestinal caeca; ed – efferent duct, es – esophagus; gp - genital pore; lvd – left vitelline duct; m – metraterm; mg - Mehlis' gland; os - oral sucker; osm - oral sucker muscular projection; ov – ovary; p - pharynx; pp – pre-pharynx; rvd – right vitelline duct; sv – seminal vesicle; t – testi; vf - vitelline follicles; vs – ventral sucker; u - uterus

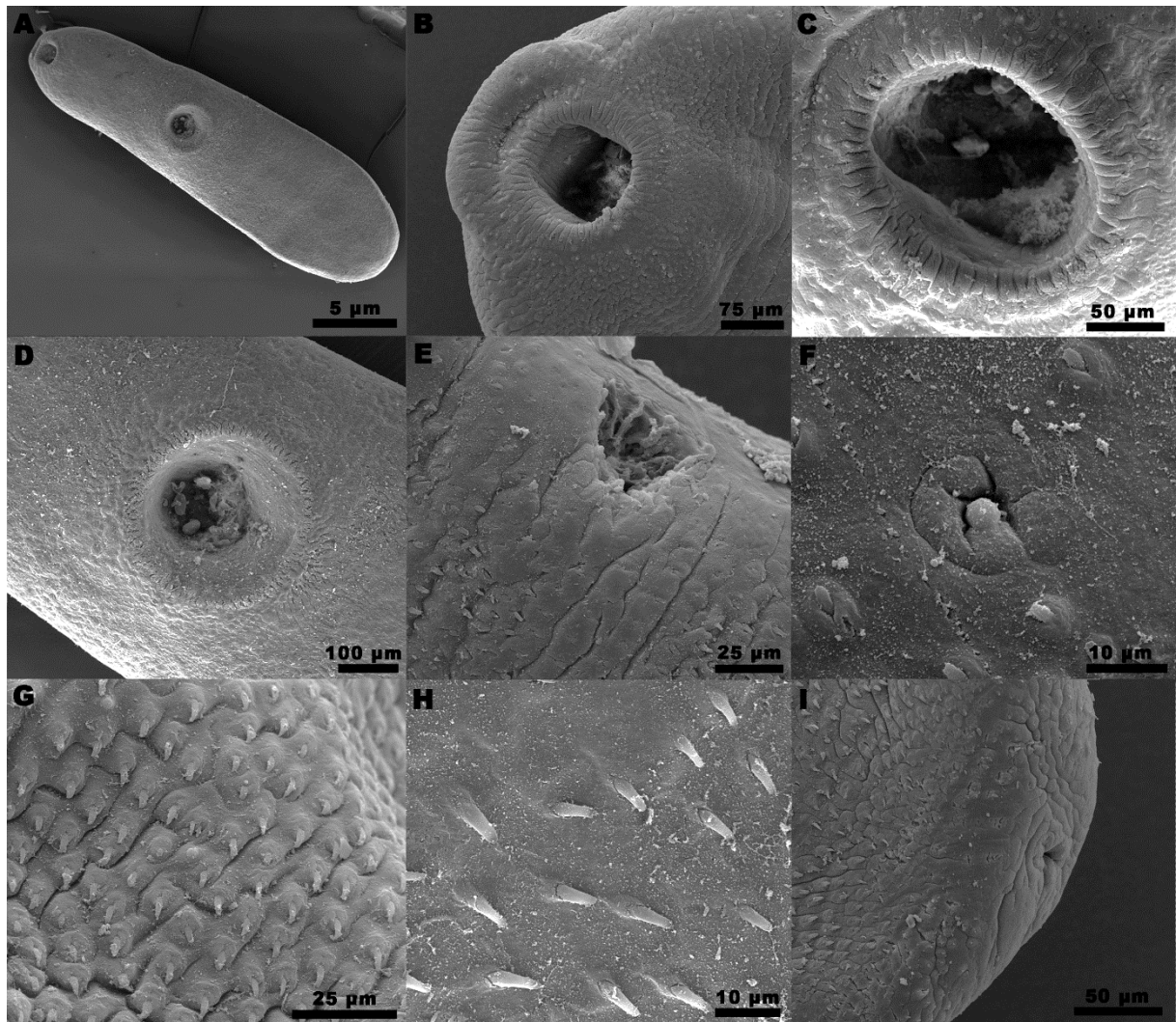


Figure 3. Scanning Electron Microscopy photomicrographs of *Ochetosoma heterocoelium* (Travassos, 1921) (Ochetosomatidae) exf *Bothrops moojeni* (Viperidae) from the São Sebastião do Paraíso Farm municipality of Boa Esperança do Sul, São Paulo State, Brazil. A. Whole body, ventral view; B. Oral sucker, highlighting the anterior muscular projection, ventral view; C. Detail of oral sucker, ventral view; D. Ventral sucker, ventral view; E. Genital pore, view on the anterior left lateral margin, ventral view; F. Laurer's canal opening, located in the dorsal region, dorsal view; G. Spines in the dorsal region, dorsal view; and H. Detail of the spines, posterior region, dorsal view; I. Posterior region highlighting the excretory pore at the end.

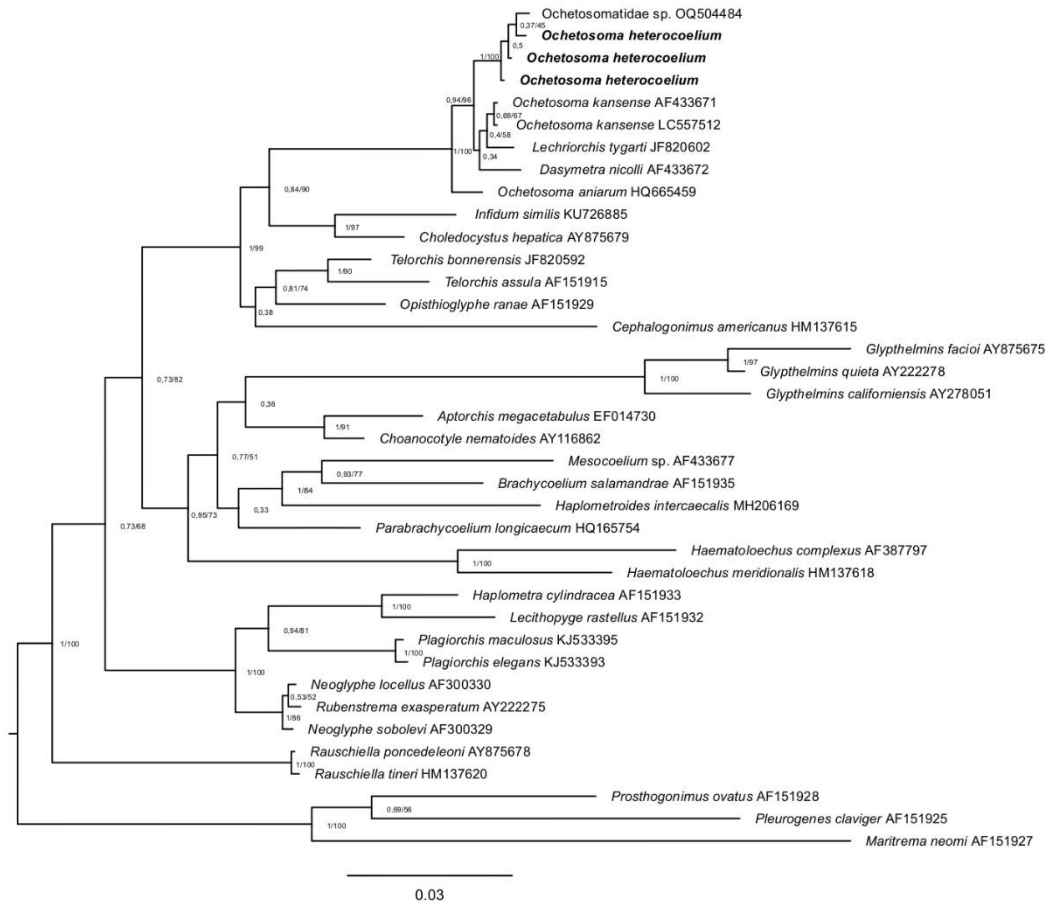


Figure 4. Bayesian topology based on partial 28S ribosomal DNA sequences of Digenea. GenBank accession numbers are indicated next to species names. Numbers in the nodes represent supported nodes by posterior probabilities for Bayesian analyses (decimal numbers) and bootstrap for maximum likelihood analyses. The branch length scale bar indicates the number of substitutions per site.

