

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 22/02/2019.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS - CAMPUS DE BOTUCATU  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
(ZOOLOGIA)

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E  
MOLECULAR DE ESPÉCIES DO GÊNERO  
*Synthesium* (DIGENEA: BRACHYCLADIIDAE) EM  
ODONTOCETOS (CETACEA)

Mariana Bertholdi Ebert

Dissertação de Mestrado

Botucatu, SP  
2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS - *CAMPUS* DE BOTUCATU  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
BIOLÓGICAS (ZOOLOGIA)

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE  
ESPÉCIES DO GÊNERO *Synthesium* (DIGENEA:  
BRACHYCLADIIDAE) EM ODONTOCETOS (CETACEA)**

**Mariana Bertholdi Ebert**

Orientador: Prof. Tit. Reinaldo José da Silva  
Coorientadora: Dra. Juliana Marigo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Zoologia) do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, UNESP, *Campus* de Botucatu-SP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Zoologia).

Botucatu, SP  
2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Ebert, Mariana Bertholdi.

Caracterização morfológica e molecular de espécies do gênero *Synthesium* (Digenea: Brachycladiidae) em odontocetos (Cetacea) / Mariana Bertholdi Ebert. - Botucatu, 2017

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Reinaldo José da Silva

Coorientador: Juliana Marigo

Capes: 20400004

1. Mamífero aquático. 2. Intestinos - Parasitos.  
3. Helminto. 4. Morfologia. 5. Taxonomia numérica.


Palavras-chave: Delphinidae; Identificação molecular; Morfologia; Parasitos intestinais; Taxonomia.

## ATESTADO DE APROVAÇÃO - DEFESA

Atestamos que **MARIANA BERTHOLDI EBERT**, RA nº: 187132-1, RG nº 44.729.815-X, expedido pela SSP, defendeu, no dia 22/02/2017, a dissertação intitulada "**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Synthesium* (DIGENEA: BRACHYCLADIIDAE) EM ODONTOCETOS (CETACEA)**" , junto ao Programa de Pós Graduação em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (ZOOLOGIA), Curso de Mestrado Acadêmico, tendo sido 'APROVADA'.

Atestamos ainda que a obtenção do título dependerá de homologação pelo Órgão Colegiado competente.

Botucatu, 22 de fevereiro de 2017



Herivaldo Mota Santos  
Supervisor Técnico de Seção  
Pós-Graduação-IBB-UNESP

***Dedico este trabalho a meus pais, Estela e Arlindo,  
inspirações da minha vida.***

*“Deus ao mar o perigo e o abismo deu,  
Mas nele é que espelhou o céu.”  
(Fernando Pessoa)*

***Agradecimientos***

---

---

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho seria impossível sem a colaboração de algumas pessoas e instituições que, de diversas formas, deram sua contribuição em diferentes etapas. Destas, manifesto um agradecimento especial:

Aos meus pais pelo infinito amor, respeito, cumplicidade e confiança. Sem esses pilares, nada seria possível.

À Juliana Marigo, pela confiança e por me ensinar tanto. Que sorte a minha de ter uma amiga e fada madrinha como coorientadora!

Ao Professor Reinaldo José da Silva, por ser um orientador sempre presente. Agradeço todos os ensinamentos, apoio e disponibilidade em sempre tirar todas minhas dúvidas.

Aos amigos do LAPAS pelo acolhimento, conversas bem-humoradas durante os cafézinhos e ensinamentos de todas as formas.

Aos colegas do IPeC e Cananéia por me ensinarem a amar o que se faz. Agradeço a todos que ajudaram nas animadas coletas de amostras e monitoramentos de praia. Agradeço também todas as palavras de carinho e incentivo nessa caminhada.

À Maria Isabel Müller, por me guiar pelo maravilhoso mundo da biologia molecular.

À Natalia Fraija-Fernández, pelas valiosas discussões sobre parasitos de cetáceos e por ser sempre gentil, e à Mercedes Fernández pela disponibilidade em ajudar e pela cessão de amostras.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de mestrado, e à UNESP pelo suporte tecnológico para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao Leandro Cagiano pela imagem de capa.

À todos aqueles que contribuíram de alguma forma, mesmo sem saber, para o meu crescimento na pesquisa e como ser humano.

