

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS

TESE

**Nematoides (Anisakidae, Cucullanidae, Cystidicolidae,
Kathlaniidae) parasitos em nove espécies de peixes do
Brasil.**

Felipe Bisaggio Pereira

2015



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**Nematoides (Anisakidae, Cucullanidae, Cystidicolidae, Kathlaniidae)
parasitos em nove espécies de peixes do Brasil.**

Felipe Bisaggio Pereira

Sob a Orientação do Professor
José Luis Fernando Luque Alejos

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de **Doutor em
Ciências**, no Programa de Pós-
Graduação em Ciências Veterinárias,
Área de Concentração Parasitologia
Veterinária.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2015

597.0524

P436n Pereira, Felipe Bisaggio, 1985-

T Nematoides (Anisakidae,
Cucullanidae, Cystidicolidae,
Kathlaniidae) parasitos em nove
espécies de peixes do Brasil / Felipe
Bisaggio Pereira - 2015.

94 f.: il.

Orientador: José Luis Fernando
Luque Alejos.

Tese(doutorado) - Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso
de Pós-Graduação em Ciências
Veterinárias.

Inclui bibliografias.

1. Peixe - Parasito - Teses. 2.
Peixe - Classificação - Teses. 3.
Nematoda - Teses. 4. Relação
hospedeiro-parasito - Teses. 5.
Parasitologia veterinária - Teses. I.
Alejos, José Luis Fernando Luque,
1962-. II. Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro. Curso de Pós-
Graduação em Ciências Veterinárias.
III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

FELIPE BISAGGIO PEREIRA

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de Concentração em Parasitologia Veterinária.

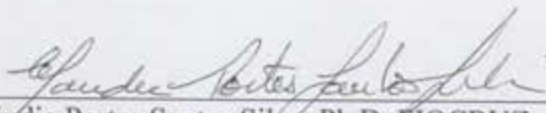
TESE APROVADA EM 25/02/2015



José Luis Fernando Luque Alejos. Ph.D. UFRRJ
(Orientador)



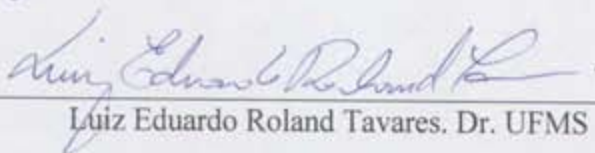
Arnaldo Maldonado Junior, Dr. FIOCRUZ



Cláudia Portes Santos Silva. Ph.D. FIOCRUZ



Luis Cláudio Muniz Pereira. Ph.D. FIOCRUZ



Luiz Eduardo Roland Tavares. Dr. UFMS

DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado à minha pequena grande família (filho, esposa, avó, pai e irmão) que sempre fundamentou de forma sólida minhas bases, proporcionando clareza, força e objetividade necessárias ao desenvolvimento desta obra.

*“There is no pain you are receding
A distant ship smoke on the horizon.
You are only coming through in waves.
Your lips move but I can't hear what you're saying...
I have become comfortably numb.”*

Comfortably Numb, Pink Floyd

AGRADECIMENTOS

Mais uma vez, obrigado ao Hugo, Renata, Rosa, Joaquim e Lucas pela alegria e auxílio proporcionados, me permitindo trabalhar de forma feliz e saudável.

Ao meu orientador, professor Dr. José Luis Fernando Luque Alejos por proporcionar a orientação e toda a matéria prima necessária ao meu desenvolvimento científico. Obrigado!

Às professoras Msc. Sueli de Souza Lima e Dra. Bernadete Maria de Sousa, por fundamentarem em mim a vontade e a paixão na pesquisa e o amor à biologia, sendo parte fundamental no que eu me tornei hoje.

A todos os colegas do laboratório de Parasitologia de Peixes da UFRRJ e, particularmente, Philippe Vieira Alves, Fabiano Paschoal, Juliana Moreira de Oliveira, Dr. Fabiano Matos Vieira e Camila Santos Pantoja de Oliveira pelo companheirismo, apoio e suavidade tornando mais fácil a vida na “selva quente” de Seropédica.

Aos professores PhD. Tomáš Scholz, PhD. František Moravec e ao PhD. Jan Brabec do Instituto de Parasitologia, Centro de Biologia da Academia de Ciências da República Tcheca, České Budějovice, e também ao professor Dr. David Gonzalez-Solís do El Colegio de La Frontera Sur, Chetumal, Mexico, pelos valiosos ensinamentos nessa caminhada científica. Muito obrigado!

À Blanka Škoríková do Instituto de Parasitologia em České Budějovice, Dra. Coralie Martin do Museu Nacional de História Natural de Paris e ao Dr. Marcelo Knoff do Instituto Oswaldo Cruz por cederem gentilmente literatura científica e espécimes tipo das coleções parasitológicas para análise.

A todos os funcionários, professores e colegas do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias e da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro que estiveram presentes nessa empreitada, e a CAPES pela concessão da bolsa sanduíche e de doutorado.

Em memória da Dra. Odile Bain do Museu Nacional de História Natural de Paris por toda orientação, valiosos ensinamentos e aprendizado durante o início de minha jornada. Obrigado!

RESUMO

PEREIRA, Felipe Bisaggio. **Nematoides (Anisakidae, Cucullanidae, Cystidicolidae, Kathlaniidae) parasitos em nove espécies de peixes do Brasil.** 2015. 107p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2015.

O presente trabalho teve como objetivo estudar a taxonomia de quatro espécies de nematoides parasitos em cinco espécies de peixes marinhos e outras três parasitando quatro espécies de peixes dulcícolas no Brasil. Entre Fevereiro de 2011 e Dezembro de 2013 foram coletadas as seguintes espécies de peixes no litoral do Rio de Janeiro: *Bagre bagre* (Siluriformes: Ariidae), *Balistes capriscus*, *Balistes vetula* (Tetraodontiformes: Balistidae), *Holocentrus adscensionis* (Beryciformes: Holocentridae) e *Kyphosus sctatrix* (Perciformes: Kyphosidae); as seguintes de peixes do Rio Xingu, Estado do Pará: *Megalodoras uranoscopus* e *Platydoras costatus* (Siluriformes: Doradidae), e *Platydoras armatulus* e *Piaractus mesopotamicus* (Characiformes: Serrasalminidae) no Rio Miranda, Estado do Mato Grosso do Sul. Os peixes hospedeiros foram obtidos frescos, através de pescadores locais e imediatamente analisados para presença de parasitos. Os parasitos encontrados foram analisados morfológicamente através de microscopia de luz e eletrônica de varredura, alguns sendo analisados geneticamente. A espécie nova *Raphidascaroides* sp. (Anisakidae), foi encontrada parasitando *P. armatulus* e se difere de suas congêneras pela morfologia dos lábios anteriores, espículos muito curtos, presença de pequenos espinhos anteriores a abertura cloacal e expansões laterais na cauda dos machos, e número e arranjo das papilas caudais. Outra espécie já descrita, *R. brasiliensis*, foi encontrada parasitando *M. uranoscopus* e *P. costatus* e, após análises do material tipo e de espécimes recém coletados foram apresentados dados adicionais à morfologia desta espécie de parasito, como por exemplo estruturas semelhantes a poros na cauda das fêmeas e variações no número e arranjo de papilas caudais nos machos. Para ambas as espécies de *Raphidascaroides* foram fornecidas as sequências dos genes 18S e 28S do rDNA. Outra nova espécie *Cucullanus* sp. (Cucullanidae) foi encontrada parasitando *B. capriscus* e *B. vetula* diferindo das suas congêneras principalmente pelo pequeno tamanho do corpo, cauda do macho e da fêmea curtas com morfologia peculiar, e o número e arranjo de papilas caudais. *Cucullanus bagre* parasito em *B. bagre* foi redescrito baseado em material recentemente coletado e análise do material tipo, após análises foi revelada a presença de uma papila caudal ímpar anterior ao lábio cloacal nos machos, a descrição da fêmea adulta e das placas cuticulares do esofástoma foi provida pela primeira vez. Duas espécies novas de cystidicolídeos (Cystidicolidae) *Comephoronema* sp. e *Pseudascarophis* sp. parasitos em *H. adscensionis* e *K. sectatrix*, respectivamente, diferem de seus congêneros principalmente devido a morfologia do ovo e arranjo e número de papilas caudais no macho. *Spectatus spectatus* (Kathlaniidae) parasito em *P. mesopotamicus* foi redescrito com base em material recém coletado e no material tipo, e uma emenda realizada no gênero; a sequência do gene 18S também foi fornecida.

Palavras-chave: Nematoides parasitos, Peixes, Taxonomia.

ABSTRACT

PEREIRA, Felipe Bisaggio. **Nematodes (Anisakidae, Cucullanidae, Cystidicolidae, Kathlaniidae) parasitic in nine species of fishes from Brazil.** 2015. 107p. PhD. Thesis in Veterinary Sciences. Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2015.

The aim of the present work was to evaluate the taxonomy of four nematode species parasitic in five species of marine fishes, and other three nematode species parasitizing four species of freshwater fishes from Brazil. Field collections were carried out from February 2011 to December 2013, fishes collected were as follows: *Bagre bagre* (Siluriformes: Ariidae), *Balistes capriscus* and *Balistes vetula* (Tetraodontiformes: Balistidae), *Holocentrus adscensionis* (Beryciformes: Holocentridae) and *Kyphosus sectatrix* (Perciformes: Kyphosidae) off Rio de Janeiro; *Megalodoras uranoscopus* and *Platydoras costatus* (Siluriformes: Doradidae) from Xingu River, State of Pará, *Platydoras armatulus* and *Piaractus mesopotamicus* (Characiformes: Serrasalminidae) from Miranda River, State of Mato Grosso do Sul. Fishes were caught fresh by commercial trawlers and immediately analyzed for parasites. Nematodes found were evaluated using light and scanning electron microscopy, some specimens were genetically analyzed. The new species *Raphidascaroides* sp. (Anisakidae) a parasite of *P. armatulus* differs from its congeners by the structure of lips, short spicules, presence of small spines in the anterior region of cloacal opening, males with caudal swellings and by the number and arrangement of caudal papillae. The known species *R. brasiliensis* found in *M. uranoscopus* and *P. costatus* was analyzed based on newly-collected and material and type specimens; after analysis some additional data on the morphology of this species were observed, e.g., pore-like structure on female tail and variability in the number and arrangement of caudal papillae in males. Sequences of the 18S and 28S genes of the rDNA for both *Raphidascaroides* spp. were provided. *Cucullanus* sp. (Cucullanidae) parasite of *B. capriscus* e *B. vetula* differs from the congeners mainly by the small body size, short tail of male and female with peculiar morphology and by the number and arrangement of caudal papillae. *Cucullanus bagre* parasitic in *B. bagre* was redescribed based on newly collected material and analysis of type specimens, which has revealed the presence of an unpaired papillae anterior to cloacal lip in males; additionally description of the adult female and the cuticular plates of oesophastome are provided for the first time. Two species of cystidicolid nematodes (Cystidicolidae), *Comephoronema* sp. and *Pseudascarophis* sp. parasites of *H. adscensionis* and *K. sectatrix*, respectively, differ from the congeners based on the egg morphology and the number and arrangement of caudal papillae in males. *Spectatus spectatus* (Kathlaniidae) parasite of *P. mesopotamicus* was redescribed based on analysis of newly collected material and type specimens; the genus was emended and the 18S was sequenced.

Key-words: Parasitic nematodes, Fishes, Taxonomy.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Lista de nematoides dos quais as sequências dos genes 18S e 28S do r DNA foram utilizadas nas análises, relacionadas aos seus respectivos hospedeiros, habitat, número de acesso no GenBank e referência.....09

Tabela 2. Medidas comparativas de *Raphidascaroides brasiliensis* Moravec & Thatcher, 1997 de diferentes hospedeiros definitivos.....18

CAPÍTULO II

Tabela 1. Medidas comparativas de machos e fêmeas de *Cucullanus bagre* Petter, 1974 do presente estudo e fornecidas na descrição original de Petter (1974b).....43

CAPÍTULO IV

Tabela 1. Lista dos espécimes de *Spectatus* Travassos, 1923 depositados na Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC) os quais foram re-examinados no presente trabalho.....79

Tabela 2. Medidas comparativas de *Spectatus spectatus* Travassos, 1923 depositados na Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC) e do presente trabalho, de diferentes hospedeiros definitivos e localidades. NM = não mensurado.....80

Tabela 3. Lista dos nematoides cosmocercóides (Cosmocercioidea) dos quais as sequências da subunidade menor (SSU) do rDNA foram usadas nas análises.....81

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Morfologia de *Raphidascaroides* sp. parasito em *Platydoras armatulus* (Valenciennes, 1840) do rio Miranda, Mato Grosso do Sul, Brasil. A. Região anterior, vista lateral; B, C. Região cefálica, vistas dorsal e ventral; D. Região vulvar; E. Lábio dorsal; F. Região posterior do macho, vista lateral; G. Cauda do macho, vista ventral; H. Cauda da fêmea, vista lateral; I. Ovo; J. Cauda do macho, vista lateral.....12

Figura 2. Eletromicrografias de MEV de *Raphidascaroides* sp. parasito em *Platydoras armatulus* (Valenciennes, 1840) do rio Miranda, Mato Grosso do Sul, Brasil. A. Região anterior, vista apical; B–D. Região cefálica, vistas ventral, subventral e dorsal, respectivamente; E, F. Cauda do macho e região cloacal, respectivamente, vista subventral (asteriscos indicam os espinhos rudimentares); G. Região posterior do macho, vista subventral; H. Cauda do macho, vista ventral (asteriscos indicam os espinhos rudimentares); I. Cauda da fêmea, vista sublateral. *Abreviações:* a, anfídeo; c, papila cefálica; d, lábio dorsal; e, poro excretor; i, interlábio; p, fasmídeo; s, lábio subventral; u, papila ímpar.....13

Figura 3. Morfologia de *Raphidascaroides brasiliensis* Moravec & Thatcher, 1997 parasito em *Megalodoras uranoscopus* (Eigenmann & Eigenmann, 1888) do rio Xingu, Pará, Brasil. A. Região anterior, vista lateral; B, C. Região cefálica, vistas dorsal e ventral; D. Região vulvar; E. Lábio subventral; F. Região posterior do macho, vista lateral (cabeça de seta indica fasmídeos); G, H. Cauda do macho, vistas ventral e lateral (cabeça de seta indica fasmídeos); I. Ovo; J. Cauda da fêmea, vista lateral (cabeça de seta indica fasmídeos); K. Extremidade caudal da fêmea, vista subventral.....16

Figura 4. Eletromicrografias de MEV de *Raphidascaroides brasiliensis* Moravec & Thatcher, 1997 parasito em *Megalodoras uranoscopus* (Eigenmann & Eigenmann, 1888) do rio Xingu, Pará, Brasil. A–D. Região cefálica, vistas apical, ventral, dorsal e subventral; E. Detalhe da região anal da fêmea, vista ventral; F. Região posterior da fêmea, vista ventral (cabeças de seta indicam estruturas tipo poro); G. Detalhe das estruturas tipo poro; H. Extremidade caudal da fêmea (cabeças de seta indicam estruturas tipo espinhos, asterisco indica múcron); I, J. Cauda do macho, vistas lateral e ventral (cabeça de seta indica papila pré-cloacal). *Abreviações:* a, anfídeo; c, papila cefálica; d, lábio dorsal; i, interlábio; p, fasmídeo; s, lábio subventral; u, papila ímpar.....17

Figura 5. Árvore gerada a partir do modelo PHYML das análises filogenéticas das seqüências concatenadas dos genes 18S e 28S rDNA, de nematoides ascaridídeos (famílias Anisakidae, Ascarididae e Toxocaridae). O primeiro número representa o suporte dos ramos pela probabilidade posterior Bayesiana (para 2×10^6 gerações; “bur-in” = 1×10^3); o segundo número é referente aos valores de bootstrap gerados a partir da máxima parcimônia (MP) (para 100 replicações). *Símbolos:* * parasitos de peixes de água doce; † parasitos de peixes marinhos.....20

CAPÍTULO II

Figura 1. Morfologia de *Cucullanus brevicaudatus* sp. parasito em *Balistes capriscus* Gmelin, 1789 do litoral do Rio de Janeiro, Brasil. A. Extremidade anterior do macho, vista dorso-ventral; B, C. Extremidade anterior da fêmea, vista lateral; D. Extremidade cefálica, vista apical; E. Deirídio; F. Gubernáculo, vista ventral; G. Ponta do espículo, vista lateral; H. Extremidade caudal do macho, vista lateral; I. Extremidade posterior do macho, vista lateral; J. Cauda do macho, vista ventral; K. Extremidade posterior da fêmea, vista lateral; L. Região vulvar, vista lateral; M. Ovo.....31

Figura 2. Eletromicrografias de MEV de *Cucullanus* sp. parasito em *Balistes capriscus* Gmelin, 1789 do litoral do Rio de Janeiro, Brasil. A, B. Extremidade cefálica, vista sublateral

(cabeça de seta indica colarete); C. Colarete e dentes; D. Extremidade posterior da fêmea (asteriscos indicam protuberâncias anais, cabeça de seta ânus); E. Deirídio e poro excretor (asterisco indica poro excretor, cabeça de seta deirídio); F, Deirídio; G, Extremidade posterior do macho, vista lateral (asterisco indica apêndice caudal, cabeças de seta papilas adcloacais); H. Região da ventosa ventral (asterisco indica primeiro par de papilas pré-cloacais, cabeça de seta pós-deirídio esquerdo). *Abreviações*: a, anfídeo; c, papila cefálica; p, fasmídeo; cl; lábio cloacal; lp, grande papila lateral; vs, ventosa ventral.....32

Figura 3. Morfologia de *Cucullanus bagre* Petter, 1974 parasito em *Bagre bagre* (Linnaeus, 1766) do litoral do Rio de Janeiro, Brasil. A. Extremidade cefálica, vista apical; B, C. Extremidade anterior, vistas dorso-ventral e lateral; D, E. Extremidade cefálica, vistas dorso-ventral e lateral; F. Extremidade posterior do macho, vista lateral; G. Região vulvar, vista lateral; H. Deirídio; I. Espículo, vista lateral; J. Extremidade posterior da fêmea, vista lateral; K. Cauda do macho, vista ventral; L. Ovo; M. Cauda do macho, vista lateral. *Abreviações*: As, estrutura em forma de arco; Ls, estrutura lateral; Pbc, pseudo cápsula bucal; Rs, estrutura reniforme; Tvp, placa transversal.....37

