



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA-UFRA
MESTRADO EM SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL NA AMAZÔNIA

ELOIZA SARMENTO AMORAS

**ASPECTO MORFOLÓGICO E HISTOPATOLÓGICO DE PARASITOS DA
CLASSE MYXOZOA E FILO APICOMPLEXA EM *Cichla monoculus* (Spix & Agassis,
1831) ORIUNDOS DO MUNICÍPIO DE PRACUÚBA- AMAPÁ, BRASIL**

MACAPÁ, AP

2024

ELOIZA SARMENTO AMORAS

**ASPECTO MORFOLÓGICO E HISTOPATOLÓGICO DE PARASITOS DA
CLASSE MYXOZOA E FILO APICOMPLEXA EM *Cichla monoculus* (Spix & Agassis,
1831) ORIUNDOS DO MUNICÍPIO DE PRACUÚBA- AMAPÁ, BRASIL**

Dissertação apresentada ao curso de mestrado do programa de Pós-graduação em Saúde e Produção Animal da Amazônia da Universidade Federal Rural da Amazônia, como requisito para a obtenção do Título de Mestre.

Área de Concentração: Saúde e Meio ambiente.

Orientador: Profa. Dra. Michele Velasco Oliveira da Silva.

Coorientador(a): Prof. Dr. José Ledamir Sindeaux Neto.

MACAPÁ, AP

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Bibliotecas da Universidade Federal Rural da Amazônia
Gerada automaticamente mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- A524a Amoras, Eloiza Sarmiento
Aspecto morfológico e histopatológico de parasitos da classe Myxozoa e filo Apicomplexa em *Cichla monoculus* (Spix & Agassiz, 1831) oriundos do Município de Pracuúba-Amapá, Brasil / Eloiza Sarmiento Amoras. - 2024.
85 f. : il. color.
- Dissertação (Mestrado) - Programa de PÓS-GRADUAÇÃO em Ciências Biológicas (CB), Campus Universitário de Belém, Universidade Federal Rural Da Amazônia, Belém, 2024.
Orientador: Profa. Dra. Michele Velasco Oliveira da Silva.
Coorientador: Profa. Dra. José Ledamir Sindeaux Neto.
1. Parasitos. 2. Myxozoa. 3. Apicomplexa. 4. Peixes. 5. *Cichla monoculus*. I. Velasco Oliveira da Silva., Michele. *orient.* II. Título
-

CDD 636.089696

ELOIZA SARMENTO AMORAS

**ASPECTO MORFOLÓGICO E HISTOPATOLÓGICO DE PARASITOS DA CLASSE
MYXOZOA E FILO APICOMPLEXA EM *Cichla monoculus* (Spix & Agassis, 1831)
ORIUNDOS DO MUNICÍPIO DE PRACUÚBA- AMAPÁ, BRASIL**

Dissertação apresentada ao curso de mestrado do programa de Pós-graduação em Saúde e Produção Animal da Amazônia da Universidade Federal Rural da Amazônia, como requisito para a obtenção do Título de Mestre.

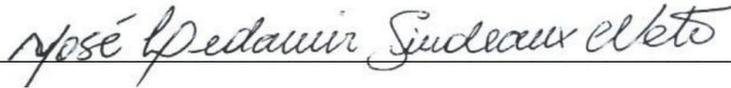
Data da Aprovação: 17\06\2024

BANCA EXAMINADORA:

Documento assinado digitalmente
 MICHELE VELASCO OLIVEIRA DA SILVA
Data: 15/07/2024 10:39:50-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. ^a. Dr.^a Michele Velasco Oliveira da Silva (Orientadora)

Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA



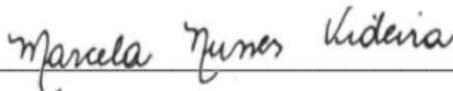
Prof. ^a. Dr. ^a José Ledamir Sindeaux Neto (Coorientador)

Universidade Federal Rural da Amazônia –UFRA



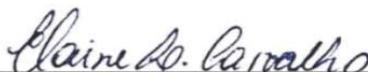
Prof. ^a. Dr. ^a Marcelo Francisco da Silva – 1º Examinador

Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão-UEMASUL



Prof. ^a. Dr. ^a Marcela Nunes Videira – 2º. Examinadora

Universidade Estadual do Amapá-UEAP



Prof. ^a. Dr. ^a Elaine Lopes de Carvalho – 3º Examinadora

Universidade Federal Rural da Amazônia- UFRA

Dedico a Deus, autor de toda criação. E em especial aos meu pais Aluizio Amoras e Eronilda Amoras, meus exemplos de fé e perseverança.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu criador, salvador, autor da minha vida e meu guia desta jornada: Jesus Cristo. Ele tem sido minha luz, força e porto seguro para superar todos os desafios e momentos árduos da caminhada, mas sempre permaneceu fiel e verdadeiro em suas promessas.

A minha família, em especial aos meus pais, Aluizio de Sousa Amoras e Eronilda Brito Sarmiento Amoras que me acompanharam na coleta de campo e sempre me incentivaram a correr atrás dos meus sonhos. Dando-me encorajamento e sendo um grande exemplo de força.

Ao, meu pastor Gerson Nazareno e a todos meus amados irmãos da fé que me ajudaram com suas orações ao longo de toda jornada até aqui.

Aos meus tios Sidnei Amoras e Patricia Amoras pela empatia e prestatividade demonstrados nos momentos que mais precisei.

Ao prof. Anderson Pena, que me direcionou ir em busca de conhecimentos científicos dentro da área animal durante meu trabalho de conclusão de curso na graduação e por ter me despertado o interesse em tentar ingressar no mestrado após minha formação acadêmica.

A minha orientadora, Dr. Michele Velasco, e coorientador, Dr. José Ledamir Sindeaux Neto, pela oportunidade que me proporcionaram em vivenciar e aprender a rotina do laboratório onde são realizados os estudos referentes à parasitologia de organismos aquáticos na Universidade Federal Rural da Amazônia, campus Belém-PA. A experiência foi de grande importância para construção e aquisição de novos conhecimentos para elaboração deste projeto.

Aos doutorandos do grupo de pesquisa: Marcia Soares, Camilla, e Jhonata Eduard por todas as contribuições, bom convívio e prestatividade demonstrados durante a realização das atividades no laboratório.

E a toda equipe GPSA, pela receptividade.

Aos meus queridos amigos: Vanessa Fernandes, Marciano e suas filhas Laura e Daniele, que foram minha segunda família durante todo o período que passei em Belém. Pela excelente hospitalidade, cuidado e carinho.

A toda a minha turma do mestrado por todos os momentos compartilhados em sala de aula e em especial a Nayana Sena, Maria Angélica, Saturo, Andréia, Cláudia e Elizethe.

A UFRA e ao Projeto Amapá pela oportunidade proporcionada através da formação da primeira turma fora de sede do Mestrado em Saúde e Produção Animal no estado do Amapá. Em especial a querida Lilian Vergara pela dedicação, empatia e carinho sempre demonstrados por todos os alunos integrantes desta turma.

“Ora, a fé é o firme fundamento das coisas que se esperam, e a prova das coisas que se não vêem”. (Hebreus 11: 1)

RESUMO

A Amazônia brasileira é privilegiada por possuir a maior bacia de água doce do mundo constituída por uma diversidade de espécies de peixes. O estado do Amapá possui cinco setores para atividades pesqueiras na região: a planície marítima no litoral norte, área urbana e portuária localizado em Macapá e Santana, região do alto estuário que começa na foz do Rio Matapi até a fronteira com o estado do Pará e a região dos lagos onde fica localizado o município de Pracuúba. O Tucunaré (*Cichla* sp.) é um peixe amazônico de importância comercial, sendo a *Cichla monoculus* uma espécie de ampla distribuição geográfica muito consumida pela população ribeirinha. Os peixes são animais vulneráveis a diferentes parasitos, dentre eles mixozoários e coccídeos do filo Apicomplexa. Este trabalho tem por objetivo investigar microparasitos eucariotos da Classe Myxozoa e Filo Apicomplexa em *Cichla monoculus* oriundos do Município de Pracuúba-Amapá, Brasil. Esta pesquisa resultou em dois artigos científicos: o 1º artigo sobre os aspectos morfológicos e a infecção por mixozoários em *Cichla monoculus* e o 2º sobre a morfologia e as alterações histopatológicas causada pelo parasito Apicomplexa do gênero *Calyptospora* infectando o fígado de *Cichla monoculus*.

Palavras-chave: peixes; parasitismo; morfologia; mixozoários; coccídeos.

ABSTRACT

The Brazilian Amazon is privileged to have the largest freshwater basin in the world with a diversity of fish species. The state of Amapá has five sectors for fishing activities in the region: the maritime plain on the north coast, the urban and port area located in Macapá and Santana, the upper estuary region that begins at the mouth of the Matapi River up to the border with the state of Pará and the lakes region where the municipality of Pracuúba is located. The Tucunaré (*Cichla* sp.) is a commercially important Amazonian fish, and the *Cichla monoculus* is a species with a wide geographical distribution that is widely consumed by the riverside population. Fish are vulnerable to different parasites, including myxozoans and coccids from the Apicomplexa phylum. The aim of this study was to investigate eukaryotic microparasites of the Class Myxozoa and Phylum Apicomplexa in *Cichla monoculus* from the municipality of Pracuúba-Amapá, Brazil. This research resulted in two scientific articles: the first on the morphology and histopathological changes caused by the Apicomplexa parasite of the genus *Calyptospora* infecting the liver of *Cichla monoculus* and the second on the morphological aspects and infection by myxozoans in *Cichla monoculus*.

Keywords: fish, parasitism, morphology, myxozoans, coccids

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Marcadores morfológicos distintos para distinguir subgrupos de <i>Cichla</i> spp.....	20
Figura 2- imagens das 15 espécies de <i>Cichla</i> spp.	21
Figura 3 -Exemplar de <i>Cichla monoculus</i> oriundo do Município de Pracuúba, estado do Amapá, Brasil.....	22
Figura 4-Distribuição geográfica de espécies do gênero <i>Cichla</i>	23
Figura 5-Representantes de gêneros de principais morfotipos de mixosporos. (a) <i>Myxobolus</i> , (b) <i>Henneguya</i> , (c) <i>Ceratomyxa</i> , (d) <i>Myxidium</i> , (e) <i>Thelohanellus</i> , (f) <i>Kudoa</i> (quatro valvas), (g) <i>Kudoa</i> (seis valvas), (h) <i>Chloromyxum</i> , (i) <i>Sphaerospora</i> , (j) <i>Sphaeromy</i> (k) <i>Zschokkella</i>	25
Figura 6– (a) peixe, (b) esporo eliminado pelo peixe. (c) Oligoqueta contaminado, (d) actinosporo eliminado pelo oligoqueta.....	27
Figura 7– (A) Região apical do actinosporo na superfície do hospedeiro do peixe, (B) Descarga de filamento polar após estímulo mecânico de contato. (C) Adução (seta) do ápice do actinosporo para contato próximo com a superfície do hospedeiro (D) Abertura das válvulas (seta). (E) Liberação do ‘endósporo’ anexado. (F) Emergência ativa do esporoplasma. (G) Esporoplasma totalmente emergido deixando a bainha do ‘endósporo’ na superfície do hospedeiro. (H) Penetração do esporoplasma no tegumento do hospedeiro e movimentação para camadas mais profundas.....	27
Figura 8– Desenho esquemático de esporos de <i>Henneguya guanduensis</i> n. sp.; A) cápsulas polares, B) filamentos polares, C) esporoplasma, D) núcleo e E) cauda (= 10 µm)	29
Figura 9– Desenho esquemático de <i>Ellipsomyxa amazonenses</i> n.sp. encontrado parasitando <i>Brachyplatystoma rousseauxii</i> . SL= comprimento dos esporos; SW= largura do esporo. Barras= 5 µm).....	30
Figura 10 – Invasão do esporozoítio em uma célula hospedeira. (a) contato primário do esporozoítio sem orientação; (b) fixação seguida de reorientação apical; (c) indução do parasitóforo vacúolo; (d) translocação do esporozoítio para vacúolo	32

SUMÁRIO

1 CONTEXTUALIZAÇÃO	13
2 INFECÇÃO POR MIXOZOÁRIOS EM PEIXE AMAZÔNICO DA ESPÉCIE <i>Cichla monoculus</i> (SPIX & AGASSIS, 1831) ORIUNDO DO MUNICÍPIO DE PRACUÚBA-AMAPÁ, BRASIL.	15
RESUMO	15
ABSTRACT	16
2.1 Introdução	17
2.2 Referencial teórico	19
2.3 Material e métodos	36
2.3.1 Coleta e análise de espécimes.....	36
2.3.2 Índice de prevalência do parasitismo	36
2.3.3 Análise Morfométrica.....	36
2.3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	37
2.4 Resultados	37
2.5.1 Microscopia eletrônica de luz e ultraestrutura.....	37
2.5.2 Análise morfológica	39
2.5 Discussão	42
2.6 Conclusão	43
REFERÊNCIAS	44
3 MORPHOLOGICAL AND HISTOPATHOLOGICAL DESCRIPTION OF <i>Calyptospora</i> sp. PARASITISM IN <i>Cichla monoculus</i> FROM THE LAKE REGION OF PRACUÚBA-AMAPÁ, BRAZIL	47
RESUMO	47
ABSTRACT	48
3.1 Introduction	48
3.2 Material and methods	49
3.3 Results and discussion	50

REFERENCES	52
4 CONCLUSÕES GERAIS	58
REFERÊNCIAS GERAIS	59

1 CONTEXTUALIZAÇÃO

A Amazônia brasileira possui a maior bacia de água doce do mundo e uma riquíssima biodiversidade com uma vasta variedade de espécies de peixes. (Santos; Santos, 2005). Devido a isso, o litoral amazônico possui uma vocação natural para atividades de pesca, sendo considerada uma de suas principais atividades econômicas (Silva; Dias, 2010).

No estado do Amapá, geograficamente existem cinco regiões para as atividades pesqueiras: a planície marítima no litoral norte, área urbana e portuária localizado em Macapá e Santana, região do alto estuário que começa na foz do Rio Matapi até a fronteira com o estado do Pará e a região dos lagos onde fica localizado o município de Pracuúba. Esta região é banhada por rios e igarapés, possuindo uma bacia com enorme diversidade, a qual tem atraído a atenção de muitos pescadores, sendo comum neste lugar a atividade pesqueira artesanal como fonte de renda e subsistência (Silva; Dias, 2010; Souza, 2012; Zacardi *et al.*, 2021).

Dentre os peixes de maior interesse dos pescadores, está o Tucunaré (*Cichla* sp) como é popularmente conhecido, o mesmo pertence à família *Cichlidae*, gênero *Cichla* e ordem *Cichliformes*. A espécie *Cichla monoculus* Spix & Agassiz é bastante consumida pela população ribeirinha e apresenta grande distribuição geográfica comparada com as outras espécies do mesmo gênero, é considerado um peixe de grande valor comercial, e muito consumido pela população do Município de Pracuúba, sendo uns dos exemplares que estar entre os mais procurados para aquisição (Zacardi *et al.*, 2021).

Para realização da diferenciação das espécies de *Cichla* spp. é observado os padrões de coloração e formato das suas linhas laterais (Hoeinghaus *et al.*, 2003; Santos *et al.*, 2006; Kullander; Ferreira, 2006).

Os peixes de maneira geral, são sensíveis às interferências antrópicas que por sua vez, podem causar alterações físico-químicas na água, esse fenômeno pode levar a um desequilíbrio no ambiente aquático deixando-os mais suscetíveis à invasão de diferentes parasitos (Farias *et al.*, 2021). Dentre os microparasitos descritos em peixes da Amazônia podemos citar os mixozoários do filo Cnidária e os coccídios do filo Apicomplexa.

Os mixozoários são parasitos de ambientes aquáticos marinhos e de água doce, parasitam animais invertebrados (anelídeos e briozoários) e vertebrados, que em sua grande maioria são peixes (Bermejo; Holzer, 2021). Os principais órgãos infectados podem ser escamas, músculo esquelético, nadadeiras, brânquias, vesícula biliar, fígado, bexiga urinária, dentre outros órgãos vitais. São responsáveis por acarretar 20% da mortalidade em aquicultura,

podendo desta forma trazer sérios prejuízos econômicos (Lom; Dyková, 2006; Bermejo; Holzer, 2021).

Outro grupo que também pode estar presente em peixes são os parasitos do filo Apicomplexa, sendo os coccídios *Eimeria* sp., *Goussia* sp., *Calyptospora* sp., e algumas espécies *Cryptosporidium*, os principais gêneros encontrados (Acosta *et al.*, 2016). Apesar da maioria dos agentes apresentarem baixa patogenicidade, alguns podem ocasionar lesões hepáticas em peixes e grandes taxas de mortalidade e morbidade em situações de cultivo intensivo ou quando há inclusão de novos hospedeiros em áreas não endêmicas. (Velasco *et al.*, 2012; Votýpka *et al.*, 2016).

Sabe-se que a infestação por microparasitos pode ser prejudicial à saúde de seu hospedeiro, podendo afetar a taxa de crescimento dos espécimes e deixá-los suscetíveis a doenças e infecções, tanto em condições de cativeiro, como também em seu habitat natural, isto pode afetar negativamente a aquicultura e cultura da pesca de subsistência (Correa, 2009; Silva Júnior, 2014; Machadotomé *et al.*, 2015; Bermejo; Holzer, 2021). Além de patogênicos aos animais, esses parasitos podem provocar zoonoses em humanos, principalmente em países onde é comum o hábito de consumo de peixes crus (Eiras *et al.*, 2016).

Portanto, o trabalho teve por objetivo investigar microparasitos da classe Myxozoa e filo Apicomplexa em *Cichla monoculus* oriundos do Município de Pracuúba-Amapá, Brasil, com intuito de descrever as características morfológicas dos parasitos encontrados e analisar alterações histológicas em tecidos dos órgãos parasitados. Sabe-se que os microparasitos investigados no presente estudo são causadores de doenças em peixes de importância comercial (Texeira *et al.*, 2018; Maciel *et al.*, 2011; Velasco *et al.*, 2012). No entanto, não há descrições em peixes da espécie *Cichla monoculus* provenientes do Município de Pracuúba-Amapá, onde direcionaremos o foco deste trabalho

2 INFECÇÃO POR MIXOZOÁRIOS EM PEIXE AMAZÔNICO DA ESPÉCIE *Cichla monoculus* (SPIX & AGASSIS, 1831) ORIUNDO DO MUNICÍPIO DE PRACUÚBA-AMAPÁ, BRASIL.

Eloiza Sarmiento Amoras¹; Jhonata Eduard Farias de Oliveira²; Nayana Moraes de Sena³; José Ledamir Sindeaux-Neto⁴; Marcela Nunes Videira⁵; Michele Velasco Oliveira da Silva⁶

¹Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, Pará, Brasil. ²Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brasil. ³Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, Pará, Brasil. ⁴Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, Pará, Brasil. ⁵ Universidade Estadual do Amapá, Macapá, Amapá, Brasil. ⁶ Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, Pará, Brasil. *Michele Velasco. E-mail: michele.velasco@ufra.edu.br

RESUMO

Os peixes são animais aquáticos susceptíveis à invasão de diferentes parasitas. Isso porque o ambiente em que vivem facilita a reprodução e o ciclo de vida desses agentes, o que pode comprometer a saúde do animal e, conseqüentemente, a qualidade do pescado. Entre esses parasitas estão os mixozoários, que são endoparasitas microscópicos que têm sido descritos por pesquisadores em diferentes espécies de peixes. Este estudo relata a infecção por mixozoários do gênero *Henneguya* sp. e *Ellipsomyxa* sp. em peixes amazônicos da espécie *Cichla monoculus*, provenientes do município de Pracuúba-Amapá, Brasil. Durante os meses de maio e julho de 2023, um total de 9 espécimes foram adquiridos mortos de pescadores artesanais e transportados para o Laboratório de Interação Morfológico-Molecular e Tecnologias (LIM 2T) da Universidade Federal Rural da Amazônia em Belém-Pará, onde foram examinados com auxílio de um estereomicroscópio em busca de cistos ou lesões teciduais na superfície corporal e órgãos internos, e a infecção foi confirmada em microscópio de luz (ML). Em seguida, lâminas contendo esporos de *Ellipsomyxa* sp. foram coradas a fresco em Giemsa e fragmentos de brânquias contendo cistos de *Henneguya* sp. foram processados para visualização em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A prevalência de parasitismo foi de 33% para ambos os gêneros. Na região branquial foram detectados mixosporos de *Henneguya* sp. com tamanho total de 27,4 µm, comprimento do corpo (12,4 µm) e largura (3,9 µm), comprimento da cauda (14,5 µm), comprimento da cápsula polar (3,1 µm) e largura (1,5 µm). A vesícula biliar apresentou esporos de *Ellipsomyxa* sp. com comprimento médio de 11,8 µm e largura de 6,7 µm. A cápsula polar tinha 2,4 µm de comprimento e 2,2 µm de largura. Este é o primeiro

registro de infecção por mixozoários na espécie *Cichla monoculus*, do município de Pracuúba, Amapá, Brasil.

Palavras chaves: Parasitos; Myxozoários; *Henneguya* sp.; *Ellipsomyxa* sp.; Pracuúba, Amapá.

ABSTRACT

Fish are aquatic animals susceptible to invasion by different parasites. This is because the environment in which they live facilitates the reproduction and life cycle of these agents, which can compromise the animal's health and consequently the quality of the fish. Among these parasites are myxozoans, which are microscopic endoparasites that have been described by researchers in different fish species. This study reports the infection by myxozoans of the genus *Henneguya* sp. and *Ellipsomyxa* sp. in Amazonian fish of the species *Cichla monoculus*, from the municipality of Pracuúba-Amapá, Brazil. During the months of May and July 2023, a total of 9 specimens were acquired dead from artisanal fishermen and transported to the Laboratory of Morphological-Molecular Interaction and Technologies (LIM 2T) at the Federal Rural University of Amazonia in Belém-Pará, where they were examined using a stereomicroscope in search of cysts or tissue lesions on the body surface and internal organs, and the infection was confirmed under a light microscope (ML). Afterwards, slides containing *Ellipsomyxa* sp. spores were stained fresh in Giemsa and gill fragments containing *Henneguya* sp. cysts were processed for visualization in Scanning Electron Microscopy (SEM). The prevalence of parasitism was 33% for both genera. *Henneguya* sp. myxospores with a total size of 27.4 μm , body length (12.4 μm) and width (3.9 μm), tail length (14.5 μm), polar capsule length (3.1 μm) and width (1.5 μm) were detected in the gill region. The gallbladder had spores of *Ellipsomyxa* sp. with an average length of 11.8 μm and a width of 6.7 μm . The polar capsule was 2.4 μm long and 2.2 μm wide. This is the first record of myxozoan infection in the species *Cichla monoculus*, from the municipality of Pracuúba, Amapá, Brazil.

Keywords: Parasites; Myxozoans; *Henneguya* sp.; *Ellipsomyxa* sp.; Pracuúba, Amapá.

2.1 Introdução

Os mixozoários são endoparasitas microscópicos obrigatórios do filo cnidária. Dentro desta classe atualmente existem 2.200 espécies descritas em 17 famílias e 64 gêneros. Apresentam um ciclo de vida complexo com o envolvimento de dois hospedeiros: vertebrados e invertebrados. Os hospedeiros invertebrados podem ser anelídeos e brizoários e os hospedeiros vertebrados em sua grande maioria estão os peixes, mas pode também ser encontrados em anfíbios, répteis, moluscos e trematódeos. Morfologicamente, apresentam diversas formas e tamanhos, podendo ser encontrados na forma de cistos ou plasmódios parasitando vários órgãos e tecidos dos animais (Fiala *et al.*,2015; Lom & Diková, 2002; Eiras, 1994; Békési, Székely, Molnár, 2002; Feist & Longshaw, 2006).

A infecção por mixozoários pode ser responsável por grandes prejuízos econômicos na pesca e aquicultura, podendo em alguns casos ocasionar alta patogenicidade para os peixes quando estes apresentam baixos níveis ou ausência de determinados fatores inatos e regulatórios no sistema imunológico. Sabe-se que o controle da doença é um grande desafio, pois atualmente não existe vacinas comercializadas ou tratamentos específicos, mas apenas métodos de manejo e preventivos (Holzer *et al.*,2021).

O gênero *Henneguya* Thélohan, 1892, inclui um grande número de mixozoários que infectam peixes marinhos e nativos de água doce. Conforme estudos várias são as descrições em peixes da região amazônica, sendo que as infecções são diagnosticadas principalmente nas brânquias, tornando-se uma ameaça a saúde do hospedeiro, pois sua ocorrência pode levar a degradação dos filamentos e possivelmente insuficiência respiratória. Seus esporos são caracterizados por conter duas cápsulas polares com filamentos polares interiormente, esporoplasma e dois prolongamentos caudais (Matos *et al.*,1999; Lom & Dyková, 1992; Matos *et al.*,2001; Abdallah *et al.*, 2007).

O gênero *Ellipsomyxa* KØIE, 2003 pertencem a família Ceratomyxidae e ordem Bivalvulida, é considerada um pequeno grupo constituído por algumas espécies que foram descritas parasitando principalmente a vesícula biliar de peixes (Fiala *et al.*, 2015; Zatti *et al.*,2020; Silva *et al.*,2018; Ferreira *et al.*,2021). O parasito possui mixósporos com forma elipsoide que contém duas cápsulas polares em extremos opostos e dentro desta estrutura a presença de filamentos polares (Silva *et al.*,2018).

