



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA -UFRA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM SAÚDE E PRODUÇÃO
ANIMAL NA AMAZÔNIA

FÁBIO DE ABREU E SOUZA

**ESTUDO MORFOLÓGICO, MOLECULAR E FILOGENÉTICO DE
MICROPARASITOS EM *Ageneiosus ucayalensis* Castelnau, 1855, CAPTURADOS NO
RESERVATÓRIO DA UHE COARACY NUNES, ESTADO DO AMAPÁ, AMAZÔNIA
ORIENTAL**

**MACAPÁ
2024**

FABIO DE ABREU E SOUZA

**ESTUDO MORFOLÓGICO, MOLECULAR E FILOGENÉTICO DE
MICROPARASITOS EM *Ageneiosus ucayalensis* *Castelnau*, 1855, CAPTURADOS NO
RESERVATÓRIO DA UHE COARACY NUNES, ESTADO DO AMAPÁ, AMAZÔNIA
ORIENTAL**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Produção Animal na Amazônia (PPGSPAA) da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Saúde e Produção Animal na Amazônia..

Orientador: Prof. Dr. Igor Guerreiro Hamoy.
Coorientadora: Prof. Dra. Marcela Nunes Videira

MACAPÁ

2024

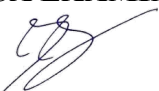
FÁBIO DE ABREU E SOUZA

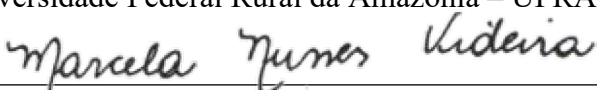
**ESTUDO MORFOLÓGICO, MOLECULAR E FILOGENÉTICO DE
MICROPARASITOS EM *Ageneiosus ucayalensis* Castelnau, 1855, CAPTURADOS NO
RESERVATÓRIO DA UHE COARACY NUNES, ESTADO DO AMAPÁ, AMAZÔNIA ORIENTAL**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Produção Animal na Amazônia (PPGSPAA) da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Saúde e Produção Animal na Amazônia.

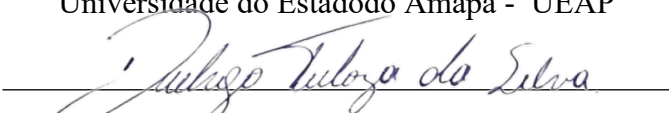
Data de Aprovação: 15 / 06 / 2024


BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Orientador: Prof. Dr. Igor Guerreiro Hamoy- Orientador
Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA


Prof. Dr. Marcela Nunes Videira – Coorientadora
Universidade do Estado do Amapá - UEAP


Prof. Dr. Luana Silva Bittencourt – 1º Examinadora
Universidade do Estado do Amapá - UEAP


Prof. Dr. Diego Tulosa da Silva- 2º Examinador
Universidade Federal Rural da Amazonia - UFRA


Prof. Dr. Marcelo Francisco da Silva – 3º Examinador
Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão- UEMASUL

AGRADECIMENTOS

A Deus quero agradecer por esta oportunidade em minha vida, sem esse maravilhoso Deus e o espírito santo que me ilumina eu não seria nada.

A Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA especificamente ao PPGSPAA, pelo a oportunidade desse programa unir parceira com a universidade Estadual do Amapá dando assim, incentivo nas realizações de pesquisas, disponibilizando seu laboratório de morfofisiologia para o desenvolvimento do projeto, como o do presente estudo.

Ao meu orientador e coorientadora, Prof. Dr. Igor Hamoy e Prof. Dra. Marcela Videira e todo grupo de pesquisa (SOAA) pela parceria e oportunidade e por acreditar no meu trabalho, abrindo as portas do Labmorsa para que eu pudesse executar cada tarefa necessária à realização dessa pesquisa, e principalmente por todo ensinamento e paciência.

Ao meu amigo clemildo Martel, que nos interagimos na conclusão e resultados dos dados da dissertação.

A todos os professores do PPGSPAA pelos conhecimentos repassados ao decorrer do curso.

Ao pescador Endro, que muito nos ajudou nessa trajetória, na captura dos exemplares de peixes.

Minha esposa que sempre me apoiou nos momentos mais difíceis que vieram ao decorrer do curso.

Aos professores doutores que se dispuseram a compor a banca de avaliação dando suas contribuições na realização do projeto, meu muito obrigado a todos.

RESUMO

O ecossistema costeiro amazônico é considerado biologicamente importante devido à abundância de peixes no estuário e à rica e diversificada fauna de peixes. Peixes nativos são suscetíveis de serem infectados por diferentes tipos de microparasitos porque seus habitats são propícios para sua reprodução e desenvolvimento. Dentre os quais podemos citar os pertencentes ao filo Cnidário, classe Myxozoa. Os mixosporídios são encontrados na maioria dos órgãos do corpo de seus hospedeiros, os mais frequentes, bexiga natatória, bexiga urinária, vesícula biliar, fígado, rim, bexiga e brânquias. Neste sentido, o presente projeto buscou contribuir para a identificação dos tipos de microparasitos eucariotos da classe Myxozoa, encontrado no espécime *Ageneiosus ucayalensis* proveniente do rio Araguari, UHE Coaracy Nunes, município de Ferreira Gomes, no estado do Amapá. Foram capturados 35 espécimes de *Ageneiosus ucayalensis* pela equipe de pesquisa de Sanidade de Organismos Aquáticos da Amazônia (SOAA) e auxiliados por pescadores da região com utilização de rede de arrasto de 30 mm entre nós, tarrafas, molinetes de pesca. Os indivíduos foram acondicionados e transportados vivos, até o Laboratório de Morfofisiologia e Sanidade Animal (LABMORSA) da Universidade do estado do Amapá (UEAP), anestesiados MS 222 SIGMA e necropsiados para as análises microscópicas (CEUA nº 8323110522). Pequenos fragmentos dos órgãos infectados dos hospedeiros foram retirados com a ajuda de pinça, fixados em Davidson por 24 horas e álcool 80% para serem processados para histologia e biologia Molecular (BM) respectivamente. A prevalência de infecção na bexiga urinária das espécimes de *Ageneiosus ucayalensis* foi de 28/35 (80%), estavam contaminados com plasmodios e esporos do gênero *Hoferellus*, Berg 1898 pertencente ao filo Cnidaria (Classe Myxozoa). Foram feitas análises morfológicas, morfométricas e filogenéticas, usando 18S rDNA e verificou-se que não correspondiam a nenhuma espécie já descrita na literatura, sendo assim, *Hoferellus matosi* n. sp. é o terceiro taxon encontrado no Brasil. O microparasito encontrado neste estudo, evidencia a importância de novos grandes estudos de ictioparasitos no rio Araguari no Município de Ferreira Gomes – Amapá, região Amazônica.

Palavra-chave: Myxozoa; *Ageneiosus*; Rio Araguari.

ABSTRACT

The Amazon coastal ecosystem is considered biologically important due to the abundance of fish in the estuary and the rich and diverse fish fauna. Native fish are susceptible to being infected by different types of microparasites because their habitats are conducive to their reproduction and development. Among which we can mention those belonging to the phylum Cnidaria, class Myxozoa. Myxosporidia are found in most organs of their hosts' bodies, the most common being the swim bladder, urinary bladder, gallbladder, liver, gall kidney and gills. In this sense, the present project sought to contribute to the identification of the types of eukaryotic micropastes of the Myxozoa class, found in the specimen *Ageneiosus ucayalensis* from the Araguari river, UHE Coaracy Nunes, municipality of Ferreira Gomes, in the state of Amapá. 35 specimens of *Ageneiosus ucayalensis* were captured by the Amazon Aquatic Organism Health (SOAA) research team and assisted by local fishermen using a 30 mm trawl net, cast nets and fishing reels. The individuals were packaged and transported alive to the Morphophysiology and Animal Health Laboratory (LABMORSA) of the University of the State of Amapá (UEAP), anesthetized MS 222 SIGMA and necropsied for microscopic analyzes (CEUA nº 8323110522). Small fragments of the hosts' infected organs were removed with the help of tweezers, fixed in Davidsom for 24 hours and 80% alcohol to be processed for histology and Molecular Biology (BM) respectively. The prevalence of infection in the urinary bladder of *Ageneiosus ucayalensis* specimens was 28/35 (80%), they were contaminated with plasmodia and spores of the genus *Hoferellus*, Berg 1898 belonging to the phylum Cnidaria (Class Myxozoa). Morphological, morphometric and phylogenetic analyzes were carried out using 18s rDNA and it was found that they did not correspond to any species already described in the literature, thus *Hoferellus matosi* n. sp. It is the third taxon found in Brazil. The microparasite found in this study highlights the importance of new large studies of ichthyoparasites in the Araguari River in the Municipality of Ferreira Gomes – Amapá, Amazon region.

Keyword: Myxozoa; *Ageneiosus*; Araguari River.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Usina Hidrelétrica Coaracy Nunes, localizada no Município de Ferreira Gomes no Estado do Amapá.....	14
Figura 2 - Vista lateral de <i>Ageneiosus ucayalensis</i> capturado durante colheita de campo na UHE Coaracy Nunes.....	15
Figura 3 - Desenhos esquemáticos de cinco tipos de esporos correspondentes a diferentes gêneros: A) <i>Henneguya</i> ; B) <i>Myxobolus</i> ; C) <i>Ceratomyxa</i> ; D) <i>Kudoa</i> ; E) <i>Chloromyxum</i>	19
Figura 4 - Desenho esquemático do ciclo de vida de mixosporídio: A) hospedeiro definitivo; B) actinospora; C) hospedeiro intermediário; D) mixosporo.....	21
Figura 5 - Esquema do ciclo de vida dos mixosporídios mostrando a fase em que a célula se divide. A célula pericítica (pericito - a) começa a englobar a célula germinativa (b) (1). A célula germinativa por sua vez, fica completamente envolvida pelo pericito (2). A célula germinativa se dividirá sucessivamente em duas células (3) e em 4 células (4). E finalizando a divisão, o esporo (monoespórico - 5) vai ser constituído por 5 células diferenciadas em 2 valvogênicas (d), 2 células capsulogênicas (e) e uma célula binucleada – o esporoplasma (c). Estas células completam sua diferenciação e por fim originam o esporo (6) (a1-pericito; e1-cápsulas; c1-esporoplasma; d1-valvas).....	22

LISTA DE ABREVIATURAS

BM	Biologia Molecular
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CP	Cápsula Polar
HE	Hematoxilina e Eosina
LABMORSA	Laboratório de Morfofisiologia e Sanidade de Animal
ML	Microscopia de Luz
SOAA	Sanidade de Organismos Aquáticos da Amazônia
UEAP	Universidade Estadual do Amapá
UFRA	Universidade Federal Rural da Amazônia
UHE	Usina hidrelétrica

SUMÁRIO

1 CONTEXTUALIZAÇÃO.....	10
2 OBJETIVOS.....	12
2.1 OBJETIVO GERAL.....	12
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	12
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	13
3.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DO ESTUDO.....	13
3.1.1 Reservatório da UHE Coaracy Nunes.....	13
3.2 HOSPEDEIRO: <i>AGENEIOSUS UCAYALENSIS</i> (CASTELNAU, 1855).....	14
3.3 DIVERSIDADE ICTIOPARASITÁRIA.....	16
3.3.1 Filo Cnidária, classe Myxozoa Grassé, 1970.....	17
3.3.1.1 Hospedeiro Invertebrado – Estágio Actinosporo.....	20
3.3.1.2 Hospedeiro Vertebrado – Estágio Mixosporo.....	20
3.3.1.3 O Gênero <i>Hoferellus</i> Berg, 1898.....	22
REFERÊNCIAS.....	24
CAPÍTULO I.....	32
<i>HOFERELLUS MATOSI</i> N. SP. PARASITIZING URINARY BLADDER IN <i>AGENEIOSUS UCAYALENSIS</i> FROM THE COARACY NUNES HPP, EASTERN AMAZON, BRAZIL.....	32
INTRODUCTION.....	34
MATERIAL AND METHODS.....	34
<i>Collection Site</i>	35
<i>Morphological Analysis and Parasite Collection</i>	35
<i>Molecular and Phylogenetic Analyses</i>	35
RESULTS.....	36
<i>Morphological Description of the Spores</i>	36
<i>Taxonomic Summary</i>	37
<i>Phylogenetic and Molecular Analysis</i>	38
DISCUSSION.....	38
CONCLUSION.....	40
REFERENCES.....	41
ANEXO A – NORMAS DA REVISTA BRASILEIRA DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA.....	48
ANEXO B – CARTA DE SUBMISSÃO.....	54
ANEXO C – CERTIFICADO DE REVISÃO DA LÍNGUA INGLESA.....	55

1 CONTEXTUALIZAÇÃO

Os peixes representam em diversos países a principal fonte de proteína animal, principalmente para aqueles considerados em desenvolvimento (Woo, 2006). Dados recentes da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura-FAO, apontam que somente no ano de 2022 foram produzidas 6,5 milhões de toneladas de pescado, volume acima do registrado no ano anterior (FAO, 2022).

Isto significa dizer que, sobretudo os peixes, tornam-se fundamentais não apenas como fontes de proteínas, mas, no fornecimento de nutrientes essenciais para a segurança alimentar e nutricional (FAO, 2022).

A América do Sul contém a maior quantidade de espécies nativas, contando com 8.000 espécies, o que representa um universo de 24% das já descritas no mundo (Schaefer, 1998). O espaço aquático brasileiro possui a mais rica fauna de peixes de água doce disponível no mundo, onde aproximadamente 2578 espécies são descritas e muitas outras ainda são desconhecidas (Buckup *et al.*, 2007).

O Brasil possui um importante potencial hídrico, perfazendo um total de 12% das reservas de água doce do planeta, representando 53% dos recursos hídricos da América do Sul. Grande parte das fronteiras do País é definida por corpos d'água – são 83 rios fronteirizos e transfronteirizos, além de bacias hidrográficas e de aquíferos. As bacias de rios transfronteirizos ocupam 60% do território brasileiro (MINISTÉRIO DAS RELAÇÕES EXTERIORES, 2022).

Os Estados que compõe a Amazônia brasileira possuem grande destaque na pesca em relação aos demais, pois a riqueza de espécies presentes nesta região é alta, o volume de pescados capturados para produção é relevante, bem como a dependência das populações tradicionais em relação a esta atividade (Barthem e Fabr , 2004).

Neste sentido, apesar dos números de produção demonstrarem grandes avanços no setor, os peixes, tanto em ambientes naturais, quanto àqueles criados através da piscicultura tornam-se alvos de um grande número de parasitos, o que pode, em alguns casos, causar danos ao seu processo de desenvolvimento, impactando diretamente na produção (Eiras *et al.*, 2008; Woo, 2006).

A espécime para esse estudo, o *Ageneiosus ucayalensis* Castelnau, 1855, capturado no rio Aragua   UHE Coracy Nunes no Municipio de Ferreira Gomes Estado do Amapá, conhecido populamente como mandub , ximb , fidalgo, são da ordem Siluriformes da família Auchenipteridae e   end mico da região Neotropical e distribuído nos sistemas dos

rios Amazonas, Orinoco e Paraná-Paraguai (Sá-Oliveira *et al.*, 2014; Froese e Pauly, 2016).

De acordo com Smith (1981), realiza migrações reprodutivas na bacia Amazônica. Seu tamanho pode alcançar 30 cm de comprimento total, tem corpo elevado, cabeça deprimida e mais longa que larga, a maxila superior se projeta sobre a mandíbula, fazendo com que a boca fique em posição ventral quando vista dorsalmente.

Os parasitos desempenham papéis fundamentais nos ecossistemas naturais, eles podem regular a abundância da população hospedeira, influenciar a diversidade e a composição das comunidades e estabilizar as redes alimentares (Lizama *et al.*, 2008; Rohlenova'eSimkova,' 2010; Alcantara e Tavares-Dias, 2015; Oliveira *et al.*, 2014). Na Amazônia oriental (Brasil), a fauna parasitária das populações de peixes selvagens consiste em diversos táxons de ectoparasitas e endoparasitas (Bittencourt *et al.*, 2014; Hoshino *et al.*, 2016).