Figura 4. Eletromicrografias de MEV das fêmeas de *Cucullanus bagre* Petter, 1974 parasito em *Bagre bagre* (Linnaeus, 1766) do litoral do Rio de Janeiro, Brasil. A, B. Extremidade cefálica, vistas sub-apical e subventral. C. Extremidade posterior, vista ventral (cabeças de seta indicam fasmídeos). D. Região anal, vista ventral. E, F. Deirídio, vistas apical e lateral. G. Região vulvar, vista lateral. *Abreviações*: a, anfídeo; c, papilla cefálica.....38

Figura 5. Eletromicrografias de MEV dos machos de *Cucullanus bagre* Petter, 1974 parasito em *Bagre bagre* (Linnaeus, 1766) do litoral do Rio de Janeiro, Brasil. A. Abertura oral, vista lateral. B. Região da ventosa ventral, vista subventral. C. Extremidade posterior, vista ventral. D, E. Região caudal, vistas ventral e lateral (asteriscos, setas e cabeças de seta indicam lábio cloacal, papilas caudais e fasmídeos, respectivamente). *Abreviações*: a, anfídeo; c, papila cefálica; u, papila ímpar; vs, ventosa ventral.....39

Figura 6. Fotomicrografias da região posterior de um fragmento de um *Cucullanus bagre* Petter, 1974 macho proveniente do material tipo depositado no MNHN. A, B. Região caudal e cloacal, respectivamente, vistas laterais. *Abreviações*: g, gubernáculo; u, papila ímpar.....40

CAPÍTULO III

Figura 1. Morfologia de *Pseudascarophis* sp. parasito em *Kyphosus sectatrix* (Linnaeus, 1758) do litoral do Rio de Janeiro, Brasil. A. Extremidade anterior, vista lateral. B. Extremidade cefálica, vista apical. C. Região da vulva, vista lateral. D. Ovo. E. Região posterior da fêmea, vista lateral. F, G. Região posterior do macho, vistas ventral e lateral. H, I. Espículo direito e parte distal do esquerdo, respectivamente. *Barras de escala*: A, C, G = 50 µm; B = 2 µm; D, H, I = 20 µm; E, F = 75 µm.....58

Figura 2. Eletromicrografias de MEV de *Pseudascarophis* sp. parasito em *Kyphosus sectatrix* (Linnaeus, 1758) do litoral do Rio de Janeiro, Brasil. A, B. Extremidade cefálica, vista apical e subapical (seta indica anfídeo). C. Deirídio. D, E. Asa lateral, vista lateral e ventral. F. Cauda da fêmea, vista subventral (seta indica fasmídeo). G. Extremidade posterior do macho, vista lateral (seta indica fasmídeo). H. Área rugosa. *Barras de escala*: A, B, C = 2 µm; D = 5 µm; E, G = 20 µm; F, H = 10 µm. *Abreviações*: a, pseudolábio; b, dente em processo digitiforme; c, papila cefálica; p, papilas cuadais; lp, papila caudal lateral.....59

Figura 3. Morfologia de *Comephoronema* sp. parasito em *Holocentrus adscensionis* (Osbeck, 1765) do litoral do Rio de Janeiro, Brasil. A. Extremidade anterior, vista ventral. B, C, D. Extremidade cefálica, vistas lateral, dorsoventral e apical. E. Região vulvar contendo ovos larvados, vista lateral. F, G. Deirídio, vistas apical e lateral. H. Região caudal da fêmeas, visata lateral. I. Ovos larvados (filamentos não representados totalmente).....63

Figura 4. Morfologia dos machos de *Comephoronema* sp. parasito em *Holocentrus adscensionis* (Osbeck, 1765) do litoral do Rio de Janeiro, Brasil. A, B. Extremidade posterior, vistas ventral e lateral. C. Região caudal, vista lateral. D. Porção terminal da cauda, vista ventral. E. Espículo direito. F. Extremidade distal do espículos esquerdo, vista lateral.....64

Figura 5. Eletromicrografias de MEV de *Comephoronema* sp. parasito em *Holocentrus adscensionis* (Osbeck, 1765) do litoral do Rio de Janeiro, Brasil. A, B, C. Extremidade cefálica, vistas apical e subapical (seta indica placa bidentada). D. Deirídio. E. Vulva. F. Cauda da fêmea, vista subapical. G. Região caudal do macho (seta indica protuberância terminal). H. Extremidade posterior do macho (setas indicam papilas caudais, asterisco indica papila danificada). *Abreviações:* a, anfídeo; b, placa bidentada; c, papila cefálica; d, papila caudal; f, poros fasmídeos; p, pseudolábio; s, lábio sub-mediano.....65

Figura 6. Fotomicrografias de *Comephoronema* sp. parasito em *Holocentrus adscensionis* (Osbeck, 1765) do litoral do Rio de Janeiro, Brasil. A. Extremidade posterior do macho, vista ventral. B. Vulva e útero com ovos, vista lateral. C. Ovo na porção terminal da vulva, vista lateral. D. Ovo após ser ejetado da vulva. E. Porção terminal da cauda macho (seta indica protuberância terminal). *Abreviação:* f, poro fasmídial.....66

CAPÍTULO IV

Figura 1. Morfologia de *Spectatus spectatus* Travassos, 1923 parasito em *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) do rio Miranda, Mato Grosso do Sul, Brasil. A. Extremidade cefálica, vista apical. B. Estrutura esclerotizada em forma de chifre. C. Gubernáculo, vista ventral. D. Região anterior, vista dorsoventral. E, F. Extremidade cefálica, vistas dorsoventral e lateral. G. Região posterior da fêmea, vista lateral. H. Região vulvar, vista lateral. I. Ovo. J. Cauda do macho, vista ventral. K. Região posterior do macho, vista lateral. L. Cauda do macho, vista lateral.....84

Figura 2. Eletromicrografias de MEV de *Spectatus spectatus* Travassos, 1923 parasito em *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) do rio Miranda, Mato Grosso do Sul, Brasil. A. Extremidade cefálica, vista apical (asteriscos indicam anel cuticular). B. Extremidade cefálica, vista sublateral. C. Detalhe do anfídeo. D. Região caudal do macho, vista lateral. E. Região posterior do macho, vista sublateral (cabeças de seta indicam papilas caudais). F, G, H. Regiões caudal e cloacal dos machos, vistas ventral e sublateral, respectivamente (estrela indica área em forma de “T”). I. Cauda da fêmea, vista lateral. *Abreviações:* a, anfídeo; c, papila cefálica; g, gubernáculo; p, fasmídeo; u, papila ímpar; vs., ventosa ventral.....85

Figura 3. Árvore gerada a partir do modelo PHYML das análises filogenéticas das seqüências concatenadas do gene 18S de nematoides cosmocercóides (famílias Atractidae, Cosmocercidae e Kathlaniidae). O primeiro número representa o suporte dos ramos pela probabilidade posterior Bayesiana (para 2×10^6 gerações; “bur-in” = 1×10^3); o segundo número é referente aos valores de bootstrap gerados a partir da máxima parcimônia (MP) (para 100 replicações). *Símbolos:* * parasitos de peixes de água doce; † parasitos de peixes marinhos.....87

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. Capítulo I. ESTUDO MORFOLÓGICO E MOLECULAR DE DUAS ESPÉCIES DE <i>Raphidascaroides</i> YAMAGUTI, 1941 (NEMATODA: ANISAKIDAE), PARASITOS DE BAGRES DORADÍDEOS (SILURIFORMES) NA AMÉRICA DO SUL, INCLUINDO A DESCRIÇÃO DE <i>Raphidascaroides</i> sp.	
2.1 INTRODUÇÃO.....	6
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	7
2.2.1 Coleta dos hospedeiros e parasitos.....	7
2.2.2 Análises morfológicas dos parasitos.....	7
2.2.3 Análises moleculares dos parasitos.....	7
2.3 RESULTADOS.....	10
2.3.1 Descrição de <i>Raphidascaroides</i> sp.	10
2.3.2 Dados morfológicos adicionais de <i>Raphidascaroides brasiliensis</i> Moravec & Thatcher, 1997.....	15
2.3.3 Caracterização molecular de <i>Raphidascaroides</i> sp. e <i>R. brasiliensis</i> e suas relações filogenéticas com outros nematóides anisakídeos.....	19
2.4 DISCUSSÃO.....	21
2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22
3. Capítulo II. UMA NOVA ESPÉCIE DE <i>Cucullanus</i> MÜLLER, 1777 (SEURATOIDEA: CUCULLANIDAE) INCLUINDO NOVOS DADOS MORFOLÓGICOS DE <i>C. bagre</i> PETTER, 1974 PARASITOS EM PEIXES MARINHOS (ARIIDAE E BALISTIDAE) DO LITORAL DO RIO DE JANEIRO, BRASIL.	
3.1 INTRODUÇÃO.....	27
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.2.1 Coleta dos hospedeiros e parasitos.....	28
3.2.2 Análises morfológicas dos parasitos.....	28
3.3 RESULTADOS.....	29
3.3.1 Descrição de <i>Cucullanus</i> sp.	29
3.3.2 Redescrição de <i>Cucullanus bagre</i> Petter, 1974.....	34
3.4 DISCUSSÃO.....	44
3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
4. Capítulo III. DUAS NOVAS ESPÉCIES DE NEMATOIDES CYSTIDICOLÍDEOS (NEMATODA: CYSTIDICOLIDAE) PARASITOS EM DUAS ESPÉCIES DE PEIXES MARINHOS (KYPHOSIDAE, HOLOCENTRIDAE) DO LITORAL DO RIO DE JANEIRO, BRASIL.	
4.1 INTRODUÇÃO.....	54
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	55
4.2.1 Coleta dos hospedeiros e parasitos.....	55
4.2.2 Análises morfológicas dos parasitos.....	55
4.3 RESULTADOS.....	56
4.3.1 Descrição de <i>Pseudascarophis</i> sp.	56
4.3.2 Descrição de <i>Comephoronema</i> sp.	60
4.4 DISCUSSÃO.....	68
4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70

5. Capítulo IV. KATHLANÍDEOS (COSMOCERCOIDEA: KATHLANIIDAE) PARASITOS EM PEIXES: REDESCRIÇÃO E ESTUDO MOLECULAR DE <i>Spectatus spectatus</i> TRAVASSOS, 1923, INCLUINDO EMENDA DO GÊNERO.	
5.1 INTRODUÇÃO	76
5.2 MATERIAL E MÉTODOS	77
5.2.1 Coleta dos hospedeiros e parasitos.....	77
5.2.2 Análise morfológica dos parasitos.....	77
5.2.3 Análises moleculares dos parasitos.....	77
5.3 RESULTADOS	82
5.3.1 Emenda no gênero <i>Spectatus</i> Travassos, 1923.....	82
5.3.2 Redescrição de <i>Spectatus spectatus</i> Travassos, 1923.....	82
5.3.3 Caracterização molecular de <i>S. spectatus</i> e suas relações filogenéticas com outros nematóides da superfamília Cosmocercoidea.....	86
5.4 DISCUSSÃO	88
5.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89
6. CONCLUSÕES GERAIS	91
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92

1. INTRODUÇÃO GERAL

De acordo com os dados atuais, estima-se que existam aproximadamente 32.800 espécies de peixes em todo o mundo, considerando os diversos tipos de habitat aquáticos (FROESE; PAULY, 2014). Desse total, 4.407 espécies (aproximadamente 7,4%) são registradas no Brasil, incluindo as nativas, exóticas e endêmicas (FROESE; PAULY, 2014). A essa abundância e diversidade de peixes está atrelada, dentre outros fatores, a importância que esses organismos representam para os seres humanos através da pesca. O pescado associa-se à vida do homem de muitas formas, porém os pontos mais importantes são relativos ao uso da pesca como fonte de alimento e renda (BRASIL, 2007; RODRIGUES; GIUDICE, 2011).

Neste contexto a forma consciente de exploração e manutenção dos recursos naturais (no caso a pesca) torna-se altamente necessária para a conservação, principalmente em um panorama atual aonde a perda da biodiversidade vem ocorrendo de forma cada vez mais acentuada, principalmente devido às ações antrópicas (MEDURI et al., 2008).

A conservação da biodiversidade só é possível através do conhecimento sólido a respeito das espécies que compõem os ecossistemas, para assim podermos preservá-los. Porém, atualmente este conhecimento encontra-se bastante limitado dificultando o planejamento de ações e técnicas de manejo para que essa conservação se faça de forma global e mais eficiente (GUREVITCH; PADILLA, 2004; KREMEN, 2005).

Muitas vezes, os parasitos são negligenciados quando o assunto é biodiversidade e conservação (GÓMEZ; NICHOLS, 2013). Porém, estes organismos representam importância ímpar como parte integrante dos mais diversos ecossistemas (POULIN, 1999; MARCOGLIESE, 2004). Através do conhecimento da fauna parasitária podemos obter informações valiosas a respeito da história de vida dos hospedeiros, sua distribuição geográfica, suas relações tróficas, evolucionárias e ecológicas (BROOKS et al., 2001).

Em outra ótica, podemos enxergar a relação parasito-hospedeiro como uma via dualística, em que hospedeiros podem exercer influência sobre populações de parasitos e vice-versa. Parasitos podem influenciar o comportamento, fisiologia, morfologia, fator de condição, reservas energéticas e, conseqüentemente o sucesso reprodutivo de seus hospedeiros, resultando em alterações na estrutura populacional dos mesmos (POULIN, 1999; MORACOGIESE, 2005). Por outro lado, atributos do hospedeiro como comportamento, dieta, tamanho corporal, sexo e competência imunológica (AHO, 1990; ROBERTS et al., 2004; AMO et al., 2005) podem, por sua vez, influenciar a estrutura de uma determinada comunidade parasitária.

Outro ponto importante no conhecimento da biodiversidade parasitária, o qual é resultado direto dos estudos taxonômicos, é a questão das coleções parasitológicas. Essas coleções apresentam um papel vital na disseminação do conhecimento sobre a diversidade parasitária, preservando material tipo e espécimens representativos que, por sua vez, possibilitam documentar a memória de conceitos morfológicos e taxonômicos, categorizando os diversos grupos de parasitos e permitindo também o reconhecimento de doenças dos animais e do homem, através de estudos comparativos (CANHOS et al., 2006; MEDURI et al., 2008).

O filo Nematoda Diesing, 1861 é representado pelos chamados “vermes cilíndricos” ao quais são organismos muito bem sucedidos em diversos tipos de ecossistemas. Este grupo representa uma das três principais radiações de organismos pluricelulares no planeta, juntamente com os fungos e insetos (GASTON, 1991; LAMBSHEAD et al., 1993) e, podem ser encontrados em quase todos os tipos de ambientes terrestres e aquáticos (BORGONIE et al., 2011), inclusive como parasitos de plantas, animais e do homem. Das aproximadamente 25 mil espécies descritas no grupo, em torno de metade delas são representadas por parasitos

e estima-se que existam 1 milhão de espécies de nematóides (incluindo vida livre e parasitos) no total (LAMBSHEAD et al., 1993; HODDA, 2011; ZHANG, 2013). Considerando as espécies parasitas, muitas podem ser altamente patogênicas aos seus hospedeiros como é o caso do nematoide *Dioctophyme renale* (Goese, 1782) (Ascaridida: Dioctophymatidae) parasito do rim de canídeos domésticos e silvestres (ALVES et al., 2007), e alguns nematoides anisakídeos (Ascaridida: Anisakidae) que infectam peixes podendo causar prejuízos econômicos no comércio do pescado (LUQUE et al., 2011). Ambos os exemplos citados anteriormente podem também acometer seres humanos com patologias brandas a severas (VIBE, 1985; LUQUE et al., 2011).

Os nematoides representam o segundo grupo em termos de associações parasitárias em peixes da Região Neotropical, ficando atrás somente dos digenéticos (LUQUE; POULIN, 2007). Em torno de somente 17,3% das espécies de peixes conhecidas no Brasil apresentam registros para parasitos (MORAVEC, 1998), fato que indica um conhecimento bastante incipiente dessa fauna de parasitos, o que nos impossibilita de responder questões ainda básicas relativas a ciclo de vida, biologia, relações com os hospedeiros, presença e ou ausência de patogenicidade, e ainda grau da mesma, impactos desses organismos nos diversos ambientes, dentre outras (MORAVEC, 1998).

Dentre os nematoides parasitos da fauna piscícola no Brasil, àqueles pertencentes à superfamília Ascaridoidea, e principalmente à família Anisakidae, representam em torno de metade dos registros (LUQUE et al., 2011). Diversos estudos registram estes parasitos acometendo peixes marinhos e de água doce, em fases imaturas (larvais) e adultas (LUQUE et al., 2000; LUQUE; ALVES, 2001; TAVARES; LUQUE, 2004; ALVES; LUQUE, 2006; LUQUE et al. 2010). Estes helmintos apresentam uma importância particular, pois é reconhecido que sua presença no organismo de peixes economicamente importantes, afeta a industrialização e comercialização do pescado (CLAVER et al., 2000; SLIFKO et al., 2000; MCCLELLAND, 2002; CÓRDENAS et al., 2009), pelo fato de estes poderem causar danos ao hospedeiro. Além disso, nematoides e outros grupos de parasitos de peixes comercialmente importantes representam implicações em saúde pública (BICUDO et al., 2005; TAVARES et al., 2005; LUQUE et al., 2011). Por isso é fundamental o estudo aprofundado e o reconhecimento efetivo desses parasitos (bem como de outros grupos) em seus diversos hospedeiros.

O presente trabalho teve como objetivo principal o estudo da diversidade de nematoides parasitos em peixes marinhos e dulcícolas no Brasil, através da análise taxonômica morfológica e molecular dos organismos encontrados. Como consequência, o trabalho apresentou dois objetivos secundários: (i) descrever espécies ainda não conhecidas pela ciência; (ii) fornecer novos dados quando espécies conhecidas foram estudadas.

Para tanto, esta tese encontra-se dividida em quatro capítulos de acordo com o grupo de nematoide parasito estudado. No primeiro capítulo é realizado um estudo morfológico e molecular de duas espécies de *Raphidascaroides* Yamaguti, 1941 (Nematoda: Anisakidae), uma já conhecida *R. brasiliensis* Moravec & Thatcher, 1997 e uma espécie nova. No segundo capítulo são estudadas morfológicamente duas espécies do gênero *Cucullanus* Müller, 1777, *C. bagre* Petter, 1974 e uma nova espécie descrita. No terceiro capítulo são descritas duas espécies novas de nematoides cystidicolídeos (Nematoda; Cystidicolidae), com base em dados morfológicos. No quarto capítulo a espécie *Spectatus spectatus* Travassos, 1923 é redescrita com base em dados morfológicos e moleculares, e uma emenda no gênero é fornecida. É importante destacar que todas as espécies novas referidas acima são válidas e suas descrições se encontram publicadas em periódicos internacionais (ver notas de rodapé nas páginas título dos capítulos).