O *cichla monoculus* é um peixe amazônico do gênero *cichla* e são considerados nativos da bacia amazônica, conhecidos popularmente como tucunarés no Brasil, “ samapi” na Bolívia, “lukanani” na Guiana Francesa, “ pavón” na Venezuela e “toekoenali” no

Suriname. Os exemplares são utilizados em práticas esportivas, possuem relevante valor comercial e comumente estar presente no consumo da população ribeirinha (Kullander, 2003; Lima *et al.*, 2021; Zacardi *et al.*, 2021). Este artigo relata a infecção por mixozoários do gênero *Henneguya* sp. e *Ellipsomyxa* sp. por meio da descrição morfológica dos esporos encontrados em peixes da espécie *Cichla monoculus* capturados no lago Sacaizal, Município de Pracuúba no estado do Amapá, Brasil.

2.2 Referencial teórico

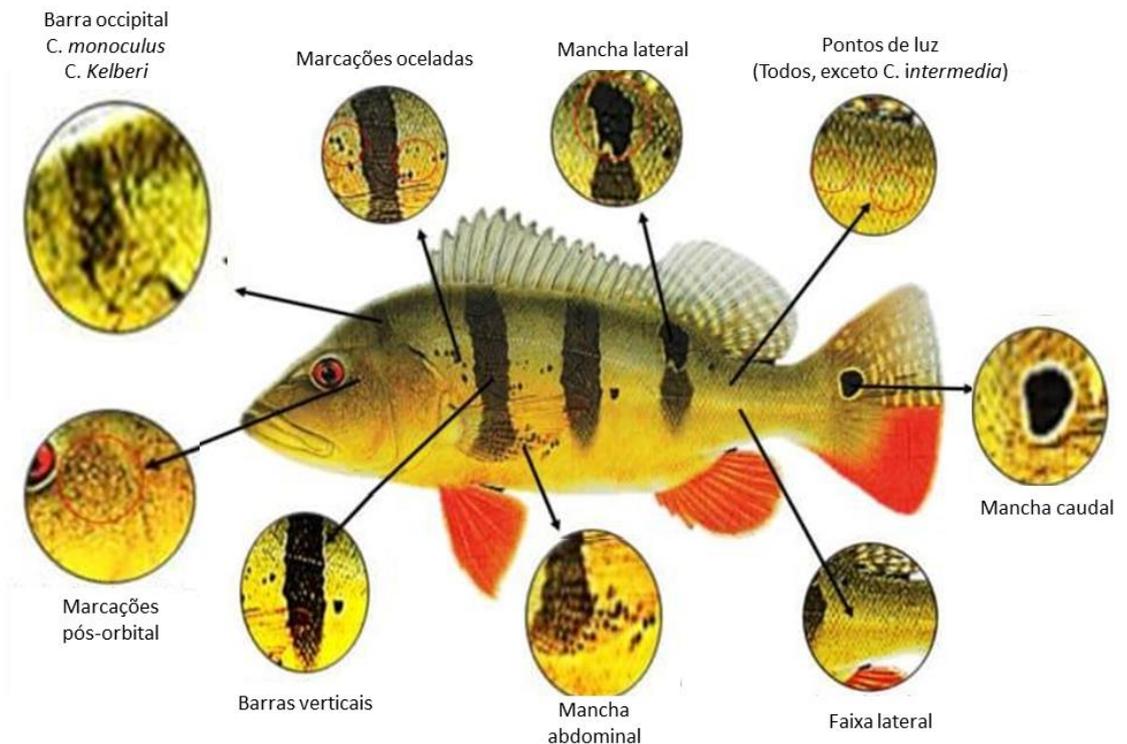
Caracterização do Hospedeiro - Família Cichlidae, 1940 e gênero *Cichla* Block & Schneider, 1801

A família Cichlidae Bonaparte, 1940, pertence à ordem Cichliformes, sendo constituída por uma ampla variedade de peixes com 202 gêneros reconhecidos e aproximadamente 3.000 espécies descritas. Esta é considerada uma das principais famílias de vertebrados e grande parte dos exemplares encontram-se espalhados nas Américas Central e do Sul, incluindo países como Índia, Israel, Síria, Madagascar, Sri Lanka e África (Kullander, 1998; Kocher, 2004; Nelson *et al.*, 2016).

Os peixes desta família são caracterizados como organismos aquáticos avançados no aspecto evolutivo. No entanto, suas histórias evolutivas e modo de comportamento são considerados bem complexos. A maioria das suas espécies apresentam o comportamento de “pairar” e nadar lentamente no ambiente e quando percebem a presença de alimento petiscam (Fink; Fink, 1978)

As espécies do gênero *Cichla* são conhecidos popularmente como tucunarés no Brasil, “pavón” na Venezuela, “samapi” na Bolívia, “toekoenali” no Suriname e “lukanani” na Guiana Francesa (Kullander, 2003). São peixes nativos da Bacia Amazônica e foram introduzidos em diferentes lagos e lagoas da região brasileira. Morfologicamente são caracterizados por apresentarem linhas pretas verticais laterais ao corpo e um ocelo no pedúnculo caudal (Kullander; Ferreira, 2006). Segundo a literatura podem apresentar três barras pretas na posição vertical, com exceção nas espécies *C. pleiozona* e *C. piquiti* que possuem quatro e cinco barras, respectivamente. O marcador geral de todas as espécies do gênero é o anel dourado circundado em preto (Figura 1) (Sastraprawira *et al.*, 2020).

Figura 1 - Marcadores morfológicos distintos para distinguir subgrupos de *Cichla* spp.



Fonte: Adaptado de Sastraprawira *et al.* (2020)

Apresentam uma dieta que pode sofrer mudanças conforme a faixa etária, os exemplares jovens alimentam-se preferencialmente de insetos aquáticos, enquanto adultos são precisamente piscívoros (Neto *et al.*, 2017). Outro aspecto importante é que não apresentam época de reprodução definida. Apesar disso, podem durante os períodos quentes se reproduzirem mais e realizarem a desova de forma parcelada, ou seja, liberam apenas parte dos seus ovos. Além disso, possuem a habilidade de construir seus ninhos e proteger sua prole que são traços característicos de cuidados parentais. Esse Ciclídeo requer de 11 a 12 meses para amadurecer (Andrade *et al.*, 2001; Brinn *et al.*, 2005; Sastraprawira *et al.*, 2020).

Os tucunarés (*Cichla* spp) são conhecidos por possuir uma carne de qualidade com sabor atrativo e são utilizados como exemplares em práticas de pesca esportiva, aspectos os quais justificam sua considerável importância de um ponto de vista comercial (Lima *et al.*, 2021). Além disso, o gênero está entre os mais procurados por pescadores do Município de Pracuúba –AP, também incluído como uma das opções proteicas consumidas pela população ribeirinha (Zacardi *et al.*, 2021).

Kullander e Ferreira (2006) construíram uma revisão do gênero com informações sobre as características morfológicas de 15 espécies (Figura 2), as quais são encontradas distribuídas em bacias dos rios Amazonas, Tocantins, Oniroco e riachos pequenos que passam pela Guiana

Francesa. Podendo também ser encontradas em bacias dos rios Paraná-Paraguai, Paraíba do Sul e Pragua u no Brasil.

Figura 2- imagens das 15 espécies de *Cichla* spp.



Fonte: Willis *et al.* (2012).

Apesar de Kullander e Ferreira (2006) descrever 15 espécies, um estudo realizado por Willis *et al.* (2012) ao investigar o perfil genético de espécies de tucunarés concluiu que existe apenas 8 espécies ao invés de 15 e que a espécie *Cichla temenses* está incluída em um clado com *C.monoculus*.

O gênero *Cichla* spp. tem se tornado uma preocupa o emergente devida seu comportamento predatório e pode servir como meio para introduzir microrganismos patog nicos em novos ambientes aquáticos. Como exemplo temos os parasitos, que precisam apenas de um hospedeiro intermediário para se reproduzir ou continuar o seu ciclo de vida. (Sastraprawira *et al.*, 2020)

Cichla monoculus (Spix & Agassiz, 1831)

A espécie *Cichla monoculus* possui uma vasta distribuição geográfica que inclui a bacia amazônica e países como Brasil e Peru. Esta espécie por um longo tempo acabou sendo nomeada, equivocadamente, como *Cichla ocellaris*. Contudo, acredita-se que grande parte das informações existentes na Amazônia Central sobre *C. ocellaris* seria na verdade referente a espécie *C. monoculus* (Santos *et al.*, 2006; Kullander; Ferreira, 2006)

Morfologicamente a espécie é caracterizada por possuir a presença de uma mancha horizontal localizado na altura da base nadadeira peitoral e uma linha lateral incontinua em seus dois lados (Figura 3), geralmente os padrões de coloração e os tipos de linhas laterais são algumas das características observadas para a diferenciação das espécies (Kullander; Ferreira, 2006).

Figura 3 -Exemplar de *Cichla monoculus* oriundo do Município de Pracuúba, estado do Amapá, Brasil.



Fonte: Amoras (2022).

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Classe: Actinopterygii

Ordem: Cichliformes

Família: Cichidae

Subfamília: Cichlinae

Gênero: *Cichla*

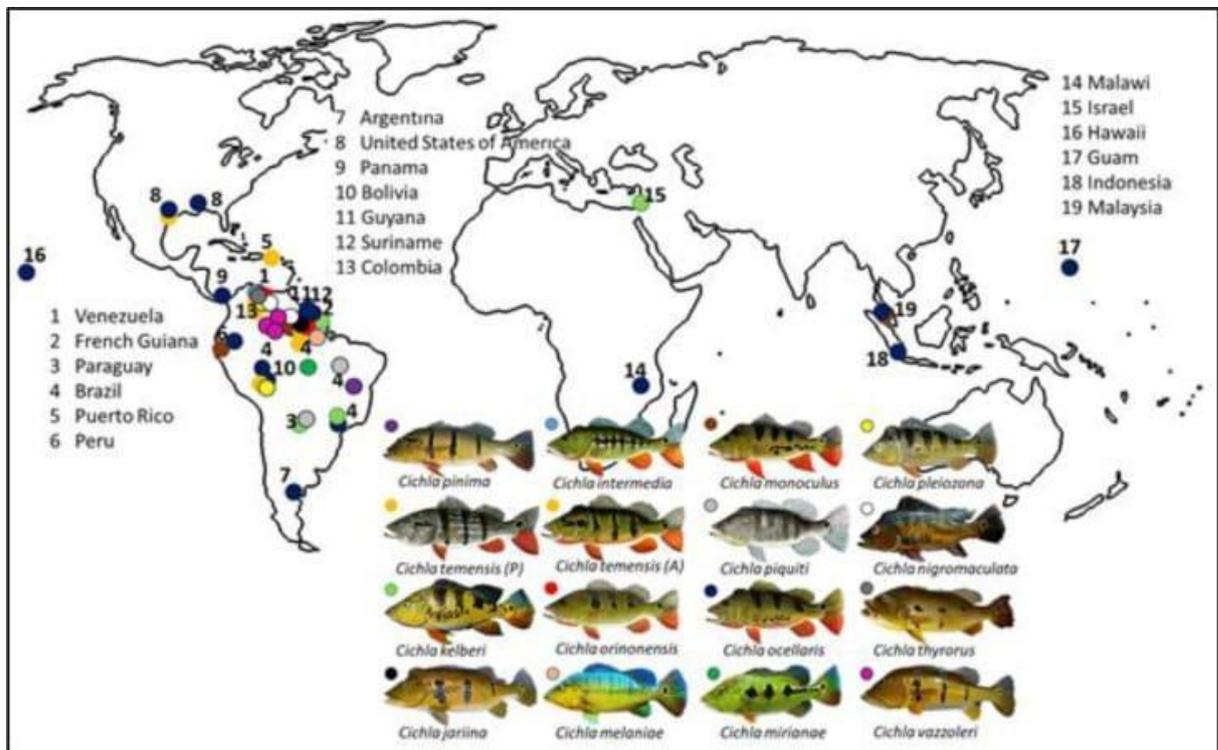
Espécie: *Cichla monoculus* Spix & Agassiz, 1831

Em relação ao comportamento alimentar conforme Rabelo; Araújo-Lima (2002) na Amazônia central sua alimentação é baseada sobretudo pela ingestão de camarões e peixes.

Essa semelhança foi observada também em estudos de Neto *et al.*, (2017) no açude Thomaz Osterne de Alencar, onde foi realizado análise do conteúdo estomacal de peixes da espécie e constatou-se que grande parte da alimentação era constituído pela ingestão de camarão *Macrobrachium* sp, apresentando em segundo lugar uma dieta piscívora.

Cichla monoculus é coletado em diferentes ecótopos, sendo mais comum em ambientes de lagos de várzea. Geograficamente podem estar distribuídos no Brasil e no Peru (Figura 4). No Peru, exemplares adultos foram capturados no decorrer da costa de lagos de várzea de águas brancas e negras (Kullander, 1986).

Figura 4-Distribuição geográfica de espécies do gênero *Cichla*.



Fonte: Sastraprawira *et. al* (2020).

Parasitas em peixes

Os peixes são considerados os hospedeiros vertebrados com a maior variedade parasitária, segundo a literatura isso se dá devido serem os vertebrados mais antigos e por habitarem em um ambiente que facilita o desenvolvimento, reprodução e ciclo de vida desses agentes (Malta, 1984). Em relação ao ciclo de vida pode ocorrer da forma monóxena, quando ocorre em um único hospedeiro e heteróxena, quando necessitam mais de um hospedeiro para completar seu ciclo. (Olsen, 1974).

A ocorrência de parasitas em peixes possui uma distribuição mundial, ocorrendo em todas as espécies em diferentes habitats (Eiras, 1994). Esses agentes podem facilitar o adoecimento do hospedeiro, estando em alguns casos relacionados com a morte indireta do animal (Pavanelli *et al.*, 2008). Os efeitos prejudiciais ao hospedeiro dependerão de fatores como: o tipo de órgão afetado, especificidade do agente etiológico, nível de agressão e intensidade do agente invasor (Eiras, 2004).

A doença infecciosa ocasionada por parasitos surge na busca de um equilíbrio entre o agente e o hospedeiro, ressaltando que dentro da linha de tendência à adaptação existe a probabilidade de ocorrer mudanças no hospedeiro, parasito ou meio ambiente. Nesse sentido é primordial o alcance de um novo ponto estável de equilíbrio. Quando há um equilíbrio entre parasito-hospedeiro, o animal não é grandemente prejudicado (Ferreira, 1973).

Os ictioparasitos podem ser encontrados em sua grande maioria nas vísceras, podendo ser eliminados durante a etapa de limpeza do pescado na indústria, porém existem alguns que se alojam na musculatura, tornando-se um risco ao consumidor, principalmente quando são consumidos mal cozidos ou crus. (Rodríguez, 1998; Ubeira *et al.*, 2000; Lorenzo, 2000).

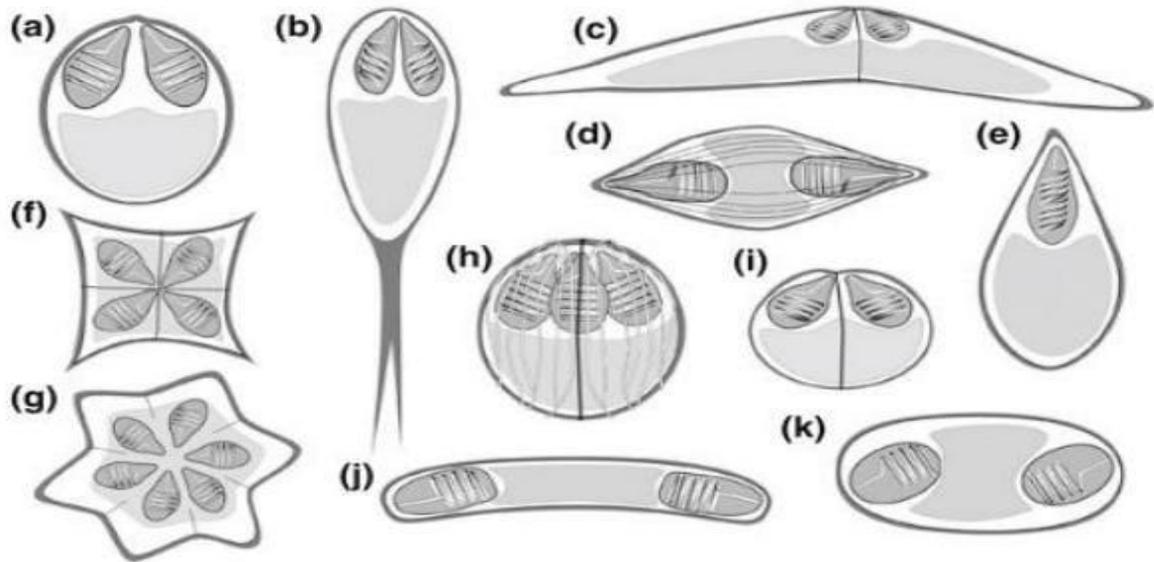
Dentre a diversidade de parasitos em peixes, temos os microparasitos que são organismos microscópicos que vem sendo descrito por pesquisadores em diferentes espécies de peixes, incluindo peixes de importância comercial (Velasco *et al.*, 2012; Matos, 2018; Santiago *et al.*, 2012; Molnár *et al.*, 1991), dentre eles podemos citar os mixozoários da classe Myxozoa e coccídeos do filo Apicomplexa.

Classe Myxozoa grassé, 1970 - Aspectos gerais

Os parasitos da classe Myxozoa são descritos como cnidários microscópicos, endoparasitos obrigatórios altamente especializados e multicelulares. São constituídos por células eucariotas com algumas diferenças, tais como: ausência de centríolos e flagelos. Os hospedeiros desse grupo pode ser animais invertebrados (anelídeos e briozoários) e vertebrados (geralmente peixes) (Kent *et al.*, 2001; Canning, Okamura *et al.*, 2004; Lom, Dyková, 2006).

Os mixozoários podem apresentar diferentes formas e tamanhos (Figura 5) estando distribuídos em ambientes marinhos e de água doce. A grande maioria é considerado patogênico, podem apresentar-se em forma de cistos ou plasmódios, encontrados alojados em diferentes órgãos e tecidos do hospedeiro, como: rim, fígado, intestino, brânquias, pele, gônadas e outros (Lom; Diková, 2002; Eiras, 1994; BékésI *et al.*, 2002; Feist; Longshaw, 2006).

Figura 5-Representantes de gêneros de principais morfotipos de mixosporos. (a) *Myxobolus*, (b) *Henneguya*, (c) *Ceratomyxa*, (d) *Myxidium*, (e) *Thelohanellus*, (f) *Kudoa* (quatro valvas), (g) *Kudoa* (seis valvas), (h) *Chloromyxum*, (i) *Sphaerospora*, (j) *Sphaeromy* (k) *Zschokkella*.



Fonte: Fiala *et. al* (2015).

Este grupo possui cerca de 50 gêneros descritos e são divididos em duas subclasses Myxosporea e Malacosporea. O primeiro possui esporos com valvas rígidas, podendo ser encontrados em anelídeos e peixes e o último contém esporos sem rigidez que podem estar infectando briozoários e peixes também. Outro aspecto importante é que a classe Myxosporea é formada por duas ordens: Bivalvulida, a qual é caracterizado por apresentar esporos com duas valvas e geralmente também duas cápsulas polares e Mulivalvulida formada com mais de duas valvas e cápsulas polares (Neverov *et al.*, 2023; Lom; Diková, 2006)

Os mixozoários têm despertado a atenção de muitos pesquisadores, devido estar relacionado com causa de graves doenças em peixes de cultivo e selvagens. A situação quando recorrente pode gerar impactos econômicos negativos, sendo que a aquicultura é um dos setores que têm avançado no crescimento e abastece parte da produção mundial de alimentos. Acredita-se que a gravidade das doenças causadas por esses organismos em peixes pode estar associada com as mudanças climáticas que resultam no aumento da temperatura da água onde vivem (Okamura *et al.*, 2015).

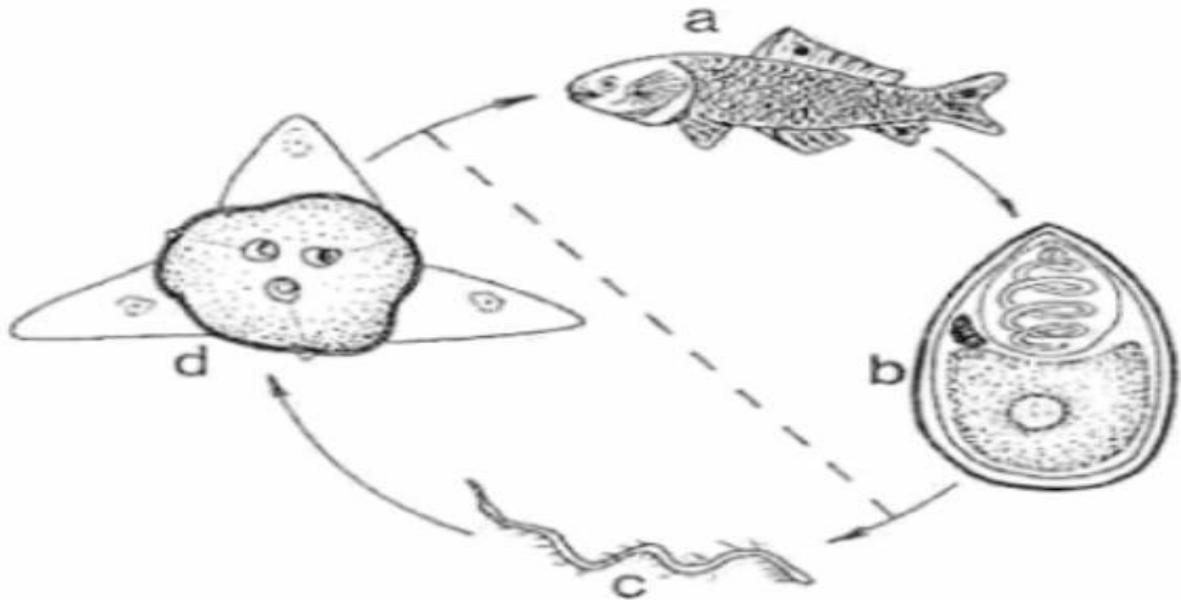
Ciclo de vida

O ciclo de vida ocorre através de dois hospedeiros: invertebrados (anelídeo e briozoários) e vertebrados (maioria peixes). O primeiro é designado como hospedeiro definitivo e o segundo hospedeiro intermediário (Figura 6). Estudos demonstram que os peixes são infectados por meio do contato com esporos denominados actinosporos (Okamura; Gruhl, 2015)

Os actinosporos são liberados na água através das fezes dos hospedeiros invertebrados, quando ocorre o contato desses esporos com o hospedeiro vertebrado, a estrutura do túbulo polar é aderida e prende-se no mesmo. Após a fixação, os actinosporos liberam esporoplasmas que são células amebóides infecciosas (Figura 7). Esporoplasmas penetram no tegumento do hospedeiro e passam por várias divisões celulares, alcançado o tecido alvo da infecção. No peixe infectado é desenvolvido "mixosporos" que são liberados na água por meio de excreções, rompimento de cistos das brânquias e pele ou através da morte do peixe parasitado (Wolf; Warkiw, 1984; Gilbert, Granath, 2003; Bartholomew *et al.*, 2006).

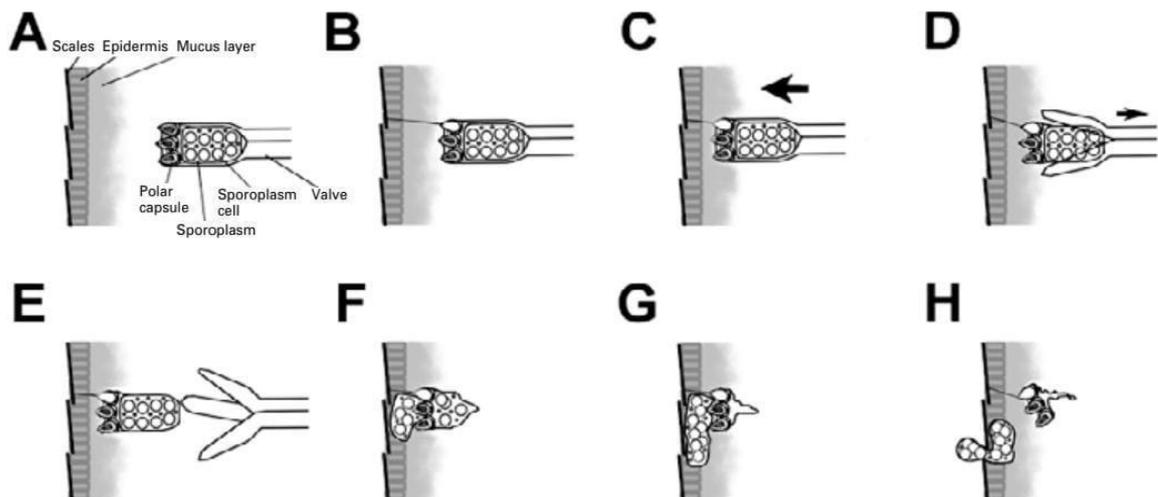
No ambiente aquático esses mixósporos liberados podem entrar em contato com anelídeo, quando isso acontece os túbulos polares do esporo se fixam, as valvas que estão presentes nos mixósporos se abrem e o esporoplasma é liberado, penetrando assim nas células do tecido epitelial intestinal do anelídeo. No local acontece a formação do parasito até a formação dos esporos (actinosporos). Esses esporos quando atingem a fase de maturação são encaminhados para lúmen do intestino e juntamente com as fezes ou por meio da morte do animal contaminam a água. Quando há o contato com hospedeiro suscetível inicia-se novamente o ciclo (Lom; Dyková, 1995; Dyková, 2006).