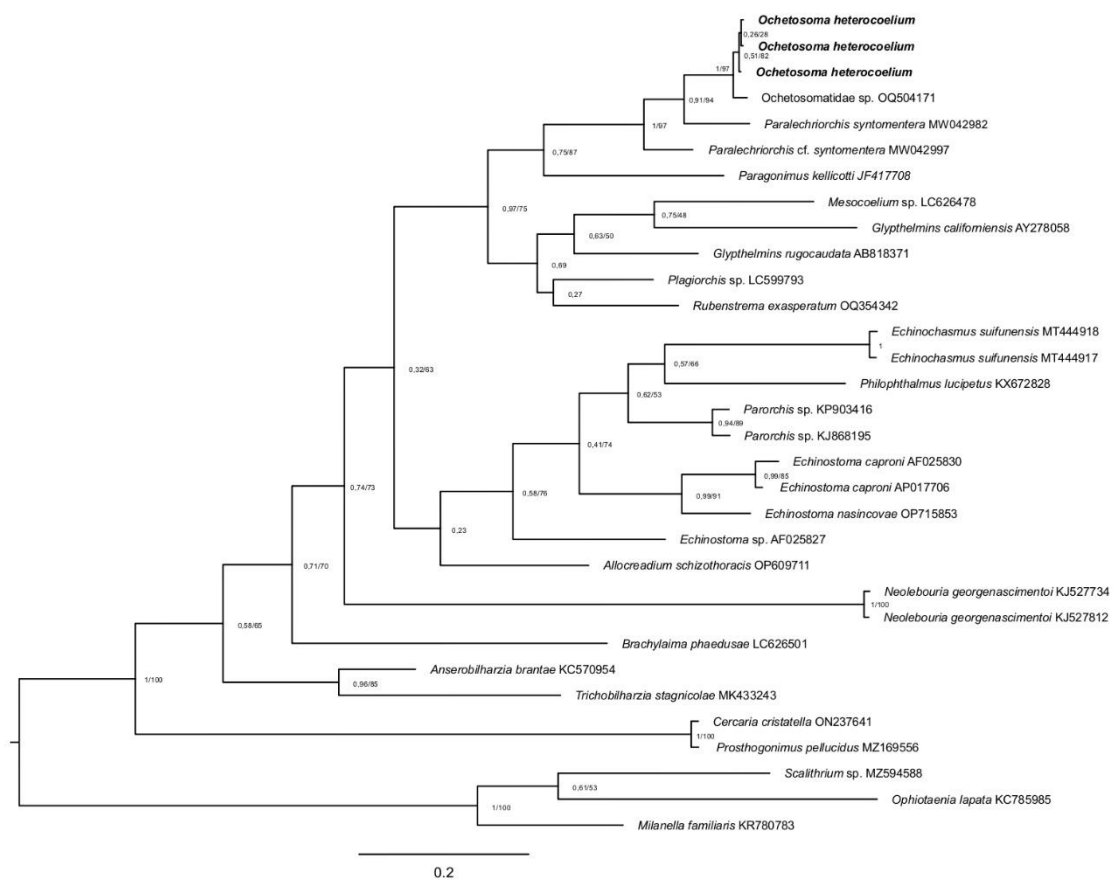


Figure 5. Bayesian topology based on partial mitochondrial COI gene DNA sequences of Digenea. GenBank accession numbers are indicated next to species names. Numbers in the nodes represent supported nodes by posterior probabilities for Bayesian analyses (decimal numbers) and bootstrap for maximum likelihood analyses. The branch length scale bar indicates the number of substitutions per site.

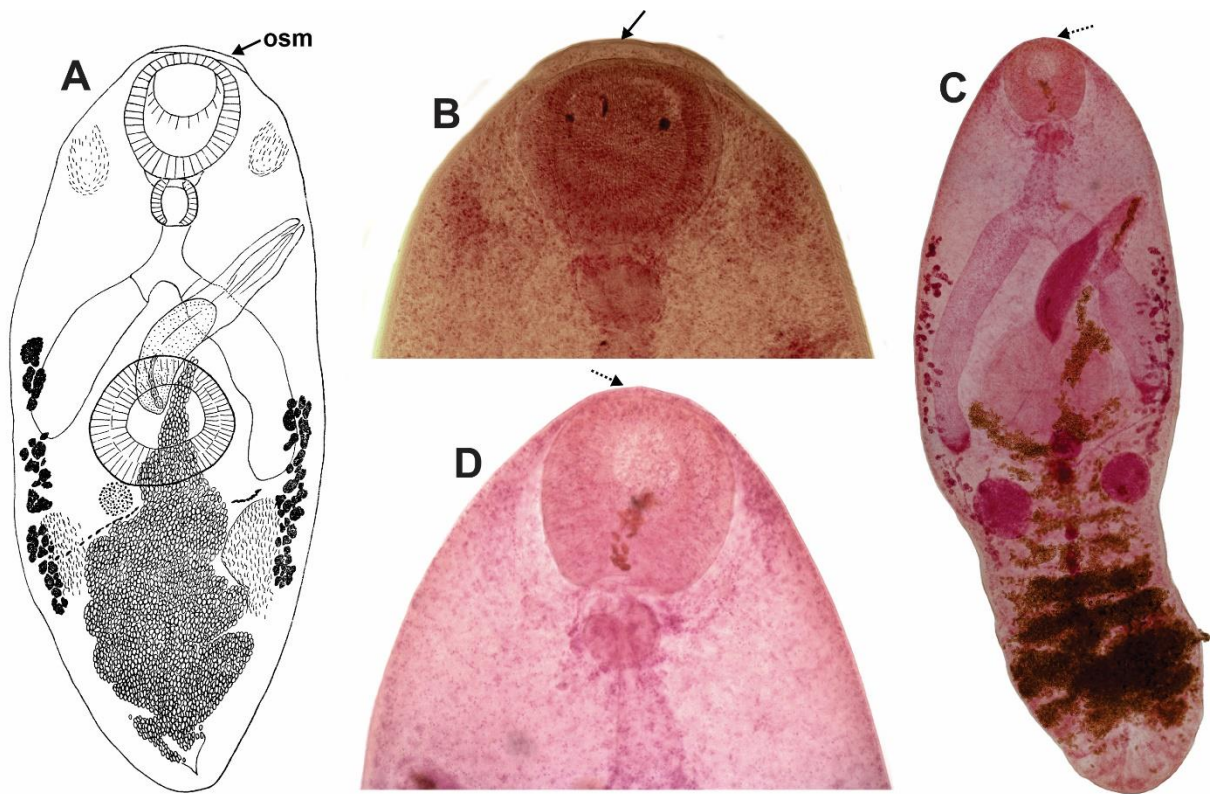


Figure 6. *Ochetosoma heterocoelium*. A. Whole body, redrawn from Travassos (1921); B. Holotype deposited in the Coleção Helminológica of the Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC 973d) - detail of the oral sucker with anterior muscular projection (full black arrow); C. Paratype of *Ochetosoma heterocoelium* from Colombia after Lenis *et al.* (2009) deposited in the Colección Nacional de Helmintos, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México (CNHE 6459). C. Whole body; and D. detail of the oral sucker showing the lack of the anterior muscular projection (dotted black arrow).