Os agentes parasitários são aqueles considerados patógenos primários, ou seja, eles têm capacidade de estabelecer a relação com o hospedeiro independentemente de um fator prévio (CRMV-MG, 2022). Os parasitos causadores de enfermidades em peixes são abundantes e apresentam membros dos diferentes grupos zoológicos.

Os três gêneros pertencente a classe Myxozoa mais comuns em teleósteos marinhos e de água doce são: *Myxobolus*, *Henneguya* e *Kudoa* (Silva *et al.*, 2016). Sendo o gênero *Myxobolus* Butschli, 1882 o mais diverso, caracterizados por possuir esporos em formato elíptico, com duas capsulas polares e esporoplasma binucleado (Eiras *et al.*, 2005).

A patologia e o grau de parasitismo que acometem os peixes dependem de diversos fatores como a natureza do parasito, intensidade da infecção, condições ambientais, a biologia de cada espécie, comportamento alimentar, população e filogenia (Florindo, 2016). Para esta espécie em estudo, com destaque para o estado do Amapá, algumas espécies já foram descritas protozoa, platelmintos, Crustácea e nematoides, poucas se comparadas a nível Brasil. O alto nível de parasitismo observado pode ser atribuído ao ciclo direto desses ectoparasitas, que é facilitado por um ambiente eutrofizado sob influência da urbanização (Hoshino *et al.*, 2014; Pantoja *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2014).

Embora alguns gêneros sejam bastante diversificados, como é o caso de *Hoferellus* Berg, 1898, que possui uma representação significativa na região amazônica, existem apenas duas espécies conhecidas: *Hoferellus azevedoi* Matos, 2018 e *Hoferellus juntubensis* Pereira, 2022. A maioria das espécies do gênero *Hoferellus* são celozóicas, mas algumas apresentam um desenvolvimento intracelular conspicuamente, infectando peixes de água doce e, em um caso, um anfíbio hospedeiro. *Hoferellus* pode afetar o sistema renal do hospedeiro, como observado em *Hoferellus carassii*, que foi descrito pela primeira vez em carpas e identificado

como a causa de doença renal em peixes dourados, resultando em policistite, aumento do tamanho dos rins e distensão abdominal.

A identificação das espécies de *Hoferellus* é principalmente baseada nas características dos seus mixósporos, com poucos dados moleculares disponíveis para esse gênero. No entanto, análises moleculares foram realizadas em duas espécies encontradas no Brasil, *Hoferellus azevedoi* e *Hoferellus jutubensis*.

Essas espécies foram encontradas parasitando o peixe ornamental *Chaetobranchius flavescens* na Ilha do Marajó e a bexiga urinária de espécimes de *A. inermis* na Ilha de Jutuba, no Pará. Com base nessas análises morfológicas e moleculares, foi possível descrever uma nova espécie de *Hoferellus* que parasita a bexiga urinária de espécimes de *Ageneiosus ucayalensis* provenientes do rio Araguari, UHE Coaracy Nunes, município de Ferreira Gomes, no estado do Amapá, Brasil.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivogeral

Identificar os tipos de microparasitos do filo Cnidária (Myxozoa), encontrados nos peixes das espécies, *Ageneiosus ucayalensis* provenientes do rio Araguari, UHE Coaracy Nunes, município de Ferreira Gomes, no Estado do Amapá.

2.2 Objetivosespecíficos

- Verificar a prevalência de microparasitos no espécime analisado;
- Analisar a localização dos microparasitos em relação aos vários órgãos do hospedeiro;
- Descrever as características morfológicas e moleculares desses microparasitos
- Avaliar as relações filogenéticas dos táxons em estudo.
- Avaliar as possíveis alterações histopatológicas nos tecidos parasitados

3 REVISÃO DELITERATURA

3.1 Caracterização da Área do Estudo

O Estado do Amapá possui uma rica malha hídrica dentro do contexto Amazônico (Bárbara *et al.*, 2010). Neste cenário, o rio Araguari desponta como sendo a maior bacia hidrográfica do Amapá com aproximadamente 42.710 km² de área e possui aproximadamente 300 km de extensão, ocupando aproximadamente um terço da área total do Amapá (Corrêa *et al.*, 2017).

O rio Araguari nasce nas Montanhas do Tumucumaque, Município de Serra do Navio - Ap, uma região de cadeia montanhosa situada ao noroeste do estado, e deságua no Oceano Atlântico (Cunha, 2010). Sua importância econômica e social se dá pela geração de energia elétrica, abastecimento público, mineração e navegação, dentre outros. Entre o curso do rio localizam-se três importantes Municípios: Porto Grande, Ferreira Gomes e Cutias (Trindade, 2012).

3.1.1 Reservatório da UHE Coaracy Nunes

Os reservatórios artificiais de água constituem uma rede interativa complexa entre os organismos, espécies, populações, comunidades e o seu ambiente físico-químico. Esta rede está em estado dinâmico, resultado de permanente processo de resposta as funções de forças climatológicas e aos efeitos produzidos pela manipulação do sistema de barragem (Tundisi, 1999).

A construção de reservatórios produz inúmeros impactos nos sistemas terrestres e aquáticos. Alguns desses impactos são: deslocamento de populações, emigração de pessoas para o local de construção, problemas de saúde pública, perda de espécies nativas de peixes, perda de áreas alagadas, perda da biodiversidade dos rios, obstáculos efetivos para a migração de peixes.

Ocorrem efeitos na composição química da água (montante e jusante), decréscimo em fluxo de água, perda de valores estéticos, perda de valores culturais e de referências culturais, perda de terras para a agricultura, perda de monumentos ou valores históricos, etc. (Tundisi, 1999).

Em 1975, foi construída em seu curso a primeira UHE, denominada Coaracy Nunes (Figura 1), com fins de geração de energia elétrica nos domínios Amazônicos, se configurando como a principal fonte energética da região (ELETRONORTE, 2010). O regime hidrológico da região apresenta quatro padrões sazonais (enchente, cheia, vazante e seca) com o clima do tipo equatorial quente e úmido, com índices pluviométricos ultrapassando 2500

mm anuais e temperaturas médias que variam de 25 a 30°C por ano (Trindade, 2012).



Figura 1 - Usina Hidrelétrica Coaracy Nunes, localizada no Município de Ferreira Gomes no Estado do Amapá.
Foto: Autor, 2023

Portanto, o rio Araguari desempenha um importante papel significativo para as comunidades locais, fornecendo água para abastecimento, pesca, transporte fluvial e, como acima mencionado, é um importante gerador de energia elétrica não somente para o Estado, como para o país (Bárbara *et al.*, 2010) além disso, a paisagem cênica ao longo de suas margens atrai visitantes interessados em ecoturismo e atividades recreativas.

3.2 Hospedeiro: *Ageneiosus ucayalensis* (Castelnau, 1855)

Os peixes da ordem Siluriformes são conhecidos como bagres e apresentam aproximadamente 40 famílias (Froese e Pauly, 2019), 500 gêneros e mais de 3.000 espécies, podendo ser encontrados em diversos habitats aquáticos, com predominância em água doce (Mariguela, 2006; Ferraris-Jr, 2007; Muriel-Cunha, 2008). Os Siluriformes apresentam características morfológicas bem distintas, nadadeiras dorsais, peitorais, ventrais, anais e caudais raiadas, nadadeira adiposa e barbilhões sensitivos presentes na mandíbula (Ferreira *et al.*, 1998; Britski *et al.*, 1999).

As espécies dessa ordem se diferem da maioria dos peixes de água doce por apresentarem o hábito predominantemente noturno, pois não são dependentes essencialmente da visão, mas sim de outros sistemas sensoriais elaborados, como os barbilhões táteis e

quimiosensíveis ou órgãos olfativos desenvolvidos, sendo então considerados pré-adaptados a viverem no fundo de rios, cavernas e aquíferos (Lundberg e Friel, 2003).

O *Ageneiosus ucayalensis* (Figura), é comumente conhecido como mandubé ou ximbé é um peixe que se encontra espalhado na América do Sul, em rios das bacias do Amazonas e Orinoco, Guianas e alto Paraná (Reis *et al.*, 2003). De acordo com Smith (1981) *A. ucayalensis* realiza migrações reprodutivas na bacia Amazônica. Seu tamanho pode alcançar 30 cm de comprimento total, tem corpo elevado, cabeça deprimida e mais longa que larga, a maxila superior se projeta sobre a mandíbula, fazendo com que a boca fique em posição ventral quando vista dorsalmente.



Figura 2 - Vista lateral de *Ageneiosus ucayalensis* capturado durante colheita de campo na UHE Coaracy Nunes.
Foto: Autor, 2023.

Sua nadadeira anal é alongada, medindo cerca de 39 a 48 raios e ramificação adiposa diminuta, do tamanho da órbita, cauda bifurcada, tem mancha escura e ampla na base e outra na ponta dos lóbulos. Sua coloração é geralmente cinza-escuro no dorso e topo da cabeça, mas é clara no ventre. A nadadeira peitoral tem uma listra escura na porção anterior, já as nadadeiras ventral, anal e adiposa são uniformemente claras (Vasconcelos, 2014). Peixe com desova total, atingindo a primeira maturação sexual com 15 cm de comprimento total (Santos *et al.*, 2004).

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Classe: Actinopterygii

Ordem: Siluriformes

Família: Auchenipteridae

Gênero: *Ageneiosus*

Espécie: *Ageneiosus ucayalensis* Castelnau,

1855

Essa espécie possui hábito alimentar carnívoro, consumindo peixes, insetos e outros invertebrados aquáticos (Santos *et al.*, 2004; Santos *et al.*, 2006) é um animal de grande relevância comercial e de subsistência para as comunidades, bem como outras espécies do gênero.

3.3 Diversidade Ictioparasitária

A ictiofauna da América do Sul é a mais diversa do planeta, estimando-se que cerca de um terço das espécies de peixes de água doce de todo o mundo esteja nessa região e, além disso, na última década, mais de 100 espécies adicionais têm sido descritas a cada ano (Reis *et al.*, 2016).

A fauna aquática está exposta aos efeitos nocivos de diversos tipos de microparasitos, que compreendem os mais diversos ambientes e possuem vasta distribuição geográfica (Casal *et al.*, 2009). Estes parasitos podem viver na superfície ou dentro dos seus hospedeiros, sendo comumente divididos em ectoparasitos e endoparasitos, bem como podem ou não apresentarem especificidade parasitária (Thatcher, 1991; Pavanelli *et al.*, 2002; Kubitza e Kubitza, 2004).

Os peixes representam os vertebrados com as maiores taxas de infecção por parasitos, uma vez que, o ambiente aquático facilita sua propagação, reprodução e ciclo de vida da grande maioria dos agentes patógenos. Isto porque, há um consenso de que quando os peixes se encontram em situação de estresse, este se torna mais suscetível ao parasitismo e com mais chances de não sobrevivência (Malta, 1984).

Conforme Iwashita e Maciel (2013), os sinais clínicos mais observados em peixes são: hiporexia ou anorexia, emagrecimento progressivo, lesões na pele e modificações no comportamento apresentando natação errática, lenta, rodopio, saltos e respiração na superfície. Grande parte dessas doenças pode permanecer assintomática por um longo período. Entretanto, por mais que estas não sejam de grande poder infeccioso, mas, tornam o animal suscetível à outras infecções causadas por outros agentes patogênicos, tais como fungos, vírus, bactérias e etc. (Eiras, 1994; Hurtrez-Boussés *et al.*, 2001; Markell *et al.*, 2003).

Segundo Lom e Dyková (1992) a ação ictioparasitária de diferentes espécies de microparasitos, em especial aquelas que causam profundas lesões em seus hospedeiros ou mesmo mortalidade, tem sido objeto de estudo, principalmente em peixes de interesse econômico. Entretanto, o estudo da fauna parasitária dos peixes de água doce é de alta relevância, não só pelo aspecto econômico, mas também pelo que representa para a saúde pública, uma vez que podem ser portadores de zoonoses (Lom e Dyková, 1992).

Dentre os gênero de microparasitos pertencente a classe Myxozoa mais comuns em

teleósteos marinhos e de água doce, são : *Myxobolus*, *Henneguya* e *Kudoa* (Silva, 2016). Sendo o gênero *Myxobolus* Butschli, 1882 o mais diverso, caracterizados por possuir esporos em formato elíptico, com duas capsulas polares e esporoplasma binucleado (Eiraset *et al.*, 2005).

3.3.1 Filo Cnidária, classe Myxozoa Grassé, 1970

Cnidários são invertebrados amplamente reconhecidos por sua importância ecológica e econômica, contribuindo para a qualidade de vida, além de serem representantes típicos de ambientes marinhos e de água doce. Até recentemente, todos os Cnidários eram considerados animais de vida livre, no entanto, agora está claro que um clado de Cnidária divergiu nos tempos antigos para se tornarem endoparasitos que hoje compõe a classe Myxozoa - parasitos comuns, ocasionalmente, altamente problemáticos de peixes, conhecidos desde o século XIX (Okamura *et al.*, 2015).

O primeiro registro de Myxozoa foi no início do século XIX, quando Jurine Müller, em 1838, encontrou cisto na musculatura de *Coregonus fera* Jurino, 1825, e desde sua descoberta, há mais de 180 anos, os mixosporídeos tem sido frequentemente comparado aos Cnidários. Apesar dessas observações, estes inicialmente foram classificados por muito tempo entre táxons protistas (Okamura *et al.*, 2015).

Inúmeros avanços ocorreram para a compreensão fundamental dos aspectos da história de vida dos mixosporídeos e foram alcançados ao longo dos anos. Atualmente, os mixosporídeos pertencem a um amplo grupo de endoparasitas obrigatórios microscópicos que foram recentemente reconhecidos como um grupo irmão dos medusozoários no filo Cnidária (Chang *et al.*, 2015; Jimenez-Guri *et al.*, 2007).

Conforme pesquisas com dados morfológicos e filogenéticos, pesquisadores apontaram que há uma relação de proximidade entre os Cnidários e mixozoários e sugeriram que estes últimos pudessem ser considerados como uma classe dentro de Cnidária (Siddall *et al.*, 1995; Feng, *et al.*, 2014; Changet *et al.*, 2015;). Por ser um grupo heterogêneo, é constituído de 64 gêneros inclusos em 17 famílias e é cada vez mais certo que os mixozoários são componentes diversos e importantes dos ecossistemas (Okamura *et al.* 2015). São indivíduos com cerca de 2500 espécies já descritas segundo as listas de sinopses disponíveis e com dezenas de novas descrições acontecendo atualmente (Morris, 2010; Eiras e Adriano, 2012; Eiras *et al.*, 2013; Vidal *et al.*, 2017).

As espécies infectam principalmente peixes, tanto de água doce quanto de espécies marinhas, mas também podem parasitar anfíbios, répteis e mais raramente aves e mamíferos (Vidalet *et al.*, 2017). compondo um universo de 18% das espécies de Cnidárias, como atualmente são conhecidos (Okamura *et al.* 2015). O número de espécies descritas de

mixozoários no Brasil ainda é muito baixo se comparado com a sua grande diversidade de peixes (Azevedo *et al.*, 2014).

A classe Myxozoa é atualmente formada por duas subclasses, Malacosporea Canning *et al.*, 2000 e Myxosporea Buetschli, 1881, sendo descritas mais de 2300 espécies onde a maioria são parasitos de peixes, tanto dos encontrados em ambiente natural como os de sistemas de cultivo, com algumas espécies responsáveis por doenças que ocasionam altas taxas de mortalidade em todo o mundo (Kent *et al.*, 2001; Lom e Dyková, 2006, Morris, 2010).

A subclasse Malacosporea possui esporos de válvas sem rigidez e infectam os briozoários e os peixes, são possuidores de apenas uma ordem, a Malacovalvulida. Já a subclasse Myxosporea possuem esporos de válvas rígidas e que afetam principalmente os peixes, porém, podem ocorrer em anelídeos. Esta última classe é possuidora de duas ordens, sendo elas as Bivalvulidas, que se caracterizam por seus esporos possuírem duas válvas, normalmente com duas cápsulas polares e por último a ordem Multivalvulida, sendo composta por mais de duas válvas e mais de duas cápsulas polares (Kent *et al.*, 2001; Lom e Dyková, 2006; Casal *et al.*, 2009; Fiala *et al.*, 2015).