Figura 6– (a) peixe, (b) esporo eliminado pelo peixe. (c) Oligoqueta contaminado, (d) actinosporo eliminado pelo oligoqueta.



Fonte: Békési *et. al* (2002).

Figura 7– (A) Região apical do actinosporo na superfície do hospedeiro do peixe, (B) Descarga de filamento polar após estímulo mecânico de contato. (C) Adução (seta) do ápice do actinosporo para contato próximo com a superfície do hospedeiro (D) Abertura das válvulas (seta). (E) Liberação do ‘endósporo’ anexado. (F) Emergência ativa do esporoplasma. (G) Esporoplasma totalmente emergido deixando a bainha do ‘endósporo’ na superfície do hospedeiro. (H) Penetração do esporoplasma no tegumento do hospedeiro e movimentação para camadas mais profundas.



Fonte: Kallert *et. al* (2007).

Gênero *Henneguya* Thélohan, 1892

O gênero *Henneguya* sp. possui distribuição mundial e inclui um amplo número de espécies de mixozoários que infectam peixes de ambientes de água doce e marinhos. Estudos descrevem a ocorrência do gênero em peixes Amazônicos, sendo encontrado infectando principalmente a região das brânquias (Matos *et al.*, 1999), tornando-se um grande risco a saúde do hospedeiro, pois a infecção pode causar degradação dos filamentos e consequentemente insuficiência respiratória (Lom; Dyková, 1992).

Conforme Rangel *et al.* (2023) entre 2012 a 2022 já foram descritos um total de 254 espécies neste grupo. Geralmente, as descrições taxonômicas baseiam-se na combinação das seguintes análises: morfologia dos mixósporos, local de infecção tecidual, dados moleculares, especificidade do hospedeiro, habitat e localização geográfica.

Descrição Taxonômica (Jorge *et al.*, 2022):

Filo Cnidaria Verrill, 1865.

Subfilo Endocnidozoa Schuchert, 1996.

Classe Myxozoa Grassé, 1970.

Subclasse Myxosporea Bütschli, 1881.

Ordem Bivalvulida Shulman, 1959.

Família Myxobolidae Thélohan, 1892.

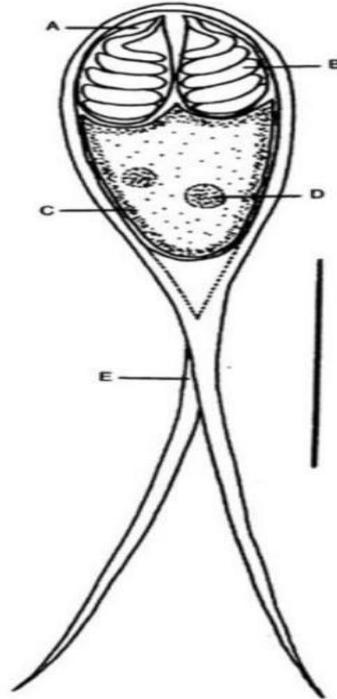
Gênero *Henneguya* Thélohan, 1892

Morfologia

Para classificação taxonômica em nível de gênero é observado as características morfológicas do esporo, sendo essa estrutura formada por inúmeras células que se organizam e formam o esporo (Junior, 2012). Essa estrutura apresenta duas cápsulas polares que contém no interior filamentos polares e um esporoplasma que são células binucleadas, ou seja, apresenta dois núcleos. Além disso, possuem duas caudas por meio do prolongamento das valvas, conforme a figura 8 (Matos *et al.*, 2001; Abdallah *et al.*, 2007).

Em casos de diferenciação das espécies, características como: dimensão das cápsulas polares, contagem de voltas dos tubos polares e outros aspectos são analisadas para descrição em nível de espécie (Matos *et al.*, 2001).

Figura 8– Desenho esquemático de esporos de *Henneguya guanduensis* n. sp.; A) cápsulas polares, B) filamentos polares, C) esporoplasma, D) núcleo e E) cauda (= 10 µm)



Fonte: Abdallah *et. al* (2007)

Estudos de *Henneguya* spp. no Brasil

O gênero apresenta inúmeras descrições em peixes da região brasileira. Em *Cichla monoculus* duas novas espécies de *Henneguya* foram descritas por meio de análises moleculares: *Henneguya tucunarei*, encontrado em filamentos branquiais e *Henneguya jariensis* no tecido mole das nadadeiras. Os mesmos pesquisadores também descreveram outra nova espécie (*Henneguya tapoensis*) nos filamentos branquiais da espécie *Cichla Pinima*. (Zatti *et al.*, 2018). Em *Cichla temensis* parasitos da espécie *Henneguya paraensis* foram encontrados parasitando as brânquias (Velasco *et al.*, 2016). Há descrições também de *Henneguya tapariensis* em *Piaractus Brachypomus* (Capodifiglio *et al.*, 2020). No mesmo ano em espécimes de Acará bicudo (*Satanoperca jurupari*) oriundos do rio Curiaú da cidade de Macapá-AP pesquisadores descobriram uma nova espécie denominada *Henneguya sacacaensis* (Ferreira *et al.*, 2020). Velasco *et al.*, (2015) identificaram infecção no tecido ósseo dos filamentos braquiais do brague amazônico (*Hypophthalmus marginatus*) ocasionado pelo parasito do gênero *Henneguya*. Neste estudo cerca de 80% dos peixes analisados possuíam

cistos de coloração esbranquiçadas e as análises histopatológicas comprovaram a ocorrência de necrose no local da infecção. Diversos outros estudos descrevem o parasitismo por *Henneguya* spp. em peixes no Brasil (Carvalho *et al.*,2020; Azevedo *et al.*, 2011; Adriano *et al.*,2012).

Gênero *Ellipsomyxa* KØIE, 2003

O gênero *Ellipsomyxa* sp. são considerados um pequeno subgrupo de mixozoários que pertencem a classe Myxosporea e Família Ceratomyxa, que podem infectar peixes de água doce e marinhos com sítio de infecção geralmente na vesícula biliar desses animais (Lom; Dykova, 2006; Køie, 2003). A descrição das espécies do gênero ainda são escassas comparadas com os outros grupos de mixozoários, possuindo apenas 15 espécies atualmente descritas (Chandran *et al.*,2020).

Descrição taxonômica (Azevedo *et al.*,2013):

Classe Myxosporea Butschli, 1881

Ordem Bivalvulida Shulman, 1959.

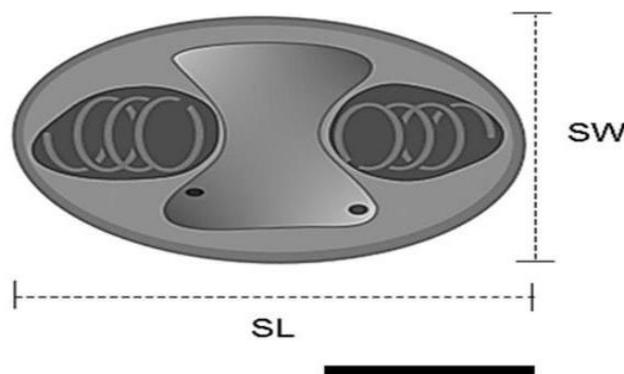
Família Ceratomyxidae Dolflein, 1899

Gênero *Ellipsomyxa* Køie, 2003

Morfologia

Os mixósporos maduros do gênero são considerados bivalvulares, possuindo duas cápsulas polares esféricas idênticas localizadas nas extremidades do esporo com filamentos que descarregam em direção opostas (Chandran *et al.*,2020) conforme a figura 9.

Figura 9– Desenho esquemático de *Ellipsomyxa amazonenses* n.sp. encontrado parasitando *Brachyplatystoma rousseauxii*. SL= comprimento dos esporos; SW= largura do esporo. Barras= 5 μ m)



Fonte: Zatti *et. al* (2018)

Estudos de *Ellipsomyxa* spp. no Brasil

Conforme estudos pesquisadores tem descrito espécies do gênero em peixes amazônicos. Em achados de Figueredo *et al.* (2023) uma espécie denominada *Ellipsomyxa santarenensis* n.sp. foi encontrado infectando a vesícula biliar de peixes ciclídeos ornamentais da Amazônia. Esporos maduros foram encontrados flutuando livremente na bile do hospedeiro *Brachyplatytoma rousseauxii*, conhecido popularmente como “dourada”, as análises moleculares da investigação concluiu que tratava-se de uma nova espécie: *Ellipsomyxa amazonenses* n.sp (Zatti *et al.*,2018). Silva *et al.* (2018) descreveu o parasitismo por *Ellipsomyxa arariensis* n.sp em *Pygocentrus nattereri* e *Pimelodus ornatos* oriundos da ilha do Marajó. No estado do Amapá exemplares de *Satanoperca jurupari* coletados no rio Curiaú foram investigados e cerca de 81% estavam parasitados por um novo parasito nomeado de *Ellipsomyxa tucujuensis* n.sp com infecção na vesícula biliar (Ferreira *et al.*,2021). Azevedo *et al.* (2013) descreve a espécie *Ellipsomyxa gobioides* n.sp. na vesícula biliar do hospedeiro *Gobiodes broussonnetii*. Em estudos de Zatti *et al.* (2020) duas novas espécies de *Ellipsomyxa* foram descritas em *Plagioscion squamosissimus* e *Cichla monoculus* na vesícula biliar de ambos hospedeiros.

Filo Apicomplexa- Levine, 1970- Aspectos gerais

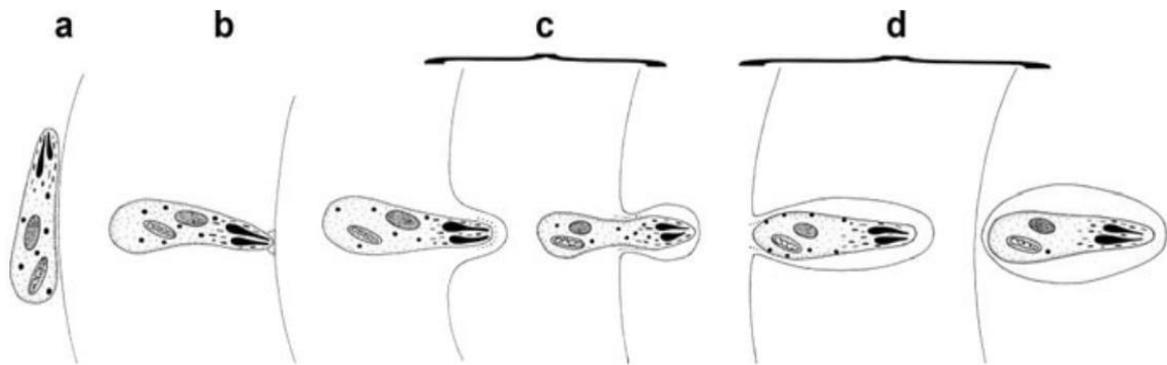
O nome Apicomplexa originou-se de dois termos latinos: “ápice” que significa “topo” e “complexo” que se refere a “dobras”. É caracterizado como grupo de parasitos Alveolato, intracelular obrigatório do reino protista, constituído por mais de 6.000 espécies que parasitam animais vertebrados e invertebrados. Esses parasitos possuem um complexo apical que contém um conjunto de organelas que ajudam no processo de penetração na célula do hospedeiro (Votýpka *et al.*,2016).

Os parasitos deste grupo que infectam peixes podem ser segmentados em dois grupos primordiais: o Coccidia Leuckart 1897, que pode ser encontrado parasitando vários órgãos do hospedeiro e o Hematozoa Vivier 1982, que sucede nas células sanguíneas do animal (Eiras *et al.*,2016). Dentre os coccídeos descritos em peixes, temos os apicomplexas do gênero *Calyptospora* spp. (Acosta *et al.*,2016).

Ciclo de vida

O ciclo de vida dos parasitos apicomplexa geralmente começa com a liberação do esporozoítio do oocisto, esse evento normalmente acontece no conteúdo intestinal do hospedeiro. Sendo o esporozoítio considerado o estágio infectante que ao encontra-se com a célula do hospedeiro penetra através do seu complexo apical dando início a infecção (Votýpka *et al.*, 2016), conforme a figura 10.

Figura 10 – Invasão do esporozoítio em uma célula hospedeira. (a) contato primário do esporozoítio sem orientação; (b) fixação seguida de reorientação apical; (c) indução do parasitóforo vacúolo; (d) translocação do esporozoítio para vacúolo



Fonte: Votýpka *et. al* (2016)

Dentro da célula hospedeira o esporozoítio transforma-se em esquizonte e gera vários merozoítos (merogonia), esse acontecimento trata-se da fase assexuada, conhecida também com merogonia ou esquizogonia. Posteriormente, ocorrerá a fase sexuada onde será formado os gametas que se unirão dando origem ao zigoto (gametogonia). Apartí do zigoto será formado o oocisto, onde estarão contidos os esporozoítos (esporogonia). Com a liberação do esporozoito e penetração na célula do hospedeira, o ciclo infeccioso pode inicia-se novamente. A transmissão pode ser de forma direta que ocorre pela ingestão dos oocistos ou indireta por meio de hospedeiros intermediários (Eiras, 1994).

Gênero *Calyptospora* Overstreet, Hawkins e Fournie 1984.

O gênero *Calyptospora* spp. é um microparasito do filo Apicomplexa que pode ser encontrado em moluscos e peixes. A infecção pelo agente pode levar a lesões no fígado e alterar a coloração normal do tecido, podendo os lobos hepáticos ficarem geralmente com manchas acinzentadas (Bonar *et al.*, 2006; Ramos *et al.*, 2018).

Descrição taxonômica (Silva *et al.*, 2020)

Filo Apicomplexa Levine, 1970.

Subfilo Conoididas Levine, 1988

Classe Coccidia Leuckart, 1879

Ordem Eucoccidiorida Leger e Duboscq, 1910

Subordem Eimeriorina Leger, 1911

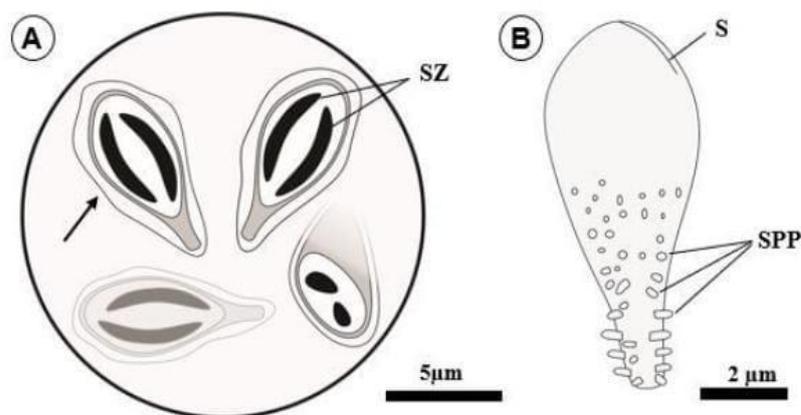
Família Calyptosporidae Overstreet, Hawkins & Fournie, 1984

Gênero *Calyptospora* Overstreet, Hawkins & Fournie, 1984

Morfologia

A morfologia do gênero *Calyptospora* sp. pode ser observado por meio da visualização do oocisto com auxílio de um microscópio de luz (ML). Essa estrutura contém quadro esporocistos, sendo que cada um é coberto por um véu membranoso e no interior de cada esporocistos há dois esporozoítos. A estrutura externa dos esporocistos pode ser observada em maiores detalhes por meio da técnica de microscopia eletrônica de varredura (MV) onde será possível visualizar a linha de sutura e os esporopódes, conforme a figura 10 (Azevedo, *et al.*, 1995; Oliveira *et al.*, 2021).

Figura- Desenhos esquemáticos do oocisto e do esporocisto, respectivamente. A: Oocisto contendo 4 esporocistos, cada um circundado por um véu membranoso (seta) e contendo dois esporozoítos (sz); B: Detalhes da estrutura externa dos esporocistos, com presença de sutura(s) e esporopódes (spp).



Fonte: Oliveira *et. al* (2021)

Estudos de *Calyptospora* sp. no Brasil

Grande parte das descrições de *calyptospora* sp. foram realizadas no Brasil em peixes Amazônicos. Em *Cichla ocellaris* pesquisadores detectaram a presença de oocistos esporulados de *calayptospora* sp. no fígado dos animais analisados, os achados também relataram o desenvolvimento de infecção no órgão (Békési; Molnár, 1991). Em exemplares da espécie *C. temensis*, coletados no rio Tocantins-PA, estudos mostram a ocorrência de coccidiose hepática e pancreática vinculado ao parasito do gênero *Calyptospora*, detectados por meio de análises micro e macroscópica (Velasco *et al.*, 2012). Outro estudo realizado no mesmo hospedeiro em peixes oriundos da Ilha do Marajó constatou parasitismo em pregas hepáticas dos animais, sendo que o maior número de infecção ocorreu durante o período chuvoso (Santiago *et al.*, 2012).

Recentemente, Silva *et al.* (2018) por meio de análise morfológica e molecular descreveu uma nova espécie o *Calyptospora paranaidji* encontrado no tucunaré azul (*C.piquiti*) coletado no rio Tocantins-PA. Na mesma região uma nova espécie do gênero denominado *Calyptospora gonzaguensis* foi descrita em um peixe tropical amazônico (Silva *et al.*, 2020). Apesar das descrições ainda serem consideradas poucas, estudos comprovam a existência do parasitismo deste gênero em peixes amazônicos da região brasileira (Silva *et al.*, 2012; Ramos *et al.*, 2018; Negrão *et al.*, 2019)

A importância das técnicas de microscopia eletrônica, histologia e biologia molecular em estudos de parasitologia de peixes

Para o conhecimento e descoberta dos tipos de parasitos que vivem nos peixes, os pesquisadores utilizam-se de ferramentas que auxiliam na identificação em nível de gênero e espécie. Alguns gêneros podem ser identificados através das características morfológicas observadas em ML e em maiores detalhes em MEV e Transmissão (MET), os quais utilizam-se de feixes de elétrons ao invés de fótons, que possibilita uma melhor visualização de detalhes estruturais que não podem ser observadas em ML (Rocha *et al.*, 2017). Segundo Matos *et al.* (1999) inúmeros trabalhos referentes a microparasitos, utilizam-se das técnicas de microscopia eletrônica, pois a ferramenta permite estabelecer as semelhanças e diferenças ultraestruturais que são de grande importância para identificação.

Em nível de espécie as descrições vêm sendo realizada precisamente por meio de análises moleculares que é uma das ferramentas que tem se mostrado útil para compreensão das relações filogenéticas e descrição de espécies ainda não descritas pela literatura. O marcador molecular mais utilizado neste tipo de análise é 18S, considerado altamente conservado e adequado em estudos moleculares de diferentes espécies (Clark, 2006; Zatti, 2013).

Conforme alguns estudos os primers utilizados na amplificação de DNA por meio da técnica de PCR (reação em cadeia da polimerase) para parasitos do gênero *Calyptospora* spp., geralmente é o 18 E (5'-CTG GTT GAT CCT GCC AGT) e Coc2r (5' CTT TCG CAG TAG TTC GTC) (Wilpps *et al.*, Silva *et al.*, 2019; 2012; Silva *et al.*,2020). No entanto, em mixozoários do gênero *Henneguya* sp. os primers utilizados geralmente no início do sequenciamento podem ser o ERIB1(ACCTGGTTGATCCTGCCAG) e ERIB10 (CCTCCGCAGGTTACCTACGG), seguidos por primers específicos durante a segunda etapa.(Rosser *et al.*,2014; Chaudhary *et al.*, 2017; Azevedo *et al.*, 2021). Há também a utilização dos primers MC5/MC3 durante a amplificação do DNA neste gênero (Velasco *et al.*,2016).

A aplicação de análises histopatológicas também vem sendo utilizado em estudos de parasitologia em peixes , pois trazem informações sobre as causas principais e secundárias das patologias que acometem as populações, tendo como objetivo avaliar as lesões e impactos teciduais, bioquímico, fisiológico, comportamental ou metabólico desses animais aquáticos em virtude a exposição de agentes externos, sendo útil para avaliar os malefícios ocasionados no tecido pelo parasitismo no local de infecção (Videira *et al.*, 2013). A utilização de um conjunto de ferramentas que auxiliam na identificação, quando utilizadas juntas aumentam a confiabilidade e qualidade dos resultados (Moreira, 2013).

2.3 Material e métodos

2.3.1 Coleta e análise de espécimes

Exemplares de *Cichla monoculus* foram coletados no lago Sacaizal, localizado no Município de Pracuúba, Amapá, Brasil e adquiridos mortos de pescadores artesanais residentes da região. Foram realizadas duas coletas de campo no período de Maio e Julho de 2023 com aquisição de 9 peixes no total. Sob autorização da CEUA (n°: 9229270723) com cadastro na SISBIO\ICMBIO (n° 89522) e SINGEN (n° A326ED8).

Após a coleta os peixes foram acondicionados em caixas isotérmicas e transportados ao laboratório de Interação Morfo-molecular e Tecnologias (LIM 2T) da Universidade Federal Rural da Amazônia em Belém-Pará, onde foram necropsiados para realização do exame parasitológico em estereomicroscópio na busca de cistos e\ou lesões em toda superfície corpórea e órgãos internos. Os achados foram confirmados em microscopia de Luz (ML) com a utilização de lâminas frescas. Os esporos de *Ellipsomyxa* sp. foram coradas em Giemsa e posteriormente fotodocumentados.

2.3.2 Índice de prevalência do parasitismo

A determinação da incidência do parasitismo (%) foi obtida conforme a equação de Bush *et al.* (1997):

$$P=(HI\HE) \times 100$$

P= Prevalência;

HI= Número total hospedeiros infectados;

HE= Número de Hospedeiros examinados

2.3.3 Análise Morfométrica

Foram obtidos a média em micrometros (um) das imagens dos esporos de *Henneguya* sp. e *Ellipsomyxa* sp. com a utilização do software ImageJ (Schneider *et al.*,2012). Foram avaliadas as seguintes variáveis em ambos os gêneros: Comprimento do esporo (CE), largura do esporo (LE), Comprimento da cápsula polar (CCP) e largura da Capsula polar (LCP). Em mixósporos de *Henneguya* sp. foram também avaliados o tamanho total (TT) e comprimento

da cauda (CC). Os resultados obtidos foram comparados com tamanhos morfométricos disponíveis na literatura e baseado nestes dados foi realizado a análise de componentes principais (PCA) com software PAST 3.0 (Hammer *et al.*,2001).

2.3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Fragmentos da brânquia com cistos de *Henneguya* sp. foram fixados em glutaraldeído 5%, tamponado com cacodilato de sódio a pH 7,2 por 3 horas em temperatura de 4°C. Posteriormente, a preparação foi lavada na mesma solução de tampão por 2 horas e fixados em tetróxido de ósmio a 2% no tampão por 2 horas á 4°C. Em seguida, o material foi desidratado em série crescente de etanol e óxido de propileno até secagem ao ponto crítico, metalizados com ouro e fotografados em microscopia eletrônica de varredura com canhão de elétrons FEG(Fiel emission gun) no Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), localizado em Belém, estado do Pará, Brasil.

2.5 Resultados

2.5.1 Microscopia eletrônica de luz e ultraestrutura

Os espécimes analisados apresentavam infecção por mixozoários do gênero *Henneguya* sp. e *Ellipsomyxa* sp., a prevalência correspondeu a 33% para ambos. Na região das brânquias foram constatados vários cistos que ao serem rompidos e observados em Microscopia de luz (ML) mostraram semelhanças morfológicas ao parasito *Henneguya* sp., onde foi possível observar o corpo do esporo contendo duas cápsulas polares interiormente e o prolongamento caudal (figura 1-4). Foram registrados a presença de aglomerados de esporos maduros (Figura 1-2) e formas imaturas (Figura 1-3). Os mixósporos maduros possuíam um comprimento total (TT) de $27,46 \pm 3,3 \mu\text{m}$. O comprimento do corpo do mixósporo média $12,46 \mu\text{m} \pm 1,5$ e $3,96 \pm 0,6 \mu\text{m}$ de largura. O comprimento da cauda (CC) correspondeu a $14,57 \pm 3,0 \mu\text{m}$ e as cápsulas polares possuíam o comprimento e a largura de $3,1 \pm 0,9 \mu\text{m}$ e $1,5 \pm 0,5 \mu\text{m}$, respectivamente. As observações em microscopia eletrônica de varredura revelaram com maior precisão os dois prolongamentos caudais (figura 2-1) e detalhes estruturais do corpo do esporo (figura 2-3). Além disso, foi possível observar os nematocistos liberados e a linha de sutura no esporo (figura 2-2).



Figura 1– (1) Microscopia a fresco do parasito *Henneguya* sp. na brânquia de *cichla monoculus*, marcando aglomerados dos mixósporos (*), escala 10 μ m. (2) Esporos maduros, com destaque ao corpo do parasito (setas), escala 10 μ m. (3) Esporos, com destaques a formas imaturas (setas), escala 5 μ m. (4) *Henneguya* sp., com visão ao corpo do esporo (T), capsulas polares (CP) e prolongamento caudal (SB), escala 5 μ m.

