



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

NAYANA MORAES DE SENA

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E HISTOPATOLOGIA DE MIXOZOÁRIOS
E COCCIDIOS PARASITOS EM *Pygocentrus nattereri* Kner, 1858, ORIUNDOS DO
MUNICÍPIO DE PRACUÚBA, NO AMAPÁ.**

MACAPÁ
2024

NAYANA MORAES DE SENA

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E HISTOPATOLOGIA DE MIXOZOÁRIOS
E COCCIDIOS PARASITOS EM *Pygocentrus nattereri* Kner, 1858, ORIUNDOS DO
MUNICÍPIO DE PRACUÚBA, NO AMAPÁ.**

Dissertação de Mestrado apresentado para o Programa de Pós-graduação em Saúde e Produção Animal da Amazônia da Universidade Federal Rural da Amazônia, como requisito final para obtenção do grau de Mestra em Saúde e Produção Animal.

Área de Concentração: Saúde e Meio Ambiente

Orientadora: Profª. Drª. Michele Velasco Oliveira da Silva

Coorientador: Prof. Dr. José Ledamir Sindeaux Neto

MACAPÁ

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)

S474c Sena, Nayana Moraes de
Caracterização Morfológica e Histopatológica de Mixozoários e Coccídios Parasitos em *pygocentrus nattereri kner*, 1858, Oriundos do Município de Pracuúba, no Amapá. / Nayana Moraes de Sena. - 2024.
99 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado) - Programa de PÓS-GRADUAÇÃO em Saúde e Produção Animal na AMAZÔNIA(PPGSPAA), Campus Universitário de Belém, Universidade Federal Rural Da Amazônia, Belém, 2024.

Orientador: Profa. Dra. Prof^a. Dr^a. Michele Velasco Oliveira da Silva
Coorientador: Prof. Dr. Prof^a. Dr. José Ledamir Sindeaux Neto.

1. Amazônia; piranha; Myxozoa; Henneguya; Myxobolus; Calyptospora.. I. Silva, Prof^a. Dr^a. Michele Velasco Oliveira da, orient. II. Título

CDD 636.089696

NAYANA MORAES DE SENA

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E HISTOPATOLOGIA DE MIXOZOÁRIOS
E COCCIDIOS PARASITOS EM *Pygocentrus nattereri* Kner, 1858, ORIUNDOS DO
MUNICÍPIO DE PRACUÚBA, NO AMAPÁ.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Saúde e Produção Animal da Amazônia, para obtenção do título de Mestre.

Data da aprovação 30 de julho de 2024.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente



MICHELE VELASCO OLIVEIRA DA SILVA
Data: 16/08/2024 11:22:21-0300
Verifique em <https://validar.itii.gov.br>

Profª. Drª. Michele Velasco Oliveira da Silva (Orientadora)
Universidade Rural da Amazônia – UFRA

Prof. Dr. José Ledamir Sindeaux Neto
Universidade Rural da Amazônia – UFRA (Coorientador)

Prof. Drª. Elaine Lopes Carvalho
Universidade Rural da Amazônia – UFRA
Documento assinado digitalmente

DEBORAH MARA COSTA DE OLIVEIRA
Data: 16/08/2024 13:37:47-0300
Verifique em <https://validar.itii.gov.br>

Profª. Drª. Débora Mara Costa de Oliveira
Universidade Rural da Amazônia – UFRA

Prof. Dr. Marcelo Francisco da Silva
Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão- UEMASUL

Dedico este trabalho a Deus, minha família e aos meus filhos, em especial a minha filha, juntas conseguimos vencer.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Senhor Jesus, que me deu saúde e força;

Aos meus pais, Fredison Sena e Wilma Sena, pelas orações e que sempre acreditaram em mim e me apoiam em todas as minhas escolhas;

Ao meu marido, João Carlos, pela parceria, paciência, compreensão e incentivo;

Aos meus filhos, Ana Clara e João Felipe, que são os maiores motivos para eu continuar buscando crescimento;

A minha Orientadora, Prof^a. Dr^a Michele Velasco que além do conhecimento repassado, desde o início deste trabalho, que acreditou em mim mais do que eu mesma e me fez ver que seria possível o tão sonhado título;

Ao meu Coorientador, Prof. Dr. José Sindeaux-Neto, pelo conhecimento e que sempre tem uma palavra de força em momentos delicados;

Ao grupo de pesquisa Grupo de Pesquisa de Sanidade de Organismos Aquáticos (GPSOA), em especial ao Jhonata Oliveira, pela paciência e contribuição em todos os momentos necessários.

Ao grupo de Sanidade de Organismos Aquáticos (SOA), em especial a Prof^a. Dr^a Marcela Videira e Abhytillane Amaral.

Aos amigos, Angélica Damasceno, Saturo Cardoso, Marcos Oliveira e Eloiza Amoras. Juntos nos momentos bons e nos mais dificeis.

A Universidade Federal Rural da Amazônia que por meio do Projeto Amapá proporcionou o acesso ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Produção Animal na Amazônia.

“A tribulação produz a paciência, e a paciência a experiência, e a experiência a esperança” (Romanos 5:3-4)

RESUMO

A Amazônia brasileira possui a maior bacia hidrográfica de água doce do mundo, com isso também apresenta uma grande diversidade de peixes, estimando-se a riqueza com cerca de 2.406 espécies de peixes válidas. Nesse sentido, a região apresenta um grande potencial pesqueiro, sendo uma das principais atividades econômicas desenvolvidas no norte do Brasil, especialmente no estado do Amapá, favorecida pela sua privilegiada localização geográfica. Outro aspecto, é o elevado consumo de peixe pelas comunidades ribeirinhas, que em média ingerem 369g/dia por pessoa. Diante disso, os peixes são sensíveis às alterações ambientais, podendo essa ser causada por ações antrópicas ou naturais, ocasionando o desequilíbrio ecológico e a proliferação de diversos parasitos, entre eles os mixosporídios e coccídios. Esses acarretam uma série de doenças para os peixes, resultando ou não na morte do hospedeiro e tornando-os inapropriados para o consumo humano, sendo alguns parasitos já descritos com características zoonóticas. O objetivo deste trabalho foi descrever aspectos morfológicos, morfométricos e alterações histopatológicas causadas por microparasitos de *Pygocentrus nattereri*, capturados no lago sacaízal no município de Pracuúba, no estado do Amapá. Os exemplares foram transportados mortos para o Laboratório de Integração Morfo-molecular e Tecnologias (LIMT) na Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) em Belém, no Estado do Pará, aonde foram necropsiados. Com auxílio de um estereomicroscópio os espécimes foram examinados em busca de observação de cistos e/ou fragmentos teciduais com indícios de parasitismo sendo a presença confirmada por meio de observação entre lâmina e lamínula em microscópio óptico. As amostras foram fixadas e processadas para histologia e microscopia eletrônica de varredura. De acordo com as análises, observou-se a presença de esporos maduros de cnidários integrantes da classe Myxozoa com morfologia pertencente ao gênero *Henneguya* sp. e *Myxobolus* sp. e parasitos do filo Apicomplexa Levine, 1970, do gênero *Calyptospora* sp. Esses estudos colaboraram para o conhecimento dos parasitos que acometem os peixes da região amazônica.

Palavras-chaves: Amazônia; piranha; Myxozoa; *Henneguya*; *Myxobolus*; *Calyptospora*.

ABSTRACT

The Brazilian Amazon has the largest freshwater river basin in the world, and therefore also has a great diversity of fish, with an estimated richness of around 2,406 valid fish species. In this sense, the region has great fishing potential, being one of the main economic activities developed in the north of Brazil, especially in the state of Amapá, favored by its privileged geographical location. Another aspect is the high consumption of fish by riverside communities, which on average ingest 369g/day per person. Therefore, fish are sensitive to environmental changes, which may be caused by human or natural actions, causing ecological imbalance and the proliferation of various parasites, including myxosporidia and coccidia. These cause a series of diseases for fish, whether or not resulting in the death of the host and making them unsuitable for human consumption, with some parasites already described with zoonotic characteristics. The objective of this work was to describe morphological, morphometric aspects and histopathological changes caused by microparasites of *Pygocentrus nattereri*, captured in the sacaízal lake in the municipality of Pracuúba, in the state of Amapá. The specimens were transported dead to the Morpho-molecular Integration and Technologies Laboratory (LIMT) at the Federal Rural University of the Amazon (UFRA) in Belém, in the State of Pará, where they were necropsied. With the aid of a stereomicroscope, the specimens were examined in search of cysts and/or tissue fragments with signs of parasitism, with their presence confirmed through observation between the slide and coverslip under an optical microscope. Samples were fixed and processed for histology and scanning electron microscopy. According to the analyses, the presence of mature spores of cnidarians belonging to the Myxozoa class with morphology belonging to the genus *Henneguya* sp. and *Myxobolus* sp. and parasites of the phylum Apicomplexa Levine, 1970, of the genus *Calyptospora* sp. These studies contribute to understanding the parasites that affect fish in the Amazon region.

Keywords: Amazon; piranha; Myxozoa; *Henneguya*; *Myxobolus*; *Calyptospora*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Espécime de <i>Pygocentrus nattereri</i> Kner, 1858.....	14
Figura 2 - Ciclo de vida de Myxozoa.....	16
Figura 3 - Desenho esquemático da morfologia do esporo de <i>Myxobolus maculatus</i> . Vista anterior (esquerda) e vista lateral (direita). Apresentando duas cápsulas polares piriformes e esporoplasma.....	20
Figura 4 - Desenho esquemático de <i>Henneguya paraensis</i> . Vista frontal mostrando as cápsulas polares, esporoplasma binucleado e cauda bifurcada.....	21
Figura 5 - Desenho esquemático do oocisto e do esporocisto de <i>Calyptospora</i> sp. A - Oocisto contendo 4 esporocistos, cada um circundado por um véu membronoso (seta) e contendo dois esporozoítos (sz); B - Detalhes da estrutura externa dos esporocistos, com presença de sutura (s) e esporópodes(spp).....	25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEUA	Comissão de Ética de Uso de Animais
HE	Hematoxilina e Eosina
LIMT	Laboratório de Integração Morfo-molecular e Tecnologias
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
ML	Microscópio de Luz
MPEG	Museu Paraense Emílio Goeldi
SISBIO	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
SISGEN	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento
UFRA	Universidade Federal Rural da Amazônia

SUMÁRIO

1 CONTEXTUALIZAÇÃO.....	11
2 HEPATIC PARASITOSIS CAUSED BY <i>Calyptospora</i> IN <i>Pygocentrus nattereri</i> FROM THE SACAIZAL LAKE, IN THE STATE OF AMAPÁ, BRAZIL.....	26
ABSTRACT.....	26
1. Introduction.....	27
2. Materials and methods.....	27
2.2 Specimen collection.....	27
2.3 Spore morphometry.....	28
2.4 Histopathology.....	28
2.5 Scanning Electron Microscopy (SEM).....	28
3. Results.....	28
4. Discussion.....	29
5. Conclusion.....	30
6. References.....	31
3 MULTIPARASITISMO POR MIXOZOÁRIOS EM <i>Pygocentrus nattereri</i> DO LAGO SACAIZAL, NO MUNICÍPIO DE PRACUÚBA, ESTADO DO AMAPÁ, BRASIL.....	39
Abstract.....	41
Resumo.....	41
1 Introdução.....	42
2 Material e Métodos.....	43
2.1 Coleta dos espécimes e área de estudo.....	43
2.2 Morfometria dos esporos.....	44
2.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	44
3 Resultados.....	44
4 Discussão.....	45
5 Conclusões.....	47
6 Referências.....	47
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	59
REFERÊNCIAS.....	60

1 CONTEXTUALIZAÇÃO

A Amazônia é detentora da maior reserva de água doce do mundo, e uma enorme diversidade de peixes, com cerca de 2.406 espécies de peixes válidas (Jézéquel *et al.*, 2020). Neste contexto, a prática de pesca é uma das principais atividades econômicas da região (Duponchelle *et al.*, 2020). Na qual, a maioria das espécies são destinadas ao consumo humano, e outra parte para o mercado dos peixes ornamentais (Tribuzy-Neto *et al.*, 2020). O consumo alimentar per capita de peixe cresceu de 9,0 kg (equivalente a peso vivo) em 1961 para 20,5 kg em 2018, cerca de 1,5 por cento ao ano (FAO, 2020), sendo que o recomendado é de 12 kg/habitante/ano. Entretanto, na região hidrográfica amazônica, o consumo per capita de pescado pelas comunidades ribeirinhas está próximo de 150 kg/habitante/ano (Oliveira *et al.*, 2010). A população amazônica também é a que mais consome pescado no Brasil, com média de 38,1 kg/per capita/ano, diferentemente das regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste com 3,1 Kg, 5,5 Kg e 3,4 Kg, respectivamente (Santori & Amancio, 2012).

O Estado do Amapá possui localização geográfica privilegiada quanto ao Rio Amazonas e o Oceano Atlântico, os quais influenciam a pesca, onde sua atividade extrativista pesqueira tradicional é de natureza fundamentalmente artesanal (Silva *et al.*, 2010). Além de possuir um grande potencial pesqueiro, apresenta um vasto consumo deste produto pela população (Silva *et al.*, 2006).

Os peixes são sensíveis às alterações nas características físico-química da água e este desequilíbrio torna esses animais mais propensos a serem parasitados por diversos organismos, alterando de forma prejudicial à produção comercial e a proliferação de doenças zoonóticas (Freitas & Souza, 2009; Oliveira *et al.*, 2016). Nesse sentido, a prevalência dos parasitos está intrinsecamente relacionada com os habitats dos seus hospedeiros, podendo ser potenciais bioindicadores da qualidade ambiental (Golzio *et al.*, 2016).

A espécie de peixe *Pygocentrus nattereri* Kner 1858, é abundante nos rios amazônicos e uma riqueza de espécies de parasitos já foi registrada para esse peixe, onde a maioria desses registros se concentram em parasitos Nematoda, Monogenea, Pentastomida, Copepoda, Isopoda, Branchiura, Trematoda e Myxozoa (Malta & Varella, 1995; Carvalho *et al.*, 2004; Barros *et al.*, 2010; Morais *et al.*, 2011; Benigno *et al.*, 2012; Giesen *et al.*, 2013; Tavares-Dias *et al.*, 2014a; Morais & Malta, 2015). Esses estudos mostram que muitos desses registros são para espécies de Nematoda, principalmente. Por outro lado, se tratando de espécies de Myxozoa, apenas duas espécies são conhecidas parasitando *P. nattereri*, sendo elas *Myxobolus dermatoulcerans* Stilwell, Stilwell, Camus, Ware, Rosser & Griffin, 2020, encontrado na derme

do hospedeiro no Peru (Stilwell *et al.*, 2020) e *Ellipsomyxa arariensis* Silva, Matos, Lima, Furtado, Hamoy & Matos, 2018, encontrado na vesícula biliar do hospedeiro na Ilha de Marajó, estado do Pará, Brasil (Silva *et al.*, 2018).

Os estudos sobre parasitos de populações naturais de peixes, além de ampliar o conhecimento sobre a diversidade pode ser de grande importância para as tomadas de decisões referentes ao manejo de estoques pesqueiros, nos casos de repovoamento (Palm, 2011; Luque *et al.*, 2017) e aumentam a compreensão das interações parasito-hospedeiro-ambiente, uma vez que parasitos podem ser indicadores de condições ambientais e de seus hospedeiros (Oliveira & Tavares-Dias, 2016; Tavares-Dias *et al.*, 2014b).

1.2 Objetivo Geral

Estudar a fauna de mixozoários e coccídios e descrever patologias que estes parasitos causam em *Pygocentrus nattereri* oriundos do lago Sacaizal, município de Pracuúba, estado do Amapá, Brasil.

1.3 Objetivo específicos

- Identificar os gêneros de mixozoários e coccídios, encontrados nos espécimes de *P. nattereri*, no lago Sacaizal, município de Pracuúba/AP;
- Descrever a prevalência de microparasitos em *P. nattereri*;
- Caracterizar morfológica e morfometricamente os mixozoários e coccídios;
- Avaliar a relação parasito-hospedeiro por meio da histopatologia de tecidos/órgãos infectados.

1.4 Caracterização do Hospedeiro

1.4.1 Família Serrasalmidae Bleeker, 1859

A família Serrasalmidae pertencente ao grupo Characiformes, é considerado uma das mais diversas, com 16 gêneros conhecidos, a saber *Acnodon*, *Catopriion*, *Colossoma*, *Metynnis*, *Mylesimus*, *Myleus*, *Myloplus*, *Mylossoma*, *Piaractus*, *Pristobrycon*, *Pygocentrus*, *Serrasalmus*, *Tometes*, *Ossubtus*, *Pygopristis* e *Utiaritichthys*, com aproximadamente 101 espécies conhecidas de importância para a pesca e aquicultura regional (Mateussi *et al.*, 2020).

Essa família comporta peixes de água doce que habitam rios, lagos, florestas inundadas, corredeiras de rios, dentre outras. Essas espécies são endêmicas da região Neotropical, no entanto foram introduzidos de forma intencional ou accidental em outras regiões do planeta. E apresentam dieta bem diversificada, com grupos que são herbívoros (pacus) e outros carnívoros como as piranhas (Queiroz *et al.*, 2013; Nelson *et al.*, 2016). Considerando o cenário econômico, diversas espécies da família Serrasalmidae são importantes para a pesca comercial e de subsistência na Amazônia, como por exemplo o *Colossoma macropomum* Cuvier, 1816 (tambaqui) e *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818) (pirapitinga) e pacus do gênero *Mylossoma* Eigenmann & Kennedy, 1903 (Queiroz *et al.*, 2013).

1.4.2 *Pygocentrus nattereri* Kner, 1858

Classificação taxonômica de *Pygocentrus nattereri* Kner, 1858

Reino Animalia

Filo Chordata

Classe Teleostei

Ordem Characiformes

Família Serrasalmidae

Gênero *Pygocentrus* Müller & Troschel, 1844

Pertencente a ordem Characiformes, família Serrasalmidae, o gênero *Pygocentrus* comporta quatro espécies que são conhecidas popularmente como piranhas, e são amplamente distribuídos em bacias hidrográficas da América do Sul (Nelson *et al.*, 2016), tais como a bacia dos rios Amazonas, Essequibo, Paraguai, Paraná, além de rios costeiros do nordeste do Brasil (Queiroz *et al.*, 2013).

Pygocentrus nattereri (Figura 1) é conhecida popularmente como piranha-caju ou piranha vermelha, é pelágica, com hábito diurno e noturno, costumam nadar entre as vegetações aquáticas. É uma espécie carnívora, ingerindo principalmente peixe, mas ocasionalmente consome artrópodes terrestres, crustáceos e material vegetal (Soares *et al.*, 2008). Em porções represadas de rios durante a época de reprodução, relacionados à proteção da ninhada pelos adultos, *Pygocentrus nattereri* pode causar mordeduras em humanos (Froese & Pauly, 2022).

Figura 1- Espécime de *Pygocentrus nattereri* Kner, 1858.



Fonte: A autora (2024)

1.5 Diversidade de microparasitos de peixes

1.5.1 Filo Cnidária Classe Myxozoa Grassé, 1970 (Kyger *et al.*, 2021)

Classificação taxonômica de Myxozoa (Gliribet & Edgecombe, 2020)

Filo Cnidaria

Subfilo Endocnidozoa

Classe Myxozoa

Subclasse Myxosporea

Ordem Bivalvulida

Família Sphaeromyxidae

Família Alatasporidae

Família Alatosporidae

Família Ceratomyxidae

Família Myxobolídeos

Família Cloromixidae

Família Coccozymxidae

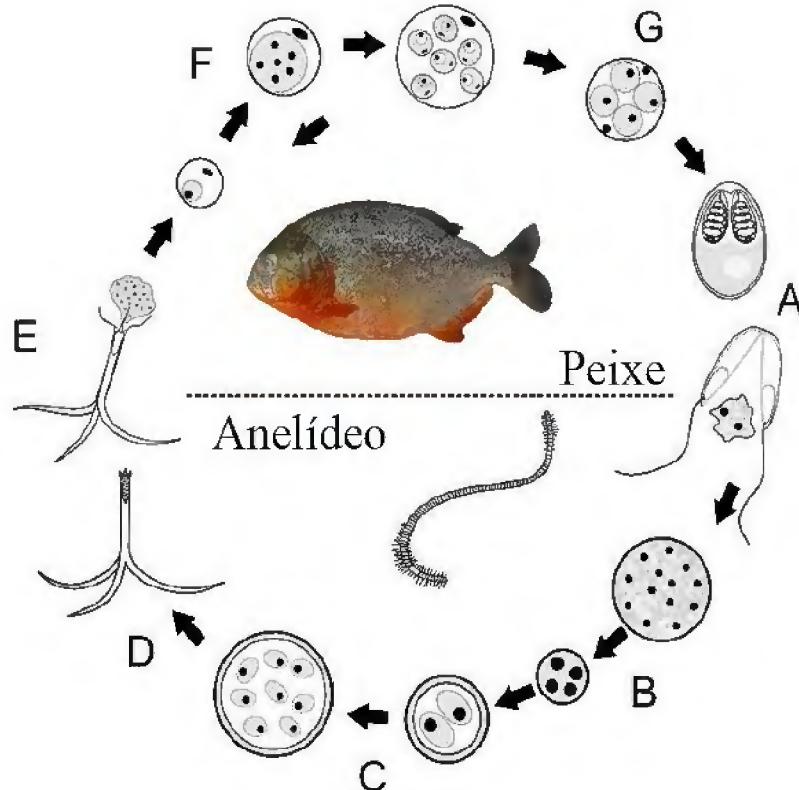
Família Enteromyxidae

Família Fabesporidae

Família Myxidiidae
Família Myxobilatidae
Família Ortolineidae
Família Parvicapsulidae
Família Sinuolineidae
Família Sphaerosporidae
Família Gastromyxidae
Família Monomixades
Família Neomyxobolidae
Família Thelohanellidae
Ordem Multivalvulida
Família Kudoidae
Família Trilosporidae

A classe Myxozoa Grassé, 1970 é amplamente distribuída, com cerca 2.600 espécies descritas (Zhang *et al.*, 2019) nas quais 495 estão presentes no continente americano (Vidal & Luque, 2017) e representa cerca de 18% das espécies de cnidários (Okamura *et al.*, 2015). Os mixozoários são parasitos metazoários relacionados aos cnidários de vida livre, que infectam, platelmintos, répteis, anfíbios e peixes, tanto marinhos como de água doce, sobretudo espécies de teleósteos (Kent, *et al.*, 2001; Eiras & Adriano, 2012a; Atkinson *et al.*, 2018;). A maioria dos mixozoários possuem ciclo de vida indireto envolvendo um hospedeiro definitivo, como oligoqueta, poliqueta ou briozoário e um intermediário, os peixes, por exemplo (Yokoyama *et al.*, 2012) (Figura 2). Em peixes os mixosporídios são encontrados, principalmente nas brânquias, tecido epitelial, nadadeiras, musculatura esquelética, vesícula biliar e outros órgãos vitais (Lom & Dyková, 2006).

Figura 2 - Ciclo de vida de Myxozoa.



Fonte: Adaptado de Yokoyama *et al.*, 2012.

O conhecimento sobre diversidade de parasitos Myxozoa está aquém da sua real dimensão, e no Brasil não é diferente, uma vez que muitas espécies de peixes sequer foram estudadas para levantamento da riqueza desses pequenos parasitos. Para peixes de água doce da Amazônia brasileira por exemplo, são descritas 64 espécies de Myxozoa, distribuídos nos gêneros *Ceratomyxa* (4), *Elipsomyxa* (7), *Henneguya* (24), *Hofersellus* (2), *Kudoa* (3), *Meglitschia* (1), *Myxobolus* (20), *Sphaerospora* (2) e *Triangulamyxa* (1) (Tabela 01). No geral, essas espécies de myxozoários foram coletados de 59 espécies de peixes pertencentes às famílias Cichlidae, Pimelodidae, Hemiodontidae, Scianeidae, Serrasalmidae, Gobiidae, Erytrinidae, Rhamphichthyidae, Anostomidae, Characidae, Prochilodontidae, Doradidae e Tetraodontidae (Tabela 1).

O peixe *Pygocentrus nattereri* é bem conhecido no âmbito dos estudos parasitológicos, principalmente se tratando de estudos sobre a fauna de macroparasitos. Na qual foram registrados parasitos pertencentes principalmente aos grupos Monogenea, Crustacea, Nematoda, Digenea e Pentastomida (Carvalho *et al.*, 2004; Vieira *et al.*, 2010; Barros *et al.*, 2010; Silva-Souza *et al.*, 2011; Morais *et al.*, 2011; Benigno *et al.*, 2012; Cárdenas *et al.*, 2012; Fontana *et al.*, 2012; Giesen *et al.*, 2013; Tavares-Dias *et al.*, 2014; Morais & Malta, 2015; Neves *et al.*,

2019; Oliveira *et al.*, 2020). No entanto, referente aos microparasitos, nosso levantamento mostrou que para amazônia brasileira somente uma espécie de myxozoário foi descrita parasitando *P. nattereri*, sendo ela *Ellipsomyxa arariensis* (Tabela 1). No entanto, Stilwell *et al.*, (2020) descreveu uma nova espécie de *Myxobolus* parasitando a pele de *P. nattereri* no Peru, e a nomeou de *M. dermatoulcerans*. Portanto, são conhecidas somente duas espécies de Myxozoa parasitos de *P. nattereri* e pelo menos, sete espécies de mixozoários infectando as brânquias e vísceras internas de outras espécies de piranhas (Penido, 1927; Pinto, 1928; Walliker, 1969; Casal *et al.*, 1997; Azevedo & Matos, 2003). Dessa forma, se tratando de uma região pouco estudada, as piranhas *P. nattereri* da região do município de Pracuúba podem albergar espécies até então desconhecidas para a ciência.

Tabela 1. Espécies de Myxozoa registradas em peixes de água doce na Amazônia brasileira.