Esta classe é um grupo importante de endoparasitos microscópicos do ponto de vista econômico. Pesquisá-los é fundamental porque esses microparasitos eucarióticos são patógenos que infectam peixes de ambientes marinhos e de água doce e são encontrados também em anfíbios, répteis e aves.

Nos seres humanos, porém, as ocorrências são consideradas esporádicas, indicando tratar-se de presenças acidentais, em que os esporos achados nas fezes de pacientes, foram possivelmente, oriundos da ingestão de peixes infectados (McClelland *et al.*, 1997; Boreham *et al.*, 1998; Moncada *et al.*, 2001; Prunescu *et al.*, 2007; Dyková *et al.*, 2007; Bartholomew *et al.*, 2008; Okamura *et al.*, 2015).

Conforme Matos *et al.* (2004), este grupo é considerado diverso e pode ser encontrado no mundo todo, são possuidores de uma morfologia variada, podendo se apresentar com ou sem apêndice, ou possuir eventualmente projeções simples e elaboradas (Figura 3).

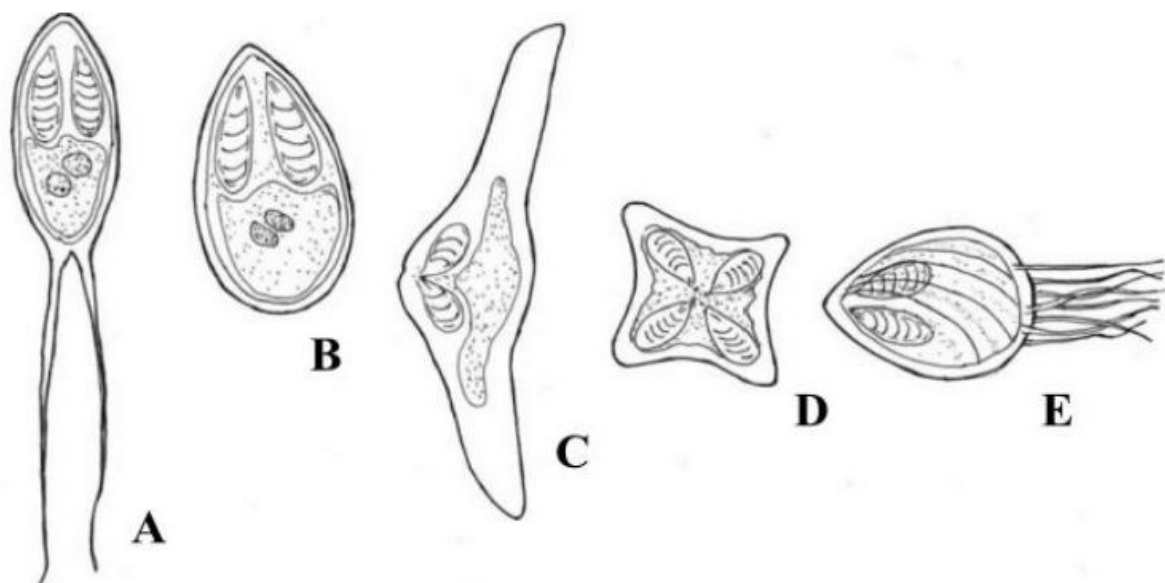


Figura 3 - Desenhos esquemáticos de cinco tipos de esporos correspondentes a diferentes gêneros: A) *Henneguya*; B) *Myxobolus*; C) *Ceratomyxa*; D) *Kudoa*; E) *Chloromyxum*.
 Fonte: Casal, 2009 (adaptado)

Em sua maioria, estes microparasitos se mostram com uma ou várias cápsulas polares, cada uma com um filamento polar extrusivo. Além disso, podem ser celozóicos (em cavidades ou de órgãos do corpo como na bexiga urinária e na vesícula biliar), histozóico (com formação dentro das células e tecidos) ou ainda dentro de vasos sanguíneos (El-Matbouli *et al.*, 1992; Casalet *et al.*, 2009; Eiras e Adriano, 2013).

A presença destes parasitos só é possível de ser encontrada através de detecção microscópica de cistos presentes em vários órgãos, tais como: Pele, brânquias, músculo, coração, rim, fígado, intestino, bexiga urinária, etc. A forma que os esporos irão apresentar é variada, desde arredondada, oval, quadrangular, elipsoide, piriforme, fusiforme, encurvada ou mesmo triangular. Quanto ao tamanho e espessura, este poderá variar de acordo com o gênero.

De acordo com Salim e Dessier (2000) as espécies de mixosporídios exibem alto grau de tropismo, tanto para o hospedeiro, como para os tecidos infectados. Além disso, a maioria dos mixosporídeos são estenoxeno (especificidade parasitária). No entanto, há estudos que confirmam que uma espécie pode parasitar diversos hospedeiros (Kubitza e Kubitza, 2000; Békési *et al.*, 2002; Casal, 2009; Eiras e Adriano, 2013).

Estudos atuais mostram que, os mixosporídios são organismos metazoários primitivos concluindo uma fase vegetativa prolongada nos peixes (hospedeiro intermediário), onde surgem esporos apresentando no mínimo seis células. As formas vegetativas geralmente são plasmódios de tamanho grande/ou pequeno contendo numerosos núcleos vegetativos e células germinativas, as células germinativas originam os esporos.

Segundo Matos *et al.* (2001), esse grupo possui um ciclo de vida de forma indireta e contém duas fases, sendo a primeira no peixe (hospedeiro intermediário) e a segunda no anelídeo (hospedeiro definitivo), abarcando neste ciclo um myxosporo, que é a fase comumente conhecida, sendo achados geralmente em peixes, e um actinosporo, cuja fase envolve um processo sexual, quase que exclusivamente nos anelídeos (Kent *et al.*, 2001; Lom e Diková, 2002; Lom e Diková, 2006).

3.3.1.1 Hospedeiro Invertebrado – Estágio Actinosporo

O desenvolvimento do parasita mixosporídeo no hospedeiro invertebrado inicia-se pela ingestão de mixosporos livres no meio aquático, o mixosporo ingerido pelos oligoquetos libera filamentos polares que, quando em contato com o epitélio intestinal, ancoram-se para maior fixação, as valvas dos mixosporos se abrem, liberando o esporoplasma, que penetram nas células epiteliais do intestino do anelídeo.

Após a liberação do esporoplasma, ocorrem divisões celulares para a formação de novos parasitos. Este processo é considerado a fase sexual do ciclo biológico do parasito dentro do hospedeiro invertebrado. Este estágio serve de fonte de infecção para os peixes, dando continuidade ao ciclo biológico (Milanin, 2015).

3.3.1.2 Hospedeiro Vertebrado – Estágio Mixosporo

Os actinosporos livres na água entram em contato com a superfície do hospedeiro vertebrado. O parasito no hospedeiro vertebrado está sujeito a seguir vários caminhos, como pela circulação ou migração intercelular, até atingir o tecido alvo; este caminho é dependente da espécie do parasito. No momento em que o parasito alcança o tecido alvo, ocorre o seu desenvolvimento, iniciando-se divisões celulares originando formação de plasmódios, que contem em seu interior os mixosporos.

Os mixosporos desenvolvidos no hospedeiro vertebrado apresentam morfologia distinta dos actinosporos que se desenvolvem no hospedeiro invertebrado. Os mixosporos maduros após o rompimento do plasmódio, com a morte do hospedeiro, são liberados na água, iniciando-se, assim, um novo ciclo biológico (Milanin, 2015).

Matos *et al.* (2001) dizem que é a fase esporal que melhor caracteriza o grupo, nesta fase é possível visualizar que os esporos são compostos de várias células que vão se organizar e formar o esporo geralmente com morfologia distinta, sendo constituído por duas valvas que formam entre elas uma cavidade onde se encontram geralmente duas cápsulas polares e uma célula binucleada, o esporoplasma.

Estes podem apresentar variações tanto em sua forma quanto em sua estrutura. Em

Myxozoa, é nas valvas que acontece a maior diferença morfológica, todavia, a checagem quanto ao tamanho das cápsulas polares, número de voltas dos tubos polares, entre outras características são utilizadas para a diferenciação de gêneros (Figura 4).

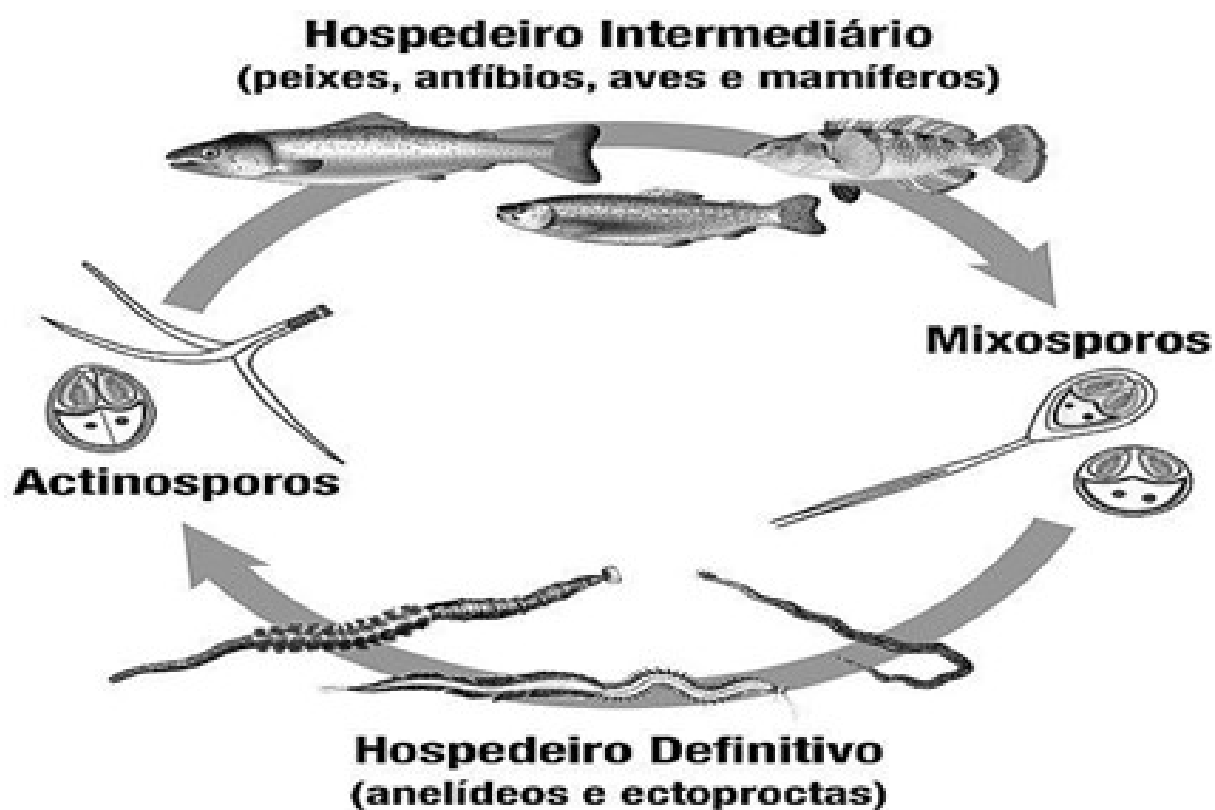


Figura 4 - Desenho esquemático do ciclo de vida de mixosporídio: A) hospedeiro definitivo; B) actinospora; C) hospedeiro intermediário; D) mixosporo.

Fonte: Selke, 2020 (adaptado)

Ainda de acordo como o autor supracitado, a esporogênese que ocorre no hospedeiro intermediário começa com o envolvimento de uma célula esporogônica, desenvolvida e protegida por uma célula, o pericito (fagócito). Neste último, a célula esporogônica vai se dividir através de nucleocinese e citocineses, gerando assim células uninucleares, com exceção de uma célula onde ocorrerá somente uma nucleocinese, que originará uma célula binucleada, chamada célula esporoplasmática.

Como resultado desta divisão irá ocorrer a formação de dois grupos de cinco células, onde, duas células valvogênicas diferenciam-se englobando as outras três, compondo desse modo um esporo. As três células que permanecem no interior, são duas células capsulogênicas, onde, no citoplasma se distinguem as cápsulas polares, apresentando no interior de cada uma delas, um filamento polar enrolado em hélice.

A outra célula, denominada esporoplasmática binucleada que se diferencia por conter inúmeras vesículas eletrodensas designadas de esporoplasmosomas (Figura 5) (Matos

et al., 2001; Matos *et al.*, 2004).

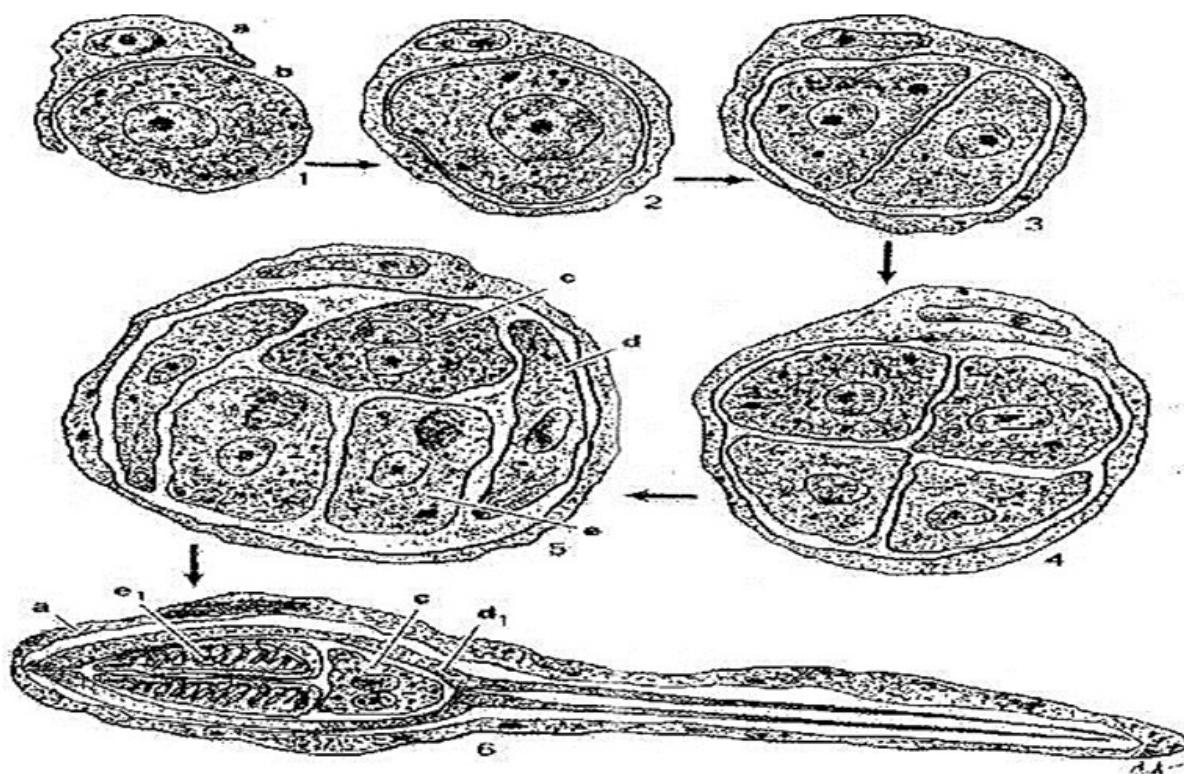


Figura 5 - Esquema do ciclo de vida dos mixosporídios mostrando a fase em que a célula se divide. A célula pericítica (pericito - a) começa a englobar a célula germinativa (b) (1). A célula germinativa por sua vez, fica completamente envolvida pelo pericito (2). A célula germinativa se dividirá sucessivamente em duas células (3) e em 4 células (4). E finalizando a divisão, o esporo (monoespórico - 5) vai ser constituído por 5 células diferenciadas em 2 valvôgenicas (d), 2 células capsulogênicas (e) e uma célula binucleada – o esporoplasma (c). Estas células completam sua diferenciação e por fim originam o esporo (6) (a1-pericito; e1-cápsulas; c1-esporoplasma; d1-valvas)

Fonte: Matos *et al.* 2001 (adaptado)

Em espécies diferentes é possível observar diferenças relacionadas à morfologia das cápsulas e do tubo polar, assim como a organização desse tubo polar. O filamento polar é uma estrutura importante, pois será responsável pela propagação da espécie, no período pós maturação. No processo de formação do esporo verifica-se que cada uma das valvas desenvolve um complexo sistema microtubular, o qual irá se diferenciar, em algumas espécies (Matos *et al.*, 2004).