Table 1. Morphometry of *Renifer heterocoelium* with a comparison between measurements of flattened and non-flattened individuals.

Variable	Flattened specimens	Non-flattened specimens	Statistics
Body length	3504.1 ± 62.9 (2983.9-4032.7)	2693.8 ± 44.1 (2296.5-3092.7)	t = 10.555; p ≤ 0.001
Body width	1281.9 ± 22.2 (1091.5-1423.4)	976.0 ± 16.1 (845.9-1099.7)	t = 11.171; p ≤ 0.001
Pre-pharynx length	78 ± 11.1 (21.8-209.3)	51.3 ± 14.5 (29.7-107.1)	t = 1.157; p = 0.26
Pre-pharynx width	143.2 ± 11.5 (38.9-233.2)	90.7 ± 19.7 (45.1-137)	t = 1.951; p = 0.064
Pharynx length	131.3 ± 2.9 (111-167.2)	118.4 ± 3.9 (97.6-177.4)	t = 2.635; p = 0.012
Pharynx width	168.5 ± 5.6 (142.5-247)	147.6 ± 2.0 (127-165)	t = 6.047; p ≤ 0.001
Esophagus length	343 ± 22.6 (80.7-511)	222.2 ± 4.9 (183.4-247.6)	U = 110.0; p ≤ 0.001
Esophagus width	142.5 ± 17.3 (51-369)	91.4 ± 9.8 (46.5-144.5)	U = 114.0; p ≤ 0.023
Oral sucker length	452.5 ± 5.4 (394.3-488.6)	370.1 ± 5.3 (319.5-420.5)	t = 10.984; p ≤ 0.001
Oral sucker width	444.3 ± 5.1 (377.5-479.1)	365.5 ± 3.9 (322-381.8)	t = 13.702; p ≤ 0.001
Ventral sucker length	590 ± 7.8 (487-634)	491.8 ± 9.7 (425.6-551)	t = 7.941; p ≤ 0.001
Ventral sucker width	576.7 ± 9.6 (456.4-651.4)	495.1 ± 10.4 (395.8-562.1)	t = 5.758; p ≤ 0.001
Distance between suckers	994.4 ± 22.7 (822.8-1191.1)	568 ± 17.2 (378.5-693)	t = 14.997; p ≤ 0.001
Cirrus sac length	928.5 ± (718.7-1146.3)	846.3 ± (731.6-961)	*
Cirrus sac width at cirrus level	82 ± (65.8-99.4)	87 ± (83.8-90)	*
Cirrus sac width at seminal vesicle	155.2 ± (132.6-177.8)	150 ± (141.2-156.2)	*
Ovary length	155.7 ± 6.5 (89.7-207.5)	138.2 ± 5.7 (116.1-172.3)	t = 1.784; p = 0.085
Ovary width	118 ± 4.7 (82.8-159.3)	111 ± 3.6 (94.7-135.6)	t = 1.013; p = 0.320
Left testis length	281 ± 11.7 (189.3-374)	235.1 ± 9.9 (129-327)	t = 3.001; p = 0.005
Left testis width	230.1 ± 13.3 (90-296.5)	153.8 ± 5.9 (103-188.3)	U = 474.0; p ≤ 0.001
Right testis length	300.5 ± 15.9 (135.4-408.1)	263.4 ± 8.0 (205.8-338)	U = 461.0; p = 0.024
Right testis width	236.9 ± 15.7 (93.5-349)	168 ± 9.0 (93.8-248)	U = 495.0; p = 0.001
Egg length	37 ± 0.2 (31-42.5)	37.6 ± 0.3 (29.7-46.7)	U = 7850.0; p = 0.231
Egg width	22 ± 0.3 (17.2-35.2)	22.1 ± 0.2 (18-28.7)	U = 8161.0; p = 0.741

*structure not analyzed.

CAPÍTULO III

A new species of *Euparadistomum* (Digenea, Dicrocoeliidae) parasite of *Tropidurus oreadicus* (Squamata, Tropiduridae) in South America, supported by an integrative taxonomy

A new species of *Euparadistomum* (Digenea, Dicrocoeliidae) parasite of *Tropidurus oreadicus* (Squamata, Tropiduridae) in South America, supported by an integrative taxonomy

Keywords: Reptile, lizard, Neotropical, South America, Biodiversity

Introduction

Having one of the most diverse reptilian populations globally, South America ranks third in species richness (Uetz *et al.*, 2022). Despite this remarkable diversity, little is known about the parasitic fauna associated with these organisms. Surprisingly, less than 10% of these species have parasitological records related to trematodes, representing roughly 150 species across the entire continent (Fernandes & Kohn, 2014).

The infection with trematodes in lizard species belonging to the *Tropidurus* Wied-Neuwied, 1824 in South America involves only five species of digeneans of Plagiorchiida, as follows: *Mesocoelium monas* (Rudolphi, 1819) found in amphibians and reptiles, *Haplometroides odhneri* Ruiz & Perez, 1959 recognized for parasitizing both lizards and snakes, *Plagiorchis freitasi* Vicente, 1978 in *Tropidurus torquatus* (Wied-Neuwied, 1820), *Paradistomum parvissimum* (Travassos, 1918), in several reptilian species, and *Euparadistomum paraense* (Jansen, 1941), recently reported in *Tropidurus hispidus* (Spix, 1825) in Sergipe state, Northeast Brazil (Araujo Filho *et al.*, 2020; Fernandes & Kohn, 2014).

Upon analyzing the digenean specimens found in the gallbladder of *T. oreadicus* from Mato Grosso do Sul state, Brazil, we observed diagnostic features of *Euparadistomum* Tubangui, 1931. This genus of Dicrocoeliidae was proposed to include *Euparadistomum varani* Tubangui, 1931, found at the gall bladder of the lizard *Varanus salvator* (Laurenti, 1768) from Molawin Creek, Los Baños, Luzon, in Philippines, which was mainly characterized by present: 1) the preacetabular position of the testes; 2) the extensive distribution of uterine coils throughout the entire body; 3) the equatorial location of the ventral sucker; and 4) a notable separation between the cirrus sac and pharynx (Gogate, 1939; Tubangui, 1931). Presently,

Euparadistomum includes 16 species, eleven of them parasites of mammals, four were described from birds, and two were reported on reptiles worldwide.

In South America, there is only one species, *E. paraense*, which was originally reported on an opossum *Caluromys philander* (Linnaeus, 1758) from Pará, North Brazil (Jansen, 1941). Considering the morphological divergences found in the specimens analyzed in the present research compared to other species of *Euparadistomum*, a putative new species of the genus is here described based on an integrative study.

Materials and Methods

Ethical approval

This research received ethical approval from the State University of São Paulo Ethics Committee (CEUA #1061), and the collection of specimens was authorized by the Brazilian Ministry of the Environment through the System of Authorization and Information on Biodiversity (SISBIO #61940).

Field research and parasite processing

During parasitological surveys conducted in March 2018 at Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Cisalpina in the municipality of Brasilândia in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil, a total of 14 specimens of *T. oreadicus* were collected, two specimens with the mean snout–vent length (SVL) of 101.62 (96.2–107.04 mm), and mean body weight of 43 (37–49 g), were parasitized with four specimens of *Euparadistomum* sp. in the gallbladder. The lizards were sighted in random transects and shot with a compressed-air rifle CBC® Montenegro F22 B12-6, 5.5 mm calibre. After that, they were measured and had the internal organs removed, separated and dissected to search helminths under a stereomicroscope. The hosts were deposited at the Herpetological Collection of the Universidade Regional do Cariri URCA-H, municipality of Crato, Ceará State, Brazil, under URCA-H 14729.