Por fim, agradeço aos golfinhos e baleias e seus “vermes”, por involuntariamente me servirem de objeto de estudo e me darem a chance de realizar meus sonhos.

Gratidão ao universo por todos os ensinamentos de todas as formas!



## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	1
<b>ABSTRACT</b> .....	3
<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	5
Estudos parasitológicos.....	6
Cetáceos.....	6
Parasitismo e diversidade de helmintos em cetáceos.....	7
Família Brachycladiidae .....	8
Gênero <i>Synthesium</i> .....	8
Referências bibliográficas .....	10
<b>OBJETIVO</b> .....	15
Objetivo geral.....	16
Objetivos específicos.....	16
<b>A NEW <i>Synthesium</i> SPECIES (DIGenea: BRACHYCLADIIDAE) FROM BOTTLENOSE DOLPHINS <i>Tursiops truncatus</i> (CETACEA: DELPHINIDAE) IN SOUTHWESTERN ATLANTIC WATERS</b> .....	17
Abstract .....	18
Introduction.....	19
Material and Methods.....	19
Results.....	22
Discussion.....	26
References .....	28
<b>PHYLOGENETIC RELATIONSHIP AMONG SPECIES OF <i>Synthesium</i> (DIGenea: BRACHYCLADIIDAE), PARASITES OF DOLPHINS, BASED ON MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR DATA</b> .....	40
Abstract .....	41
Introduction.....	42
Material and Methods.....	43
Results.....	45
Discussion.....	48
References .....	52
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	69

***Resumo***

---

---

## RESUMO

Trematódeos do gênero *Synthesium* infectam o intestino de diversas famílias de odontocetos em todo o mundo. No entanto, a identificação e o status taxonômico de *Synthesium* ainda são confusos e, principalmente, baseados em análises morfológicas. As informações genéticas ainda são escassas. O presente estudo teve como objetivo investigar a diversidade de parasitos intestinais do gênero *Synthesium* colhidos de diferentes odontocetos, através de comparações morfológicas e moleculares. Foram estudados parasitos de golfinhos encontrados mortos em praias ou acidentalmente capturados em redes de pesca de diferentes regiões. Durante a necropsia, o intestino delgado foi removido e armazenado a -20°C. Posteriormente, os intestinos foram abertos, lavados em água corrente sobre peneira de 150 µm e o conteúdo examinado sob estereomicroscópio. Os trematódeos encontrados foram fixados e preservados em etanol 70% para análises morfológicas e moleculares. Os trematódeos foram preparados em lâminas temporárias e as análises morfométricas diagnósticas foram feitas em um sistema computadorizado para análise de imagens. O DNA genômico dos trematódeos foi extraído e amplificado utilizando-se primers com alvo no DNA ribossomal (menor subunidade do DNA ribossomal - gene SSU - e região intergênica - ITS1) e DNA mitocondrial (nicotinamida dinucleotídeo desidrogenase subunidade 3 - gene ND3 - e citocromo c oxidase subunidade I - gene COI). Os resultados morfológicos e moleculares apontam a existência de pelo menos quatro novas espécies de trematódeos do gênero *Synthesium*, sendo uma delas, *Synthesium neotropicalis*, descrita neste trabalho. As análises filogenéticas demonstram um complexo de espécies agregando *S. tursionis* e o posicionamento de *S. delamurei*, *S. subtile* e *S. seymouri* gera questionamentos sobre a correta inclusão destas espécies ao gênero, incentivando sua revisão através de abordagens morfológicas e moleculares. Os resultados obtidos representam uma importante contribuição para o conhecimento da helmintofauna de cetáceos.