Na Amazônia, o ciclo de vida de Myxozoa tem sido amplamente estudado por meio de variados tipos de microscopia (Azevedo *et al.*, 1995; Azevedo e Matos, 1996; Casal *et al.*, 2002; Tajdari *et al.*, 2005; Casal *et al.*, 2006; Azevedo *et al.*, 2008). Estes estudos vêm mostrando que a maioria das infecções por myxozoários são inócuas (não são facilmente evidentes) e têm pouco impacto nos hospedeiros de peixes. Porém, determinados myxozoários causam doenças graves com impactos econômicos nas pescarias e na aquicultura (Lom; Dyková, 1992; Pote *et al.*, 2000; Diamant *et al.*, 1994; Kent *et al.*, 1994; Hallett e Bartholomew, 2011; Okamura *et al.*, 2011; Yokoyama *et al.*, 2012; Okamura *et al.*, 2015).

3.3.1.3 O Gênero *Hoferellus* Berg, 1898

O gênero *Hoferellus* foi originalmente descrito por Doflein em 1898, como *Hoferia*, a espécie-tipo *Hoferia cyprini*. No entanto, o nome *Hoferia* foi atribuído a um gênero extinto de moluscos por Bittner em 1894. O gênero foi então, renomeado como *Hoferellus* por Bergem 1898. O gênero *Mitraspora* (Fujita, 1912) é outro sinônimo de *Hoferellus* de acordo com (Lom, 1986).

Em geral, *Hoferellus* são parasitos do sistema excretor de hospedeiro de água doce e maioria das espécies são celozóicas, embora alguns desses parasitos tenham desenvolvimento intracelular conspícuo, incluindo 25 espécies nominais que infectam peixes e uma espécie que infecta rãs (Lom e Dyková 2006; Mutschmann, 2004). Os mixósporos de *Hoferellus* têm o formato pontiagudos ou redondados com filamentos posteriores característicos ou uma borda em escova na extremidade posterior.

Com base apenas em dados morfológicos, *Hoferellus* sofreu abundantes retribuições taxonômicas (Molnár et al., 1986). A espécie-tipo, *Hoferellus cyprini* Doflein, 1898, afeta o sistema renal da carpa comum *Cyprinus carpio* L., um dos peixes de água doce mais cultivados em todo o mundo (FAO, 2009).

A integridade de *H. Cyprini* como espécie tem sido discutida devido aos estágios intracelulares indescritíveis no epitélio dos túbulos renais e à dificuldade de detecção de esporos (Dykova e Lom, 1982). A espécie mais estudada, *Hoferellus carassii* Achmerov, 1960, originalmente descrita na carpa gibel *Carassius gibelio* Bloch, 1782, foi identificada como um agente da doença do aumento renal (KED) em peixinho dourado, *Carassius auratus* (L.), talvez globalmente o peixe ornamental mais difundido, e mais tarde relacionado ao inchaço renal em *C. auratus* cultivado, causando rim policístico e inchado e consequente distensão abdominal, (Fujita, 1912).

A identidade, a especificidade do hospedeiro e a suposta ocorrência de infecções mistas de *H. carassii* e *H. Cyprini* foi amplamente discutida e permanecem um enigma (Fujita, 1912). A maioria das outras espécies são conhecidas apenas com base na descrição morfológica dos esporos, e apenas informações moleculares escassas estão disponíveis para os membros deste gênero (2 sequências parciais de rDNA de SSU).

Um ciclo de vida anual foi atribuído a *H. carassii* e *H. cyprini* (Molnár et al., 1986). O ciclo de desenvolvimento inclui estágios intracelulares no epitélio dos túbulos renais que não foram detectados por todos os autores ou atribuídos a outro gênero de mixozoários, *Sphaerospora*, que se espera que seja incapaz de completar seu desenvolvimento em o rim (Dykova e Lom, 1982). Os estágios luminais de *Hoferellus gilsoni* Debaisieux, 1925 são

caracterizados por um modo de fixação na bexiga urinária de *Anguilla anguilla* (L.), que é único entre os mixozoários, incluindo zonas semelhantes a desmossomos e vacúolos digestivos provavelmente relacionados à digestão de componentes da célula hospedeira.

Mixósporos apontados em vista valvular, em forma de mitra/bala, cristas longitudinais ao longo da superfície das válvulas, alguns deles continuando em filamentos caudais na extremidade posterior, sutura perpendicular ao plano da cápsula polar, cápsulas polares piriformes, esporoplasma binucleado, trofozoítos polispóricos. Ciclo de vida completo revelado, com actinósporos conhecidos de oligoquetas dos Naidinae, celozóico no sistema urinário de peixes de água doce, alguns com desenvolvimento intracelular conspícuo. Espécie-tipo: *Hoferellus cyprini* Doflein, 1898.

REFERÊNCIAS

ALCÂNTARA, N.M.; TAVARES-DIAS M. Estrutura das comunidades de parasitas em dois peixes Erythrinidae do sistema fluvial Amazonas (Brasil). **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, n.24, p.183–190, 2015

AZEVEDO, C.; CASAL, G.; MATOS, P.; MATOS, E. A new species of Myxozoa, *Henneguya rondoni* n. sp. (Myxozoa), from the peripheral nervous system of the Amazonian fish, *Gymnorhamphichthys rondoni* (Teleostei). **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 55, n. 3, p. 229–234, 2008.

AZEVEDO, C.; MATOS, E. *Henneguya malabarica* sp. nov. (Myxozoa, Myxobolidae) in the Amazonian *Hoplias malabaricus*. **Parasitology Research**, v. 82, p. 222–224, 1996.

AZEVEDO, C.; MATOS, P.; MATOS, E. Ultrastructural data on sporogony of the coccidian parasite *Calyptospora spinosa* from the liver of the Amazonian fish, *Crenicichla lepidota* Heckel. **Journal of fish Diseases**, v.18, p. 475–79. 1995.

BÁRBARA, V.F.; CUNHA, A.C.; RODRIGUES, A.S; SIQUEIRA, E.Q. BARTHEM, R. B.; FABRÉ, N. N. **Biologia e diversidade dos recursos pesqueiros da Amazônia**. In: Ruffino, M. L. (Org.). A pesca e os recursos pesqueiros na Amazônia Brasileira. Manaus: Provárzea. p. 11–55, 2004.

BARTHOLOMEW, J.L.; ATKINSON, S.D.; HALLETT, S.L.; LOWENSTINE, L.J.; GARNER, M.M.; GARDINER, C.H.; RIDEOUT, B.A.; KEEL, M.K.; BROWN, J.D. Parasitismo de mixozoários em aves aquáticas. **International Journal of Parasitology**, v. 38, n. 10, p. 1199–1207, 2008.

BÉKÉSI, L.; SZÉKELY, C; MOLNÁR, K. Atuais conhecimentos sobre Myxosporea (Myxozoa), parasitas de peixes. Um estágio alternativo **dos parasitas no Brasil**. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, n. 5, p. 271–276. 2002.

BITTENCOURT, L.S.; PINHEIRO, D.A.; CARDENAS, M.Q.; FERNANDES, B.M.M.; TAVARES-DIAS, M. Parasitas de populações nativas de Cichlidae e invasor *Oreochromis niloticus* (Linnaeus 1758) em afluentes do Rio Amazonas (Brasil). **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 23, p.44–54, 2014.

BOREHAM, R.E.; HENDRICK, S.; O'DONOGHUE, P.J.; STENZEL, D.J. 1998: Incidental finding of *Myxobolus* spores (Protozoa: Myxozoa) in stool samples from patients with gastrointestinal symptoms. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 12, p. 3728-3730, 1998.

BRITSKI, A. H.; SILIMON, K. Z. S.; LOPES, B. S. **Peixes do Pantanal: Manual de identificação**. Brasília: Embrapa. Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuária, 1999.

BUCKUP, P. A.; MENEZES, N. A.; GHAZZI, M. S. **Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil**. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 2007. 195 p.

CASAL, G.; MATOS, E.; AZEVEDO, C. Ultrastructural data on the spore of *Myxobolus maculatus* n. sp. (phylum Myxozoa), parasite from the Amazonian fish *Metynnis maculatus* (Teleostei). **Diseases of aquatic organisms**, v. 51, n. 2, p. 107-112, 2002.

CASAL, G.; MATOS, E.; AZEVEDO, C. A new myxozoan parasite from the Amazonian fish *Metynnis argenteus* (Teleostei: Characidae): light and electron microscope observations. **Journal of Parasitology**, v. 92, n. 4, p. 817-821, 2006.

CASAL, G. **Microsporidioses e Myxosporidioses da ictiofauna portuguesa e brasileira: caracterização ultraestrutural e filogenética**. Orientador: Jorge Guimarães da Costa Eiras. 2009. 263 f. Tese (Doutorado em Ciências Biomédicas Submetida) - Universidade do Porto, 2009.

CASAL, G.; MATOS, E.; TELES-GRILLO, M. L.; AZEVEDO, C. Morphological and genetical description of *Loma psittaca* sp. n. isolated from the Amazonian fish species *Colomesus psittacus*. **Parasitology Research**, v. 105, p. 1261-1271. 2009.

Chang, E. S.; Neuhof, M.; Rubinstein, N. D.; Diamant, A.; Philippe, H.; Huchon, D.; Cartwright, P. Genomic insights into the evolutionary origin of Myxozoa within Cnidaria. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 48, p. 14912-14917, 2015.

CORRÊA, K.; PORTO, J. Os empreendimentos hidrelétricos no rio Araguari e seus efeitos no espaço urbano amapaenses. *In*: XVII ENANPUR. Consultado em 3 de julho de 2023

CRMV-MG. **Doenças parasitárias em peixes de produção**. Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária da UFMG. Nº 101, Belo Horizonte, 2022.

CUNHA, A. C.; CUNHA, H. F. A. (Org.) **Tempo, clima e recursos hídricos resultados do Projeto REMETAP no Estado do Amapá**. Macapá: IEPA. 2010.

DIAMANT, A.; LOM, J.; DYKOVÁ, I. *Myxidium leei* n. sp., a pathogenic myxosporean of cultured sea bream *Sparus aurata*. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 20, n. 2, p. 137-141, 1994.

DOFLEIN F. Studien zur naturgeschichte der protozoen. Ill. Ueber Myxosporidien. In: Zoologische Jahrbücher. **Abteilung für Anatomie und Ontogenie der Tiere**, v. 11, p. 281-350, 1898.

DYKOVÁ, I.; LOM, J. *Sphaerospora renicola* n. sp., a myxosporean from carp kidney, and its pathogenicity. **Zeitschrift für Parasitenkunde**, v. 68, p. 259–268, 1982.

JIMENEZ-GURI, E.; H. PHILIPPE; B. OKAMURA & P.W.H HOLLAND. Buddenbrockia is a cnidarian worm. **Science**, v. 317, n.5834, p. 116-118, 2007.

EIRAS, J. C. **Elementos de Ictioparasitologia**. Porto: Fundação Engenheiro Antonio de Almeida. 1994. 339 p.

EIRAS, J. C.; MALTA, J. C. D. O.; VARELLA, A. M. B.; PAVANELLI, G. C. *Myxobolus insignis* sp. n. (Myxozoa, Myxosporea, Myxobolidae), a parasite of the Amazonian teleost fish *Semaprochilodus insignis* (Osteichthyes, Prochilodontidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, p. 245-247, 2005.

EIRAS, J. C.; ADRIANO, E. A. **Myxozoa**. In: PAVANELLI, G. C; TAKEMOTO, R.M.; EIRAS, J. C. In: Parasitologia de peixes de água doce do Brasil. Maringá: Eduem, 2013.

EIRAS, J. C.; MOLNÁR, K.; LU, YS. Sinopse de espécies de *Myxobolus* Butschli, 1882 (Myxozoa: Myxosporea: Myxobolidae). **Parasitologia Sistemática**, v. 61, p. 425–455, 2005.

ELETRONORTE – CENTRAIS ELÉTRICAS DO NORTE DO BRASIL S/A. 2010. Usina de Coaracy Nunes: primeira hidrelétrica da Amazônia completa 30 anos. Disponível em: http://eln.gov.br/usinas/coaracy_nunes/index.asp>. Acesso em 25 de fevereiro de 2024.

EL-MATBOULI, M., FISCHER-SCHERL, T.; HOFFMANN, R.W. Present knowledge on the life cycle, taxonomy, pathology, and therapy of some Myxosporea spp. important for freshwater fish. **Annual Review of Fish Diseases**, v. 3, n. 2, p. 367-402. 1992.

FAO. **Relatório da Fao/Sofia 2022 sobre produção global de pescado mundial em 2022**. Disponível em: <https://www.aquaculturebrasil.com/noticia/378/relatorio-da-faosofia-2022-destaca-estabilidade-da-producao-global-de-pescado-mundial>. Acesso em 17 de jun. de 2023.

FENG, J. M.; XIONG, J.; ZHANG, J. Y.; YANG, Y. L.; YAO, B.; ZHOU, Z. G.; MIAO, W. New phylogenomic and comparative analyses provide corroborating evidence that Myxozoa is Cnidaria. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 81, p. 10-18, 2014.

FERRARIS JR, C. J. Checklist of catfishes, recent and fossil (Osteichthyes:

Siluriformes), and catalogue of siluriforme primary types. **Zootaxa**, v.1418, p. 1-628, 2007.

FERREIRA E.J.G.; ZUANON J.A.S.; SANTOS G.M. **Peixes Comerciais do Médio Amazonas: região de Santarém, Pará**. Edições IBAMA, Brasília, DF, 1998.

FIALA, I.; BARTOŠOVÁ-SOJKOVÁ, P.; WHIPPS, C. M. **Classificação e Filogenética de Myxozoa**. In: OKAMURA, B.; GRUHL, A.; BARTHOLOMEW, J.L.(eds) *Evolução do Mixozoário. Ecologia e Desenvolvimento*. Springer International Publishing, Cham, pp 85–110, 2015.

FLORINDO, M. C. **Diversidade de parasitos de peixes ornamentais dulcícolas em Santa Catarina**. Orientador: Mauricio Laterca Martins. 2016. 91 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina, 2016

FOOX, J.; SIDDALL, M. E. The road to cnidaria: history of phylogeny of the myxozoa. **Journal of Parasitology**, v. 101, n. 3, p. 269-274, 2015.

FROESE, R.; PAULY, D.(2023) FishBase. Publicação eletrônica da World Wide Web. www.fishbase.org, versão (01/2016). Acessado em 18 de julho de 2023.

Fujita T. Notas sobre novos parasitas esporozoários de peixes. **Zoologischer Anzeiger**; v. 39, p. 259–262, 1912.

GALLETI, S. R.. Introdução à microscopia eletrônica. **Biológico**, v. 65, n. 1/2, p. 33-35, 2003.

GRUPCHEVA, G.; DYKOVÁ, I.; LOM, J. Seasonal fluctuation in the prevalence of *Sphaerospora renicola* and myxosporean bloodstream stages in carp fingerlings in Bulgaria. **Folia Parasitologica**, v. 32, n. 3, p. 193-203, 1985.

HALLETT, S. L.; BARTHOLOMEW, J. L. *Myxobolus cerebralis* and *Ceratomyxa shasta*. In: **Fish parasites: pathobiology and protection**. WOO, P. T. K., BUCKMANN, K. WALLINGFORD: CABI International, 2011.

HOSHINO, M. D. F. G.; TAVARES-DIAS, M. Ecology of parasites of *Metynnis lippincottianus* (Characiformes: Serrasalminae) from the eastern Amazon region, Macapá, State of Amapá, Brazil. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 36, n. 2, p. 249-255, 2014.

HOSHINO, M.D.F.G.; HOSHINO, E.M.; TAVARES-DIAS, M. First study on parasites of *Hemibrycon surinamensis* (Characidae), a host from the eastern Amazon region. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, p. 343–347, 2014.