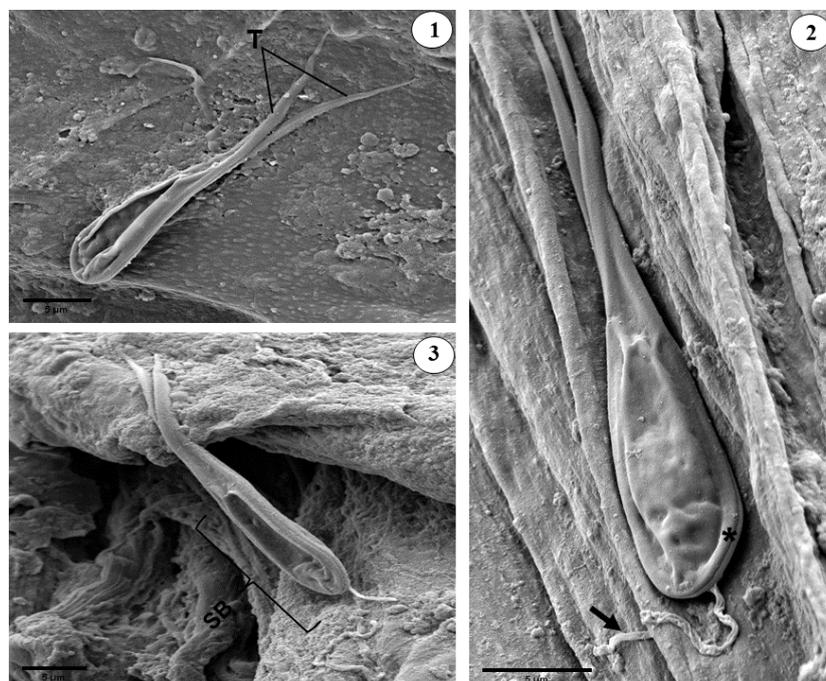


Figura 2– (1) visualização em Microscopia eletrônica de varredura do parasito *Henneguya* sp. na brânquia de *Cichla monoculus*, com destaque nas duas caldas (T), escala 5 μ m. (2) Mixospóro, com destaque ao nematocisto liberado (seta) e marcando a linha de sutura (*), escala 5 μ m. (3) Esporo maduro em MEV, com destaque ao corpo do parasito mostrando detalhes da estrutura (SB), escala 5 μ m.

A infecção por *Ellipsomyxa* sp. foi detectada na vesícula biliar dos exemplares investigados. Por meio de Microscopia de luz (ML) foi possível visualizar a presença de esporos maduros de formato elipsóide que continham duas cápsulas polares em direção opostas (Figura 1-1,2), os quais correspondem as características morfológicas do gênero. O esporo possuía o comprimento (CE) médio de $11,8 \pm 0,2 \mu\text{m}$ e largura (LE) de $6,7 \pm 0,4 \mu\text{m}$. As cápsulas (CCP) mediam $2,4 \pm 0,3 \mu\text{m}$ de comprimento e $2,2 \pm 0,3 \mu\text{m}$ de largura (LCP).

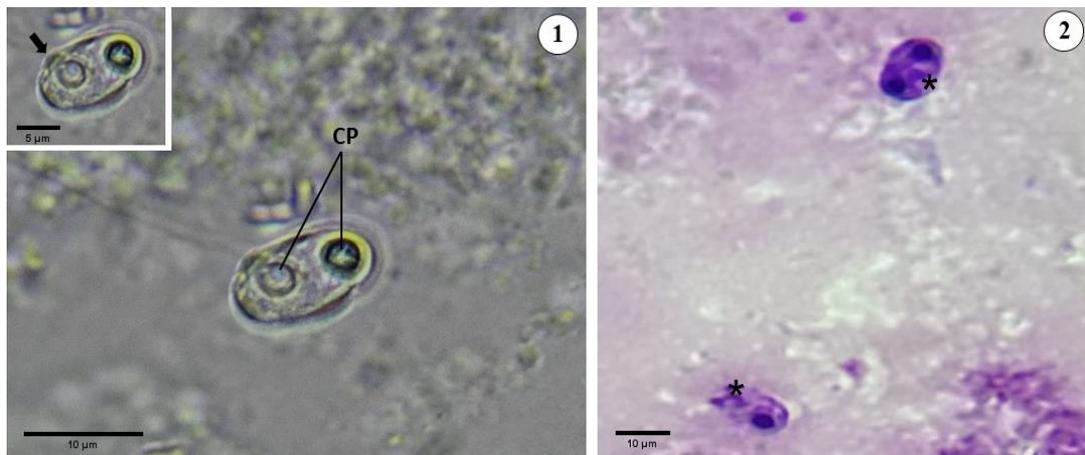


Figura 3 – (1) Esporo de *Ellipsomyxa* sp. da vesícula biliar da espécie *cichla monoculus* visualizado em microscopia de luz (ML), em destaque o esporo maduro em forma elipsóide (seta), escala 5 μm . E as duas cápsulas polares (CP), escala 10 μm . (2) *Ellipsomyxa* a fresco em coloração Giemsa, marcando os esporos (*), escala 10 μm .

2.5.2 Análise morfométrica

Dados métricos obtidos da morfologia dos esporos dos mixozoários encontrados no presente estudo foram comparados (Tabela 1 e 2). A análise de componentes principais (PCA) do gênero *Henneguya* (Figura 4), demonstrou que a maior similaridade foi observada no tamanho total (TT) posicionada no componente 1, a qual correspondeu 84,3% da variância. E em relação ao componente 2 a variável representativa foi o comprimento da cauda (CC) com 15% da variância. O esporo do parasito apresentou proximidade morfométrica em relação ao tamanho total (TT) com a espécie *H. visibilis* e *H. rotunda*. (Figura 4-2). Apesar da semelhança neste parâmetro, é fundamental para obtenção de resultados taxonômicos mais precisos a complementação por meio de análises moleculares (Fiala *et al.*, 2015).

Tabela 1-Comparação do tamanho (μm) do esporo de *Henneguya* sp. em diferentes espécies de peixes. TT: tamanho total, CCO: Comprimento do corpo do esporo, LCO: Largura do Corpo do esporo, CC: comprimento da cauda, CCA: Comprimento da cápsula polar; LCA: Largura da cápsula polar.

Espécie	TT	CCO	LCO	CC	CCA	LCA	Hospedeiro	Local de infecção	Autores
<i>Henneguya</i> sp.	27,4 \pm 3,3	12,4 \pm 1,5	3,9 \pm 0,6	14,5 \pm 3,0	3,1 \pm 0,9	1,5 \pm 0,5	<i>C. monoculus</i>	Brânquia	Presente estudo
<i>H. tapajoensis</i>	54,6	16,4	7	39	4,2	2,1	<i>C. pinima</i>	Nadadeiras	Zatti <i>et al.</i> (2018)
<i>H. jariensis</i>	46,7	13,4	6,5	33,2	4	2	<i>C. monoculus</i>	Brânquia	Zatti <i>et al.</i> (2018)
<i>H. paraensis</i>	42,3 \pm 0,65	12,8 \pm 0,42	8,6 \pm 0,32	29,5 \pm 0,73	7,4 \pm 9,16	2,6	<i>C. temensis</i>	Brânquia	Velasco <i>et al.</i> (2016)
<i>H. rotunda</i>	23,6 \pm 1,1	7,1 \pm 0,2	5,6 \pm 0,2	16,4 \pm 1,2	3,4 \pm 0,2	1,8 \pm 0,1	<i>S. brasiliensis</i>	Nadadeiras e arco branquial	Moreira <i>et al.</i> (2014)
<i>H. visibilis</i>	26,8 \pm 1,1	10,8 \pm 0,6	3,9 \pm 0,2	18 \pm 1,2	4,9 \pm 0,3	1,4 \pm 0,1	<i>L. obtusidens</i>	Filamentos	Moreira <i>et al.</i> (2014)
<i>Henneguya</i> sp.	61,9	38,2	5,8	23,7	6,1	1,9	<i>M. hypsauchen</i>	branquiais	Figueredo <i>et al.</i> (2019)
<i>H. lacustris</i>	18,3	10,4	4,9	7,2	4,8	1,5	<i>A. lacustris</i>	Brânquia	Vieira <i>et al.</i> (2020)
<i>H. lata</i>	19,3 \pm 1,4	9,9 \pm 0,5	6,7 \pm 0,3	10 \pm 1	3,2 \pm 0,2	1,9 \pm 0,2	<i>Astyanax</i> <i>Latus</i>	Lamelas branquiais	Chinh <i>et al.</i> (2021)

Fonte: Amoras (2024).

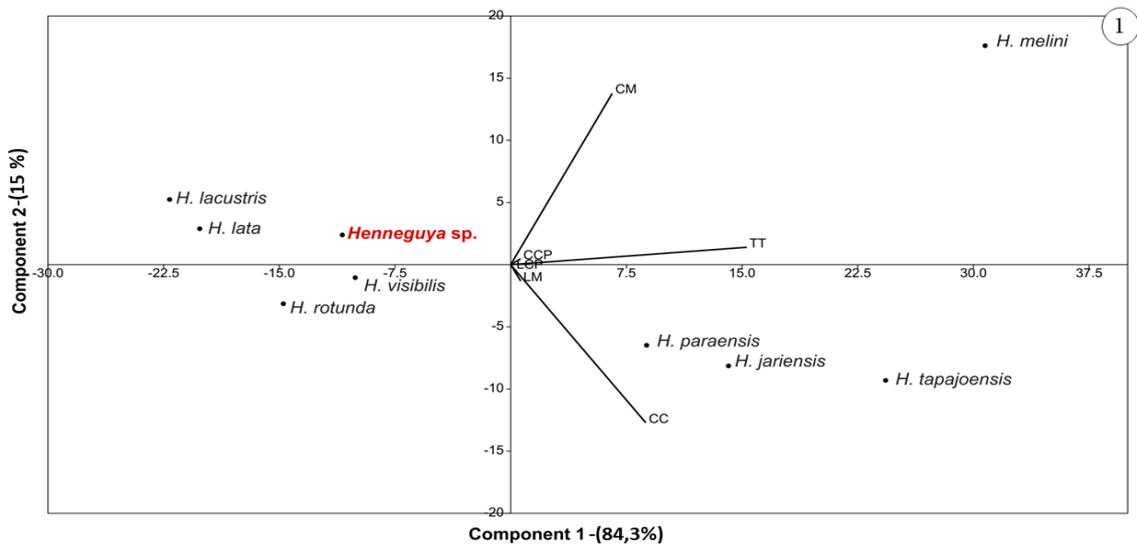


Figura 4- (1) Análise dos componentes principais (PCA) do parasito *Henneguya* sp. Correlação dos parâmetros morfológicos das espécies. Comprimento do esporo (CM), Comprimento da cápsula polar (CCP), largura da cápsula polar (LCP), largura do esporo (LM), comprimento da cauda (CC).

Em relação a análise de componentes principais do *Ellipsomyxa* sp. o estudo constatou que o componente 1 foi influenciado pelo comprimento dos esporos (CE) com 81,3% da variância. E o componente 2 pela variável da largura da cápsula polar (LCP) que correspondeu a 15% (figura 5). Ou seja, a maior proximidade foi observada com as espécies *E.paraensis* e *E. plagioscioni* correlacionado ao comprimento do esporo. As comparações com outras espécies foram descritas na tabela 2.

Tabela 2- Comparação da média (μm) do esporo de *Ellipsomyxa* sp. na vesícula biliar em peixes na região brasileira descritos na literatura. CE: Comprimento do esporo, LE: Largura do esporo, CCP: Comprimento da cápsula polar, LCP: Largura da cápsula polar.

Espécie	CE	LE	CCP	LCP	Hospedeiro	Local de infecção	Autores
<i>Ellipsomyxa</i> sp.	11,8 \pm 0,2	6,7 \pm 0,4	2,4 \pm 0,3	2,2 \pm 0,3	<i>C.monoculus</i>	Vesícula biliar	Presente estudo
<i>E.paraensis</i>	11,5	7,5	3,2	2,6	<i>C.monoculus</i>	Vesícula biliar	Zatti <i>et al.</i> (2020)
<i>E.plagioscioni</i>	11,1	6,6	3,8	2,8	<i>squamosissimus</i>	Vesícula biliar	Zatti <i>et al.</i> (2020)
<i>E.ariusi</i>	9 \pm 2,0	7,1 \pm 0,7	2,1 \pm 0,3	1,6 \pm 0,4	<i>Arius arius</i>	Vesícula biliar	Chandran <i>et al.</i> (2020) Ferreira <i>et al.</i> (2021)
<i>E.tucujuensis</i>	10,11	7,81	3,12	2,5	<i>S. jurupari</i>	Vesícula biliar	Zatti <i>et al.</i> (2018)
<i>E.amazonesis</i>	12,8	7,6	3,8	3,1	<i>B. Rousseauxii</i> <i>P. ornatus e P. natterer</i>	Vesícula biliar	Silva <i>et al.</i> (2018) Azevedo <i>et al.</i> (2013)
<i>E.gobioides</i>	6,8	7,2	4,6	2,5	<i>G. broussonnetii</i>	Vesícula biliar	

Fonte: Amoras (2024).

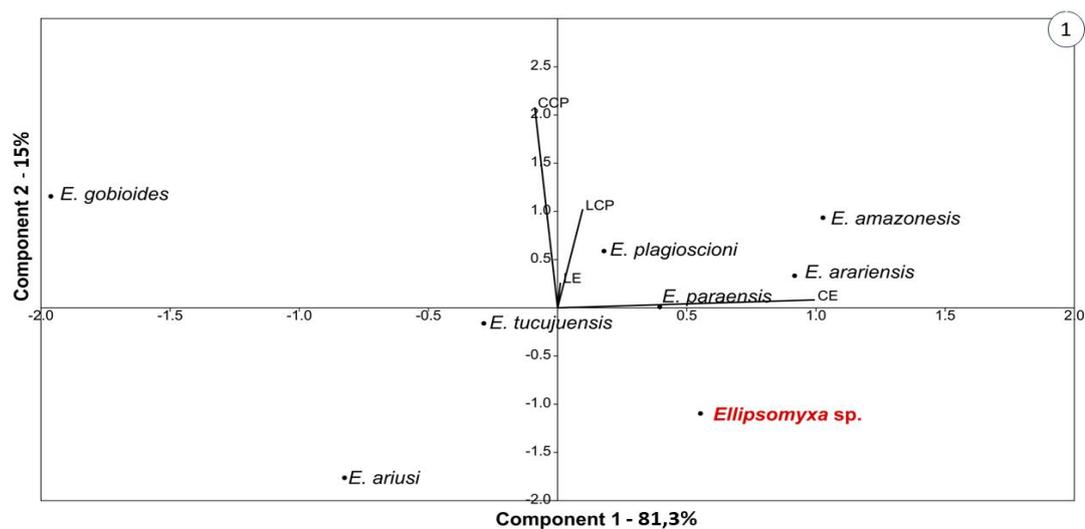


Figura 5 -(1) Análise dos componentes principais (PCA) do parasito *Ellipsomyxa* sp. Correlação dos parâmetros morfológicos das espécies. Comprimento do esporo (CE), Largura do esporo (LE), Comprimento da cápsula polar (CCP), largura da cápsula polar (LCP).

2.6 Discussão

No estudo, a prevalência do *Henneguya* sp. nas brânquias de exemplares de *Cichla monoculus* analisados foi de 33%, comparado com investigações realizadas em hospedeiro da mesma espécie, oriundos do município de vitória do Jari- AP que apresentou uma taxa de 17% da infecção, demonstra que a prevalência da presente pesquisa se mostrou maior (Zatti *et al.*,2018). Em relatos de Velasco *et al.* (2016) cerca de 60% dos espécimes de *C. temensis* analisados estavam parasitados e 45,4% dos peixes *C.pinima* examinados apresentavam também a infecção nas nadadeiras (Zatti *et al.*,2018). Correlacionando com os dois últimos estudos citados em peixes do *Cichla* spp. a prevalência mostrou-se menor. O percentual mais próximo foi detectado em *Acanthopagrus latus* com 26,7% dos peixes parasitados por *H. lata* na região das brânquias (Chinh *et al.*, 2020). A infecção pelo gênero geralmente é detectado nas nadadeiras, brânquias, arco, lamelas e filamentos brânquias (Moreira *et al.*,2014; Figueredo *et al.*,2019; Vieira *et al.*,2020).

A análise morfométrica do parasito demonstrou divergência com alguns parâmetros, conforme as comparações descritas na tabela 1. A maior semelhança foi observada no tamanho total do esporo (TT) que correspondeu a 27,4 μm e aproximou-se com a média do esporo de *H. visibilis* e *H. rotunda* que apresentaram 26,8 μm e 23,6 μm , respectivamente. O esporo com tamanho superior foi descrito por Figueredo *et al.* (2019) em filamentos branquiais de *M.hypsauchen* com cerca de 61,9 μm . Em relação ao comprimento do corpo do mixósporo a média de 12,4 μm , assemelhou- se com tamanho do *H. paraensis* (12,8 μm) descrito por Velasco *et al.* (2016) em *C.temensis*, também observou-se proximidade com *H. jariensis* que apresentou o comprimento de 13,4 μm . A Largura do mixósporo correspondeu a 3,9 μm , mostrou-se equivalente a média do *H. visibilis* com 3,9 μm , conforme achados de Zatti *et al.* (2018). O comprimento da cauda (CC) foi de 14,5 μm e entre as espécies citadas apresentou maior similaridade com *H.rotunda* sendo também observado semelhanças em relação ao comprimento da cápsula polar de 3,1 μm com *H. lata* que apresentou 3,2 μm (Moreira *et al.*2014; Chinh *et al.*2020). A largura da cápsula polar do esporo expressou o tamanho médio de 1,5 μm e aproximou-se com a maioria das espécies descritos na tabela 1. No entanto, apesar das semelhanças para uma classificação taxonômica mais precisa é necessário a utilização biomarcadores moleculares para descrição em nível de espécie (Clark, 2006; Fiala *et al.*,2015, Fiala & Bartošová, 2010).

A prevalência do parasitismo por *Ellipsomyxa* sp. em *cichla monoculus* também correspondeu a 33% nas análises, tendo a vesícula biliar como sítio de infecção. Em

investigações de Figueredo *et al.* (2023), a mesma porcentagem foi relatada em 33,3 % dos exemplares de *S.jurupari* parasitados por *E.santarenensis* spp. A literatura também descreve o parasitismo em peixes da espécie *C.monoculus* em achados de Zatti *et al.*(2020) com uma prevalência menor de 3% por *E.paraensis*. Uma prevalência com achados próximos que corresponderam a 25%, 20% e 23% foram relatados em *P.ornatos*, *P.natterer* e *B.Rousseauxll*, respectivamente. (Silva *et al.*,2018; Zatti *et al.*,2018). E no estado do Amapá um índice alto da infecção (81%) foi descrita por Ferreira *et al.* (2021) em *S.jurupari* por *E.tucujuensis* spp.

Os parâmetros morfométricos obtidos mostrou que as variáveis analisadas apresentavam valores dentro da média comparada com outras espécies, conforme a tabela 2. O comprimento do esporocisto (CE) correspondeu a 11,8 µm e assemelhou-se com a média de comprimento do esporo de *E.paraensis* (11,5 µm) e *E.plagioscioni* (11,1 µm), conforme os achados de Zatti *et al.*(2020) em hospedeiros de *C.monoculus* e *P.squamosissimus*, respectivamente. A largura do esporo (LE) equivaleu a 6,7 µm, sendo outra variável também próxima ao *E.plagioscioni* que apresentou 6,6 µm. Foram observadas correlações também sobre a largura da cápsula polar (LCP): o gênero do presente estudo apresentou 2,2 µm, valor próximo com as descrições de Zatti *et al.*(2020); Ferreira *et al.*(2021); Silva *et al.*(2018) e Azevedo *et al.*(2013) em espécies de *Henneguya* sp. No entanto, em relação ao comprimento da cápsula polar (CCP) a maior similaridade foi observada em estudos Chandran *et al.*(2020).

2.7 Conclusão

Cichla monoculus é uma espécie de importância comercial e conforme os achados do presente estudo estar sobre o risco de infecção por mixozoários do gênero *Henneguya* sp. e *Ellipsomyxa* sp., os quais podem prejudicar a saúde da espécie, sendo que este é o primeiro registro desses microparasitos em *Cichla monoculus* oriundos do Município de Pracuúba, Amapá, Brasil.

Agradecimentos

Agradecimentos ao projeto Amapá e aos integrantes do grupo de pesquisa em sanidade de organismos Aquáticos da Universidade Federal Rural da Amazônica e aos doutores: Dr. Michele Velasco e Dr. José Ledamir Sindeaux-Neto pela confiança para realização da pesquisa no laboratório de Interação Morfo-molecular e Tecnologias e a Universidade Estadual do Amapá (UEAP).

REFERÊNCIAS

- Abdallah, V., Azevedo, R.K.D., Luque, J.L., Bomfim, T.C.B. D. (2007). Two new species of *Henneguya* Thélohan, 1892 (Myxozoa, Myxobolidae), parasitic on the gills of *Hoplosternum littorale* (Callichthyidae) and *Cyphocharax gilbert* (Curimatidae) from the Guandu River, State of Rio de Janeiro, Brazil. *Parasitologia latino-americano*, 62, (1-2), 35-41. doi: 10.4067/S0717-77122007000100006
- Azevedo, C., Videira, M., Casal, G., Matos, P., Oliveira, E., Al-Quraishy, S., Matos, E. (2013) Fine Structure of the Plasmodia and Myxospore of *Ellipsomyxa gobioides* n. sp. (Myxozoa) Found in the Gallbladder of *Gobioides broussonnetii* (Teleostei: Gobiidae) from the Lower Amazon River. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 60, 490–496. doi: 10.1111/jeu.12056
- Békési, L., Székely, C., Molnár, K. (2002). Atuais conhecimentos sobre Myxosporea (Myxozoa), parasitas de peixes. Um estágio alternative dos parasitas no Brasil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 39 (5). doi: 10.1590/S1413-95962002000500010
- Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M., Shostak, A.W. (1997). Parasitology Meets Ecology on Its Own Terms: Margolis et al. Revisited. *Journal Article*. 83(4), 575-583. doi: 10.2307/3284227
- Chandran, A., Zacharia, P.U., Sathianandan, T.V., Sanil, N.K. (2020) *Ellipsomyxa ariusi* sp. nov. (Myxosporea: Ceratomyxidae), a new myxosporean infecting the gallbladder of threadfin sea catfish *Arius arius* in India. *Dis Aquat Organ*. 19 (142), 83-97. doi: 10.3354/dao03529
- Chinh, N.N., Ngo, H.D., Tuc, V.V., Itoh, N., Yoshinaga, T., Shirakashi, S., Doanh, P.N. (2021) A new myxosporean species, *Henneguya lata* n.sp.(Myxozoa: Myxobolidae), from the gills of yellowfin seabream *Acanthopagrus latus* (Perciformes: Sparidae) in the Gulf of Tonkin, Vietnam. *Parasitology Research*. 120:877–885. doi: 10.1007/s00436-020-07031-5
- Clark, G. T. (2006) Molecular approaches and techniques. Protozoan and metazoan infections. Fish diseases and disorders. 1, 725-752.
- Eiras, J. C. (1994). Elementos de Ictioparasitologia. Porto: Fundação Eng. António de Almeida.
- Feist, S. W.; Longshaw, M. (2006) Phylum Myxozoa. Fish Diseases and Disorders. *Protozoan and Metazoan Infections*, 1, 230- 296. doi: 10.1079/9780851990156.0230
- Fiala, I., Bartošová, P. (2010). History of myxozoan character evolution on the basis of rDNA and EF-2 data. *BMC Evol Biol* 10, 228. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-228>
- Ferreira, R.L.D.S., Silva, D.T.D., Carvalho, A.A.D., Bittencourt, L.S., Hamoy, I., Matos, E., Videira, M. (2021) Parasitology International *Ellipsomyxa tucujuensis* n. sp. (Myxozoa: Ceratomyxidae), a parasite of *Satanoperca jurupari* (Osteichthyes: Cichlidae) from the Brazilian Amazon. *Parasitology international*. 83, 102332. doi: 10.1016/j.parint.2021.102332
- Fiala, I., Bartošová-Sojtková, P., Whipps, C. M. (2015). Classification and Phylogenetics of Myxozoa. Myxozoan Evolution, *Ecology and Development*, 85-100. doi: 10.1007/978-3-319-14753-6_5

- Figueredo, R.T.A., Muller, M.I., Long, P.F., Adriano, E.A. (2023) Myxozoan Ceratomyxids Infecting the Gallbladder of Amazonian Ornamental Cichlid Fish: Description of *Ellipsomyxa santarenensis* n. sp. and Report of *Ceratomyxa amazonensis* in a New Host. *diversity*, 15, 830. doi: 10.3390/d15070830
- Figueredo, R.T.A., Oliveira, J.E.F.D., Vilhena, M.D.P.S., Berredo, J., Santos, W.J.P.D., Matos, E., Velasco, M. (2019) *Henneguyosis* in gills of *Metynnis hypsauchen*: an Amazon freshwater fish. *Journal of Diseases*. 44(1). doi: 10.1007/s12639-019-01183-7
- Hammer, Ø., Harper, D. A. T., & Ryan, P. D. (2001). PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1), 1-9.
- Holzer, A.S., Piazzon, M.C., Barrett, D., Bartholomew, J.L., Sitjá Bobadilla-, A. (2021) To React: The Dilemma of Fish Immune Systems Facing Myxozoan Infections. *Front Immunol*. 16 (12),734238. doi: 10.3389/fimmu.2021.734238
- Kullander, S.O. (2003) Checklist of the Freshwater Fishes of South America. Rio Grande do Sul, RS: Porto Alegre.
- Lima, L.G.D; Souza, A.O; Batista, V.D.S. (2021) Conhecimento ecológico local utilizado para cogestão na pesca: o caso tucunaré, *Cichla* spp (cichlidae), na Amazônia Central, Brasil. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*. 4 (1), 532-546. doi: 10.34188/bjaerv4n1-046
- Lom, J. & Dykova, I., (1992). Protozoan parasites of fishes. In: Developments in Aquaculture and Fisheries Science, (Elsevier, Amsterdam), 26- 315.
- Lom, J., Dykoá, I. (2002) Ultrastructure of *Nucleospora secunda* n.sp. (Microsporidia), parasite of enterocytes of *Nothobranchius rubripinnis*. *European Journal of Protistology*, 38(1), 19-27. doi: 10.1078/0932-4739-00844
- Matos, E., Azevedo, C., Corral, L., Casal, C., Matos, P. (1999) Ultraestrutura de protozoários parasitas de peixes da região amazônica. *Acta Amazônica*. 29 (4), 575-585. doi: 10.1590/1809-43921999294585
- Matos, E., Corral, L., Matos, P., Casal, G., Azevedo, C. (2001) Incidência de parasitas do Phylum Myxozoa (Sub-reino Protozoa) em peixes da região amazônica, com especial destaque para o gênero *Henneguya*. *Revista de Ciência Agrária*. 36, .83 – 99
- Moreira, G.S. A., Adriano, E.A., Silva., M.R.M. (2014) Ceccarelli, P.S., Maia, A.A.M. The morphological and molecular characterization of *Henneguya rotunda* n.sp., a parasite of the gill arch and fins of *Salminus brasiliensis* from the Mogi Guaçu River, Brazil. *Parasitology Research*. 113(5), 1703-11. doi: 10.1007/s00436-014-3815-y
- Moreira, G.S.A., Adriano, E.A., Silva, M.R.M., Ceccarelli, P.S., Maia, A.A.M. (2014) Morphology and 18S Rdna sequencing identifies *Henneguya visibilis* n.sp., a parasite of *Leporinus obtusidens* from Mogi Guaçu River, Brazil. *Parasitology Research*. 113(5) 1703-11. doi: 10.1007/s00436-014-3815-y

Schneider, C., Rasband, W. Eliceiri, K. (2012) Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*. 9. 671-675. doi: 10.1038/nmeth.2089

Silva, D.T.D., Lima, A.M., Hamoy, I., Matos, P.S., Furtado, A.P., Matos, E. (2018) *Ellipsomyxa arariensis* n. sp. (Myxozoa: Ceratomyxidae), a new myxozoan parasite of *Pygocentrus nattereri* Kner, 1858 (Teleostei: Characidae) and *Pimelodus ornatus* Kner, 1858 (Teleostei: Pimelodidae) from Marajó Island, in the Brazilian Amazon region. *Parasitology Research*. 117(5). doi: 10.1007/s00436-018-6051-z

Silva, D.T.D., Matos, P.S., Lima, A.M., Furtado, A.P., Hamoy, I., Matos, E.R. (2018) *Ellipsomyxa arariensis* n. sp. (Myxozoa: Ceratomyxidae), a new myxozoan parasite of *Pygocentrus nattereri* Kner, 1858 (Teleostei: Characidae) and *Pimelodus ornatus* Kner, 1858 (Teleostei: Pimelodidae) from Marajó Island, in the Brazilian Amazon region. *Parasitology Research*. 117(11), 3537-3545. doi: 10.1007/s00436-018-6051-z.