Continua

Espécie de parasito	Espécie hospedeira	Sítio de infestação	Local de coleta	Referência
<i>Ceratomyxa macapaensis</i>	<i>Mesonauta festivus</i>	Vesícula biliar	Rio Piririm, Macapá, AP	Bittencourt <i>et al.</i> , (2022)
<i>Ceratomyxa mandii</i>	<i>Pimelodina flavipinnis</i>	Vesícula biliar	Rio Solimões, Manaus, AM	Araújo <i>et al.</i> , (2022)
<i>Ceratomyxa microlepis</i>	<i>Hemiodus microlepis</i>	Vesícula biliar	Rio Trombetas, Oriximiná, PA	Azevedo <i>et al.</i> , (2013a)
<i>Ceratomyxa ranunculiformis</i>	<i>Plagioscion squamosissimus</i>	Vesícula biliar	Lago Curuai, Rio Amazonas, PA	Zatti <i>et al.</i> , (2023)
<i>Elipsomyxa amazonensis</i>	<i>Brachyplatystoma rousseauxii</i>	Vesícula biliar	Rio Tapajós, Santarém, PA	Zatti <i>et al.</i> , (2018)
<i>Elipsomyxa santarinensis</i>	<i>Satanoperca jurupari</i>	Vesícula biliar	Rio Tapajós, Santarém, PA	Figueroedo <i>et al.</i> , (2023)
<i>Ellipsomyxa arariensis</i>	<i>Pygocentrus nattereri</i>	Vesícula biliar	Rio Arari, Ilha do Marajó, PA	Silva <i>et al.</i> , (2018)
<i>Ellipsomyxa gobioides</i>	<i>Gobioides broussonnetii</i>	Vesícula biliar	Rio Amazonas, Ilha do Marajó, PA	Azevedo <i>et al.</i> , (2013b)
<i>Ellipsomyxa paranensis</i>	<i>Cichla monoculus</i>	Vesícula biliar	Rio Tapajós, Santarém, PA	Zatti <i>et al.</i> , (2020)
<i>Ellipsomyxa plagioscioni</i>	<i>Plagioscion squamosissimus</i>	Vesícula biliar	Lado do Curuai, Rio Amazonas, PA	Zatti <i>et al.</i> , (2020)
<i>Ellipsomyxa tucujuensis</i>	<i>Satanoperca jurupari</i>	Vesícula biliar	Rio Curiaú, Macapá, AP	Ferreira <i>et al.</i> , (2021)
<i>Henneguya aequidens</i>	<i>Aequidens plagiozonatus</i>	Filamento da brânquia	Rio Peixe-Mani, PA	Videira <i>et al.</i> , (2015)
<i>Henneguya amazônica</i>	<i>Crenicilcha lepidota</i>	Filamento da brânquia	Rio Amazonas, Belém, PA	Rocha <i>et al.</i> , (1992)
<i>Henneguya caquetaia</i>	<i>Caquetaia spectabilis</i>	Opérculos, nadadeiras, olho	Rios Tapajós e Amazonas, PA	Figueroedo <i>et al.</i> , (2023)
<i>Henneguya malabarica</i>	<i>Hoplias malabaricus</i>	Vesícula biliar	Estuário, Belém, PA	Azevedo & Matos (1996)
<i>Henneguya paraenses</i>	<i>Cichla temensis</i>	Brânquia	Rio Tocantins, Cametá, PA	Velasco <i>et al.</i> , (2016)
<i>Henneguya rhamdia</i>	<i>Rhamdia quelen</i>	Filamento da brânquia	Rio Amazonas, Peixe Boi, PA	Matos <i>et al.</i> , (2005)
<i>Henneguya rondoni</i>	<i>Gymnorhamphichthys rondoni</i>	Tegumento	Rio Amazonas, Irituia, PA	Azevedo <i>et al.</i> , (2008)
<i>Henneguya sacacaensis</i>	<i>Satanoperca jurupari</i>	Filamento da brânquia	Rio Curiaú, Macapá, AP	Ferreira <i>et al.</i> , (2020)
<i>Henneguya schizodon</i>	<i>Schizodon fasciatus</i>	Rim	Rio Amazonas, Manaus, AM	Eiras <i>et al.</i> , (2004)
<i>Henneguya testicularis</i>	<i>Moenkhausia oligolepis</i>	Tegumento	Rio Amazonas, Belém, PA	Azevedo <i>et al.</i> , (1997)
<i>Henneguya correai</i>	<i>Semaprochilodus insignis</i>	Nadadeiras	Rio Tapajós, PA	Müller <i>et al.</i> , (2023)
<i>Henneguya melini</i>	<i>Coryforas melini</i>	Brânquias	Rio Negro, Santa Isabel do Rio Negro, AM	Mathews <i>et al.</i> , (2016)

Fonte: A autora (2024)

Tabela 1 - Espécies de Myxozoa registradas em peixes de água doce na Amazônia brasileira.

Continuação

Espécie de parasito	Espécie hospedeira	Sítio de infestação	Local de coleta	Referência
<i>Henneguya jariensis</i>	<i>Cichla monoculus</i>	Nadadeira	Rio Jari, AP	Zatti et al., (2018)
<i>Henneguya santarenensis</i>	<i>Phractocephalus hemioliopterus</i>	Brânquias	Rio Tapajós, Santarém, PA	Naldoni et al., (2018)
<i>Henneguya quelen</i>	<i>Rhamdia quelen</i>	Rim	Rio Paracauari, Salvaterra, Ilha de Marajó, PA	Abrunhosa et al., (2018)
<i>Henneguya tucunarei</i>	<i>Cichla monoculus</i>	Brânquias	Rio Tapajós, PA	Zatti et al., (2018)
<i>Henneguya tapajoensis</i>	<i>Cichla pinima</i>	Brânquias	Rio Tapajós, PA	Zatti et al., (2018)
<i>Henneguya brachypomus</i>	<i>Piaractus brachypomus</i>	Brânquias	Rio Tapajós, Santarém, PA	Capodifoglio et al., (2020)
<i>Henneguya adherens</i>	<i>Acestrorhynchus falcatus</i>	Brânquias	Rio Amazonas, PA	Azevedo e Matos, (1995)
<i>Henneguya curimata</i>	<i>Curimata inornata</i>	Rim	Rio Amazonas, PA	Azevedo e Matos, (2002)
<i>Henneguya friderici</i>	<i>Leporinus friderici</i>	Brânquias, intestino e fígado	Rio Amazonas, PA	Casal et al., (2003)
<i>Henneguya astryanax</i>	<i>Astyianax Keith</i>	Brânquias	Rio Amazonas, PA	Vita et al., (2003)
<i>Henneguya torpedo</i>	<i>Brachyhypopomus pinnicaudatus</i>	Cérebro e corda espinhal	Rio Peixe Boi, PA	Azevedo et al., (2011)
<i>Henneguya longisporoplasma</i>	<i>Plagioscion squamosissimus</i>	Brânquias, nadadeira e rim	Rio Tapapós, PA e Rio Solimões e Lago Grande do Curuai, AM	Zatti et al., (2022)
<i>Hofereillus jutubensis</i>	<i>Ageneiosus inermis</i>	Bexiga urinária	Ilha de Jutuba, PA	Pereira et al., (2022)
<i>Hofereillus azevedoi</i>	<i>Chaetobranchus flavesiensis</i>	Bexiga urinária	Rio Arari, na Ilha de Marajó, PA	Matos et al., (2018)
<i>Kudoa aequidens</i>	<i>Aequidens plagiozonatus</i>	Musculatura	Rio Peixe Boi, PA	Casal et al., (2008)
<i>Kudoa amazonica</i>	<i>Hypophthalmus marginatus</i>	Esôfago	Rio Tocantins, Cametá, PA	Velasco et al., (2019)
<i>Kudoa rousseauxii</i>	<i>Brachyplatystoma rousseauxii</i>	Musculatura	Ilha Mosqueiro, Belém, PA	Velasco et al., (2022)
<i>Kudoa ocellatus</i>	<i>Asctronotus ocellatus</i>	Musculatura	Ilha do Marajó, PA	Silva et al., (2022)
<i>Meglitschia mylei</i>	<i>Myleus rubripinnis</i>	Vesícula biliar	Lago Sapuruá, Oriximiná, PA	Azevedo et al., (2011)
<i>Myxobolus freitasi</i>	<i>Brachyhypopomus beebei</i>	Cérebro	Rio Peixe-Mani, PA	Sindeaux-Neto et al., (2021)
<i>Myxobolus rangeli</i>	<i>Pimelodus ornatus</i>	Coração	Rio Arari, Ilha do Marajó, PA	Silva et al., (2023)
<i>Myxobolus insignis</i>	<i>Semaprochilodus insignis</i>	Filamento da brânquia	Rio Amazonas, Manaus, AM	Eiras et al., (2005)
<i>Myxobolus maculatus</i>	<i>Metynnismaculatus</i>	Rim	Rio Amazonas, Belém, PA	Casal et al., (2002)
<i>Myxobolus niger</i>	<i>Corydoras melini</i>	Arco branquial	Rio Negro, Manaus, AM	Mathews et al., (2016)

Fonte: A autora (2024)

Tabela 1 - Espécies de Myxozoa registradas em peixes de água doce na Amazônia brasileira.

Conclusão

Espécie de parasito	Espécie hospedeira	Sítio de infestação	Local de coleta	Referência
<i>Myxobolus tapajosi</i>	<i>Brachyplatystoma rousseauxii</i>	Filamento da brânquia	Rio Tapajós, Santarém, PA	Zatti <i>et al.</i> , (2018)
<i>Myxobolus brasiliensis</i>	<i>Bunocephalus coracoideus</i>	Lamela branquial	Rio Amazonas, Bélem, PA	Casal <i>et a.</i> , (1996)
<i>Myxobolus desaequalis</i>	<i>Apteronotus albifrons</i>	Brânquias Tecido subcutâneo conjuntivo da região orbicular	Rio Amazonas, Salvaterra, PA	Azevedo <i>et al.</i> , (2002)
<i>Myxobolus metynnisi</i>	<i>Metynnismetynnisi</i>	Filamentos branquiais	Rio Amazonas, Peixe Boi, PA	Casal <i>et al.</i> , (2006)
<i>Myxobolus heckelli</i>	<i>Centromochlus heckelli</i>	Vesícula biliar	Rio Tocantins, PA	Azevedo <i>et al.</i> , (2009)
<i>Myxobolus myleus</i>	<i>Myleus rubripinnis</i>	Intestino	Rio Amazonas, Oriximiná, PA	Azevedo <i>et al.</i> , (2012)
<i>Myxobolus marajoensis</i>	<i>Rhamdia quelen</i>	Músculo epaxial e hipaxial	Rio Arari, Ilha do Marajó, PA	Abrunhosa <i>et al.</i> , (2018b)
<i>Myxobolus arariensis</i>	<i>Rhamdia quelen</i>	Filamento Branquial	Rio Arari, Ilha do Marajó, PA	Abrunhosa <i>et al.</i> , (2018b)
<i>Myxobolus bragantinus</i>	<i>Mugil rubrioculus</i>	Pele	Bragança, PA	Cardim <i>et al.</i> , (2018)
<i>Myxobolus figureirae</i>	<i>Phractocephalus hemiolopterus</i>	Arco branquial e parede externa do estômago e intestino	Rio tapajós, Santarém, PA	Naldoni <i>et al.</i> , (2018)
<i>Myxobolus longissimus</i>	<i>Colossoma macropomum</i>	Superfície do opérculo	Rio Tapajós, Santarém, PA	Capodifoglio <i>et al.</i> , (2019)
<i>Myxobolus matosi</i>	<i>Colossoma macroporum</i>	Cecos pilóricos	Rio Tapajós, Santarém, PA	Capodifoglio <i>et al.</i> , (2019)
<i>Myxobolus arapinus</i>	<i>Piaractus brachypomus</i>	Cecos pilóricos	Rio Tapajós, Santarém, PA	Capodifoglio <i>et al.</i> , (2020b)
<i>Myxobolus pirapitingae</i>	<i>Piaractus brachypomus</i>	Intestino	Rio Tapajós, Santarém, PA	Capodifoglio <i>et al.</i> , (2020b)
<i>Myxobolus adrianoi</i>	<i>Corydoras schwartzi</i>	Vesícula biliar	Rio Purus, Lábrea, AM	Mathews <i>et al.</i> , (2020)
<i>Sphaeromyxa azevedoi</i>	<i>Gobioides grahamae</i>	Bexiga urinária	Rio Amazonas, Ilha do Marajó, PA	Carreira <i>et al.</i> , (2022)
<i>Sphaerospora festivus</i>	<i>Mesonauta festivus</i>	Filamento e arco da brânquia	Rio Piririm, Macapá, AP	Bittencourt <i>et al.</i> , (2021)
<i>Thelohanellus marginatus</i>	<i>Hypophthalmus marginatus</i>	Bexiga urinária	Rio Tocantins, Cametá, PA	Rocha <i>et al.</i> , (2014)
<i>Triangulamyxa psitta</i>	<i>Colomesus psittacus</i>		Rio Tocantins, Cametá, PA	Rocha <i>et al.</i> , (2011)

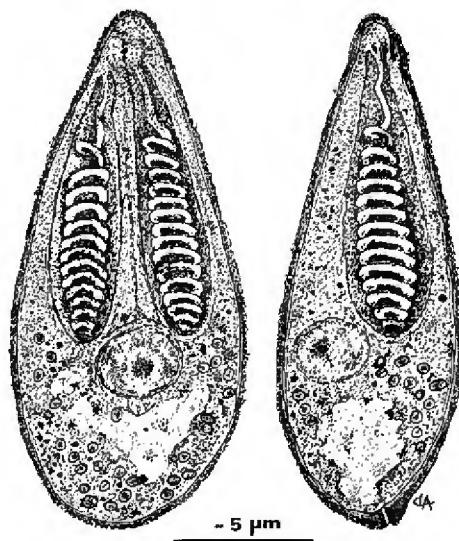
Fonte: A autora (2024)

Apesar do conhecimento sobre a diversidade de mixosporídios em animais aquáticos ter aumentado nas últimas décadas, ainda existem muitas espécies a serem identificadas, principalmente na região amazônica. E o uso dos métodos de taxonomia integrativa, com a morfologia, biologia molecular aliada e dados ambientais, tornaram-se fundamentais para o estudo ictioparasitológico (Zatti *et al.*, 2022), em especial na Amazônia amapaense.

1.5.1.1 Gênero *Myxobolus* Bütschli 1882

O gênero *Myxobolus* é um importante gênero dentro de Myxozoa, quando consideramos sua riqueza de espécies, onde atualmente são conhecidos cerca de 979 taxa que parasitam peixes de diversas regiões do globo terrestre, incluindo ambiente marinho e de água doce (Eiras *et al.*, 2021) (Figura 3). Talvez por esta razão é um dos grupos que cada vez mais novas espécies estão sendo descritas. Este gênero apresenta característica morfológica como: esporos em vista elipsoidal, ovóide ou arredondada, em vista sutural biconvexa, duas cápsulas polares principalmente piriformes, às vezes desiguais (Lom & Dyková, 2006).

Figura 3 - Desenho esquemático da morfologia do esporo de *Myxobolus maculatus*. Vista anterior (esquerda) e vista lateral (direita). Apresentando duas cápsulas polares piriformes e esporoplasma.



Fonte: Adaptado de Casal *et al.*, 2002.

A primeira espécie de *Myxobolus* foi descrita em 1882, nomeada como *M. muelleri* Bütschli, 1882. A segunda espécie foi descrita somente 9 anos depois, a saber *M. merlucii* Perugia, 1891. De 1882, até o final de 1990, a média de descrição de espécies de *Myxobolus*

era de 1 espécie a cada 3 anos, mas de 1990 até os dias atuais, a frequência cai para 1 espécie por ano (WoRMS, 2023). Isso provavelmente está relacionado com o aumento de estudos sendo desenvolvidos com esses grupos de parasitos. No entanto, não estamos nem perto da real dimensão da diversidade desse grupo.

Considerando a região do estudo, nenhuma espécie de *Myxobolus* foi descrita parasitando peixes dessa região. O estado do Amapá é uma região distante das demais regiões que foram descritas espécies de *Myxobolus*, considerando essa distância, e os processos evolutivos que atuam nos processos de especiação, tais como, isolamento por barreiras geográfica e distância, essa região pode abrigar espécies de *Myxobolus* até então desconhecidas.

1.5.1.2 Gênero *Henneguya* Thélohan, 1892

O gênero *Henneguya* pertence à família Myxobolidae. Morfologicamente o gênero *Henneguya* apresenta esporos bivalvulídeos com forma oval, e a presença de um processo caudal bifurcado (Figura 4). Caracterizam-se por possuir esporos arredondados, elipsóides ou em forma de fuso na vista valvular, biconvexos na vista sutural, cada valva continua como uma projeção caudal e duas cápsulas polares; com esporoplasma binucleado, são histozoíticos em peixes de água doce, às vezes em marinhos. Dos mixozoários descritos, o gênero *Henneguya* é o segundo mais rico em espécies (Lom & Dyková *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2015; Leis *et al.*, 2017;).

Figura 4 - Desenho esquemático de *Henneguya paraensis*. Vista frontal mostrando as cápsulas polares, esporoplasma binucleado e cauda bifurcada.



Fonte: Adaptado de Velasco *et al.*, 2016.

Enquanto a maioria das espécies de *Henneguya* não causam doença evidente em seus hospedeiros, alguns são patógenos importantes, pois podem trazer prejuízos econômicos (Yokohama, 2003; Liu *et al.*, 2018). Na América do Sul, há relatos de espécies de *Henneguya*

infectando as brânquias de seus hospedeiros e gerando patologias severas (Vieira *et al.*, 2020). Matos *et al.*, (2003) afirmaram que parasitos deste gênero são letais para seu hospedeiro quando estão hospedados em órgãos importantes, nos quais ocorrem a lise celular.

1.5.2 Filo Apicomplexa – Subclasse Coccidia

Classificação de Apicomplexa (ADL *et al.*, 2019)

Filo Apicomplexa Levine, 1980

Classe Conoidasida Levine 1988

Ordem Eucoccidiorida Leger and Duboscq, 1910

Subordem Adeleiorina Leger 1911

Família Haemogregarinidae Neveu-Lemaire, 1901

Família Dactylosomatidae Jakowska and Nigrelli, 1955

Subordem Eimeriorina Leger, 1911

Família Eimeriidae Leger, 1911

Família Cryptosporidiidae Leger, 1911

Os organismos do filo Apicomplexa Levine, 1970 estão entre os mais importantes agentes etiológicos responsáveis por doenças em vertebrados e invertebrados, incluindo os humanos, com implicações ambientais, econômicas e na saúde pública (Lainson, 1992; Morrison, 2009; Silva *et al.*, 2012). Comportando aproximadamente 6.000 espécies descritas, e possivelmente espécies não descritas (Votýpka *et al.*, 2016).

Apicomplexa, assim como muitos microparasitos, possuem muitas incertezas relacionadas à riqueza de espécies desse grupo, principalmente por comportar organismos de pequeno tamanho, dificultando os estudos morfológicos, mas com o advento da biologia molecular, a classificação dessas espécies está passando por diversas mudanças, permitindo conhecermos cada vez mais a real diversidade do grupo (Votýpka *et al.*, 2016; Adl *et al.*, 2019; Ren & Zheng, 2022). A maioria das espécies de Apicomplexa possuem multiplicação sexuada e assexuada no hospedeiro e formam um cisto resistente ao meio ambiente com transmissão direta por meio da cadeia trófica entre predadores e suas presas ou envolvendo vetores artrópodes (Votýpka *et al.*, 2016).

A classe Coccidia compreende um grupo diverso de protozoários com estilo de vida parasitário (Tenter *et al.*, 2002) que impactam os estoques naturais de várias espécies de peixes, com importantes características de invasão parasitária e ecologia de transmissão (Negrão *et al.*,

2019), que o torna potencial para elucidar importantes fenômenos evolutivos do complexo parasita-hospedeiro, e compreender a diversidade real do grupo e as relações filogenéticas existentes. Na Amazônia brasileira, são conhecidos 5 gêneros, *Calyptospora* (3), *Cyrilia* (1), *Eimeria* (1), *Haemogregarina* (2) e *Theileria* (1) (Tabela 2).

1.5.2.1 Gênero *Calyptospora* Overstreet, Hawkins e Fournie 1984

O gênero *Calyptospora* pertence à família Calyptosporidae, e foi proposto para comportar sua espécie tipo *Calyptospora funduli* (Duszynski *et al.*, 1979) que havia sido descrito como membro do gênero *Eimeria* (Levine, 1988). São de ambiente marinho e de água doce, hetoxênicos (Levine, 1988) e possuem especificidade por espécies de hospedeiros (Fournie & Overstreet, 1993).

No ciclo de vida de *Calyptospora*, camarões da família Palaemonidae participam como sendo hospedeiros intermediários. Os peixes são infectados por meio da alimentação, quando predam os camarões hospedeiros intermediários contendo os estágios de esporozoítos que possuem formato de vírgula, assim os esporozoítos invadem os hepatócitos dos peixes que passam por estágios de merogonia, gamogonia e esporogonia (Fournie *et al.*, 2000; Molnár 2006; Eiras 2012a). Os esporocistos de *Calyptospora* diferem dos esporocistos dos demais gêneros, devido um fino véu que cobre o corpo, possui uma parede com sutura que não a divide completamente em duas valvas e possuem uma abertura apical anterior, oblonga e coberta pelo véu, por onde saem os esporozoítos (Molnár 2006; Eiras 2012a;). Uma vez nos peixes, *Calyptospora* parasita os órgãos internos, por exemplo o fígado, vesícula biliar, testículo, ovário e tecido adiposo (Tabela 2).

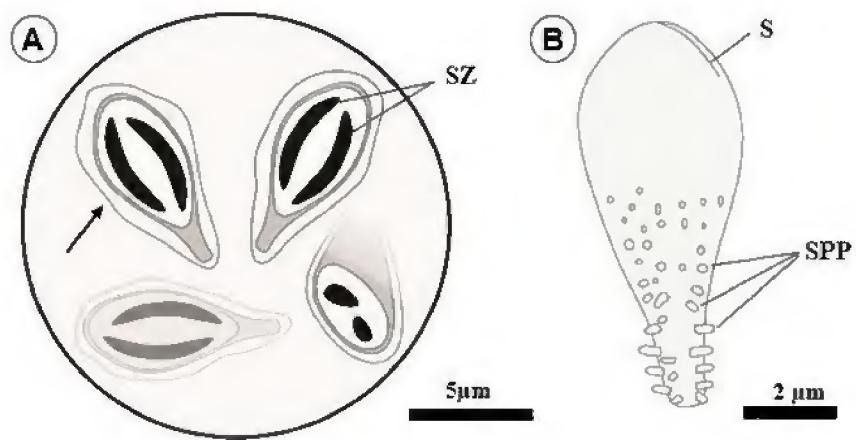
Calyptospora (Figura 5) é um gênero com poucas espécies descritas, um total de 6, a saber *C. empristica*, *C. funduli*, *C. serrasalmi*, *C. spinosa*, *C. tucunarensis*, *C. gonzaguensis*, *C. paranaidji*, sendo que 5 espécies foram descritas em peixes do Brasil, das quais, 3 foram descritas em peixes da Amazônia brasileira e apenas uma espécie foi escrita no Amapá. Além do mais, observou-se que somente uma espécie de *Calyptospora* é parasito de uma espécie de piranha, sendo ela *C. serrasalmi*, encontrado no fígado de *Serrasalmus rhombeus* do Rio Amazonas (Tabela 2). Dessa forma, fica evidente que há um grande potencial para espécies que não foram descritas, principalmente na região amazônica, que abriga espécies de peixes que nunca foram estudadas para conhecimento desses coccídeos, como por exemplo *P. nattereri*.

Tabela 2. Espécies de Apicomplexa registradas em peixes da Amazônia brasileira

Espécie de parasito	Espécie hospedeira	Sítio de infestação	Local de coleta	Referência
<i>Calyptospora gonzaguensis</i>	<i>Triportheus angulatus</i>	Fígado, parênquima, vesícula biliar e tecido adiposo	Rio Tocantins, Imperatriz, MA	Silva <i>et al.</i> , (2020)
<i>Calyptospora serrasalmi</i>	<i>Serrasalmus rhombeus</i>	Fígado	Rio Amazonas, PA	Eiras <i>et al.</i> , (2012)
<i>Calyptospora serrasalmi</i>	<i>Hoplias malabaricus</i> , <i>Geophagus proximus</i>	Vesícula biliar	Rio Curiaú, Macapá, AP	Negrão <i>et al.</i> , (2019)
<i>Calyptospora spinosa</i>	<i>Crenicichla lepidota</i>	Fígado, testículo e ovário	Rio Amazonas, Belém, PA	Azevedo <i>et al.</i> , (1993)
<i>Calyptospora paranaidji</i>	<i>Cichla piquiti</i>	Fígado	Rio Tocantins, divisa MA e TO	Silva <i>et al.</i> , (2019)
<i>Cyrilia lignieresi</i>	<i>Synbranchus marmoratus</i>	Sangue	Rio Amazonas	Eiras <i>et al.</i> , (2012a)
<i>Eimeria lepidosirenis</i>	<i>Lepidosiren paradoxa</i>	Intestino	Rio Amazonas	Eiras <i>et al.</i> , (2012a)
<i>Haemogregarina daviesensis</i>	<i>Lepidosiren paradoxa</i>	Sangue	Igarapé da Fortaleza, Macapá, AP	Esteves-Silva <i>et al.</i> , (2019)
<i>Haemogregarina lepidosirenis</i>	<i>Lepidosiren paradoxa</i>	Sangue	Rio Amazonas	Eiras <i>et al.</i> , (2012a)
<i>Theileria electrophori</i>	<i>Electrophorus electricus</i>	Sangue	Belém, PA	Lainson, (2007)

Fonte: A autora (2024)

Figura 5 - Desenho esquemático do oocisto e do esporocisto de *Calyptospora* sp. A - Oocisto contendo 4 esporocistos, cada um circundado por um véu membronoso (seta) e contendo dois esporozoítos (sz); B - Detalhes da estrutura externa dos esporocistos, com presença de sutura (s) e esporópodes (spp).



Fonte: Adaptado de Oliveira *et al.*, 2021.

2 Hepatic parasitosis caused by *Calyptospora* in *Pygocentrus nattereri* from the sacaízal lake, in the state of Amapá, Brazil.

¹ Postgraduate Program in Animal Health and Production In The Amazon, Federal Rural University of the Amazon – PPGSPAA/UFRA, Belém, 66.077-901, Pará, Brazil.

² Postgraduate Program Legal Amazon Biodiversity and Biotechnology Network, Federal University of Pará - BIONORTE/UFPA, Belém, 66075-110, Belém, Pará, Brazil.

³ Postgraduate Program in Biology of Infectious and Parasitic Agents, Federal University of Pará - PPgBAIP/UFPA, Belém 66075-110, Pará, Brazil.

⁴Morpho-molecular Integration and Technologies Laboratory, Federal Rural University of the Amazon – LIMT/UFRA, Belém 66.077-901, Pará, Brazil.

*Corresponding author: Michele Velasco

Phone: +55 091 99253-8208.

<https://orcid.org/0000-0002-2525-423X>.

E-mail address: michele.velasco@ufra.edu.br.

ABSTRACT

Parasites of the phylum Apicomplexa Levine, 1970 are among the most important etiological agents responsible for diseases in vertebrates and invertebrates, including humans and domestic animals, where we highlight the genus *Calyptospora* described in birds, bivalve molluscs and fish. In this study, we analyzed specimens of the fish *Pygocentrus nattereri* (red piranha) caught

in the Sacaízal lake, municipality of Pracuúba, state of Amapá. The fish were transported to the Laboratory of Morpho-molecular Integration and Technologies - LIMT at the Federal Rural University of Amazonia - UFRA in Belém, in the state of Pará. After necropsy, 6 out of 18 specimens showed whitish spots on the liver lobes, from which fragments were removed for observation under an optical microscope and the presence of several parasitophorous vacuoles containing oocysts of the genus *Calyptospora* was found. Morphological analysis showed that the oocysts were spherical, containing four sporocysts and two sporozoites each. Histopathology showed oocysts concentrated adjacent to blood vessels and in the region of the hepatopancreas, causing necrosis, degeneration, and tissue fibrosis, associated with inflammatory infiltrates and melanomacrophage bodies. This is the first report of coccidia parasitizing *Pygocentrus nattereri*.

Keyword: Coccidiosis, Brazil

35

36 **1. Introduction**

37 The species *Pygocentrus nattereri* popularly known as “red piranha” is a Serrasalmideo
38 belonging to the most diverse group of fish, the Characiformes, with valid species of
importance
39 for regional fishing and aquaculture [1] These fish have a diet of other fish but occasionally
40 consume arthropods, crustaceans, and plant material [2]. The distribution is wide, present in
41 several river basins in South America [3].

42 Organisms of the phylum Apicomplexa Levine, 1970, are among the most important
43 etiological agents responsible for diseases in vertebrates and invertebrates, including humans
44 and domestic animals, with environmental, economic, and public health implications [4,5,6]
45 They possess an apical complex composed of specialized secretory organelles [7]. Sexual and
46 asexual reproduction are common among most of these species within their host. They create a
47 resistant cyst, which enables direct transmission through the food chain between predators and
48 prey, or through arthropod vectors [8].

49 The class Coccidia Leuckart, 1879, comprises a diverse group of protozoa with a
50 parasitic lifestyle [9], affecting the natural stocks of several fish species, with important
51 characteristics of parasitic invasion and transmission ecology [10]. The *Calyptospora* genus
52 infects fish, preferentially in the hepatic region. The morphological characteristics include
53 parasitophorous vacuoles with four sporocysts, each containing two sporozoites [11].
54 Sporocysts can vary from round to ellipsoid in morphology [12]. Currently, five species of the
55 genus *Calyptospora* have been described as infecting fish: *C. tucunarensis* [13], *C. spinosa*
56 [14], *C. serrasalmi* [15], *C. paranaidji* [16] and *C. gonzaguensis* [17], four of which were
57 identified in the Amazon basin.

58 This study aims to describe the morphology and histopathological changes caused by
59 *Calyptospora* sp. in the liver of *Pygocentrus nattereri* captured in Lake Sacaizal, in the
60 municipality of Pracuúba, Amapá state.