**Palavras-chave:** Parasitos intestinais, Delphinidae, Identificação molecular, Morfologia, Taxonomia.

***Abstract***

---

---

## ABSTRACT

Trematodes of the genus *Synthesium* infect the intestines of a wide range of odontocete families worldwide. However, the identification and the taxonomic status of *Synthesium* are still confusing and mainly based on morphological analyses. Genetic information is still scarce. The present study aimed to investigate the diversity of intestinal parasites of the genus *Synthesium* collected from different odontocetes species, by means of morphological and molecular approaches. Parasites of dolphins found washed ashore or accidentally caught in fishing nets from different regions were studied. During necropsy, the small intestines were removed and stored at -20°C. The intestines were opened, washed in tap water over a 150 µm sieve and examined under a stereomicroscope. The recovered trematodes were fixed and preserved in 70% ethanol for morphological and molecular analyses. The parasites were prepared as temporary slides and diagnostic morphometric analyses were performed on a computerized imaging system. The genomic DNA of the trematodes was extracted and amplified using primers targeted at the ribosomal (small ribosomal subunit - SSU gene- and internal transcribed spacer 1 - ITS1) and mitochondrial DNA (NDH dehydrogenase subunit 3 - ND3 gene- and cytochrome c oxidase subunit 1 – COI gene). The morphological and molecular results indicate the existence of at least four new species of trematodes of the genus *Synthesium*. Phylogenetic analyses show a species complex aggregating *S. tursionis* and the phylogenetic position of *S. delamurei*, *S. subtile* and *S. seymouri* raises questionings about the correct inclusion of these species to the genus, suggesting a revision of the genus through morphological and specially molecular approaches. The obtained results represent an important contribution to the knowledge of the helminthofauna of cetaceans.

**Keywords:** Intestinal parasites, Delphinidae, Molecular identification, Morphology, Taxonomy.

***Introdução geral***

---

---

## INTRODUÇÃO GERAL

### Estudos parasitológicos

Parasitos apresentam uma grande biodiversidade e potencialmente infectam a maioria dos metazoários de vida livre (POULIN & MORAND, 2000). Parasitos podem influenciar no funcionamento dos ecossistemas e fornecer informações sobre a história evolutiva e demográfica de seus hospedeiros, aspectos estes de grande importância para a conservação das espécies (AZNAR et al., 2010). Parasitos em cetáceos têm sido envolvidos em diversos estudos relacionados à delimitação de estoque populacional (BALBUENA et al., 1995; MARIGO et al., 2015), estrutura social (BALBUENA et al., 1995), história da população (KALISZEWSKA et al., 2005) e condição de saúde de seus hospedeiros (AZNAR et al., 2005). Assim, um modelo parasito-hospedeiro fornece uma ferramenta adequada para estudar a relação ecológica, sistemática, evolutiva e biogeográfica entre organismos (BROOKS & HOBERG, 2000).

### Cetáceos

Os cetáceos (golfinhos, botos e baleias) são mamíferos marinhos completamente adaptados à vida aquática (DI BENEDITTO et al., 2010). A ordem Cetacea Brisson, 1762 é dividida em três subordens, Archaeoceti Flower, 1833 (apenas fósseis), Mysticeti Cope, 1864 e Odontoceti Flower, 1867. Os Mysticeti (cetáceos com barbatanas, conhecidos como baleias verdadeiras) estão divididos em quatro famílias e 14 espécies, sendo que oito delas ocorrem no Brasil. Os Odontoceti (cetáceos que possuem dentes, conhecidos como golfinhos e botos) dividem-se em nove famílias e 69 espécies, das quais 35 ocorrem no litoral brasileiro (ICMBio, 2010; DI BENEDITTO et al., 2010).

A distribuição dos cetáceos ao longo dos 8.000 km da costa brasileira é de extrema amplitude, ocorrendo de forma contínua. Isso se dá pela diversidade de ecossistemas presentes ao longo de nosso litoral (baías, manguezais, recifais etc), os quais representam habitats favoráveis para reprodução e alimentação destes animais (IBAMA, 2005).

A maioria das espécies listadas no Plano de Ação de Mamíferos Aquáticos do Brasil (IBAMA, 2001) está classificada na categoria DD (*Deficient Data*) da *IUCN Red List of Threatened Species* (<http://www.iucnredlist.org>), indicando que não existem informações adequadas para avaliação do *status* de conservação, ameaças sofridas e

outras características das espécies, inclusive sobre a diversidade parasitária abrigada ou a relação parasito-hospedeiro. Muito desta carência se deve a inexistência de estudos e destinação adequada de material biológico para fins acadêmicos e, conseqüentemente, dados substanciais a serem empregados em projetos que visam à conservação destes animais (IBAMA, 2005).