HURTREZ-BOUSSÈS, S.; MEUNIER, C.; DURAND, P.; RENAUD, F. Dynamics of host- parasite interactions: the example of population biology of the liver fluke (*Fasciola hepatica*). **Microbes and Infection**, v. 3, p. 841-849, 2001.

IWASHITA, M. K. P.; MACIEL, P. O. **Princípios básicos de sanidade de peixes**. In: RODRIGUES, A. P. O.; LIMA, A. F.; ALVES, A. L.; ROSA, D. K.; TORATI, L. S.; SANTOS, V. R. V. dos (Ed.). *Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos*.

Brasília, DF: Embrapa, 2013.

KENT, M. L.; MARGOLIS, L.; CORLISS, J. O. The demise of a class of protists: taxonomic and nomenclatural revisions proposed for the protist phylum Myxozoa Grasse, 1970. **Canadian Journal of Zoology**, v. 72, n. 5, p. 932-937, 1994.

KUBITZA, F.; KUBITZA, L. M. M. **Principais parasitoses e doenças dos peixes cultivados**. COPYRIGHT. 4ª edição. (Coleção piscicultura avançada). Jundiaí, São Paulo, 2004. 110p.

LIZAMA, M. A. P.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C. Aspectos ecológicos de metazoários parasitas de *Astyanax altiparanae* Garutti e Britski, 2000 (Characidae) da planície de inundação do alto rio Paraná, Brasil. **Boletim Instituto de Pesca**, v. 34, n. 4, p. 527-533, 2008.

LOM, J.; DYKOVÁ, I. Myxosporidia (Phylum Myxozoa). Protozoan parasites of fishes. Developments in aquaculture and fisheries science. **Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 26, p. 159-235, 1992.

LOM, J. *Hoferellus cyprini* (Doflein, 1898) Berg, 1898 (syn. *Mitraspora cyprini* Fujita, 1912), *Myxobilatus nostalgicus* sp.n. and related species: partial revision of two myxosporeangenera. **Folia Parasitologica**, v. 33, p. 289-296, 1986.

LOM, J.; DYKOVÁ, I. Myxozoan genera: Definition and notes on taxonomy, lifecycle terminology and pathogenic species. **Folia Parasitologica**, v. 53, p. 1-36. 2006.

LUNDBERG, J. G.; FRIEL, J. P. **Siluriformes**. Catfishes. Version 20 January 2003 (under construction). <http://tolweb.org/Siluriformes/15065/2003.01.20> in The Tree of Life Web Project, <http://tolweb.org/>. 2003

MALTA, J.C.O. Os peixes de um lago de várzea da Amazônia Central (Lago Janauaca, Rio Solimões) e suas relações com os crustáceos ectoparasitas (Branchiura: Argulidae). **Acta Amazônica**, v. 14, p. 355-72, 1984.

MARIGUELA, T. C. **Análise filogenética da subfamília Callichthyinae (Teleostei: Siluriformes: Callichthyidae) com base em sequências de DNA nuclear e mitocondrial**. Orientador: Claudio de Oliveira. 2006. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2006.

MARKELL, E.K; JOHN, D.T; KROTOSKI, W.A. **Medical Parasitology**. 2º edição, Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. 2003, 273p.

MATOS, E.; CASAL, G.; MATOS, P.; CORRAL, L.; AZEVEDO C. **Microrganismos Parasitos de Animais Aquáticos da Amazônia**. In: RANZANI-PAIVA, M. J.; TAKEMOTO R. M.; LIZAMA, M. A. P. Sanidade de organismos aquáticos. São Paulo: Editora Varela, p.158-178, 2004.

MATOS, E.; CORRAL, L.; MATOS, P.; CASAL, G.; AZEVEDO, C.. Incidência de parasitas do Phylum Myxozoa (Sub-reino Protozoa) em peixes da região amazônica, com

especial destaque para o gênero *Henneguya*. **Revista de Ciências Agrárias**, v.36, p.83-99, 2001.

MILANIM, T. **Mixosporídeos em oligoquetas (actinosporo) e em peixes (mixósporos) pisciculturas dos estados de São Paulo e Mato Grosso do Sul. Brasil**. Orientador: Edson Aparecido Adriano. 2015. 108 f. Tese (Doutorado em Biologia Animal) - Universidade Estadual de Campos.

MINISTÉRIO DAS RELAÇÕES EXTERIORES. **Recursos hídricos**. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/mre/pt-br/assuntos/desenvolvimento-sustentavel-e-meio-ambiente/meio-ambiente-e-mudanca-do-clima/recursos-hidricos#:~:text=As%20bacias%20de%20rios%20transfronteiri%C3%A7os,%C3%A1gua%20%C3%A0s%20popula%C3%A7%C3%B5es%20da%20regi%C3%A3o>. Acesso em 17 de jun. de 2023.

MOLNÁR, K.; CSABA, G.; KOVÁCS-GAYER, E. Estudo da identidade postulada de *Hoferellus cyprini* (Doflein, 1898) e *Mitraspora cyprini* Fujita, 1912. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 34, n. 3-4, p. 175–81, 1986.

MONCADA, L. I.; LÓPEZ, M. C.; MURCIA, M. I.; NICHOLLS, S.; LÉON, F.; GUÍO, O. L.; CORREDOR, A. *Myxobolus* sp., another opportunistic parasite in immunosuppressed patients?. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 5, p. 1938–1940, 2001.

MORRIS, D. J. Cell formation by myxozoan species is not explained by dogma. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 177, p. 2565-2570. 2010.

MUTSCHMANN, F. Pathological changes in African hyperoliid frogs due to a myxosporidian infection with a new species of *Hoferellus* (Myxozoa). **Diseases of aquatic organisms**, v. 60, n. 3, p. 215-222, 2004.

OKAMURA, B.; GRUHL, A.; BARTHOLOMEW, J. L. **An Introduction to Myxozoan Evolution, Ecology and Development**. In: OKAMURA, B.; GRUHL, A.; BARTHOLOMEW, J. L. (Eds.), *Myxozoan Evolution, Ecology and Development*. Springer, pp. 1–20. 2015.

MURIEL-CUNHA, J. **Biodiversidade e sistemática molecular de Phreatobiidae (Ostariophysi, Siluriformes) – com uma proposta sobre sua posição filogenética em Siluriformes e uma discussão sobre evolução do hábito subterrâneo**. Orientador: Mario Cesar Cardoso de Pinna. 2008. 144 f. Tese (Doutorado em Ciência/Biologia - Genética) – Universidade de São Paulo. São Paulo, 2008.

OKAMURA, B.; HARTIKAINEN, H.; SCHMIDT-POSTHAUS, H.; WAHLI, T. Proliferative kidney disease as an emerging disease: the importance of life cycle complexity and environmental change. **Freshw Biol**, v. 56, p. 735-753, 2011.

OLIVEIRA, M. S. B.; GONÇALVES, R. A.; TAVARES-DIAS, M. Community of parasites in *Triportheus curtus* and *Triportheus angulatus* (Characidae) from a tributary of the Amazon River system (Brazil). **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 51, n. 1, p. 29-36, 2016.

OLIVEIRA, J. C.; VELASCO, M.; SANTOS, P. F. S.; SILVA, J. M. V.; SÃO CLEMENTE, S. C.; MATOS, E. *Kudoa* spp. (Myxozoa) infection in musculature of *Plagioscion squamosissimus* (Sciaenidae) in the Amazon region, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 2, p. 235-240. 2015.

PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R.M. **Doenças de Peixes: Profilaxia, Diagnóstico e Tratamento**. 2. Ed, Maringá, Eduem, Brasil. 305 pp. 2002.

POTE, L. M.; HANSON, L. A.; SHIVAJI, R. Small subunit ribosomal RNA sequences link the cause of proliferative gill disease in channel catfish to *Henneguya* n. sp. (Myxozoa: Myxosporidia). **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 12, p. 230-240. 2000.

PRUNESCU, C. C.; PRUNESCU, P.; PUCEK, Z.; LOM, J. The first finding of myxosporean development from plasmodia to spores in terrestrial mammals: *Soricimyxum fegati* gen. et sp. n.(Myxozoa) from *Sorex araneus* (Soricomorpha). **Folia Parasitologica**, v. 54, n. 3, p. 159, 2007.:

REIS, R. E., Kullander, S. O.; FERRARIS JR., C. J. (orgs), **Ckeck list of the freshwater fishes of South and Central America**. EDIPUCRS, 2003, Porto Alegre.

REIS, R.E.; ALBERT, J.S.; DI DARIO, F.; MINCARONE, M.M.; PETRY, P.; ROCHA, L.A. Fish biodiversity and conservation in South America. **Journal of Fish Biology**, v. 89, n. 1, p. 12- 47, 2016.

ROHLENOVÁ, K.; ŠIMKOVÁ, A.Are the immunocompetence and the presence of metazoan parasites in cyprinid fish affected by reproductive efforts of cyprinid fish?. **BioMed Research International**, v. 2010, 2010.

SANTOS, G. M.; FERREIRA, E. J. G.; ZUANON, J. A. S. **Peixes comerciais de Manaus**. Manaus: IBAMA/AM, ProVárzea. 144pp, 2006.

SANTOS, G. M; MÉRONA, B; JURAS, A. A; JÉGU, M. **Peixes do Baixo Rio Tocantins: 20 anos depois da Usina Hidrelétrica Tucuruí**. Brasília: Eletronorte. 216p. 2004.

SCHAEFER, S.A. **Conflict and resolution: impact of new taxa on phylogenetic studies of the neotropicals cascudinhos (Siluroidei: Loricariidae)**. In: MALABARBA, L.R.; REIS, R.E., VARI, R.P.; LUCENA, Z.M.S.; LUCENA C.A.S. (Eds.). *Phylogeny and classification of neotropical fishes*. EDIPUCRS, Porto Alegre, Brasil, p. 375-400, 1998.

SILVA,M.V. Caracterizaçãomorfológica, especial emolecularde mixosporídioparasitas de*Hipofthalmus marginatus* Valenciennes, 1840 de *Cichlatemensis* Humboldt1821, do Baixo Tocantis, PA. Orientador: Edilson Rodrigues Matos. 2016, 100 f. Tese (Doutorado em Biologia de agentes Infecciosos e Parasitários) – UniversidadeFederaldo Pará. 2016.

TAJDARI, J.; MATOS, E.; MENDONÇA, I.; AZEVEDO, C. Ultrastructural morphology of*Myxobolus testicularis*n. sp., parasite of the testis of*Hemiodopsis*

microlepi(Teleostei: Hemiodontidae) from the NE of Brazil. **Acta Protozoologica**, v. 44, n. 4, p. 377, 2005.

TAVARES-DIAS, M.; NEVES, L. R.; FERNANDES, B. M. M. First report of metacercariae (Digenea) infecting *Astronotus ocellatus* (Perciformes: Cichlidae) in the Amazon region, Brazil. **Neotropical Helminthology**; v. 5, p. 235–240, 2011.

Thatcher, V.E. Amazon Fish Parasites. **Amazoniana**, v. 11, n.3-4, p. 263-572, 1991

TRINDADE, P. A. A. **Biologia e ecologia trófica de *Hemiodus unimaculatus* (Bloch, 1794)(Characiformes: Hemiodontidae) no Rio Araguari, na área de influência da Usina Hidrelétrica Coaracy Nunes, Amapá, Brasil**. Orientador: Victoria Judith Isaac Nahum. 2012. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aquática e Pesca) – Universidade Federal do Pará. 2012.

TUNDISI, J. G. **Ecologia de Reservatórios: estrutura, função e aspectos sociais**. Raoul Henry. Editor - Botucatu: FUNDIBIO - FAPESP. 800p, 1999.

VASCONCELOS, H. C. G. **Crustáceos Ectoparasitos de Seis Espécies de Peixes do Reservatório Coaracy Nunes, Estado Amapá, Brasil**. Orientador: Marcos Tavares Dias. 85 f., 2014 Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Tropical) – Universidade Federal do Amapá, 2014.

WOO, P.T.K. Fish Diseases and Disorders. Volume 1: Protozoan and Metazoan Infections. 2a. ed. Canadá: University of Guelph, 2006.

YOKOYAMA, H.; GRABNER, D.; SHIRAKASHI, S. Transmission Biology of the Myxozoa. **Health and environment in aquaculture**, v. 10, p. 29571, 2012.

CAPITULO I

***Hoferellus matosi* n. sp. PARASITIZING URINARY BLADDER IN *Ageneiosus ucayalensis* FROM THE COARACY NUNES HPP, EASTERN AMAZON, BRAZIL**

***Hoferellus matosi* n. sp. PARASITANDO BEXIGA URINÁRIA EM *Ageneiosus ucayalensis* ORIUNDOS DA UHE COARACY NUNES, AMAZÔNIA ORIENTAL, BRASIL**

Fábio de Abreu e Souza¹; Samuel Carvalho Vidal¹; Clemildo Silva Martel²; Abthylane Amaral de Carvalho³; Lilia Suzane de Oliveira Nascimento⁴; Marcela Nunes Videira⁴; Igor Guerreiro Hamoy⁵

¹Programa de Pós-Graduação em Saúde e Produção Animal na Amazônia, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, Pará, Brasil;

²Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Universidade Federal do Amapá, Macapá, Amapá, Brasil;

³Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brasil;

⁴Laboratório de Morfofisiologia e Sanidade Animal, Universidade do Estado do Amapá, Macapá, Amapá, Brasil;

⁵Laboratório de Genética Aplicada, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, Pará, Brasil;

Acknowledgements: The authors would like to thank the Sanidade dos Organismos Aquáticos da Amazônia (SOAA) research group of Universidade do Estado do Amapá (UEAP), the Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo (LPCA) of Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) and the Laboratório de Genética Aplicada da UFRA.

Ethical standards: This study was performed in line with the principles of the Animal Use Ethics Committee of the Federal Rural University of the Amazon: nº 8323110522; and Biodiversity Authorization and Information System: licence 50376-1

Competing interests: The authors declare that they have no conflict of interest.

Hoferellus matosin. sp. **PARASITIZING URINARY BLADDER OF *Ageneiosus ucayalensis* FROM THE COARACY NUNES HPP, EASTERN AMAZON, BRAZIL**

Hoferellus matosi n. sp. **PARASITANDO BEXIGA URINÁRIA DE *Ageneiosus ucayalensis* ORIUNDOS DA UHE COARACY NUNES, AMAZÔNIA ORIENTAL, BRASIL**

Abstract: *Hoferellus matosi* n. sp. was found in the urinary bladder of the specimen *Ageneiosus ucayalensis*, in the Araguari river, at the Coaracy Nunes HPP in the municipality of Ferreira Gomes, Amapá state, Brazil. This is the third record of a species of the genus *Hoferellus* in a host from the Brazilian Amazon region, the first being from the state of Amapá. Microscopic and molecular analyzes identified plasmodia and spores of different sizes and shapes in the host's urinary bladder. Of the 35 specimens, 28 (80%) were contaminated by these spores, with some being found attached to each other at their posterior ends in the bladder epithelium. urinary. Mature spores are pyriform in sutural view, showing small projections or striations on the back of the valves. The spores measure $3 \pm 0.3 \mu\text{m}$ in length and $4.3 \pm 0.5 \mu\text{m}$ in width, with two oval polar capsules of equal size, $2 \pm 0.2 \mu\text{m}$ in length and $1.5 \pm 0.2 \mu\text{m}$ in width. wide, 3-4 turns polar filaments inside the capsule. Comparison of morphological, molecular and phylogenetic data with data from existing members indicated that *Hoferellus matosi* n.sp is a new species, a sister taxon to *Hoferellus juntubensis* and the two species form the Brazilian *Hoferellus* lineage.

Keywords: Brazilian Amazon, Microparasite.