The parasites were fixed in alcohol-formalin-acetic acid (AFA) solution under the slight pressure of a coverslip for 10 min and conserved in ethanol 70% for morphological study. For molecular proposes, some specimens were placed directly in 96% molecular-grade ethanol.

Digeneans were stained with carmine, cleared with eugenol, and analyzed on a Leica DM5000B microscope equipped with a differential interface contrast (DIC). Photographs and measurements were taken on micrometers (μm), using a computerized system for image analysis (V3 Leica Application Suite, Leica Microsystems, Wetzlar, Germany). Drawings were made using a drawing tube and edited using Inkscape version 1.3 (Bah, 2011).

One specimen of the parasite was analyzed using scanning electron microscopy to better observe the oral sucker and papillae present on the body. For this, the helminth was post-fixed in 0,5% osmium tetroxide, dehydrated in a graded alcohol series, and critically point-dried. The specimens were mounted on an aluminium stub using conductive double-sided tape, coated with gold–palladium, and examined with the use of a Quanta 200 SEM (FEI Company, Eindhoven, the Netherlands) at the Electron Microscopy Center of the Institute of Biosciences, São Paulo State University, municipality of Botucatu, Brazil.

Type series of the digeneans were deposited in the Helminthological Collection of the Oswaldo Cruz Institute (CHIOC).

DNA extraction, amplification and sequencing

DNA extraction was performed on an individual, with a segment excised from the posterior region of the body, while the remaining portion of the body was preserved as a hologenophore. It was conducted using a DNeasy® Blood and Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Germany) according to the manufacturer's instructions, with a final volume of 50 μl . Polymerase Chain Reactions (PCR) were performed in a 25 μl total volume, containing 2 μl of the extracted DNA, 0.4 mM of each primer and 12.5 μl of SYBR™ Green PCR Master Mix. To amplify a partial region of the large subunit of ribosomal DNA (28S rDNA), the PCRs were made using the primers LSU5 (TAGGTCGACCCGCTGAAYTTAAGCA) (Littlewood *et al.*, 2000) and L1642 (CCAGCGCCATCCATTTTCA) (Lockyer *et al.*, 2003). The conditions set out were an initial denaturation at 94 °C for 3 min, followed by 35 cycles of 94 °C for 30 s, 58 °C for 30 s, 72 °C for 90 s, and a final elongation at 72 °C for 7 min. The amplifications of the partial cytochrome c oxidase I (COI) were made under the use of the primers JB3 (TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT) (Bowles *et al.*, 1995) and CO1-R trema (CAACAAATCATGATGCAAAAGG) (Miura *et al.*, 2005), setting the following conditions: denaturation at 95 °C for 5 min, followed by 35 cycles of 94 °C for 1 min, 48 °C for 45 s, 72 °C for 90 s, and a final elongation at 72 °C for 10 min. Amplicons were electrophoresed on 1.0%

agarose gel in a TBE buffer 1X (10.8 g Tris; 24.2 g 5.5g boric acid; 0.955 g de EDTA *q.s.p.* 1000 ml) stained with GelRed (Biotium, Fremont, CA, USA). The products of PCR were purified using a QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA) according to the manufacturer's instructions. Sequencing reactions were performed directly on the purified PCR products using a BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) and sequences were run on an ABI 3730xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

Contiguous sequences were visualized, assembled and edited in Geneious version 7.1.3 (Kearse *et al.*, 2012). Newly obtained sequence was submitted to a basic local alignment search (BLASTn) (Altschul *et al.*, 1997) to verify their similarity with other sequences available in the NCBI BioSystems database (Geer *et al.*, 2009). All the sequences used for comparison were downloaded from the NCBI BioSystems database (Geer *et al.*, 2009), selected according to length (*i.e.*, more than 1100 bp), relevance (*i.e.* occurrence in South America and members of Dicrocoeliidae) and the coherence of their fit with the alignments, which was performed by using the using MUSCLE (Edgar, 2004) algorithm implemented in Geneious version 7.1.3 (Kearse *et al.*, 2012). The produced alignments were subjected to a less stringent g-blocks procedure (Talavera & Castresana, 2007). Phylogenetic trees were generated from these sequence alignments using Bayesian Inference (BI) and Maximum Likelihood (ML) methods.

Molecular comparison and phylogenetic inferences

Following the classification proposed by Pérez-Ponce de León & Hernández-Mena (2019), our phylogenetic inferences focused on using members of the Gorgodoidea as ingroup. This included species of Allocreadiidae, Callodistomidae, Dicrocoeliidae, Encyclometridae, Gorgoderidae, Orchipediidae, along with two genera *incertae sedis*, *Polylekithum* and *Paracreptotrematina*. To establish the phylogenetic context, we employed members of the Troglotrematoidea (*sensu* Olson *et al.*, 2003), such as Troglotrematidae and Paragonimidae, as well as two heterophyids (Opisthorchioidea) as outgroup.

The divergence analysis was conducted in the MEGA version 11.0.13 (Tamura *et al.*, 2021) only with members of Dicrocoeliidae. This analysis was set out to use bootstrap variance estimation (1000 interactions), the substitution model (transition + transversion) p-distance, with gamma-distributed substitution rates among sites (G). Gaps and missing data were considered using pairwise deletion.

Bayesian Inference (BI) analysis was performed using the MrBayes version 3.2.7 software package (Ronquist *et al.*, 2012). Two independent Markov Chain Monte Carlo (MCMC) analyses were conducted, running for 2,000,000 generations, with 2 chains, each comprising 1,000,000 iterations. Tree sampling occurred at every 1000th generation, MCMC diagnostics were logged every 10000th generation, and the initial 25% of samples were discarded as burn-in. The evolutionary model was defined as 'lset nst = mixed' and 'rates = invgamma'. Maximum Likelihood (ML) analysis was carried out using PhyML with Smart Model Selection (Guindon *et al.*, 2010; Guindon & Gascuel, 2003). Node support was assessed through Posterior Probability in the BI and Bootstrap analysis with 1000 replicates in the ML. For tree visualization and editing, FigTree v1.4.4 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>) and Inkscape version 1.3 (Bah, 2011) were employed. The zoogeographic regions (Holt *et al.*, 2013) were integrated into the phylogenetic tree to trace the evolutionary history of this character, with ancestral states sought using Mesquite version 3.70 (Maddison & Maddison, 2021);

Results

Morphological description

Taxonomic summary

Subphylum Neodermata Ehlers, 1985

Class Trematoda Rudolphi, 1808

Order Digenea Carus, 1863

Superfamily Gorgoderoidea Loss, 1899

Family Dicrocoeliidae Loss, 1899

Genus *Euparadisotmum* Tubangui, 1931

***Euparadisotmum* sp. (Fig. 1)**

Type host: *Tropidurus oreadicus* Rodrigues, 1987

Site of infection: Gallbladder.

Type locality: Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Cisalpina at the municipality of Brasilândia in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil (21°14'58.56'' S, 51° 56' 44.93'' W).

Prevalence of infection: 2 infected hosts of 14 hosts collected (14%)

Mean intensity of infection: 2.

Mean abundance of infection: 0.3.

Specimens deposited: Holotype CHIOC 0000. Paratypes CHIOC 0000.