CAPÍTULO I -

ESTUDO MORFOLÓGICO E MOLECULAR DE DUAS ESPÉCIES DE *Raphidascaroides* YAMAGUTI, 1941 (NEMATODA: ANISAKIDAE), PARASITOS DE BAGRES DORADÍDEOS (SILURIFORMES) NA AMÉRICA DO SUL, INCLUINDO A DESCRIÇÃO DE *Raphidascaroides* sp.¹

¹Artigo publicado: PEREIRA, F. B.; TAVARES, L. E. R.; SCHOLZ, T.; LUQUE, J. L. A morphological and molecular study of two species of *Raphidascaroides* Yamaguti, 1941 (Nematoda: Anisakidae), parasites of doradid catfish (Siluriformes) in South America, with a description of *R. moraveci* n. sp. **Systematic Parasitology**. doi: 10.1007/s11230-015-9555-2

RESUMO

Nematoides anisakídeos do gênero *Raphidascaroides* Yamaguti, 1941, parasitos de bagres doradídeos (Siluriformes: Doradidae) no Brasil, foram estudados com base na morfologia e análises moleculares de espécimes recém-coletados. Uma nova espécie, *Raphidascaroides* sp., parasitando o intestino do peixe *Platydoras armatulus* (Valenciennes, 1840) no rio Miranda, Bacia do rio Paraguai, Pantanal, estado de Mato Grosso do Sul, é descrita. Esta nova espécie difere de todas as outras congênericas por possuir a região posterior à abertura cloacal coberta por pequenos espinhos rudimentares, bem como também espículos curtos (163–217 µm de comprimento), representando menos de 1% do comprimento total do corpo. Adicionalmente, esta espécie difere das outras com base no número e arranjo das papilas caudais nos machos e devido a estrutura dos lábios e cauda. *Raphidascaroides* sp. é a terceira espécie do gênero descrita parasitando peixes de água doce e a segunda na Região Neotropical. Novos dados morfológicos de *R. brasiliensis* Moravec & Thatcher, 1997 parasito em *Megalodoras uranoscopus* (Eigenmann & Eigenmann, 1888) e *Platydoras costatus* (Linnaeus, 1758) (ambos novos registros de hospedeiro para este parasito) do rio Xingu, Bacia do rio Amazonas, estado do Pará, são fornecidos incluindo micrografias de estruturas com importância taxonômica realizadas através de microscopia eletrônica de varredura. A validade de *Raphidascaroides* sp. é suportada pelas análises moleculares (sequências parciais dos genes 18S e 28S do rDNA). As espécies de *Raphidascaroides* agruparam-se como grupo irmão de *Hysterothylacium pelagicum* Deardorff & Overstreet, 1982 parasito de *Coryphaena hippurus* (Linnaeus, 1758), fazendo do gênero *Hysterothylacium* Ward & Magath, 1917, representado por três espécies na presente análise, um taxon parafilético. Todavia, o suporte dos clados individuais foi fraco.

Palavras-chave: Nematoides parasitos, Taxonomia morfológica, Taxonomia molecular.

ABSTRACT

Anisakid nematodes of the genus *Raphidascaroides* Yamaguti, 1941 parasitizing doradid catfishes (Siluriformes: Doradidae) in Brazil were studied based on morphological and molecular evaluation of newly collected material. A new species, *Raphidascaroides* sp., is described from the intestine of *Platydoras armatulus* (Valenciennes, 1840) from the River Miranda, basin of River Paraguay, Pantanal, Mato Grosso do Sul. The new species differs from all the congeners by having the posterior region of cloacal opening covered by small rudimentary spines and short spicules (163–217 µm in length) representing less than 1% of the total body length. In addition, it differs from the other congeneric species by the number and arrangement of caudal papillae and structure of lips and tail. *Raphidascaroides* sp. is the third species described from freshwater fishes and the second one in the Neotropical Region. New morphological data on *R. brasiliensis* Moravec & Thatcher, 1997 from *Megalodoras uranoscopus* (Eigenmann & Eigenmann, 1888) and *Platydoras costatus* (Linnaeus, 1758) (both new host records) from the River Xingu, basin of River Amazon, Pará, Brazil are provided including scanning electron micrographs of taxonomically important structures. Validity of the new species is supported by molecular data (partial sequences of the 18S and 28S rRNA genes). The species of *Raphidascaroides* cluster together with *Hysterothylacium pelagicum* Deardorff & Overstreet, 1982 from *Coryphaena hippurus* (Linnaeus, 1758) being their sister taxon, making the genus *Hysterothylacium* Ward & Magath, 1917, represented by three species, paraphyletic. However, the support of individual clades was weak.

Key-words: Parasitic nematodes, Morphological taxonomy, Molecular Taxonomy.

2.1 INTRODUÇÃO

O gênero *Raphidascaroides* Yamaguti, 1941 (Nematoda: Anisakidae) inclui nematoides parasitos intestinais de peixes marinhos principalmente, com apenas duas espécies descritas em peixes de água doce, denominadas *R. bishaii* Khalil, 1961 parasito de *Gymnarchus niloticus* Cuvier, 1829 (Gymnarchidae) no Sudão, e *R. brasiliensis* Moravec & Thatcher, 1997 parasito de *Pterodoras granulosus* (Valenciennes, 1821) (Doradidae) no Brasil (KHALIL, 1961; MORAVEC; THATCHER, 1997). Dezesete espécies nominais estão descritas neste gênero, porém somente nove delas são consideradas válidas (BRUCE, 1990; MORAVEC; THATCHER, 1997).

Durante análises parasitológicas em peixes de água doce do Brasil, espécimes de *Raphidascaroides* foram coletados em três espécies diferentes de bagres doradídeos (Siluriformes: Doradidae) no baixo rio Xingu, um dos maiores tributários do rio Amazonas, bem como no rio Miranda, um tributário do rio Paraguai, Pantanal (Bacia do Rio Paraná). Estudos morfológicos dos parasitos encontrados revelaram que os espécimes encontrados nos peixes do Pantanal representam uma nova espécie a qual está descrita neste trabalho. Adicionalmente, são apresentados novos dados morfológicos de *R. brasiliensis* coletados no rio Xingu juntamente com a primeira análise das relações filogenéticas de espécies de *Raphidascaroides* com outros nematoides anisakídeos.

2.2 MATERIA E MÉTODOS

2.2.1 Coleta dos hospedeiros e parasitos

Os peixes foram coletados através da pesca artesanal em duas localidades diferentes. Um indivíduo da espécie *Megalodoras uranoscopus* (Eigenmann & Eigenmann, 1888) (comprimento total de 47 cm) e um da espécie *Platydoras costatus* (Linnaeus, 1758) (comprimento total de 21,5 cm) foram coletados no rio Xingu, Pará, Brasil; um espécime de *Platydoras armatulus* (Valenciennes, 1840) (comprimento total de 23,5 cm) foi coletado no rio Miranda, Mato Grosso do Sul, Brasil. Os hospedeiros foram identificados por especialistas em ictiologia da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS) e da Universidade Federal do Pará (UFPA), Campus Altamira. A nomenclatura e classificação taxonômica dos hospedeiros foram atualizadas de acordo com Froese & Pauly (2014). Os peixes foram eutanasiados por congelamento lento, seu trato digestório retirado e os seguintes órgãos individualizados em placas de petri para análise parasitológica: esôfago, estômago e intestino. Os nematoides encontrados foram lavados em solução fisiológica (NaCl a 0,9% em H₂O destilada) ainda vivos, fixados em solução de formol a 4% quente e acondicionados em etanol 70°GL. Para as análises moleculares a parte mediana do corpo de alguns espécimes foi fixada em etanol 96–99%, e as partes restantes fixadas para morfologia em formol.

2.2.2 Análise morfológica dos parasitos

Para as análises morfológicas os parasitos foram clarificados em glicerina, montados entre lâmina e lamínula, e observados sob microscópio de luz Olympus BX51. As ilustrações foram feitas utilizando um tubo de desenho acoplado ao microscópio óptico. As medidas apresentadas estão em micrometros (µm), a não ser quando indicado de forma diferente. Alguns espécimes utilizados para microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram desidratados em uma série crescente de concentrações de etanóis, secos em hexametil disilazano (HDMS), metalizados com ouro e examinados no microscópio eletrônico JEOL JSM-740 1F, operando a 4 kV. Quatro parátipos (2 machos e 2 fêmeas) de *Raphidascaroides brasiliensis* que estão depositados na Coleção Helmintológica do Instituto de Parasitologia, do Centro de Biologia da Academia de Ciências da República Tcheca, České Budějovice (IPCAS) (Cat. No. N-686), foram re-examinados. Espécimes estudados no presente trabalho foram depositados na Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC) e também na IPCAS. A classificação sistemática dos parasitos está de acordo com Anderson et al. (2009).

2.2.3 Análises moleculares dos parasitos

As amostras dos espécimes utilizados nas análises moleculares foram representadas da seguinte maneira: uma amostra de *Raphidascaroides* sp. coletado em *P. armatulus* (código BRMS4) e duas amostras de *R. brasiliensis* coletados em *M. uranoscopus* e *P. costatus*, respectivamente (códigos PAX11 e PAX14, respectivamente). As porções anteriores e posteriores destes espécimes, i.e. hologenóforos (espécimes voucher dos quais as amostras para análises moleculares foram extraídas; ver ASTRIN et al., 2013 para mais detalhes) foram identificados com base na morfologia. Os táxons adicionais utilizados nas análises filogenéticas foram obtidos através do GenBank e estão listados na Tabela 1. Estes táxons foram selecionados de acordo com a proximidade taxonômica (Ordem, Superfamília, Família e Gênero), disponibilidade e confiabilidade de sequências. Os grupos externos foram escolhidos segundo análises filogenéticas previamente disponíveis na literatura.

O DNA genômico foi isolado utilizando o kit de extração DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Hilden, Germany), de acordo com as instruções do fabricante. A subunidade menor (SSU) do rDNA (gene 18S) foi amplificada usando os oligonucleotídeos iniciadores

PhilonemaF + PhilonemaPCRr e protocolos descritos por Černotíková et al. (2011). A subunidade maior (LSU) do rDNA (gene 28S) foi amplificada usando os oligonucleotídeos iniciadores D2A (5'-ACA AGT ACC GTG AGG GAA AGT-3') e D3B (5'-TGC GAA GGA ACC AGC TAC TA-3') descritos por Nunn (1992). Os parâmetros de ciclagem de PCR para amplificação da LSU rDNA foram os seguintes: desnaturação a 94°C por 5 min, seguida de 35 ciclos de 94°C por 1 min, anelamento a 50°C por 1 min, extensão a 72°C por 1 min, seguido de extensão pós-amplificação a 72°C por 6 min.

Os produtos da PCR foram purificados por tratamento enzimático utilizando exonuclease I e fosfatase alcalina (WERLE et al., 1994) e seqüenciados no GATC Biotech (Konstanz, Germany) usando os mesmos primers da PCR e dois oligonucleotídeos iniciadores internos adicionais WF760 e WR800 (Černotíková et al., 2011) no caso do gene 18S do rDNA.

Os contíguos das sequencias foram alinhados por correspondência no programa Genious (Geneious ver. 7 created by Biomatters, available from <http://www.geneious.com/>) e depositadas na base de dados do GenBank sobre os números de acesso KP726274, KP726276, KP726278 (SSU rDNA) and KP726275, KP726277, KP726279 (LSU rDNA).

O consenso das sequencias referentes aos genes 18S e 28S do rDNA foram alinhados separadamente usando o algoritmo E-INS-i do programa MAFFT (KATO et al., 2002) implementado no programa Geneious, e as posições alinhadas de forma ambígua foram excluídas. Os alinhamentos dos genes foram então concatenados e submetidos as análises de máxima parcimônia (MP) e inferência Bayesiana (IB). As árvores filogenéticas das análises de MP e IB foram calculadas e construídas a partir do modelo de evolução GTR+I+G usando os plug-ins PHYML (GUINDON; GASCUEL, 2003) e MrBayes (HUELSENBECK; RONQUIST, 2001) do programa Geneious, respectivamente. O modelo evolutivo foi escolhido utilizando o programa jModelTest 2 (GUINDON; GASCUEL, 2003; DARRIBA et al., 2012). A análise de IB foi rodada por 2×10^6 generations, com amostragem de toda 500ª árvore e descartando uma fração "burn-in" de 55×10^5 árvores. O suporte nodal para a análise de MP foi estimado por 100 replicações não paramétricas de bootstrap.

Tabela 1. Lista de nematoides dos quais as sequências dos genes 18S e 28S do r DNA foram utilizadas nas análises, relacionadas aos seus respectivos hospedeiros, habitat, número de acesso no GenBank e referência.

Parasito	Hospedeiro (Habitat)	N° de acesso do GenBank		Referência
		18S	28S	
ANISAKIDAE				
<i>Goezia pelagia</i> Deardorff & Overstreet, 1980	<i>Chaetodipterus faber</i> (Broussonet, 1782) (M)	U94372	GPU94758	Nadler & Hudspeth (1998)
<i>Hysterotylacium fortalezae</i> (Klein, 1973)	<i>Lutjanus campechanus</i> (Poey, 1860) (M)	U94374	U94760	Nadler & Hudspeth (1998)
<i>Hysterotylacium pelagicum</i> Deardorff & Overstreet, 1982	<i>Coryphaena hippurus</i> (Linnaeus, 1758) (M)	U94375	U94761	Nadler & Hudspeth (1998)
<i>Hysterotylacium reliquens</i> Norris & Overstreet, 1975	<i>Micropogonias undulatus</i> (Linnaeus, 1766) (M)	U94376	U94762	Nadler & Hudspeth (1998)
<i>Iheringascaris iniquies</i> (Linton, 1901)	<i>Rachycentron canadum</i> (Linnaeus, 1766) (M)	U94377	U94763	Nadler & Hudspeth (1998)
<i>Raphidascaaris acus</i> (Bloch, 1779)	<i>Esox lucius</i> (Linnaeus, 1758) (AD)	DQ503460	AY821772	Smythe et al. (2006); Nadler et al. (2005)
ASCARIDIDAE				
<i>Baylisascaris procyonis</i> (Stefanski & Zarnowski, 1951)	<i>Procyon lotor</i> (Linnaeus, 1758) (MM)	U94368	U94753	Nadler & Hudspeth (1998)
<i>Porrocaecum depressum</i> (Zeder, 1800)	<i>Strix varia</i> Barton, 1799 (A)	U94379	U94765	Nadler & Hudspeth (1998)
TOXOCARIDAE				
<i>Toxascaris leonina</i> (Von Linstow, 1902)	<i>Vulpes vulpes</i> (Linnaeus, 1758) (MM)	U94383	U94769	Nadler & Hudspeth (1998)

A, ave terrestre; AD, peixe de água doce; M, peixe marinho; MM, mamífero terrestre.

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Descrição de *Raphidascaroides* sp. (Figuras 1 e 2) Família Anisakidae Railliet & Henry, 1912

Descrição geral: Nematóides grandes de coloração esbranquiçada. Cutícula espessa com leves estrias transversais ao longo do corpo. Asa lateral ausente. Região terminal anterior com três lábios bem desenvolvidos, dois subventrais e um dorsal, o qual é mais estreito (Figs. 1B, E, 2A–D). Lábios relativamente estreitos, mais longos que largos, com franjas laterais alargadas na base dos mesmos; região anterior dos lábios com dois lobos anteriores. Láblio dorsal contendo duas papilas duplas, subdorsais em posição (Figs. 1B, 2D). Lábios subventrais contendo um pequeno anfídeo anterior e adjacente a uma leve formação circular a uma papila subventral dupla e conspícua (Figs. 1E, 2C). Interláblio bem desenvolvido e estreito, representando mais que 1/3 do comprimento dos lábios (Figs. 1C, 2B). Esôfago muscular e longo, mais largo em sua parte terminal posterior (Fig. 1A). Anel nervoso circulando o esôfago entre 1/8 e 2/8 de seu comprimento (Fig. 1A). Poro excretor ligeiramente posterior ao nível do anel nervoso (Fig. 1A). Ventrículo sub-esférico localizado entre o fim do esôfago e começo do intestino; apêndice ventricular longo (Fig. 1A).

Descrição dos machos (baseada em 5 espécimes, medidas do holótipo entre parênteses): Comprimento do corpo 26,2–29,6 (27,5) mm, largura máxima 617–720 (697). Comprimento dos lábios e interláblio 141–162 (141) e 54–68 (56), respectivamente. Esôfago medindo 3,1–3,7 (3,6) mm comprimento, 159–188 (159) largura máxima, representando 11–13 (13)% do comprimento corporal total. Anel nervoso e poro excretor distando 478–597 (478) e 525–659 (525) da região anterior, respectivamente. Ventrículo com 79–106 (90) comprimento, 116–138 (122) largura; apêndice ventricular medindo 623–739 (694) comprimento. Espículos iguais, curtos, robustos e bastante esclerotizados (Fig. 1F), com 163–217 (163) de comprimento, representando 0,6–0,8 (0,6)% do comprimento corporal total. Gubernáculo ausente. Papilas pré-cloacais em número e distribuição da seguinte forma: 22 pares subventrais, dos quais os menores estão situados próximos a abertura cloacal; papila ímpar grande localizada imediatamente anterior à abertura cloacal (Figs. 1F, G, J, 2E, F, H). Papilas adcloacais: 2 pares, dos quais 1 par pequeno subventral seguido por 1 par maior e adjacente (Figs. 1G, J, 2E, H). Papilas pós-cloacais: 4 pares organizados em duas linhas subventrais verticais, primeiro e segundo pares maiores que o terceiro e o quarto (Figs. 1G, 2H). Poros fasmidiais conspícuos, localizados lateralmente na cauda ao nível do último par de papilas pós-cloacais (Figs. 1G, J, 2E, G, H). Região posterior da abertura cloacal coberta por pequenos espinhos rudimentares (Figs. 1G, J, 2E, F, H). Cauda cônica, relativamente curta medindo 257–296 (264) comprimento, terminando em ponta arredondada (pequeno múcron) e com expansões longitudinais laterais da parede corporal (Figs. 1F, G, J, 2E, G, H), suportadas internamente por uma musculatura delgada e transversa (Figs. 1F, G, J).