61 **2. Materials and methods**

62 **2.2 Specimen collection**

63 This study was carried out at Lake Sacaizal, located in the municipality of Pracuúba
64 (1°42'8.79"N 50°43'17.56"W), in the state of Amapá, Brazil. The 18 specimens of *Pygocentrus*
65 *nattereri* (SISBIO/ICMBio License nº 88196-1) were acquired dead from artisanal fishermen,
66 placed in isothermal boxes with ice, and transported to the Morpho-molecular Integration and
67 Technologies Laboratory (LIMT) at the Federal Rural University of Amazônia (UFRA) in

68 Belém, in the State of Pará, for necropsy (CEUA nº 7218270723 /ID000609). Subsequently,
69 the entire body surface, tissues, and organs were analyzed using a stereoscopic microscope and
70 a light microscope (ML) to search for parasites and perform morphological analyses.

71 The methodology of [18], was used to calculate prevalence using the formula $P =$
72 $NTPP/NTPE*100$, where: P = prevalence; $NTPP$ = total number of parasitized fish; $NTPE$ =
73 total number of fish examined.

74 **2.3 Spore morphometry**

75 In the morphometric analysis, the oocysts ($n = 20$) and their internal structures were
76 measured in micrometers (μm) using the ImageJ version 1.46r program and subsequently
77 acquired mean and standard deviation values. A multivariate statistical analysis of Principal
78 Components (PCA) was performed to compile the following parameters: oocyst diameter
(OD),
79 sporocyst length (CE), and sporocyst width (LE) and the relationship between oocyst width and
80 oocyst length. sporocyst (O: E), as described by [16] for *Calyptospora*. Analyses were
81 performed using PAST 3.0 software [19].

82 **2.4 Histopathology**

83 Parasitized liver tissue fragments were fixed in Davidson's solution for 24 hours. They
84 were subsequently dehydrated in an increasing series of ethanol, diaphanized, and processed in
85 paraffin, to be cut 5 μm thick on a microtome and stained with Hematoxylin-Eosin (HE) and
86 Gomori special trichrome stain [20].

87 **2.5 Scanning Electron Microscopy (SEM)**

88 Fragments of liver tissue were fixed in 5% glutaraldehyde buffered with 0.2 M sodium
89 cacodylate at pH 7.2 for 24 hours at 4 °C. Subsequently, they were washed in the same buffer
90 for 24 hours at 4°C, and post-fixed in 2% osmium tetroxide in the same buffer for 3 hours at the
91 same temperature, and after dehydration, in an increasing series of ethanol. Dried to a critical
92 point and metalized with gold or platinum. The visualizations and photomicrographs were
93 carried out using the Tescan Mira3 scanning electron microscope at the Scanning Electron
94 Microscopy Laboratory at the Research Campus of the Museu Paraense Emílio Goeldi -MPEG.

95 **3. Results**

96 Among the 18 specimens of *Pygocentrus nattereri* necropsied, 6 showed regions of
97 whitish color in the liver (Figure 1A), with the appearance of clusters distributed in the liver
98 parenchyma. Light microscopy confirmed that the clusters were coccidia oocysts, both in

99 greater numbers, forming a thin conjunctival wall surrounding them and distributed throughout
100 the liver parenchyma (Figure 1B), it was also possible to observe isolated oocysts (Figure 1C).

101 Due to its spherical shape and the formation of a parasitophorous vacuole containing
102 four pyriform sporocysts each with two sporozoites, these were identified as oocysts belonging
103 to the genus *Calyptospora* (Figure 2), therefore representing a prevalence of 33.3%.

104 Mature spherical oocysts were 18.1 ± 0.5 (17.4-18.7) μm in diameter, with four
105 pyriform

106 sporocysts measuring 9.0 ± 0.45 (8.3-9.8) μm in length and 4.3 ± 0.50 (3.7-5.1) μm wide. In
107 SEM, the sporozoites revealed numerous sporozoites concentrated on their narrow posterior
end (Figure 2D).

108 Histopathological findings showed grouped oocysts compressing the hepatocytes and
109 cells of the intrahepatic pancreas, as well as melanomacrophage bodies (MMC) full of pigment
110 granules with a yellowish-brown color and an inflammatory infiltrate (Figure 3A). The clusters
111 of oocysts were surrounded by a conjunctival wall with fibroblasts well defining a single cystic
112 layer (Figure 3B). A conjunctival wall with fibroblasts surrounded the clusters of oocysts well
113 defining a single cystic layer (Figure 3B). We also observed tissue degeneration and
114 compressive necrosis, with liver cells exhibiting pyknotic and irregular nuclei, as well as lacy
115 cytoplasm, with an emphasis on oocysts in the vicinity of blood vessels (Figure 3E).

116 Principal Component Analysis (PCA) demonstrated that axes 1 and 2 represented 98%
117 of the data variance and showed that *Calyptospora* sp. of the present study has an oocyst
118 diameter similar to that of *Calyptospora* sp. 1, *Calyptospora* sp. 2, and *C. gonzaguensis* and is
119 different in length and width of the sporocysts and the relationship between oocyst and
120 sporocyst (Figure 2).

121 **4. Discussion**

122 There are records of *Calyptospora* species parasitizing teleost fish from the families
123 Pimelodidae, Cichlidae, Arapaimatidae, Triportheidae, and Serrasalmidae (Table 1). These
124 parasites infect the livers of these hosts, causing histopathological changes in the tissue [17,21].
125 In the present study, Calyptopora infection was recorded in the liver of *P. nattereri* from Lake
126 Sacaizal, municipality of Pracuúba, state of Amapá, Brazil, with a prevalence of infection like
127 that recorded in *Serrasalmus rhombeus* Linnaeus, 1766, with 33.0% [21]. However,
128 *Serrasalmus striolatus* (Steindachner, 1908) recorded higher prevalence values of *Calyptopora*
129 at 53.3% [22], followed by *Cichla temensis* Humboldt, 1821, at 56% [23], *Brachyplatystoma*
130 *vallantii* (Valenciennes, 1840) at 60% [6], *Crenicichla lepidota* Heckel, 1840, at 63% [14],
and
131 *Serrasalmus rhombeus*, at 80% [22].

132 At present, there is no existing evidence of *Calyptopora* parasitizing *P. nattereri*.
133 However, they have been observed in other fish belonging to the Serrasalmidae family,
134 including *Serrasalmus striolatus* and *S. rhombeus*, where they cause infections by *C.*
serrasalmi

135 [22]. The morphology of the oocysts and mainly the arrangement of the sporopods in the
136 sporocysts of *Calyptopora* sp. are similar to *C. serrasalmi* described by [24]. However,
137 morphometric analyses of *Calyptopora* sp. found in this study showed, based on oocyst
138 diameter, a greater similarity of oocysts found in *P. nattereri* with *Calyptopora* sp. 1 collected
139 from *Serrasalmus rhombeus* [21], *Calyptopora* sp. 2 in *Arapaima gigas* (Schinz, 1822) [25],
140 and *C. gonzaguenses* parasites of *Triportheus angulatus* [17]. Molecular analysis is necessary
141 to define species at taxonomic levels.

142 Studies on parasitism by *Calyptospora* frequently report the presence of whitish regions
143 in the liver of the host fish [14,22,21,26]. In studies carried out on parasitism by *Calyptospora*,
144 the presence of whitish regions in the liver of the host fish is frequently reported [26,27,28].
145 Furthermore, *Calyptospora* can cause damage to the liver of fish at the cellular level, including
146 nuclear hypertrophy, destruction of the cytoplasm, and even severe degeneration of the organ
147 [13,14], which can lead to the death of the host due to liver failure [25]. In the present study
148 with *P. nattereri*, the presence of oocysts in the vicinity of blood vessels, fibrosis around
149 clusters of oocysts in the hepatopancreas, tissue degeneration, and compressive necrosis were
150 recorded, as reported in *S. rhombeus* by [21].

151 The presence of inflammatory infiltrates and melanomacrophagic cells close to the
152 clusters of oocysts found in the liver of *P. nattereri* demonstrate the installation of an infection
153 process and the host's immunological response to parasitism [25,29,30]. These changes caused
154 by *Calyptospora* were recorded in the livers of *Aequidens plagiozonatus* Kullander, 1984 [27],
155 *Cichla temensis* [26], *Serrasamus rhombeus* [21], *Cichla ocellaris* Bloch and Scheneider, 1801
156 [13], and *Cichla piquiti* Kullander & Ferreira, 2006 [16]. However, there are cases in which,
157 despite the occurrence of histopathological changes caused by *Calyptospora* in the host's
158 hepatopancreas, no serious inflammatory process was observed in the tissue, such as those
159 described in *C. temensis* [23] and *Arapaima gigas* [25].

160 **5. Conclusion**

161 This is the first documented case of coccidiosis caused by *Calyptospora* sp. in *P. nattereri* from
162 Pracuúba municipality, Amapá state. The infection has resulted in significant liver disease. The
163 oocysts have formed fibrous cysts, which have triggered the recruitment of inflammatory cells
164 and melanomacrophage bodies to the site of infection. As a result, the liver parenchyma has

165 undergone degeneration. These findings demonstrate that infection by *Calyptospora* parasites
 166 can cause liver damage and potentially affect the overall physiology of the host.

167 **6. References**

- 168 [1] NTB Mateussi, BF Maloa, RP Otab, FF Roxoc, LE Ochoad, F. Forestia, C. Oliveira.
 169 Phylogenomics of the Neotropical fish family Serrasalmidae with a novel intrafamilial
 170 classification (Teleostei: Characiformes), Mol Phylogenet Evol. 153 (2020) 106945.
 171 <http://doi.org/10.1016/j.ympev.2020.106945>
- 172 [2] MGM Soares, ELD Costa, HDBD Anjos, K. Yamamoto, Freitas. Peixes de Lagos do Médio
 173 Rio Solimões. 2.edition, Instituto I-piatam, Manaus, 2008.
- 174 [3] JS Nelson, TC Grande, MV Wilson. Fishes of the World. 5 edition, John Wilwy & Sons,
 175 Hoboken, 2016.<https://doi.org/10.1002/9781119174844>
- 176 [4] R. Lainson. A protozoologist in Amazônia: Neglected parasites, with particular reference to
 177 members of the Coccidia (Protozoa: Apicomplexa), Ciência e Cultura. 44 (1992) 81-93.
- 178 [5] DA Morrison. Evolution of the Apicomplexa: where are we now? Trends in Parasitology,
 179 ScienceDirect. 25 (2009) 375-382. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2009.05.010>
- 180 [6] MCD Silva, SCD São-Clemente, JÁ Picanço-Júnior, MVOD Silva. *Calyptospora* sp. in
 181 *Brachyplatystoma vaillantii* trapped at the Vigia, State of Pará, Brazil, Rev. Bras. Parasitol.
 182 Vet. 21 (2012) 176–178. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612012000200020>
- 183 [7] V. Souza, ESM Duarte, L. Lemgruber, M. Attias, RC Vommaro. Structural organization of
 184 the tachyzoite of *Toxoplasma gondii*, Scientia Medica. 20 (2010) 131-143.
- 185 [8] J. Votýpka, D. Modrý, M. Oborník, J. Šlapeta, J. Lukeš. Apicomplexa. In: JM Archibald,
 186 AGB Simpson, CH Slamovits (Eds.) Handbook of the Protists, Springer, Cham, 2016, pp.567-
 187 624.
- 188 [9] AM Tenter, JR Barta, I. Beveridge, DW Duszynski, H. Mehlhorn, DA Morrison, RC
 189 Thompson, PA Conrad. The conceptual basis for a new classification of the coccidia, Int J
 190 Parasitol. 32 (2002) 595-616. [https://doi.org/10.1016/s0020-7519\(02\)00021-8](https://doi.org/10.1016/s0020-7519(02)00021-8).
- 191 [10] MCS Negrão, MRL Silva, MN Videira, LA VIANA. Prevalence and molecular
 192 characterisation of *Calyptospora* parasites Overstreet, Hawkins and Fournié, 1984
 193 (Apicomplexa: Calyptosporidae) in fishes from the eastern Amazon, Brazil, Parasitology
 194 international. 73 (2019) 101975. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2019.101975>.
- 195 [11] JW Fournie, WE Hawkins, RM OVERSTREET. *Calyptospora empristica* n. sp.
 196 (Eimeriorina: Calyptosporidae) from the Liver of the Starhead Topminnow, *Fundulus notti*, J.
 197 Prolozool. 32 (1985) 542-547.
- 198 [12] C. Azevedo, E. Matos E, P. Matos. Ultrastructural data on sporogony of the coccidian
 199 parasite *Calyptospora spinosa* from the liver of the Amazonian fish, *Crenicichla lepidota*
 200 Heckel, J of Fish Diseases. 18 (1995) 475-79. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1995.tb00351.x>

- 202 [13] L. Békesi, K. Molnár. *Calyptospora tucunarensis* n. sp. (Apicomplexa: Sporozoea) from
203 the liver of tucunare *Cichla ocellaris* in Brazil, Systematic Parasitology. 18 (1991) 127-132.
204 <https://doi.org/10.1007/BF00017665>
- 205 [14] C. Azevedo, P. Matos, E. Matos. Morphological data of *Calyptospora spinosa* n. sp.
206 (Apicomplexa, Calyptosporidae) parasite of *Crenicichla lepidota* Heckel, 1840 (Teleostei)
207 from Amazon River, European J of Protistology. 29 (1993) 171-175.
208 [https://doi.org/10.1016/S0932-4739\(11\)80270-1](https://doi.org/10.1016/S0932-4739(11)80270-1)
- 209 [15] PJ Cheung, RF Nigrelli, GD Ruggieri. *Calyptospora serrasalmi* sp. nov. (Coccidia:
210 Calyptosporidae) from liver of the black piranha, *Serrasalmus niger* Schomburgk, J. of
211 Aquariculture and Aquatic Sciences. 4 (1986) 54-57.
- 212 [16] MF Da Silva, DT Da Silva, EG Giese, IG Hamoy, E. Matos. Morphology and Phylogeny
213 of *Calyptospora paranaidji* n. sp. (Eimeriorina: Calyptosporidae), an Apicomplexan Parasite
214 of the Hepatic Tissue of *Cichla piquiti* Kullander & Ferreira, 2006, From a Reservoir in the
215 Brazilian Amazon Region, J Eukaryot Microbiol. 66 (2019) 608-616.
216 <http://dx.doi.org/10.1111/jeu.12707>. PMid:30548108
- 217 [17] MF Silva, JFF Orlando, MJ Aráujo-Costa, I. Hamoy, E. Matos. Hepatic coccidiosis in
218 *Triportheus angulatus* Spix & Agassiz, 1829 (Characiformes: Triportheidae), a tropical fish
219 from the eastern Brazilian Amazon, with the description of a new species of *Calyptospora*
220 (Apicomplexa: Calyptosporidae), J Eukaryot Microbiol. 67 (2020) 352-358.
221 <http://doi.org/10.1111/jeu.12785> PMid:31943507.
- 222 [18] AO Bush, KD Lafferty, JM Lotz, W. Shostak. Parasitology meets ecology on its own
223 terms. Margolis et al. revisited, The J. of Parasitology. 83 (1997) 1997 575-83.
- 224 [19] O. Hammer, DAT Harper, PD Ryan. Palaeontological statistics software package for
225 education and data analysis, Palaeontologia Electronica. 4 (2001) 1-9.
- 226 [20] LG Luna. Manual of Histologic Staining of the Armed Forces Institute of Pathology. 3.
227 Edition, McGraw-Hill, New York, 1968.
- 228 [21] JEF Oliveira, RTA Figueiredo, JL Sindeaux-Neto, MPSP Vilhena, JF Berrêdo, E. Matos,
229 M. Velasco. Hepatic coccidiosis in *Serrasalmus rhombeus* Linnaeus, 1766 from the Amazon
230 basin: morphological and histopathological aspects, Braz J Vet Parasitol. 30 (2021) e026120.
231 <https://doi.org/10.1590/S1984-29612021007>
- 232 [22] G. Casal, I. Padovan, E. Matos, P. Padovan, P. Matos, A. Guimaraes, C. Azevedo.
233 Morphological and Ultrastructural Redescription of *Calyptospora Serrasalmi* Cheung, Nigrelli
234 & Ruggieri, 1986 (Apicomplexa: Calyptosporidae), a Parasite Found in Two New Host Species
235 of the Genus *Serrasalmus*, Braz J for Morphological Sciences. 24 (2007) 11-16.
- 236 [23] H. Santiago, JL Corrêa, R. Tortelly, RC Menezes, P. Matos, E. Matos. Morphology and
237 histopathology of *Calyptospora* sp. (Apicomplexa: Calyptosporidae) in speckled peacock bass,
238 *Cichla temensis* Humboldt, 1821 (Perciformes: Cichlidae), from the Marajó-Açu River, Marajó
239 Island, Brazil, Parasitol Res. 110 (2012) 2569-2572. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-011-2770-0>. PMid:22200958.

- 241 [24] CM Whipps, JW Fournie, DA Morrison, C. Azevedo, E. Matos, P. Thebo, ML Kent.
242 Phylogeny of fish-infecting *Calyptospora* species (Apicomplexa: eimeriorina), Parasitol Res.
243 111 (2012) 1331-1342. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-012-2969-8>. PMid:22645034.
- 244 [25] CJ Bonar, SH Poynton, FY Schulman, RL Rietcheck, MM Garner. Hepatic *Calyptospora*
245 sp. (Apicomplexa) infection in a wild-born, aquarium-held clutch of juvenile arapaima
246 *Arapaima gigas* (Osteoglossidae), Dis Aquat Organ. 70 (2006) 81-92. <http://dx.doi.org/10.3354/dao070081>. PMid:16875394.
- 248 [26] M. Velasco, M. Videira, P. Matos, SC São Clemente, O. Sanches, E. Matos. Morfologia e
249 nova ocorrência de um coccídio hepatopancreático parasita de peixe amazônico, Amazon J
250 Agric Envir Sci. 55 (2012) 231-235. <http://dx.doi.org/10.4322/rca.2012.063>
- 251 [27] M. Videira, M. Velasco, R. Tortelly, RC Menezes, SC São Clemente, E. Matos. An
252 anatomopathological study of hepatic coccidiosis (*Calyptospora* sp.) in the Acará-pixuna,
253 *Aequidens plagiozonatus* Kullander, 1984 from the Brazilian state of Pará, Arq Bras Med Vet
254 Zootec 65 (2013) 91-94. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352013000100014>
- 255 [28] ABMA Ramos, PFS Santos, LCA Hemeterio, WJP Santos, RS Araújo, E. Matos. Coccidiose hepática em *Aspistor quadriscutis*, Valenciennes, 1840 (Teleostei: Ariidae)
256 capturados no estuário do nordeste paraense, Amazônia, Brasil, Arch Vet Sci. 23 (2018) 63-67.
257 <http://dx.doi.org/10.5380/avs.v23i3.52244>
- 259 [29] C. Agius. The melano-macrophage centres in fish: a review. In: MJ Manning, MF Tatner
260 Fish Immunology (Eds.), Academic Press, London, 1985, pp. 85–105.
- 261 [30] H. Bjørgen, EO Koppang. The melano-macrophage: The black leukocyte of fish
262 immunity,
263 Fish Shellfish Immunol. 148 (2024) 109523. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2024.109523>
- 264
- 265
- 266
- 267
- 268
- 269
- 270
- 271
- 272
- 273
- 274
- 275

FIGURES LEGEND

Figure 1. Macro and microphotographs of *Calyptospora* sp. infection. in *Pygocentrus nattereri*.

A – Liver showing a whitish region with a cystic appearance. B - Clusters of oocysts surrounded

by a thick wall with a fibrous appearance observed under light microscopy. C - Oocysts containing 4 sporocysts, sporozoites (sp) inside. D - Scanning electron microscopy micrographs of a sporocyst of *Calyptospora* sp. with emphasis on sporopods (spp).

Figure 2. Illustrative drawing of the coccidia of the genus *Calyptospora*.

Figure 3. Microphotographs of histological sections of liver tissue from *Pygocentrus nattereri* infected by *Calyptospora* sp. A and B – Histological liver sections stained with HE: A - Grouped oocysts compressing the hepatocytes and the presence of melanomacrophagic cells (arrowhead) full of yellowish pigment granules and inflammatory infiltrate (*). B - Clusters of oocysts surrounded by a wall of fibroblasts (arrowhead). C, D, E, and F – Gomori trichrome staining: C - Parasites of the genus *Calyptospora* causing fibrosis. Green coloring indicates the presence of collagen fibers (*) and degeneration (**) in the liver parenchyma and intrahepatic pancreas. D – Oocysts clustered in the hepatopancreas region. E – Oocysts clustered in the hepatopancreas region. E - Cluster of oocysts in the intrahepatic pancreas region surrounded by a thick, fibrous wall (arrowhead). F – Oocysts close to the blood vessel of the liver parenchyma (*). Scale bar 20 μ m.

Figure 4. Morphometric data (μ m) of *Calyptospora* sp. described in Brazil. OD - oocyst diameter; EC - spore length; LE - spore width; O:E – ratio between oocyst width and sporocyst length.