Zoobank Life Science Identifier:

GenBank accession number:

Description (based on X adults stained on carmine and cleared with eugenol): Body 4,940.6-6,522.4 (5,739.8) in length, 2,892.7-3,620.8 (3,253.0) in width. Smooth tegument. Oral sucker, 573.2-960.6 (771.4) in length, 767.7-1,020.1 (876.9) in width. Ventral sucker 729.1-1,397.2 (985.3) in length by 677.8-1,142.9 (920.7) in width. Pharynx, 172.9-238.2 (193.7) in length, 220.1-296.8 (247.4) in width; esophagus, 284.4-376.5 (330.4). Cecal bifurcation between one-third to one-half of distance between oral sucker and ventral sucker; ceca ending between posterior testis and posterior end of body. Testes oval, entire, oblique, contiguous in posterior half of body. Anterior testis 423.2-713.4 (607.1) in length by 298.4-571.0 (405.8) in width. Posterior testis 485.2-629.7 (523.2) in length by 261.3-429.5 (366.6) in width. Cirrus sac ovoid 434.7 in length, containing internal seminal vesicle, pars prostatica, and unspined looping cirrus opening into genital atrium. Genital pore located at level of cecal bifurcation. Ovary pretesticular, median, rounded, immediately posterior to or overlapping ventral sucker, 405.0-527.6 (464.6) in length by 360.6-513.8 (441.2) in width. Seminal receptacle located immediately posterior to ovary, Laurer's canal present (both seen only in live specimens after eggs released). Mehlis' gland not observed. Vitelline follicles numerous, lateral, extra and intracecal, extending from oral sucker to posterior end of body, confluent in post-testicular region. Uterus coiling between posterior testis and ovary, containing about eggs. Eggs collapsed, deformed in permanent mounts; 35.2-57.2 (45.6) in length by 19.4-29.8 (25.6) in width, apparently not embryonated into live specimens, Excretory vesicle tubular, extending to anterior testis.

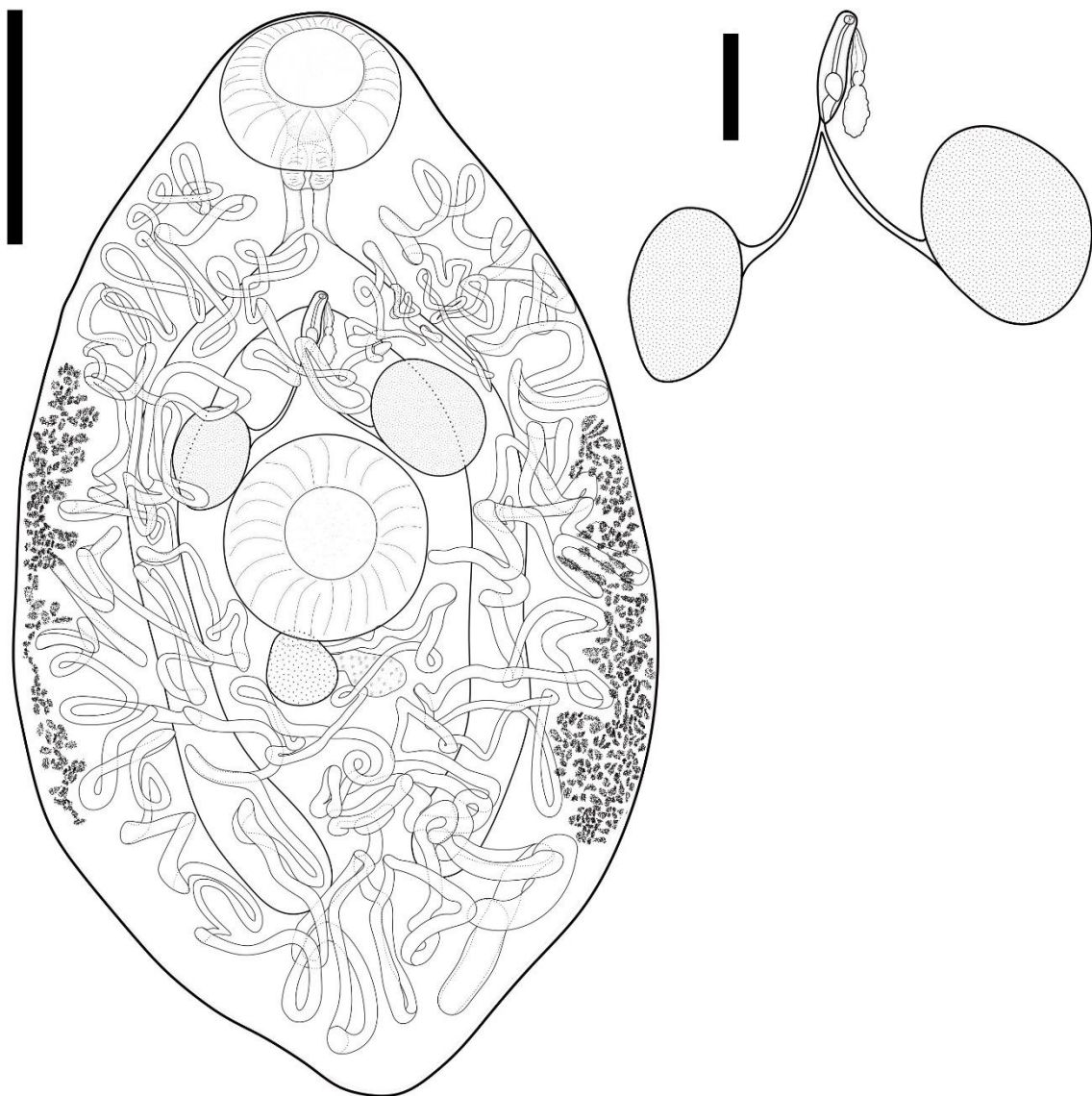


Fig. 1 *Euparadistomum* sp. parasite *Tropidurus oreadicus* collected in Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Cisalpina at the municipality of Brasilândia in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil. At left the whole helminth in ventral view, at right, detail of the reproductive organs: testis (T), efferent ducts (ED), cirrus sac (CS), and vagina (V). Scale bar = 1.5 mm (A), 250 μ m (B).



Fig. 2 Microphotograph of *Euparadistomum* sp. parasite *Tropidurus oreadicus* collected in Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Cisalpina at the municipality of Brasilândia in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil.

Key for species identification:

- 1(0). Ovary shape rounded or entire..... 2
 Ovary shape lobed..... *Euparadistomum cercopithecii*
 Ovary shape bilobed..... *Euparadistomum cerivolulae*
 Ovary shape irregular..... 7
- 2(1). Oral sucker larger than the acetabulum (larger than 1.25x)..... *Euparadistomum varani*
 Oral sucker smaller than the acetabulum (0.57–0.73)..... 3
 Oral sucker same length of the acetabulum (0.8–1.2)..... 5
- 3(2). Ovary larger than the testis (larger than 1.3x)..... *Euparadistomum buckleyi*
 Ovary same length of the testis (0.8–1.2)..... 4
- 4(3). Cuticular papillae absent..... *Euparadistomum ambedkari*
 Cuticular papillae present throughout the body..... *Euparadistomum paraense*
- 5(2). Cuticular papillae present only after the acetabulum..... ***Euparadistomum sp.***
 Cuticular papillae absent..... 6
 Cuticular papillae present throughout the body..... *Euparadistomum lophuromids*
- 6(5). Ovary smaller than the testis (up to 0.7x)..... *Euparadistomum heischii*
 Ovary same length of the testis (0.8–1.2)..... *Euparadistomum pipistrelli*
- 7(1). Oral sucker smaller than the acetabulum (0.57–0.73)..... 8
 Oral sucker same length the acetabulum (0.8–1.2)..... *Euparadistomum upupai*
- 8(7). Vitellaria shape interrupted..... 9
 Vitellaria shape uninterrupted..... *Euparadistomum pearsoni*
- 9(8). Acetabulum in the middle body..... *Euparadistomum herpestei*
 Acetabulum partially anterior to the middle of body..... *Euparadistomum thapari*

Molecular comparison and phylogenetic inference

Two sequences of 28S rDNA (1,716 bp and 1,699 bp) and two of COI (985 bp and 956 bp) were obtained. The data matrix produced with partial 28S rDNA sequences included 71 taxa and 1,305 characters. The divergence analysis, comparing only species of dicrocoeliids, based on 28S, revealed a larger difference between the sequences of *Euparadistomum* sp. and *Brachylecithum grummti* (GenBank: KP765768) (11–22.3%), while the smallest molecular divergences were observed between the sequences of *Euparadistomum* sp. (0.3%). Whilst, using COI sequences, generated a matrix with 12 taxa and 144 characters, revealing higher divergence between the sequences of *Euparadistomum* sp. n. and *Eurytrema pancreaticum* (GenBank: KC535544), and no difference between the sequences of *Euparadistomum* sp.