Descrição das fêmeas (baseada em 9 espécimes, medidas do alótipo entre parênteses): Comprimento do corpo 27,6–35,4 (32,3) mm, largura máxima 766–928 (826). Comprimento dos lábios e interláblio 150–187 (165) e 64–75 (72), respectivamente. Esôfago medindo 3,7–4,5 (4,0) mm comprimento, 183–211 (192) largura máxima, representando 11–14 (13)% do comprimento corporal total. Anel nervoso e poro excretor distando 514–614 (614) e 593–714 (714) da região anterior, respectivamente. Ventrículo com 138–170 (138) comprimento, 145–174 (174) largura; apêndice ventricular medindo 623–739 (694) comprimento. Vulva no segundo quarto do corpo, distando 7,7–10,1 (9,5) mm da extremidade anterior a 28–31 (29)% do comprimento corporal; vulva sem lábios elevados (Fig. 1D). Vagina direcionada

anteriormente com musculatura bem desenvolvida (Fig. 1D). Útero anfidélfico, repleto de ovos; ovários tubulares (Fig. 1D). Ovos com contorno oval, casca fina e lisa, não embrionados (Fig. 1I), medindo 45–53 × 35–50. Poro fasmidiais inconspícuos, difíceis de serem observados, localizados na metade posterior da cauda (Fig. 2I). Cauda cônica com 370–480 (425) de comprimento, terminando em uma ponta arredondada (pequeno múcron) (Figs. 1H, 2I).

Resenha Taxonômica e Ecológica.

Hospedeiro tipo: *Platydoras armatulus* (Valenciennes, 1840) (Siluriformes: Doradidae).

Sítio de infecção: Intestino.

Localidade: Rio Miranda (19°34'S, 57°0'W) (Bacia do rio Paraná), Mato Grosso do Sul, Brasil.

Intensidade de infecção: 19 nematoides em um peixe analisado.

Depósito de espécimes: Holótipo, alótipo, 6 parátipos e 1 hologenóforo na CHIOC (36728a–c); 6 parátipos na IPCAS (N-1079).

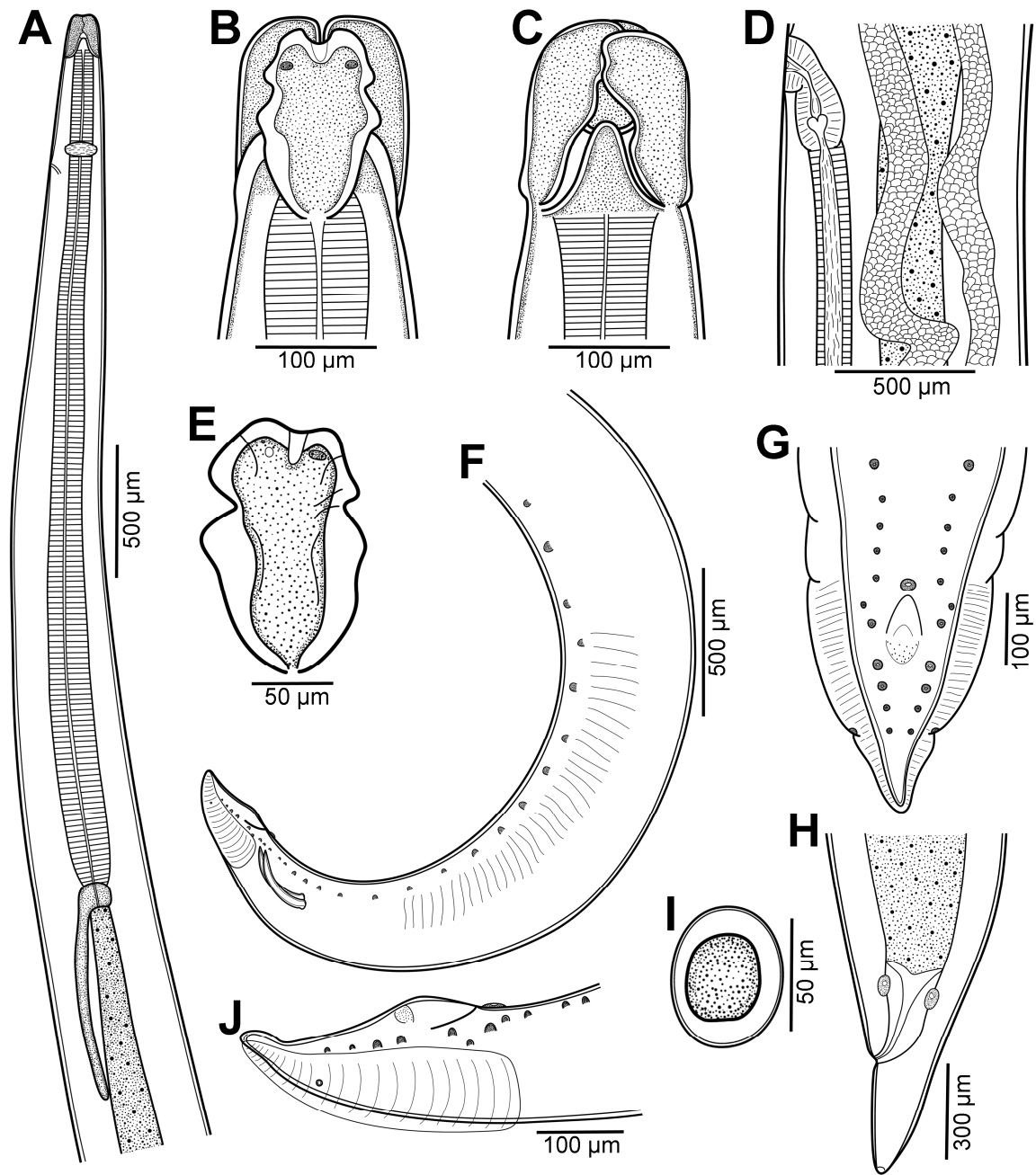


Figura 1. Morfologia de *Raphidascaroides* sp. parasito em *Platydoras armatulus* (Valenciennes, 1840) do rio Miranda, Mato Grosso do Sul, Brasil. A. Região anterior, vista lateral; B, C. Região cefálica, vistas dorsal e ventral; D. Região vulvar; E. Lábio dorsal; F. Região posterior do macho, vista lateral; G. Cauda do macho, vista ventral; H. Cauda da fêmea, vista lateral; I. Ovo; J. Cauda do macho, vista lateral.

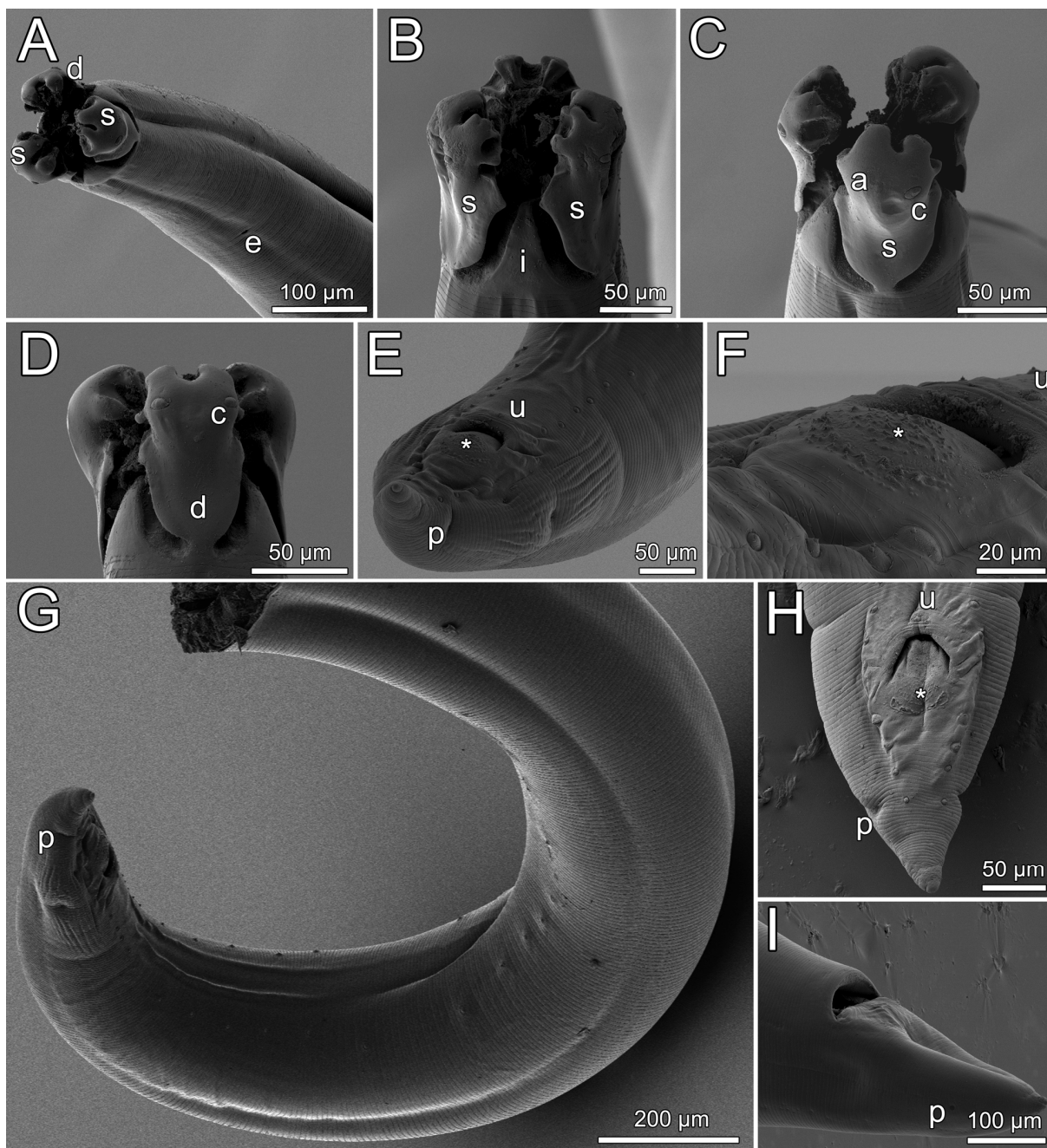


Figura 2. Eletromicrografias de MEV de *Raphidascaroides* sp. parasito em *Platydoras armatulus* (Valenciennes, 1840) do rio Miranda, Mato Grosso do Sul, Brasil. A. Região anterior, vista apical; B–D. Região cefálica, vistas ventral, subventral e dorsal, respectivamente; E, F. Cauda do macho e região cloacal, respectivamente, vista subventral (asteriscos indicam os espinhos rudimentares); G. Região posterior do macho, vista subventral; H. Cauda do macho, vista ventral (asteriscos indicam os espinhos rudimentares); I. Cauda da fêmea, vista sub-lateral. *Abreviações:* a, anfidio; c, papila cefálica; d, lábio dorsal; e, poro excretor; i, interlábio; p, fasmídio; s, lábio subventral; u, papila ímpar.

Comentários: Os nematoides encontrados em *Platydoras armatulus* foram classificados no gênero *Raphidascaroides* por possuírem o poro excretor ligeiramente posterior ao anel nervoso, três lábios bem desenvolvidos sem faixas de dentículos, interlábio, ventrículo e apêndice ventricular dirigido posteriormente, ausência de ceco intestinal, numerosas papilas pré-cloacais e vulva localizada na metade anterior do corpo (YAMAGUTI, 1941; MORAVEC, 1998; MORAVEC; NAGASAWA, 2000; ANDERSON et al., 2009).

Raphidascaroides sp. difere de todos os seus congêneros por possuir machos com espículos mais curtos do gênero (163–217) representando menos de 1% do comprimento corporal total e a região posterior da abertura cloacal coberta por pequenos espinhos rudimentares.

A nova espécie difere das duas únicas espécies descritas em ambiente de água doce, *R. brasiliensis* e *R. bishaii*, devido a morfologia dos lábios, os quais são mais estreitos e longos em *Raphidascaroides* sp., e por possuir número e arranjo das papilas pós-cloacais diferente, i.e., os machos de *R. brasiliensis* possuem 5–6 pares e *R. bishaii* somente 2–3 distribuídos em grupos, enquanto que na nova espécie os machos possuem quatro pares de papilas médias a grandes organizadas em duas linhas laterais (KHALIL, 1961; MORAVEC; THATCHER, 1997). Além disso, *R. bishaii* apresenta machos e fêmeas com o ápice caudal coberto por pequenos espinhos, os quais são ausentes em *Raphidascaroides* sp. (KHALIL, 1961).

As outras sete espécies de *Raphidascaroides* consideradas válidas foram descritas em peixes marinhos de outros continentes que não a América (sul e leste asiático, Austrália e África – ver BRUCE, 1990; MORAVEC; THATCHER, 1997; BILQEES et al., 2005). A nova espécie diferencia-se dessas outras da seguinte forma: *R. bengali* Rajyalakshmi, 1995 parasito em *Uroconger lepturus* (Richardson, 1845) (Congridae) e *R. indicus* Rajyalakshmi, 1994 em of *Chiloscyllium indicum* (Gmelin, 1789) (Hemiscyliidae), ambos da Índia, *R. chilomycteri* Yamaguti, 1961 parasito de *Chilomycterus reticulatus* (Linnaeus, 1758) (Diodontidae) e *R. nipponensis* Yamaguti, 1941 de várias espécies de peixes pertencentes à diferentes família (Ateliopodidae, Lophiidae, Ogcocephalidae and Soleidae), ambos do Japão e leste da China, e, finalmente *R. elongatus* Bilqeess, Shaukat, Navqi & Medi, 2005 parasito em *Ilisha elongata* (Bennett, 1830) no Paquistão, possuem machos com espículos mais longos e a razão espículo / comprimento corporal maior que esses pertencentes à nova espécie (comprimento mínimo do espículo de 450 vs. 163–217; razão espículo / comprimento corporal mínima de 2,1 vs. 0,6–0,8%).

As espécies supracitadas também se diferenciam de *Raphidascaroides* sp. pela morfologia dos lábios e pelo número e arranjo das papilas caudais, i.e., nenhuma dessas espécies apresentam lábio estreito de base também estreita e 4 pares de papilas pós-cloacais organizadas em duas linhas longitudinais sub-ventrais como na nova espécie (YAMAGUTI, 1941, 1961; RAJYALAKSHMI, 1994, 1995; MORAVEC; NAGASAWA, 2000; BILQEES et al., 2005).

Raphidascaroides africanus Khalil & Oyetayo, 1988, parasito em *Bostrychus africanus* (Steindachner, 1879) (Eleotridae) da Nigéria, e *R. fisheri* Hooper, 1983 em *Platycephalus endrachtensis* Quoy & Gaimard, 1825 (Platycephalidae) da Austrália apresentam a extremidade caudal coberta por espinhos rudimentares (HOOPER, 1983; KHALIL; OYETAYO, 1988), os quais estão ausentes na nova espécie como dito anteriormente. Além disso, *R. africanus* apresenta uma asa lateral que se estende ao longo do corpo (KHALIL; OYETAYO, 1988) e *R. fisheri* apresenta machos com apenas dois pares de papilas pós-cloacais e espículos sub-iguais (medindo 280 e 320 de comprimento) (HOOPER, 1983).

A nova espécie também apresenta expansões laterais da parede corporal na região caudal dos machos. Esta estrutura não parece ser um artefato morfológico, pois foi observada em todos os espécimes, incluindo aqueles utilizados para MEV (Figs. 2E, G, H).

Raphidascaroides sp. é a terceira espécie de *Raphidascaroides* descrita em peixes de água doce e a segunda espécie neste ambiente conhecida na América do Sul.

2.3.2 Dados morfológicos adicionais de *Raphidascaroides brasiliensis* Moravec & Thatcher, 1997 (Figuras 3 e 4)

Família Anisakidae Railliet & Henry, 1912

Descrição dos machos (baseada em 10 espécimes coletados em M. uranoscopus e 8 espécimes coletados em P. costatus; as medidas estão apresentadas na Tabela 2): Papilas pré-cloacais: total de 25–27 pares de pequenas papilas subventrais, algumas vezes os pares são organizados de forma assimétrica (Fig. 3F); papila mediana grande ligeiramente anterior à abertura cloacal (Figs. 3G, H, 4I, J). Papilas adcloacais: 1 pequeno par lateral seguido por 1 pequeno par subventral, ambos os pares ligeiramente posteriores ou anteriores a linha da abertura cloacal (Figs. 3G, H, 4I). Papilas pós-cloacais: 6 pares dos quais 4 estão distribuídos anteriormente em posição subventral, os dois pares restantes estão localizados posteriormente sendo 1 lateral e outro sublateral (Figs. 3G, H, 4I).

Descrição das fêmeas (baseada em 8 espécimes coletados em M. uranoscopus e 7 espécimes coletados em P. costatus; as medidas estão apresentadas na Tabela 2): Duas estruturas semelhantes a poros (não são fasmídeos) localizadas lateralmente a abertura anal (Fig. 4E–G). Poros fasmidiaais pequenos e inconspícuos localizados lateralmente na metade posterior da cauda (Figs. 3J, 4H). Cauda cônica, curta, terminando em uma pequena protuberância semi-esférica (mícron) (Figs. 3K, 4H); pequenas estruturas semelhantes a espinhos visíveis somente por MEV (Figs. 4H).

Resenha Taxonômica e Ecológica.

Hospedeiros: *Megalodoras uranoscopus* (Eigenmann & Eigenmann, 1888) e *Platydoras costatus* (Linnaeus, 1758) (Siluriformes: Doradidae) (ambos novos registros).

Sítio de infecção: Intestino.

Localidade: Rio Xingu (3°12'S, 52°12'W) (bacia do rio Amazonas), Pará, Brasil.

Intensidade de infecção: 21 nematoides encontrados em *M. uranoscopus* e 16 em *P. costatus*.

Depósito de espécimes: 8 machos, 8 fêmeas, e 2 hologenóforos na CHIOC (36726a,b; 36727a,b); 2 machos e 2 fêmeas na IPCAS (N-686/2/3).