Velasco, M., Videira M., Nascimento, L.D.C.S.D., Matos, P., Gonçalves, E.C., Matos, E. (2016) *Henneguya paraensis* n. sp. (Myxozoa: Myxosporea), a new gill parasite of the Amazonian fish *Cichla temensis* (Teleostei: Cichlidae): morphological and molecular aspects. *Parasitology Research*. 115(5), 1779-87. doi: 10.1007/s00436-016-4916-6

Vieira, D.H.M., Rangel, L.F., Tagliavini, V.P., Abdllah, V.D., Santos, M.J., Azevedo, R.K.D.(2020) A new species, *Henneguya lacustris* n.sp. (Cnidaria: Myxosporea), infecting the gills of *Astyanax lacustris* from Brazil. *Parasitol Res*. 119(12), 4259-4265. doi: 10.1007/s00436-020-06871-5.

Zacardi, D.M; Passos, L.D.S; Silva, T.C. da. (2021) A pesca artesanal na região dos lagos: O caso do município de Pracuúba, Amapá. *Revista desafios*, 8. (1). doi: 10.20873/uftv8-9552

Zatti, S.A., Atkinson, D.S., Maia, A.A.M., Bartholomew, E.A.A. (2018) Novel *Henneguya* spp. (Cnidaria: Myxozoa) from cichlid fish in the Amazon basin cluster by geographic origin. *Parasitology Research*. 117(3), 849-859. doi: 10.1007/s00436-018-5762-5

Zatti, S.A., Maia, A.A.M., Adriano, E.A. (2020) Growing diversity supports radiation of an *Ellipsomyxa* lineage into the Amazon freshwater: Description of two novel species parasitizing fish from Tapajós and Amazon rivers. *Acta Tropica*. 211. doi: 10.1016/j.actatropica.2020.105616

3 MORPHOLOGICAL AND HISTOPATHOLOGICAL DESCRIPTION OF *Calyptospora* sp. PARASITISM IN *Cichla monoculus* FROM THE LAKE REGION OF PRACUÚBA-AMAPÁ, BRAZIL

Descrição morfológica e histopatológica do parasitismo por *Calyptospora* sp. em *Cichla monoculus* oriundos da região dos lagos de Pracuúba-Amapá, Brasil.

Eloiza Sarmiento Amoras¹; Jhonata Eduard Farias de Oliveira²; José Ledamir Sindeaux-Neto³; Marcela Nunes Videira⁴; Michele Velasco Oliveira da Silva⁵

¹Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, Pará, Brasil. ²Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brasil. ³Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, Pará, Brasil. ⁴Universidade Estadual do Amapá. ⁵ Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, Pará, Brasil. Macapá, Amapá, Brasil. *Michele Velasco. E-mail: michele.velasco@ufra.edu.br

RESUMO

O Tucunaré (*Cichla* sp.) é um peixe amazônico de elevada comercialização no Estado do Amapá e que pode estar sujeito a infecção por diferentes parasitos, dentre eles os coccídeos do gênero *Calyptospora* sp. que são identificados a nível de gênero através da análise das estruturas que compõe sua morfologia. Este trabalho tem o objetivo de realizar a descrição morfológica e histopatológica do parasitismo por *Calyptospora* sp. em *Cichla monoculus* oriundos do Município de Pracuúba, Amapá, Brasil. Os 9 espécimes foram adquiridos mortos de pescadores artesanais, transportados em caixas isotérmicas até o Laboratório de Integração Morfo-molecular e Tecnologias (LIMT) da Universidade Federal Rural da Amazônia em Belém, Pará, aonde foram necropsiados e retirados fragmentos do fígado para visualização de cistos em microscopia de luz (ML) e processados para microscopia eletrônica de Varredura (MEV) e histologia. Por meio das análises, foi possível confirmar que 66,6% dos peixes analisados apresentavam aglomerados de oocistos na região hepática com a formação de centros melanomacrofágicos. Os oocistos eram arredondados, com diâmetro de 21 µm, contendo quatro esporocistos piriformes de 8.7 µm de comprimento e 4.9 µm de largura, que apresentavam esporopódes, na região posterior.

PALAVRAS-CHAVES: *Calyptospora*, Coccídeos, MEV, Pracuúba, *Cichla* sp.

ABSTRACT

Tucunaré (*Cichla* sp.) is an Amazonian fish that is heavily commercialized in the state of Amapá, and it can be infected by a variety of parasites, including coccidia of the genus *Calyptospora*, which are identified at the sex level by analyzing the structures that comprise its morphology. This study aimed to describe the morphology and histopathology of *Calyptospora* sp. parasitism in *Cichla monoculus* in the Municipality of Pracuúba, Amapá, Brazil. Nine specimens were obtained from artisanal fishermen and transported in isothermal boxes to the Integrated Morpho-molecular and Technologies Laboratory (LIMT) of the Federal Rural University of the Amazon in Belém, Pará, where they were necropsied. Fragments of the liver were removed to visualize cysts using light microscopy and processed for scanning electron microscopy and histology analyses. The analysis revealed that 66.6% of the fish examined had clusters of oocysts in the hepatic region, resulting in the formation of melanomacrophagic centers. The oocysts were sphere-like, with a diameter of 21 μm . They contained four pyriform sporocysts, 8.7 μm long and 4.9 μm wide, with sporopods in the posterior region.

KEYWORDS: *Calyptospora*, Coccidia, SEM, Pracuúba, *Cichla* sp.

3.1 Introduction

The state of Amapá in the Municipality of Pracuúba has five primary fishing locations, including the "lake region." This area is known for its rivers and streams, which are home to a diverse range of fish (Zacardi *et al.*, 2021; Silva & Dias, 2010). In this location, fish of the genus *Cichla*, Schneider, 1801, are among the most commonly caught by extractive fishing. Species of the genus are generally known in Brazilian territory as "tucunarés." They are native to the Amazon basin and belong to the family Cichlidae within the order Cichliformes (Kullander, 2003; Zacardi *et al.*, 2021; Kullander & Ferreira, 2006).

Cichla monoculus is resident in floodplain lakes and other ecotopes in Brazil and Peru. Their diet typically consisted of shrimp and fish. This species is characterized by a horizontal spot on the surface of the pectoral fin and a discontinuous lateral line on both sides (Kullander, 1987; Rabelo & Araújo-Lima, 2002; Neto *et al.*, 2017; Kullander & Ferreira, 2006).

Apicomplexa Levine, 1970, is a protist phylum that includes obligate intracellular parasites found in both vertebrates and invertebrates. The class *Coccidia* Leuckart 1897

comprises species that infect the gastrointestinal systems of their hosts. In freshwater fish, the genus *Calyptospora* sp. is notable as the cause of highly prevalent liver infections that can be evident as a change in the color of the liver to whitish (Bonar *et al.*, 2006; Votýpka *et al.*, 2016; Eiras *et al.*, 2016; Acosta *et al.*, 2016; Ramos *et al.*, 2018).

In general, parasites from *Calyptospora* sp. are distinguished by the formation of oocysts or parasitophorous vacuoles that contain four structures known as sporocysts and are covered by a membrane veil. Each sporocyst contained two sporozoites. Scanning electron microscopy (SEM) can be used to view structural details such as sutures and sporopods, which are useful for determining the similarities and differences between morphological structures and are essential for identification (Azevedo *et al.*, 1995; Matos *et al.*, 1999; Oliveira *et al.*, 2021). In addition, histopathological analyses are effective in detecting parasitic damage to tissues (Videira *et al.*, 2013).

The purpose of this study was to describe the morphology and histopathology of *Calyptospora* sp. parasitizing *C. monoculus* in the lake region of the Municipality of Pracuúba-Amapá, Brazil.

3.2 Material and methods

Collection of hosts and parasites

A total of nine dead specimens of peacock bass (*C. monoculus*) were acquired from artisanal fishermen in the Municipality of Pracuúba-Amapá (1°44'43.9"N 50°47'03.9"W), which is close to the towns of Calçoene, Amapá, and Tartarugualzinho (Figure 1). Fish were caught from Lake Sacaizal, packed in isothermal boxes with ice, and transported to the Integrated Morpho-Molecular and Technologies Laboratory (LIMT) of the Federal Rural University of the Amazon (UFRA), Belém campus in Pará. In the laboratory, specimen biometrics and identification were performed using the dichotomous key proposed by Ferreira and Kullander (2006). The fish were necropsied to inspect the entire body surface, including internal organs, using a Zeiss Stemi DCR stereoscope. Small chunks of the liver with oocysts were extracted, placed in the center of a slide containing a drop of water, softly compressed with a coverslip, and examined using light microscopy.

Morphometric analysis of oocysts

The morphometric parameters of oocysts (n=17), including oocyst diameter (OD), sporocyst length (SL), and sporocyst width (SW), were measured using ImageJ version 3.2 software as previously described (Schneider et al., 2012). The data were compiled with data from other *Calyptospora* sp. using principal component analysis (PCA) with PAST 3.0 software (Hammer *et al.*, 2001).

Histopathological analysis

For histological processing, tissue fragments were fixed in Davidson's solution (95% alcohol, formaldehyde, acetic acid, and distilled water) for 24 h before being dehydrated in an increasing series of alcohol solutions (70%, 80%, 90%, absolute I, absolute II, and absolute III) for 1 h each. After clearing with alcohol-xylol for 30 min, absolute xylol (Xylol I and Xylol II) was successively added for 15 min each. The material was impregnated with paraffin, and the solid blocks that formed were used to obtain 5 µm-thick sections with a model HM315 rotary microtome (Microm). The sections were extruded onto a water bath, collected on glass slides, kept in the oven for 24 h at 60°C, and stained using hematoxylin-eosin (Luna, 1986).

Scanning Electron Microscopy

Liver fragments were fixed in 5% glutaraldehyde with 0.2 M sodium cacodylate buffer at pH 7.2 for 3 h at 4°C, washed in the same solution for 2 to 4 h, then fixed in 2% osmium tetroxide in the buffer for 2 h at 4°C. Following the dehydration step, increasing amounts of ethanol were added, followed by critical point drying and coating with gold. Photomicrographs of parasites were acquired at the Scanning Electron Microscopy Laboratory, Museu Paraense Emílio Goeldi. Structural details were observed, and morphometric parameters were measured in mature oocysts (n = 17) using ImageJ 3.2 software. OD, SL, and SW were measured, and average values were determined using Excel 2013 software. The data were compiled for comparison with those of published studies on the morphometry of *Calyptospora* sp.

3.3 Results and discussion

The fish displayed an average weight of 298.0 g and a length of 21.0 cm. The prevalence of parasitism by *Calyptospora* sp. was 66.6%, and its morphology was consistent with that of coccidia of the genus. Several mature and rounded oocysts contained pyriform sporocysts in the inner region (Figures 2A and 2B). SEM of sporocysts (Figure 2C) revealed externally scattered sporopods (Figure 2D). These are regarded as another crucial characteristic for identification, as documented by Oliveira *et al.* (2021) in *Serrasalmus rhombeus*.

The current morphological findings are similar to those of Velasco *et al.* (2012), who described the formation of rounded oocysts, four sporocysts, and two sporozoites in each of these structures, although with a lower prevalence of 40%. Santiago *et al.* (2012) observed parasitism in 56% of *C. temensis* liver specimens from Marajó Island, with a higher incidence during the wet season. Another study reported that approximately 60% of *Brachyplatystoma vaillantii* displayed several clustered oocysts that replaced the liver parenchyma region (Silva *et al.*, 2012). Negrão *et al.* (2019) identified parasitic forms of *Calyptospora* sp. in Amazonian fish from the Curiaú-Amapá River floodplain, which infected the gallbladder, liver, and heart. Morphologically, the oocysts were scarcely recognizable.

The oocysts had an average diameter of 21 ± 2.7 μm , while the pyriform-shaped sporocysts had an average length of 8.7 ± 1.3 μm and a width of 4.9 ± 0.7 μm . The dimensions are similar to those described by Silva *et al.* (2019, 2020), Bonar *et al.* (2006), Santiago *et al.* (2012), Albuquerque *et al.* (2010), Békési & Molnar (1991), and Fournie *et al.* (1985). However, they are similar to the dimensions of oocysts described by Silva *et al.* (2012) in Amazonian *B. vaillantii* caught in the Municipality of Vigia, Pará (Table 1).

The morphometric PCA of *Calyptospora* sp. (Figure 2) revealed that component 1 (OD) accounted for approximately 76% of the variance, whereas components 2 and 3 (SL and SW, respectively) accounted for 14% and 10% of the variance, respectively. The findings imply that components 1 and 2 account for 89% of the correlation of variables. The *Calyptospora* sp. oocysts observed in the current study were similar to *Calyptospora* sp. 2 reported in *C. temensis*, with an oocyst diameter of 21.0 vs. 21.2 μm , but differed in sporocyst length of 8.7 vs. 9.2 μm and sporocyst width 4.9 vs. 3.1 μm (Table 1). Although they still demonstrate small morphological variations from *Calyptospora* sp. to *Cichla* sp., it remains uncertain whether they belong to the same taxonomic group. Further molecular data, specifically markers of small ribosomal subunit DNA data, are required (Berto *et al.*, 2014).

Histopathological examination indicated the presence of numerous oocysts that developed into hepatocytes and compressed the surrounding oocysts. Furthermore, dark brown to light brown melanomacrophagic centers were observed at the periphery of the cysts (Figure

3). Negrão *et al.* (2019) identified similar features in Amazonian fish species from the Municipality of Macapá. According to Videira *et al.* (2013), melanomacrophagic centers are immune responses to *Calyptospora* parasitism and may signal an inflammatory process (Fournie *et al.*, 1985; Whipps *et al.*, 2012; Videira *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2019).

This is the first report of *Calyptospora* sp. in *C. monoculus*. Morphological, morphometric and histopathological analyses indicate that parasitism is caused by coccidia from the genus *Calyptospora* sp., which were only found in liver tissues. Additional research is required to understand the action of the immunological response and to verify the causes for the formation of melanomacrophagic bodies, the parasite's life cycle, and the forms of prophylaxis and treatment to promote the conservation of the species in its natural habitat.

REFERENCES

- Acosta AA, Godoy AT, Yamada FH, Brandão H, Paes JVK, Bongiovani MF, et al. Aspectos parasitológicos dos peixes. In: SILVA, RJ. *Integridade ambiental da represa de Jurumirim: ictiofauna e relações ecológicas*. São Paulo: Editora UNESP, 2016, p. 115-192.
- Albuquerque MCD, Sato MDCB. First report of *Calyptospora* sp. (Apicomplexa, Calyptosporidae) in forage characid fish from the Três Marias Reservoir, São Francisco Basin, Brazil. *Eur J Protist*, 2010; 46(2):150-2. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejop.2009.12.005>
- 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. *J Fish Dis*, 1995; (18): 475-79. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1995.tb00351.x>
- Békési L, Molnár, K. *Calyptospora tucunarensis* n.sp.(Apicomplexa: Sporozoea) from the liver of tucunaré *Cichla ocellaris* in Brazil. *Syst Parasitol*, 1991; (18): 127-132.
- Berto BP, McIntosh D, Lopes CWG. Studies on coccidian oocysts (Apicomplexa: Eucoccidiorida). *Braz J Vet Parasitol* 2014; 23 (1): 1-15. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612014001>
- Bonar C.J, Poynton SL, Schulman FY, Rietcheck RL, Garner MM. Hepatic *Calyptospora* sp. (Apicomplexa) infection in a wild-born, aquarium-held clutch of juvenile arapaima *Arapaima gigas* (Osteoglossidae). *Dis aquatic organisms* 2006; 12;70(1-2):81-92. <https://doi.org/10.3354/dao070081>
- Eiras JC, Veloso AL, Pereira JJR. *Parasitos de peixes marinhos da América do Sul*. Rio Grande: Editora Furg; 2016.
- Fournie JW, Hawkins WE, Overstreet RM. *Calyptospora empristica* n. sp. (Eimeriorina: Calyptosporidae) from the liver of the starhead topminnow, *Fundulus notti*. *J Eukaryot Microbiol* 1985;32(3):542-547. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1550-7408.1985.tb04058.x>

Hammer Ø, Harper, David AT, Ryan PD. Past: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontol Electron*, 2001; (1): 4-9. http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm

Kullander S O. Cichlid fishes of the Amazon River drainage of Peru. *Cop* 1987; 1987 (4). 1078-1080. <https://doi.org/10.2307/1445586>

Kullander SO, Ferreira EJG. A review of the South American cichlid genus *Cichla*, with descriptions of nine new species (Teleostei: Cichlidae). *Ichth Expl Freshw* 2006; 17 (4): 289-398.

Kullander SO. Family Cichlidae. In: Reis, R.E., Kullander, S.O., Ferraris, C.J. (Eds.), *Checklist of the Freshwater Fishes of South America*. Porto Alegre: Edipucrs; 2003. p. 605–654.

Luna LG. Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology New York: McGraw-Hill; 1968.

Matos E, Azevedo C, Corral L, Casal G, Matos P. Ultraestrutura de protozoários parasitas de peixes da região amazônica. *Acta Amazo* 1999; 29 (4): 575-585. <https://doi.org/10.1590/1809-43921999294585>

Negrão MCDS, Silva MRLD, Videira MN, Viana AL. Prevalence and molecular characterisation of *Calyptospora* parasites Overstreet, Hawkins and Fournié, 1984 (Apicomplexa: Calyptosporidae) in fishes from the Eastern Amazon, Brazil. *Parasitol Int* 2019; 73:101975. <http://dx.doi.org/10.1016/j.parint.2019.101975>

Neto CF, Alves WS, Junior HDNM. Dieta do tucunaré *Cichla monoculus* agassiz, 1831- açude thomaz osterne de Alencar semiárido cearense. *Cad Cult Cien* 2017; 16 (1). <http://dx.doi.org/10.14295/cad.cult.cienc.v16i1.1466>

Oliveira JEFD, Figueredo RTA, Neto JLS, Vilhena MDPSP, Berrêdo JF, Matos E, Velasco M. Hepatic coccidiosis in *Serrasalmus rhombeus* Linnaeus, 1766 from the Amazon basin: morphological and histopathological aspects. *Rev Bras Parasitol Vet* 2021; 30 (1): 1-8. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612021007>

Rabelo H, Araújo-lima CARM. A dieta e o consumo diário de alimento de *Cichla monoculus* na Amazônia central. *Acta Amazônica* 2002; 32 (4). <https://doi.org/10.1590/1809-43922002324724>

Ramos ABMA, Santos PDFSD, Hemeterio LCA, Santos WJPD, Araújo RSD, Matos ER. Coccidiose hepática em *Aspistor quadriscutis*, Valenciennes, 1840 (Teleostei: Ariidae) capturados no Estuário do nordeste paraense, Amazonia, Brasil. *Arc Vet Sci* 2018; 23 (3): 63-67.

Santiago H, Correa JL, Tortelly R, Menezes RC, Matos P, Matos E. Morphology and histopathology of *Calyptospora* sp. (Apicomplexa: Calyptosporidae) in speckled peacock bass, *Cichla temensis* Humboldt, 1821 (Perciformes: Cichlidae), from the Marajó-Açu River, Marajó Island, Brazil. *Parasitol Res* 2012; 110 (6) 2569-2572. <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2770-0>

Schneider C, Rasband W, Eliceiri K. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods* 2012; 9: 671–675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>

Silva LMA, Dias MT. A pesca artesanal no estado do Amapá: Estado atual e desafios. *Bol Tec Cient Cepnor* 2010; 10 (1) 43 – 53.

Silva MCD, Clemente SCDS, Júnior JAP, Silva MVOD, Matos ER. *Calyptospora* sp. in *Brachyplatystoma vaillantii* trapped at the Vigia, State of Pará, Brazil. *Rev Bras Parasitol* 2012; 21 (2):176-178. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612012000200020>

Silva MF, Orlanda JFF, Costa MJA, Hamoy I, Matos E. Hepatic Coccidiosis in *Tripurtheus angulatus* Spix & Agassiz, 1829 (Characiformes: Tripurtheidae), a Tropical Fish from the Eastern Brazilian Amazon, with the Description of a New Species of *Calyptospora* (Apicomplexa: Calyptosporidae). *J Eukaryot Microbiol* 2020; 67: 352–358. <http://dx.doi.org/10.1111/jeu.12785>

Silva MFD, Silva DTD, Giese EG, Hamoy IG, Matos ER. Morphology and Phylogeny of *Calyptospora paranaidji* n. sp. (Eimeriorina: Calyptosporidae), an Apicomplexan Parasite of the Hepatic Tissue of *Cichla piquiti* Kullander & Ferreira, 2006, From a Reservoir in the Brazilian Amazon Region. *J Eukaryot Microbiol* 2019; 66(4):608-616. <http://dx.doi.org/10.1111/jeu.12707>

Velasco M, Videira M, Matos P, Clemente SCS, Sanches O, Matos E. Morfologia e nova ocorrência de um coccídio hepatopancreático parasita de peixe amazônico. *Rev Cienc Ágrar* 2012; 55(3): 231-235. <http://dx.org/10.4322/rca.2012.063>

Videira M, Velasco M, Tortelly R, Menezes RC, São clemente SC, Matos E. An anatomopathological study of hepatic coccidiosis (*Calyptospora* sp.) in the Acará-pixuna, *Aequidens plagiozonatus* Kullander, 1984 from the Brazilian state of Pará. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2013; 65(1): 91-94. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352013000100014>

Votýpka J, Modrý D, Oborník M, Slapeta J, Lukes J. Apicomplexa. Handbook of the Protists, 2016; 1–58. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-32669-6_20-1

Whipps CM, Fournie JW, Morrison DA, Azevedo C, Matos E, Thebo P, Kent ML. Phylogeny of fish- infecting *Calyptospora* species (Apicomplexa: eimeriorina). *Parasitol Res* 2012; 111(3):1331-1342. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-012-2969-8>

Zacardi DM, Passos LDS, Silva TCD. A pesca artesanal na região dos lagos: O caso do município de Pracuúba, Amapá. *Rev desaf* 2021; 08 (01). <http://dx.doi.org/10.20873/uftv8-9552>

Legends

Figure 1. Pracuúba-Amapá Municipality's geographical location in Brazil.

Figure 2. The principal component analysis (PCA) of *Calyptospora* spp. oocysts, combining the components oocyst diameter (OD), sporocyst length (SL), and sporocyst width (SW).