297

298

299

300

301

302

303

304

305

306

307

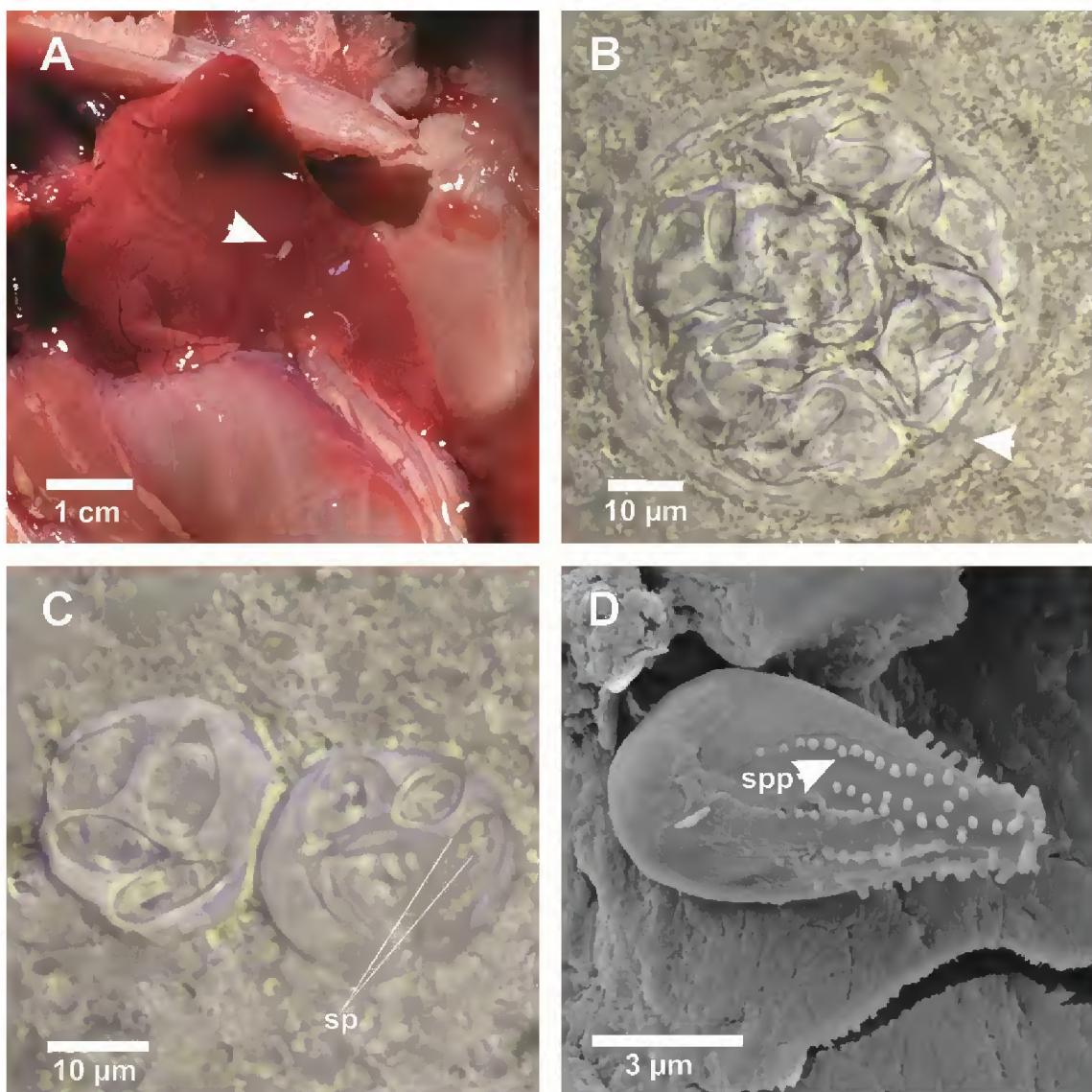
308

309

310

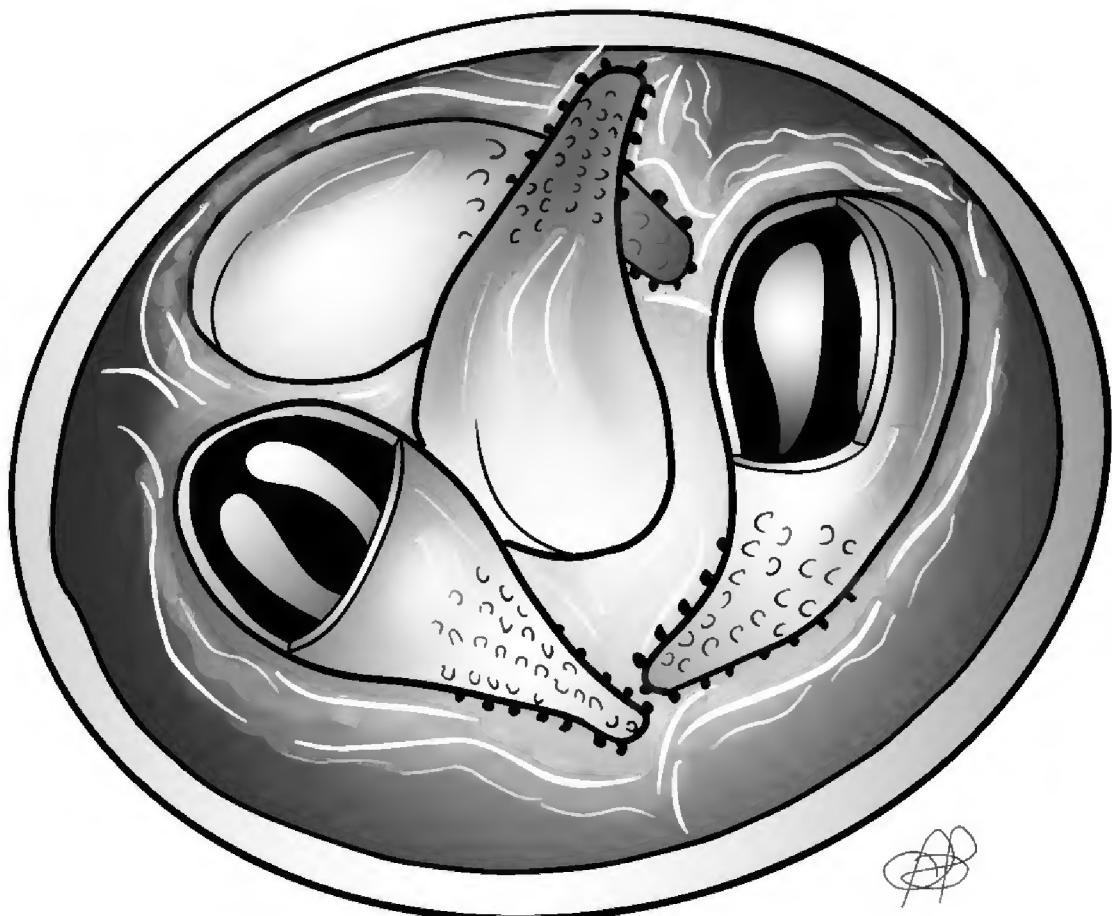
311

312



313

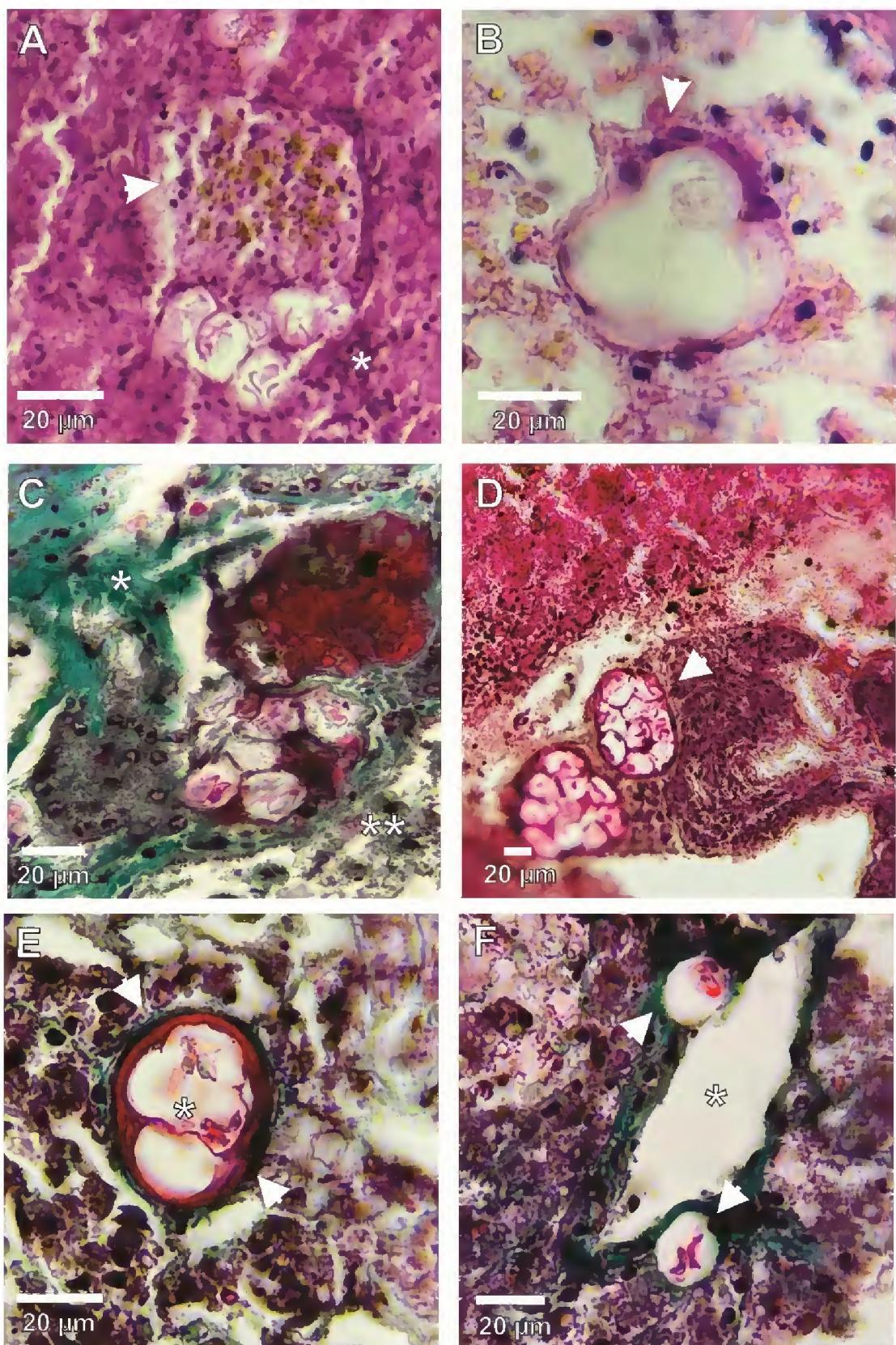
314



315

316

317

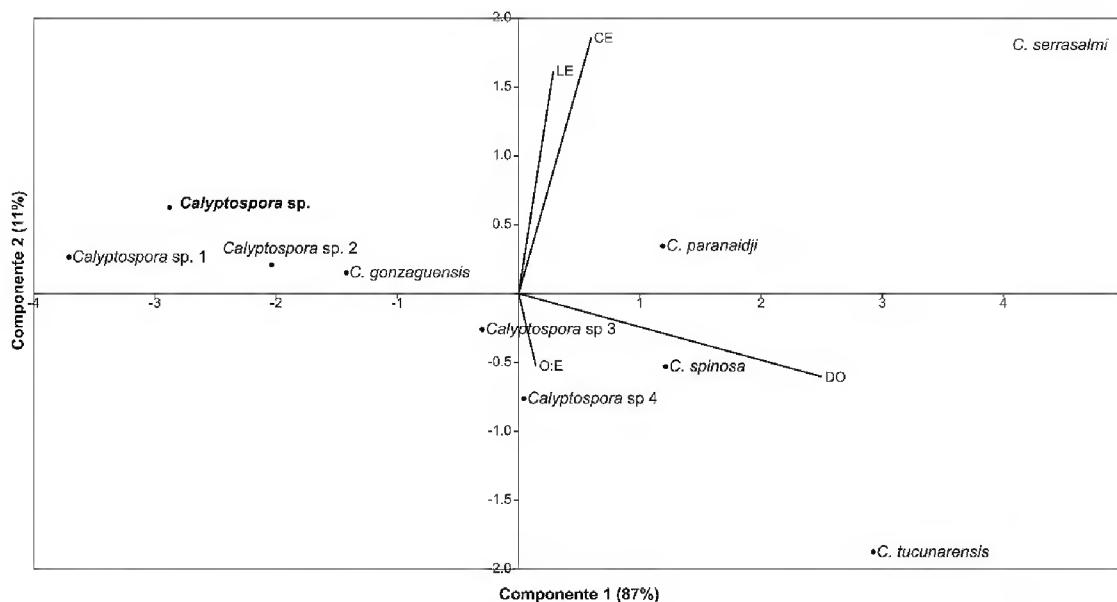


318

319

320

321



322

323

324

325

326

327

328

329

330

331

332

333

334

335

336

337

338

339

340

Espécie	Hospedeiro	Sítio de infecção	Localidade	DO	O:E	ESPOROCISTO			Referência
						Forma	Comprimento	Largura	
<i>Calyptospora</i> sp.	<i>Pygocentrus nattereri</i>	Fígado	Amapá	18.1	2	Piriforme	9	4.3	Este estudo
<i>Calyptospora</i> sp.1	<i>Serrasalmus rhombeus</i>	Fígado	Pará	17.4	2.1	Piriforme	8.3	4.3	Oliveira <i>et al.</i> , (2021)
<i>Calyptospora</i> sp.2	<i>Arapaima gigas</i>	Fígado	Amazonas	19	2.1	Piriforme	9	4	Bonar <i>et al.</i> , (2006)
<i>Calyptospora</i> sp.3	<i>Brachyplatystoma vaillant</i>	Fígado	Pará	20,8	2.3	Piriforme	8,9	4.1	Silva <i>et al.</i> , (2012)
<i>Calyptospora</i> sp.4	<i>Cichla temensis</i>	Hepatopâncreas	Manaus	21.2	2.3	Piriforme	9.2	3.1	Santiago <i>et al.</i> , 2012
<i>C. spinosa</i>	<i>Crenicichla lepidota</i>	Fígado, gônada e ovário	Pará	22.3	2.4	Elipsoidal	9.3	3.8	Azevedo <i>et al.</i> , (1993)
<i>C. serrasalmi</i>	<i>Serrasalmus striolatus</i> e <i>S. rhombeus</i>	Fígado	Pará	25.4	2.2	Piriforme	11.7	5.9	Casal <i>et al.</i> , (2007)
<i>C. gonzaguenses</i>	<i>Triplotheus angulatus</i>	Fígado, vesícula biliar e tecido adiposo	Maranhão	19.6	2.1	Piriforme	9.2	3.9	Silva <i>et al.</i> , (2020)
<i>C. paranaidji</i>	<i>Cichla piquiti</i>	Fígado	Tocantins	22.1	2.2	Elipsoidal	9.7	4.6	Silva <i>et al.</i> , (2019)
<i>C. tucunarensis</i>	<i>Cichla ocellaris</i>	Fígado	Ceará	24.3	2.8	Elipsoidal	8.3	3.7	Békési <i>et al.</i> , (1991)

1 **3 MULTIPARASITISMO POR MIXOZOÁRIOS EM *Pygocentrus nattereri* DO LAGO
2 SACAIZAL, NO MUNICÍPIO DE PRACUÚBA, ESTADO DO AMAPÁ, BRASIL.**

3

4 **MULTIPARASITISM BY MYXOZOANS IN *Pygocentrus nattereri* FROM LAGO
5 SACAIZAL, IN THE MUNICIPALITY OF PRACUÚBA, STATE OF AMAPÁ,
6 BRAZIL.**

7 **Abstract**

8 The present study reports morphological characteristics of mature spores of cnidarians
9 belonging to the Myxozoa class that were found in the arch, gill filament, caudal fin and caudal
10 kidney of *Pygocentrus nattereri* Kner, 1858, collected in Lake Sacaizal, in the municipality of
11 Pracuúba, State of Amapá. The prevalence of infection was 44% for *Henneguya* sp. and 22%
12 for *Myxobolus* sp. Cysts were found in the gill filaments with a rounded shape containing
spores

13 of *Henneguya* sp. and rounded cysts found in the gill arch, in the caudal fin and more elongated
14 in the gill filaments containing spores of *Myxobolus* sp. The morphological and morphometric
15 characteristics of the spores in the gill arch and caudal kidney revealed the presence of two
16 morphotypes of *Myxobolus* sp. Based on the described morphology of the spores, it is concluded
17 that they belong to the genera *Henneguya* and *Myxobolus*. This is the first record of *Henneguya*
18 sp. and *Myxobolus* sp., presenting two morphotypes in the caudal kidney, in *P. nattereri* from
19 lake sacaizal, in the municipality of Pracuúba, State of Amapá.

20 **Keywords:** Amazon, myxozoans, piranha

21

22 **Resumo**

23 O presente estudo relata características morfológicas de esporos maduros de cnidários
24 integrantes da classe Myxozoa que foram encontrados no arco, filamento branquial, nadadeira
25 caudal e no rim caudal do *Pygocentrus nattereri* Kner, 1858, coletados no lago Sacaizal, no
26 município de Pracuúba, Estado do Amapá. A prevalência de infecção foi de 44% para
27 *Henneguya* sp. e 22% para *Myxobolus* sp. Foram encontrados cistos nos filamentos branquiais
28 com formato arredondado contendo esporos de *Henneguya* sp. e cistos arredondados
29 encontrados no arco branquial, na nadadeira caudal e mais alongados nos filamentos branquiais
30 contendo esporos de *Myxobolus* sp. As características morfológicas e morfométricas dos
31 esporos no arco branquial e no rim caudal revelaram a presença de dois morfotipos de
32 *Myxobolus* sp. Com base na morfologia descrita dos esporos conclui-se que estes pertencem
33 aos gêneros *Henneguya* e *Myxobolus*. Este é o primeiro registro de *Henneguya* sp. e *Myxobolus*

34 sp., apresentando dois morfotipos no rim caudal, em *P. nattereri* do lago Sacaizal, no
município
35 de Pracuúba, Estado do Amapá.

36 Palavra-chave: Amazônia, Mixozoários, piranha

37

38 **1 Introdução**

39

40 A classe Myxozoa Grassé, 1970 é amplamente distribuída, com cerca 2.600 espécies
41 descritas (Zhang et al., 2019), das quais, cerca de 495 estão presentes no continente americano
42 e representa cerca de 18% das espécies de cnidários (Okamura et al., 2015). Os mixozoários
43 são parasitos metazoários que infectam, platelmintos, répteis, anfíbios e peixes, tanto marinhos
44 como de água doce, sobretudo espécies de teleósteos (Kent et al., 2001; Okamura
45 & Bartholomew, 2015). A maioria dos mixozoários possuem ciclo de vida indireto envolvendo
46 um hospedeiro definitivo, como oligoqueta, poliqueta ou briozoário e um intermediário, os
47 peixes (Yokoyama et al., 2012). Em peixes os mixosporídios são encontrados, principalmente
48 nas brânquias, tecido epitelial, nadadeiras, musculatura esquelética, vesícula biliar e outros
49 órgãos vitais (Eiras et al., 2023).

50 Myxozoa compreende 64 gêneros (Fiala et al., 2015), *Myxobolus* Bütschli, 1882 e
51 *Henneguya* Thélohan, 1892 (Myxobolidae) são os gêneros com maior número de espécies,
52 juntos compreendem quase metade da diversidade geral das espécies conhecidas dessa classe
53 (Liu et al., 2019). Esses parasitos podem impactar a produção pesqueira e aquicultura,
54 considerando seu potencial patogênico (Moran et al., 1999), causam danos nas células do
tecido
55 que infectam, podendo trazer problemas para saúde do hospedeiros (Sterud et al., 2007).

56 Além disso *Myxobolus cerebralis* Hofer, 1903 tem se mostrado um fator significativo
57 no declínio de estoques de populações de hospedeiros selvagens (Feist and Longshaw, 2006),
58 causando a doença giratória dos salmonídeos, que consiste em lesões nos tecidos esqueléticos,
59 principalmente na cabeça (Hoffman, 1990). Espécies do gênero *Henneguya* causam em seus
60 hospedeiros severa hiperplasia e fusão de filamentos secundários das brânquias, congestão de
61 alguns vasos sanguíneos que constituem os arcos branquiais, deformação da estrutura lamelar,
62 incluindo compressão dos capilares, edema e espessamento da superfície epitelial (Barassa et
63 al., 2003; Eiras et al., 2008; Sales et al., 2020).

64 Algumas espécies de Myxozoa são altamente patogênicas, e causam severas doenças
65 nos peixes, como *K. thrysites* e *M. cerebralis*, no entanto, há espécies com baixa patogenia que
66 causam patologias em escala pequena sendo possível detectar somente por meio de análises

67 microscópicas e por meio de análises histológicas (Barassa et al., 2003; Figueredo et al., 2020;
68 Margarido et al., 2021; Sales et al., 2020; Velasco et al., 2015).

69 O gênero *Pygocentrus* pertencente a ordem Characiformes, família Serrasalmidae. Esse
70 gênero comporta atualmente 4 espécies que são conhecidas popularmente como piranhas, e são
71 amplamente distribuídas em bacias hidrográficas da América do Sul (Nelson et al., 2016).
72 *Pygocentrus nattereri* Kner, 1858 é pelágica, possui hábito diurno e noturno, é carnívora,
73 ingerindo principalmente peixe, mas consome também de insetos, crustáceos, escamas e
74 nadadeiras de peixes, partes de mamíferos (morcego e pelo de capivara) e material vegetal
75 (Ferreira et al., 2014; Soares et al., 2008).

76 Portanto, são conhecidas somente duas espécies de Myxozoa parasitos de *P. nattereri*.
77 Desta forma, o presente estudo descreve os aspectos morfológicos dos gêneros *Henneguya* sp.
78 parasitando filamento branquial e *Myxobolus* sp. encontrados no arco e filamento branquial,
79 nadadeira caudal e rim, com ocorrência de dois morfotipos parasitando *Pygocentrus nattereri*
80 na Amazônia.

81

82 2 Material e Métodos

83 2.1 Coleta dos espécimes e área de estudo

84

85 Foram coletados 18 espécimes de *P. nattereri* (Licença do SISBIO / ICMBio nº 88196-
86 1) com o uso de tarrafas no lago Sacaizal, localizado no município de Pracuúba ($1^{\circ}42'8.79''N$
87 $50^{\circ}43'17.56''W$), estado do Amapá (Figura 1). Os peixes foram adquiridos mortos de
88 pescadores artesanais e acondicionados em caixas isotérmicas com gelo e transportados para o
89 Laboratório de Integração Morfo-Molecular e Tecnologias (LIMT) na Universidade Federal
90 Rural da Amazônia (UFRA) em Belém, no Estado do Pará, onde realizou-se aferição de dados
91 biométricos: peso (g) e medidas (cm) e posteriormente foram necropsiados (CEUA nº
92 7218270723 /ID 000609) e com o uso de um estereoscópio realizou-se a pesquisa de parasitos
93 por toda a superfície corporal, nos tecidos e órgãos. Retirou-se fragmentos de tecidos para
94 observação em microscópio de luz para a confirmação da presença do parasitismo.

95 A metodologia de Bush *et al.* (1997), foi utilizada para o cálculo de prevalência por meio
96 da fórmula $P = NTPP/NTPE * 100$, onde: P = prevalência; NTPP = número total de peixes
97 parasitados; NTPE = número total de peixes examinados.

98

99 **2.2 Morfometria dos esporos**

100

101 Os esporos encontrados foram medidos em micrômetros (μm) por meio do programa
102 ImagenJ versão 1.46r e vários parâmetros morfométricos foram obtidos dos esporos de
103 *Henneguya*, de acordo com descrição taxonômica de mixozoários preconizados por Lom e
104 Arthur (1989) como: tamanho total (TT), comprimento de cauda (CC), comprimento do esporo
105 (CE), largura do esporo (LE), comprimento da cápsula polar (CCP), largura das cápsulas
106 polares (LCP) e número de voltas do filamento polar (NVFP). Assim como os parâmetros de
107 *Myxobolus*: comprimento do esporo (CE); largura do esporo (LE), comprimento da cápsula
108 polar (CCP), largura da cápsula polar (LPC) e número de voltas do filamento polar (NVFP).

109 Estes dados foram comparados com informações disponíveis para outras espécies
110 descritas em estudos anteriores (Tabela 1 e 2), por meio da estatística multivariada com auxílio
111 da Análise de Componentes Principais (PCA) realizado no software PAST (Hammer et al.,
112 2001).

113

114 **2.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

115 Fragmentos de tecido e esporos, foram fixados em glutaraldeído 5% tamponados com
116 cacodilato de sódio 0,2 M a pH 7.2 por 3 horas a 4°C. Posteriormente, foram lavados no
117 mesmo

118 tampão por 2-4 horas a 4°C, e pós-fixados em tetróxido de ósmio a 2% no mesmo tampão pelo
119 período de 2 horas na mesma temperatura, e após desidratados, em série crescente de etanol.
120 Secados até o ponto crítico, e metalizado com ouro ou platina. As visualizações e
121 fotomicrografias foram realizadas no microscópio eletrônico de varredura Tescan Mira3 do
122 Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura no Campus de Pesquisa do Museu
123 Paraense Emílio Goeldi -MPEG.

124

125 **3 Resultados**

126

127 Os espécimes de *Pygocentrus nattereri* analisados mediam 22.2 ± 1.4 cm de
128 comprimento total e 351.8 ± 102 g de peso corporal. Foram observados cistos com formato
129 arredondado (Figura 2A) nos filamentos branquiais contendo esporos que possuíam formato
130 elipsoidal (Figura 2B-C; Figura 4A) e mediam $32.4 \mu\text{m}$ de tamanho total, $12.9 \mu\text{m}$ de
131 comprimento do corpo do esporo, $4.5 \mu\text{m}$ de largura e possuíam duas cápsulas polares com 6.6
132 μm de comprimento por $1.1 \mu\text{m}$ de largura, com 14 a 15 voltas do filamento polar. Estes
133 esporos

132 apresentaram morfologia atinentes ao gênero *Henneguya* e representaram 44% (8/18) de
 133 prevalência.

134 Foram observados também cistos arredondados no arco branquial (Figura 3A) e
 135 nadadeira caudal (Figura 3D) e cistos mais alongados nos filamentos brânquias (Figura 3C).
 136 No rim caudal verificou a presença de esporos maduros e as análises morfométricas revelaram
 137 dois morfotipos de esporos de *Myxobolus*, sendo um com formato oval, *Myxobolus* sp. (oval)
 138 (Figura 3E; Figura 4C), localizado no filamento branquial, nadadeira caudal e rim, e o outro
 139 mais alongado em forma de gota *Myxobolus* sp. (gota) (Figura 3B; Figura 4B) presente no arco
 140 branquial e no rim caudal (Tabela 2). Dos hospedeiros analisando, 22% (4/18) estavam
 141 parasitados pelos esporos de *Myxobolus*.

142 Os eixos 1 e 2 da PCA representaram 95% da variância dos dados, e mostrou que
 143 *Henneguya* sp. do presente estudo se assemelha com *Henneguya santarenensis* Naldoni, Maia,
 144 Correa, Silva & Adriano, 2018 influenciado principalmente pelo comprimento da cápsula polar
 145 (Figura 5). Considerando as análises morfométricas, *Myxobolus* sp.1 (oval) e *Myxobolus* sp.2
 146 (gota) do presente estudo, diferem de todas as espécies comparadas (Tabela 2). No entanto,
 147 *Myxobolus* sp.1 (gota) se assemelhou a *M. maculatus*, e o esporo de *Myxobolus* sp.2 (gota) foi
 148 semelhante a *Myxobolus* sp. 4, com base sobretudo ao comprimento do esporo (Figura 6).

149
 150 **4 Discussão**

151 O gênero *Henneguya* é frequentemente encontrado parasitando peixes na Amazônia
 152 (Rocha et al., 1992; Azevedo & Matos, 1995; Videira et al., 2015; Velasco et al., 2016; Ferreira
 153 et al., 2020; Capodifoglio et al., 2020; Casal et al., 2003) Entretanto, poucas espécies foram
 154 descritas parasitando piranhas, sendo elas *H. striolata* em *Serrasalmus striolatus* Steindachner,
 155 1908, no rio Amazonas (Casal et al., 1997); *Henneguya pilosa* de *Serrasalmus altuvei* Ramírez,
 156 1965 em Teresina, estado do Piauí, Brasil, (Azevedo & Matos, 2003); *Henneguya curvata* das
 157 brânquias de *Serrasalmus spilopleura* do Rio das Pedras, Campinas, estado de São Paulo,
 Brazil
 158 (Barassa et al., 2003).

159 Espécies de *Henneguya* são encontrados preferencialmente no sistema branquial dos
 160 hospedeiros (Velasco et al., 2016; Matos et al., 2005), contudo já foram encontrados em
 161 vesícula biliar, tegumento, nadadeiras e rim (Azevedo & Matos 1996; Azevedo et al., 2008;
 162 Müller et al., 2023; Eiras et al., 2004). Neste estudo foi registrado a ocorrência de *Henneguya*
 163 sp. parasitando filamentos branquiais de *P. nattereri* apresentando baixa prevalência. No
 164 entanto, maiores valores de prevalência foram registrados para *Henneguya* em *Satanoperca*
 165 *jurupari* (Heckel, 1840) (Ferreira et al., 2020) com 57,14%, em *Cichla temensis* Humboldt,

166 1821 (Velasco et al., 2016) com 60%, além disso Naldoni et al., (2018) registraram prevalência
167 de 100% de *H. santarenensis* em *Phractocephalus hemioliopterus* (Bloch & Schneider, 1801).

168 As análises morfométricas mostraram que *Henneguya* sp. de *P. nattereri* difere das
169 espécies comparadas. No entanto, foi observado pequena semelhança no tamanho total do
170 esporo com *H. santarenensis*, encontrado nas brânquias de *Phractocephalus hemioliopterus*
171 (Bloch&Schneider, 1801) no estado do Pará, Brasil (Naldoni et al., 2018).

172 Parasitos do gênero *Myxobolus* são comuns em peixes de água doce e salgada, tanto de
173 ambientes natural como de cultivo (Capodifoglio et al., 2019; Capodifoglio et al., 2016).
174 Contudo, neste estudo, os valores de prevalência foram inferiores aos encontrados em outros
175 peixes de água doce como em *Brachyplatystoma rousseauxii* (Castelnau, 1855) com 23,5% de
176 *M. tapajosi* (Zatti et al., 2018), em *Metynnis argenteus* Ahl, 1923 com 26% de *Myxobolus*
177 *metynnisi* Casal, Matos, Azevedo, 2006 (Casal et al., 2006), em *Metynnis hypsauchen*
178 (Muller&Troschel, 1844) com 60% de *Myxobolus* sp. (Oliveira et al., 2020) e
179 *Brachyhypopomus beebei* (Schultz, 1944) com 60% de *Myxobolus freitasi* Sindeaux-Neto,
180 Velasco, Silva, Matos, Silva, Gonçalves, Matos, 2021 (Sindeaux-Neto et al., 2021).

181 Espécies de *Myxobolus* infectam diferentes órgãos dos peixes, como as brânquias, rim,
182 coração, pele e sistema nervoso (Silva et al., 2023; Casal et al., 2002; Eiras et al., 2005;
183 Sindeaux-Neto et al., 2021; Maciel et al., 2011, Silva et al., 2023). Em *P. nattereri* foram
184 relatados *Myxobolus* em dois sítios apenas, *Myxobolus dermatoulcerans* na pele (Stilwell et al.,
185 2020) e *Myxobolus colossomatis* no sangue circulante (Úngaria et al., 2022). No presente
186 estudo, *Myxobolus* sp. foi encontrado no rim, arco branquial e nadadeira caudal. Esses mesmos
187 sítios também foram alvos de infecção por *Myxobolus* em outras espécies de peixes da família
188 Serralsamidae, como aconteceu em *Metynnis maculatus* (Kner, 1858), *M. hypsauchen* (Oliveira
189 et al., 2020) (Casal et al., 2002), e *Metynnis lippincottianus* (Cope, 1870) (Façanha et al.,
2024),
190 que estavam parasitados por *Myxobolus* no rim. Em *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816)
191 foram encontrados *Myxobolus colossomatis* Molnár & Bekesi, 1993 nas nadadeiras, arco e
192 filamento das brânquias (Müller et al., 2013).

193 No rim de *P. nattereri* foi encontrado dois morfotipos de *Myxobolus*, sendo eles
194 *Myxobolus* sp.1 (oval) e *Myxobolus* sp.2 (gota). Morfologias semelhantes ao *Myxobolus* sp.1
195 foram encontradas em *C. macropomum*, de *M. colossomatis* infectando fígado, baço, ceco
196 pilórico, nadadeira, parede intestinal, trato digestivo e arco branquial (Capodifoglio et al.,
197 2019), em *M. lippincottianus*, de *Myxobolus* sp. no sangue e no rim (Façanha et al., 2024), e
198 em *Metynnis argenteus* no conjuntivo subcutâneo da região orbicular parasitado por *Myxobolus*
199 *metynnisi* (Casal et al., 2006). A morfologia de *Myxobolus* sp. 2 se assemelha ao esporo de *M.*

200 *maculatus* descrito no fígado de *Metynnis Maculatus* (Casal et al., 2002), e de *Myxobolus* sp. em
201 *M. lippincottianus* (Façanha et al., 2024).

202 As análises morfométricas revelaram que *Myxobolus* sp.1 e *Myxobolus* sp.2 são
203 diferentes de todas as espécies comparadas. No entanto, *Myxobolus* sp.1 se assemelhou ao *M.*
204 *maculatus* encontrado no rim de *Metynnis maculatus* (Casal et al., 2002), mesmo que
205 morfologicamente *Myxobolus* sp.1 e *Myxobolus* sp.2 se aproximou ao *Myxobolus* sp. 4,
relatado

206 no sangue e rim do *Metynnis lippincottianus*, com base no comprimento do esporo.

207 Os mixozoários podem desenvolver-se em vários órgãos internos e pela corrente
208 sanguínea se disseminaram para outros órgãos até chegarem ao rim, onde podem se
209 desenvolver, ou utilizá-lo como um depósito, onde os esporos da corrente sanguínea são
210 recolhidos, armazenados e destruídos por células macrofágicas no interstício (Molnar et al.,
211 2007). E por se tratar de um órgão excretor, o rim caudal, serve de passagem para liberação dos
212 esporos ao meio ambiente por meio da urina do hospedeiro (Manrique et al., 2017).

213

214 **5 Conclusões**

215 Este é o primeiro registro de *Henneguya* sp. no filamento branquial e *Myxobolus* sp. em
216 vários sítios de infecção, com destaque para a presença de dois morfotipos parasitando o rim de
217 *P. nattereri* do município de Pracuúba, no Estado do Amapá.