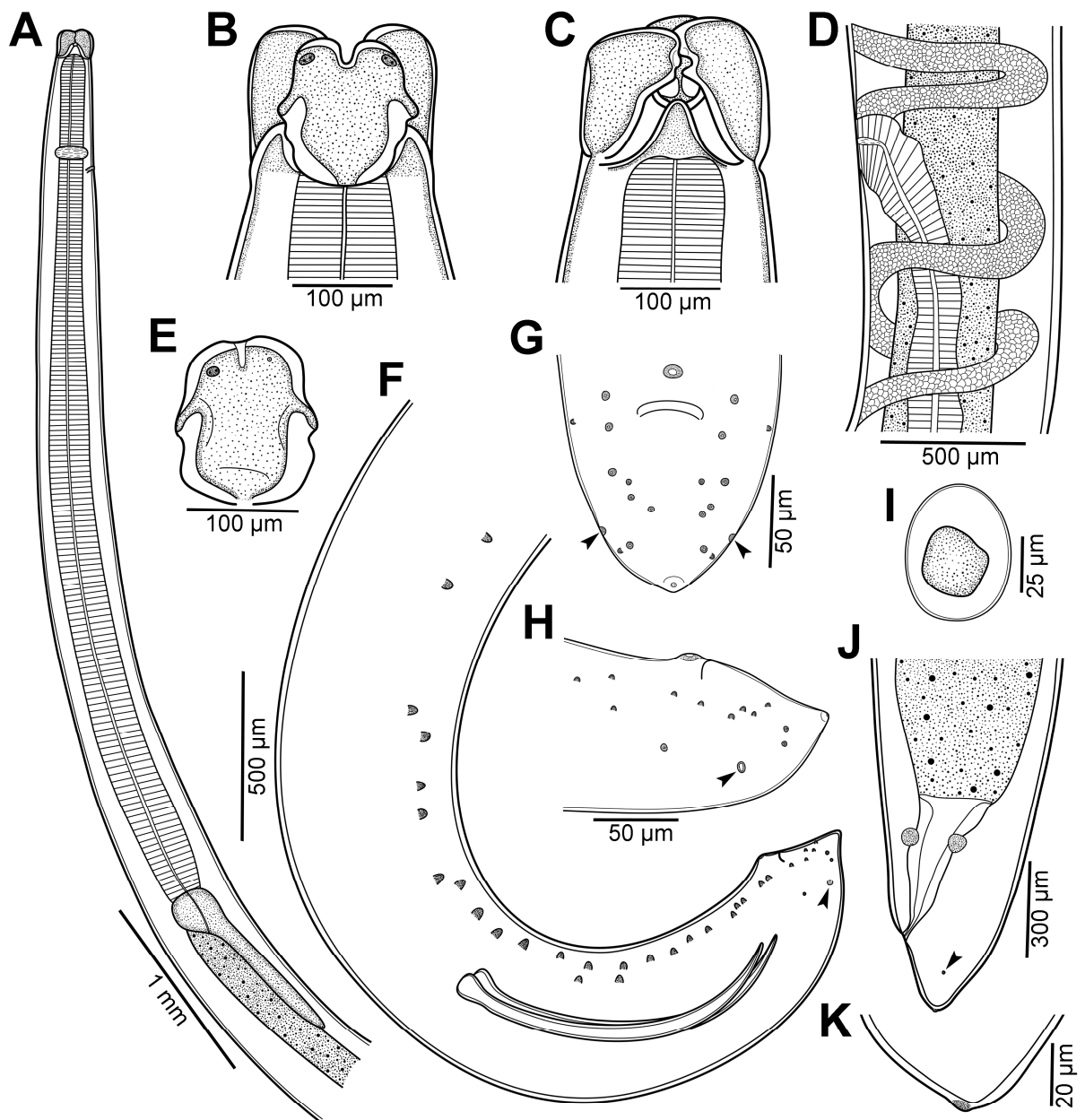


Figura 3. Morfologia de *Raphidascaroides brasiliensis* Moravec & Thatcher, 1997 parasito em *Megalodoras uranoscopus* (Eigenmann & Eigenmann, 1888) do rio Xingu, Pará, Brasil. A. Região anterior, vista lateral; B, C, Região cefálica, vistas dorsal e ventral; D. Região vulvar; E. Lábio subventral; F. Região posterior do macho, vista lateral (cabeça de seta indica fasmídeos); G, H, Cauda do macho, vistas ventral e lateral (cabeça de seta indica fasmídeos); I. Ovo; J. Cauda da fêmea, vista lateral (cabeça de seta indica fasmídeos); K. Extremidade caudal da fêmea, vista subventral.

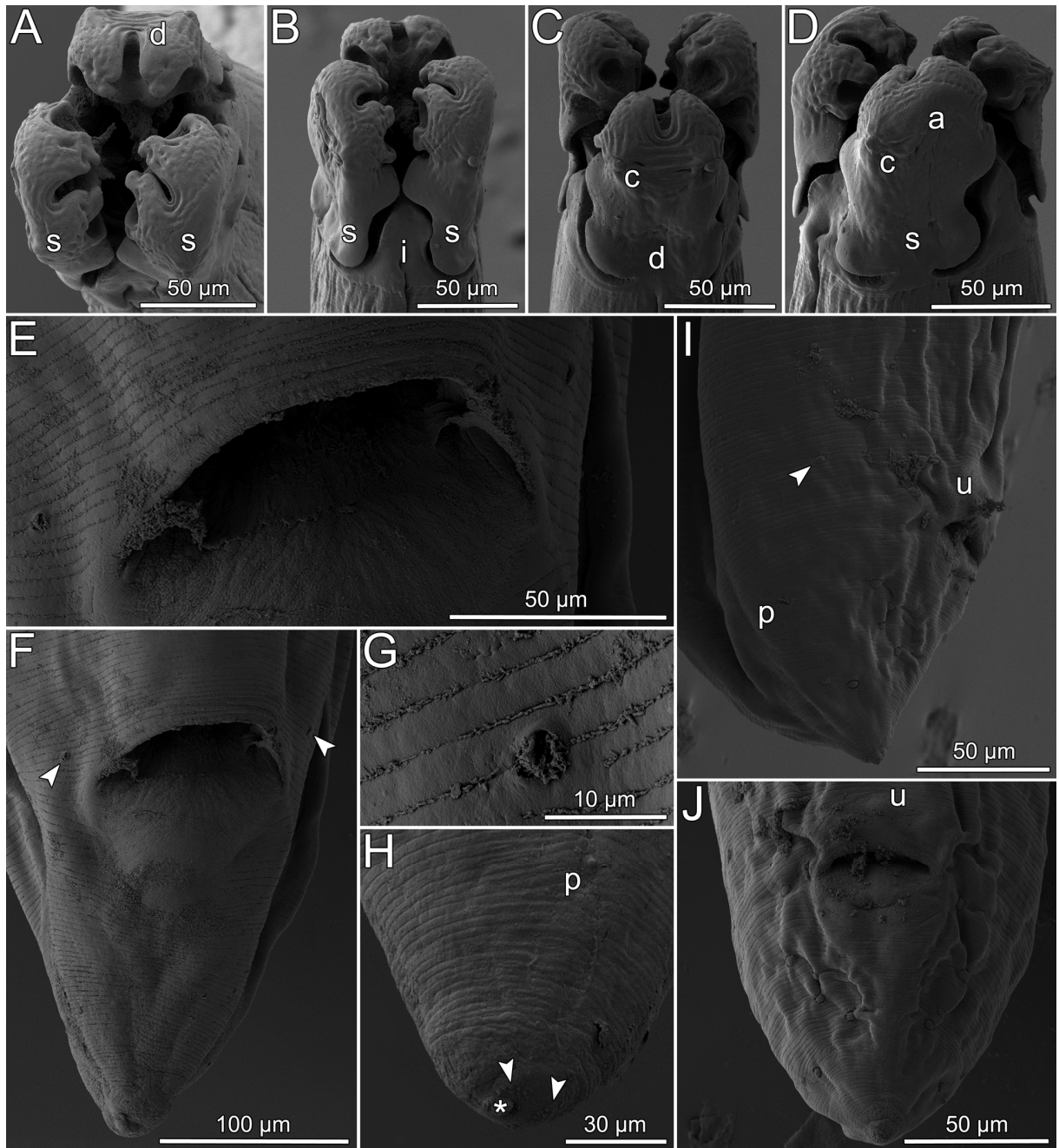


Figura 4. Eletromicrografias de MEV de *Raphidascaroides brasiliensis* Moravec & Thatcher, 1997 parasito em *Megalodoras uranoscopus* (Eigenmann & Eigenmann, 1888) do rio Xingu, Pará, Brasil. A–D. Região cefálica, vistas apical, ventral, dorsal e subventral; E. Detalhe da região anal da fêmea, vista ventral; F. Região posterior da fêmea, vista ventral (cabeças de seta indicam estruturas semelhantes a poro); G. Detalhe da estrutura semelhante a poro; H. Extremidade caudal da fêmea (cabeças de seta indicam estruturas espinhosas, asterisco indica múcron); I, J. Cauda do macho, vistas lateral e ventral (cabeça de seta indica papila pré-cloacal). *Abreviações:* a, anfídeo; c, papila cefálica; d, lábio dorsal; i, interlábio; p, fasmídio; s, lábio subventral; u, papila ímpar.

Tabela 2. Medidas comparativas de *Raphidascaroides brasiliensis* Moravec & Thatcher, 1997 de diferentes hospedeiros definitivos.

Hospedeiro	<i>Pterodoras granulatus</i> *	<i>Megalodoras uranoscopus</i>	<i>Platydoras costatus</i>
Localidade	rio Amazonas**	rio Xingu	rio Xingu
Autoria	Moravec & Thatcher (1997)	present study	present study
Macho	n = 5	n = 10	n = 8
Comprimento (mm)	31,2–34,5	25–45	30,1–38,5
Largura	598–789	497–748	500–649
Comprimento dos lábios	159–183	110–155	143–160
Comprimento do interlábio	75–84	50–70	62–75
Comprimento do esôfago (mm)	3,4–3,9	2,8–4,7	3,2–4,0
Razão esôfago/comprimento (%)	10–11	10–11	10–11
Anel nervoso a região anterior	612–707	473–704	580–690
Poros excretor a região anterior	639–748	543–860	620–743
Comprimento do ventrículo	109–163	120–240	110–200
Largura do ventrículo	218–286	148–284	250–270
Apêndice ventricular (mm)	0,7–1,7	0,6–1,2	0,7–1,3
Espículo (mm)	0,95–1,18	0,7–1,2	0,8–0,9
Razão espículos/comprimento (%)	3,0–3,4	2,2–2,8	2,3–2,7
Papilas caudais	24–34p + 1i pré; 5p pós	25p + 1i pré; 6p pós	25p + 1i pré; 6p pós
Cauda	190–245	157–222	180–230
Fêmea	n = 5	n = 8	n = 7
Comprimento (mm)	46,0–76,7	49,9–65,7	47,5–70,5
Largura	0,8–1,0	0,7–1,1	0,7–1,0
Comprimento dos lábios	195–216	149–185	160–190
Comprimento do interlábio	87–105	57–75	70–80
Comprimento do esôfago (mm)	5,3–6,4	4,3–6,1	5,0–6,1
Razão esôfago/comprimento (%)	8–12	9–10	9–11
Anel nervoso a região anterior	694–802	695–802	700–815
Poros excretor a região anterior	748–884	700–880	710–840
Comprimento do ventrículo	163–218	154–285	165–180
Largura do ventrículo	258–313	204–342	200–305
Apêndice ventricular (mm)	1,2–1,4	1,0–1,4	1,3–1,5
Vulva a região anterior (mm)	14,1–17,6	15,9–22,1	15,2–24,7
Posição relativa da vulva (%)	23–31	32–34	32–35
Ovo	45–51 × 36–42	52–64 × 38–47	52–64 × 38–47
Cauda	666–721	223–394	230–380

*Hospedeiro tipo; **Localidade tipo; p, Pares de papilas pré-cloacais (pré) e pós-cloacais (pós); i, Papila ímpar.

Comentários: Os nematoides encontrados parasitando os peixes doradídeos do rio Xingu correspondem morfológica e morfometricamente aos pertencentes à espécie *R. brasiliensis*, parasita de *Pterodoras granulosus* e descrita por Moravec & Thatcher (1997). A descrição original deste parasito foi detalhada e micrografias de MEV foram também fornecidas, com exceção da cauda da fêmea. No presente estudo, mais detalhes da morfologia desta espécie são fornecidos baseados em material recentemente coletado em dois hospedeiros adicionais, ambos pertencentes a família Doradidae. A análise morfológica de parátipos de *R. brasiliensis* depositados na IPCAS, revelaram pequenas diferenças entre estes e os espécimes recém coletados (veja a Tabela 2).

Nas fêmeas de *R. brasiliensis* encontradas em ambos *M. uranoscopus* e *P. costatus*, foi observado um par de estruturas tipo poro, as quais não são fasmídeos, localizados na linha horizontal da abertura anal, uma estrutura semi-esférica (pequeno múcron) e pequenas formações semelhantes a espinhos (observadas somente em MEV) localizadas no ápice da cauda. Estas estruturas não foram mencionadas por Moravec & Thatcher (1997) e são difíceis de serem observadas em microscopia de luz. Todavia, a análise dos parátipos desta espécie confirmou a presença das estruturas como poros nesses espécimes.

Foram também observadas pequenas diferenças no arranjo e número de papilas caudais dos machos, na morfologia e posição dos fasmídeos e no número e arranjo das papilas pós-cloacais (seis pares no presente material vs. cinco pares nos parátipos). Todavia, essas diferenças parecem refletir variabilidade individual intra-específica de espécimes pertencentes à espécies diferentes de hospedeiros e de diferentes estágios de maturidade (fêmeas estudadas por Moravec & Thatcher (1997) aparentemente estavam mais maduras e, conseqüentemente, maiores que essas encontradas nos peixes do rio Xingu).

2.3.3 Caracterização molecular de *Raphidascaroides* sp. e *R. brasiliensis* e suas relações filogenéticas com outros nematóides anisakídeos.

Foram obtidas as sequências parciais do rDNA de *Raphidascaroides* sp. (1562 e 739 pares de bases dos genes 18S e 28S, respectivamente) e de *R. brasiliensis* (1562 e 763 pares de bases dos genes 18S e 28S, respectivamente). As sequências concatenadas dos genes 18S e 28S de *R. brasiliensis* coletado em *M. uranoscopus* e *P. costatus* foram quase idênticas, com somente duas variações de pares de bases na região do gene 28S (i.e. < 0,1% de variabilidade de sequência) e, logicamente, essas amostras apresentaram maior similaridade com *Raphidascaroides* sp. com identidade de sequência de 98,8%. A topologia das árvores filogenéticas geradas a partir das análises de MP e IB foi idêntica; em ambos os cladogramas as espécies de *Raphidascaroides* agruparam-se juntas formando um clado fortemente suportado (Fig. 5).

As análises filogenéticas das novas sequências das espécies de *Raphidascaroides* juntamente com aquelas de ascaridídeos (espécies das famílias Ascarididae, Toxocaridae e Anisakidae) obtidas através do GenBank, mostraram que o gênero *Raphidascaroides* é formado por uma assemblagem monofilética entre os nematoides da família Anisakidae, pois todas as espécies deste gênero agruparam-se juntas formando um clado com alto suporte (Fig. 5). *Hysterothylacium pelagicum* Deardorff & Overstreet, 1982 parasito de *Coryphaena hippurus* (Linnaeus, 1758) (Coryphaenidae) foi grupo irmão de *Raphidascaroides* com baixo suporte (Fig. 5).

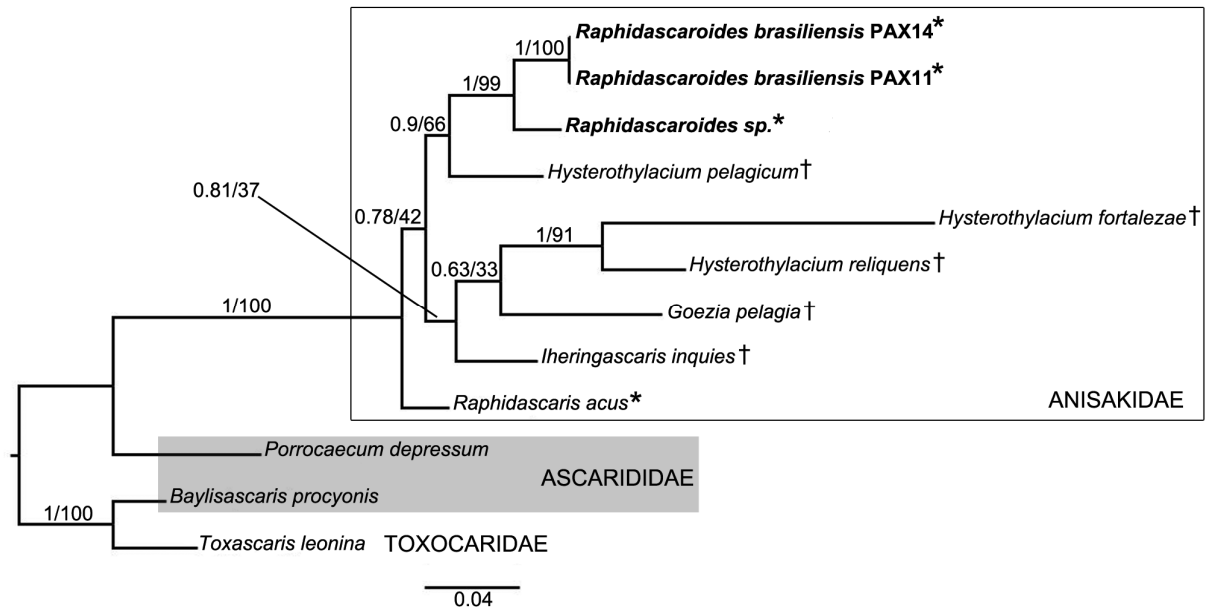


Figura 5. Árvore gerada a partir do modelo PHYML das análises filogenéticas das sequências concatenadas dos genes 18S e 28S rDNA, de nematoides ascaridídeos (famílias Anisakidae, Ascarididae e Toxocaridae). O primeiro número representa o suporte dos ramos pela probabilidade posterior Bayesiana (para 2×10^6 gerações; “bur-in” = 1×10^3); o segundo número é referente aos valores de bootstrap gerados a partir da máxima parcimônia (MP) (para 100 replicações). *Símbolos:* * parasitos de peixes de água doce; † parasitos de peixes marinhos.

2.4 DISCUSSÃO

Yamaguti (1941) propôs o gênero *Raphidascaroides* para alocar a espécie *R. nipponensis*, espécie tipo, e também a subespécie *R. nipponensis lophii* Yamaguti, 1941 (= *R. nipponensis* de acordo com Moravec & Nagasawa (2000)). Moravec & Nagasawa (2000) redescreveram *R. nipponensis* e emendaram a diagnose de *Raphidascaroides* com base em estudos de microscopia óptica e MEV dos espécimes tipo e material coletado pelo autores. Com base nesses estudos, Moravec & Nagasawa (2000) descobriram que os dentículos, supostamente presentes nos lábios de *Raphidascaroides* spp., característica a qual era diagnóstica para este gênero, estavam de fato ausentes, e assim os autores emendaram a diagnose genérica para ausência destes dentículos, ao invés da presença dos mesmos.

No presente estudo, a nova espécie de *Raphidascaroides* é descrita como sendo a terceira registrada em peixes de água doce. Similar a *R. brasiliensis*, a qual é a única espécie do conhecida no gênero que ocorre na Região Neotropical, a nova espécies também ocorre em um peixe doradídeo. Os outros doradídeos examinados no presente trabalho, i.e., *Megalodoras uranoscopus* e *Platydoras costatus*, representam novos registros como hospedeiros definitivos para *R. brasiliensis*, a qual tem sido registrada somente na bacia do Rio Amazonas no Brasil. Em contrapartida *Raphidascaroides* sp., foi encontrada no rio Miranda, o qual é tributário do rio Paraguai, pertencendo assim a bacia do rio Paraná.