### **Parasitismo e diversidade de helmintos em cetáceos**

Os primeiros registros de helmintos em cetáceos datam do início de 1930, época esta em que a caça comercial era permitida (BAYLIS, 1932; PRICE, 1932). Atualmente, a maioria dos registros utilizam carcaças de cetáceos provenientes de encalhes ocasionais ou capturas acidentais em redes de pesca (RAGA et al., 2008). Recentemente, alguns estudos têm utilizado técnicas não invasivas através da colheita de amostras de fezes para identificação de helmintos (KLEINERTZ et al., 2014; HERMOSILLA et al., 2016).

Estudos parasitológicos em cetáceos são limitados pela dificuldade de acesso tanto aos hospedeiros como seus parasitos em bom estado de conservação. Como consequência, há uma escassez de informações morfológicas e principalmente genéticas a respeito destes organismos (RAGA et al., 2008). Devido a esta insuficiência de informações disponíveis, principalmente em águas brasileiras, é importante o incentivo a estudos parasitológicos de caráter contínuo e padronizado. Estes trabalhos são inclusive citados junto aos projetos e ações prioritárias estabelecidas pelo Plano de Ação para os Mamíferos Aquáticos do Brasil (IBAMA, 2001).

A helmintofauna de cetáceos inclui atualmente cerca de 174 espécies divididas em quatro grandes grupos taxonômicos: os nematoides são o grupo mais diverso (62 espécies), seguido por trematódeos digenéticos (54 espécies), cestoides (38 espécies) e acantocéfalos (20 espécies) (FRAIJA-FERNÁNDEZ et al., in press).

As famílias Pseudaliidae Railliet & Henry, 1909, Anisakidae Skrjabin & Karokhin, 1945 e Tetrameridae Travassos, 1914 são as mais representativas entre os nematoides parasitos de cetáceos. Os cestoides estão representados principalmente pelas famílias Tetrabothriidae Linton, 1891, Diphyllbothriidae Lühe, 1910 e Phyllobothriidae Braun, 1900. A família Polymorphidae Meyer, 1931 abriga todas as espécies de acantocéfalos infectantes de cetáceos. Já os trematódeos digenéticos estão distribuídos em quatro famílias: Brauninidae Wolf, 1903, Notocotylidae Lühe, 1909, Heterophyidae Leiper, 1909 e Brachycladiidae Odhner, 1905. A família Brauninidae é

monotípica, incluindo somente *Braunina cordiformis* Wolf, 1903. A família Notocotylidae inclui as espécies do gênero *Ogmogaster* Jägerskiöld, 1891. A família Heterophyidae é representada por uma única espécie, *Pholeter gastrophilus* (Kossack, 1910) Odhner, 1914. A família Brachycladiidae é a mais representativa, incluindo 10 gêneros e 42 espécies (GIBSON, 2005; FRAIJA-FERNÁNDEZ et al., in press).

### **Família Brachycladiidae**

Digenéticos da família Brachycladiidae ocorrem nos ductos hepáticos e pancreáticos, intestinos, pulmões e seios nasais de mamíferos marinhos em todo o mundo (FERNÁNDEZ et al., 1998a,b; GIBSON, 2005). A maior parte da sua diversidade é encontrada em cetáceos (35 das 42 espécies descritas), mas algumas espécies também infectam pinípedes e lontras marinhas (AZNAR et al., 2001; DAILEY, 2007).

Pouco se sabe sobre a biologia da família Brachycladiidae. Nenhum hospedeiro intermediário ou paratênico foi identificado até o momento (FERNÁNDEZ, 1996). Análises filogenéticas e morfológicas indicam que a origem deste grupo e sua associação com mamíferos marinhos provavelmente resultou de eventos de mudanças entre hospedeiros a partir de um ancestral ocorrente em peixes, e que foi capaz de infectar odontocetos através da relação predador-presa (FERNÁNDEZ et al., 1998b; BRAY et al., 2005; FRAIJA-FERNÁNDEZ et al., 2015).

A organização taxonômica da família também é bastante controversa, incluindo muitas transferências de espécies e sinonímias. As identificações são principalmente baseadas em análises morfológicas de helmintos adultos e, recentemente, algumas espécies têm sido reavaliadas através de estudos moleculares (MARIGO et al., 2011).