Phylogenetic analyses based on the partial 28S rDNA marker, conducted using ML and BI algorithms, demonstrated partial congruence between the two resulting topologies. The sister relationships between *Allocreadium hemibarbi* and *Allocreadium* sp. (Fig 3) were not corroborated in ML. In the ML, *Platynosomum illiciens* arose as a sister group to the clade formed by *Lyperosomum* spp. and *Lyperosomum sarothrae*, and *Lyperosomum transcarpathicus*, as a sister group to this clade. Within these inferences, *Euparadistomum* sp. emerged as a member of Dicrocoeliidae, sister of *O. caenolestesi*, a parasite of Neotropical marsupials, forming a clade sister to the remaining dicrocoeliids. Dicrocoeliidae appeared as the sister group to Encyclometridae + *Polylekithum*, forming a clade that includes Gorgoderids, Callodistomids, Allocreadiids, and Paracreptotrematina (((Polylekithum + Encyclometridae) Dicrocoeliidae) + (Paracreptotrematina (Gorgoderidae (Callodistomidae + Allocreadidae)))) (Fig. 3).

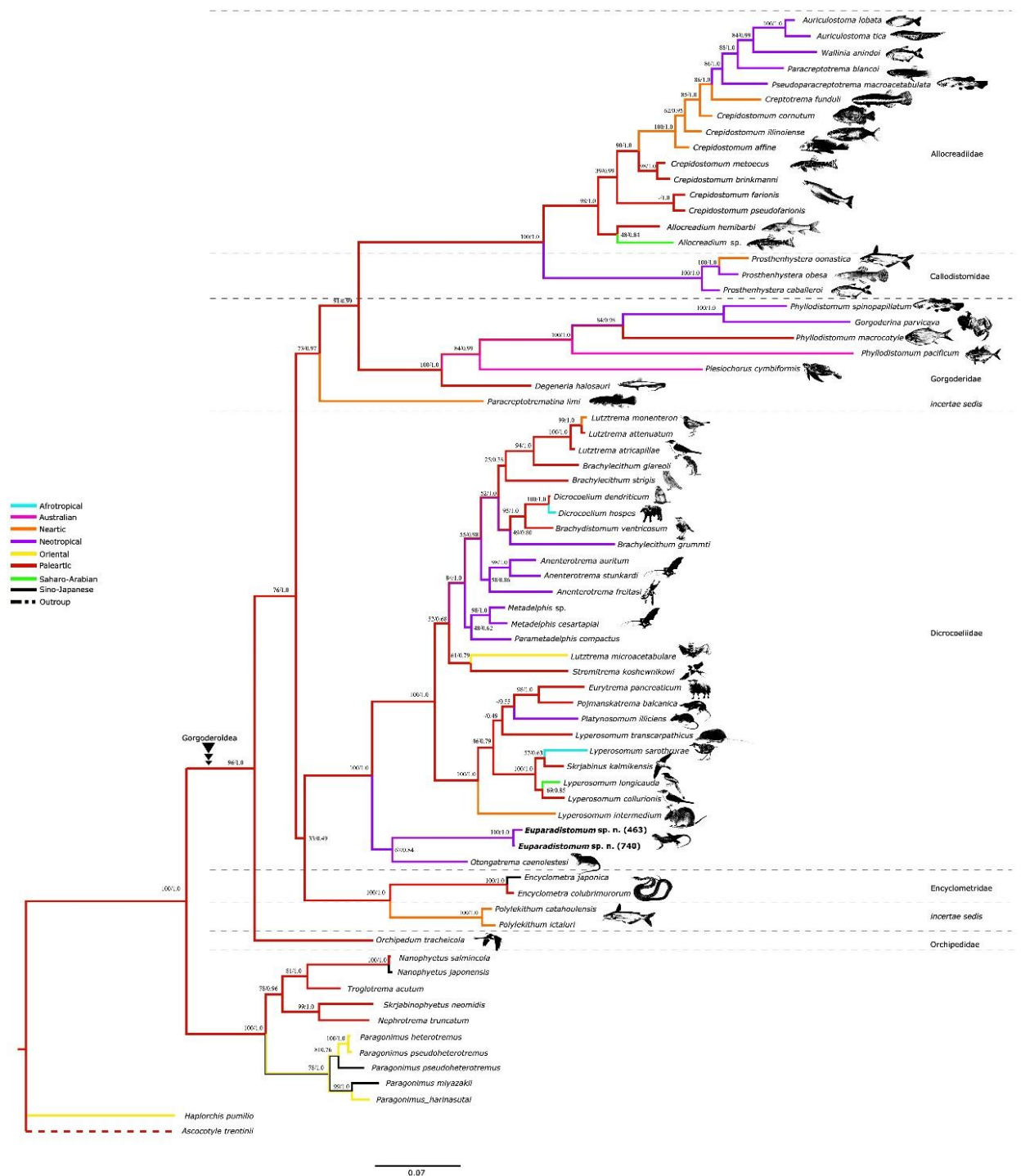


Fig. 3 Phylogenetic reconstruction of *Euparadistomum* sp. based on LSU rDNA partial. The tree is a 50% majority-rule consensus tree, as suggested by Bayesian Inference. Nodes are supported by 1,000 replicates of Bootstrapping from Maximum Likelihood and by Posterior Probability from Bayesian Inference

Discussion

The current taxonomic status of *Euparadistomum*

The taxonomic history of *Euparadistomum* is intricate and fraught with challenges. In addition to the type species *E. varani*, Sandground (1937) introduced a second species, initially classified as *Dictyonograptus pipistrelli* Sandground, 1937. It was recovered from the gallbladder of a bat, *Pipistrellus nanus* (Peters, 1852), found in the Democratic Republic of the Congo. Subsequently, Gogate (1939) described a third one, named *Euparadistomum cerivoulae* Gogate, 1939, discovered in the intestines of a bat, *Cerivoula picta* (= *Kerivoula picta*) (Pallas, 1767), indigenous to Burma, Myanmar.

Jansen (1941) described the fourth species of *Euparadistomum* based on helminths collected from the gallbladder of the opossum *Caluromys philander* (Linnaeus, 1758) in Pará, Brazil. He established a new genus for these helminths, identifying the species as *Evandrocotyle paraense* Jansen, 1941. Additionally, Jansen (1941) transferred *D. pipistrelli* to *Evandrocotyle* Jansen, 1941. However, Travassos (1944) synonymized *Evandrocotyle* with *Euparadistomum*, introducing the new combinations *E. pipistrelli* (Sandground, 1937) and *E. parasense* (Jansen, 1941).

Travassos (1944) also transferred *Paradistomum zonuri* Malan, 1939, and *Eurytrema koschewnikowi* (Skrjabin and Massino, 1925) into *Euparadistomum*, proposing *Euparadistomum zonuri* (Malan, 1939) and *Euparadistomum koschewnikowi* (Skrjabin and Massino, 1925). However, Buckley & Liang-Sheng (1958) rejected this proposition, arguing that *E. zonuri* does not belong to *Euparadistomum* due to its limited uterine coils located in front of the acetabulum, while other species within the genus exhibit diffuse uterine coils in that region. As for *E. koschewnikowi* (Skrjabin and Massino, 1925), likewise noted by Buckley & Liang-Sheng (1958), it had previously been reclassified into *Stromitrema* by Skrjabin & Evranova (1952). This perspective concerning Buckley & Liang-Sheng (1958) propositions was partially supported by Singh (1958), once the author endorsed *E. zonuri* as a member of *Euparadistomum*.