Petter (1995) registrou uma fêmea juvenil e uma larva de quarto estágio de *Raphidascaroides* em *P. costatus* no Paraguai. Moravec & Thatcher (1997) levantaram a hipótese de que estes espécimes imaturos pudessem representar *R. brasiliensis*, porém os dados aqui apresentados sugerem que também é plausível que estes espécimes possam pertencer a nova espécie aqui descrita, *Raphidascaroides* sp. Todavia, para que este fato seja confirmado, estudos parasitológicos precisam ser realizados com o objetivo de se encontrar as formas imaturas deste parasito em *P. costatus*.

Raphidascaroides brasiliensis foi encontrado em duas espécies diferentes de hospedeiros, i.e., *M. uranoscopus* e *P. costatus*, e os nematoides de ambos os hospedeiros foram praticamente idênticos morfológicamente. Além disso, este primeiro estudo molecular de *Raphidascaroides* aqui realizado confirmou a co-especificidade dos parasitos provenientes de ambas as espécies de hospedeiro.

As análises moleculares também deram suporte a proposição de *Raphidascaroides* sp., a qual se difere claramente de *R. brasiliensis* também com base na comparação entre as sequências concatenadas dos genes 18S e 28S do rDNA.

Com base nas análises filogenéticas, o gênero *Raphidascaroides* está agrupado em um clado formado apenas por nematoides da família Anisakidae, o que está de acordo com a classificação tradicional baseada em análises morfológicas (*sensu* MORAVEC, 1998; ANDERSON et al., 2009). Todavia, as relações filogenéticas entre *Raphidascaroides* e outros anisakídeos ainda permanece não resolvida, devido a escassez de dados moleculares para outros representantes de outros gêneros de Anisakidae. A presente análise, também levantou a possibilidade do gênero *Hysterothylacium* Ward & Magath, 1917 ser parafilético, pois *H. pelagicum* parasito do peixe marinho *Coryphaena hippurus* (Coryphaenidae) no Oceano Pacífico foi uma linhagem irmã do clado formado pelas espécies de *Raphidascaroides*, enquanto que as outras duas espécies de *Hysterothylacium* parasitas em peixes marinhos agruparam-se com espécies dos gêneros *Goezia* Zeder, 1800 e *Iheringascaris* Pereira, 1935. Todavia, o suporte para estes clado individuais na árvore filogenética foi fraco, indicando que são necessários mais dados e estudos considerando as diferentes espécies de nematoides anisakídeos, e seus genes a fim de se clarificar essas relações.

2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, R. C.; CHABAUD, A. G.; WILLMOTT, S. **Keys to the nematode parasites of vertebrates: archival volume.** CABI Publishing, Wallingford, Reino Unido. 2009. 480p.
- ASTRIN, J. J.; ZHOU, X.; MISOF, B. The importance of biobanking in molecular taxonomy, with proposed definition for vouchers in a molecular context. **Zookeys**, v. 365, p. 76–70, 2013.
- BILQEES, F. M.; SHAUKAT, N.; NAVQI, S. M. H. M.; MEDI, R. *Raphidascaroides elongatus* sp. n. (Nematoda: Anisakidae) from the fish *Pellona elongata* Bennet of Korangi Creek, Karachi, Pakistan. **International Journal of Biology and Biotechnology**, v. 2, p. 811–813, 2005.
- BRUCE, N. L. *Hysterothylacium* Ward and Magath, 1917, and *Ichthyascaris* Wu, 1949, ascaridoid nematodes from Australian demersal fishes. **Memories of the Queensland Museum**, v. 28, p. 389–426, 1990.
- ČERNOTÍKOVÁ, E., HORÁK, A.; MORAVEC, F. Phylogenetic relationships of some spirurine nematodes (Nematoda: Chromadorea: Rhabditida: Spirurina) parasitic in fishes inferred from SSU rRNA gene sequences. **Folia Parasitologica**, v. 58, p. 135–148, 2011.
- DARRIBA, D., TABOADA, G. L., DOALLO, R.; POSADA, D. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. **Nature Methods**, v. 9, p. 772, 2012.
- FROESE, R.; PAULY, D. (Eds.) FishBase. **World Wide Web electronic publication.** Disponível em: <www.fishbase.org>, version 05/2014. Acesso em: janeiro de 2015.
- GUINDON, S.; GASCUEL, O. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. **Systematic Biology**, v. 52, p. 696–704, 2003.
- HOPPER, J. A. N. Parasite of estuarine and oceanic flathead fishes (family Platycephalidae) from northern New South Wales. **Australian Journal of Zoology Supplementary Series**, v. 90, p. 1–69, 1983.
- HUELSENBECK, J. P.; RONQUIST, F. MrBayes: Bayesian inference of phylogenetic trees. **Bioinformatics**, v. 17, p. 754–755, 2001.
- KATOH, K.; MISAWA, K.; KUMA, K.; MYIATA, T. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. **Nucleic Acids Research**, v. 30, p. 3059–3066, 2002.
- KHALIL, L. F. On a new nematode, *Raphidascaroides bishaii* sp. nov. from a freshwater fish, *Gymnarchus niloticus*, in the Sudan. **Journal of Helminthology**, v. 35, p. 263–268, 1961.
- KHALIL, L. F.; OYETAYO, A. S. *Raphidascaroides africanus* sp. nov. (Nematoda: Anisakidae) from the fish *Bostrychus africanus* in Nigeria and a key to the species of the genus *Raphidascaroides* Yamaguti, 1941. **Journal of African Zoology**, v. 102, p. 85–91, 1988.

- MORAVEC, F. **Nematodes of the freshwater fishes of the Neotropical region**. Academia, Pragua, República Tcheca. 1998. 464 p.
- MORAVEC, F.; NAGASAWA, K. Some anisakid nematodes from marine fishes of Japan and the North Pacific Ocean. **Journal of Natural History**, v. 34, p. 1555–1574, 2000.
- MORAVEC, F.; THATCHER, V. E. *Raphidascaroides brasiliensis* n. sp. (Nematoda: Anisakidae), an intestinal parasite of the thorny catfish *Pterodoras granulosus* from Amazonia, Brazil. **Systematic Parasitology**, v. 38, p. 65–71, 1997.
- NADLER, S. A.; HUDSPETH, D. S. Ribosomal DNA and the phylogeny of the Ascaridoidea (Nematoda: Secernentea): implications for morphological evolution and classification. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 10, p. 221–236, 1998.
- NADLER, S. A.; D'AMELIO S.; DAILEY, M. D.; PAGGI, L.; SIU, S.; SAKANARI, J. A. Molecular phylogenetics and diagnosis of *Anisakis*, *Pseudoterranova*, and *Contracaecum* from Northern Pacific mammals. **Journal of Parasitology**, v. 91, p. 1413–1429, 2005.
- NUNN, G. B. **Nematode molecular evolution**. Tese de Doutorado. Universidade de Nottingham, Nottingham, Reino Unido. 1992. 187 p.
- PETTER, A. J. Nematodes de poissons du Paraguay. VIII. Habronematoidea, Dracunculoidea et Ascaridoidea. *Revue Suisse de Zoologie*, v. 102, p. 89–102, 1995.
- RAJYALAKSHMI, I. *Raphidascaroides indicus* n. sp. (Nematoda: Heterocheilidae) from the stomach of shark *Chiloscyllium indicum* (Gmelin) of Visakhapatnam. **Rivista de Parassitologia**, v. 11, p. 179–185, 1994.
- RAJYALAKSHMI, I. *Raphidascaroides bengali* n. sp. Nematoda: Heterocheilidae from marine eel fish, *Uroconger lepturus* Richardson. **Rivista de Parassitologia**, v. 123, p. 467–473, 1995.
- SMYTHE, A. B.; SANDERSON, M. J.; NADLER, S. A. Nematode small subunit phylogeny correlates with alignment parameters. **Systematic Biology**, v. 55, p. 972–992, 2006.
- WERLE, E.; SCHNEIDER, C.; RENNER, M.; VÖLKER, M.; FIEHN, W. Convenient single-step, one tube purification of PCR products for direct sequencing. **Nucleic Acids Research**, v. 22, p. 4354–4355, 1994.
- YAMAGUTI, S. Studies on the helminth fauna of Japan. Part 33. Nematodes of fishes, II. **Japanese Journal of Zoology**, v. 9, p. 343–396, 1941.
- YAMAGUTI, S. Studies on the helminth fauna of Japan. Part 57. Nematodes of fishes, III. **Journal of Helminthology**, R. T. Leiper Supplement, p. 217–228, 1961.

CAPÍTULO II -

UMA NOVA ESPÉCIE DE *Cucullanus* MÜLLER, 1777 (SEURATOIDEA: CUCULLANIDAE)¹ INCLUINDO NOVOS DADOS MORFOLÓGICOS DE *C. bagre* PETTER, 1974² PARASITOS EM PEIXES MARINHOS (ARIIDAE E BALISTIDAE) DO LITORAL DO RIO DE JANEIRO, BRASIL.

¹Artigo publicado: PEREIRA, F. B.; VIEIRA, F. M.; LUQUE, J. L. A new species of *Cucullanus* Müller, 1777 (Nematoda: Cucullanidae) parasitic in the grey triggerfish *Balistes capriscus* Gmelin (Osteichthyes: Balistidae) off Rio de Janeiro, Brazil. **Systematic Parasitology**, v. 87, 283–291, 2014. doi: 10.1007/s11230-014-9470-y

²Artigo publicado: PEREIRA, F. B.; VIEIRA, F. M.; LUQUE, J. L. New morphological data and first description of gravid female of *Cucullanus bagre* Petter, 1974 (Seuratoidea: Cucullanidae) from *Bagre bagre* (Linnaeus, 1766) (Siluriformes: Ariidae) off Brazil. **Acta Parasitologica**, v. 60, p. 138–145, 2015. doi: 10.1515/ap-2015-0019

RESUMO

Duas espécies de nematóides cucullanídeos (Nematoda: Cucullanidae) parasitos no intestino de três espécies de peixes marinhos do litoral do Rio de Janeiro, Brasil, foram estudadas morfológicamente, com base em microscopia de luz e eletrônica de varredura (MEV). A nova espécie, *Cucullanus* sp., encontrada em *Balistes carpiscus* Gmelin, 1789 (Tetraodontiformes: Balistidae) e *B. vetula* Linnaeus, 1758, difere-se de suas congêneras devido ao pequeno comprimento corporal, a forma do gubernáculo, o tamanho e morfologia peculiares da cauda de ambos machos e fêmeas, o arranjo das papilas caudais, a base estreita do esôfago e por possuir ovos com casca rugosa. Além disso, a combinação de algumas características como número de papilas caudais, comprimento do espículo, a razão esôfago/comprimento do corpo, bem como a família e distribuição geográfica do hospedeiro, facilmente separa a nova espécie dos outros cucullanídeos. Considerando essas mesmas características, *Cucullanus* sp. difere de todas as espécies do gênero *Dichelyne* Törnquist, 1931, o qual apresenta grande proximidade morfológica com *Cucullanus* Müller, 1777. *Cucullanus bagre* Petter, 1974 é redescrita com base na re-avaliação do material tipo e espécimes recém coletado em *Bagre bagre* Linnaeus, 1766 (Siluriformes: Ariidae). Uma análise morfológica detalhada revelou a presença de uma papila ímpar ligeiramente anterior ao lábio cloacal, a qual não foi observada na descrição original. As descrições da fêmea adulta e dos ovos são fornecidas pela primeira vez, sendo que estes espécimes grávidos apresentam uma morfometria bastante similar àquela dos juvenis. Adicionalmente, são apresentadas aqui ilustrações e descrição detalhadas das placas esclerotizadas presentes no esofástoma de *C. bagre*. Importantes características para diagnose de *C. bagre* são as seguintes: poro excretor com parede espessa localizado bastante posterior ao final do esôfago, protruções conspícuas na região anal e cloacal, número e arranjo das papilas caudais nos machos. Todos os espécimes tipo de *C. bagre* encontravam-se juntos em um único frasco, fato que tornou impossível a diferenciação de holótipo, alótipo e parátipos. Sendo assim, de acordo com o Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (ICZN) eles devem ser considerados como sintipos de agora em diante. Considerando o ciclo de vida dos nematóides cucullanídeos, evidências disponíveis sugerem que algumas espécies são primariamente heteroxenas utilizando invertebrados (i.e. crustáceos, poliquetas e moluscos) como hospedeiros intermediários, porém em outras espécies de parasitos, uma fase histotrófica no hospedeiro definitivo substituiu o hospedeiro intermediário. Este é o primeiro registro de *C. bagre* parasitando um peixe marinho em águas brasileiras, fato que expande a distribuição geográfica desta espécie para o Atlântico Sul.

Palavras-chave: Nematóides parasitos, Taxonomia, Ambiente marinho.

ABSTRACT

Two species of cucullanid nematodes (Nematoda: Cucullanidae) parasitic in the intestine of three species of marine fish from Rio de Janeiro, Brazil, were morphologically studied, on the basis of light and scanning electron microscopy (SEM). The new species *Cucullanus* sp., found in *Balistes capriscus* Gmelin, 1789 (Tetraodontiformes: Balistidae) e *B. vetula* Linnaeus, 1758, can be differentiated from its congeners based on the small body length, the shape of the gubernaculum, the particular size and morphology of the tail in both males and females, the arrangement of the caudal papillae, the narrow oesophageal base, and the eggs with rugged shells. In addition, the combination of some features, i.e. number of caudal papillae, spicule length, oesophagus/body length ratio, host family and geographical distribution, can help to easily distinguish the new species from other cucullanids. Considering these features, *Cucullanus* sp. differs from the species assigned to *Dichelyne* Törnquist, 1931 which exhibit morphological proximity with *Cucullanus* Müller, 1777. *Cucullanus bagre* Petter, 1974 is redescribed based on the reevaluation of type specimens and the examination of newly collected material from *Bagre bagre* Linnaeus, 1766 (Siluriformes: Ariidae). Detailed morphological analysis revealed the presence unpaired papilla just anterior to the cloacal protrusion in male, which was overlooked in the original description. Descriptions of the adult female and eggs are provided for the first time; these gravid specimens have the general morphometry quite similar to that of juveniles. Additionally, detailed description and illustration of sclerotized plates present on the oesophastome is provided. The far posterior location of the excretory pore with thick-walled excretory duct, the conspicuous protrusions present on both anal and cloacal regions and the number and arrangement of caudal papillae in males are considered to be important diagnostic features for *C. bagre*. All the specimens from type material were together in one vial and not separated in two vials as stated in the original description, making it impossible to determine which is the holotype, allotype or paratypes. Thus, they should be now designated as syntypes according to the International Code of Zoological Nomenclature. Regarding the lifecycle of cucullanid nematodes, available evidence suggests that some species are primarily heteroxenous using invertebrates (i.e. crustaceans, polychaetes) as intermediate hosts, but in other a histotrophic phase in the definitive host replaces the intermediate host. This is the first report of *C. bagre* in Brazil, which expands its geographical distribution to South Atlantic waters.

Key-words: Parasitic nematodes, Taxonomy, Marine environment.

3.1 INTRODUÇÃO

Espécies da família Cucullanidae Cobbold, 1864 estão amplamente distribuídas no mundo, sendo representadas por parasitos intestinais de peixes em ambientes dulcícolas, marinhos e salobros; raramente, também parasitam tartarugas aquáticas (PATTER, 1974a; CHABAUD, 1978; LÓPEZ-CABALLERO et al., 2009; YOOYEN et al., 2011). O gênero *Cucullanus* Müller, 1777 inclui mais de 100 espécies, as quais geralmente apresentam variabilidade morfológica intra-específica, além de muitas permanecerem pouco conhecidas e descritas de forma inadequada (YOOYEN et al., 2011). Sendo assim, é importante expandirmos o conhecimento deste grupo de nematoides através de descrições adequadas, tanto quando um novo táxon é descoberto, quanto na reavaliação detalhada de espécies descritas ainda de forma insuficiente.

Existem atualmente 30 espécies de *Cucullanus* registradas em peixes da Região Neotropical (LÓPEZ-CABALLERO et al., 2009; GIESE et al., 2010; MEJÍA-MADRID; GUILLÉN-HERNANDEZ, 2011; LACERDA et al., 2013). Deste total, 10 espécies são registradas na costa Sul Americana do Atlântico: *C. bagre* Petter, 1974, *C. bonaerensis* Lanfranchi, Timi & Sardella, 2004, *C. marplatensis* Daniel, Timi & Sardella, 2002 e *C. pedroi* Timi & Lanfranchi, 2006 na Argentina; *Cucullanus* sp. (presente estudo), *C. carioca* Vicente & Fernandes, 1973, *C. cirratus* Müller, 1777, *C. dodsworthi* Barreto, 1922, *C. pulcherrimus* Barreto, 1918 e *C. rougetae* Vicente & Santos, 1974 no Brasil (LOPEZ-CABALLERO, et al. 2009; MEJIA-MADRID; AGUIRRE-MACEDO, 2011; PEREIRA, et al. 2014).

Durante análises parasitológicas realizadas entre Abril de 2001 e Julho de 2009, em peixes marinhos do litoral do Rio de Janeiro diversos nematoides cucullanídeos foram encontrados no intestino de três espécies diferentes de peixes. Uma nova espécie, *Cucullanus* sp., é descrita parasitando o intestino de *Balistes caprisucus* Gmelin, 1789 (Tetraodontiformes: Balistidae) e *B. vetula* Linnaeus, 1758, enquanto que a espécie conhecida, *C. bagre* é redescrita parasitando *Bagre brage* (Linnaeus, 1766) (Siluriformes: Ariidae) e também com base na análise de seu material tipo. Ambas as espécies de parasitos foram estudadas morfológicamente utilizando-se microscopia óptica e eletrônica de varredura (MEV).

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Coleta dos hospedeiros e parasitos

Os peixes foram coletados através da pesca comercial por redes e obtidos frescos dos pescadores locais da Baía de Angra dos Reis, estado do Rio de Janeiro, Brasil. Os hospedeiros então foram acondicionados em caixa térmica com gelo e levados para o Laboratório de Parasitologia de Peixes da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, onde foram imediatamente analisados para presença de parasitos. Foram estudados sessenta e seis espécimes de *B. capriscus* (comprimento do corpo 21–42, média 29 ± 7 cm), 30 de *B. vetula* (35–61, 44 ± 7 cm) e 3 de *B. bagre* (33–37, 35 ± 1 cm). Os hospedeiros foram identificados segundo Figueiredo & Menezes (1978, 2000), a nomenclatura e classificação taxonômica foram atualizadas segundo Froese & Pauly (2014). O trato digestório dos peixes foi retirado e os seguintes órgãos individualizados em placas de petri para análise: esôfago, estômago e intestino. Os nematoides encontrados foram lavados em solução fisiológica (NaCl a 0,9% com H₂O destilada), fixados em solução de formol a 4% frio e acondicionados em etanol 70°GL.