Atualmente são reconhecidas duas subfamílias; Brachycladiinae Odhner 1905 incluindo *Brachycladium* Looss, 1899, *Hunterotrema* McIntosh 1960, *Oschmarinella* Skrjabin 1947, *Synthesium* Stunkard & Alvey 1930, *Campula* Cobbold 1858, *Zalophotrema* Stunkard & Avey 1929, *Orthosplanchnus* Odhner 1905 e *Odhneriella* Skrjabin 1915; e Nasitrematinae Ozaki, 1935, que agrega os gêneros *Nasitrema* Ozaki 1935 e *Cetitrema* Skrjabin 1970 (GIBSON, 2005).

### **Gênero *Synthesium***

Parasitos do gênero *Synthesium* infectam o intestino, sobretudo a porção anterior do duodeno, de praticamente todas as famílias de odontocetos (17 espécies registradas

dentro das famílias Pontoporiidae Gray, 1846, Delphinidae Gray, 1821, Monodontidae Gray, 1821 e Phocoenidae Gray, 1825), sugerindo um longo período de adaptações parasito-hospedeiros (FERNÁNDEZ, 1996).

O gênero *Synthesium* sofreu diferentes rearranjos taxonômicos nos últimos anos, com várias sinonímias entre gêneros morfológicamente relacionados como *Leucasiella* Krotov & Delyamure 1952, *Hadwenius* Price, 1932 e *Odhneriella* Skrjabin, 1915 (GIBSON, 2005, 2014). YAMAGUTI (1958) reconheceu *Leucasiella* como sinônimo de *Hadwenius*. Posteriormente, GIBSON (2005) considerou *Hadwenius* como sinônimo júnior de *Synthesium*.

Atualmente são reconhecidas oito espécies deste gênero; três aparentam especificidade de hospedeiros sendo *Synthesium seymouri* (Price, 1932) Marigo, Vicente, Valente, Measures & Santos, 2008, parasito de belugas *Delphinapterus leucas* (Pallas, 1776), *Synthesium delamurei* Raga & Balbuena, 1988, parasito de baleias piloto de peitorais longas *Globicephala melas* Traill, 1809, e *Synthesium pontoporiae* (Raga, Aznar, Balbuena & Dailey, 1994) Marigo, Vicente, Valente, Measures & Santos, 2008 encontrado em toninhas *Pontoporia blainvillei* Gervais & d'Orbigny, 1844. *Synthesium nipponicum* Yamaguti, 1951 é exclusivo de delfínídeos da família Phocoenidae, parasitando o golfinho de Dall *Phocoenoides dalli* True, 1885 e o golfinho do proto *Phocoena phocoena* Linnaeus, 1758. O restante das espécies, *Synthesium subtile* Skrjabin, 1959, *Synthesium mironovi* Krotov & Delyamure, 1952, *Synthesium elongatum* Ozaki, 1935 e *Synthesium tursionis* (Marchi, 1873) Stunkard & Alvey, 1930 são generalistas e apresentam uma grande variedade de hospedeiros registrados (FERNÁNDEZ, 1996; GIBSON, 2005, 2014).

Devido à dificuldade na obtenção de espécimes preservados e a fixação inadequada dos parasitos, muitos caracteres morfológicos são comprometidos (GIBSON, 2005), principalmente porque as espécies deste gênero são bastante similares e as diferenças morfológicas muitas vezes são sutis, o que dificulta a identificação e classificação através de abordagens morfológicas tradicionais. Além disso, alguns estudos apontam variação morfológica intraespecífica em diferentes populações de odontocetos (LAMOTHE-ARGUMEDO, 1988; FERNANDÉZ et al., 1994, 1995). O uso de métodos de identificação molecular para este gênero ainda é recente e os resultados estimulam novas investigações (MARIGO et al., 2011, 2015).

Um estudo integrando caracteres morfológicos e moleculares de espécies de *Synthesium*, coletados de diferentes odontocetos hospedeiros, gera informações

importantes para a identificação e caracterização correta das espécies deste gênero, contribuindo para um panorama mais preciso a respeito da biodiversidade e do *status* taxonômico de *Synthesium* e, em consequência, sua posição filogenética dentro da família Brachycladiidae.