Figure 3. Infection of *Cichla monoculus* liver by *Calyptospora* sp. **A-** Groups of *Calyptospora* sp. oocysts, observed under light microscopy (ML) in the hepatic region, highlighting the

oocysts (arrows), Scale Bar 20 μm , with detail of the oocyst with four sporocysts. Scale Bar 5 μm **B-** Oocyst, with emphasis on one of the sporocysts (*), Scale Bar 5 μm . **C-** Sporocysts visualized in greater detail in Scanning Electron Microscopy (*), Scale Bar 5 μm . **D-** Sporocysts, highlighting the structures called sporopods (arrow), Scale Bar 5 μm . **E-** Clusters of oocysts between liver cells, highlighting the formation of dark and light brown colored melanomacrophage bodies (MMC) (*), Scale Bar 20 μm . Detail of the pyriform-shaped sporocyst (arrows) H.E. staining, Scale Bar 5 μm .

Table 1. Morphometric comparison of *Calyptospora* spp. oocysts and sporocysts described in fish species (μm).

Species	Oocyst	Sporocyst			Host	Site of Infection	Location	Authors
	Diameter	Shape	Length	Width				
<i>Calyptospora</i> sp. 1	21.0 \pm 2.7	Pyriform	8.7 \pm 1,3	4.9 \pm 0.7	<i>Cichla monoculus</i>	Liver	Amapá, Brazil	Current study
<i>Calyptospora</i> sp. 2	21.2	Pyriform	9.2	3.1	<i>Cichla temensis</i>	Hepatopancreas	Pará, Brazil	Santiago <i>et al.</i> (2012)
<i>Calyptospora</i> sp. 3	24.5	Ellipsoidal	11.5	4.5	<i>Triportheus chalceus</i> and <i>T. guentheri</i>	Liver and intestine	Minas Gerais, Brazil	Albuquerque <i>et al.</i> (2010)
<i>Calyptospora</i> sp. 4	24.3	Pyriform	8.3	3.7	<i>Cichla ocellaris</i>	Liver	Ceará, Brazil	Békési & Molnar (1991)
<i>Calyptospora</i> sp. 5	20.8	Pyriform	8.9	4.1	<i>Brachyplatystoma vaillantii</i>	Liver	Vigia, Brazil	Silva <i>et al.</i> (2012)
<i>C. gonzaguensis</i>	19.6 \pm 1.4	Pyriform	9.2 \pm 0.6	3.9 \pm 0.2	<i>Triportheus angulatus</i>	Liver	Maranhão, Brazil	Silva <i>et al.</i> (2020)
<i>C. paranaidji</i>	22.1 \pm 1.5	Pyriform	9.7 \pm 0.5	4.6 \pm 0.6	<i>Cichla piquiti</i>	Liver	Maranhão, Brazil	Silva <i>et al.</i> (2019)
<i>C. tucunarensis</i>	19	Pyriform	7	4	<i>Arapaima gigas</i>	Liver	Amazonas, Brazil	Bonar <i>et al.</i> (2006)
<i>C. empristica</i>	22	Ellipsoidal	9	5.7	<i>Fundulus notti</i>	Liver	Mississippi, EUA	Fournie <i>et al.</i> (1985)

Fonte: Amoras (2024).

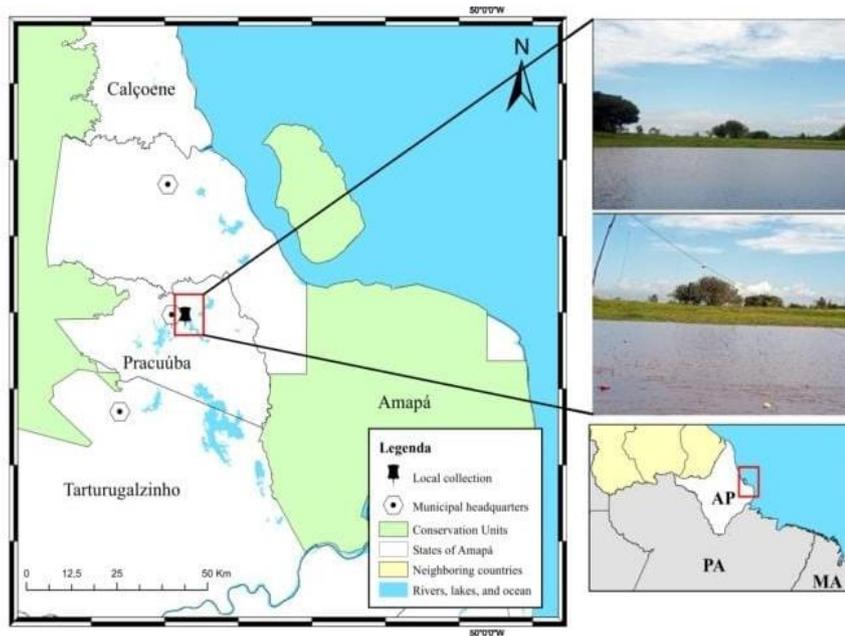


Figure 1. Pracuúba-Amapá Municipality's geographical location in Brazil.

190x134mm (300 x 300 DPI)

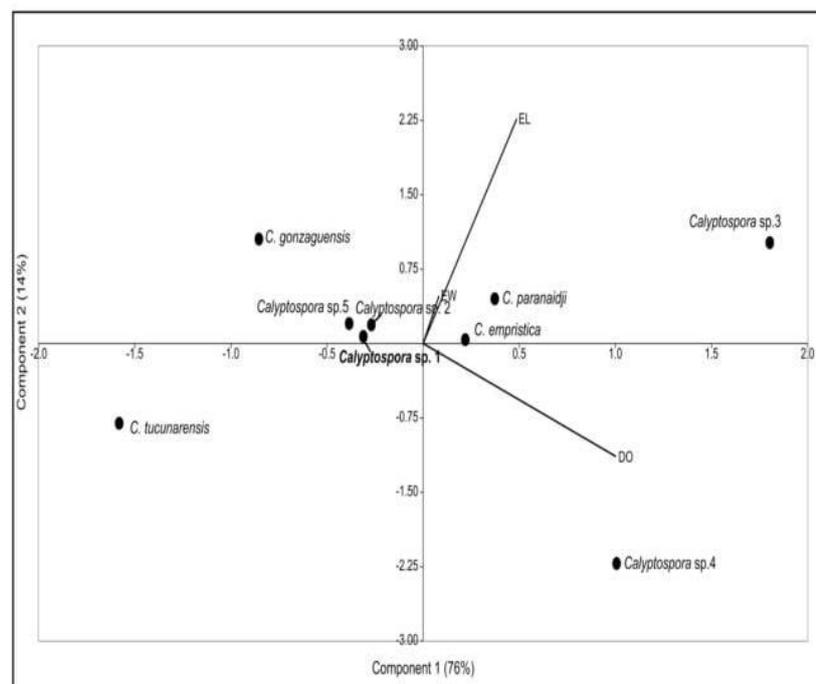


Figure 2. The principal component analysis (PCA) of *Calyptospora* spp. oocysts, combining the components oocyst diameter (OD), sporocyst length (SL), and sporocyst width (SW).

190x151mm (300 x 300 DPI)

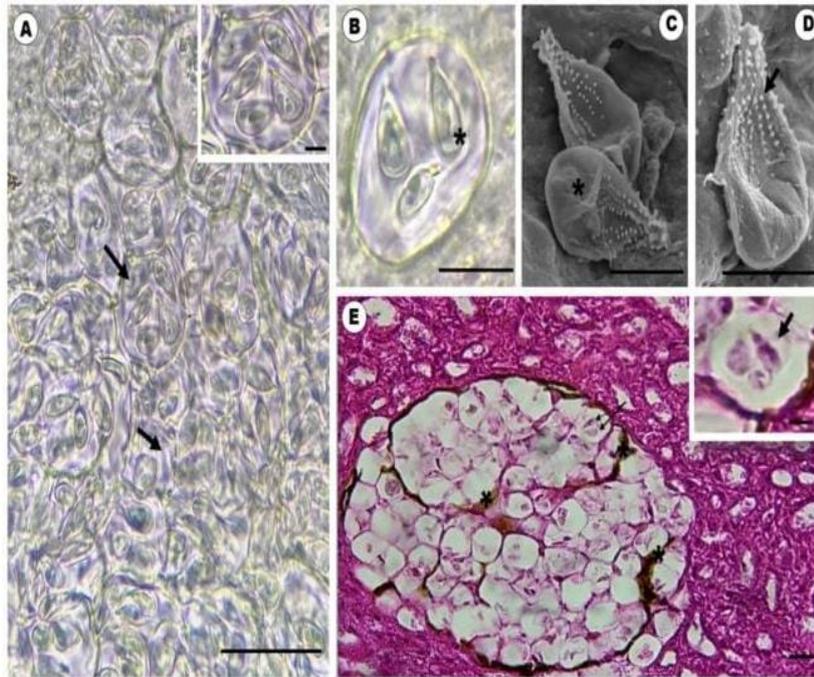


Figure 3. Infection of *Cichla monoculus* liver by *Calyptospora* sp. A- Groups of *Calyptospora* sp. oocysts, observed under light microscopy (ML) in the hepatic region, highlighting the oocysts (arrows), Scale Bar 20 μm, with detail of the oocyst with four sporocysts. Scale Bar 5 μm B- Oocyst, with emphasis on one of the sporocysts (*), Scale Bar 5 μm. C- Sporocysts visualized in greater detail in Scanning Electron Microscopy (*), Scale Bar 5 μm. D- Sporocysts, highlighting the structures called sporopods (arrow), Scale Bar 5 μm. E- Clusters of oocysts between liver cells, highlighting the formation of dark and light brown colored melanomacrophage bodies (MMC) (*), Scale Bar 20 μm. Detail of the pyriform-shaped sporocyst (arrows) H.E. staining, Scale Bar 5 μm.

190x151mm (300 x 300 DPI)

4 CONCLUSÕES GERAIS

Este trabalho revelou que os peixes da espécie *Cichla monoculus* oriundos do Município de Pracuúba-Amapá, apresentam parasitismo por coccídeos do gênero *Calyptospora* sp. com sítio de infecção no fígado com a formação de processo inflamatório confirmado por meio da análise histopatológica e infestação por mixozoários do gênero *Henneguya* sp. nas brânquias e *Ellipsomyxa* sp. na vesícula biliar. O relato do presente estudo demonstra que a saúde do hospedeiro pode estar em risco, pois trata-se de parasitos que são maléficos a sanidade de animais aquáticos. Sendo primordial a realização de pesquisas deste âmbito, pois a espécie *Cichla monoculus* é um peixe de grande valor comercial e cultural para o Município de Pracuúba e ao estado do Amapá e conforme os achados apresenta-se com o parasitismo descrito.

Esta é a primeira pesquisa na área da ectioparasitologia realizada no Município de Pracuúba-Amapá e poderá contribuir com a comunidade científica para o planejamento de técnicas com intuito de melhorar a sanidade dos peixes e promover um pescado de melhor qualidade a população, possibilitando também uma base para realização de futuras pesquisas nesta área em prol do desenvolvimento científico.

REFERÊNCIAS GERAIS

- ABDALLAH, V.D. *et al.* Two new species of *Henneguya* Thélohan, 1892 (Myxozoa, Myxobolidae), parasitic on the gills of *Hoplosternum littorale* (Callichthyidae) and *Cyphocharax gilbert* (Curimatidae) from the Guandu River, State of Rio de Janeiro, Brazil. **Parasitologia latinoamericano**. v.62, n.1-2, p. 35-41, 2007.
- ABRUNHOSA, J. *et al.* *Myxobolus marajoensis* sp. n.(Myxosporea: Myxobolidae), parasite of the freshwater catfish *Rhamdia quelen* from the Brazilian Amazon region. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 26, n. 4, p. 465-471, 2017.
- ACOSTA, A. A., *et al.* Aspectos parasitológicos dos peixes. In: SILVA, RJ., orgs. **Integridade ambiental da represa de Jurumirim: ictiofauna e relações ecológicas** [online]. São Paulo: Editora UNESP, 2016, p. 115-192. ISBN 978-85-6833-478-2.
- ADRIANO, E. A. *et al.* Phylogenetic and host-parasite relationship analysis of *Henneguya multiplasmodialis* n. sp. infecting *Pseudoplatystoma* spp. in Brazilian Pantanal wetland. **Veterinary Parasitology**, v. 30, n. 185, p. 110–120, 2012.
- ANDRADE F. *et al.* Análise filogenética de duas espécies simpátricas de tucunaré (*cichla*, perciformes), com registro de hibridização em diferentes pontos da bacia amazônica. **Revista Virtual de Iniciação Acadêmica da UFPA** , v. 1, n. 1, p. 1-11, 2001.
- AZEVEDO, C. *et al.* Fine Structure of the Plasmodia and Myxospore of *Ellipsomyxa gobioides* n. sp. (Myxozoa) Found in the Gallbladder of *Gobioides broussonnetii* (Teleostei: Gobiidae) from the Lower Amazon River. **Journal of Eukaryotic Microbiology**. v. 60, p. 490–496, 2013.
- AZEVEDO, C. *et al.* Fine Structure of the Plasmodia and Myxospore of *Ellipsomyxa gobioides* n. sp. (Myxozoa) Found in the Gallbladder of *Gobioides broussonnetii* (Teleostei: Gobiidae) from the Lower Amazon River. **Journal of Eukaryotic Microbiology**. v.60, p.490–496, 2013.
- AZEVEDO, C. *et al.* *Henneguya torpedo* sp. nov. (Myxozoa), a parasite from the nervous system of the Amazonian teleost *Brachyhypopomus pinnicaudatus* (Hypopomidae). **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 93, n. 3, p. 235–242, 2011.
- 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.
- AZEVEDO, R. K. *et al.* Morphological and molecular analysis of *Henneguya lagunensis* n. sp. (Cnidaria, Myxosporea) parasitizing the gills of *Eugerres brasiliensis* from Brazil. **Parasitology international**, v. 80, n. 102184, p. 1383-5769, 2021.
- BARTHOLOMEW, J. L.; ATKINSON, S. D.; HALLETT, S. L. Involvement of *Manayukia speciosa* (Annelida: Polichaeta: Sabellidae) in the life cycle of *Parvicapsula minicornis*, a myxozoan parasite of pacific salmon. **Journal of Parasitology**, v. 92, p. 742–748, 2006.
- BÉKÉSI, L.; SZÉKELY, C.; MOLNÁR, K. Atuais conhecimentos sobre Myxosporea (Myxozoa), parasitas de peixes. Um estágio alternative dos parasitas no Brasil. Brazilian

Journal of Veterinary Research and Animal Science, São Paulo. v. 39, n.5, p. 271- 276, 2002.

BÉKÉSI, L; MOLNÁR, K. *Calyptospora Tucunarensis* n.sp.(Apicomplexa: Sporozoea) from the liver of tucunaré *Cichla ocellaris* in Brazil. **Systematic Parasitology**, v.18, p.127-132, 1991.

BERMEJO, G.A; HOLZER, A.S. Advances and Discoveries in Myxozoan Genomics. **Trends in parasitology**. p.17, 2021.

BONAR, C.J. *et al.* Hepatic *Calyptospora* sp. (Apicomplexa) infection in a wild-born, aquarium-held clutch of juvenile arapaima *Arapaima gigas* (Osteoglossidae). **Diseases of aquatic organisms**, v. 70, p. 81-82, 2006.

BRINN, M.N.A. *et al.* Karyological evidence for interspecific hybridization between *Cichla monoculus* and *C.temensis* (Perciformes, Cichlidae) in the Amazon. **Wiley Online Library. Hereditas**. v.141, n.3, p.252-257, 2005.

BUSHT, A.O. *et al.* A parasitologia encontra a ecologia em seus próprios termos: Margoliis *et.al*, Revisado. **The Journal of parasitology**. v.83, n.4, p.575-583, 1997.

CANNING, E.U; OKAMURA, B. Biodiversity and Evolution of the Myxozoa. **Advances in parasitology**. v.56, 2004.

CAPODIFOGGIO, K.R.H. *et al.* Morphology and molecular data of two novel cnidarian myxosporean (Myxobolidae) infecting *Piaractus brachipomus* from the Amazon basin. **Acta tropica**. v.209, 2020.

CARVALHO, A. A. *et al.* Infection of *Henneguya* sp. on 38 the gills of *Metynnis lippincottianus* from Curiaú river in Eastern Amazon Region (Brazil). **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 29, n. 3, 2020.

CHANDRAN, A., *et al.* *Ellipsomyxa ariusi* sp. nov. (Myxosporea: Ceratomyxidae), a new myxosporean infecting the gallbladder of threadfin sea catfish *Arius arius* in India. **Diseases of aquatic organisms**. v.19, n.142. p. 83-97, 2020.

CHAUDHARY, A. Redescription of *Henneguya chaudhuryi* (Bajpai & Haldar, 1982) (Myxosporea: Myxobolidae), infecting the gills of the freshwater fish *Channa punctata* (Bloch) (Perciformes: Channidae) in India. **Systematic Parasitology**. v. 94, p.403-411, 2017.

CLARK, G. T. Molecular approaches and techniques. Protozoan and metazoan infections. **Fish diseases and disorders**. v. 1, p. 725-752, 2006.

CORRÊA, L. L. Avaliação de metazoários parasitos de *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Pisces: Erythrinidae) como potencial indicadores de qualidade ambiental. 2009. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, 2009.

DYKOVÁ, I. **Phylum Microspora**. In: Woo, P. T. K. (Ed.). Fish diseases and disorders. Protozoan and metazoan infections, 2 ° ed. CABI publishing, Wallingford, v. 1, p.205-229, 2006.

- DYKOVÁ, I.; FIALA, I.; NIE, P. *Myxobolus lentisuturalis* sp. n. (Myxozoa: Myxobolidae), a new muscle-infecting species from the Prussian carp, *Carassius gibelio* from China. **Folia parasitológica**, v. 49, p. 253-258, 2002.
- EIRAS, J. C. **Elementos de Ictioparasitologia**. Porto: Fundação Eng. António de Almeida, 1994. 339p.
- EIRAS, J.C. **Aspectos Gerais da Patologia das Parasitoses de Peixes Marinhos**. Sanidade de Organismos Aquáticos. Editora Varela, 2004. 143-156 p.
- EIRAS, Jorge C. (ed.) **Parasitos de peixes marinhos da América do Sul**. Rio Grande, 2016.
- FARIAS, T.H. V; PALA, G.; ARAÚJO, L. R. S. Parasitas de peixes com potencial zoonótico descritos no Brasil. **Ars veterinaria**, Jaboticabal, SP, v.37, n.4, 211-224, 2021.
- FEIST, S. W.; LONGSHAW, M. **Phylum Myxozoa**. In: WOO, P. T. K. Fish Diseases and Disorders. Protozoan and Metazoan Infections, 2ª Ed. UK: CAB International. v. 1, 2006. 230-296 p.
- FERREIRA F.L. O fenômeno parasitismo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 7. p.262-277, 1973.
- FERREIRA, R.L.D.S. *et al.* *Henneguya sacacaensis* n. sp. (Myxozoa: Myxosporea) parasitizing gills of the acará bicudo *Satanoperca jurupari* (Osteichthyes: Cichlidae) in eastern Amazon. **Brazilian Journal of veterinary parasitology**. v.29, n.2, 2020.
- FERREIRA, R.L.D.S. *et al.* Parasitology International *Ellipsomyxa tucujuensis* n. sp. (Myxozoa: Ceratomyxidae), a parasite of *Satanoperca jurupari* (Osteichthyes: Cichlidae) from the Brazilian Amazon. **Parasitology international**. p. 83, n.102332, 2021.
- FIALA, I. *et al.* Adaptive Radiation and Evolution Within the Myxozoa. **Myxozoan Evolution, Ecology and Development**, p 69–84, 2015.
- FIGUEREDO, R.T.A. *et al.* Myxozoan Ceratomyxids Infecting the Gallbladder of Amazonian Ornamental Cichlid Fish: Description of *Ellipsomyxa santarenensis* n. sp. and Report of *Ceratomyxa amazonensis* in a New Host. **diversity**, v.15, n.830, 2023.
- FINK, W.L; FINK, S.V. A Amazonia Central e seus peixes. **Acta Amazonica**. v.8, n.4, p.19-42, 1978.
- GILBERT, M. A.; GRANATH JR., W. O. Whirling disease of salmonid fish: life cycle, biology, and disease. **Journal of Parasitology**, v. 89, p. 658-667, 2003.
- GRUHL, A. **Myxozoa**. Evolutionary Developmental Biology of Invertebrates 1: Introduction, Non-Bilateria, Acoelomorpha, Xenoturbellida, Chaetognatha. p.165-177, 2015. E-book
- HOEINGHAUS, D. J; LAYMAN, C.A; ARRINGTON, D.A; WINEMILLER, K. O. Movement of *Cichla* species (Cichlidae) in a Venezuelan floodplain river. **Neotropical Ichthyology**, v. 1, n. 2, p. 121-126, 2003.

- JORGE, M. et al. *Henneguya polarislonga* n. sp. (Cnidaria: Myxosporea) parasitizing *Astyanax lacustris* (Lütken, 1875) with an insight on its life cycle. **Parasitology international**. v.91, 2022.
- JUNIOR, A.C.S.S. Myxosporidiose em peixes de água doce. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 2, n. 2, p. 25-39, 2012.
- KALLERT, M.D. *et al.* Myxozoan transmission via actinospores: New insights into mechanisms and adaptations for host invasion, **Parasitology**, v. 134, v. 12, p.1741-50, 2007.
- KAWAI, T. et al. Identification of *Kudoa septempunctata* as the causative agent of novel food poisoning outbreaks in Japan by consumption of *Paralichthys olivaceus* in raw fish. **Clinical Infectious Diseases**, [s. l], v. 54, n. 8, p. 1046-1052, 2012.
- KENT, M.L. *et al.* **Recent Advances in Our Knowledge of the Myxozoa**. J. Eukaryot. Microbiol., v. 48, n. 4, 2001.
- KENT, M.L. et al. Recent Advances in Our Knowledge of the Myxozoa, **The Journal of Eukaryotic Microbiology**, v.48. n.4. p.395-413, 2001.
- KOCHER, T.D. Adaptive evolution and explosive speciation: the cichlid fish model. **Nature Reviews Genetics**, v. 5, p. 288–298, 2004.
- KØIE, M. 2003. *Ellipsomyxa gobii* gen. et sp. n. (Myxozoa: Ceratomyxidae) in the common goby *Pomatoschistus microps* (Teleostei: Gobiidae) from Denmark. **Folia Parasitologica.**, v. 50, p.269–27, 2003.
- KULLANDER, S. O. A phylogeny and classification of the South American Cichlidae (Teleostei: Perciformes). (ed.) **Phylogeny and classification of Neotropical fishes**. p. 461-498, 1998.
- KULLANDER, S. O.; FERREIRA, E. J. G. A review of the South American cichlid genus *Cichla*, with descriptions of nine new species (Teleostei: Cichlidae). **Ichthyology Explorer Freshwaters**, v. 17, n. 4, p. 289-398, 2006.
- KULLANDER, S.O. **Cichlid fishes of the Amazon River drainage of Peru**. Department of Vertebrate Zoology, Research Division, Swedish Museum of Natural History, Stockholm, Sweden, 394 p., 1986.
- KULLANDER, S.O., Family Cichlidae. In: Reis, R.E., Kullander, S.O., Ferraris, C.J. (Eds.), **Checklist of the Freshwater Fishes of South America**. Edipucrs. Porto Alegre, Brazil, pp. 605–654. 2003.
- KULLANDER, S.O.; FERREIRA, E.J.G. A review of the South American cichlid genus *Cichla*, with descriptions of nine new species (Teleostei: Cichlidae). **Ichthyological Exploration Freshwaters**, v. 17, n. 4, p. 289-398, 2006.
- LIMA, L.G.D; SOUZA, A.O; BATISTA, V.D.S. Conhecimento ecológico local utilizado para cogestão na pesca: o caso tucunaré, *Cichla* spp (cichlidae), na Amazônia Central, Brasil. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 4, n. 1, p. 532-546, 2021.

- LOM J., DYKOVÁ I. Ultrastructure of *Nucleospora secunda* n. sp. (Microsporidia), parasite of enterocytes of *Nothobranchius rubripinnis*. **European Journal of Protistology**, v. 38, p. 19-27. 2002.
- LOM, J. DYKOVÁ, I. **Protozoan parasites of fishes**. Developments in Aquaculture and Fisheries Science. v.26, p.315, 1992.
- LOM, J. et al. Revised classification of the class Myxosporea Bütschli, 1881. **Folia Parasitologica**, v. 31, n. 3, p. 193-205, 1984.
- LOM, J.; DYKOVÁ, I. Myxosporea (Phylum Myxozoa). In: WOO, P. T. K. (Ed.). Fish Diseases and Disorders, Protozoan and Metazoan Infections. CAB International: Wallingford, Oxon, UK, p. 97–148, 1995.
- LOM, J.; DYKOVÁ, I. Myxozoan genera: definition and notes on taxonomy, life cycle terminology and pathogenic species. **Folia parasitológica**. v.53, n.1, p.1-36, 2006.
- LORENZO, S. **Anisakis y alergia**: Tesis doctoral. Imprenta Universitaria, Santiago de Compostela, Ubeira, 2000. p. 182.
- LUNA LG. **Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. New York: McGraw-Hill; 1968.
- MACHADO-THOMÉ, P. C.; SABORA, C. C.; THOMÉ, M. P. M. Fauna parasitária do tegumento do sairú *Cyphocharax gilbert* (quoy e gaimard, 1824) (characiformes: curimatidae) em Dois Riachos da Porção Média da Bacia do Rio Muriaé, Itaperuna, Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Interdisciplinar do Pensamento Científico – REINPEC**, v. 1, n. 1, p. 1-11, 2015.
- MACIEL, P.O. *et al.* *Myxobolus* sp. (Myxozoa) in the circulating blood of *Colossoma macropomum* (Osteichthyes, Characidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 20, n. 1, p. 82-84, 2011.
- MALTA, J.C.O. Os peixes de um lago de várzea da Amazônia Central (lago Janauacá, rio Solimões) e suas relações com crustáceos ectoparasitas (Branchiura: Argulidae). **Acta Amazônica**, v.14, n. 3-4, p. 355-372, 1984.
- MATOS E. *et al.* Ultraestrutura de protozoários parasitas de peixes da região amazônica. **Acta Amazônica**, v.29, n.4, p.575-585, 1999.
- MATOS, E. *et al.* Incidência de parasitas do Phylum Myxozoa (Sub-reino Protozoa) em peixes da região amazônica, com especial destaque para o gênero *Henneguya*. **Revista de Ciência Agrária**. n.36, p.83 - 99, 2001.
- MATOS, P. *et al.* 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. **Parasitology research**, p. 1-7, 2018.
- MOREIRA, G. S. A. Taxonomia, filogenia e interação parasita-hospedeiro na infecção de mixosporídeos em piapara (*Leporinus obtusidens*) e dourado (*Salminus brasiliensis*) oriundos

do rio Mogi Guaçu. 2013. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade de São Paulo, São Paulo, Pirassununga, 2013.