218

219 **6 Referências**

220

221 Abrunhosa J, Sindeaux-Neto JL, Santos Åkd, Hamoy I, Matos E. *Myxobolus marajoensis* sp.
222 n. (Myxosporea: Myxobolidae), parasite of the freshwater catfish *Rhamdia queLEN* from the
223 Brazilian Amazon region. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária 2017, 26, 465-471.
224 <https://doi.org/10.1590/S1984-29612017067>

225 Abrunhosa J, Sindeaux-Neto JL, Santos S, Hamoy I, Matos E. A new species of myxozoa in
226 the skeletal striated musculature of *Rhamdia queLEN* (Quoy & Gaimard) (Siluriforme:
227 Pimelodidae) Amazonian fish, Marajó island, Brazil. Zootaxa 2018 4482, 164–176.
228 <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4482.1.8>

229 Azevedo C, Matos E. Fine structure of henneguya pilosa sp. N. (myxozoa: myxosporea),
230 parasite of *serrasalmus altuvei* (characidae), in brazil. Folia Parasitologica 2003, 50: 37–42,
231 doi:10.14411/fp.2003.006

232 Azevedo, C. Fine structure of sporogonic stages of *Goussia clupearum* (Apicomplexa:

- 233 Eimeriidae) in the liver of infected fish (*Belone belone* L.), using light and electron
microscopy.
- 234 Parasitol Res 2001 87, 326–330. <https://doi.org/10.1007/PL00008586>
- 235 Barassa B, Adriano, EA, Arana S, Cordeiro NS. *Henneguya curvata* sp. n. (Myxosporea:
236 Myxobolidae) parasitizing the gills of *Serrasalmus spilopleura* (Characidae: Serrasalminae), a
237 South American freshwater fish. Folia Parasitol 2003 (Praha). 50:151–153.
238 <https://doi.org/10.14411/fp.2003.026>
- 239 Boreham RE, Hendrick S, O'Donoghue PJ, Stenzel DJ. Incidental finding of *Myxobolus* spores
240 (Protozoa: Myxozoa) in stool samples from patients with gastrointestinal symptoms. J. Clin.
241 Microbiol 1998 36:3728–3730. <https://doi.org/10.1128/jcm.36.12.3728-3730>
- 242 Bush AO, Lafferty KD, Lotz JM, Shostak W. Parasitology meets ecology on its own terms.
243 Margolis *et al.*, The Journal of Parasitology 1997, n. 83.
- 244 Casal G, Matos E, Azevedo C. Some ultrastructural aspects of *Henneguya striolata* sp. nov.
245 (Myxozoa, Myxosporea), a parasite of the Amazonian fish *Serrasalmus striolatus*.
246 Parasitology Research, 83(1), 93-95, 1997. DOI:10.1007/s004360050216
- 247 Casal G, Matos E, Azevedo C. A new myxozoan parasite from the Amazonian fish *Metynnism*
248 *argenteus* (Teleostei, Characidae): light and electron microscope observations. Journal of
249 Parasitology 2006, v. 92, n. 4, p. 817-821. doi: 10.1645/GE-750R.1
- 250 Da Silva, M. F. *et al.*, Morphology and phylogeny of *Calyptospora paranaidji* n.
251 sp.(Eimeriorina: Calyptosporidae), an apicomplexan parasite of the hepatic tissue of *Cichla*
252 *piquiti* Kullander & Ferreira, 2006, from a reservoir in the Brazilian Amazon region. Journal of
253 Eukaryotic Microbiology 2019, v. 66, n. 4, p. 608-616,. doi: 10.1111/jeu.12707.
- 254 Eiras JC, Chemes SB, Casabianca AO, Takemoto, R.; Rossi, L.M.; Pavanelli, G.G.,. An unusual
255 infection of *Henneguya* sp. (Myxozoa, Myxosporea, Myxobolidae) in the gills of
Hoplosternum
- 256 littorale Hancock, 1928 (Osteichthyes, Callichthyidae) from Middle Paraná River, Santa Fe,
257 Argentina. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol 2008, 28, 22–26
- 258 Eiras JC, Barman GD, Chanda S. *et al.*, An update of the species of Myxosporea (Cnidaria,
259 Myxozoa) described from Indian fish. J Parasit Dis 2023, 47, 12–36.
260 <https://doi.org/10.1007/s12639-022-01558-3>
- 261 Façanha NPB, Araújo RF, Feiden A, Silva GLM, Hoshino MDFG, Yoshioka ETO, *et al.*
262 Occurrence of *Myxobolus* spp. (Myxozoa) in the blood of *Metynnism lippincottianus*
263 (Osteichthyes: Serrasalmidae) from eastern Amazon, Brazil. Braz J Vet Parasitol 2024; 33(2):
264 e016123. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612024022>
- 265 Feist S.W, Longshaw M. Phylum Myxozoa, in: Woo, P.T.K. (Ed.), Fish Diseases and
266 Disorders, Volume 1: Protozoan and Metazoan Infections. 2006, University of Guelph Canada,

- 267 Canada, pp. 230–296
- 268 Ferreira FS, Vicentini W, Costa FES, Súarez YR . Trophic ecology of two piranha species,
269 Pygocentrus nattereri and Serrasalmus marginatus (Characiformes, Characidae), in the
270 floodplain of the Negro River, Pantanal. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 2014, vol. 26, no. 4, p.
271 381-391. <https://doi.org/10.1590/S2179-975X2014000400006>
- 272 Figueiredo RTA, de Oliveira JEF, Vilhena, MPSP *et al.*, Henneguyosis in gills of *Metynnis*
273 *hypsauchen*: an Amazon freshwater fish. *J Parasit Dis* 2020, 44, 213–220.
274 <https://doi.org/10.1007/s12639-019-01183-7>
- 275 Fiala I, Bartošová-Sojková P, Whipps CM. Classification and phylogenetics of Myxozoa. In
276 Myxozoan Evolution, Ecology and Development, Springer, Cham 2015, p. 85-110.,
277 https://doi.org/10.1007/978-3-319-14753-6_5
- 278 Hoffman GL. *Myxobolus cerebralis*, a worldwide cause of salmonid whirling disease. *J. Aquat.
279 Anim. Health* 1990, 2, 30–37. [https://doi.org/10.1577/1548-
8667\(1990\)002<0030:MCAWCO>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-
280 8667(1990)002<0030:MCAWCO>2.3.CO;2)
- 281 Hammer O, Harper Dat, R PD. Palaeontological statistics software package for education and
282 data analysis. *Palaeontology Electronica*, 2001, v. 4, n. 1. <http://palaeo-electronica.org>
- 283 Kent ML, Andree KB, Bartholomew JL, El-Matbouli M, Desser SS, Devlin RH, Feist SW,
284 Hedrick RP, Hoffmann RW, Khattra J, Hallett SL, Lester RJG, Longshaw M, Palenzuela O,
285 Siddall ME, Xiao C. Recent advances in our knowledge of the Myxozoa. *J. Eukaryot.
286 Microbiol.* 2001, 48, 395–413. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2001.tb00173.x>
- 287 Langdon JS. Myoliquefaction post-mortem ('milky flesh') due to *Kudoa thrysites* (Gilchrist)
288 (Myxosporea: Multivalvulida) in mahi mahi, *Coryphaena hippurus* L. *J. Fish Dis.* 1991, 14, 45–
289 54. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1991.tb00575.x>
- 290 Liu Y, Lövy A, Gu Z, Fiala I. Phylogeny of Myxobolidae (Myxozoa) and the evolution of
291 myxospore appendages in the Myxobolus clade. *Int. J. Parasitol.* 2019, 49, 523–530.
292 <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2019.02.009>
- 293 Lom J & Arthur JR. A guideline for the preparation of species descriptions in Myxosporea.
294 *Journal of Fish Diseases*, 1989, 12(2), 151-156. doi:10.1111/j.1365-2761.1989.tb00287.x
- 295 Manrique WG, Figueiredo MAP, de Andrade Belo MA, Martins ML, Molnár K. Myxobolus
296 sp. and Henneguya sp. (Cnidaria: Myxobolidae) natural co-infection in the kidney of *Piaractus*
297 *mesopotamicus* (Characiformes: Serrasalmidae). *Parasitol Res.* 2017 Oct;116(10):2853-2860.
298 doi: 10.1007/s00436-017-5571-2. Epub 2017 Aug 5. PMID: 28779214.

- 299 Mathews PD, Maia AA, Adriano EA. Morphological and ultrastructural aspects of *Myxobolus*
300 niger n. sp.(Myxozoa) gill parasite of *Corydoras melini* (Siluriformes: Callichthyidae) from
301 Brazilian Amazon. *Acta Tropica*, 2016, 158, 214-219. doi: 10.1016/j.actatropica.2016.03.016
- 302 Mateussi NTB, Maloa BF, Otab RP, Roxoc FF, Ochoad LE, Forestia, F, Oliveira C.
303 Phylogenomics of the Neotropical fish family Serrasalmidae with a novel intrafamilial
304 classification (Teleostei: Characiformes). Elsevier, 2020. doi: 10.1016/j.ympev.2020.106945.
- 305 Matos E, Tajdari J, Azevedo C. Ultrastructural studies of *Henneguya rhamdia* n. sp. (Myxozoa)
306 a parasite from the Amazon teleost fish, *Rhamdia quelen* (Pimelodidae). *Journal of Eukaryotic*
307 *Microbiology*, 2005, 52(6), 532-537. doi: 10.1111/j.1550-7408.2005.00063.x
- 308 Muller MI, Adriano EA, Ceccarelli PS, Silva MRM, Maia AAM, Ueta MT. Prevalence,
309 intensity, and phylogenetic analysis of *Henneguya piaractus* and *Myxobolus* cf. *colossomatis*
310 from farmed *Piaractus mesopotamicus* in Brazil. *Dis. Aquat. Org.* 2013, 107, 129–139.
- 311 McClelland RS, Murphy DM, Cone DK. Report of spores of *Henneguya salminicola*
312 (Myxozoa) in human stool specimens: Possible source of confusion with human spermatozoa.
313 *J. Clin. Microbiol.* 1997, 35, 2815–2818. <https://doi.org/10.1128/jcm.35.11.2815-2818>
- 314 Moncada LI, López MC, Murcia MI, Nicholls S, León F, Lucia Guio O, Corredor A.
315 *Myxobolus* sp., Another opportunistic parasite in immunosuppressed patients? *J. Clin.*
316 *Microbiol.* 2001, 39, 1938–1940. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.5.1938-1940.2001>.
- 317 Morsy K, Abdel-Ghaffar F, Bashtar A-R, Mehlhorn H, Al Quraishy S, Abdel-Gaber R (2012)
318 Morphology and small subunit ribosomal DNA sequence of *Henneguya suprabranchiae*
319 (Myxozoa), a parasite of the catfish *Clarias gariepinus* (Clariidae) from the River Nile, Egypt.
320 *Parasitol Res* 111:1423–1435. doi:10.1007/s00436-012-2976-9
- 321 Moran JDW, Whitaker DJ, Kent ML. A review of the myxosporean genus *Kudoa* Meglitsch,
322 1947, and its impact on the international aquaculture industry and commercial fisheries.
323 *Aquaculture*. 1999, 172, 163–196. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00437-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00437-2)
- 324 Naldoni J. *et al.*, New myxosporeans parasitizing *Phractocephalus hemiolopterus* from Brazil:
325 morphology, ultrastructure and SSU-rDNA sequencing. *Diseases of aquatic organisms*, 2018,
326 v. 128, n. 1, p. 37-49. doi: 10.3354/dao03210
- 327 Nelson JS, Grande TC, Wilson MV. *Fishes of the World*. John Wilwy & Sons, 2016.
- 328 Oliveira JEF, Figueiredo RTA, Vilhena MPSP, Berrêdo JF, Sindeaux-Neto JL, Matos E,
329 Velasco M. Renal myxoboliosis of *Metynnismetynnoides* in the Brazilian Amazon:
330 morphological and histopathological aspects. *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 2020, v.
331 42, e50267, doi: 10.4025/actascibiolsci.v42i1.50267
- 332 Okamura B, Bartholomew AGJ. *Myxozoan Evolution, Ecology and Development*. Springer,

- 333 London. 2015.https://doi.org/10.1007/978-3-319-14753-6_15
- 334 Okamura B, Gruhl A, Bartholomew JL. (Eds.). Myxozoan Evolution, Ecology and
335 Development. Springer International Publishing, Cham. 2015, <https://doi.org/10.1007/978-3-319-14753-6>
- 337 Rocha E, Matos E, Azevedo C. *Henneguya amazonica* n. sp. (Myxozoa, Myxobolidae),
338 parasitizing the gills of *Crenicichla lepidota* Heckel, 1840 (Teleostei, Cichlidae) from Amazon
339 River. European Journal of Protistology, 1992, 28(3), 273-278. [https://doi.org/10.1016/S0932-4739\(11\)80233-6](https://doi.org/10.1016/S0932-4739(11)80233-6)
- 341 Sales RO, Mauad JRC, Honorato CA, da Silva KE, Verconti J, Ragagnin PM, Borsuk S, Martins
342 ML, Simionatto S. Histopathology and molecular identification of *Henneguya*
343 *Pseudoplatystoma*. Lat. Am. J. Aquat. Res. 2020, 48, 207–213. <https://doi.org/10.3856/vol48-issue2-fulltext-2345>
- 345 Silva MF, Silva DT, Giese E, Furtado AP, Matos P, Lima AM, et al. Phylogeny and
346 ultrastructure of *Myxobolus rangeli* n. sp. (Myxozoa, Bivalvulida), a histozoic parasite in
347 Siluriformes fish from the Amazon region. Braz J Vet Parasitol 2023; 32(2): e005923.
348 <https://doi.org/10.1590/S1984-29612023034>
- 349 Sindeaux-Neto J L, Velasco M, Silva DTD, Matos P, Silva MFD, Gonçalves EC, MATOS E.
350 *Myxobolus freitasi* n. sp. (Myxozoa: Bivalvulida), parasita do cérebro do peixe-faca elétrico na
351 Amazônia brasileira. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 2021, 30.
352 <https://doi.org/10.1590/S1984-296120201081>
- 353 Sterud E, Forseth T, Ugedal O, Poppe TT, Jørgensen A, Bruheim T, Fjeldstad HP, Mo TA.
354 Severe mortality in wild Atlantic salmon *Salmo salar* due to proliferative kidney disease (PKD)
355 caused by *Tetracapsuloides bryosalmonae* (Myxozoa). Dis. Aquat. Organ. 2007, 77, 191–198.
356 <https://doi.org/10.3354/dao01846>
- 357 Soares MGM, Costa EL D, Anjos HDBD, Yamamoto K, Freitas CAAD. Peixes de Lagos do
358 Médio Rio Solimões. 2.ed. rev. Manaus: Instituto I-piatam 2008
- 359 Swearer SE, Robertson DR. Life history, pathology, and description of *Kudoa ovivora* n. sp.
360 (Myxozoa, Myxosporea): An ovarian parasite of caribbean labroid fishes. J. Parasitol. 1999,
85,
- 361 337–353. <https://doi.org/10.2307/3285645>.
- 362 Zhang X, Liu Y, Whipples CM, Guo Q, Gu Z. Multiple evolutionary routes of the single polar
363 capsule in *Thelohanellus* species (Myxozoa; Myxobolidae). Int. J. Parasitol. Parasites Wildl.
364 2019, 8, 56–62. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2018.11.006>
- 365 Zatti AS, Atkinson SD, Maia AA, Corrêa LL, Bartholomew JL, Adriano EA. Novel
Myxobolus
- 366 and *Ellipsomyxa* species (Cnidaria: Myxozoa) parasiting *Brachyplatystoma rousseauxii*

367 (Siluriformes: Pimelodidae) in the Amazon basin, Brazil. Parasitology International, 2018,
368 67(5), 612-621. doi: 10.1016/j.parint.2018.06.005

369 Velasco M, Videira M, Nascimento LC, Matos P, Goncalves EC, Matos E. *Henneguya*
370 *paraensis* n. sp. (Myxozoa; Myxosporea), a new gill parasite of the Amazonian fish *Cichla*
371 *temensis* (Teleostei: Cichlidae): morphological and molecular aspects. Parasitology Research
372 2016, v. 115: 17791787. doi: 10.1007/s00436-016-4916-6

373 Videira M, Velasco M, Azevedo R, Silva R, Gonçalves E, Matos P, Matos E. Morphological
374 aspects of *Henneguya aequidens* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae) in *Aequidens plagiozonatus*
375 Kullander, 1984 (Teleostei: Cichlidae) in the Amazon region, Brazil. Parasitology research
376 2015, 114(3), 1159-1162. doi: 10.1007/s00436-014-4295-9

377 Yokoyama H, Grabner D, Shirakashi S. Transmission biology of the Myxozoa. Health and
378 Environment in Aquaculture. InTech, Croatia 2012, p. 1-42. doi:10.5772/29571

379

380

381

382

383

384

385

386

387

388

389

390

391

392

393

394

395

396

397

398

399

400 **Tabela 1.** Dados morfológicos (μm) de *Henneguya* sp. em peixes amazônicos. TT: Tamanho
401 total. CC: Comprimento da cauda. NVFP: Número de voltas do filamento polar.

402 **Tabela 2.** Dados morfométricos (μm) de *Myxobolus* sp. descritos na Amazônia. NVFP -
403 Número de voltas do filamento polar.

404 **Figura 1.** Mapa de localização geográfica do local de coleta dos espécimes de *Pygocentrus*
405 *nattereri* no município de Pracuúba, estado do Amapá, Brasil.

406 **Figura 2.** Microfotografias de microscopia de luz e de microscopia eletrônica de varredura
407 (MEV) de *Henneguya* sp. no filamento branquial de *Pygocentrus nattereri*. A - Cisto (*) e
408 esporos (e) de *Henneguya* sp. B - Esporo maduro de *Henneguya* com duas cápsulas polares
409 (cp); C MEV de esporo de *Henneguya* sp. com destaque aos nematocistos extrudidos (seta).

410 **Figura 3.** Macro e micrografias de microscopia de luz e de microscopia eletrônica de varredura
411 de *Myxobolus* sp. em *Pygocentrus nattereri*. A - Cisto arredondado de *Myxobolus* sp. no arco
412 branquial (ponta de seta). D - Vários cistos na nadadeira caudal (ponta de seta). C - Cisto (*)
413 alongado no filamento branquial. B - Esporos maduros de *Myxobolus* sp. com morfotipo em
414 forma de gota encontrado no arco branquial e rim; E - Esporos maduros de *Myxobolus* sp. com
415 morfotipo oval, encontrado no filamento branquial, nadadeira caudal e rim, com destaque das
416 duas cápsulas polares (cp). F - Micrografias de microscopia eletrônica de varredura de esporo
417 de *Myxobolus* sp.

418 **Figura 4.** Desenhos ilustrativos de esporos maduros de *Henneguya* sp. e *Myxobolus* sp.
419 encontrados em *Pygocentrus nattereri*. A - Esporo de *Henneguya* sp. B e C - Esporos maduros
420 de *Myxobolus* sp.: A - Morfotipo gota; B - Morfotipo oval. Barra de escala: 5 μm .

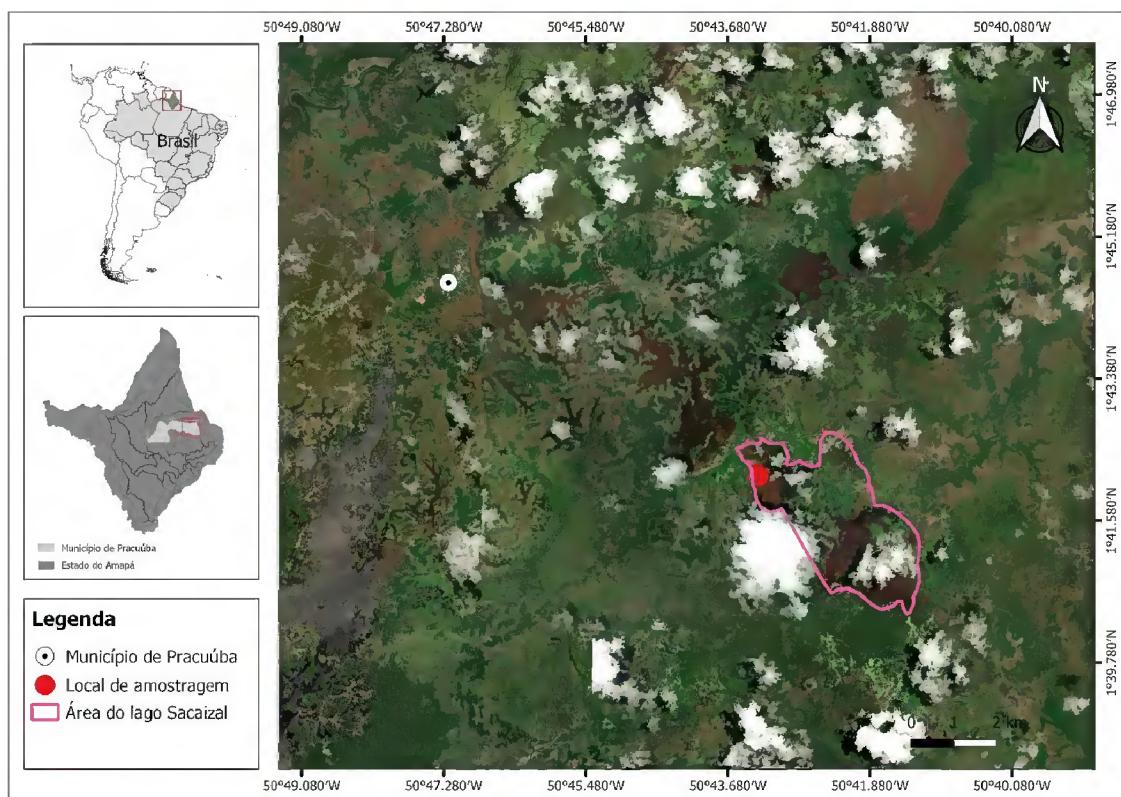
421 **Figura 5.** Análise de componentes principais de dados morfométricos de *Henneguya* sp. TT:
422 tamanho total; CC: comprimento de cauda; CE: comprimento do esporo; LE: largura do
423 esporo;

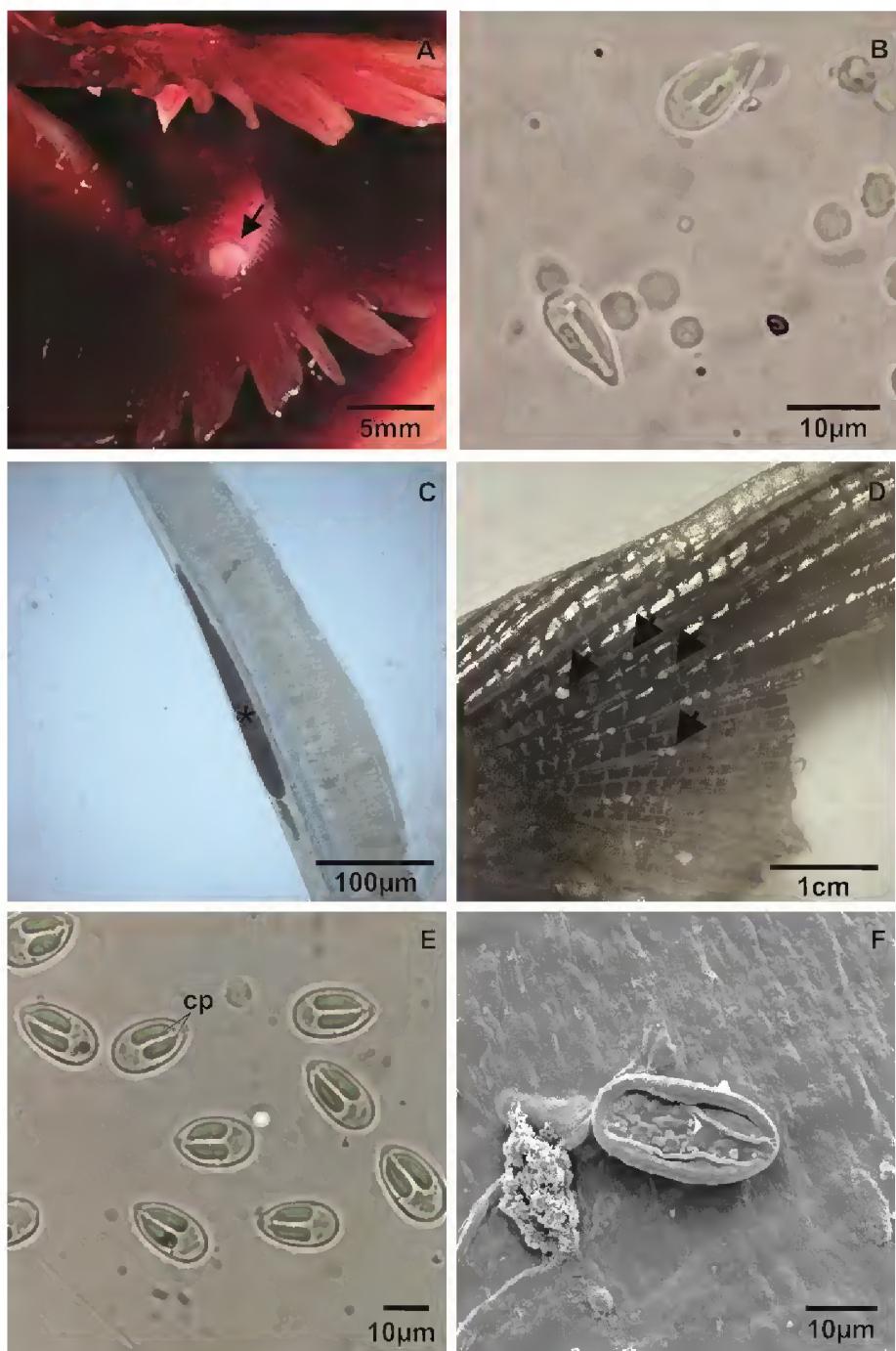
423 CCP: comprimento da cápsula polar; LCP: largura das cápsulas polares.

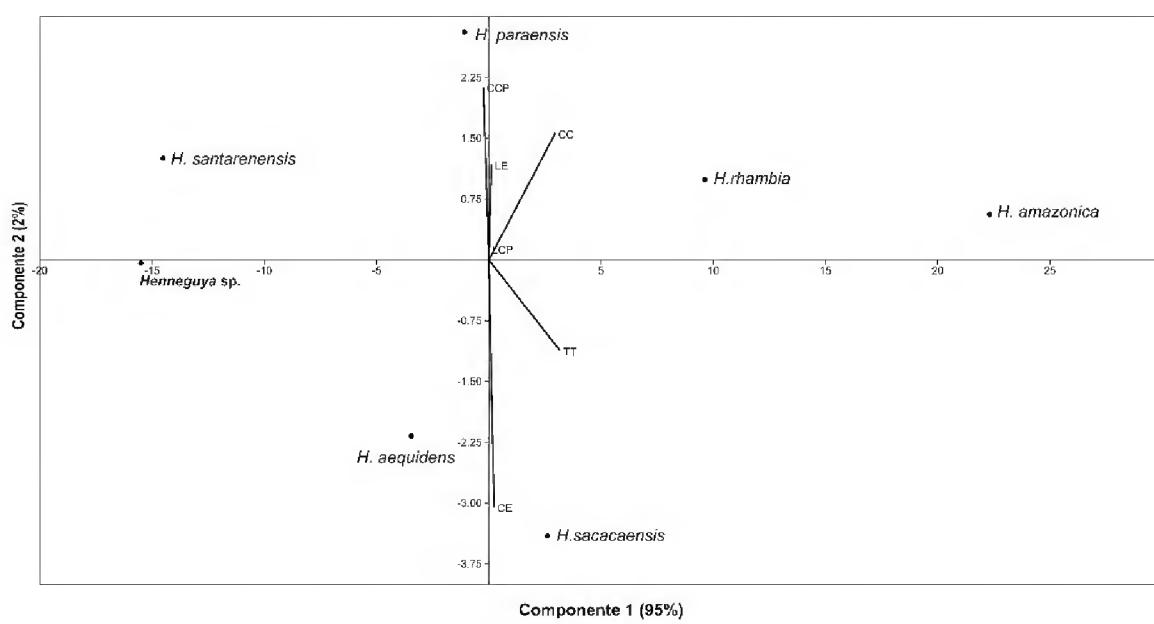
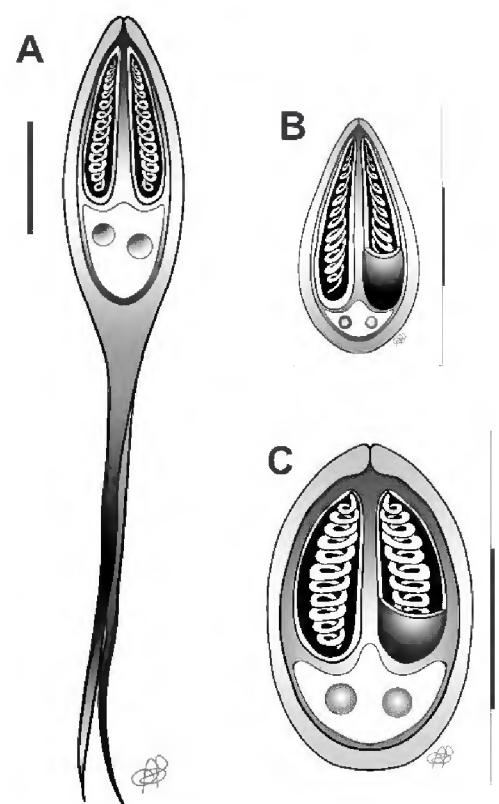
424 **Figura 6.** Análise de componentes principais de dados morfométricos de *Myxobolus* sp. CE:
425 comprimento do esporo; LE: largura do esporo; CCP: comprimento da cápsula polar; LPC:
426 largura da cápsula polar.