### Referências bibliográficas

- AZNAR, F.J.; BALBUENA J.A.; FERNÁNDEZ, M. & RAGA, J.A. Living together: The parasites of marine mammals. In: Evans P. and Raga J.A. (eds). Marine mammals: Biology and Conservation. New York, USA: Kluwer Academic, Plenum Publishers, p. 385-421, 2001.
- AZNAR, F.J.; PERDIGUERO, D.; PÉREZ DEL OLMO, A.; REPULLÉS, A.; AGUSTÍ, C. & RAGA, J.A. Changes in epizoic crustacean infestations during cetacean die-offs: the mass mortality of Mediterranean striped dolphins *Stenella coeruleoalba* revisited. Diseases of Aquatic Organisms, v. 67, p. 239-247, 2005.
- AZNAR, F.J.; FERNÁNDEZ, M. & BALBUENA, J.A. Why we should care about the parasite fauna of cetaceans: a plea for integrative studies. In: Murray C.A. (ed) Whales and Dolphins: Behavior, Biology and Distribution. New York, USA: Nova Science Publishers, p. 115-127, 2010.
- BALBUENA, J.A.; RAGA, J.A. & ABRIL, E. Redescription of *Odhneriella subtila* (Skrjabin, 1959) (Digenea: Campulidae) from the intestine of *Globicephala melaena* (Traill, 1809) (Cetacea: Delphinidae) off the Faroe Islands (NorthEast Atlantic). Systematic Parasitology, v. 14, p. 31-36, 1989.
- BALBUENA, J.A.; AZNAR, F.J.; FERNÁNDEZ, M. & RAGA, J.A. Parasites as indicators of social structure and stock identity of marine mammals. Whales, Seals, Fish and Men, v. 4, p. 133-139, 1995.
- BAYLIS, H.A. A list of worms parasitic in Cetacea. Discovery Reports, v. 6, p. 393-418, 1932.
- BRAY, R.A.; WEBSTER, B.L.; BARTOLLI, P. & LITTLEWOOD, D.T.J. Relationships within the Acanthocolpidae Lühe, 1906 and their place among the Digenea. Acta Parasitologica, v. 50, p. 281-291, 2005.
- BROOKS, D.R. & HOBERG, E.P. Triage for the biosphere: the need and rationale taxonomic inventories and phylogenetic studies of parasites. Comparative Parasitology, v. 67, p. 1-25, 2000.

- CHING, H.L. & ROBINSON, E.S. Two campulid trematodes from a new host: the harbour porpoise. *Journal of Parasitology*, v. 45, p. 81, 1959.
- DAILEY, M.D. A new species of Digenea (Trematoda: Brachycladiidae) from the Gervais' beaked whale, *Mesoplodon europaeus*, with comments on other cetacean liver flukes. *Comparative Parasitology*, v. 74, p. 229-232, 2007.
- DELYAMURE, S.L. Helminthofauna of marine mammals (ecology and phylogeny). Izdatel'stvo Akademii Nauk SSSR, Moscow (Em russo). Tradução em Inglês 1968, Programa Israelense de Tradução Científica, 1955.
- DI BENEDITTO, A.P.M.; SICILIANO, S. & RAMOS, R.M.A. Cetáceos: Introdução à Biologia e a Metodologia Básica para o desenvolvimento de estudos. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz. 100 p., 2010.
- FERNÁNDEZ, M.; BALBUENA, J.A. & RAGA, J.A. *Hadwenius tursionis* (Marchi, 1873) n. comb. (Digenea, Campulidae) from the bottlenose dolphin *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821) in the western Mediterranean. *Systematic Parasitology*, v. 28, p. 223-228, 1994.
- FERNÁNDEZ, M. Estudio de la filogenia y biogeografía de la familia Campulidae Odhner, 1926 (Trematoda: Digenea). PhD Thesis. Valencia University, Spain. 206 p., 1996.
- FERNÁNDEZ, M.; AZNAR, F.J.; LATORRE, A. & RAGA, J.A. Molecular phylogeny of the families Campulidae and Nasitrematidae (Trematoda) based on mtDNA sequence comparison. *International Journal of Parasitology*, v. 28, p. 767-775, 1998a.
- FERNÁNDEZ, M.; LITTLEWOOD, D.T.J.; LATORRE, A.; RAGA, J.A. & ROLLINSON, D. Phylogenetic relationships of the family Campulidae (Trematoda) based on 18S rRNA sequences. *Parasitology*, v. 117, p. 383-391, 1998b.
- FRAIJA-FERNÁNDEZ, N.; FERNÁNDEZ, M.; RAGA, J.A. & AZNAR F.J. Helminth diversity of cetaceans: An update. *Advances in Marine Biology*, v. 1, in press.
- FRAIJA-FERNÁNDEZ, N.; OLSON, P.D.; CRESPO, E.A.; RAGA, J.A.; AZNAR F.J. & FERNÁNDEZ, M. Independent host switching events by digenean parasites of cetaceans inferred from ribosomal DNA. *International Journal for Parasitology*, v. 45, p. 167-73, 2015.