3.2.2 Análise morfológica dos parasitos

Para as análises morfológicas os parasitos foram clarificados em glicerina montados entre lâmina e lamínula, e observados sob microscópio de luz Olympus BX51. As ilustrações foram feitas utilizando um tubo de desenho acoplado ao microscópio óptico. As medidas apresentadas estão em micrometros (μm), a não ser quando indicado de outra forma. Alguns espécimes utilizados para microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram desidratados em uma série crescente de concentrações de etanóis, secos por evaporação em hexametil disilazano (HDMS), metalizados com ouro e examinados no microscópio eletrônico JEOL JSM-740 1F, operando a 4 kV. O material tipo de *C. bagre* depositado na Coleção Helmintológica do Museu Nacional de História Natural de Paris (MNHN) (N° de acesso 345 BA e 302 BA) foi re-examinado. Espécimes estudados no presente trabalho foram depositados na Coleção Helmintológica do Instituto de Parasitologia, do Centro de Biologia da Academia de Ciências da República Tcheca, České Budějovice (IPCAS), na Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC) e no MNHN. A classificação sistemática dos parasitos está de acordo com Anderson et al. (2009). O sistema adotado na descrição de papilas caudais do macho está de acordo com Moravec & Justine (2011) e Yooyen et al. (2011) e na descrição das placas esclerotizadas do esofástoma de acordo com Berland (1970).

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Descrição de *Cucullanus* sp. (Figuras 1 e 2) Família Cucullanidae Cobbold, 1864

Descrição geral: Nematóides pequenos, esbranquiçados. Corpo alongado, cutícula com estrias suaves (Fig. 2E). Asa lateral ausente. Extremidade cefálica levemente assimétrica em vista lateral (Fig. 1B, C). Abertura oral alongada dorso-ventralmente, perpendicular ao eixo do corpo, delimitada por um colarete membranoso proeminente, com um arco de pequenos e estreitos dentes basais, *c.* 98 em número (Figs. 1D, 2A-C). Quatro papilas cefálicas submedianas e um par de anfídios laterais conspícuos (Figs. 1D, 2A, B). Esôfago muscular expandido na extremidade anterior formando uma pseudo-cápsula bucal bem desenvolvida (esofástoma), com 2 pequenas placas reniformes esclerotizadas, com forma de taça em vista lateral (Fig. 1B, C); parte posterior do esôfago bem mais estreita que a largura do esofástoma (Fig. 1A, B). O esôfago se abre no intestino através de uma válvula não esclerotizada bem desenvolvida. Anel nervoso circundando o esôfago a uma distância representando 44–53% do seu comprimento total (Fig. 1A-C). Deirídios pequenos e digitiformes (Figs. 1E, 2F), assimetricamente posicionados e anteriores ao poro excretor (Figs. 1A, B, 2E). Pós-deirídios pós-equatoriais em ambos os sexos, sendo o esquerdo posterior ao direito nos machos e o direito não observado nas fêmeas (Figs. 1I, 2H). Poro excretor levemente variável em posição, podendo ser ligeiramente posterior ou anterior ao nível da junção esôfago-intestino, porém nunca anterior aos deirídios (Fig. 1B). Região anal e cloacal portraídas (Figs. 1H, I, K, 2D, G). Cauda cônica com uma ponta afilada bem pronunciada (Figs. 1H-K, 2D, G).

Descrição dos machos (baseada em 8 espécimes coletados em B. vetula, medidas do holótipo entre parênteses): Comprimento do corpo 2,5–3,6 (3,2) mm, largura máxima 167–243 (231). Esôfago medindo 471–591 (500) comprimento, 58–82 (80) largura na dilatação da base, representando 16–20 (19)% do comprimento total do corpo. Esofástoma medindo 147–177 (162) comprimento, 55–79 (75) largura. Anel nervoso a 215–262 (242) da extremidade anterior (representando 44–53 [45]% do comprimento total do esôfago). Deirídios e poro excretor a 394–459 (430) e 436–567 (520) da extremidade anterior, respectivamente. Pós-deirídio direito e esquerdo distando 1,0–1,3 (1,0) mm e 710–868 (810) da extremidade posterior, respectivamente. Região posterior do corpo curvada ventralmente (Fig. 1I). Região cloacal com uma protrusão evidente; lábio cloacal anterior a abertura da mesma, arredondado, com uma membrana recobrando sua margem que termina em ponta fina (Figs. 1H, I, 2G), melhor observado em vista lateral. Espículos iguais medindo 669–853 (733) de comprimento, representando 23–28 (27)% do comprimento corporal, envolvidos por uma bainha lisa e delgada, terminando em ponta fina (Fig. 1G, H). Gubernáculo bem esclerotizado medindo 80–87 (85) de comprimento, em forma de bastão com uma pequena ornamentação na parte inflada distal (Fig. 1F). Ventosa ventral bem desenvolvida, localizada entre o primeiro e segundo par de papilas caudais (Fig. 1I), distando 532–803 (790) da extremidade posterior. Seis pares de papilas pré-cloacais distribuídos da seguinte forma: 4 pares subventrais (sendo o primeiro par anterior a ventosa ventral e próximo ao pós-deirídio esquerdo; segundo, terceiro e quarto pares posteriores à ventosa e dispostos de forma equidistante); quinto par de papilas grande e lateral, sexto par pequeno e subventral (Fig. 1H-J). Papilas adcloacais: 1 pequeno par subventral terminando em ponta fina (Figs. 1H-J, 2G). Papilas pós-cloacais: 1 par subventral seguido por um pequeno par ventral e 1 par grande, subdorsal próximo ao final da cauda (Figs. 1H-J, 2G). Fasmídeos do tipo papila, localizados entre o primeiro e segundo pares de papilas pós-cloacais (Figs. 1H, I, 2G). Volta testicular anterior localizada ao nível do esôfago (Fig. 1A). Cauda cônica e curta, 80–94 (90) de comprimento, terminando em um pequeno

apêndice robusto e em forma de espinho, dirigido ventralmente medindo 15–19 de comprimento (Fig. 2G).

Descrição das fêmeas (baseada em 13 espécimes coletados em B. vetula, medidas do alótipo entre parênteses): Comprimento do corpo 2,6–4,5 (3,7) mm, largura máxima 157–298 (245). Esôfago medindo 539–650 (580) comprimento, 63–98 (82) de largura na dilatação da base, representando 14–20 (16)% do comprimento total do corpo. Esofástoma medindo 168–204 (183) comprimento, 60–83 (70) largura. Anel nervoso a 256–306 (300) da extremidade anterior (representando 46–52 [48]% do comprimento total do esôfago). Deirídios e poro excretor a 422–506 (455) e 475–639 (581) da extremidade anterior, respectivamente. Pós-deirídios esquerdo distando 1,0–1,5 (1,2) mm da extremidade posterior. Abertura anal com protuberância anterior e posterior (Fig. 2D). Cauda com 76–126 (105) de comprimento, com dois fasmídeos tipo papila, laterais, localizados a aproximadamente a 35 da extremidade posterior em forma de ponta afiada (Figs. 1K, 2D). Vulva pós-equatorial a 1,7–2,8 (1,9) mm da extremidade anterior, representando 63–66 (65)% do comprimento total; lábios vulvares levemente elevados. Vagina muscular direcionada anteriormente à vulva, com uma válvula muscular separando o ovojetor do útero (Fig. 1L). Voltas ovariana e uterina anteriores frequentemente alcançando a nível posterior do esôfago (Fig. 1B). Ovos maduros medindo 52–64 × 34–42, com parede espessa e casca rugosa (Fig. 1M).

Resenha Taxonômica e Ecológica.

Hospedeiro tipo: *Balistes capriscus* Gmelin, 1789 (Tetraodontiformes: Balistidae).

Outros hospedeiros: *Balistes vetula* Linnaeus, 1758 (Tetraodontiformes: Balistidae).

Sítio de infecção: Intestino.

Localidade: Baía de Angra dos Reis (23°00'S, 44°10'W), Rio de Janeiro, Brasil.

Prevalência: 27,3% (18 peixes infectados de 66 *B. capriscus* analisados)

Intensidade de infecção: 3 ± 1 (3–4) nematoides por *B. capriscus* (n = 66) analisado.

Depósito de espécimes: Holótipo, alótipo e 6 parátipos na CHIOC (35896a,b; 35897); 4 parátipos na IPCAS (N-1042).

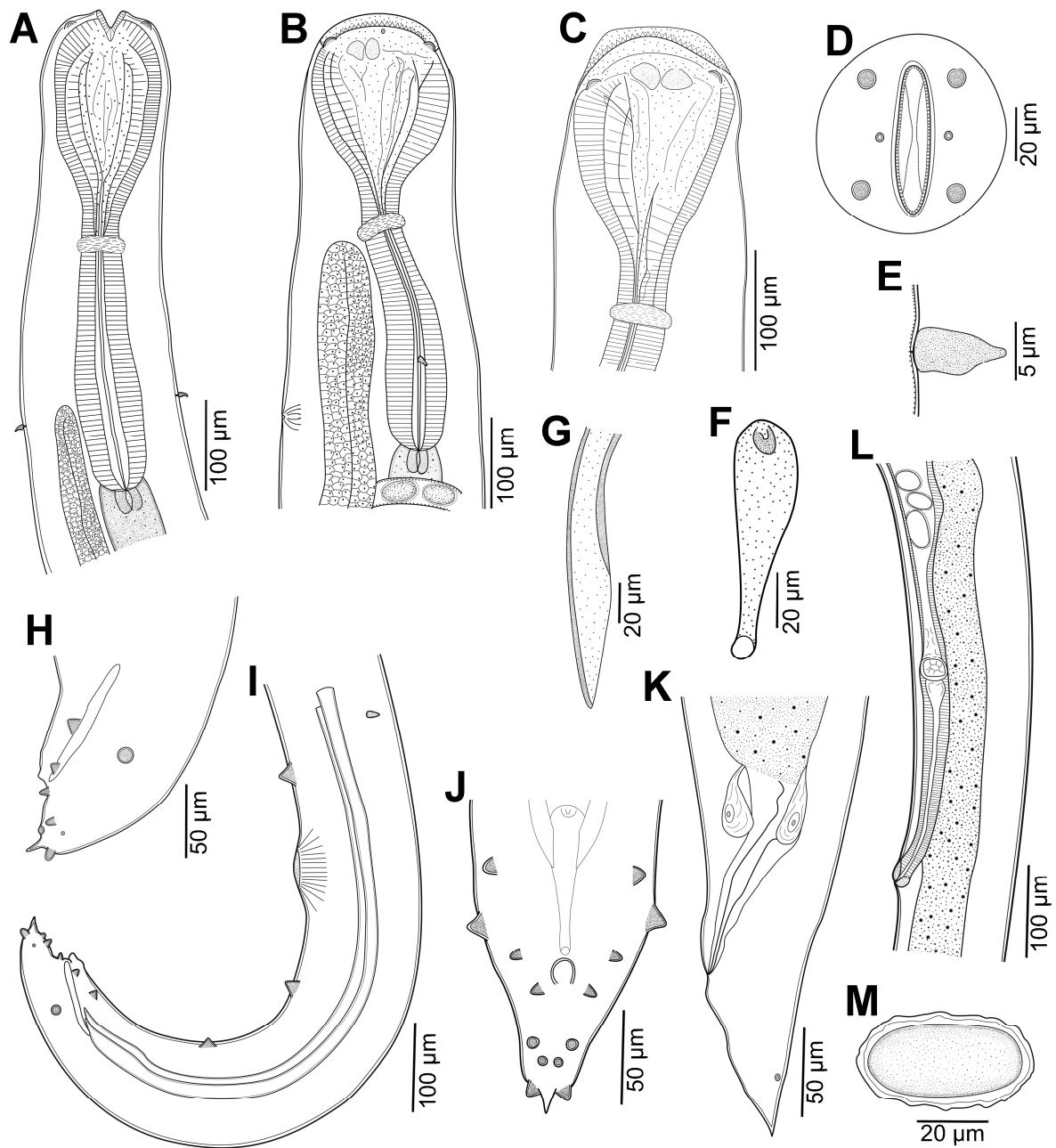


Figura 1. Morfologia de *Cucullanus* sp. parasito em *Balistes capriscus* Gmelin, 1789 do litoral do Rio de Janeiro, Brasil. A. Extremidade anterior do macho, vista dorso-ventral; B, C. Extremidade anterior da fêmea, vista lateral; D. Extremidade cefálica, vista apical; E. Deirídio; F. Gubernáculo, vista ventral; G. Ponta do espículo, vista lateral; H. Extremidade caudal do macho, vista lateral; I. Extremidade posterior do macho, vista lateral; J. Cauda do macho, vista ventral; K. Extremidade posterior da fêmea, vista lateral; L. Região vulvar, vista lateral; M. Ovo.

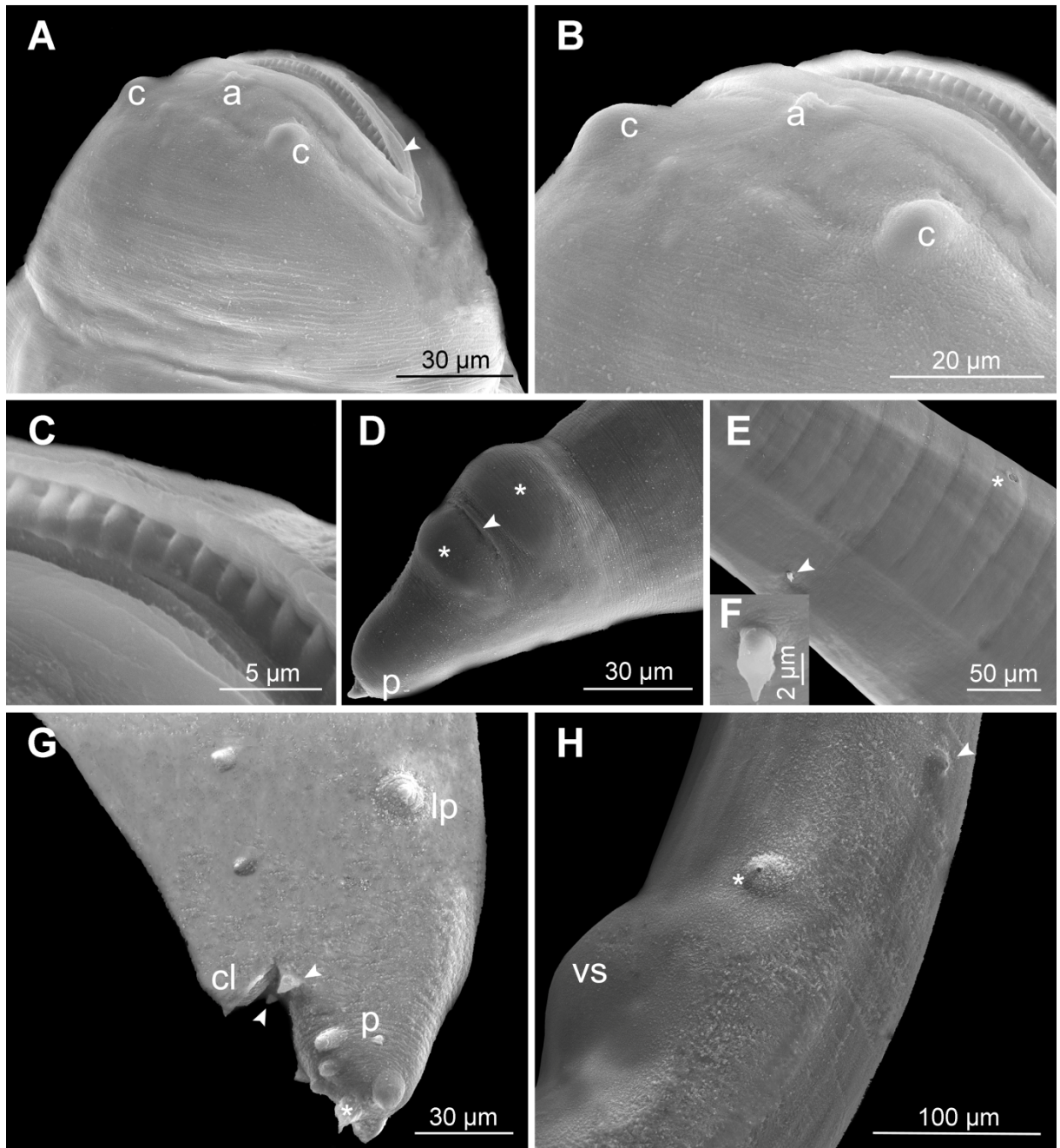


Figura 2. Eletromicrografias de MEV de *Cucullanus* sp. parasito em *Balistes capriscus* Gmelin, 1789 do litoral do Rio de Janeiro, Brasil. A, B. Extremidade cefálica, vista sublateral (cabeça de seta indica colarete); C. Colarete e dentes; D. Extremidade posterior da fêmea (asteriscos indicam protuberâncias anais, cabeça de seta ânus); E. Deirídio e poro excretor (asterisco indica poro excretor, cabeça de seta deirídio); F, Deirídio; G, Extremidade posterior do macho, vista lateral (asterisco indica apêndice caudal, cabeças de seta papilas adcloacais); H. Região da ventosa ventral (asterisco indica primeiro par de papilas pré-cloacais, cabeça de seta pós-deirídio esquerdo). *Abreviações:* a, anfídio; c, papila cefálica; p, fasmídeo; cl; lábio cloacal; lp, grande papila lateral; vs, ventosa ventral.

Comentários: Devido ao grande número de espécies de *Cucullanus*, e parte significativa das descrições inadequada, é usual a comparação interespecífica de acordo com grupos de hospedeiros e distribuição zoogeográfica no globo (PETTER, 1974a; SARDELLA et al., 1997; MORAVEC et al., 1997, 2005, 2008; CASPETA-MANDUJANO et al., 2000; DANIEL et al., 2002; LANFRANCHI et al., 2004; GONZALES-SOLÍS et al., 2007; LÓPEZ-CABALLERO et al., 2009; YOOYEN et al., 2011).

O presente material foi classificado no gênero *Cucullanus* por possuir boca perpendicular ao eixo corpóreo, placas esclerotizadas no esofástoma, ausência de ceco intestinal, extremidade caudal dos adultos cônica e pontiaguda, espículos longos e delgados (PETTER, 1974a; CHABAUD, 1978; MORAVEC, 1998).