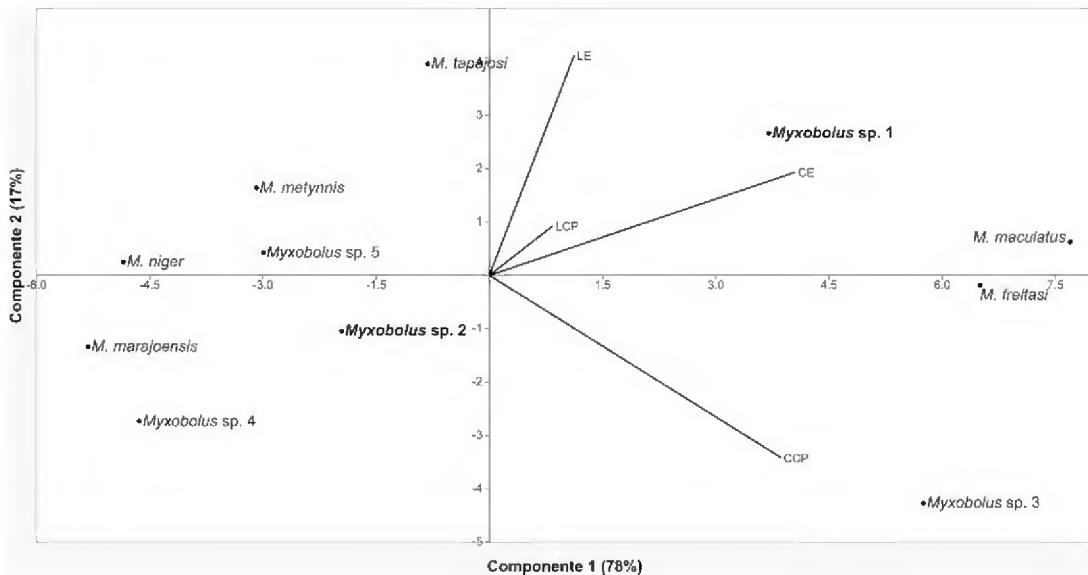
ESPÉCIE	HOSPEDEIRO	LOCAL DE INFECÇÃO	LOCALIDADE	TT	CORPO DO ESPORO		CC	CÁPSULA POLAR		NVFP	REFERÊNCIA
					Comprimento	Largura		Comprimento	Largura		
<i>Henneguya</i> sp.	<i>Pygocentrus nattereri</i>	Filamento branquial	Amapá	32,4	12,9	4,5	19,0	6,6	1,2	14-15	Presente estudo
<i>H. paraensis</i>	<i>Cichla temensis</i>	Brânquia	Pará	42,3	12,8	8,6	29,5	7,4	2,6	5-7	Velasco <i>et al.</i> , (2016)
<i>H. aequidens</i>	<i>Aequidens plagiozonatus</i>	Brânquia	Pará	41	15	6	27	3	2	4-6	Videira <i>et al.</i> , (2015)
<i>H. sacacaensis</i>	<i>Satanoperca jurupari</i>	Brânquias	Amapá	46,5	16,5	5,1	30	3,83	1,68	7-9	Ferreira <i>et al.</i> , (2020)
<i>H. rhambia</i>	<i>Rhamdia quelen</i>	Brânquias	Pará	50	13,1	5,2	36,9	4,7	1,1	10-11	Matos <i>et al.</i> , (2005)
<i>H. amazonica</i>	<i>Crenicichla lepidota</i>		Pará	59,3	13,9	5,7	45,4	3,3	1,5	-	Rocha <i>et al.</i> , (1992)
<i>H. santarenensis</i>	<i>Phractocephalus hemiolopterus</i>	Brânquias	Pará	31,9	10,8	4,3	21	4,6	1,4	15	Naldoni <i>et al.</i> , (2018)

ESPÉCIE	HOSPEDEIRO	LOCAL DE INFECÇÃO	LOCALIDADE	ESPORO		CÁPSULA POLAR		NVFP	REFERÊNCIA
				Comprimento	Largura	Comprimento	Largura		
<i>Myxobolus</i> sp.1 (oval)	<i>Pygocentrus nattereri</i>	Filamento branquial, nadadeira caudal e rim	Amapá	18,5	10	9,1	2,9	-	Presente estudo
<i>Myxobolus</i> sp.2 (gota)	<i>Pygocentrus nattereri</i>	Arco branquial e rim	Amapá	12	7,5	8,4	1,9	-	Presente estudo
<i>Myxobolus</i> sp.3	<i>Metynnis lippincottianus</i>	Sangue e rim	Amapá	17	6	15	2,4	16-18	Façanha <i>et al.</i> , (2024)
<i>Myxobolus</i> sp.4	<i>Metynnis lippincottianus</i>	Sangue e rim	Amapá	11	4,1	6,5	1,6	4-6	Façanha <i>et al.</i> , (2024)
<i>Myxobolus</i> sp.5	<i>Metynnis hypsauchen</i>	Rim	Pará	12,5	7,3	6,2	2,8	8-10	Oliveira <i>et al.</i> , (2020)
<i>M. maculatus</i>	<i>Metynnis maculatus</i>	Rim	Pará	21	8,9	12,7	3,2	14-15	Casal <i>et al.</i> , (2002)
<i>M. tapajosi</i>	<i>Brachyplatystoma rousseauxii</i>	Filamento branquial	Pará	15	10,7	5,8	3,0	6-7	Zatti <i>et al.</i> , (2018)
<i>M. niger</i>	<i>Corydoras melini</i>	Arco branquial	Amazonas	11,3	6,8	5,0	2,0	6-7	Mathews <i>et al.</i> , (2016)
<i>M. marajoensis</i>	<i>Rhamdia quelen</i>	Intestino	Pará	10,9	5,1	5,3	1,6	-	Abrunhosa <i>et al.</i> , (2017)
<i>M. metynnus</i>	<i>Metynnis argenteus</i>	Região orbicular	Pará	13,1	7,8	5,2	3,2	8-9	Casal <i>et al.</i> , (2006)
<i>M. freitasi</i>	<i>Brachyhypopomus beebei</i>	Cérebro	Pará	18,6	8,6	13,0	5,6	14-15	Sindeaux-Neto <i>et al.</i> , (2021)









CONSIDERAÇÕES FINAIS

A espécie *Pygocentrus nattereri* popularmente conhecida como piranha vermelha, apresenta importância na pesca artesanal da região dos lagos, no município de Pracuúba, e possui um apreciado valor, pois é utilizada na alimentação da população ribeirinha. Estudos relacionados com parasitismo em peixes, tem aumentado nos últimos anos devido ao potencial para o cultivo e a comercialização que estes possuem e pela preocupação com a saúde da população.

As análises morfológicas realizadas no presente estudo, evidenciaram a presença de multiparasitismo causado pelos mixozoários pertencentes aos gêneros *Henneguya* e *Myxobolus* encontrados em vários órgãos e pelo coccídio do gênero *Calyptospora* parasitando o fígado e causando necrose, degeneração e fibrose na região do hepatopâncreas associados a infiltrados inflamatórios e corpos melanomacrofágicos. Sendo necessário posteriores análises moleculares para esclarecimento da provável descoberta de novas espécies de micropasitos encontrados parasitando o *Pygocentrus nattereri*.

REFERÊNCIAS

- ABRUNHOSA, J.; SINDEAUX-NETO, J. L.; SANTOS, Â. K. D.; HAMOY, I.; MATOS, E. *Myxobolus marajoensis* sp. n. (Myxosporea: Myxobolidae), parasite of the freshwater catfish *Rhamdia quelen* from the Brazilian Amazon region. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 26, 465-471, 2017.
- ABRUNHOSA J.; SINDEAUX-NETO, J. L.; SANTOS, S.; HAMOY, I.; MATOS E. A new species of myxozoa in the skeletal striated musculature of *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) (Siluriforme: Pimelodidae) Amazonian fish, Marajó island, Brazil. *Zootaxa*, 4482, 164–176, 2018.
- ADL, S. M.; BASS, D.; LANE, C. E.; LUKEŠ, J.; SCHOCH, C. L.; SMIRNOV, A.; ... ZHANG, Q. Revisions to the classification, nomenclature, and diversity of eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, v. 66, n. 1, 4-119, 2019.
- ARAÚJO, B. L.; ADRIANO, E. A.; FRANZOLIN, G. N.; ZATTI, S. A.; NALDONI, J. A novel *Ceratomyxa* species (Myxozoa: Cnidaria) infecting an Amazonian catfish. *Parasitology International*, 89, 102582, 2022.
- AZEVEDO, C. & MATOS, E. Fine structure of *Henneguya pilosa* sp. n. (Myxozoa: Myxosporea), parasite of *Serrasalmus altuvei* (Characidae), in Brazil. *J Parasit Dis* 44(1):213–220, 2003.
- AZEVEDO, C.; VIDEIRA, M.; CASAL, G.; MATOS, P.; OLIVEIRA, E.; AL-QURAISHY, S.; MATOS, E. Fine structure of the plasmodia and myxospore of *Ellipsomyxa gobiooides* n. sp. (Myxozoa) found in the gallbladder of *Gobiooides broussonnetii* (Teleostei: Gobiidae) from the lower Amazon River. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 60(5), 490-496, 2013b.
- AZEVEDO, C.; MATOS, E. *Henneguya adherens* n. sp. (Myxozoa, Myxosporea), parasite of the Amazonian fish, *Acestrorhynchus falcatus*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 42(5), 515-518, 1995.
- AZEVEDO, C.; MATOS, E. *Henneguya malabarica* sp. nov. (Myxozoa, Myxobolidae) in the Amazonian fish *Hoplias malabaricus*. *Parasitology Research*, 82(3), 222-224, 1996.
- AZEVEDO, C.; CORRAL, L.; MATOS, E. Light and ultrastructural data on *Henneguya testicularis* n. sp. (Myxozoa, Myxobolidae), a parasite from the testis of the Amazonian fish *Moenkhausia oligolepis*. *Journal Springer Link*, 37, 111-114, 1997.
- AZEVEDO, C.; MATOS, E. Fine Structure of the Myxosporean, *Henneguya curimata* n. sp., Parasite of the Amazonian Fish, *Curimata inornata* (Teleostei, Curimatidae). *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 49(3), 197-200, 2002.
- AZEVEDO, C.; CASAL, G.; MATOS, P.; MATOS, E. A new species of Myxozoa, *Henneguya rondoni* n. sp. (Myxozoa), from the peripheral nervous system of the Amazonian fish, *Gymnorhamphichthys rondoni* (Teleostei). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 55(3), 229- 234, 2008.
- AZEVEDO, C.; CASAL, G.; MATOS, P.; FERREIRA, I.; MATOS, E. Light and electron microscopy of the spore of *Myxobolus heckelii* n. sp. (Myxozoa), parasite from the Brazilian

fish *Centromochlus heckelii* (Teleostei, Auchenipteridae). Journal of Eukaryotic Microbiology, 56(6), 589-593, 2009.

AZEVEDO, C.; CORRAL, L.; MATOS, E. *Myxobolus desaequalis* n. sp. (Myxozoa, Myxosporea), parasite of the Amazonian freshwater fish, *Apteronotus albifrons* (Teleostei, Apteronotidae). Journal of Eukaryotic Microbiology, 49(6), 485-488, 2002.

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

AZEVEDO, C.; RIBEIRO, M.; CLEMENTE, S. C.; CASAL, G.; LOPES, L.; MATOS, P.; AL-

QURAISHY, S. A.; MATOS, E. Light and ultrastructural description of *Meglitschia mylei* n. sp. (Myxozoa) from *Myloplus rubripinnis* (Teleostei: Serrasalmidae) in the Amazon River system. Journal of Eukaryotic Microbiology, 58(6), 525-528, 2011.

AZEVEDO, C.; ROCHA, S.; CASAL, G.; CLEMENTE, S. C. S.; MATOS, P.; AL- QURAISHY, S.; MATOS, E. Ultrastructural description of *Ceratomyxa microlepis* sp. nov. (Phylum Myxozoa): a parasite infecting the gall bladder of *Hemiodus microlepis*, a freshwater teleost from the Amazon River. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 108, 150-154, 2013a.

AZEVEDO, C.; SÃO CLEMENTE, S. C.; CASAL, G.; MATOS, P.; ALVES, Â.; AL- QURAISHY, S.; MATOS, E. *Myxobolus myleus* n. sp. infecting the bile of the Amazonian freshwater fish *Myloplus rubripinnis* (Teleostei: Serrasalmidae): morphology and pathology. Systematic Parasitology, 82, 241-247, 2012.

ATKINSON, SD, BARTHOLOMEW, JL, LOTAN, T. Myxozoans: Ancient metazoan parasites find a home in phylum Cnidaria. Zoology, 129, 66-68, 2018.

BARROS, L. A.; MATEUS, L. A. F.; BRAUM, D. T.; & BONALDO, J. Aspectos ecológicos de endoparasitos de piranha vermelha (*Pygocentrus nattereri*, Kner, 1860) proveniente do rio Cuiabá. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 62, 228-231, 2010.

BENIGNO, R. N. M.; CLEMENTE, S. C. D. S.; MATOS, E. R.; PINTO, R. M.; GOMES, D. C.; KNOFF, M. Nematodes in *Hoplietrythinus unitaeniatus*, *Hoplias malabaricus* and *Pygocentrus nattereri* (pisces characiformes) in Marajó Island, Brazil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 21, 165-170, 2012.

BITTENCOURT, L. S.; SILVA, D. T.; HAMOY, I.; CARVALHO, A. A.; SILVA, M. F.; VIDEIRA, M.; CARVALHO, J. C. T.; MATOS, E. Morphological and phylogenetic features of *Ceratomyxa macapaensis* n. sp. (Myxozoa: Ceratomyxidae) in *Mesonauta festivus* Heckel, 1840 (Cichliformes: Cichlidae) from the Eastern Amazon Region. Acta Parasitologica 67, 322– 329, 2022.

BITTENCOURT, L. S.; FERREIRA, R. L. D. S.; VIDEIRA, M. N.; SILVA, M. F. D.; SILVA, D. T. D.; HAMOY, I.; CARVALHO, J. C. T.; MATOS, E. *Sphaerospora festivus* n. sp., um parasito do ciclídeo bandeira, *Mesonauta festivus* (Teleostei: Cichlidae) da Amazônia oriental, Brasil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 30, e004621, 2021.

BUSH, A. O; LAFFERTY, K. D; LOTZ, J. M; SHOSTAK, W. Parasitology meets ecology on its own terms. Margolis *et al.*, . The Journal of Parasitology, n. 83. 1997.

CAPODIFOGLIO, K. R.; ADRIANO, E. A.; SILVA, M. R.; MAIA, A. A. The resolution of the taxonomic dilemma of *Myxobolus colossomatis* and description of two novel myxosporeans species of *Colossoma macropomum* from Amazon basin. *Acta tropica*, 191, 17-23, 2019.

CAPODIFOGLIO, K.R.H; MEIRA, C.M; DA SILVA, M.R.M; CORRÊA, L.L; ADRIANO, E.A; MAIA, A.A.M. Morphology and molecular data of two novel cnidarian myxosporean (Myxobolidae) infecting *Piaractus brachypomus* from the Amazon basin. *Acta Trop.* Sep;209:105533, 2020.

CÁRDENAS, M. Q.; MORAVEC, F.; FERNANDES, B. M.; MORAIS, A. M. A new species of *Philometra* Costa, 1845 (Nematoda: Philometridae) from the freshwater fish (red piranha) *Pygocentrus nattereri* Kner (Characidae) in Amazonia, Brazil. *Systematic parasitology*, 83, 137-144, 2012.

CARDIM, J.; SILVA, D.; HAMOY, I.; MATOS, E.; ABRUNHOSA, F. *Myxobolus bragantinus* n. sp. (Cnidaria: Myxosporea) from the gill filaments of the redeye mullet, *Mugil rubrioculus* (Mugiliformes: Mugilidae), on the eastern Amazon coast. *Zootaxa*, 4482(1), 177-187, 2018.

CARREIRA, K. C. V.; DA SILVA, D. T.; DE CARVALHO SANCHES, O.; MATOS, E. R.; Hamoy, I. *Sphaeromyxa azevedoi* n. sp. (Myxozoa: Sphaeromyxidae) infecting the gall bladder of *Gobiooides grahamae* (Perciformes: Gobiidae) in the Amazon region. *Parasitology Research*, 121(3), 867-875, 2022.

CARVALHO, L. N.; ARRUDA, R.; DEL-Claro, K. Host-parasite interactions between the piranha *Pygocentrus nattereri* (Characiformes: Characidae) and isopods and branchiurans (Crustacea) in the rio Araguaia basin, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 2, 93-98, 2004.

CASAL, G.; MATOS, E.; AZEVEDO, C. Ultrastructural data on the life cycle stages of *Myxobolus brasiliensis* n. sp., parasite of an Amazonian fish. *European Journal of Protistology*, v. 32, n. 1, p. 123–127, 1996.

CASAL, G.; MATOS, E.; AZEVEDO, C. Some ultrastructural aspects of *Henneguya striolata* sp. nov. (Myxozoa, Myxosporea), a parasite of the Amazonian fish *Serrasalmus striolatus*. *Parasitology Research*, 83(1), 93-95, 1997.

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

CASAL, G.; MATOS, E.; AZEVEDO, C. Light and electron microscopic study of the myxosporean, *Henneguya friderici* n. sp. from the Amazonian teleostean fish, *Leporinus friderici*. *Parasitology*, 126(4), 313-319, 2003.

CASAL, G.; MATOS, E.; MATOS, P.; AZEVEDO, C. Ultrastructural description of a new myxosporean parasite *Kudoa aequidens* sp. n. (Myxozoa, Myxosporea), found in the subopercular musculature of *Aequidens plagiozonatus* (Teleostei) from the Amazon River. *Acta Protozoologica*, 47(2), 135, 2008.

DUPONCHELLE, F.; ISAAC, V. J.; DORIA, C. R. C.; *et al.*, . Conservation of migratory fishes in the Amazon basin. *Aquatic Conserv: Mar Freshw Ecosyst.* John Wiley & Sons, Ltd. 2021;31:1087–1105. DOI: 10.1002/aqc.3550, 2020.

- DUSZYNSKI, D. W.; SOLANGI, M. A.; OVERSTREET, R. M. (1979). A new and unusual eimerian (Protozoa: Eimeriidae) from the liver of the gulf killifish, *Fundulus grandis*. *Journal of Wildlife Diseases*, 15(4), 543-552, 1979.
- EIRAS, J. C.; ADRIANO, E. A. A checklist of new species of *Henneguya* Thélohan, 1892 (Myxozoa: Myxosporea, Myxobolidae) described between 2002 and 2012. *Systematic Parasitology*, 83(2), 95-104, 2012b.
- EIRAS, J. C.; MALTA, J. C. D. O.; VARELLA, A. M. B.; PAVANELLI, G. C. *Myxobolus insignis* sp. n. (Myxozoa, Myxosporea, Myxobolidae), a parasite of the Amazonian teleost fish *Semaprochilodus insignis* (Osteichthyes, Prochilodontidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 100, 245-247, 2005.
- EIRAS, J. C.; MALTA, J. C.; VARELA, A.; PAVANELLI, G. C. *Henneguya schizodon* n. sp. (Myxozoa, Myxobolidae), a parasite of the Amazonian teleost fish *Schizodon fasciatus* (Characiformes, Anostomidae). 11(2), 169-173, 2004.
- EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C.; LUQUE, J. L. Checklist of protozoan parasites of fishes from Brazil. *Zootaxa*, 3221(1), 1-25, 2012a.
- EIRAS, J. C.; CRUZ, C. F.; SARAIVA, A.; ADRIANO, E. A. Synopsis of the species of *Myxobolus* (Cnidaria, Myxozoa, Myxosporea) described between 2014 and 2020. *Folia Parasitologica* 2021, 1-19, 2021.
- ESTEVES-SILVA, P. H.; SILVA, M. R. L.; O'DWYER, L. H.; TAVARES-DIAS, M.; VIANA, L. A. *Haemogregarina daviesensis* sp. nov. (Apicomplexa: Haemogregarinidae) from South American lungfish *Lepidosiren paradoxa* (Sarcopterygii: Lepidosirenidae) in the eastern Amazon region. *Parasitology research*, 118(10), 183-204, 2019.
- FAO. Food and Agricultural Organization. Situação Mundial da Pesca e da Aquicultura. Sustentabilidade em ação. Roma. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>. 2020.
- FERREIRA, R. L. S.; SILVA, D. T.; ARAÚJO, P. G.; HAMOY, I.; MATOS, E.; VIDEIRA, M. N. *Henneguya sacacaensis* n. sp. (Myxozoa: Myxosporea) parasitizing gills of the acará bicuspidatus *Satanoperca jurupari* (Osteichthyes: Cichlidae) in eastern Amazon. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 29(2), 1-11, 2020.
- FERREIRA, R. L. S.; DA SILVA, D. T.; DE CARVALHO, A. A.; BITTENCOURT, L. S.; HAMOY, I.; MATOS, E.; VIDEIRA, M. *Ellipsomyxa tucujuensis* n. sp. (Myxozoa: Ceratomyxidae), a parasite of *Satanoperca jurupari* (Osteichthyes: Cichlidae) from the Brazilian Amazon. *Parasitology International*, 83, 102332, 2021.
- FIALA, I.; BARTOŠOVÁ-SOJKOVÁ, P.; WHIPPS, C. M. Classification and phylogenetics of Myxozoa. In *Myxozoan Evolution, Ecology and Development*, Springer, Cham, p. 85-110, 2015.
- FIGUEREDO, R. T.; MÜLLER, M. I.; ARANA, S.; LONG, P. F.; ADRIANO, E. A. Phylogenetic and host-parasite relationship analyses of *Henneguya caquetaia* sp. nov (Myxosporea: Myxobolidae) infecting an Amazonian cichlid fish. *Microbial Pathogenesis*, 179, 106116, 2023.
- FIGUEREDO, R. T.; MÜLLER, M. I.; LONG, P. F.; ADRIANO, E. A. 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(7), 830, 2023.

FONTANA, M.; TAKEMOTO, R. M.; MALTA, J. C. D. O.; MATEUS, L. A. D. F. Parasitism by argulids (Crustacea: Branchiura) in piranhas (Osteichthyes: Serrasalmidae) captured in the Caiçara bays, upper Paraguay River, Pantanal, Mato Grosso State, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 10, 653-659, 2012.

FOURNIE, J. W.; OVERSTREET; R. M. Host specificity of *Calyptospora funduli* (Apicomplexa: Calyptosporidae) in atheriniform fishes. *J. Parasitol.*, 79(5), 720-727, 1993.

FOURNIE, J. W.; VOGELBEIN, W. K.; OVERSTREET, R. M.; & HAWKINS, W. E. Life cycle of *Calyptospora funduli* (Apicomplexa: Calyptosporidae). *Journal of Parasitology*, 86(3), 501-505, 2000.

FREITAS, C. E. C.; SOUZA, F. K. S. O uso de peixes como bioindicador ambiental em áreas de várzea da bacia Amazônica. *Revista Agrogeoambiental*, v.1, n. 2, 2009.

FROESE, R.; PAULY, D. Editors. FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, version (16/2023), 2023.

GIESEN, S. C.; TAKEMOTO, R. M.; CALITZ, F.; LIZAMA, M. D. L. A. P.; JUNKER, K. Infective pentastomid larvae from *Pygocentrus nattereri* Kner (Pisces, Characidae) from the Miranda River, Pantanal, Mato Grosso do Sul State, Brazil, with notes on their taxonomy and epidemiology. *Folia Parasitologica*, 60(5), 457, 2013.

GIRIBET, G.; EDGECOMBE, G. D. The Invertebrate Tree of Life. Princeton University Press. New Jersey. Cap.8, pag.57-58, 2020.

GOLZIO, J. E. S. D. A. Diversidade de parasitos de peixes e sua relação com características dos hospedeiros e do ambiente nos estuários do Rio Mamanguape e Paraíba do Norte, Paraíba, Brasil, 2016.

JÉZÉQUEL, C.; TEDESCO, P. A.; BIGORNE, R.; *et al.* . A database of freshwater fish species of the Amazon Basin. *Scientific Data*. www.nature.com/scientificdata/. <https://doi.org/10.1038/s41597-020-0436-4> 9, 2020.

KENT M.L; ANDREE K.B; BARTHOLOMEW J.L; EL-MATBOULI M; DESSER S.S; DEVLIN R.H, Feist SW, Hedrick RP, Hoffmann RW, Khattra J, Hallett SL, Lester RJG, Longshaw M, Palenzuela O, Siddall ME, Xiao C. Recent advances in our knowledge of the Myxozoa. *J. Eukaryot. Microbiol*, 48, 395-413, 2001.

LAINSON, R. *Theileria electrophori* n. sp., a parasite of the electric eel *Electrophorus electricus* (Osteichthyes: Cypriniformes: Gymnotidae) from Amazonian Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 102, p. 155-157, 2007.

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

LAUKNER, G. Diseases of marine animals. O. Kinne ed Hamburg, Germany. 1983.

LEVINE, N. D. The Protozoan Phylum Apicomplexa: Volume 1). CRC press, 2018.

LEIS, E.M.; ROSSER, T.G.; BAUMGARTNER, W.A.; GRIFFIN, M.J. *Henneguya laseeae* n. sp. from flathead catfish (*Pylodictis olivaris*) in the upper Mississippi River. *Parasitol Res*, 2017.

LI, Y. C.; ZHANG, Y.; SIRIGULENG; SATO, H. *Henneguya doneci* (Myxosporea: Bivalvulida) in the gill filaments of Prussian carp *Carassius gibelio* (Bloch) from the upper Yellow River running through Inner Mongolia, China. *Journal of Veterinary Medical Science*, v. 77, n. 8, p. 1001–1005, 2015.

LOM, J.; DYKOVÁ, I. Myxozoan genera: definition and notes on taxonomy, life-cycle terminology and pathogenic species. *Folia Parasitologica*, v. 53, n. 1, p. 1, 2006.

LOM, J. & ARTHUR, J.R. A guideline for the preparation of species descriptions in Myxosporea. *Journal of Fish Diseases*, 12(2), 151-156, 1989.

LUNA L. G. Manual of Histologic Staining of the Armed Forces Institute of Pathology. 3. ed. McGraw-Hill, New York, p.258, 1968.

LUQUE, J. L; PEREIRA, F. B.; ALVES, P. V.; OLIVA M. E.; TIMI, J. T. Helminth parasites of South American fishes: current status and characterization as a model for studies of biodiversity. *Journal of Helminthology*, v. 91, p. 150-164, 2016.

KYGER, R.; LUZURIAGA-NEIRA, A.; LAYMAN, T.; SANDBERG, T.O.M.; SINGH, D.; HUCHON, D.; PERI, S. *et al.*, Myxosporea (Myxozoa, Cnidaria) Lack DNA Cytosine Methylation. *Mol. Biol. Evol.* 38(2):393–404, 2021.

MALTA, J. C. O.; VARELLA, A. M. *Ergasilus yumaricus* sp. n. (Copepoda: Ergasilidae) das brânquias de *Pygocentrus nattereri* (Kner, 1860), *Serrasalmus rhombeus* (Linnaeus, 1819) e *Pristobrycon eigenmanni* (Norman, 1929) (Characiformes: Serrasalmidae) da Amazônia brasileira. *Acta Amazonica*, v. 25, n. 1/2, p. 93-100, 1995.