MOREIRA, Gabriel Sassarão Alves. **Taxonomia, filogenia e interação parasita-hospedeiro na infecção de mixosporídeos em piapara (*Leporinus obtusidens*) e dourado (*Salminus brasiliensis*) oriundos do rio Mogi-Guaçu, São Paulo, Brasil.** 2013. Dissertação (mestrado em zootecnia) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

NEGRÃO, M.C.D.S. *et al.* Prevalence and molecular characterisation of *Calyptospora* parasites Overstreet, Hawkins and Fournié, 1984 (Apicomplexa: Calyptosporidae) in fishes from the Eastern Amazon, Brazil. **Parasitology International.** v.73, 2019.

OLIVEIRA, M.S.B. *et al.* Metazoan Parasites of *Geophagus proximus*, a Cichlidae Fish from the Eastern Amazon (Brazil). **Natural Resources**, v. 8. n.3, 2017.

NETO, C.F. *et al.* Dieta do tucunaré *Cichla monoculus* agassiz, 1831- açude thomaz osterne de alencar- semiárido cearense. **Cadernos de Cultura e Ciência.**, v.16, n.1, 2017.

NEVEROV, A.M. *et al.* Apoptotic gene loss in Cnidaria is associated with transition to parasitism. **Neverov Scientific reports.** v.13 n. 8015, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-34248-y>

OKAMURA, B., GRUHL, A., REFT, A.J. **Cnidarian origins of Myxozoa.** Myxozoan Evolution, Ecology and Development, Springer, Switzerland. pp. 45–68, 2015.

OKAMURA, B.; GRUHL, A.; BARTHOLOMEW, J. L. (Eds.). Myxozoan Evolution, ecology and Development. Corvallis, 2015. E-book. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-7091-1862-7_7. Acesso em: 25 de novembro de 2023.

OLIVEIRA, J.E.F.D. *et al.* Hepatic coccidiosis in *Serrasalmus rhombeus* Linnaeus, 1766 from the Amazon basin: morphological and histopathological aspects. **Brazilian journal of veterinary parasitology**, v. 30, n.1, p.1-8, 2021.

OLSEN, O. W. **Animal Parasites-Their life cycles and ecology.** University Park Press. Maryland, U.S.A. p. 562, 1974.

PAVANELLI, G.C.; EIRAS, J.C. e TAKEMOTO, R.M. **Doenças de Peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento.** 3ª Ed., Eduem, 2008. 307p.

RABELO, H.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M. A dieta e o consumo diário de alimento de *Cichla monoculus* na Amazônia central. **Acta Amazônica**, v.32, p. 707-724, 2002.

RAMOS, A.B.M.A. *et al.* Coccidiose hepática em *Aspistor quadriscutis*, Valenciennes, 1840 (Teleostei: Ariidae) capturados no Estuário do nordeste paraense, Amazonia, Brasil. **Archives of Veterinary Science.** v.23, n.3, p.63-67, 2018.

- RAMOS, B.M.A.R. *et al.* Coccidiose hepática em *Aspistor quadriscutis*, valenciennes, 1840 (teleostei: ariidae) capturados no estuário do nordeste paraense, Amazônia, Brasil. **Archives of Veterinary Science**. v.23, n.3, p.63-67, 2018.
- RANGEL, L.F., SANTOS, M.J; ROCHA, S. Synopsis of the species of *Henneguya* Thélohan, 1892 (Cnidaria: Myxosporea: Myxobolidae) described since 2012. **Systematic Parasitology**, n.100, p. 291–305, 2023.
- ROCHA, S.; CASAL, G.; AZEVEDO, C. Studying microparasites of the phyla Myxozoa and Microsporidia infecting fish- The ultrastructural contribution. **Ultrastructural Pathology**. v. 41, n.1, p.99-101, 2017.
- RODRÍGUEZ, M. **Parásitos de importância en la salud pública**. Curso taller: Diagnóstico y control de enfermedades em peces de cultivo. Centro de Investigaciones Pesqueras. Ciudad de la Habana. Cuba, 1998. p. 345.
- ROSSER, T.G. *et al.* 18S rRNA gene sequencing identifies a novel species of *Henneguya* parasitizing the gills of the channel catfish (Ictaluridae). **Parasitology Research**. v. 113, p. 4651–4658, 2014.
- SANTIAGO, H. *et al.* Morphology and histopathology of *Calyptospora* sp. (Apicomplexa: Calyptosporidae) in speckled peacock bass, *Cichla temensis* Humboldt, 1821 (Perciformes: Cichlidae), from the Marajó-Açu River, Marajó Island, Brazil. **Parasitology Research**. v.110, n.6, p.2569-2572, 2012.
- SANTOS, G. M. dos; SANTOS, A. C. M. dos. Sustentabilidade da pesca na Amazônia. **Estudos Avançados**, 19 (54): 165-182, 2005.
- SANTOS, G.; FERREIRA; E., ZUANON, J. **Peixes comerciais de Manaus: Ibama/AM, ProVárzea**, 144 pp, 2006.
- SASTRAPRAWIRA, S.M. *et al.* A review on introduced *Cichla* spp. and emerging concerns. **Science Direct**. v.6, n. e05370, p. 1-11, 2020.
- SILVA JÚNIOR, A. C. S. Estudos morfológico de myxosporídio em *Hemiodus unimaculatus* Bloch, 1794 (Charariformes: Hemiodontidae) oriundos do Município de Ferreira Gomes, Estado do Amapá. **Jornal system Biota Amazônia**, Macapá, v. 4, n. 1, p. 9-14, 2014.
- SILVA, D.T.D. *et al.* *Ellipsomyxa arariensis* n. sp. (Myxozoa: Ceratomyxidae), a new myxozoan parasite of *Pygocentrus nattereri* Kner, 1858 (Teleostei: Characidae) and *Pimelodus ornatus* Kner, 1858 (Teleostei: Pimelodidae) from Marajó Island, in the Brazilian Amazon region. **Parasitology Research**. v. 117, n. 5, 2018.
- SILVA, L.M.A.; DIAS, M.T. A pesca artesanal no estado do Amapá: Estado atual e desafios. **Boletim Técnico Científico do Cepnor**, v. 10, n. 1, p: 43 - 53, 2010.
- SILVA, M.C.D. *et al.* *Calyptospora* sp. in *Brachyplatystoma vaillantii* trapped at the Vigia, State of Pará, Brazil. **Rev.Bras. Parasitol.** v.21, n.2, p.176-178, 2012.

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

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

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

SINDEAUX-NETO, J. L. *et al.* Infection of the muscle tissue of the filter-feeding cichlid, *Chaetobranchopsis orbicularis* Steindachner, 1875, by *Kudoa orbicularis* (Myxozoa:Multivalvulidae) on Marajó Island in the Brazilian Amazon region. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 6, p. 1601-1606, 2017.

TAKEMOTO. R.M, *et al.* **Parasitos de Peixes de Águas Continentais. Sanidade de Organismos Aquáticos**. Editora Varela, 2004. p. 179-197.

TEIXEIRA, R. J; *et al.* Infecção das brânquias de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por Myxosporea. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 38, n. 6, p. 1085-1090, 2018.

THATCHER, V. E. **Amazon fish parasites**. 2ed. Aquatic Biodiversity in Latin America, Sofia, Moscow. p. 508, 2006.

UBEIRA, F. M. *et al.* **Anisakuíosis y alergia. Un estudio epidemiológico en la comunidad Autónoma Gallega**. Documentos Técnicos de Salud Pública. Consellería de Sanidade e Servizos Sociais. Xunta de Galicia, Serie B, n. 24, 2000. p. 102.

VELASCO M., VIDEIRA M., NASCIMENTO L.C., MATOS P., GONCALVES E.C., MATOS E. 2016: *Henneguya paraensis* n. sp. (Myxozoa; Myxosporea), a new gill parasite of the Amazonian fish *Cichla temensis* (Teleostei: Cichlidae): morphological and molecular aspects. **Parasitol. Res.** 115: 1779-1787.

VELASCO, M. *et al.* *Henneguya paraensis* n. sp. (Myxozoa; Myxosporea), a new gill parasite of the Amazonian fish *Cichla temensis* (Teleostei: Cichlidae): morphological and molecular aspects. **Parasitology Research**. v.115, p. 1779-1787, 2016.

VELASCO, M. *et al.* Infection by *Henneguya* sp. (Myxozoa) in the bone tissue of the gill filaments of the Amazonian catfish *Hypophthalmus marginatus* (Siluriformes). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 3, p. 365-369, 2015.

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

VELASCO, M.; VIDEIRA, M.; SILVA, J.M.V.; SANCHES, O.; MATOS, P.S.; SÃO CLEMENTE, S.C.; MATOS, E. Esophageal infection due to *Kudoa* sp.(Myxozoa) in mapara catfish, *Hypophthalmus marginatus*. **Aquaculture Reports**. V. 2, p. 22-25, 2015.

VIDEIRA, M. *et al.* An anatomopathological study of hepatic coccidiosis (*Calyptospora* sp.) in the Acará-pixuna, *Aequidens plagiozonatus* Kullander, 1984 from the Brazilian state of Pará. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.65, n.1, p.91-94, 2013.

VOTÝPKA, J. *et al.* Apicomplexa. Archibald *et al.* (eds.). **Handbook of the Protists**, p.1-58, 2016.

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

WILLIS, S.C. *et al.* Simultaneous delimitation of species and quantification of interspecific hybridization in Amazonian peacock cichlids (genus *cichla*) using multi-locus data. **BMC Evolutionary Biology**. p. 12-96, 2012.

WINEMILLER, K.O. *et al.* Ecology of peacock cichlids (*Cichla* spp.) in Venezuela. **Copeia**, v.4, p.690-696, 1997.

WOLF, K.; MARKIW, M. E. Biology contravenes taxonomy in the Myxozoa: new discoveries show alternation of invertebrate and vertebrate hosts. **Science**, v. 22, p. 1449–1452, 1984.

ZACARDI, D.M; PASSOS, L.D.S; SILVA, T.C. da. A pesca artesanal na região dos lagos: O caso do município de Pracuúba, Amapá. **Revista desafios**, v.08, n.01, 2021.

ZATTI, S.A. *et al.* Growing diversity supports radiation of an *Ellipsomyxa* lineage into the Amazon freshwater: Description of two novel species parasitizing fish from Tapajós and Amazon rivers. **Acta Tropica**. v.211 n. 105616, 2020.

ZATTI, S.A. *et al.* Novel *Henneguya* spp. (Cnidaria: Myxozoa) from cichlid fish in the Amazon basin cluster by geographic origin. **Parasitology Research**. v.117, n.3, p.849-859, 2018.

ZATTI, Suellen Aparecida. **Descrição morfológica e molecular de parasitos do filo myxozoa em peixes *prochilodus costatus* e *prochilodus argenteus* do rio São Francisco, mg e *prochilodus lineatus* do rio Mogi Guaçu, sp. 2013.** Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução) – Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas, Universidade Federal de São Paulo, Pirassununga, 2013.

ANEXO A – Licença da Comissão de Ética da Utilização de Animais (CEUA) – UFRA



Comissão de Ética no
Uso de Animais CEUA/UFRA



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Aspectos morfológicos e filogenéticos de parasitos: Myxozoa e Apicomplexa de *Cichla monoculus* oriundos do Município de Pracuúba- Amapá, Brasil", protocolada sob o CEUA nº 9229270723 (ID 000672), sob a responsabilidade de **Michele Velasco Oliveira da Silva** e equipe; **ELOIZA SARMENTO AMORAS**; **NAYANA MORAES DE SENA**; **JHONATA EDUARD DE OLIVEIRA FARIAS**; **JOSÉ LEDMIR SINDEAX NETO** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural da Amazônia (CEUA/UFRA) na reunião de 03/05/2024.

We certify that the proposal "Morphological and phylogenetic aspects of parasites: Myxozoa and Apicomplexa of *Cichla monoculus* from the Municipality of Pracuúba- Amapá, Brazil", utilizing 30 Fishes (males and females), protocol number CEUA 9229270723 (ID 000672), under the responsibility of **Michele Velasco Oliveira da Silva** and team; **ELOIZA SARMENTO AMORAS**; **NAYANA MORAES DE SENA**; **JHONATA EDUARD DE OLIVEIRA FARIAS**; **JOSÉ LEDMIR SINDEAX NETO** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal Rural University of Amazonia (CEUA/UFRA) in the meeting of 05/03/2024.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **08/2023** a **12/2023**

Área: **Medicina Veterinária**

Origem: **Animais da natureza/selvagens**

Espécie: **Peixes**

sexo: **Machos e Fêmeas**

idade: **6 a 12 meses**

N: **30**

Linhagem: **?**

Peso: **200 a 500 g**

Local do experimento: Lago Sacaizal, localizado no Município de Pracuúba, Estado do Amapá.

Belém, 03 de maio de 2024


PORTARIA Nº 643/2023 - REITORIA
CEUA/UFRA

Prof. Dra. Ágatha Rossanni Alves Damasceno
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal Rural da Amazônia


PORTARIA Nº 643/2023 - REITORIA
CEUA/UFRA

Prof. Dra. Alanna do Socorro Lima da Silva
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal Rural da Amazônia

ANEXO B- – Licença de coleta dos espécimes SISBIO-ICMBio



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 89522-1	Data da Emissão: 25/07/2023 10:57:08	Data da Revalidação*: 25/07/2024
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: ELOIZA SARMENTO AMORAS	CPF: 033.719.782-22
Título do Projeto: Aspectos morfológicos e filogenéticos de parasitos: Myxozoa e Aplcomplexa de <i>Cichla monoculus</i> oriundos do Município de Pracuúba- Amapá, Brasil.	
Nome da Instituição: Universidade Federal Rural da Amazônia	CNPJ: 05.200.001/0001-01

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta dos peixes e levantamento bibliográfico	08/2023	12/2023
2	Escrita do artigo	12/2023	01/2024
3	Análise molecular: Fixação de amostras, extração de DNA, realização de PCR	10/2023	10/2023
4	Processamento histológico: Inclusão em parafina, microtomia, coloração, montagem das lâminas, visual	09/2023	12/2023
5	Defesa final	05/2024	05/2024
6	Qualificação do projeto	09/2023	09/2023
7	Análise estatística	12/2023	12/2023
8	Sequenciamento de DNA, análise filogenéticas e filogenômicas	11/2023	11/2023
9	Análise em microscopia eletrônico de varredura	09/2023	09/2023
10	Submissão das licenças(SISBIO, CEUA e SISGEN)	07/2023	07/2023
11	Necropsia, Investigação de microparasitas e coleta de amostras com cistostecídeos parasitados	08/2023	12/2023

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	José Ledamir Sindeaux Neto	Coordenador	006.345.162-05	Brasileira
2	Jhonata Eduard Farias de Oliveira	Colaborador	019.091.432-78	Brasileira
3	MICHELE VELASCO OLIVEIRA DA SILVA	Orientadora	831.906.782-00	Brasileira
4	MARCELA NUNES VIDEIRA	Colaboradora	843.147.532-34	Brasileira

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0895220120230725

Página 1/5

ANEXO C- – Atestado de regularidade do sistema nacional de gestão do patrimônio genético e do conhecimento tradicional associado (SINGEN)



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Atestado de Regularidade de Acesso

Cadastro nº A326ED8

O Conselho de Gestão do Patrimônio Genético, no exercício da competência conferida pelo inciso IV do § 1º do art. 6º da Lei nº 13.123/2015, atesta que o acesso ao Patrimônio Genético, referente ao cadastro abaixo identificado e resumido, cumpriu os requisitos da Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos até a data de emissão deste atestado.

Número do cadastro: **A326ED8**
 Usuário: **UFRA**
 CPF/CNPJ: **05.200.001/0001-01**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

Cichla monoculus

Título da Atividade: **Aspectos morfológicos e filogenéticos de parasitos: Myxozoa e Apicomplexa de Cichla monoculus oriundos do Município de Pracuúba- Amapá, Brasil**

Equipe

Michele Velasco da Silva	UFRA
Eloiza Sarmento Amoras	Universidade Federal Rural da Amazônia(UFRA)
Jhonata Eduard de Oliveira Farias	Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA)
José Ledamir Sindaux Neto	Universidade Federal Rural da Amazônia(UFRA)
Marcela Nunes Videira	UEAP

Parceiras Nacionais

08.186.277/0001-62 / Universidade Federal do Amapá

Data do Cadastro: **27/06/2023 09:23:05**
 Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em 21:36 de 19/07/2023.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - **SISGEN**

ANEXO D- Normas de submissão e formatação de artigos da Revista Brasileira de Parasitologia veterinária.

Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária



POLÍTICAS EDITORIAIS

Política da seção

Os artigos submetidos à Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária deverão caracterizar-se como científicos e originais, essencialmente sobre parasitas de animais em geral, não devendo ser publicados anteriormente nem estar sob consideração para publicação em outro periódico.

A RBPV atribui a seus artigos as categorias de:

Artigo Original: deve relatar dados de pesquisa original, não tendo sido publicado em nenhum outro periódico.

Deve ser organizado obedecendo à seguinte sequência: Título Original (inglês), Título Traduzido (português), Título resumido (inglês), Autor(es)/Filiação Institucional, Abstract (inglês), Keywords, Resumo (português), Palavras-chave (português), Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões (ou combinação destes três últimos), Agradecimentos, Declaração de Ética, Declaração de Conflito de Interesse e Referências Bibliográficas. 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.

Comunicação Científica: 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.

Pode ser organizado seguindo a mesma sequência de um Artigo Original, porém sem a necessidade de se destacar os tópicos, sendo escritas em texto corrido, conciso e limitado a 4.000 palavras, podendo incluir até 3 figuras ou tabelas, combinadas. Não mais que 25 referências devem ser citadas.

Artigo de Revisão: condicionado a submissão e a solicitação por convite do editor-chefe. Revisões não solicitadas serão avaliadas pelo editor-chefe ou editores científicos assistentes, desde que sejam escritas por pesquisadores especialistas no tópico escolhido. O texto principal dos artigos de revisão deve ter no mínimo 4.000 palavras.

Submissão de trabalhos

A submissão de trabalhos na RBPV é online pelo sistema [ScholarOne](#). O autor correspondente deve fornecer um ID ORCID (Open Researcher and Contributor ID, <http://orcid.org/>) no momento da submissão inserindo-o no perfil do usuário no sistema de submissão. Recomendamos que seja feito o mesmo para os coautores.

O(s) autor(es) 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.

Taxa de processamento de artigos

A RBPV não cobra taxa de submissão de artigos. Porém, após o aceite do artigo, será cobrada a seguinte taxa de publicação:

R\$ 500,00 (associados do CBPV em dia com as anuidades);

R\$ 1.000,00 (não-associados do CBPV);

US\$ 300,00 (autores estrangeiros)

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:

IBAN: BR460000000002690000288489C1

SWIFT BRASBRJJ5BO

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

Linguagem

Os trabalhos devem ser submetidos em inglês. Junto ao trabalho submetido anexar o certificado de revisão de inglês, emitido por um dos revisores credenciados pela revista:

ELSEVIER AUTHOR WEBSHOP: <https://webshop.elsevier.com/>
 WILEY EDITING SERVICES: <https://wileyeditingservices.com/en/>
 PUBLICASE INTERNATIONAL: <https://www.publicase.com.br/>
 DAVID GEORGE ELLIFF: david.elliff@bsnet.com.br
 BEATRICE ALLAIN: beatrice.tradutora@gmail.com
 AMERICAN JOURNAL EXPERTS: <https://www.aje.com/c/RBPV10>
 EDITAGE PUBLISH & FLOURISH: <https://www.editage.com/>
 BIOEDIT SCIENTIFIC EDITING: <https://www.bioedit.com/>
 JOURNAL PREP SERVICES: <https://www.journalprep.com/>
 PRECISE EDITING: <https://www.teamprecise.us/>
 CAMBRIDGE PROOFREADING: <https://www.cambridgeproofreading.online/about-us.php>
 ACADEMIC ENGLISH SPECIALISTS: <https://academicenglish.com>

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. O autor correspondente deverá enviar correspondência para revista confirmando que essa revisão foi feita por um dos autores nativos da língua inglesa.

Autoria

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.

Alterações de autoria, como exclusão ou inclusão de autores, devem ser feitas mediante um ofício ao Editor-chefe, com a justificativa, a qual será analisada dentro das políticas e submissão e aprovação. O autor excluído ou incluído, também deverá concordar, enviando um comunicado ao Editor-chefe.

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*. 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, selecionados pelo editor-chefe. Em caso de um parecer conflitante, 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) o formulário de avaliação e possíveis correções feitas diretamente no texto. Cabe aos autores responderem o questionamento ou correções sugeridos pelos revisores, individualmente por meio de uma carta-resposta. Os autores também deverão destacar as correções no texto, utilizando de cores diferentes para cada revisor. O avaliador poderá corrigir novamente o artigo, se necessário. Após o aceite pelos revisores *ad-hocs*, porém antes do aceite final, o artigo passará pela análise 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. Ainda nesta etapa, caso necessário, o manuscrito é encaminhado a um dos revisores de métodos estatísticos da RBPV.

Políticas de acesso aberto, direitos autorais e autoarquivamento

Acesso aberto

A revista publica artigos de acesso aberto de acordo com a Licença Creative Commons Attribution - CC BY, a qual permite uso irrestrito, distribuição e reprodução em qualquer meio, desde que o trabalho original seja devidamente citado.

Direitos autorais

Todos os direitos são reservados aos autores, de maneira irrestrita reservando ao periódico o direito a primeira publicação.

Acessibilidade

Os trabalhos publicados na Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária estarão sempre disponíveis online desde sua publicação.

Arquivamento

A RBPV incentiva os autores a arquivarem a versão final de seus manuscritos publicada no periódico, imediatamente após sua publicação no site da revista. Postar a versão em PDF publicada em blogs pessoais, repositórios institucionais e mídias sociais científicas como ResearchGate, Academia.edu entre outras, também é recomendado. Para isso, é necessário incluir a citação do artigo com o nome da RBPV e o DOI.

Conflitos de interesse

A RBPV exige o envio e publica a declaração de conflito de interesse junto ao artigo. O autor correspondente deve enviar uma declaração divulgando quaisquer potenciais conflitos de interesse, podendo ser eles de natureza pessoal, comercial, política ou acadêmica, envolvendo ou não compensação financeira, ou mesmo quando não houver qualquer conflito, para todos os autores. Essa informação deve ser fornecida conforme descrito nas normas de apresentação do manuscrito.

Suporte financeiro

A RBPV exige que todo o apoio financeiro recebido seja divulgado por todos os autores, incluindo o nome da agência financiadora e o (s) número (s) de identificação da concessão. Essa informação deve ser fornecida conforme descrito nas normas de apresentação do manuscrito.

Ética

Direitos animais

Experimentos que utilizam animais deverão ser conduzidos obedecendo às normas aprovadas pela Comissão de Ética e Bem-Estar Animal da instituição na qual o estudo foi desenvolvido, devendo os autores apresentarem o número de protocolo de submissão e aprovação dos trabalhos. Para autores estrangeiros, experimentos com animal também são previstos no "International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals" emitido pelo "Council for the International Organizations of Medical Sciences" (https://grants.nih.gov/grants/olaw/guiding_principles_2012.pdf), devendo os autores apresentarem o número de protocolo de submissão e aprovação dos trabalhos.

Essa informação deve ser fornecida conforme descrito nas normas de apresentação do manuscrito.

Sobre as alegações de má conduta de pesquisa

A RBPV segue as diretrizes éticas propostas pelo Committee on Publication Ethics (COPE - <https://publicationethics.org>) e o Código de Boas Práticas elaborado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP): https://fapesp.br/boaspraticas/2014/FAPESP-Codigo_de_Boas_Praticas_Cientificas.pdf

Suspeitas de má conduta

A RBPV privilegia imparcialidade, integridade e confidencialidade na sua avaliação. O editor-chefe entrará em contato com os revisores e editores assistentes, em caso de dúvida ou questionamento. Dúvidas relacionadas à autoria, deve-se estabelecer primeiro contato com o autor correspondente e, caso necessário, com todos os autores. Não tendo sido resolvido, as instituições de afiliação dos autores ou agências de fomento envolvidas no desenvolvimento da pesquisa, deverão ser contatadas.