- GERACI, J.R. & LOUNSBURY, V.J. Marine Mammals Ashore: A Field Guide for Strandings. Second Edition. Baltimore: National Aquarium in Baltimore, 371 p., 2005.
- GIBSON, D. Family Brachycladiidae Odhner, 1905. In: Jones A, Bray RA and Gibson DI (eds) Keys to the Trematoda Vol. 2. CABI Publishing and The Natural History Museum, Wallingford, p. 641-652, 2005.
- GIBSON, D. *Synthesium* Stunkard & Alvey, 1930. World Register of Marine Species at <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=238045>. Acessado em 22 de Junho de 2016, 2014.
- HERMOSILLA, C.; SILVA, L.M.R.; KLEINERTZ, S.; PRIETO, R.; SILVA M.A & TAUBERT, A. Endoparasite survey of free-swimming baleen whales (*Balaenoptera musculus*, *B. physalus*, *B. borealis*) and sperm whales (*Physeter macrocephalus*) using non/minimally invasive methods. Parasitological Research, v. 115, p. 889-896, 2016.
- IBAMA. Mamíferos Aquáticos do Brasil: Plano de Ação - Versão II. Brasília: IBAMA, 2001.
- IBAMA. Protocolo de conduta para encalhes de mamíferos aquáticos: Rede de encalhes de mamíferos aquáticos do Nordeste. Recife: Edições IBAMA, 298 p., 2005.
- ICMBIO. Plano de ação nacional para a conservação dos mamíferos aquáticos: pequenos cetáceos. Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, 132 p., 2010.
- KALISZEWSKA, Z.A.; SEGER, J.; ROWNTREE, V.J.; BARCO, S.G.; BENEGAS, R.; BEST, P.B.; BROWN, M.W.; BROWNELL JR, R.L.; CARRIBERO, A.; HARCOURT, R.; KNOWLTON, A.R.; MARSHALL-TILAS, K.; PATENAUDE, N.J.; RIVAROLA, M.; SCHAEFF, C.M.; SIRONI, M.; SMITH, W.A. & YAMADA T.K. Population histories of right whales (Cetacea: Eubalaena) inferred from mitochondrial sequence diversities and divergences of their whale lice (Amphipoda: Cyamus). Molecular Ecology, v. 14, p. 3439-3456, 2005.
- KLEINERTZ, S.; HERMOSILLA, C.; ZILTENER, A.; KREICKER, S.; HIRZMANN, J.; ABDEL-GHAFFAR, F. & TAUBERT, A. Gastrointestinal parasites of free-living Indo-Pacific bottlenose dolphins (*Tursiops aduncus*) in the Northern Red Sea, Egypt. Parasitology Research v. 113, p. 1405-1415, 2014.