MATHEWS, P. D.; MAIA, A. A.; ADRIANO, E. A. Morphological and ultrastructural aspects of *Myxobolus niger* n. sp.(Myxozoa) gill parasite of *Corydoras melini* (Siluriformes: Callichthyidae) from Brazilian Amazon. *Acta Tropica*, 158, 214-219, 2016.

MATEUSSI, N.T.B.; MALOA, B. F.; OTAB, R. P.; ROXOC, F.F.; OCCHOAD, L. E.; FORESTIA, F.; OLIVEIRA, C. Phylogenomics of the Neotropical fish family Serrasalmidae with a novel intrafamilial classification (Teleostei: Characiformes). Elsevier, 2020.

MATOS, E.; TAJDARI, J.; AZEVEDO, C. Ultrastructural studies of *Henneguya rhamdia* n. sp. (Myxozoa) a parasite from the Amazon teleost fish, *Rhamdia quelen* (Pimelodidae). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 52(6), 532-537, 2005.

MATOS, P. S.; DA SILVA, D. T.; HAMOY, I.; MATOS, E. Morphological features and molecular phylogeny of *Hoferellus azevedoi* n. sp. (Myxobolatidae) found in *Chaetobranchus flavesiensis* Heckel, 1840 (Teleostei: Cichlidae) from Marajó Island, northern Brazil. *Parasitology research*, 117, 1087-1093, 2018.

MOLNÁR, K. Phylum Apicomplexa. In: Woo, PTK. Fish Diseases and Disorders, vol. 1: Protozoan and Metazoan Infections. 2nd ed. p. 205-228, 2006.

- MORAIS, A. M.; MALTA, J. C. O. Biodiversity of monogenoideans from red piranha *Pygocentrus nattereri* (Kner, 1958) (Characiformes: Serrasalmidae) in central Amazonia: occurrence and taxonomy. *Neotropical Helminthology*, v. 9, n. 2, p. 265-276, 2015.
- MORAIS, A. M.; VARELLA, A. M. B.; FERNANDES, B. M. M.; MALTA, J. C. O. *Clinostomum marginatum* (Braun, 1899) and *Austrodiplostomum compactum* (Lutz, 1928) metacercariae with zoonotic potential on *Pygocentrus nattereri* (Kner, 1858) (Characiformes: Serrasalmidae) from central Amazon, Brazil. *Neotrop. Helminthol.*, 5(1), 8-15, 2011.
- MORRISON, D. A. Evolution of the Apicomplexa: where are we now? *Trends in Parasitology*, v. 25, n. 8, p. 375-382, 2009.
- MÜLLER, M. I.; FIGUEREDO, R. T.; ATKINSON, S. D.; BARTHOLOMEW, J. L.; ADRIANO, E. A. *Henneguya correai* n. sp. (Cnidaria, Myxozoa) Parasitizing the Fins of the Amazonian Fish *Semaprochilodus insignis*. *Diversity*, 15(6), 702, 2023.
- NEGRÃO, M. C. S.; SILVA, M. R. L.; VIDEIRA, M. N.; VIANA, L. A. Prevalence and molecular characterisation of *Calyptospora* parasites Overstreet, Hawkins and Fournié, 1984 (Apicomplexa: Calyptosporidae) in fishes from the eastern Amazon, Brazil. *Parasitology international*, 73, 101975, 2019.
- NEVES, L.R; TAVARES-DIAS, M. Low levels of crustacean parasite infestation in fish species from the Matapi River in the state of Amapá, Brazil. *Braz. J. Vet. Parasitol.*, Jaboticabal, v. 28, n. 3, p. 493-498, 2019.
- NELSON, J. S.; GRANDE, T.C.; WILSON, M.V. *Fishes of the World*. John Wiley & Sons, 2016.
- OKAMURA, B.; GRUHL, A.; BARTHOLOMEW, J. L. (Ed.). *Myxozoan evolution, ecology and development*. Switzerland: Springer, 2015.
- OLIVEIRA, J. E. F.; FIGUEREDO, R. T. A.; SINDEAUX-NETO, J. L.; VILHENA, M. P. S. P.; BERRÊDO, J. F.; MATOS, E.; VELASCO, M. Hepatic coccidiosis in *Serrasalmus rhombeus* Linnaeus, 1766 from the Amazon basin: morphological and histopathological aspects. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 30(1), e026120, 2021.
- OLIVEIRA, M. S. B.; CORRÊA, L. L.; FERREIRA, D. O.; TAVARES-DIAS, M. Larvas de nematoides de potencial zoonótico infectando peixes carnívoros do baixo Rio Jari, no Norte do Brasil. *Biota Amazônia*, 9, (4), 50-52, 2019.
- OLIVEIRA, M. S. B.; TAVARES-DIAS, M. Communities of parasite metazoans in *Piaractus brachypomus* (Pisces, Serrasalmidae) in the lower Amazon River (Brazil). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 25, n. 2, p. 151-157, 2016.
- OLIVEIRA, R. C.; BERNARDI, J. V. E.; WANDERLEY, R.; ALMEIDA, R. Y MANZATTO, A. G. Fish consumption by traditional subsistence villagers of the Rio Madeira (Amazon): impact on hair mercury. *Annals of Human Biology*, n 37, p 629-642, 2010.
- PALM, H. W. Fish parasites as biological indicators in a changing world: can we monitor environmental impact and climate change? In: MEHLHORN, H. (Ed.). *Progress in Parasitology, Parasitology Research Monographs 2*. Berlin: Springer-Verlag, p. 223-250. 2011.
- PEREIRA, C. M. B.; DE MATOS GUERREIRO, S. L.; DA SILVA, D. T.; DE AZEVEDO, R. K.; MATOS, E. R.; HAMOY, I. G. Morphology and molecular phylogeny of *Hoferellus*

jutubensis n. sp. (Cnidaria: Myxozoa) found parasitising *Ageneiosus inermis* (Siluriformes: Auchenipteridae), in the Brazilian Amazon region. *Parasitology International*, 86, 102445, 2022.

QUEIROZ, L. J. D.; VILARA, G. T.; OHARA, W. M.; PIRES, T. H. D. S.; ZUANON, J. A. S.; DÓRIA, C. R. Peixes do Rio Madeira-Y-Cuyari Pirá-Ketá, 2013.

REN, J.; ZHENG, X. *Aggregata sinensis* n. sp. (Apicomplexa: Aggregatidae), a new coccidian parasite from *Amphioctopus fangsiao* and *Octopus minor* (Mollusca: Octopodidae) in the Western Pacific Ocean. *Parasitology Research*, 121(1), 373-381, 2022.

ROCHA, E.; MATOS, E.; AZEVEDO, C. *Henneguya amazonica* n. sp. (Myxozoa, Myxobolidae), parasitizing the gills of *Crenicichla lepidota* Heckel, 1840 (Teleostei, Cichlidae) from Amazon River. *European Journal of Protistology*, 28(3), 273-278, 1992.

ROCHA, S.; CASAL, G.; MATOS, P.; MATOS, E.; DKHIL, M. A.; AZEVEDO, C. Description of *Triangulamyxa psittaca* sp. n. (Myxozoa: Myxosporea), a new parasite in the urinary bladder of *Colomesus psittacus* (Teleostei) from the Amazon River, with emphasis on the ultrastructure of plasmodial stages. *Acta Protozoologica*, 50(4), 2011.

ROCHA, S.; CASAL, G.; VELASCO, M.; ALVES, Â.; MATOS, E.; AL-QURAISHY, S.; AZEVEDO, C. Morphology and phylogeny of *Thelohanellus marginatus* n. sp. (Myxozoa: Myxosporea), a parasite infecting the gills of the fish *Hypophthalmus marginatus* (Teleostei: Pimelodidae) in the Amazon River. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 61(6), 586-593, 2014.

SARTORI, A. G. O.; AMANCIO, R. D. Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. *Segurança Alimentar e Nutricional*, v. 19, n. 2, p. 83-93, 2012.

SILVA, D. T.; SILVA, M. F.; LIMA, A. M.; MATOS, P. S.; CARVALHO, S. O.; MATOS, E. R.; HAMOY, I. G. Ultrastructure and molecular phylogeny of the myxozoan *Kudoa ocellatus* n. sp. (Myxozoa: Kudoidae), a parasite of the Oscar, *Astronotus ocellatus* (Agassiz, 1831; Teleostei: Cichlidae), a fish from northern Brazil. *Parasitology International*, 86, 102472, 2022.

SILVA, D. T.; MATOS, P. S.; LIMA, A. M.; FURTADO, A. P.; HAMOY, I.; MATOS, E. R. *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, 3537-3545, 2018.

SILVA, L. M. A.; TAVARES-DIAS, M. A pesca artesanal no estado do Amapá: estado atual e desafios. *Boletim Técnico Científico. Cepnor*, v. 10, n. 1, p. 43 - 53, 2010.

SILVA, M. C. D.; SÃO-CLEMENTE, S. C. D.; PICANÇO-JÚNIOR, J. A.; SILVA, M. V. O. D. *Calyptospora* sp. in *Brachyplatystoma vaillantii* trapped at the Vigia, State of Pará, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 21, n. 2, p. 176-178, 2012.

SILVA, M. F. D.; SILVA, D. T. D.; GIESE, E.; FURTADO, A. P.; MATOS, P.; LIMA, A. M.; MATOS, E. Phylogeny and ultrastructure of *Myxobolus rangeli* n. sp. (Myxozoa, Bivalvulida), a histozoic parasite in Siluriformes fish from the Amazon region. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 32, e005923, 2023.

SILVA, M. F.; ORLANDA, J. F. F.; ARAÚJO-COSTA, M. J.; HAMOY, I.; MATOS, E. 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*, 67(3), 352-358, 2020.

SILVA-SOUZA, A. T.; ABDALLAH, V. D.; DE AZEVEDO, R. K.; DA SILVA, F. A.; LUQUE, J. L. Expanded description of *Dolops bidentata* (Bouvier, 1899) (Branchiura: Argulidae) based on specimens collected on *Pygocentrus nattereri* Kner, 1858 (Characiformes) from Poconé Wetland, MT, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 71, 145-149, 2011.

SINDEAUX-NETO, J. L.; VELASCO, M.; SILVA, D. T. D.; MATOS, P.; SILVA, M. F. D.; GONÇALVES, E. C.; MATOS, E. *Myxobolus freitasi* n. sp. (Myxozoa: Bivalvulida), parasita do cérebro do peixe-faca elétrico na Amazônia brasileira. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 30, 2021.

SOARES, M. G. M.; COSTA, E. L. D.; ANJOS, H. D. B. D.; YAMAMOTO, K. C.; FREITAS, C. A. A. D. Peixes de Lagos do Médio Rio Solimões. 2.ed. rev. Manaus: Instituto I-piatam 2008.

STILWELL, J. M.; STILWELL, N. K.; CAMUS, A. C.; WARE, C.; ROSSER, T. G.; GRIFFIN, M. J. Necroucerative dermatitis associated with *Myxobolus dermatoulcerans* n. sp. (Cnidaria: Myxobolidae) in red-bellied piranha, *Pygocentrus nattereri* Kner (Characiformes: Serrasalmidae), from Peru. *Systematic Parasitology*, 97(6), 649-659, 2020.

TAVARES-DIAS, M.; ARAÚJO, C. S. O.; BARROS, M. S.; VIANA, G. M. New hosts and distribution records of *Braga patagonica*, a parasite Cymothoidae of fishes from the Amazon. *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology*, 18(1), 91-97, 2014a.

TAVARES-DIAS, M.; SOUSA, T. J. S. M.; NEVES, L. R. Parasitic infections in two Benthopelagic fish from Amazon: the Arowana *Osteoglossum bicirrhosum* (Osteoglossidae) and Oscar *Astronotus ocellatus* (Cichlidae). *Bioscience Journal, Uberlândia*, v. 30, n. 2, 546-555, 2014b.

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

TRIBUZY-NETO, I. A.; BELTRAO, H.; BENZAKEN, Z. S.; YAMAMOTO, K. C. Analysis of the ornamental fish exports from the Amazon State, Brazil. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 46, n. 4, p. 1-14, 2020.

VELASCO M.; VIDEIRA M.; NASCIMENTO L. C.; MATOS P.; GONCALVES E.C.; MATOS, E. *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: 17791787, 2016.

VELASCO, M.; EDUARD, J.; NETO, J. L. S.; DIAS, L. D. N. S.; MATOS, E.; GONÇALVES, E. C. *Kudoa rousseauxii* n. sp. (Cnidaria: Multivalvulida) infects the skeletal muscles of the freshwater fish *Brachyplatystoma rousseauxii* in the Amazon River. *Acta Parasitologica*, 67(2), 962-969, 2022.

VELASCO, M.; NETO, J. L. S.; VIDEIRA, M.; DO NASCIMENTO, L. D. C. S.; GONÇALVES, E. C.; MATOS, E. *Kudoa amazonica* n. sp. (Myxozoa; Multivalvulida), a parasite of the esophageal musculature of the freshwater catfish, *Hypophthalmus marginatus*

(Siluriformes: Pimelodidae), from a river of the Amazon region. *Microbial pathogenesis*, 130, 247-252, 2019.

VIDAL, L.; LUQUE, J. L. New morphological data and molecular diagnostic of *Henneguya friderici* (Myxozoa: Myxobolidae), a parasite of *Leporinus friderici* (Osteichthyes: Anostomidae) from southeastern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 26(1), 81-88, 2017.

VIDEIRA, M.; VELASCO, M.; AZEVEDO, R.; SILVA, R.; GONÇALVES, E.; MATOS, P.; MATOS, E. Morphological aspects of *Henneguya aequidens* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae) in *Aequidens plagiozonatus* Kullander, 1984 (Teleostei: Cichlidae) in the Amazon region, Brazil. *Parasitology research*, 114(3), 1159-1162, 2015.

VIEIRA, K. R. I.; VICENTIN, W.; PAIVA, F.; POZO, C. F.; BORGES, F. A.; ADRIANO, E. A.; COSTA, F. E. S.; TAVARES, L. E. R. *Brevimulticaecum* sp. (Nematoda: Heterocheilidae) larvae parasitic in freshwater fish in the Pantanal wetland, Brazil. *Veterinary Parasitology*, 172(3-4), 350-354, 2010.

VITAL, P.; CORRAL, L.; MATOS, E.; AZEVEDO, C. Ultrastructural aspects of the myxosporean *Henneguya astyanax* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae), a parasite of the Amazonian teleost *Astyanax keithi* (Characidae). *Dis Aquat Organ*. Jan 22;53(1):55-60, 2003.

VOTÝPKA, J.; MODRÝ, D.; OBORNÍK, M.; ŠLAPETA, J.; LUKEŠ, J. Apicomplexa. Handbook of the Protists, 2, 567-624, 2016.

WORMS. World Register of Marine Species [WWW Document]. <https://doi.org/10.14284/170>, 2023.

YOKOYAMA, H.; KAWAKAMI, H.; YASUDA, H.; TANAKA, S. *Henneguya lateolabracis* sp. n. (Myxozoa: Myxosporea), the causative agent of cardiac henneguyosis in Chinese sea bass *Lateolabrax* sp. *Fisheries Science* 69(6):1116 – 1120, 2003.

YOKOYAMA, H.; GRABNER, D.; SHIRAKASHI, S. Transmission biology of the Myxozoa. In: CARVALHO, ED; DAVID GS; SILVA RJ (ed). Health and Environment in Aquaculture. InTech, Croatia, p. 1-42, 2012.

ZATTI, S. A.; ATKINSON, S. D.; MAIA, A. A.; BARTHOLOMEW, J. L.; ADRIANO, E. A. Novel *Henneguya* spp. (Cnidaria: Myxozoa) from cichlid fish in the Amazon basin cluster by geographic origin. *Parasitology Research*, 117, 849-859, 2018.

ZATTI, S. A.; ARAÚJO, B. L.; ADRIANO, E. A.; MAIA, A. A. A new freshwater *Ceratomyxa* species (Myxozoa: Ceratomyxidae) parasitizing a sciaenid fish from the Amazon Basin, Brazil. *Parasitology International*, 102796, 2023.

ZATTI, S. A.; ATKINSON, S. D.; MAIA, A. A.; CORRÊA, L. L.; BARTHOLOMEW, J. L.; ADRIANO, E. A. Novel *Myxobolus* and *Ellipsomyxa* species (Cnidaria: Myxozoa) parasiting *Brachyplatystoma rousseauxii* (Siluriformes: Pimelodidae) in the Amazon basin, Brazil. *Parasitology international*, 67(5), 612-621, 2018.

ZATTI, S. A.; MAIA, A. A.; ADRIANO, E. A. 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, 105616, 2020.

ZATTI S.A; MARINHO A.M.R; ADRIANO E.A; MAIA A.A.M. Integrative Taxonomy Reveals a Panmictic Population of *Henneguya longisporoplasma* n. sp. (Cnidaria: Myxozoa) in the Amazon Basin. *Acta Parasitol.* Dec; 67(4):1644-1656, 2022.

ZHANG, X.; LIU, Y.; WHIPPS, C. M.; GUO, Q.; GU, Z. Multiple evolutionary routes of the single polar capsule in *Thelohanellus* species (Myxozoa; Myxobolidae). *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 8, 56-62, 2019.

ANEXO A – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO

The screenshot shows a web-based manuscript submission system. At the top, there's a dark header bar with the journal name "Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports" and user information "Michele Velasco" and "Logout". Below the header is a navigation bar with links for "Home", "Main Menu", "Submit a Manuscript", "About", and "Help".

The main content area displays a table titled "Submissions Being Processed for Author" with one entry. The table has columns for "Action", "Manuscript Number", "Title", "Initial Date Submitted", "Status Date", and "Current Status".

Action	Manuscript Number	Title	Initial Date Submitted	Status Date	Current Status
Action Links	VPRSR-D-24-00320	Hepatic parasitosis caused by <i>Cryptospora</i> in <i>Pygocentrus nattereri</i> from the Sacalau lake, in the state of Amapá, Brazil.	Jul 19, 2024	Jul 19, 2024	Submitted to Journal

At the bottom of the page, there are two sets of pagination and results per page controls: "Page: 1 of 1 (1 total submissions)" and "Results per page: 10".

ANEXO B – NORMAS DA REVISTA VETERINARY PARASITOLOGY: REGIONAL STUDIES AND REPORTS

About the journal

Aims and scope

Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports, a companion title to the established [Veterinary Parasitology](#), focuses on topics of regional concern. These are especially important in this era of climate change and the rapid and often unconstrained travel of people and animals. Relative to regions, this journal will accept papers of the highest quality dealing with all aspects of disease prevention, pathology, treatment, epidemiology, and control of parasites within the field of veterinary medicine. Also, case reports will be considered as they add to information related to local disease and its control; such papers must be concise and represent appropriate medical intervention.

Papers on veterinary parasitology from wildlife species are acceptable, but only if they relate to the practice of veterinary medicine. Studies on vector-borne bacterial and viral agents are suitable, but only if the paper deals with vector transmission of these organisms to domesticated animals.

Studies dealing with parasite control by means of natural products, both in vivo and in vitro, are more suited for one of the many journals that now specialize in papers of this type. However, due to the regional nature of much of this research, submissions may be considered based upon a case being made by the author(s) to the Editor.

Circumstances relating to animal experimentation must meet the International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals as issued by the Council for International Organizations of Medical Sciences (obtainable from: Executive Secretary C.I.O.M.S., c/o W.H.O., Via Appia, CH-1211 Geneva 27, Switzerland).

Article types

1. Original research papers (Regular Papers)
2. Review articles
3. Regional reports
4. Short Communications
5. Case Reports

Original research papers should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.

Review articles should cover subjects falling within the scope of the journal which are of active current interest. They may be submitted or invited.

Regional Reports should consist of significantly unusual or noteworthy observations in a particular geographical area. Reports extending from previously published studies may be considered. The Reports should be submitted to the journal as such i.e. clearly labelled as Regional Reports with the same article type title being chosen during the online submission process. Regional Reports should not exceed 1500 words and need to be formally structured with an abstract, introduction, Materials and Methods, Results, Discussions, Conclusion and References; one table and/or one figure may also be included.

Short Communications should consist of original observations or new methods within the scope of the journal. Reports of observations previously published from different geographical areas may be accepted only if considered sufficiently unusual or noteworthy. The Communications should be concise with the minimum of references, and cover no more than four pages of the journal; they need not be formally structured as are full papers, but should give sufficient methods and data necessary for their comprehension.

Occasional *Case Reports* will be published at the discretion of the Editor-in-Chief. Case reports are limited to 1500 words (excluding references) with an Abstract limit of 150 words. The manuscript should be structured as follows: Introduction (brief), Case Presentation, Discussion and Conclusion (Figures limited to 4 or less).

Peer review

This journal follows a single anonymized review process. Your submission will initially be assessed by our editors to determine suitability for publication in this journal. If your submission is deemed suitable, it will typically be sent to a minimum of two reviewers to assess the scientific quality. The decision as to whether your article is accepted or rejected will be taken by our editors. Authors who wish to appeal the editorial decision for their manuscript may submit a formal appeal request in accordance with the procedure outlined in [Elsevier's Appeal Policy](#). Only one appeal per submission will be considered and the appeal decision will be final.

Read more about [peer review](#).

Our editors are not involved in making decisions about papers which:

- they have written themselves.
- have been written by family members or colleagues.
- relate to products or services in which they have an interest.

Any such submissions will be subject to the journal's usual procedures and peer review will be handled independently of the editor involved and their research group. Read more about [editor duties](#).

Special issues and article collections

The peer review process for special issues and article collections follows the same process as outlined above for regular submissions, except, a guest editor will send the submissions out to the reviewers and recommend a decision to the journal editor. The journal editor oversees the peer review process of all special issues and article collections to ensure the high standards of publishing ethics and responsiveness are respected and is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles.

Open access

We refer you to our [open access information page](#) to learn about open access options for this journal.

Ethics and Policies

Ethics in publishing

Authors must follow ethical guidelines stated in [Elsevier's Publishing Ethics Policy](#).

Submission declaration

When authors submit an article to an Elsevier journal it is implied that:

- the work described has not been published previously except in the form of a preprint, an abstract, a published lecture, academic thesis or registered report. See our policy on [multiple, redundant or concurrent publication](#).
- the article is not under consideration for publication elsewhere.
- the article's publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out.
- if accepted, the article will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder.

To verify compliance of the above, we may check your article using the plagiarism detection tool [Crossref Similarity Check](#) and other originality or duplicate checking software.

Authorship

All authors should have made substantial contributions to all of the following:

1. The conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data.
2. Drafting the article or revising it critically for important intellectual content.
3. Final approval of the version to be submitted.

All authors should agree to be accountable for all aspects of the work to ensure that the questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Changes to authorship

The editors of this journal generally will not consider changes to authorship once a manuscript has been submitted. It is important that authors carefully consider the authorship list and order of authors and provide a definitive author list at original submission.

The policy of this journal around authorship changes:

- All authors must be listed in the manuscript and their details entered into the submission system.
- Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should only be made prior to acceptance, and only if approved by the journal editor.
- Requests to change authorship should be made by the corresponding author, who must provide the reason for the request to the journal editor with written confirmation from all authors, including any authors being added or removed, that they agree with the addition, removal or rearrangement.
- Only in exceptional circumstances will the journal editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors post acceptance.
- Publication of the manuscript may be paused while a change in authorship request is being considered.
- Any authorship change requests approved by the journal editor will result in a corrigendum if the manuscript has already been published.
- Any unauthorised authorship changes may result in the rejection of the article, or retraction, if the article has already been published.

Declaration of interests

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence or bias their work. Examples of potential competing interests include:

- Employment
- Consultancies
- Stock ownership
- Honoraria
- Paid expert testimony
- Patent applications or registrations
- Grants or any other funding

The [Declaration of Interests tool](#) should always be completed.

Authors with no competing interests to declare should select the option, "I have nothing to declare".

The resulting Word document containing your declaration should be uploaded at the "attach/upload files" step in the submission process. It is important that the Word document is saved in the .doc/.docx file format. Author signatures are not required.

We advise you to read our [policy on conflict of interest statements, funding source declarations, author agreements/declarations and permission notes](#).

Funding sources

Authors must disclose any funding sources who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article. The role of sponsors, if any, should be declared

in relation to the study design, collection, analysis and interpretation of data, writing of the report and decision to submit the article for publication. If funding sources had no such involvement this should be stated in your submission.

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants, scholarships and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, it is recommended to include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Declaration of generative AI in scientific writing

Authors must declare the use of generative AI in scientific writing upon submission of the paper. The following guidance refers only to the writing process, and not to the use of AI tools to analyse and draw insights from data as part of the research process:

- Generative AI and AI-assisted technologies should only be used in the writing process to improve the readability and language of the manuscript.
- The technology must be applied with human oversight and control and authors should carefully review and edit the result, as AI can generate authoritative-sounding output that can be incorrect, incomplete or biased. Authors are ultimately responsible and accountable for the contents of the work.
- Authors must not list or cite AI and AI-assisted technologies as an author or co-author on the manuscript since authorship implies responsibilities and tasks that can only be attributed to and performed by humans.

The use of generative AI and AI-assisted technologies in scientific writing must be declared by adding a statement at the end of the manuscript when the paper is first submitted. The statement will appear in the published work and should be placed in a new section before the references list. An example:

- Title of new section: Declaration of generative AI and AI-assisted technologies in the writing process.
- Statement: During the preparation of this work the author(s) used [NAME TOOL / SERVICE] in order to [REASON]. After using this tool/service, the author(s) reviewed and edited the content as needed and take(s) full responsibility for the content of the published article.

The declaration does not apply to the use of basic tools, such as tools used to check grammar, spelling and references. If you have nothing to disclose, you do not need to add a statement.

We advise you to read our [policy for authors on the use of generative AI](#) and AI-assisted technologies for Elsevier.

Please note: to protect authors' rights and the confidentiality of their research, this journal does not currently allow the use of Generative AI or AI-assisted technologies such as ChatGPT or similar services by [reviewers](#) or [editors](#) in the peer review and manuscript evaluation process. We are actively evaluating compliant AI tools and may revise this policy in the future.

Preprints

Preprint sharing

Authors may share preprints, anywhere and at any time, in line with Elsevier's [article sharing policy](#). Sharing preprints, such as on a preprint server, will not count as prior publication.

We advise you to read our policy on [multiple, redundant or concurrent publication](#).

Free preprint posting on SSRN

In support of [open science](#) this journal offers authors a free preprint posting service on [SSRN](#) to ensure early registration and dissemination of research and facilitate early citations and collaboration. Posting to SSRN is subject to SSRN's standard checks.

You will be provided with the option to release your manuscript on SSRN during the submission process. Agreeing to this option will have no effect on the editorial process or outcome, and your manuscript will remain publicly available and free to read on SSRN whether our editors accept or reject your manuscript.

You will receive an email when your preprint is posted online on SSRN and a Digital Object Identifier (DOI) is assigned.

Corresponding authors must seek approval from all co-authors before agreeing to release a manuscript publicly on SSRN.

We advise you to read about [SSRN](#), including the [SSRN Terms of Use](#) and [SSRN FAQs](#) before selecting this option.

Use of inclusive language

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Authors should ensure their work uses inclusive language throughout and contains nothing which might imply one individual is superior to another on the grounds of:

- age
- gender
- race
- ethnicity
- culture
- sexual orientation
- disability or health condition

We recommend avoiding the use of descriptors about personal attributes unless they are relevant and valid. Write for gender neutrality with the use of plural nouns ("clinicians, patients/clients") as default. Wherever possible, avoid using "he, she," or "he/she."

No assumptions should be made about the beliefs of readers and writing should be free from bias, stereotypes, slang, reference to dominant culture and/or cultural assumptions.

These guidelines are meant as a point of reference to help you identify appropriate language but are by no means exhaustive or definitive.