Em caso de qualquer suspeita de ética em pesquisa ou problemas de má prática de publicação, autores, revisores, editores e leitores são incentivados a relatar por meio de e-mail ao editor-chefe.

Quando necessário, a RBPV publicará erratas, correções ou retratações.

Plágio

A RBPV faz a triagem de todos os manuscritos submetidos usando o sistema Similarity check (<https://www.crossref.org/services/similarity-check/>) distribuído pela iThenticate.

Pós-aceite

O trabalho diagramado em formato pdf, será enviado por e-mail ao autor correspondente. Alterações no artigo, quando aceitos 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.

Após diagramação e editoração, o editor-chefe faz as correções finais.

APRESENTAÇÃO DO MANUSCRITO

Formato do arquivo a ser submetido:

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 formato Word, 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.

O arquivo principal não deve conter os nomes dos autores, filiações, agradecimentos, declaração de ética, declaração de conflito de interesse, etc., para facilitar a revisão às cegas pelos pares. Inserir estas informações em uma Página de Título, em arquivo separado.

Características dos elementos de um trabalho científico

Título Original/Título Traduzido

O título "cheio" e o subtítulo (se houver) não devem exceder 25 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.

Título resumido

Enviar um título resumido para o cabeçalho das páginas.

Autor(es)/Filiação Institucional

Na identificação, deve constar: nome completo e por extenso de todos os autores (sem abreviação), separados por ponto e vírgula. 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: e-mail atualizado e ORCID.

Abstract/ 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/ Palavras-chave

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

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.

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

Colaboradores que não atendam aos critérios de autoria, poderão ser listados nesta seção. Poderá haver agradecimento a pessoa ou instituição que forneceu auxílio técnico, sugestões, correção ou sugestão na escrita ou que de alguma forma colaborou para a elaboração do trabalho. Todo o suporte financeiro recebido deverá ser apresentado nesta seção.

Declaração de Ética

Os autores devem apresentar o número de protocolo de submissão e aprovação dos trabalhos em uma seção própria no final do artigo, antes das referências.

Declaração de Conflito de Interesse

O autor correspondente deve enviar uma declaração divulgando quaisquer potenciais conflitos de interesse, podendo ser eles de natureza pessoal, comercial, política ou acadêmica, envolvendo ou não compensação financeira, ou mesmo quando não houver qualquer conflito, para todos os autores.

Referências

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 & 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)

Só serão admitidas referências de fácil acesso aos leitores. Referências de difícil acesso poderão ser solicitadas aos autores, e em caso de não disponibilidade, deverão ser retiradas do texto. Não serão aceitas citações 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. Apresentar a lista de referências em ordem alfabética e, se necessário, em ordem cronológica. 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>.

Para referências com 6 ou mais autores, apresentar os seis primeiros nomes seguidos da expressão et al.:

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

Munhoz AD, Simões IGPC, Calazans APF, Macedo LS, Cruz RDS, Lacerda LC, et al. Hemotropic mycoplasmas in naturally infected cats in Northeastern Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2018; 27(4): 446-454. <http://dx.doi.org/10.1590/s1984-296120180074>

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>.

Tabelas

Elaboradas apenas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e no final. 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.

Figuras

Figuras e elementos gráficos, utilizados ou elaborados pelos autores, devem seguir todas as orientações das seções abaixo.

Citações no texto

Gráficos, fotografias, esquemas, ilustrações etc. devem ser citados como figuras (Figura 1, Figura 2, Figuras 1, 2, 5-7, etc.) em ordem crescente à suas citações.

Resumo dos requisitos

A tabela abaixo resume os principais requisitos técnicos para arquivos de figuras.

Formato	TIFF ou JPG
Dimensões	Largura máxima: 2250 pixels (em 300 dpi). Altura máxima: 2625 pixels (em 300 dpi).
Resolução	300 – 600 dpi
Tamanho	<10 MB
Fontes	Arial, Helvetica, Times New Roman, Cambria Math ou Symbol em tamanho de 7,5 a 10 pt.
Nome	Fig1.tif, Fig2.tif, etc. Deve seguir a identificação das legendas.
Legenda	Deve estar inserida no texto do manuscrito e não dentro das figuras.

Uso de Cores

Embora a utilização de cores seja permitida, é importante que os autores se esforcem para garantir que o uso de cor não irá prejudicar o entendimento para leitores com algum distúrbio de visão. Recomendamos que os seguintes recursos sejam consultados antes de preparar figuras ou tabelas utilizando cores:

- [How to make scientific figures accessible to readers with color-blindness](#) (2019, Science News, The American Society for Cell Biology)
- Wong, B. Points of view: Color blindness. *Nat Methods* 8, 441 (2011). <https://doi.org/10.1038/nmeth.1618>

Edição e manipulação

Ao preparar suas imagens tome cuidado ao utilizar filtros ou outro tipo de edição para incluir destaques etc. As imagens não devem ser manipuladas ou ajustadas em excesso, de forma que possam causar a má interpretação das informações. Recomendamos que os autores observem as dicas e exemplos a seguir:

- ["What's in a picture? The temptation of image manipulation"](#) (Mike Rossner, Kenneth M. Yamada. *J Cell Biol* 5 July 2004; 166 (1): 11–15. doi: <https://doi.org/10.1083/jcb.200406019>).
- [Digital Images and Misconduct](#). (Council of Science Editors, White Paper on Publication Ethics)
- [Preparing a Manuscript for Submission to a Medical Journal > Illustrations \(Figures\)](#). (International Committee of Medical Journal Editors)

Dimensões, resolução e formatos

Gráficos, fotografias, esquemas, ilustrações etc. devem ser enviados nos formatos TIFF ou JPG, com alta resolução (300 ou 600 dpi) de acordo com o tipo e tamanho em que ela será utilizada na página, conforme requisitos abaixo:

- **Largura máxima:** 17,5 cm ⇒ 2100 pixels (em 300 dpi), 4500 pixels (em 600 dpi) ou 9000 pixels (em 1200 dpi).
- **Altura máxima:** 24,0 cm ⇒ 2850 pixels (em 300 dpi), 5650 pixels (em 600 dpi) ou 11300 pixels (em 1200 dpi).
- **Resolução de 1200 dpi (1 bit/canal):** adequada para desenhos, gráficos ou diagramas de linha monocromáticos (apenas em preto e branco).
- **Resolução de 300 dpi (RGB 8 bits/canal ou escala de cinza):** utilize para imagens coloridas ou em escala de cinza em que predominam meios tons ou gradientes, como em fotos, micrografias etc. e que não incluem muito texto.
- **Resolução de 600 dpi (RGB 8 bits/canal ou escala de cinza):** mesma indicação anterior, mas para os casos de imagens que incluem mais texto ou para painéis ou combinações de imagens de meios tons combinados com desenhos, gráficos ou diagramas de linha.
- **Compressão:** Para imagens JPG use a menor compressão possível para preservar a qualidade e para imagens em formato TIFF, se o seu programa de edição de imagens permitir, utilize a compactação de arquivos LZW para reduzir o tamanho do arquivo.

Texto dentro das figuras

Ao elaborar suas figuras, procure utilizar tipos e tamanhos de modo consistente entre todas as imagens, além de seguir as recomendações abaixo:

- **Fonte:** as fontes relacionadas abaixo são indicadas pois apresentam melhor legibilidade em diferentes meios e se enquadram ao estilo adotado pela revista:
 - **Arial ou Helvetica:** para textos e eixos, exceto fórmulas matemáticas.
 - **Times New Roman:** textos, eixos e fórmulas matemáticas.
 - **Cambria Math e Symbol:** símbolos.
- **Tamanho:** ao incluir textos nas figuras mantenha consistência entre todas e use tamanhos entre 7,5 pt e 10 pt e tenha certeza de que mesmo o menor texto permite a perfeita leitura de todos os textos e símbolos utilizados
- **Separadores decimais e de milhar:** em artigos em inglês, se houver uso de marcador de casa decimal, este deve ser indicado por ponto e, havendo marcador de casa de milhar, este deve ser indicado por vírgula.
- **Destaques como setas, símbolos, abreviações não convencionais etc.:** certifique-se de identificar seu uso claramente na legenda.
- **Não inclua legendas, citações ou indicação de fonte:** essas informações devem ser incluídas da legenda da figura, enviadas com o manuscrito.

Legendas

As legendas devem ser explicativas, iniciando pela identificação em negrito, seguida por um ponto e texto descritivo. Caso necessário, incluir após a descrição uma explicação para eventuais destaques como setas, símbolos (*, †, ‡, §, etc.), letras, números etc. que tenham sido utilizados, incluindo a indicação da fonte e citações, quando pertinente.

Quando necessário, os autores são responsáveis por obter a correta autorização para uso das imagens, fotos, ilustrações etc. de outras fontes, diretamente com o proprietário do copyright, e incluir a citação correspondente.

Exemplo:

Figura 1.

Comparação entre uma figura original de outra fonte e a versão elaborada pelos autores após obter a correta autorização. (A) Figura original tal como publicada no artigo original de Silva et al. 2015. (B) Figura adaptada pelos autores após obtenção de autorização do detentor do copyright. Fonte: Silva et al. 2015.

Espaço em branco

Elimine espaços em branco em excesso no entorno do conteúdo de suas imagens, mas mantenha uma pequena margem de segurança de ~5 pixels.

Figuras múltiplas ou painéis

Painéis, pranchas ou imagens com múltiplas partes (a, b, c, etc.) devem sempre ser combinadas em um único arquivo.

Usando softwares especializados

Para imagens geradas ou preparadas com softwares ou ferramentas especializadas como Matlab, Prism, Stata, ChemDraw, PyMol, SPSS, GeneSpring ou Minitab, aconselhamos os autores a seguir a orientação da PLOS ONE disponível em <https://journals.plos.org/plosone/s/figures#loc-creating-source-images-with-specialized-software>.

Políticas

Representação de humanos ou animais

Imagens contendo fotos de pessoas devem garantir que elas não possam ser identificadas, exceto nos casos em que a sua utilização tenha sido autorizada especificamente para publicação no artigo.

Adicionalmente, os autores devem se certificar de que as imagens estão de acordo com nossas políticas sobre proteção dos direitos humanos e dos animais.

Licenças e copyright

Sempre que os autores utilizarem imagens de terceiros, seja na íntegra, redesenhada em nova versão, ou apenas como inspiração é necessário que seja obtida a devida autorização por escrito do detentor do copyright e incluída a respectiva citação e indicação da fonte. Veja mais em nossas políticas de Licenças e copyright.

ANEXO E- Comprovante de submissão

10/06/2024, 20:05 ScholarOne Manuscripts

ScholarOne Manuscripts™ Michele Velasco | English (US) | Instructions & Forms | Help | Log Out


Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária

[Home](#) | [Author](#) | [Review](#)

[Author Dashboard](#) / [Submission Confirmation](#)

Submission Confirmation

Print

Thank you for your submission

Submitted to	Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária
Manuscript ID	RBPV-2024-0123
Title	Morphological and histopathological description of <i>Calyptospora</i> sp. parasitism in <i>Cichla monoculus</i> from the lake region of Pracuúba-Amapá, Brazil
Authors	Amoras, Eloiza Oliveira, Jhonata Vilhena, Maria Silva, José Videira, Marcela



<https://mc04.manuscriptcentral.com/rbpv-scielo> 1/3

10/06/2024, 20:05 ScholarOne Manuscripts

Sindeaux Neto, José
Velasco, Michele

Date Submitted : 10-Jun-2024

Author Dashboard >

© Clarivate | © ScholarOne, Inc., 2024. All Rights Reserved.

ScholarOne Manuscripts and ScholarOne are registered trademarks of ScholarOne, Inc.

ScholarOne Manuscripts Patents #7,267,767 and #7,263,655.

[@Clarivate for Academia & Government](#) | [System Requirements](#) | [Privacy Statement](#) | [Terms of Use](#) | [Definições de cookies](#) | [Accessibility](#)

1

ANEXO F- Normas de submissão e formatação de artigos para revista Acta Scientiarum

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

<p>✓ A contribuição é original e inédita e não está sendo avaliada por outra revista.</p>
<p>✓ Os manuscritos deverão ser submetidos em inglês.</p>
<p>✓ Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, Open Office ou RTF (desde que não ultrapasse 5MB).</p>
<p>✓ Todos os endereços de páginas da Internet, incluídas no texto (Ex: http://www.eduem.uem.br) estão ativos e prontos para clicar.</p>
<p>✓ O texto está em espaço 1,5; usa uma fonte de 12-pontos Times New Roman; emprega itálico ao invés de sublinhar (exceto em endereços URL); com figuras e tabelas inseridas no texto, e não em seu final. No máximo 20 páginas.</p>
<p>✓ O texto segue os padrões de estilo e quisitos bibliográficos em <u>Diretrizes para Autores</u>, na seção Sobre a Revista.</p>
<p>✓ A identificação de autoria deste trabalho foi removida do arquivo e da opção propriedades do Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em <u>Assegurando a Avaliação por Pares Cega</u>.</p>
<p>✓ TODOS OS CONTATOS MANTIDOS ENTRE O AUTOR E EDITORA DEVE MENCIONAR INICIALMENTE O NÚMERO DO MANUSCRITO INSERIDO NO SISTEMA</p>
<p>✓ No processo de submissão, deverão ser inseridos os nomes completos dos autores, número identificador do ORCID, seus endereços institucionais e o e-mail do autor indicado para correspondência.</p>

incentivar a identificação de plágio, más práticas, fraudes, possíveis violações de ética e abertura de processos, indicamos:

1. Os autores devem visitar o website do COPE <http://publicationethics.org>, que contém informações para autores e editores sobre a ética em pesquisa;

2. Antes da submissão, os autores devem seguir os seguintes critérios:

- Com o objetivo de evitar a endogenia e diversidade dos autores publicados, exigimos que, após a publicação na revista, os autores aguardem, no mínimo, 1 ano até publicarem qualquer outro artigo no periódico.
- Artigos que contenham aquisição de dados ou análise e interpretação de dados de outras publicações devem referenciá-las de maneira explícita;
- na redação de artigos que contenham uma revisão crítica do conteúdo intelectual de outros autores, estes deverão ser devidamente citados;
- todos os autores devem atender os critérios de autoria inédita do artigo e nenhum dos pesquisadores envolvidos na pesquisa poderá ser omitido da lista de autores;
- a aprovação final do artigo será feita pelos editores e conselho editorial.

Diretrizes para Autores

POLÍTICA DE ACESSO ABERTO

Acta Scientiarum. Biological Sciences é publicada sob o modelo Acesso Aberto e permite a qualquer um a leitura e download, bem como a cópia e disseminação de seu conteúdo de acordo com as políticas de copyright Creative Commons Attribution 3.0.

APCs (TAXA DE PROCESSAMENTO DE ARTIGO) E TAXA DE SUBMISSÃO

Acta Scientiarum. Biological Sciences não cobra aos autores qualquer tipo de taxa de submissão ou publicação.

POLÍTICA CONTRA PLÁGIO E MÁ-CONDUTAS EM PESQUISA

Continuando nossa tradição de excelência, informamos as melhorias editoriais que visam fortalecer a integridade dos artigos publicados por esta revista. Em conformidade com as diretrizes do COPE (*Committee on Publication Ethics*), que visam

3. Para responder aos critérios, serão realizados os seguintes procedimentos:

- a) Os editores avaliarão os manuscritos com o sistema **CrossCheck** logo após a submissão. Primeiramente será avaliado o conteúdo textual dos artigos científicos, procurando identificar plágio, submissões duplicadas, manuscritos já publicados e possíveis fraudes em pesquisa;
- b) Com os resultados, cabe aos editores e conselho editorial decidir se o manuscrito será enviado para revisão por pares que também realizarão avaliações;
- c) Após o aceite e antes da publicação, os artigos poderão ser avaliados novamente.

INSTRUÇÕES PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS:

1. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, ISSN 1807-863X (*on-line*), é publicada pela Universidade Estadual de Maringá, na modalidade publicação contínua.

2. A revista publica artigos originais em todas as áreas relevantes de Ciências Biológicas, incluindo anatomia, bacteriologia, biologia molecular, bioquímica, botânica,

citologia e biologia celular, comportamento animal, ecologia e limnologia, embriologia e histologia, morfofisiologia, genética, microbiologia, parasitologia e zoologia.

3. Os autores se obrigam a declarar a cessão de direitos autorais e que seu manuscrito é um trabalho original, e que não está sendo submetido, em parte ou no seu todo, à análise para publicação em outro meio de divulgação científica sob pena de exclusão. Esta declaração encontra-se disponível no endereço:
<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/about/submissions>.

4. Os dados, ideias, opiniões e conceitos emitidos nos artigos, bem como a exatidão das referências, são de inteira responsabilidade do(s) autor(es). A eventual citação de produtos e marcas comerciais não significa recomendação de seu uso por parte do Conselho Editorial da revista.

5. Os relatos deverão basear-se nas técnicas mais avançadas e apropriadas à pesquisa. Quando apropriado, deverá ser atestado que a pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Biossegurança da instituição.

6. Os artigos submetidos deverão ser em inglês.

7. Os artigos serão avaliados por, no mínimo, três consultores da área de conhecimento da pesquisa, de instituições de ensino e/ou pesquisa nacionais e estrangeiras, de comprovada produção científica. Após as devidas correções e possíveis sugestões, o artigo será aceito se tiver dois pareceres favoráveis e rejeitado quando dois pareceres forem desfavoráveis.

8. O conflito de interesses pode ser de natureza pessoal, comercial, política, acadêmica ou financeira. Conflitos de interesses podem ocorrer quando autores, revisores ou editores possuem interesses que podem influenciar na elaboração ou avaliação de manuscritos. Ao submeter o manuscrito, os autores são responsáveis por reconhecer e revelar conflitos financeiros ou de outra natureza que possam ter influenciado o trabalho. Os autores devem identificar no manuscrito todo o apoio financeiro obtido para a execução do trabalho e outras conexões pessoais referentes à realização do mesmo. O revisor deve informar aos editores quaisquer conflitos de interesse que poderiam influenciar sobre a análise do manuscrito, e deve declarar-se não qualificado para revisá-lo.

9. Os artigos deverão ser submetidos pela internet, acessando o **Portal ACTA**, no endereço <http://www.periodicos.uem.br/ojs/>

10. A revisão de língua estrangeira será de responsabilidade e custeada pelos autores dos artigos já aceitos para publicação, mediante comprovação emitida pelos revisores credenciados.

11. Estão listadas abaixo a formatação e outras convenções que deverão ser seguidas:

a) No processo de submissão, deverão ser inseridos os nomes completos dos autores (no máximo oito), número identificador (ID) do ORCID, seus endereços institucionais e o *e-mail* do autor indicado para correspondência. Mais de oito autores serão aceitos desde que devidamente justificado. Neste caso a contribuição de cada um dos autores deverá ser apresentada em uma declaração específica para esta finalidade. Nesta justificativa deve-se considerar os seguintes aspectos: participação na elaboração do projeto ou análise e interpretação dos dados; redação ou revisão crítica do artigo e aprovação da versão final a ser publicado.

b) Os artigos deverão ser subdivididos com os seguintes subtítulos: *Abstract*, *Keywords*, Introdução, Material e métodos, Resultados e/ou Discussão, Conclusão, Agradecimentos (opcional) e Referências. Esses itens deverão ser em caixa alta e em negrito e não deverão ser numerados.

c) O título, com no máximo vinte palavras, deverá ser preciso. Também deverá ser fornecido um título resumido com, no máximo, seis palavras que não estejam citadas no título.

d) O *Abstract* (200 a 300 palavras), deverá conter informações sucintas sobre o objetivo da pesquisa, os materiais experimentais, os métodos empregados, os resultados e a conclusão. Até seis *keywords* (recomenda-se não utilizar as palavras do título) deverão ser acrescentadas ao final do *abstract*.

e) Os artigos deverão ter de 12 a 20 páginas digitadas, incluindo figuras, tabelas e referências. Deverão ser escritos em espaço 1,5 linhas e ter suas páginas e linhas numeradas. O trabalho deverá ser editado no *Word*, ou compatível, utilizando fonte *Times New Roman*, tamanho 12.

f) O trabalho deverá ser formatado em A4 e as margens inferior, superior, direita e esquerda deverão ser de 2,5 cm.

g) O arquivo contendo o trabalho que deverá ser anexado (transferido), durante a submissão, não poderá ultrapassar o tamanho de 5 MB, nem poderá conter qualquer tipo de identificação de autoria, inclusive na opção propriedades do *Word*.

h) Tabelas, figuras e gráficos deverão ser inseridos no texto, logo após a sua citação. As tabelas deverão ter no máximo 17 cm de largura. Os gráficos não deverão ter molduras externas, linhas internas ou mesmo cor de fundo. Para os gráficos de barra, usar padrões de preenchimento diferentes (horizontal, vertical, listras diagonais e múltiplos pontos).

i) As figuras (fotos, pranchas, mapas, desenhos ou esquemas) deverão ter o tamanho máximo de 17 x 23 cm, incluindo-se o espaço necessário para a legenda. O tipo de fonte utilizado deverá ser *Times New Roman*, tamanho 8 pt. Gráficos e figuras confeccionados em planilhas eletrônicas devem vir acompanhados do arquivo com a planilha original. Deve-se utilizar escala de barras para indicar tamanho, a qual deverá, sempre que possível, estar situada à esquerda da figura; o canto inferior direito deve ser reservado para o número da(s) figura(s).

j) As figuras digitalizadas deverão ter no mínimo 300 dpi de resolução, gravadas em formato jpg ou png. Não serão aceitas figuras que ultrapassem o tamanho estabelecido ou que apresentem qualidade gráfica ruim. Ilustrações em cores serão aceitas.

k) Deverá ser adotado o Sistema Internacional (SI) de medidas.

l) As equações deverão ser editadas utilizando o *Equation Built do Word*.

m) As variáveis deverão ser identificadas após a equação.

n) Artigos de revisão poderão ser publicados mediante convite do Conselho Editorial ou Editor-Chefe da Eduem.

o) A revista aceita um índice máximo de 5% de autocitações e, ainda, recomenda que oitenta por cento (80%) das referências bibliográficas sejam de artigos listados na base *ISI Web of Knowledge*, *Scopus* ou *SciELO* com menos de 10 anos. Recomenda-se dar preferência às citações de artigos internacionais. Não serão aceitas nas referências citações de monografias, dissertações e teses, anais, resumos, resumos expandidos, jornais, magazines, boletins técnicos e documentos eletrônicos.

p) As citações deverão seguir os exemplos abaixo, que se baseiam na norma da *American Psychological Association* (APA). **Para citação no texto**, usar o sobrenome e ano: Oleksiak (2008) ou (Oleksiak, 2008); **para dois autores**: Silva e Diniz Filho (2008) ou (Silva & Diniz, 2008); **para três a cinco autores** (1.^a citação): Andrade, Santos, Oliveira, Cerqueira, e Meireles (2008) ou (Andrade, Santos, Oliveira, Cerqueira, & Meireles, 2008) e, nas citações subsequentes, Andrade et al. (2008) ou (Andrade et al., 2008); **para seis ou mais autores**, citar apenas o primeiro seguido de et al.: Cardozo et al. (2007) ou (Cardozo et al., 2007).

MODELOS DE REFERÊNCIAS

Deverão ser organizadas em ordem alfabética, alinhamento justificado, conforme os exemplos seguintes, que se baseiam na norma da *American Psychological Association*

(APA). Os títulos dos periódicos deverão ser completos e não abreviados e em itálico, sem o local de publicação. As referências deverão conter o DOI.

ARTIGOS

Um autor

Oleksiak, M. F. (2008). Changes in genexpression due to chronic exposure to environmental pollutants. *Aquatic Toxicology*, 90(3), 161-171. doi: 10.1016/j.aquatox.2008.08.010

Dois autores

Silva, M. M. F. P., & Diniz Filho, J. A. F. (2008). Extinction of mammalian populations in conservation units of the Brazilian Cerrado by inbreeding depression in stochastic environments. *Genetics and Molecular Biology*, 31(3), 800-803. doi:10.1590/s1415-47572008000400030

Até sete autores (devem-se indicar todos os autores separados por vírgula, exceto o último que deve ser separado por vírgula seguido de &)

Oito ou mais autores (devem-se indicar os seis primeiros, inserir reticências e acrescentar o último autor)

Cardozo, K. H. M., Guaratini, T., Barros, M. P., Falcão, V. R., Tonon, A. P., Lopes, N. P., ... Pinto, E. (2007). Metabolites from algae With economical impact. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C – Toxicology and Pharmacology*, 146(102), 60-78. doi: 10.1016/j.cbpc.2006.05.007

LIVROS

Haynie, D. T. (2001). *Biological thermodynamics*. Cambridge, UK: Cambridge University Press. doi: 10.1017/cbo9780511754784

Foster, R. G., & Kreitzman, L. (2005). *Rhythms of life: the biological clocks that control the daily lives of every living thing*. Yale, CT: Yale University Press.

Agostinho, A. A., Gomes, L. C., & Pelicice, F. M. (2007). Impactos dos represamentos. In A. A. Agostinho, L. C. Gomes, & F. M. Pelicice (Ed.), *Ecologia e manejo de recursos*

pesqueiros em reservatórios do Brasil (p. 107-152). Maringá, PR: Eduem.

Prazo médio entre submissão e publicação dos artigos publicados em 2016: **8** meses.

Declaração de Direito Autoral

DECLARAÇÃO DE ORIGINALIDADE E DIREITOS AUTORAIS

Declaro que o presente artigo é original, não tendo sido submetido à publicação em qualquer outro periódico nacional ou internacional, quer seja em parte ou em sua totalidade.