Resumo: *Hoferellus matosi* n. sp. foi encontrado na bexiga urinária da espécimes *Ageneiosus ucayalensis*, no rio Araguari, na UHE Coaracy Nunes município de Ferreira Gomes, estado Amapá, Brasil. Este é quarto registro de uma espécie do gênero *Hoferellus* em um hospedeiro da região amazônica brasileira, sendo o primeiro do Estado do Amapá. As análises microscópicas e moleculares identificaram, plasmódios e esporos de diversos tamanhos e formas na bexiga urinária do hospedeiro, dos 35 espécimes 28 (80%) estavam contaminados por esses esporos, sendo alguns encontrados ligados um ao outros em suas extremidades posteriores no epitélio da bexiga urinária. Os esporos maduros são piriformes na visão sutural, mostrando pequenas projeções ou estrias na parte posterior das valvas. Os esporos medem $3 \pm 0,3 \mu\text{m}$ de comprimento e $4,3 \pm 0,5 \mu\text{m}$ de largura, com duas cápsulas polares ovais de igual tamanho, $2 \pm 0,2 \mu\text{m}$

de comprimento e $1,5 \pm 0,2 \mu\text{m}$ de largura, 3-4 voltas filamentos polares interior da capsula. Comparação de dados morfológicos, moleculares e filogenéticos, com dados de membros existentes indicou que *Hoferellus matosi* n.sp, é uma nova espécie, um táxon irmão de *Hoferellus jutubensis* e as duas espécies formam a linhagem de *Hoferellus* brasileira.

Palavras-chave: Amazônica brasileira, Microparasito.

Introduction

Myxosporidia are widespread and morphologically diverse cnidarian endoparasites that mainly infect fish in fresh and marine waters but also parasitize amphibians, reptiles, birds, and (rarely) mammals. (Vidal et al., 2017). There are approximately 2,600 reported myxosporean species (Okamura et al., 2018).

The spore morphology is an important criterion for identification. Biological characteristics such as host/organ specificity and tissue tropism are combined with molecular characteristics to identify myxosporean species. (Atkinson et al., 2015).

The genus *Hoferellus* Berg, 1898 is a parasite of freshwater hosts such as fish and frogs (Lom e Dyková, 2006; Mutschmann, 2004). Most species of this genus are coelozoic, developing within organ cavities, while some are histozoic with intracellular development. (Fujita, 1912).

Hoferellus spp. can affect the renal system of the host; for example, *Hoferellus carassii* Achmerov, 1960, first described in carp (*Carassius gibelio* Bloch, 1782) has been identified as a cause of kidney disease in goldfish (*Carassius auratus* Linnaeus, 1758), causing polycystitis, swollen kidneys, and abdominal distension.

Most *Hoferellus* species have been described based on the morphology of their myxospores, and few molecular data are available for this genus, with the exception of *Hoferellus azevedoi* and *Hoferellus jutubensis*, which are the only species described in Brazil.

H. azevedoi was found parasitizing the freshwater ornamental fish *Chaetobranchius flavescens* Haeckel, 1840, on Marajó Island, and *H. jutubensis* was found parasitizing the urinary bladder of specimens of *Ageneiosus inermis* in Jutuba Island, state Pará, northern Brazil. These species have been described previously based on morphological and molecular analyses. According to Lom and Dyková (2006), there are 25 species in the genus *Hoferellus*.

In the present study we describe the morphological characteristics and molecular aspects of a new myxosporean species, *Hoferellus matosi* n. sp., found in the urinary bladder of *Ageneiosus ucayalensis* Castelnau 1855. To date, there are no records of *Hoferellus*

parasitizing this host species in the state of Amapá.

Material and Methods

Collection Site

Between December 2022 and December 2023, 35 specimens of *Ageneiosus ucayalensis* were captured from the Araguari River, UHE Reservoir, Coaracy Nunes located in the municipality of Ferreira Gomes, in the northern region of the state of Amapá. (N00°54'34.3'', W051°16'54.2''). The specimen collection was carried out by a team from the Health of Aquatic Organisms of the Amazon (SOAA) research group, with assistance from local fishermen, using methods such as 30-mm trawl nets, cast nets, and fishing reels.

The collections were authorized by the Animal Use Ethics Committee (CEUA) of the Federal Rural University of the Amazon – UFRA (n° 8323110522), and registered in the Biodiversity Authorization and Information System (SISBIO/ICMBIO) under the license 50376-1.

The specimens were packaged and transported alive in thermal boxes with the aid of battery-powered pumps that provided artificial aeration to the Morphophysiology and Animal Health Laboratory (LABMORSA) at the State University of Amapá (UEAP). The fish were housed in aquariums equipped with electric pumps and filters for subsequent parasitological analysis.

The fish were anesthetized with tricaine methanesulfonate (MS222 SIGMA) at a concentration of 50 mg·L⁻¹ to facilitate examination of the body surface using binocular stereoscopic microscopy.

Morphological Analysis and Parasite Collection

Fragments of the parasitized urinary bladder were removed and fixed in Davidson's solution (95% alcohol, formaldehyde, acetic acid, and distilled water) for 24 h for histological processing, followed by standard paraffin embedding and hematoxylin and eosin (H&E) staining. The parasite prevalence was calculated using the methodology proposed by Bush et al. (1997).

Molecular and Phylogenetic Analyses

Urinary bladder fragments containing cysts of eukaryotic microparasites were collected and preserved in 80% ethyl alcohol at 4°C. Total DNA from the sample was extracted using the Wizard® Genomic DNA kit. Subsequently, the DNA samples were quantified using spectrophotometry (BioDrop DUO).

All molecular analyses were based on 18S rDNA sequences, which were amplified

using primers MC5/MC3 (Molnár, 2002). The final volume of the polymerase chain reaction (PCR) was 25 μ L, using Taq DNA polymerase Master Mix (PROMEGA, Madison, EUA), with 0.5 μ M of each primer and 2 μ L of the DNA sample.

The amplification protocol included an initial denaturation of 10 s at 95 °C, followed by 40 cycles of denaturation at 95 °C for 1 min, hybridization at 48 °C for 2 min and polymerization for 4 min and 30 s at 72 °C, finishing with 10 min of polymerization at 92 °C.

The amplicons were subjected to electrophoretic analysis on a 1.5% agarose gel, followed by purification using the GFX™ PCR DNA kit and the Gel Band Purification Kit reagents, according to the manufacturer's instructions. These steps were performed at the Morphophysiology Laboratory at the State University of Amapá (UEAP).

The amplification product was sequenced on an ABI 3730 automatic DNA analyzer using the BigDye Terminator v3.1 cycle sequencing kit (Applied Biosystems) following the manufacturer's instructions on an ABI 3100 Genetic Analyzer. To confirm the observed mutations, samples were sequenced using forward and reverse primers.

The obtained nucleotide sequences were edited and aligned using BioEdit (Hall, 1999). The SSU rDNA gene sequences of the myxozoan species deposited in GenBank were aligned in Clustal X 1.8 (Thompson et al., 1997) in the default configuration to determine their phylogenetic relationships with the new species described here.

High similarity scores in the Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) were used as criteria to select GenBank sequences for inclusion in the analysis. jModelTest software (version 0.1.1 (Guindon and Gascuel, 2003; Posada, 2008), was used to identify the best nucleotide substitution model for the dataset.

Phylogenetic analysis was conducted by maximum parsimony and Bayesian analyses using PAUP 4.0 b10 (Swofford, 2003) and MrBayes 3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003), respectively. Genetic distances were calculated in PAUP* 4.0b10 (Swofford, 2003) using the default p parameter for the SSU rDNA gene.

In Bayesian analysis (BI), implemented in MrBayes, version 3.1.2, two parallel executions of four simultaneous searches were performed using the Markov chain Monte Carlo (MCMC) method for 5,000,000 generations, sampling one tree every 1,000 generations, and discarding the results from the first 1,250 trees (25% of the sample). The remaining 3,750 trees were used to estimate the confidence level (subsequent probability) of each node in the phylogenetic reconstruction.

Results

Morphological Description of the Spores

Thirty-fivespecimens of *Ageneiosus ucayalensis* were examined, of which 28 (80%) were infected with *Hoferellus matosi* n. sp. polysporic plasmodia of different sizes and shapes were observed in the urinary bladder lumen (Figure 1A). When released from the plasmodia, the spores generally remained attached to each other (Figure 1C). The mature spores have an ovoid pyriform shape in the sutural view, measuring $3 \pm 0.3 \mu\text{m}$ in length and $4.3 \pm 0.5 \mu\text{m}$ in width (arrow, Figure 1C). The suture line was parallel to the polar capsule (arrow tip, Figure 1C), and the sporoplasm was not visualized through a light microscope.

The posterior ends of the spore valves are serrated, resulting in longitudinal surface projections that extend outward. (Figure 1C). Two equally ovoid polar capsules are located at the posterior ends of the valves. (Figure 1D). These capsules are $2 \pm 0.2 \mu\text{m}$ long and $1.5 \pm 0.2 \mu\text{m}$ wide, with 3-4 bundles of polar filaments in the capsule interior. (Figure 1A).

Taxonomic Summary

Kingdom Metazoa Linnaeus, 1758

Phylum Cnidaria Hatscheck, 1888

Class Myxozoa Grassé, 1970 (Kyger, 2021)

Subclass Myxosporea Bütschli, 1881

Order Bivalvulida Shulman, 1959

Family Myxobilatidae

Genus *Hoferellus* Berg, 1898

Species *Hoferellus matosi* n. sp.

Host *Ageneiosus ucayalensis* Castelnau, 1855

Infection site: Urinary bladder.

Locality: Brazil, State of Amapá, Municipality of Ferreira Gomes. (00°54'34.2" N; 051°16'54.2" W)

Prevalence: 80% (28/35) of the hosts examined were infected with plasmodia and spores of *Hoferellus matosi* n. sp.

Species deposit: A glass slide with a 5 μm stained histological section containing the syntype of the new myxozoan species was deposited in the zoological collection of the Amazon Research Institute (INPA) in Manaus, Amazonas, Brazil, under catalog number CNIDÁRIA-INPA-CND 000098

GenBank accession number: PP815056.1

Etymology: The specific epithet refers to Prof. Dr. Edilson Matos (*inmemorium*), an

important researcher in the field of fish microparasites of the Brazilian Amazon.

Phylogenetic and Molecular Analysis

A partial sequence of 839 bp of the SSU rDNA gene was obtained from the spores of the new species, *Hoferellus matosi* n. sp. in Bayesian inference analysis, this new species was grouped with the Amazonian freshwater urinary bladder clade, becoming sister to *H. jutubensis* (Matos et al., 2018). *H. azevedoi* and *Hoferellus* sp. belong to the same common ancestor with a nodal support of 99% reliability. There is a record of *Hoferellus* sp. in the NCBI database but a more careful analysis has not been published. However, all the species in question originated in Brazil and have a common ancestor (Figure 3).

Additional species were in the phylogenetic tree, including *H. carassii* and four other species: *Mixidium streisingeri*, *Chloromyxum*, *Myxidium giardi* and *Zschokkella* sp. For pairwise comparisons, an alignment was performed, including *Hoferellus* species and other species. The smallest distance (p) between the sequences was from *H. jutubensis*, presenting 30.7% genetic divergence from *Hoferellus matosi* n. sp. the genetic distances for *H. azevedoi* and *Hoferellus* sp. (both from the Brazilian Amazon) were 32.0% and 33.7 %, respectively. All other analyzed sequences showed greater genetic distances. (Table 1).

Discussion

In this study we describe a new myxozoan species of the genus *Hoferellus* found in specimens of the fish *Ageneiosus ucayalensis* captured in the UHE Reservoir of the Araguari River, in the municipality of Ferreira Gomes, Brazil. The captured specimens had an average length of 23 cm (ranging from 21.0 cm to 29.5 cm) and an average weight of 85 g (ranging from 51.0 g to 163.0 g). Of these specimens, 28/35 (80%) were infected by *Hoferellus matosi* n. sp.

The general morphology of *Hoferellus* spores can be pointed or rounded in shape when observed in the valve views, presenting characteristic posterior filaments or a border of bristles at the posterior end. It is important to note that all species in this genus are parasites of the fish excretory system. (Lom e Dyková, 2006; Wünnemann et al., 2016) with the exception of *Hoferellus anurae*, which parasitizes the frog excretory system (Mutschmann, 2004).

There are few comparative studies of the morphological and molecular characteristics of *Hoferellus* species are compared. However, Alama-Bermejo et al. (2016) proposed a natural division based on a phylogenetic approach that identified two main groupings: one centered on the type species *Hoferellus cyprini* Doflein, 1898, called the *Hoferellus* ss group (*stricto sensu*), and the other known as the *Hoferellus* sl group (*lato sensu*).

Tropism towards the excretory system is a characteristic common to all species of *Hoferellus* (Alama-Bermejo et al., 2016; Lom e Dyková, 2006). The fixation of the plasmodium *Hoferellus matosi* n. sp. to the bladder epithelium is similar to the typical configuration of *Hoferellus azevedoi*. (Matos et al., 2018), *Hoferellus jutubensis* and *Hoferellus gilsoni* (Debaisieux, 1925), which have elongated plasmodia in their host urinary bladders.

Other common characteristics of *Hoferellus* species include the presence of striations and external projections on the surface of the spores (Alama-Bermejo et al., 2016), which have also been observed in the spores of *H. matosi* n. sp. these ridges and projections sometimes form long hair-like processes or filaments at the posterior end, as seen in *H. carassii*, *H. jutubensis*, *H. cyprini*, and *H. alosae* Alama-Bermejo et al. 2016.

However, these long projections were not observed in *Hoferellus matosi* n. sp. the serrated posterior ends of *Hoferellus* spores suggest the possible presence of caudal filaments. These filaments are generally indiscernible under optical microscopy but have been noted in other studies using scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM).

Polysporic plasmodia of different sizes and shapes were found in the epithelium and lumen of the urinary bladder (Figure 1A). When the spores fall away from the host tissue, they generally remain attached to each other (Figure 1C), as observed in *H. azevedoi* and *H. gilsoni*.

Spore morphology varies between species, mainly in the *Hoferellus* sl group (*lato sensu*). The morphological characteristics of the spores of *Hoferellus matosi* n. sp. are similar to those of *H. azevedoi*, *H. gilsoni*, and *H. gnathonemi*, which have spores in pairs, fixed at the posterior ends (Alama-Bermejo et al., 2016).

Regarding the total length of the spores, *Hoferellus matosi* n. sp. ($3 \pm 0.3 \mu\text{m}$) is most similar to *H. azevedoi* ($5.2 \mu\text{m}$) and *H. jutubensis* ($5.7 \mu\text{m}$). Regarding spore shape, *Hoferellus matosi* n. sp. is similar to *H. azevedoi* and *H. gilsoni*, presenting a subspherical shape. As for the width of the spores, *Hoferellus matosi* n. sp. ($4.3 \mu\text{m}$) approaches that of *H. jutubensis* ($5.5 \mu\text{m}$).

Regarding the length and shape of the polar capsule, *Hoferellus matosi* n. sp. ($2.0 \mu\text{m}$, ovoid shape) differs from *H. alosae* ($4.0 \mu\text{m}$, subspherical shape) (Wunnemann et al., 2016), *H. gnathonemi* ($5.8 \mu\text{m}$, pyriform shape) and *H. carassii* ($4.0 \mu\text{m}$, pyriform shape). However, *Hoferellus matosi* n. sp. resembled other species of *Hoferellus* in terms of the width and number of turns of the capsule filaments, similar to *H. jutubensis* and *H. azevedoi* (Table 2).

The similarities between the morphological and morphometric characteristics of *Hoferellus matosi* n. sp. and other species of *Hoferellus* support the description of a new species of microparasite. However, 18S rRNA gene sequences provide more reliable criteria than morphological characteristics alone for identifying myxozoans and their phylogenetic relationships. (Kent et al., 2001; Fiala et al., 2015).

The morphological review and phylogenetic analyses performed in this study demonstrated that *Hoferellus matosi* n. sp. is phylogenetically related to the *Hoferellus* sl group (*lato sensu*) proposed by Alama-Bermejo et al. (2016), including *H. jutubensis*, *H. azevedoi* and the unidentified *Hoferellus* sp. (ON622725). In the phylogenetic tree analysis (Figure 3), *Hoferellus matosi* n. sp. formed a longer branch, evolutionarily diverging from *H. jutubensis* and other species.

Despite this difference in branch length, it did not affect the relationship between *Hoferellus matosi* n. sp. and *H. jutubensis* as sisters, as they belong to the same clade, with a very reliable nodal support of 99%. The distance (p) or genetics in pairs reaffirms this divergence represented in (Table 1): *H. jutubensis* had the smallest distance, with 30.7% evolutionarily diverging from *Hoferellus matosi* n. sp.; the other species presented higher values.