Reporting sex- and gender-based analyses

There is no single, universally agreed-upon set of guidelines for defining sex and gender. We offer the following guidance:

- Sex and gender-based analyses (SGBA) should be integrated into research design when research involves or pertains to humans, animals or eukaryotic cells. This should be done in accordance with any requirements set by funders or sponsors and best practices within a field.
- Sex and/or gender dimensions of the research should be addressed within the article or declared as a limitation to the generalizability of the research.
- Definitions of sex and/or gender applied should be explicitly stated to enhance the precision, rigor and reproducibility of the research and to avoid ambiguity or conflation of terms and the constructs to which they refer.

We advise you to read the [Sex and Gender Equity in Research \(SAGER\) guidelines](#) and the [SAGER checklist](#) (PDF) on the EASE website, which offer systematic approaches to the use of sex and gender information in study design, data analysis, outcome reporting and research interpretation.

For further information we suggest reading the rationale behind and recommended [use of the SAGER guidelines](#).

Definitions of sex and/or gender

We ask authors to define how sex and gender have been used in their research and publication. Some guidance:

- Sex generally refers to a set of biological attributes that are associated with physical and physiological features such as chromosomal genotype, hormonal levels, internal and external anatomy. A binary sex categorization (male/female) is usually designated at birth ("sex assigned at birth") and is in most cases based solely on the visible external anatomy of a newborn. In reality, sex categorizations include people who are intersex/have differences of sex development (DSD).
- Gender generally refers to socially constructed roles, behaviors and identities of women, men and gender-diverse people that occur in a historical and cultural context and may vary across societies and over time. Gender influences how people view themselves and each other, how they behave and interact and how power is distributed in society.

Jurisdictional claims

Elsevier respects the decisions taken by its authors as to how they choose to designate territories and identify their affiliations in their published content. Elsevier's policy is to take a neutral position with respect to territorial disputes or jurisdictional claims, including, but not limited to, maps and institutional affiliations. For journals that Elsevier publishes on behalf of a third party owner, the owner may set its own policy on these issues.

- Maps: Readers should be able to locate any study areas shown within maps using common mapping platforms. Maps should only show the area actually studied and authors should not include a location map which displays a larger area than the bounding box of the study area. Authors should add a note clearly stating that "*map lines delineate study areas and do not necessarily depict accepted national boundaries*". During the review process, Elsevier's editors may request authors to change maps if these guidelines are not followed.
- Institutional affiliations: Authors should use either the full, standard title of their institution or the standard abbreviation of the institutional name so that the institutional name can be independently verified for research integrity purposes.

Writing and Formatting

File format

We ask you to provide editable source files for your entire submission (including figures, tables and text graphics). Some guidelines:

- Save files in an editable format, using the extension .doc/.docx for Word files and .tex for LaTeX files. A PDF is not an acceptable source file.
- Lay out text in a single-column format.
- Use spell-check and grammar-check functions to avoid errors.

We advise you to read our [Step-by-step guide to publishing with Elsevier](#).

Title page

You are required to include the following details in the title page information:

- Article title. Article titles should be concise and informative. Please avoid abbreviations and formulae, where possible, unless they are established and widely understood, e.g., DNA).

- Author names. Provide the given name(s) and family name(s) of each author. The order of authors should match the order in the submission system. Carefully check that all names are accurately spelled. If needed, you can add your name between parentheses in your own script after the English transliteration.
- Affiliations. Add affiliation addresses, referring to where the work was carried out, below the author names. Indicate affiliations using a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the corresponding address. Ensure that you provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the email address of each author.
- Corresponding author. Clearly indicate who will handle correspondence for your article at all stages of the refereeing and publication process and also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about your results, data, methodology and materials. It is important that the email address and contact details of your corresponding author are kept up to date during the submission and publication process.
- Present/permanent address. If an author has moved since the work described in your article was carried out, or the author was visiting during that time, a "present address" (or "permanent address") can be indicated by a footnote to the author's name. The address where the author carried out the work must be retained as their main affiliation address. Use superscript Arabic numerals for such footnotes.

Abstract

You are required to provide a concise and factual abstract. The abstract should briefly state the purpose of your research, principal results and major conclusions. Some guidelines:

- Abstracts must be able to stand alone as abstracts are often presented separately from the article.
- Avoid references. If any are essential to include, ensure that you cite the author(s) and year(s).
- Avoid non-standard or uncommon abbreviations. If any are essential to include, ensure they are defined within your abstract at first mention.

Keywords

You are required to provide 1 to 7 keywords for indexing purposes. Keywords should be written in English. Please try to avoid keywords consisting of multiple words (using "and" or "of").

We recommend that you only use abbreviations in keywords if they are firmly established in the field.

Highlights

You are required to provide article highlights at submission.

Highlights are a short collection of bullet points that should capture the novel results of your research as well as any new methods used during your study. Highlights will help increase the discoverability of your article via search engines. Some guidelines:

- Submit highlights as a separate editable file in the online submission system with the word "highlights" included in the file name.
- Highlights should consist of 3 to 5 bullet points, each a maximum of 85 characters, including spaces.

We encourage you to view example [article highlights](#) and read about the benefits of their inclusion.

Graphical abstract

You are encouraged to provide a graphical abstract at submission.

The graphical abstract should summarize the contents of your article in a concise, pictorial form which is designed to capture the attention of a wide readership. A graphical abstract will

help draw more attention to your online article and support readers in digesting your research. Some guidelines:

- Submit your graphical abstract as a separate file in the online submission system.
- Ensure the image is a minimum of 531 x 1328 pixels (h x w) or proportionally more and is readable at a size of 5 x 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi.
- Our preferred file types for graphical abstracts are TIFF, EPS, PDF or MS Office files. We encourage you to view example [graphical abstracts](#) and read about the benefits of including them.

Tables

Tables must be submitted as editable text, not as images. Some guidelines:

- Place tables next to the relevant text or on a separate page(s) at the end of your article.
- Cite all tables in the manuscript text.
- Number tables consecutively according to their appearance in the text.
- Please provide captions along with the tables.
- Place any table notes below the table body.
- Avoid vertical rules and shading within table cells.

We recommend that you use tables sparingly, ensuring that any data presented in tables is not duplicating results described elsewhere in the article.

Figures, images and artwork

Figures, images, artwork, diagrams and other graphical media must be supplied as separate files along with the manuscript. We recommend that you read our detailed [artwork and media instructions](#). Some excerpts:

When submitting artwork:

- Cite all images in the manuscript text.
- Number images according to the sequence they appear within your article.
- Submit each image as a separate file using a logical naming convention for your files (for example, Figure_1, Figure_2 etc).
- Please provide captions along with the artwork.
- Text graphics may be embedded in the text at the appropriate position. If you are working with LaTeX, text graphics may also be embedded in the file.

Artwork formats

When your artwork is finalized, "save as" or convert your electronic artwork to the formats listed below taking into account the given resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations:

- Vector drawings: Save as EPS or PDF files embedding the font or saving the text as "graphics."
- Color or grayscale photographs (halftones): Save as TIFF, JPG or PNG files using a minimum of 300 dpi (for single column: min. 1063 pixels, full page width: 2244 pixels).
- Bitmapped line drawings: Save as TIFF, JPG or PNG files using a minimum of 1000 dpi (for single column: min. 3543 pixels, full page width: 7480 pixels).
- Combinations bitmapped line/halftones (color or grayscale): Save as TIFF, JPG or PNG files using a minimum of 500 dpi (for single column: min. 1772 pixels, full page width: 3740 pixels).

Please do not submit:

- files that are too low in resolution (for example, files optimized for screen use such as GIF, BMP, PICT or WPG files).
- disproportionately large images compared to font size, as text may become unreadable.

Figure captions

All images must have a caption. A caption should consist of a brief title (not displayed on the figure itself) and a description of the image. We advise you to keep the amount of text in any image to a minimum, though any symbols and abbreviations used should be explained.

Provide captions in a separate file.

Color artwork

If you submit usable color figures with your accepted article, we will ensure that they appear in color online.

Please ensure that color images are accessible to all, including those with impaired color vision. Learn more about [color and web accessibility](#).

For articles appearing in print, you will be sent information on costs to reproduce color in the printed version, after your accepted article has been sent to production. At this stage, please indicate if your preference is to have color only in the online version of your article or also in the printed version.

Generative AI and Figures, images and artwork

Please read our [policy on the use of generative AI and AI-assisted tools in figures, images and artwork](#), which states:

- We do not permit the use of Generative AI or AI-assisted tools to create or alter images in submitted manuscripts.
- The only exception is if the use of AI or AI-assisted tools is part of the research design or methods (for example, in the field of biomedical imaging). If this is the case, such use must be described in a reproducible manner in the methods section, including the name of the model or tool, version and extension numbers, and manufacturer.
- The use of generative AI or AI-assisted tools in the production of artwork such as for graphical abstracts is not permitted. The use of generative AI in the production of cover art may in some cases be allowed, if the author obtains prior permission from the journal editor and publisher, can demonstrate that all necessary rights have been cleared for the use of the relevant material, and ensures that there is correct content attribution.

Supplementary material

We encourage the use of supplementary materials such as applications, images and sound clips to enhance research. Some guidelines:

- Cite all supplementary files in the manuscript text.
- Submit supplementary materials at the same time as your article. Be aware that all supplementary materials provided will appear online in the exact same file type as received. These files will not be formatted or typeset by the production team.
- Include a concise, descriptive caption for each supplementary file describing its content.
- Provide updated files if at any stage of the publication process you wish to make changes to submitted supplementary materials.
- Do not make annotations or corrections to a previous version of a supplementary file.
- Switch off the option to track changes in Microsoft Office files. If tracked changes are left on, they will appear in your published version.

We recommend you upload research data to a suitable specialist or generalist repository. Please read our guidelines on [sharing research data](#) for more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials.

Video

This journal accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. We encourage you to include links to video or animation files within articles. Some guidelines:

- When including video or animation file links within your article, refer to the video or animation content by adding a note in your text where the file should be placed.

- Clearly label files ensuring the given file name is directly related to the file content.
- Provide files in one of our [recommended file formats](#). Files should be within our preferred maximum file size of 150 MB per file, 1 GB in total.
- Provide "stills" for each of your files. These will be used as standard icons to personalize the link to your video data. You can choose any frame from your video or animation or make a separate image.
- Provide text (for both the electronic and the print version) to be placed in the portions of your article that refer to the video content. This is essential text, as video and animation files cannot be embedded in the print version of the journal.

We publish all video and animation files supplied in the electronic version of your article.

For more detailed instructions, we recommend that you read our guidelines on [submitting video content to be included in the body of an article](#).

Research data

We are committed to supporting the storage of, access to and discovery of research data, and our [research data policy](#) sets out the principles guiding how we work with the research community to support a more efficient and transparent research process.

Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings, which may also include software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Please read our guidelines on [sharing research data](#) for more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials.

For this journal, the following instructions from our [research data guidelines](#) apply.

Option B: Research data deposit, citation and linking

You are **encouraged** to:

- Deposit your research data in a relevant data repository.
- Cite and link to this dataset in your article.
- If this is not possible, make a statement explaining why research data cannot be shared.

Data statement

To foster transparency, you are encouraged to state the availability of any data at submission. Ensuring data is available may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you can state the reason why (e.g., your research data includes sensitive or confidential information such as patient data) during the submission process. This statement will appear with your published article on ScienceDirect. Read more about the importance and benefits of providing a [data statement](#).

Data linking

Linking to the data underlying your work increases your exposure and may lead to new collaborations. It also provides readers with a better understanding of the described research. If your research data has been made available in a data repository there are a number of ways your article can be linked directly to the dataset:

- Provide a link to your dataset when prompted during the online submission process.
- For some data repositories, a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.
- You can also link relevant data or entities within the text of your article through the use of identifiers. Use the following format: Database: 12345 (e.g. TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Learn more about [linking research data and research articles in ScienceDirect](#).

Research Elements

This journal enables the publication of research objects (e.g. data, methods, protocols, software and hardware) related to original research in [Elsevier's Research Elements journals](#).

Research Elements are peer-reviewed, open access journals which make research objects findable, accessible and reusable. By providing detailed descriptions of objects and their application with links to the original research article, your research objects can be placed into context within your article.

You will be alerted during submission to the opportunity to submit a manuscript to one of the Research Elements journals. Your Research Elements article can be prepared by you, or by one of your collaborators.

Article structure

Article sections

- Divide your article into clearly defined and numbered sections. Number subsections 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), then 1.2, etc.
- Use the numbering format when cross-referencing within your article. Do not just refer to "the text."
- You may give subsections a brief heading. Headings should appear on a separate line.
- Do not include the article abstract within section numbering.

Introduction

The introduction should clearly state the objectives of your work. We recommend that you provide an adequate background to your work but avoid writing a detailed literature overview or summary of your results.

Material and methods

The materials and methods section should provide sufficient details about your materials and methods to allow your work to be reproduced by an independent researcher. Some guidelines:

- If the method you used has already been published, provide a summary and reference the originally published method.
- If you are quoting directly from a previously published method, use quotation marks and cite the source.
- Describe any modifications that you have made to existing methods.

Results

Results should be clear and concise. We advise you to read the sections in this guide on supplying tables, artwork, supplementary material and sharing research data.

Discussion

The discussion section should explore the significance of your results but not repeat them. You may combine your results and discussion sections into one section, if appropriate. We recommend that you avoid the use of extensive citations and discussion of published literature in the discussion section.

Conclusion

The conclusion section should present the main conclusions of your study. You may have a stand-alone conclusions section or include your conclusions in a subsection of your discussion or results and discussion section.

Glossary

Please provide definitions of field-specific terms used in your article, in a separate list.

Abbreviations

Abbreviations which are not standard in the field should be defined in a footnote on the first page of your article.

Abbreviations which are essential to include in your abstract should be defined at first mention in your abstract, as well as in a footnote on the first page of your article.

Before submission we recommend that you review your use of abbreviations throughout your article to ensure that it is consistent.

Footnotes

We advise you to use footnotes sparingly. If you include footnotes in your article, ensure that they are numbered consecutively.

You may use system features that automatically build footnotes into text. Alternatively, you can indicate the position of footnotes within the text and present them in a separate section at the end of your article.

Acknowledgements

Include any individuals who provided you with help during your research, such as help with language, writing or proof reading, in the acknowledgements section. Acknowledgements should be placed in a separate section which appears directly before the reference list. Do not include acknowledgements on your title page, as a footnote to your title, or anywhere else in your article other than in the separate acknowledgements section.

Author contributions: CRediT

Corresponding authors are required to acknowledge co-author contributions using [CRediT \(Contributor Roles Taxonomy\)](#) roles:

- Conceptualization
- Data curation
- Formal analysis
- Funding acquisition
- Investigation
- Methodology
- Project administration
- Resources
- Software
- Supervision
- Validation
- Visualization
- Writing – original draft
- Writing – review and editing

Not all CRediT roles will apply to every manuscript and some authors may contribute through multiple roles.

We advise you to read [more about CRediT and view an example of a CRediT author statement](#).

Funding sources

Authors must disclose any funding sources who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article. The role of sponsors, if any, should be declared in relation to the study design, collection, analysis and interpretation of data, writing of the report and decision to submit the article for publication. If funding sources had no such involvement this should be stated in your submission.

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants, scholarships and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, it is recommended to include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Appendices

We ask you to use the following format for appendices:

- Identify individual appendices within your article using the format: A, B, etc.
- Give separate numbering to formulae and equations within appendices using formats such as Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc. and in subsequent appendices, Eq. (B.1), Eq. (B. 2) etc. In a similar way, give separate numbering to tables and figures using formats such as Table A.1; Fig. A.1, etc.

References

References within text

Any references cited within your article should also be present in your reference list and vice versa. Some guidelines:

- References cited in your abstract must be given in full.
- We recommend that you do not include unpublished results and personal communications in your reference list, though you may mention them in the text of your article.
- Any unpublished results and personal communications included in your reference list must follow the standard reference style of the journal. In substitution of the publication date add "unpublished results" or "personal communication."
- References cited as "in press" imply that the item has been accepted for publication. Linking to cited sources will increase the discoverability of your research.

Before submission, check that all data provided in your reference list are correct, including any references which have been copied. Providing correct reference data allows us to link to abstracting and indexing services such as Scopus, Crossref and PubMed. Any incorrect surnames, journal or book titles, publication years or pagination within your references may prevent link creation.

We encourage the use of Digital Object Identifiers (DOIs) as reference links as they provide a permanent link to the electronic article referenced. See the example below, though be aware that the format of such citations should be adapted to follow the style of other references in your paper.

DOI link example (for an article not yet in an issue):
 VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. Journal of Geophysical Research, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>.

Reference style

Indicate references by adding a number within square brackets in the text. You can refer to author names within your text, but you must always give the reference number, e.g., "as demonstrated [3,6]. Barnaby and Jones [8] obtained a different result".

Number references in the order they appear in your article.

Examples:

Reference to a journal publication:

[1] J. van der Geer, T. Handgraaf, R.A. Lupton, The art of writing a scientific article, *J. Sci. Commun.* 163 (2020) 51 – 59. <https://doi.org/10.1016/j.sc.2020.00372>.

Reference to a journal publication with an article number:

[2] J. van der Geer, T. Handgraaf, R.A. Lupton, 2022. The art of writing a scientific article. *Heliyon*. 19, e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e00205>.

Reference to a book:

[3] W. Strunk Jr., E.B. White, *The Elements of Style*, fourth ed., Longman, New York, 2000.

Reference to a chapter in a book:

[4] G.R. Mettam, L.B. Adams, How to prepare an electronic version of your article, in: B.S. Jones, R.Z. Smith (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*, E-Publishing Inc., New York, 2020, pp. 281 - 304.

Reference to a website:

[5] Cancer Research UK, Cancer statistics reports for the UK. <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/>, 2023 (accessed 13 March 2023).

Reference to a dataset:

[6] M. Oguro, S. Imahiro, S. Saito, T. Nakashizuka, Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions [dataset], Mendeley Data, v1, 2015. <https://doi.org/10.1234/abc12nb39r.1>.

Reference to software:

[7] E. Coon, M. Berndt, A. Jan, D. Svyatsky, A. Atchley, E. Kikinzon, D. Harp, G. Manzini, E. Shelef, K. Lipnikov, R. Garimella, C. Xu, D. Moulton, S. Karra, S. Painter, E. Jafarov, S. Molins, Advanced Terrestrial Simulator (ATS) v0.88 (Version 0.88) [software], Zenodo, March 25, 2020. <https://doi.org/10.1234/zenodo.3727209>.

Journal abbreviations

We ask you to abbreviate journal names according to the [List of Title Word Abbreviations](#) (LWA).

Web references

When listing web references, as a minimum you should provide the full URL and the date when the reference was last accessed. Additional information (e.g. DOI, author names, dates or reference to a source publication) should also be provided, if known.

You can list web references separately under a new heading directly after your reference list or include them in your reference list.

Data references

We encourage you to cite underlying or relevant datasets within article text and to list data references in the reference list.

When citing data references, you should include:

- author name(s)
- dataset title
- data repository
- version (where available)
- year
- global persistent identifier

Add [dataset] immediately before your reference. This will help us to properly identify the dataset. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

Preprint references

We ask you to mark preprints clearly. You should include the word "preprint" or the name of the preprint server as part of your reference and provide the preprint DOI.

Where a preprint has subsequently become available as a peer-reviewed publication, use the formal publication as your reference.

If there are preprints that are central to your work or that cover crucial developments in the topic, but they are not yet formally published, you may reference the preprint.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in popular reference management software products. These include products that support [Citation Style Language \(CSL\)](#) such as [Mendeley Reference Manager](#).

If you use a citation plug-in from these products, select the relevant journal template and all your citations and bibliographies will automatically be formatted in the journal style. We advise

you to [remove all field codes](#) before submitting your manuscript to any reference management software product.

If a template is not available for this journal, follow the format given in examples in the reference style section of this Guide for Authors.

Submitting your Manuscript

Submit online

Our online submission system guides you through the process steps of entering your manuscript details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process.

Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the editor's decision and requests for revision, is sent by email.

Please follow this link to [submit your paper](#).

After Receiving a Final Decision

Article Transfer Service

If your manuscript is more suitable for an alternative Elsevier journal, you may receive an email asking you to consider transferring your manuscript via the [Elsevier Article Transfer Service](#). The recommendation could come from the journal editor, a dedicated [in-house scientific managing editor](#), a tool-assisted recommendation or a combination.

If you agree with the recommendation, your manuscript will be transferred and independently reviewed by the editors of the new journal. You will have the opportunity to make revisions, if necessary, before the submission is complete at the destination journal.

Publishing agreement

Authors will be asked to complete a publishing agreement after acceptance. The corresponding author will receive a link to the online agreement by email. We advise you to read [Elsevier's policies related to copyright](#) to learn more about our copyright policies and your, and your employer's/institution's, additional rights for subscription and gold open access articles.

License options

Authors will be offered [open access user license options](#) which will determine how you, and third parties, can reuse your gold open access article. We advise that you review these options and any funding body license requirements before selecting a license option.

Open access

We refer you to our [open access information page](#) to learn about open access options for this journal.

Permission for copyrighted works

If excerpts from other copyrighted works are included in your article, you must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) within your article using [Elsevier's permission request and license form](#) (Word).

Proof correction

To ensure a fast publication process we will ask you to provide proof corrections within two days.

Corresponding authors will be sent an email which includes a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to Word. You can edit text, comment on figures and tables and answer questions raised by our copy editor. Our web-based proofing service ensures a faster and less error-prone process.

You can choose to annotate and upload your edits on the PDF version of your article, if preferred. We will provide you with proofing instructions and available alternative proofing methods in our email.

The purpose of the proof is to check the typesetting, editing, completeness and correctness of your article text, tables and figures. Significant changes to your article at the proofing stage will only be considered with approval of the journal editor.

Share Link

A customized [Share Link](#), providing 50 days free access to the final published version of your article on [ScienceDirect](#), will be sent by email to the corresponding author. The Share Link can be used to share your article on any communication channel, such as by email or on social media.

For an extra charge, you will be provided with the option to order paper offprints. A link to an offprint order form will be sent by email when your article is accepted for publication.

A Share Link will not be provided if your article is published gold open access. The final published version of your gold open access article will be openly available on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

Responsible sharing

We encourage you to share and promote your article to give additional visibility to your work, enabling your paper to contribute to scientific progress and foster the exchange of scientific developments within your field. Read more about how to [responsibly share and promote your article](#).

Resources for Authors

Elsevier Researcher Academy

If you would like help to improve your submission or navigate the publication process, support is available via [Elsevier Researcher Academy](#).

Elsevier Researcher Academy offers free e-learning modules, webinars, downloadable guides and research writing and peer review process resources.

Language and editing services

We recommend that you write in American or British English but not a combination of both.

If you feel the English language in your manuscript requires editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English, you may wish to use the [English Language Editing service](#) provided by Elsevier's Author Services.

ANEXO C – NORMAS DA REVISTA BRASILEIRO 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(res) deverá(ão) anexar uma carta assinada por todos, 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 BRASBRRJSBO

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://wileyeditingervices.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 confirmado 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 sugeridas 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-hoc*, 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

Explanação 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 arábigos, 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 JGP
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 destaque 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 D – LICENÇA DO SISTEMA DE AUTORIZAÇÃO E INFORMAÇÃO EM BIODIVERSIDADE (SISBIO).



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: 88196-1	Data de Emissão: 19/07/2023 10:03:21	Data de Revalidação*: 19/07/2024
De acordo com o art. 26 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: José Ladimir Sindaeux Neto	CPF: 006.345.162-06
Título do Projeto: Sistemática de cocóideos e mixosporídios de <i>Pygocentrus nattereri</i> entubados no lago Sacalzel, município de Pracuúba, estado do Amapá: inferência filogenética e taxonômica baseada em análises morfológicas e moleculares.	
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	Análise molecular: fixação de amostras, extração de DNA, realização do PCR	10/2023	10/2023
2	Necropsia, investigação de microparásitos e coleta de amostras com cestos/lecidos parasitados	08/2023	12/2023
3	Analise em microscopia eletrônica de varredura	08/2023	09/2023
4	Escrita do Artigo	12/2023	01/2024
5	Submissão das loengas (SISGEN/SISBIO/CECIA)	08/2023	07/2023
6	Defesa Final	09/2024	09/2024
7	Analise estatística	12/2023	12/2023
8	Sequenciamento da DNA,análise filogenética e filogenômica	11/2023	11/2023
9	Processamento histológico: Inclusão em parafina,microtomia, coloração, montagem de lâminas.	09/2023	12/2023
10	Qualificação do projeto	08/2023	09/2023
11	Coleta dos peixes e levantamento bibliográfico	08/2023	12/2023

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Jhonata Eduerd Faria da Oliveira	NECROPSIA, ANÁLISE FILOGENÉTICA, ESTATÍSTICA E MEV	010.091.432-78	Brasileira
2	Nayana Moraes de Sena	COLETA DOS ESPECIMENS, NECROPSIA, PROCES. PARA ML, SL E MEV.	779.341.052-15	Brasileira
3	MICHELE VELASCO OLIVEIRA DA SILVA	NECROPSIA, AF, ML, MEV E SUPERVISÃO DOS MANUSCRITOS	821.906.782-00	Brasileira
4	MARCELA NUNES VIDEIRA	NECROPSIA, ANÁLISE HISTOLÓGICA E FILOGENÉTICA	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: 0881960120230719

Página 1/5

ANEXOS E – LICENÇA DO SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO (SISGEN).



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 AB26728

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:	AB26728
Usuário:	UFRA
CPF/CNPJ:	06.200.001/0001-01
Objeto do Acesso:	Patrimônio Genético
Finalidade do Acesso:	Pesquisa

Espécie

Pygocentrus nattereri

Título da Atividade:	Sistemática de coccídeos e mixosporídios de Pygocentrus nattereri oriundos no Rio Sacalzal, município de Pracuúba, estado do Amapá: Inferência filogenética e taxonômica baseada em análises morfológicas e moleculares.
----------------------	---

Equipe

Michele Velasco da Silva	UFRA
José Ledamir Sindaeaux Neto	UFRA
Marcela Nunes Videira	UEAP
Jhonata Eduard Farias da Oliveira	UFRA
Nayana Moraes de Sena	UFRA

Parceiros Nacionais

08.186.277/0001-62 / Universidade Estadual do Amapá

Data do Cadastro: **21/02/2023 13:34:19**

Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em 21:23 de 19/07/2023.

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

ANEXOS F – CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO ANIMAL (CEUA)



*Comissão de Ética no
Uso de Animais CEUA/UFRA*



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Sistemática de coccídeos e microsporídios de *Pygocentrus nattereri* oriundos na lago Saccaízal, município de Pracuúba, estado do Amapá: inferência filogenética e taxonômica baseada em análises morfológicas e moleculares.", protocolada sob o CEUA nº 7218270723 no dia/ano, sob a responsabilidade de **Michele Velasco Oliveira da Silva** e equipe; **JOSÉ LEDMIR SWIDEAK NETO; NAYANA MORAES DE SENA; ELOIZA SARMENTO AMORAS; JONATHA EDUARD DE OLIVEIRA FARJAS** - 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 24/08/2023.

We certify that the proposal "Systematics of coccidia and microsporidia of *Pygocentrus nattereri* from Lake Saccaízal, municipality of Pracuúba, state of Amapá: phylogenetic and taxonomic inference based on morphological and molecular analyses.", utilizing 40 Fishes (males and females), protocol number CEUA 7218270723 on date/year, under the responsibility of **Michele Velasco Oliveira da Silva** and team; **JOSÉ LEDMIR SWIDEAK NETO; NAYANA MORAES DE SENA; ELOIZA SARMENTO AMORAS; JONATHA EDUARD DE OLIVEIRA FARJAS** - 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 08/24/2023.

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

Vigência da Proposta: de 09/2023 a 05/2024 Área: **Medicina Veterinária**

Origem: **Animais da natureza/selvagens**

Espécie: **Peces**

sexo: **Machos e Fêmeas**

idade: **6 a 12 meses**

N: **40**

Linhagem: **?**

Peso: **300 a 320 g**

Local do experimento: Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA, no Instituto de Saúde e Produção Animal - ISP na Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos.

Belém, 24 de agosto de 2023

*Assinatura: A. Darmescena
PROFESSOR H. 4422985 - REDEUFRA
CEUA/UFRA*

Profa. Dra. Ágatha Rosannai Alves Darmescena
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal Rural da Amazônia

*Assinatura: A. Lima da Silva
PROFESSOR H. 4422985 - REDEUFRA
CEUA/UFRA*

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