Adding to the intricate narrative of *Euparadistomum*, Chatterji (1952) dismissed the genus, considering it a senior synonym of *Platynotrema* Nicoll, 1914. According to Chatterji (1952), the extension of the uterus throughout the body in *Euparadistomum* was not distinctive enough to distinguish this genus from *Platynotrema*, where the uterus is limited to

the post-acetabular region. In this proposal, Chatterji (1952) also described the fifth species of the genus, originally as *Platynotrema upapai* from the gall bladder of the Eurasian hoopoe, *Upupa epops orientalis* Baker, 1921, from Gorakhpur, India. Additionally, the author transferred *E. varani* and *E. cerivoulae* to *Platynotrema*, while disregarding the existence of *E. paraense* and *E. pipistrelli*. Nevertheless, Buckley & Liang-Sheng (1958) opposed Chatterji's stance, and considering the original name of the Chatterji's species, *a lapsus calami*, reclassified *P. upapai* under *Euparadistomum*, proposing *E. upupai*. Therefore, the traits of *Euparadistomum* and *Platynotrema*, particularly the position of the testes and the extension of uterine coils, but also the vitelline bands (*i.e.* extending to the caecal ends in *Euparadistomum*) (Bray *et al.*, 2008), were important in distinguishing *Euparadistomum* from *Platynotrema* Nicoll, 1914, whose uterine coils do not reach anteriorly the caeca bifurcation and vitelline bands do not reach the caeca ends (Bray *et al.*, 2008; Nicoll, 1914).

Besides contributing to the taxonomic history of *Euparadistomum*, Buckley & Liang-Sheng (1958) also described *Euparadistomum heischi* Buckley & Yeh, 1958, marking the sixth species of the genus. This species was discovered in the gall bladder of a domestic cat on Pate Island, Kenya. Simultaneously, in the same year, a seventh species, *Euparadistomum buckleyi* Singh, 1958, was documented, and diagnosed in the gallbladder of the canid *Vulpes alopes* (= *Vulpes lagopus*) (Linnaeus, 1758) from Hyderabad, India. The following year, in 1959, Gupta (1959) described *Euparadistomum francolini* Gupta, 1959, an eighth species, parasitic species dwelling in the gall bladder of the pheasant *Francolinus francolinus* (Linnaeus, 1766) in India.

From 1969 to 1986, eight species were described within *Euparadistomum*. Among these, six were found in mammals: *Euparadistomum cercopithecii* Fischthal, 1969 in the gall bladder of the primate *Cercopithecus* (= *Miopithecus*) *talapoin* (Schreber, 1774) in Bata, Equatorial Guinea; *Euparadistomum pearsoni* Talbot, 1970 in the gall bladder of a domestic cat on Gemo Island, Papua; *Euparadistomum lophuromids* Baer, 1971 from the gall bladder of the rodent *Lophuromys sikapusi* (Temminck, 1853) in Anguededou, Ivory Coast; *Euparadistomum ambedkari* Kalyankar & Tagade, 1975 found in the gall bladder of the small Indian civet *Viverricula indica* Geoffroy Saint-Hilaire, 1803 in Maharashtra, India; *Euparadistomum herpestesi* Ravikumar, Vijayalakshmi & Hanumantha Rao, 1979 in the gall bladder of the Indian grey mongoose *Herpestes edwardsii* (Saint-Hilaire, 1818) in Visakhapatnam District, India; and *Euparadistomum thapari* Gupta & Khan, 1986 in the domestic cat in Uttar Pradesh, India (Baer, 1971; Fischthal, 1969; S. P. Gupta & Khan, 1986;

Kalyankar & Tagade, 1975; Ravikumar *et al.*, 1979; Talbot, 1970). Additionally, two species were found in birds: *Euparadistomum falconi* Borgarenko, 1972 in *Falco tinnunculus* Linnaeus, 1758 in southern Tajikistan; and *Euparadistomum motacilli* Tokobaev & Chibichenko, 1974 in the intestine of *Motacilla citreola* Pallas, 1776 in Cape Kara-Bulun, Tajikistan (Borgarenko, 1972; Tokobaev, 1974).

Taxonomy of *Euparadistomum*

Within *Euparadistomum*, there are distinct morphological groups. Some species exhibit ovaries that are rounded or entire, lobed, bilobed, or irregular in surface. *Euparadistomum* sp. belongs to the largest of these groups, characterized by species with a rounded or entire ovary. Within this grouping, *E. varani* has an oral sucker larger than the acetabulum, while *E. buckleyi*, *E. ambedkari*, and *E. paraense* have an oral sucker smaller than the acetabulum. *Euparadistomum* sp. belongs to the group of species characterized by possessing an oral sucker of equal length to the acetabulum. These features differentiate *Euparadistomum* sp. from five congeners, including *E. paraense*, the only species reported in South America.

Morphologically close to *Euparadistomum* sp. there are species lacking papillae on the epidermis (*E. heischi*, *E. pipistrelli*, *E. upupai*, *E. pearsoni*, *E. herpestei*, and *E. thapari*), and species with such papillae (*E. lophuromids*). Despite *Euparadistomum* sp. also exhibiting papillae, these are only distributed after the acetabulum, distinguishing it from *E. lophuromids*, which has papillae throughout the body (Baer, 1971). This characteristic also sets *Euparadistomum* sp. apart from *E. paraense*, once, according to Jansen (1941), this species has papillae scattered throughout the body. Nonetheless, by accessing the images of the holotypes deposited by Jansen (1941) in the Helminthological Collection of the Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC 12068), we were not able to observe these structures. Is possible that these papillae are not present in *E. paraense* or just be hard to observe them, as in *Euparadistomum* sp., which were just seen using SEM (Fig. 2). Nevertheless, *Euparadistomum* sp. has a pear-shaped body (rounded in *E. paraense*), a testis size 0.64 times the acetabulum size (0.34 times in *E. paraense*), a mediolaterally positioned ovary shifted to the right (median in *E. paraense*), with only its anterior portion overlapped by the acetabulum (half overlapped by the acetabulum in *E. paraense*). Furthermore, it presents an ootype displaced to the right of the body's midline (displaced to the left of the body's midline in *E. paraense*), distinguishing

it from the only species recorded in lizards of the genus *Tropidurus* in South America. Regrettably, due to the challenge of obtaining data and the scarcity of literature regarding *E. francolini*, *E. falconi*, and *E. motacilli*, even after exhaustive searches, a detailed comparison with these species has become unfeasible.

Phylogeny of *Euparadistomum* and the validity of Euparadistominae

Singh (1958) discussed the importance of the pre-acetabular extension of uterine coils in distinguishing morphological groups within Trematoda. However, employing this characteristic to differentiate subfamilies, as suggested by Buckley & Liang-Sheng (1958) when proposing the subfamily *Euparadistominae* that encompassed the genera *Euparadistomum* and *Stromitrema* Skrjabin and Evranova, 1944, without the support of phylogenetic evidence, might lead to proposals of non-natural groups. Our phylogenetic inference (Fig. 3) highlights that *Euparadistomum* and *Stromitrema*, although belonging to the same family, do not appear to form a monophyletic group; hence, the subfamily Euparadistominae does not seem supported by our data.

References

- Altschul, S. F., Madden, T. L., Schäffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., & Lipman, D. J. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, 25(17), 3389–3402.
- Araujo Filho, J. A., Teixeira, A. A. M., Teles, D. A., Rocha, S. M., Almeida, W. O., Mesquita, D. O., & Lacerda, A. C. F. (2020). Using lizards to evaluate the influence of average abundance on the variance of endoparasites in semiarid areas: dispersion and assemblage structure. *Journal of Helminthology*, 94, e121.
- Baer, J. G. (1971). Trématodes de rongeurs récoltés en Côte d'Ivoire. *Parasitology Research*, 37(3), 226–254.
- Bah, T. (2011). Inkscape. *Guide to a Vector Drawing Program, 4th Ed. Prentice Hall, Upper Saddle River*.
- Borgarenko, L. F. (1972). A new species of *Euparadistomum falconi* nov. sp. (Trematoda, Dicrocoeliidae) from birds. *Doklady Akad Nauk Tadzhik SSR*, 154, 64–65.
- Bowles, J., Blair, D., & McManus, D. P. (1995). A molecular phylogeny of the genus *Echinococcus*. *Parasitology*, 110(3), 317–328.