Analysis of the nucleotide composition revealed that 43% of the sequence was composed of G + C (A = 0,2854, C = 0,1746, G = 0,2504, T = 0,2897). Substitution rates between different nucleotide pairs were estimated using the GTR + G nucleotide substitution model.

The estimated rates were as follows: A - C = 1.0121, A - G = 2.5404, A - T = 1.3026, C - G = 0.9478, C - T = 3.8349, G - T = 1.0000. These data provide important information regarding the genetic composition and substitution rates of the SSU rDNA sequence of *Hoferellus matosi* n. sp. This information will be useful for future studies on the phylogeny and evolution of this new myxozoan species.

Conclusion

In conclusion, a new species of myxozoan of the genus *Hoferellus* is described and named *Hoferellus matosi* n. sp.. the species was found in specimens of the fish *Ageneiosus ucayalensis* captured in the Araguari River in Amapá, Brazil. The new species presents distinct morphological characteristics compared to most other *Hoferellus* species, such as the absence of long projections on the spores.

This discovery provides important insights into the morphology, evolution, and geographic distribution of the genus *Hoferellus*. Interestingly, this is the third

description of the occurrence of this genus in a Brazilian Amazon host, reinforcing the relevance of the Amazon region as an environment conducive to the diversity and evolution of these organisms.

The information obtained in this study, including the genetic composition and nucleotide substitution rates of the partial SSU rDNA sequence of *Hoferellus matosi* n. sp., contribute significantly to the advancement of knowledge regarding the biology and ecology of this genus of myxozoans. This discovery reaffirms the continued importance of scientific research in revealing new species and expanding our understanding of the diversity of life in the Amazon and globally.

References

- Alama-Bermejo G, Jirků M, Kodádková A, Pecková H, Fiala I, Holzer AS. Species complexes and phylogenetic lineages of *Hoferellus* (Myxozoa, Cnidaria) including revision of the genus: A problematic case for taxonomy. *Parasit Vectors* 2016; 9: 1-21. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1265-8>
- Atkinson SD Bartholomew JL, Lotan T. Myxozoans: Ancient metazoan parasites find a home in phylum Cnidaria. *Zool* 2018; 129: 66–68. <https://doi.org/10.1016/j.zool.2018.06.005>
- Bush AO, Lafferty KD, Lotz JM, Shostak AW. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al... *J Parasitol* 1997; 83: 575-583. <https://doi.org/10.2307/3284227>
- Fiala P, Bartošová-Sojková CM, Whipps, CM. Classification and phylogenetics of myxozoa, in: B. Okamura, A. Gruhl, JL. Bartholomew (Eds.), *Myxozoan Evolution, Ecology and Development*, Springer, Switzerland, pp. 85–110, 2015.
- Guindon S, Gascuel O. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Syst Biol* 2003; 52(5): 696–704. <https://doi.org/10.1080/10635150390235520>
- Hall TA. **Bioedit v7.0.9**: Biological sequence alignment editor analysis program for Windows 95/98/Nt/2K/XP. Available from: <www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html> Access in: 24 march. 2024.
- Kent ML, Andree KB, Bartholomew JL, El-Matbouli MR, Dessler SS, Devlin RH, Xiao C. Recent advances in our knowledge of the Myxozoa. *J Eukaryot Microbiol* 2001; 48(4):395–413. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2001.tb00173.x>
- Lom J, Dyková I. Myxozoan genera: definition and notes on taxonomy, life-cycle terminology and pathogenic species. *Folia Parasitol (Praha)* 2006; 53(1): 1-36.

<https://doi.org/10.14411/fp.2006.001>

Lom KJ, Molnár I, Dyková. *Hoferellus gilsoni* (Debaisieux, 1925) comb. n. (Myxozoa, Myxosporidia): Redescription and mode of attachment to the epithelium of urinary bladder of its host, the European eel. *Parasitologica*. 1986; 4: 405–413

Matos PS, Da Silva DT, Hamoy I, Matos, E. Morphological features and molecular phylogeny of *Hoferellus azevedoi* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae) found in *Chaetobranchius flavescens* Heckel, 1840 (Teleostei: Cichlidae) from Marajó Island, northern Brazil. *Parasitol Res* 2018; 117: 1087-1093. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-5785-y>

Molnár K, Eszterbauer E, Székely C, Dán A, Harrach B. Morphological and molecular biological studies on intramuscular *Myxobolus* spp. of cyprinid fish. *J Fish Dis* 2002, 25: 643–652. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2002.00409.x>

Mutschmann, F. Pathological changes in African hyperoliid frogs due to a myxosporidian infection with a new species of *Hoferellus* (Myxozoa). *Dis Aquat Organ* 2004; 60(3): 215-222. <https://doi.org/10.3354/dao060215>

Okamura B, Hartigan A, Naldoni J. Extensive uncharted biodiversity: the parasite dimension. *Integr Comp Biol* 2018; 58(6): 1132- 1145. <https://doi.org/10.1093/icb/icy039>

Posada D, jModelTest: média do modelo filogenético, *Mol. Biol. Evol.* 25 (2008) 1253–1256, <https://doi.org/10.1093/molbev/msn083>

Ronquist F, Huelsenbeck JP. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinform.* 2003; 19(12): 1572-1574. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>

Swofford LL, Sullivan J. Phylogeny inference based on parsimony and other methods using PAUP*. *The Phylogenetic Handbook: A Practical Approach to DNA and Protein Phylogeny* 2003; cap 7: 160-206.

Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG. A interface Windows do CLUSTAL-X: estratégias flexíveis para alinhamento de múltiplas sequências auxiliadas por ferramentas de análise de qualidade. *Pesquisa de ácidos nucléicos* 1997; 25: 4876–4882. <https://doi.org/10.1093/nar/25.24>

Wünnemann AS, Holzer H, Pecková P, Bartosová-Sojtková U, Eskens M, Lierz. Repatriation of an old fish host as an opportunity for myxozoan parasite diversity: the example of the allis shad, *Alosa alosa* (Clupeidae), in the Rhine, *Parasit Vectors* 2016; 9: 1–13, <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1760-6>

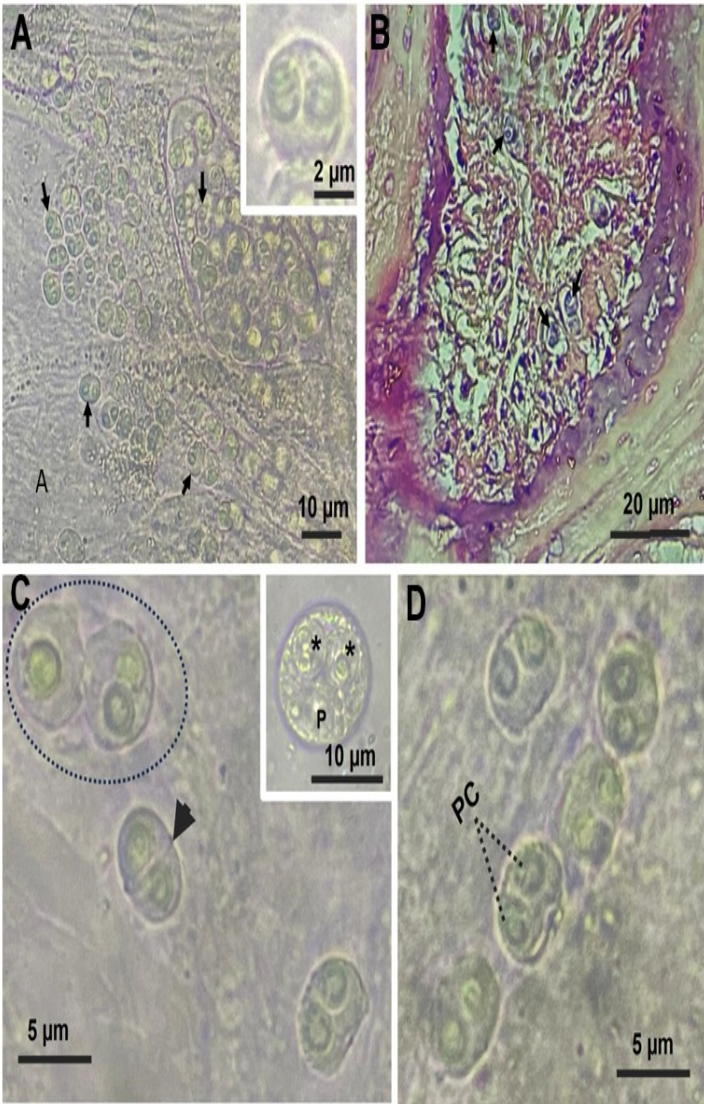
Figure 1. Optical microscopy of plasmodia and mature spores of *Hoferellus matosi* n. sp. from the urinary bladder of the specimen *Ageneiosus ucayalensis*. (a) Plasmodia and mature spores (arrows) (b) Histological section of the urinary bladder stained by the hematoxylin and eosin (H&E) technique, showing several mature spores adhered to the bladder epithelium. (c) Two spores connected to each other at their posterior ends, (arrowhead) well-defined suture between the cyst valves showing spores connected to each other. (d), mature spores presenting two equal polar capsules (PC).

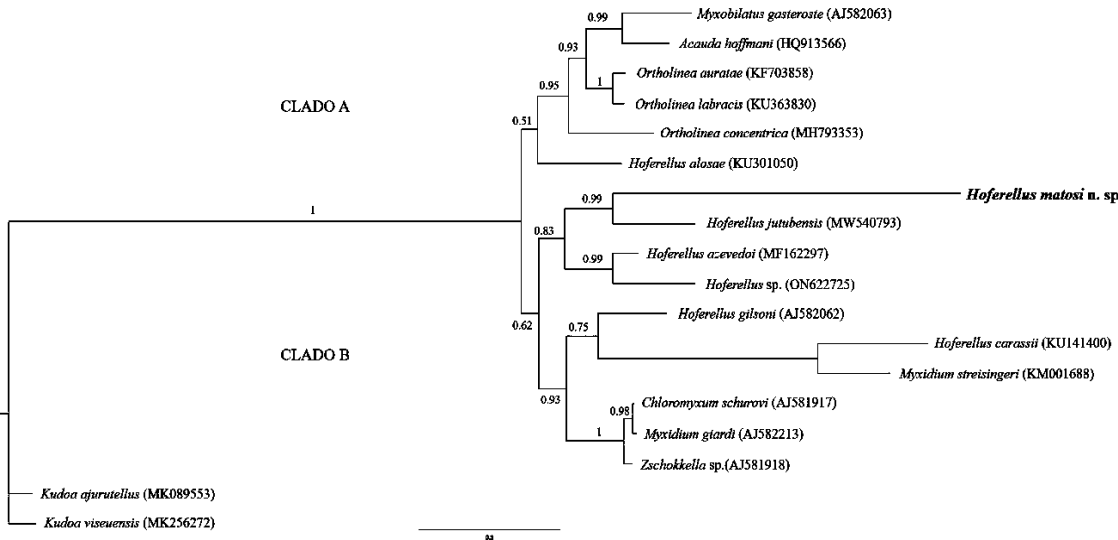
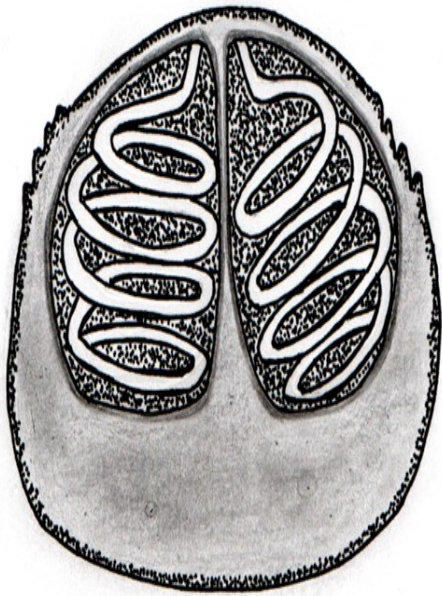
Figure 2. Schematic drawing of the spore frontal view of *Hoferellus matosi* n. sp. bar scale = 2 μm .

Figure 3. Phylogenetic tree generated by Bayesian inference (BI), from partial SSU aligned rDNA genetic sequences of *Hoferellus matosi* n. sp. and related myxosporidians. GenBank accession numbers are shown next to the species names and the numbers at the nodes are the posterior probability values calculated by BI. The new species is highlighted in bold.

Table 1. Distances p recorded between pairs of *Hoferellus* species and other parasite species of the fish excretory system.

Table 2. Comparison of morphometric parameters of the myxospore *Hoferellus matosi* n. sp. and other species of the genus *Hoferellus*. N = number of filaments in the polar tubule. Measurements (averages: μm).





Species	0 1	0 2	0 3	0 4	0 5	0 6	0 7	0 8	0 9
01-<i>Hoferellus matosi</i> n. sp.	— - 0	-	-	-	-	-	-	-	-
02-<i>Chloromyxum schurovi</i> (AJ581917)	. 3 9 4 0	-	-	-	-	-	-	-	-
03-<i>Myxidium giardi</i> (AJ582213)	. 3 9 7 0	. 0 0 4 0	-	-	-	-	-	-	-
04-<i>Hoferellus gilsoni</i> (AJ582062)	. 3 7 4 0	. 1 3 8 0	. 1 3 9 0	-	-	-	-	-	-
05-<i>Hoferellus azevedoi</i> (MF162297)	. 3 2 0 0	. 1 4 4 0	. 1 4 8 0	. 1 7 6 0	-	-	-	-	-
06-<i>Hoferellus jutubensis</i> (MW540793)	. 3 0 7 0	. 2 1 5 0	. 2 1 5 0	. 2 0 7 0	. 1 9 8 0	-	-	-	-
07-<i>Myxobilatus gasteroste</i> (AJ582063)	. 3 9 8 0	. 1 9 1 0	. 1 9 3 0	. 1 8 5 0	. 1 9 7 0	. 2 3 7 0	-	-	-
08-<i>Acauda hoffmani</i> (HQ913566)	. 3 7 9 0	. 1 5 7 0	. 1 5 7 0	. 1 6 5 0	. 1 5 9 0	. 2 2 7 0	. 0 9 4 0	-	-
09-<i>Ortholinea concentrica</i> (MH793353)	. 3 8 6 0	. 1 7 9 0	. 1 7 9 0	. 1 8 4 0	. 1 9 7 0	. 2 3 4 0	. 1 7 9 0	. 1 2 1 0	-
10-<i>Hoferellus</i> sp. (ON622725)	. 3 3 7	. 1 9 3	. 1 9 4	. 2 1 9	. 1 1 5	. 2 3 8	. 2 4 5	. 2 0 6	. 2 3 7



Species	Host	Spore			Polar Capsule			N	Locality
		Shape	Length	Width	Shape	Length	Width		
<i>Hoferellus matosi</i> n. sp. (Presente study)	<i>Ageneiosus ucayalensis</i>	Subspherical	3 ± 0.3	4.3 ± 0.5	Ovoid piriformis	2 ± 0.2	1.5 ± 0.2	3 - 4	Amapá/ Brazil
<i>Hoferellus jutubensis</i>	<i>Ageneiosus inermis</i>	Round ed	6.1 ± 0.2	5.5 ± 0.3	Subspherical	2.5 ± 0.2	1.7 ± 0.2	3 - 4	Pará/ Brazil
<i>Hoferellus azevedoi</i> Matos et al., 2018	<i>Chaetobranchus flavescens</i>	Subspherical	5.3 ± 0.2	7.0 ± 0.7	Ovoid piriformis	2.5 ± 0.2	1.8 ± 0.2	3 - 4	Pará/ Brazil
<i>Hoferellus gilsoni</i> Lom et al., 1986	<i>Anguilla Anguilla</i>	Subspherical	7.8 (7.2-8.7)	7.6 (6.7-8.7)	Oval	3.5 (2.9-4.3)	2.6 (1.9-3.1)	5 - 6	Hungary
<i>Hoferellus anurae</i> Mutschmann, 2004	<i>Afraxalus dorsalis</i>	Pyramidal	8.0 (7.0-8.9)	7.9 (6.1-7.9)	Piriformis	3.8 (3.2-4.3)	2.0 (1.8-2.1)	6 - 7	Nigeria
<i>Hoferellus alosae</i> Wünnemann et al., 2016	<i>Alosa alosa</i>	Ellipsoidal	9.7 ± 0.4	8.4±0.5	Subspherical	4.0 ± 0.2	3.0 ± 0.3	5	France
<i>Hoferellus gnathonemi</i> Alama-Bermejo et al., 2016	<i>Rodada Gnathonemus petersii</i>	Round ed	11.9 (10-14.3)	11 (9.9-12.7)	Ovoid piriformis	5.8 (3.7-7.9)	3.7 (2.7-4.8)	3 - 4	Czech Republic
<i>Hoferellus carassii</i> Alama-Bermejo et al., 2016	<i>Carassius auratus</i>	Pyramidal or miter-like	13 (10.2-17.3)	9.6 (7.6-11.8)	Piriformis	4 (2.8-5.8)	2.4 (1.8-3.6)	6	Czech Republic



ANEXO A – Normas da Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária

Apresentação

A Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária é um órgão oficial de divulgação do Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária (CBPV). Tem como objetivo publicar temas relativos a Helmintos, Protozoários, Artrópodes e Rickettsias bem como assuntos correlatos. A revista tem periodicidade trimestral. São aceitas submissões de manuscritos, em inglês, de pesquisadores de qualquer país, associados ou não ao CBPV.