- LAMOTHE-ARGUMEDO, R. Trematodos de mamíferos III. Hallazgo de *Synthesium tursionis* (Marchi 1873) Stunkard & Alvey 1930 en *Phocaena sinus* (Phocoenidae) en el Golfo de California. Anales del Instituto de Biología de la Universidad de México, Serie Zoología, v. 58, p. 11-20, 1998.
- MARIGO, J.; VICENTE, A.C.P.; VALENTE, A.L.S.; MEASURES, L. & SANTOS, C.P. Redescription of *Synthesium pontoporiae* n. comb. with notes on *S. tursionis* and *S. seymouri* n. comb. (Digenea: Brachycladiidae Odhner, 10905). Journal of Parasitology, v. 94, p. 505-14, 2008.
- MARIGO, J.; THOMPSON, C.C.; SANTOS, C.P. & IÑIGUEZ, A.M. The *Synthesium* Brachycladiidae Odhner, 1905 (Digenea) association with hosts based on nuclear and mitochondrial genes. Parasitology International, v. 60, p. 530-533, 2011.
- MARIGO, J.; CUNHA, H.A.; BERTOZZI, C.P.; SOUZA, S.P.; ROSAS, F.C.W.; CREMER, M.J.; BARRETO, A.S.; DE OLIVEIRA, L.R.; CAPPOZZO, H.L.; VALENTE, A.L.S.; SANTOS, C.P. & VICENTE, A.C.P. Genetic diversity and population structure of *Synthesium pontoporiae* (Digenea, Brachycladiidae) linked to its definitive host stocks, the endangered Franciscana dolphin, *Pontoporia blainvillei* (Pontoporiidae) off the coast of Brazil and Argentina. Journal of Helminthology, v. 89, p. 19-27, 2015.
- OZAKI, Y. Trematode parasites of Indian porpoise *Neophocaena phocaenoides* Gray. Journal of Sciences of Hiroshima University Series B, v. 3, p. 1-24, 1935.
- POULIN, R. & MORAND, S. The diversity of parasites. The Quarterly Review of Biology, v. 75, p. 277-293, 2000.
- PRICE, E. The trematode parasite of marine mammals. Proceedings of the United States National Museum, London, 1932.
- RAGA, J.A. & BALBUENA, J.A. *Leucasiella delamurei* sp. n. (Trematoda: Campulidae), a parasite of *Globicephala melaena* (Traill, 1809) (Cetacea: Delphinidae) in the Western Mediterranean Sea. Helminthologia, v. 25, p. 95-102, 1988.
- RAGA, J.A.; AZNAR, J.; BALBUENA, J.A. & DAILEY, M.D. *Hadwenius pontoporiae* sp. n. (Digenea: Campulidae) from the intestine of Franciscana (Cetacea: Pontoporiidae) in Argentinian waters. Helminthological Society of Washington, v. 61, p. 45-9, 1994.

- RAGA, J.A.; FERNÁNDEZ, M.; BALBUENA, J. & AZNAR, F.J. Parasites. In W. Perrin, B. Würsig, & Thewissen (Eds.), Enciclopedia of Marine Mammals, p. 821-830, 2008.
- YAMAGUTI, S. Studies on the helminth fauna of Japan. Part 45. Trematodes of marine mammals. Arbeiten aus der Medizinischen Fakultat Okayama, v. 7, p. 83-294, 1951.
- YAMAGUTI, S. Systema helminthum Vol I The digenetic trematodes of vertebrates Parts I and II. Interscience, New York and London, 1958.

***Considerações finais***

---

---

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos neste estudo nota-se que a helmintofauna de odontocetos no Brasil é ainda subestimada. Estudos parasitológicos em cetáceos ainda são escassos, principalmente na costa brasileira, devido a falta de incentivo e conhecimento dos pesquisadores a respeito destes organismos. A identificação correta bem como estudos agregando dados ecológicos, biológicos e moleculares destes parasitos e seus hospedeiros contribuem para o conhecimento não somente da mortalidade destes animais, mas também de aspectos evolutivos e demográficos de ambos.

Os resultados morfológicos e moleculares obtidos revelam a existência de pelo menos quatro novas espécies de parasitos do gênero *Synthesium* ocorrentes em golfinhos da costa brasileira. Além disso, as análises filogenéticas obtidas indicam a existência de um complexo de espécies agregando *S. tursionis* provenientes da costa brasileira e espanhola, os quais devem ser melhor investigados. A posição filogenética das espécies *S. delamurei*, *S. subtile* e *S. seymouri* é incerta e levanta questionamentos sobre o correto posicionamento destas espécies no gênero *Synthesium*.

Finalmente, este estudo agrega novas informações moleculares para espécimes de braquicladídeos, principalmente para os marcadores rITS1 e mtCOI, os quais carecem de informações em banco de dados, informações estas essenciais para a elucidação do *status* taxonômico do gênero bem como da família Brachycladiidae.

Os resultados obtidos ressaltam a importância de trabalhos relacionados aos parasitos de cetáceos e incentivam a revisão dos espécimes pertencentes ao gênero *Synthesium* usando abordagens morfológicas e principalmente moleculares.