- Bray, R. A., Gibson, D. I., & Jones, A. (2008). *Keys to the Trematoda, Volume 3*. Cabi.
- Buckley, J. J. C., & Liang-Sheng, Y. (1958). On Euparadistomum heischii n. sp. from the Liver of a Domestic Gat on Pate Island, Kenya, and a New Sub-family Euparadistominae (Dicrocoeliidae). *Journal of Helminthology*, 32(1–2), 81–88.
- Chatterji, P. N. (1952). On Platynotrema upapai n. sp. with a note on the systematic position of the genera Platynotrema Nicoll, 1914 and Buparadistomum Tubangui, 1931. *Indian Journal of Helminthology*, 4(1), 73–76.
- De León, G. P.-P., & Hernández-Mena, D. (2019). Testing the higher-level phylogenetic classification of Digenea (Platyhelminthes, Trematoda) based on nuclear rDNA sequences before entering the age of the ‘next-generation’ Tree of Life. *Journal of Helminthology*, 93(3), 260–276.
- Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32(5), 1792–1797.
<https://doi.org/https://doi.org/https://doi.org/10.1186/1471-2105-5-113>
- Fernandes, B. M. M., & Kohn, A. (2014). South American trematodes parasites of amphibians and reptiles. *South American Trematodes Parasites of Amphibians and Reptiles*.
- Fischthal, J. H. (1969). Euparadistomum cercopitheci sp. n. (Dicrocoeliidae), a digenetic trematode from the talapoin monkey from Rio Muni. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 36(1), 83–85.
- Geer, L. Y., Marchler-Bauer, A., Geer, R. C., Han, L., He, J., He, S., Liu, C., Shi, W., & Bryant, S. H. (2009). The NCBI biosystems database. *Nucleic Acids Research*, gkp858.
- Gogate, B. S. (1939). On a new species of the genus Euparadistomum Tubangui (Trematoda) from a bat, Cerivoula picta (Pallas) from Burma. *Records of the Zoological Survey of India*, 41(1), 17–19.
- Guindon, S., Dufayard, J.-F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., & Gascuel, O. (2010). New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology*, 59(3), 307–321.
- Guindon, S., & Gascuel, O. (2003). A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology*, 52(5), 696–704.
- Gupta, R. (1959). On a new trematode, Euparadistomum francolini n. sp. (Dicrocoeliidae) from the gall bladder of a black partridge. *Proceedings of the National Academy of Sciences of India, Section B. Biological Sciences*, 29(4), 197–200.

- Gupta, S. P., & Khan, A. H. (1986). On a new species *Euparadistomum thapari* sp. nov. (family: Dicrocoeliidae Odhner, 1911) from a domestic cat, *Felis domestica* from Lucknow . *Indian Journal of Helminthology*, 37(1), 12–17.
- Holt, B. G., Lessard, J.-P., Borregaard, M. K., Fritz, S. A., Araújo, M. B., Dimitrov, D., Fabre, P.-H., Graham, C. H., Graves, G. R., & Jønsson, K. A. (2013). An update of Wallace's zoogeographic regions of the world. *Science*, 339(6115), 74–78.
- Jansen, G. (1941). Sobre Um Novo Tipo de 'Dicrocoeliidae': 'Evandrocotyle paraense' ng, n. sp. *Revista Brasileira de Biologia*, 1, 125–127.
- Kalyankar, S. D., & Tagade, A. M. (1975). *On a new speciess of Euparadistomum Tubangui, 1931 (Trematoda: Digenea: Dicrocoeliidae) from India.*
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., & Duran, C. (2012). Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28(12), 1647–1649. <https://doi.org/https://doi.org/https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts199>.
- Littlewood, D. T. J., Curini-Galletti, M., & Herniou, E. A. (2000). The interrelationships of Proseriata (Platyhelminthes: Seriata) tested with molecules and morphology. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 16(3), 449–466.
- Lockyer, A. E., Olson, P. D., & Littlewood, D. T. J. (2003). Utility of complete large and small subunit rRNA genes in resolving the phylogeny of the Neodermata (Platyhelminthes): implications and a review of the cercomer theory. *Biological Journal of the Linnean Society*, 78(2), 155–171.
- Maddison, W. P., & Maddison, D. R. (2021). *Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.70. 2021.*
- Miura, O., Kuris, A. M., Torchin, M. E., Hechinger, R. F., Dunham, E. J., & Chiba, S. (2005). Molecular-genetic analyses reveal cryptic species of trematodes in the intertidal gastropod, *Batillaria cumingi* (Crosse). *International Journal for Parasitology*, 35(7), 793–801.
- Nicoll, W. (1914). The trematode parasites of North Queensland. II. Parasites of birds. *Parasitology*, 7(2), 105–126.

- Olson, P. D., Cribb, T. H., Tkach, V. V, Bray, R. A., & Littlewood, D. T. J. (2003). Phylogeny and classification of the Digenea (Platyhelminthes: Trematoda). *International Journal for Parasitology*, 33(7), 733–755.
- Ravikumar, S., Vijayalakshmi, V., & Hanumantha Rao, K. (1979). Trematodes of the mongoose *Herpestes edwardsii edwardsii* Geoffroy from Visakhapatnam District. *Proceedings: Animal Sciences*, 88, 421–424.
- Ronquist, F., Teslenko, M., van der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A., & Huelsenbeck, J. P. (2012). MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61(3), 539–542.
- Sandground, J. H. (1937). Three new dicrocoeliids from African Cheiroptera. *Three New Dicrocoeliids from African Cheiroptera*.
- Singh, S. N. (1958a). On a new species of Euparadistomum (Dicrocoeliidae Odhner, 1910) from the fox in Hyderabad (India). *Journal of Helminthology*, 32(4), 233–238.
- Singh, S. N. (1958b). On a new species of Euparadistomum (Dicrocoeliidae Odhner, 1910) from the fox in Hyderabad (India). *Journal of Helminthology*, 32(4), 233–238.
- Skrjabin, K. I., & Evranova, V. G. (1952). Family Dicrocoeliidae Odhner, 1911. *Trematodes of Animals and Man*, 7, 33–604.
- Talavera, G., & Castresana, J. (2007). Improvement of phylogenies after removing divergent and ambiguously aligned blocks from protein sequence alignments. *Systematic Biology*, 56, 564–577.
- Talbot, N. (1970). On Euparadistomum pearsoni n. sp. (Trematoda: Dicrocoeliidae) from the gall bladder of the domestic cat in Papua. *Journal of Helminthology*, 44(1), 89–96.
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022–3027.
- Tokobaev, M. M.; C. N. T. (1974). The discovery of Euparadistomum motacilli nov.sp. (Trematoda: Dicrocoeliidae) on the territory of Kirgizia. *Izvestiya Akad Nauk Kirgiz SSR*, 3, 79–80.
- Travassos, L. (1944). Revisao da familia Dicrocoeliidae Odhner, 1910. In *Revisão da família Dicrocoeliidae Odhner, 1910* (p. 124).
- Tubangui, M. A. (1931). Trematode parasites of Philippine vertebrates. III. Flukes from fish and reptiles. *Philippine Journal of Science*, 44, 417–422.

Uetz, P., Freed, P., Aguilar, R., & Hošek, J. (2022). 2022. *The Reptile Database*.
<https://zenodo.org/records/7829013>