Este periódico oferece a todos os pesquisadores acesso eletrônico livre para consulta de todos os trabalhos, desde seu primeiro volume publicado em 1992.

Política editorial

Os artigos submetidos à Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária deverão caracterizar-se como científicos e originais, essencialmente sobre parasitas de animais em geral

O(s) autor(res) deverá(ão) anexar uma carta, responsabilizando-se por todo o processo de tramitação e originalidade do artigo, salvo resumo(s) apresentado(s) em eventos científicos, não submetidos à publicação em outros periódicos. Trabalhos com número excessivo de autores deverão ser avaliados pelos editores científicos assistentes, em relação ao protocolo experimental. É necessária a colaboração substancial de todos os autores no planejamento do estudo, obtenção, análise e interpretação de resultados, confecção do artigo e aprovação da versão final submetida e aceita. Colaboradores que não tiveram participação ativa em todo o processo descrito acima poderão ser listados na seção de agradecimentos. Poderá haver agradecimento ao pesquisador que forneceu auxílio técnico, correção ou sugestão na escrita, ou ao chefe de departamento que proporcionou infraestrutura para elaboração do trabalho. O processo de avaliação do trabalho dependerá da observância das Normas Editoriais, dos Pareceres do Corpo Editorial e/ou do Relator *ad-hoc*. Nesse processo, o editor-chefe e os editores científicos assistentes poderão sugerir ou solicitar as modificações necessárias, apesar de ser de responsabilidade dos autores os conceitos emitidos. Os artigos submetidos serão avaliados por, no mínimo, 2 revisores anônimos, sendo um estrangeiro, selecionados pelo editor-chefe. Em caso de pareceres contrários, o artigo será enviado a um terceiro revisor. A Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária atribui a seus artigos as categorias de: Artigos Completos, Comunicação Breve e Artigos de Revisão, sendo este último escrito por especialistas e condicionado a solicitação por convite do editor-chefe. Revisões não solicitadas não serão aceitas, mas o tópico da revisão pode ser sugerido, previamente, ao editor-chefe ou editores científicos assistentes.

Submissão de trabalhos:

O artigo a ser submetido deve passar por revisão do inglês, pelos



revisores credenciados pela RBPV (http://cbpv.org.br/rbpv/revisoes_traducoes.php). Junto ao trabalho submetido anexar o certificado de revisão de inglês. Os pesquisadores deverão assumir os custos da revisão. Caso um dos coautores seja estrangeiro nativo da língua inglesa, este deverá revisar o inglês do trabalho e enviar um ofício à RBPV.

Taxa de publicação:

Após o aceite do artigo, será cobrada as seguintes taxas de publicação:

R\$ 250,00 (associados do CBPV em dia com as anuidades);

R\$ 500,00 (não-associados do CBPV).

Dados bancários para depósito:

Nome: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária/ Revista Banco do Brasil (001)

Agência: 0269-0

Conta Corrente: 28848-9

Para autores estrangeiros:

SWIFT BRASBRJRPO

IBAN 001026900000288489

Endereço: Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, Zona Rural. CEP: 14884-900. Jaboticabal – SP, Brasil.

Processo de avaliação pelos pares

O processo de avaliação do trabalho dependerá da observância das Normas Editoriais, dos Pareceres do Corpo Editorial e/ou do Relator ad-hoc. Os artigos submetidos serão avaliados por, no mínimo, 2 revisores anônimos, sendo um estrangeiro, selecionados pelo editor-chefe. Em caso de pareceres contrários, o artigo será enviado a um terceiro revisor.

O relator deverá preencher o formulário de avaliação da RBPV, disponível no sistema on-line de submissão (<http://mc04.manuscriptcentral.com/rbpv-scielo>). Tendo

recebido a avaliação de pelo menos 2 dos revisores selecionados, o(s) autor(es) receberá (ão) os formulários de avaliação e possíveis correções feitas diretamente no texto. O avaliador poderá corrigir novamente o artigo, se necessário. Após o aceite pelos revisores *ad-hocs*, porém antes da resposta aos autores, o artigo passará pela análise final de um dos Editores Científicos Assistentes. Lembrando que, o Editor Científico Assistente possui autonomia para sugerir correções e/ou rejeitar a publicação do artigo, mesmo com a aprovação dos relatores.

Após diagramação e editoração, os editores científicos assistentes e a editora-chefe da revista, fazem as correções finais.

Transferência de direitos autorais:

Ao ser submetido, o artigo deve vir acompanhado de um ofício, em que o autor se responsabiliza por todo o processo de tramitação e originalidade do trabalho.

Ética

Experimentos que utilizam animais deverão ser conduzidos obedecendo às normas aprovadas pelo Colégio Brasileiro de



Experimentação Animal (<http://www.cobea.org.br>), devendo os autores apresentarem o número de protocolo de submissão e aprovação dos trabalhos em Comissão de Ética e Bem-Estar Animal.

Apresentação dos manuscritos

Na elaboração do texto serão observadas as seguintes normas:

Os trabalhos devem ser submetidos em inglês, de forma concisa, com linguagem impessoal e com os sinais de chamadas de rodapé em números arábicos, lançados ao pé da página em que estiver o respectivo número e em ordem crescente. Os trabalhos deverão ser apresentados em fonte “Times New Roman”, tamanho 12, com margem superior e inferior de 2,5 cm, esquerda e direita com 3 cm e espaçamento entre linhas de 1,5 cm com as páginas numeradas. Para a categoria Artigo Completo, o trabalho não deverá exceder 17 páginas, quando da diagramação final. Para a categoria Comunicação Breve, o trabalho não deverá exceder 6 páginas, quando da diagramação final. As tabelas e ilustrações deverão ser apresentadas separadas do texto e anexadas ao final do trabalho, sem legendas. As respectivas legendas deverão vir no texto logo após as referências bibliográficas. Os trabalhos submetidos deverão ser revisados por um dos revisores de língua inglesa credenciados pela RBPV, de escolha e sob responsabilidade dos autores. Os Artigos Completos devem ser organizados obedecendo à seguinte sequência: **Título Original, Título Traduzido, Autor(es), Filiação Institucional, Abstract (Keywords), Resumo (Palavras-chave), Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões** (ou combinação destes três últimos), **Agradecimentos** (facultativo) e **Referências Bibliográficas**. As Comunicação Breve obedecem à sequência acima sem a necessidade de se destacar os tópicos, sendo escritas em texto corrido. Para essa categoria, o artigo submetido só será aceito desde que possua alto grau de ineditismo e originalidade, trazendo resultados novos de importância evidente, atribuindo ao Editor-chefe a continuidade da submissão ou não.

Características dos elementos de um trabalho científico

Título Original

O título “cheio” e o subtítulo (se houver) não devem exceder 18 palavras. Não deverá aparecer nenhuma abreviatura, e os nomes de espécies ou palavras em latim deverão vir em itálico. Evitar (por exemplo) títulos que iniciem com: Estudos preliminares; Observações sobre. Não usar o nome do autor e data de citação em nomes científicos.

Autor(es)/Filiação

Na identificação, deve constar: nome completo e por extenso de todos os autores (sem abreviação). A Filiação Institucional deve informar os nomes próprios de todas as instituições e não suas traduções: Laboratório, Departamento, Faculdade ou Escola, Instituto, Universidade, Cidade, Estado e País, exatamente nessa ordem. No rodapé, deve constar as informações do autor para correspondência: Endereço completo, telefone e e-mail atualizado, nessa ordem.

Referências bibliográficas

As referências bibliográficas só serão admitidas desde que sejam de fácil consulta aos leitores. Não serão aceitas referências de trabalhos publicados



em anais de congressos e as teses devem estar disponíveis para consulta em sites oficiais, por exemplo, Banco de Teses da Capes: <http://www.capes.gov.br/servicos/banco-de-teses>. Todas as citações no texto devem ser cuidadosamente checadas em relação aos nomes dos autores e datas, exatamente como aparecem nas referências.

“Abstract” e Resumo

Devem conter no máximo 200 palavras, em um só parágrafo sem deslocamento. Não devem conter citações bibliográficas. Siglas e abreviações de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso, por exemplo, Indirect Fluorescence Assay (IFA). Devem ser informativos, apresentando o objetivo do trabalho, metodologia sucinta, os resultados mais relevantes e a conclusão. O abstract redigido em língua inglesa e o resumo em língua portuguesa, ambos seguidos por keywords e palavras-chave, respectivamente.

Keywords e Palavras-chave

As palavras-chave devem expressar com precisão o conteúdo do trabalho. São limitadas em no máximo 6 (seis).

Introdução

Explicação clara e objetiva do estudo, da qual devem constar a relevância e objetivos do trabalho, restringindo as citações ao necessário.

Material e Métodos

Descrição concisa, sem omitir o essencial para a compreensão e reprodução do trabalho. Métodos e técnicas já estabelecidos devem ser apenas citados e referenciados. Métodos estatísticos devem ser explicados ao final dessa seção.

Resultados

O conteúdo deve ser informativo e não interpretativo: sempre que necessário devem ser acompanhados de tabelas, figuras ou outras ilustrações autoexplicativas.

Discussão

Deve ser limitada aos resultados obtidos no trabalho e o conteúdo deve ser interpretativo. Poderá ser apresentada como um elemento do texto ou juntamente aos resultados e conclusão. Enfatizar a importância de novos achados e novas hipóteses identificadas claramente com os resultados.

Tabelas

Elaboradas apenas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e no final; e devem ser enviadas em formato editável (desejável excel). A legenda (título) é precedida da palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismos arábicos, devendo ser descritivas, concisas e inseridas acima das mesmas. As tabelas devem estar limitadas a um número mínimo necessário. Devem ser digitadas em espaço duplo em arquivos separados.

Figuras

As figuras, tais como: desenho, fotografia, prancha, gráfico, fluxograma e esquema, devem ser enviadas em formato .tif, .gif ou .jpg, com no mínimo de 300 dpi de resolução e numeradas consecutivamente. As legendas devem ser precedidas da palavra Figura, seguida da numeração em algarismo arábico e inseridas abaixo das mesmas. Listar as legendas numeradas com os respectivos símbolos e convenções, em folha separada em espaço duplo. O número de ilustrações deve ser restrito ao mínimo necessário. Fotografias



digitais deverão ser enviadas em arquivos separados, como foram obtidas. Se a escala for dada às figuras, utilizar a escala BAR em todas as ilustrações ao invés de numérica, que pode ser alterada com a redução das figuras.

Conclusões

As conclusões podem estar inseridas na discussão ou em resultados e discussão, conforme a escolha dos autores. Nesse caso, esse item não será necessário.

Agradecimentos

Quando necessário, limitados ao indispensável.

Referências bibliográficas

A lista de referências deverá ser apresentada em ordem alfabética e, posteriormente, ordenadas em ordem cronológica, se necessário. Mais de uma referência do(s) mesmo(s) autor(es) no mesmo ano deve ser identificada pelas letras "a", "b", "c", etc, inseridas após o ano de publicação. Títulos de periódicos devem ser abreviados conforme Index Medicus - <http://www2.bg.am.poznan.pl/czasopisma/medicus.php?lang=eng>.

Livros

Levine JD. *Veterinary protozoology*. Ames: ISU Press; 1985.

Capítulo de livro

Menzies PI. Abortion in sheep: diagnosis and control. In: Youngquist RS, Threlfall WR. *Current therapy in large animal theriogenology*. 2nd ed. Philadelphia: Saunders; 2007. p. 667-680.

Artigo de periódico

Paim F, Souza AP, Bellato V, Sartor AA. Selective control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in fipronil-treated cattle raised on natural pastures in Lages, State of Santa Catarina, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2011; 20(1): 13-16.

Tese e Dissertação

Araujo MM. *Aspectos ecológicos dos helmintos gastrintestinais de caprinos do município de patos, Paraíba - Brasil* [Dissertação]. Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 2002.

Documento eletrônico

Centers for Disease Control and Prevention. *Epi Info* [online]. 2002 [cited 2003 Jan 10]. Available from: <http://www.cdc.gov/epiinfo/ei2002.htm>.

Obs. Nas referências, apresentar os nomes dos seis primeiros autores; para referências com mais de seis autores, apresentar os seis primeiros nomes seguidos da expressão *et al.*

Citações

As citações devem seguir o sistema autor-data:

Um autor: nome do autor e ano de publicação

Levine (1985) ou (LEVINE, 1985)

Dois autores: os nomes dos autores e ano da publicação Paim e Souza (2011) ou (PAIM & SOUZA, 2011)

Três ou mais autores: nome do primeiro autor seguido de "*et al.*" e o ano de publicação Araújo *et al.* (2002) ou (ARAÚJO *et al.*, 2002)

Prova Gráfica

O trabalho diagramado em formato pdf., será enviado por e-mail ao autor correspondente. Alterações no artigo, quando aceitas para publicação, devem ser realizadas nesse estágio, com permissão do editor-chefe. Portanto, o trabalho deve ser cuidadosamente corrigido antes de responder ao editor,



pois inclusões de correções subsequentes (indicação de novo autor, mudança de parágrafos inteiros ou tabelas) não podem ser garantidas.



ANEXO B – Carta de Submissão

30/05/2024, 15:28

ScholarOne Manuscripts

Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária

Home

✎ Author

🔍 Review

Submission Confirmation

Print

Thank you for your submission

Submitted to

Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária

Manuscript ID

RBPV-2024-0115

Title

Hoferellus matosi n. sp. PARASITIZING URINARY BLADDER IN Ageneiosus ucayalensis FROM THE COARACY NUNES HPP, EASTERN AMAZON, BRAZIL

Authors

Souza, Fabio
Vidal, Samuel
Martel, Clemildo
Carvalho, Abthyllane
Nascimento, Lilia Suzane
Videira, Marcela
Hamoy, Igor

Date Submitted

30-May-2024

Author Dashboard

?



ANEXO C – Certificado de Revisão da Língua Inglesa



Editing Certificate

This document certifies that the manuscript listed below has been edited to ensure language and grammar accuracy and is error free in these aspects. The edit was performed by professional editors at Editage, a brand of Cactus Communications. The author's core research ideas were not altered in any way during the editing process. The quality of the edit has been guaranteed, with the assumption that our suggested changes have been accepted and the text has not been further altered without the knowledge of our editors.

MANUSCRIPT TITLE
No title provided.

AUTHORS
Fábio de Abreu e Souza et al.

ISSUED ON
May 21, 2024

JOB CODE
MAVID_11



Prabh Grewal
Senior Vice President - Editage



helping you
get published

Since 2002, Editage has helped over 400,000 authors publish over 1.2 million research papers in scholarly journals across over 1000 disciplines through editorial, translatory, transcription, and publications support services. Editage is a brand of Cactus Communications (cactus.com.br), a science communication and technology company.

GLOBAL :
+1 (833) 975-0061 | requests@editage.com

BRAZIL :
0800 0474773 | conitalu@editage.com



editage.com | editage.co.kr | editage.jp | editage.cn | editage.com.br | editage.com.tw | editage.de