As características específicas da nova espécie, que a difere de todas as congêneras são as seguintes: a base do esôfago bem mais estreita que a largura do esofástoma, cauda curta e robusta nos machos, o arranjo peculiar das papilas caudais, protuberâncias bastante conspícuas na região anal da fêmea, a qual apresenta também cauda curta, a forma de bastão do gubernáculo e ovos com casca rugosa.

Cucullanus sp. difere das cinco espécies registradas em águas brasileiras *C. carioca*, *C. cirratus*, *C. dodsworthi*, *C. pulcherrimus* e *C. rougetae* por possuir a região cloacal protraída com lábio, bem como uma cauda evidentemente menor nos machos (80–94 vs. 140 de menor comprimento). Além disso, *C. cirratus*, *C. dodsworthi* e *C. pulcherrimus* são muito maiores que a nova espécie (machos com ao menos 6,6 vs. 2,5–3,6 mm de comprimento; fêmeas com ao menos 10,4 vs. 2,6–4,5 mm), e apresentam todas as outras medidas diferentes. *Cucullanus carioca* e *C. rougetae* possuem o gubernáculo menor que *Cucullanus* sp. (60 vs. 80–87) (BARRETO, 1922; VICENTE; SANTOS, 1974; PINTO et al., 1992; MEJÍA-MADRID; AGUIRRE-MACEDO, 2011).

Cucullanus sp. se difere das outras espécies registradas na Região Neotropical (incluindo ambiente marinho e dulcícola) denominadas *C. ageneiosus* Giese, Furtado, Lanfredi & Santos, 2010, *C. angeli* Cabañas-Carranza & caspeta-Mandujano, 2007, *C. bagre* Petter, 1974, *C. brevispiculus* Moravec, Khon & Fernandes, 1993, *C. caballeroi* Petter, 1977, *C. costaricensis* López-Caballero, Osorio-Sarabia & Garcia-Pietro, 2009, *C. heliomartinsi* Moreira, Rocha & Costa, 2000, *C. pimellodelae* Moravec, Kohn & Fernandes, 1993 e *C. pseudoplatystomae* Moravec, Kohn & Fernandes, 1993 por possuir espículos maiores (669–853 vs. 560 de comprimento máximo) (PETTER, 1974b, 1977; MORAVEC et al., 1993; MOREIRA et al., 2000; CABAÑAS-CARRANZA; CASPETA-MANDUJANO, 2007; LÓPEZ-CABALLERO et al., 2009; GIESE et al., 2010). *Cucullanus colossomi* Díaz-Ungría, 1968, *C. genypteri* Sardella, Navone & Timi, 1997, *C. marplatensis* Daniel, Timi & Sardella, 2002, *C. oswaldocruzi* Santos, Vicente & Jardim, 1979, *C. pauliceae* Vaz & Pereira, 1934 e *C. pedroi* Timmi & Lanfranchi, 2006 apresentam machos com espículos maiores (ao menos 910 de comprimento), esôfago maior (ao menos 910 vs. 471–591 de comprimento) e com razão esôfago / comprimento do corpo também maior (15,7–20,3 vs. 13,2 no máximo) que na nova espécie (VAZ; PEREIRA, 1974; SANTOS et al., 1979; SARDELLA et al., 1997; MORAVEC, 1998; DANIEL et al., 2002; TIMI; LANFRANCHI, 2006; LÓPEZ-CABALLERO et al., 2009).

A espécie recentemente descrita *C. tucunarensis* Lacerda, Takemoto, Marchiori, Martins & Pavanelli, 2013 parasito em *Cichla piquiti* Kullander & Ferreira, 2006 (Perciformes: Cichlidae) do rio Tocantins, Brasil, possui machos sem ventosa ventral e espículos mais longos (960 – 1.280), e com um característico apêndice coberto por pequenos espinhos na ponta da cauda em ambos os sexos (LACERDA et al., 2013).

As espécies que apresentam o comprimento do espículo com valores próximos ao de *Cucullanus* sp., denominadas *C. bonaerensis* Lanfranchi, Timi & Sardella, 2004, *C. grandistomis* Ferraz & Thatcher, 1988, *C. mogi* Travassos, 1948, *C. pargi* González-Solís,

Tuz-Paredes & Quintal Loria, 2007 e *C. trachinoti* Petter & Sey, 1997, apresentam machos com diferente número e arranjo de papilas caudais da nova espécie (todos com mais de 10 pares de papilas caudais) (FERRAZ; THATCHER, 1988; MORAVEC, 1998; LANFRANCHI et al., 2004; GONZÁLEZ-SOLÍS et al., 2007; LÓPEZ-CABALLERO et al., 2009). As duas espécies parasitas em peixes dulcícolas do Brasil, *C. pinnai* Travassos, Artigas & Pereira, 1928 em *Synodontis claria* (Linnaeus, 1758) (Siluriformes: Mochokidae) e *C. zungaro* Vaz & Pereira, 1934 em *Zungaro zungaro* (Humboldt, 1821) (Siluroformes: Pimelodidae), diferem de *Cucullanus* sp. por apresentarem região cloacal não protraída, gubernáculo menor (60–70 e 70, respectivamente) e por ocorrerem em ambiente de água doce (MORAVEC, 1998; LÓPEZ-CABALLERO et al., 2009). *Cucullanus mycteropercae* Mejía-Madrid & Guillén-Hernandez, 2011) parasito do peixe marinho *Mycteroperca bonaci* (Poey, 1860) (Perciformes: Serranidae) no México, apresenta um gubernáculo em forma de Y maior (120–150), menor razão esôfago / comprimento corporal (7,4–12,3% nos machos; 7,9–12,7% nas fêmeas) e maior comprimento corporal (machos 7,8–12,1 mm; fêmeas 6,3–13,5 mm) do que *Cucullanus* sp. (MEJÍA-MADRID; GUILLÉN-HERNANDEZ, 2011).

Além de *C. dodsworthi* parasito de *Sphoeroides testudineus* (Linnaeus, 1758) e *Lagocephalus laevigatus* (Linnaeus, 1766) em águas do Atlântico no Brasil, México e África, respectivamente, outras três espécies de *Cucullanus* apresentam registros parasitando peixes tetraodontiformes: *C. bourdini* Petter & Le Bel, 1992 parasito de *Balistapus undulatus* (Park, 1979) (Balistidae) na Austrália, *C. hansonii* Olsen, 1952 parasito de *Sufflamen fraenatum* (Latreille, 1804) (Balistidae) e *C. longipapillatus* Olsen, 1952 de *B. capriscus* (hospedeiro tipo duvidoso) ambos no Havaí (OLSEN, 1952; MORAND; RIGBY, 1998). Todavia, *Cucullanus* sp. é claramente menor que *C. bourdini* (machos 9,7–13,6 mm; fêmeas 10,1–16,4 mm) e *C. longipapillatus* (machos, 11,1–14,1 mm; fêmeas 13,8–16,6 mm), apresenta macho com menor número de papilas caudais (10 pares vs. 10 pares + 1 papila ímpar), deirídios e poro excretor em diferentes posições (OLSEN, 1952; PETTER; LE BEL, 1992; MORAVEC; JUSTINE, 2011). *Cucullanus hansonii* difere-se da nova espécie principalmente em número e arranjo das papilas caudais (11 pares) e por possuir razão esôfago / comprimento do corpo (machos 10,2–12,3%; fêmeas 9,6%) e gubernáculo (22–31) menores (OLSEN, 1952).

Considerando outras espécies de *Cucullanus* registradas em outras regiões zoogeográficas, *C. parvus* Törnquist, 1931 parasito em *Serranus* sp. (Serranidae) do Golfo de Suez (TÖRNQUIST, 1931), assemelha-se à nova espécie no comprimento do corpo e dos espículos. Porém, atualmente sabe-se que *C. parvus* possui um ceco intestinal, o que aloca esta espécie no subgênero *Dichelyne* (*Cucullanellus*) Törnquist, 1931. Além disso, *C. parvus* apresenta apenas nove pares de papilas caudais nos machos (TÖRNQUIST, 1931).

3.3.2 Redescrição de *Cucullanus bagre* Patter, 1974 (Figuras 3, 4, 5)

Família Cucullanidae Cobbold, 1864

Descrição geral: Nematoides longos, filiformes e esbranquiçados. Cutícula levemente estriada transversalmente. Asas laterais ausentes. Abertura oral bem desenvolvida, alongada dorso-ventralmente, perpendicular ao eixo corporal, delimitada por uma asa membranosa proeminente (colarete) e contendo um arco interno de dentículos pequenos e pontiagudos (c. 92) (Figs. 3A, 5A, B, 5A). Extremidade cefálica com 4 papilas cefálicas grandes e sub-laterais, um par de pequenos anfídios conspícuos circulando a abertura oral (Figs. 3A, 4A, B, 5A). Esôfago muscular expandido na região anterior, formando uma pseudo-cápsula bucal (esofástoma), suportado por 3 placas esclerotizadas pareadas e uma pequena placa única (Fig. 3A). Uma pequena placa transversa ventral localizada próxima a abertura oral (Fig. 3A, E). Uma estrutura reniforme longa visível apenas em vista lateral (Fig. 3C, E); 2 placas margeando a estrutura reniforme, estrutura tipo arco superposta a estrutura lateral (Fig. 3D,

E), ambas dorsais em posição e melhor visualizadas em vista dorso-ventral (Fig. 3D). Parte posterior do esôfago expandida (Fig. 3B, C). Anel nervoso circundando o esôfago a uma distância de 32–38% do seu comprimento total (Fig. 3B, C). Pequenos deirídios pontiagudos, localizados assimetricamente anterior à junção esôfago-intestino (Fig. 3B, C). Pós-deirídios não observados. Poro excretor bastante posterior a junção esôfago-intestino, ducto excretor com uma parede caracteristicamente espessa (Fig. 3B, C). Regiões anal e cloacal claramente protraídas (Figs. 3F, M, 4C, D, 5C-E). Cauda cônica com final pontiagudo (Figs. 3F, K, M, 4C, 5C-E).

Descrição dos machos (baseada em 6 espécimes adultos): Comprimento do corpo 11,3–19,0 mm, largura máxima 200–270. Esôfago medindo 1,2–1,4 mm comprimento, 150–200 largura na dilatação da base, representando 7,3–11,1% do comprimento total do corpo. Esofástoma medindo 140–175 comprimento, 70–87 largura. Anel nervoso a 400–450 da extremidade anterior (representando 32–34% do comprimento total do esôfago). Deirídios e poro excretor a 0,826–1,1 e 1,6–1,8 mm da extremidade anterior, respectivamente. Região posterior do corpo curvada ventralmente (Fig. 3F). Espículos iguais com 360–429 de comprimento, sem bainha, bem esclerotizados, com uma pequena dilatação na base proximal, terminando em uma ponta fina (Fig. 3I); representando 2,1–3,5% do comprimento corporal. Gubernáculo em forma de Y em vista ventral, bem esclerotizado (Fig. 1K), com 172–182 de comprimento. Ventosa ventral bem desenvolvida, localizada entre o primeiro e segundo pares de papilas caudais (Figs. 3F, 5B), distando 1,0–1,5 mm da extremidade posterior. Três pares de papilas pré-cloacais: primeiro par anterior à ventosa ventral, segundo e terceiro pares posteriores a mesma, e equidistantes entre si (Fig. 3F). Uma pequena papila ímpar, médio-ventral imediatamente posterior a abertura cloacal (Figs. 3F, K, M, 5C–E, 6A, B). Quatro pares de papilas adcloacais: três subventrais e um lateral (Figs. 3F, K, M, 5D, E). Três pares de papilas pós-cloacais: primeiro par lateral próximo à abertura cloacal, segundo e terceiro subventrais no segundo terço da cauda, distribuídos de forma assimétrica (Figs. 3F, K, M, 5C-E). Pequenos fasmídeos tipo papila variáveis em posição, localizados entre o primeiro e segundo pares de papilas pós-cloacais ou entre o segundo e terceiro pares Figs. 3F, K, M, 5C-E). Cauda medindo 345–447 de comprimento (Figs. 3F, K, M, 5C-E).

Descrição das fêmeas (baseada em 13 espécimes grávidos): Comprimento do corpo 13,4–18,6 mm, largura máxima 200–310. Esôfago medindo 1,2–2,0 mm comprimento, 160–250 largura na dilatação da base, representando 7,9–10,7% do comprimento total do corpo. Esofástoma medindo 100–210 comprimento, 56–95 de largura. Anel nervoso a 445–500 da extremidade anterior (representando 30–38% do comprimento total do esôfago). Deirídios e poro excretor a 1,0–1,3 mm e 1,6–1,9 mm da extremidade anterior, respectivamente. Cauda medindo 450–520 de comprimento com um par de pequenos fasmídeos tipo papila, laterais e localizados no comprimento médio da mesma (Figs. 3J, 4C). Abertura anal em forma de fenda, com uma protrusão membranosa anterior e uma posterior esférica (Fig. 4C, D). Vulva pós-equatorial, distando 7,6–11,4 mm da extremidade anterior, representado 60–66% do comprimento corporal, lábios vulvares elevados (Figs. 3G, 4G). Vagina curta, direcionada anteriormente seguida por um ovojetor curto (Fig. 3G). Útero didélfico e anfidélfico. Ovos não embrionados (n = 10), medindo 70–84 × 40–50, com casaca lisa (Fig. 3L).

Resenha Taxonômica e Ecológica.

Hospedeiro tipo e do presente estudo: Bagre bagre (Linnaeus, 1766) (Siluriformes: Ariidae).

Sítio de infecção: Intestino.

Localidade tipo: Cayenne, Guiana Francesa, Atlântico Norte (coordenadas geográficas não disponíveis).

Localidade do presente estudo: Baía de Angra dos Reis (23°00'S, 44°10'W), Rio de Janeiro, Brasil.

Prevalência: 3 peixes infectados / 4 analisados.

Intensidade de infecção: 4 ± 2.3 (1–7) nematoides por peixe infectado.

Depósito de espécimes: 6 vouchers na coleção helmintológica do MNHN (73YT); 5 vouchers na CHIOC (35938) e 2 vouchers na IPCAS (N-1058).

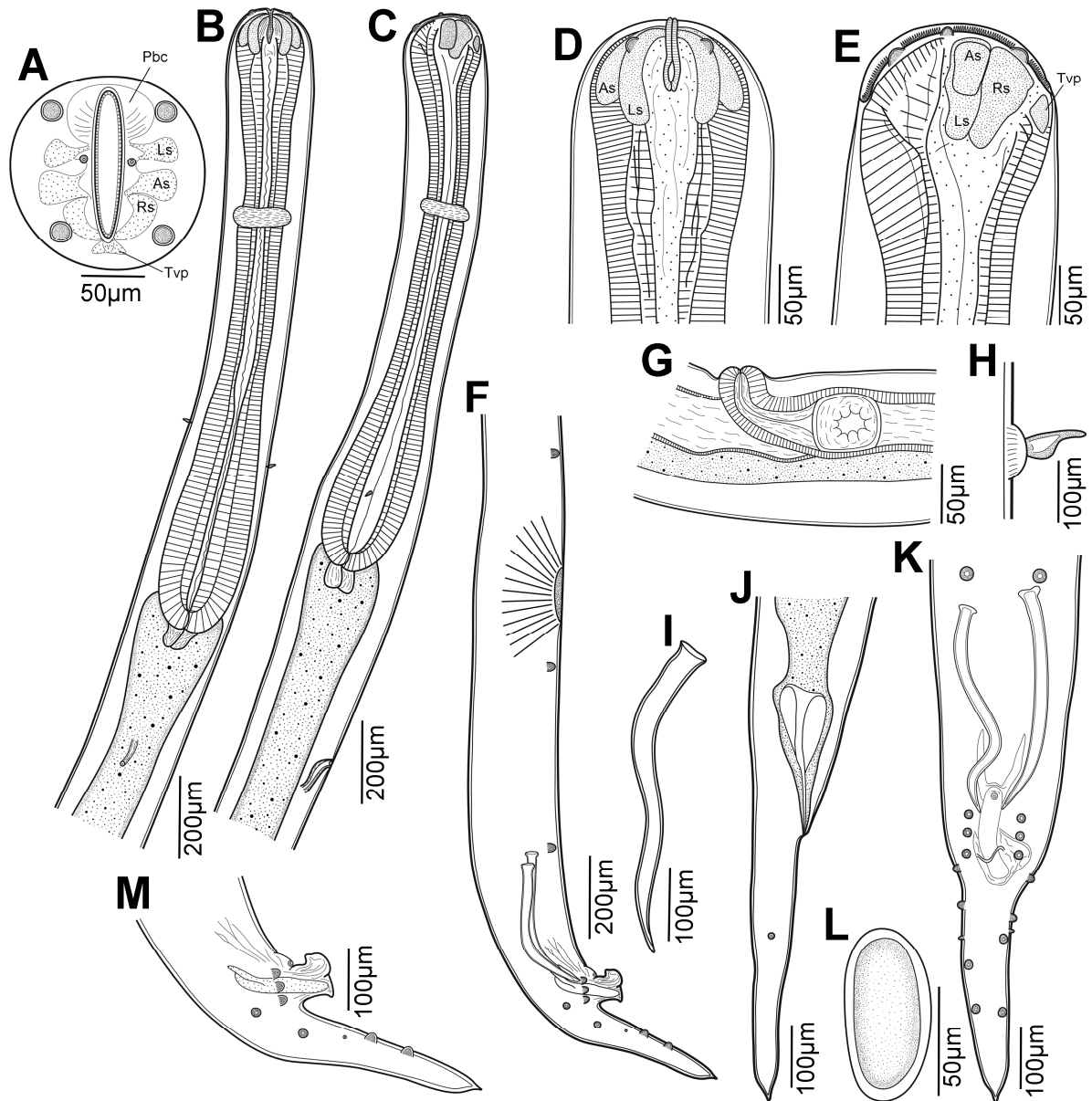


Figura 3. Morfologia de *Cucullanus bagre* Petter, 1974 parasito em *Bagre bagre* (Linnaeus, 1766) do litoral do Rio de Janeiro, Brasil. A. Extremidade cefálica, vista apical; B, C. Extremidade anterior, vistas dorso-ventral e lateral; D, E. Extremidade cefálica, vistas dorso-ventral e lateral; F. Extremidade posterior do macho, vista lateral; G. Região vulvar, vista lateral; H. Deirídio; I. Espículo, vista lateral; J. Extremidade posterior da fêmea, vista lateral; K. Cauda do macho, vista ventral; L. Ovo; M. Cauda do macho, vista lateral. *Abreviações:* As, estrutura em forma de arco; Ls, estrutura lateral; Pbc, pseudo cápsula bucal; Rs, estrutura reniforme; Tvp, placa transversal.

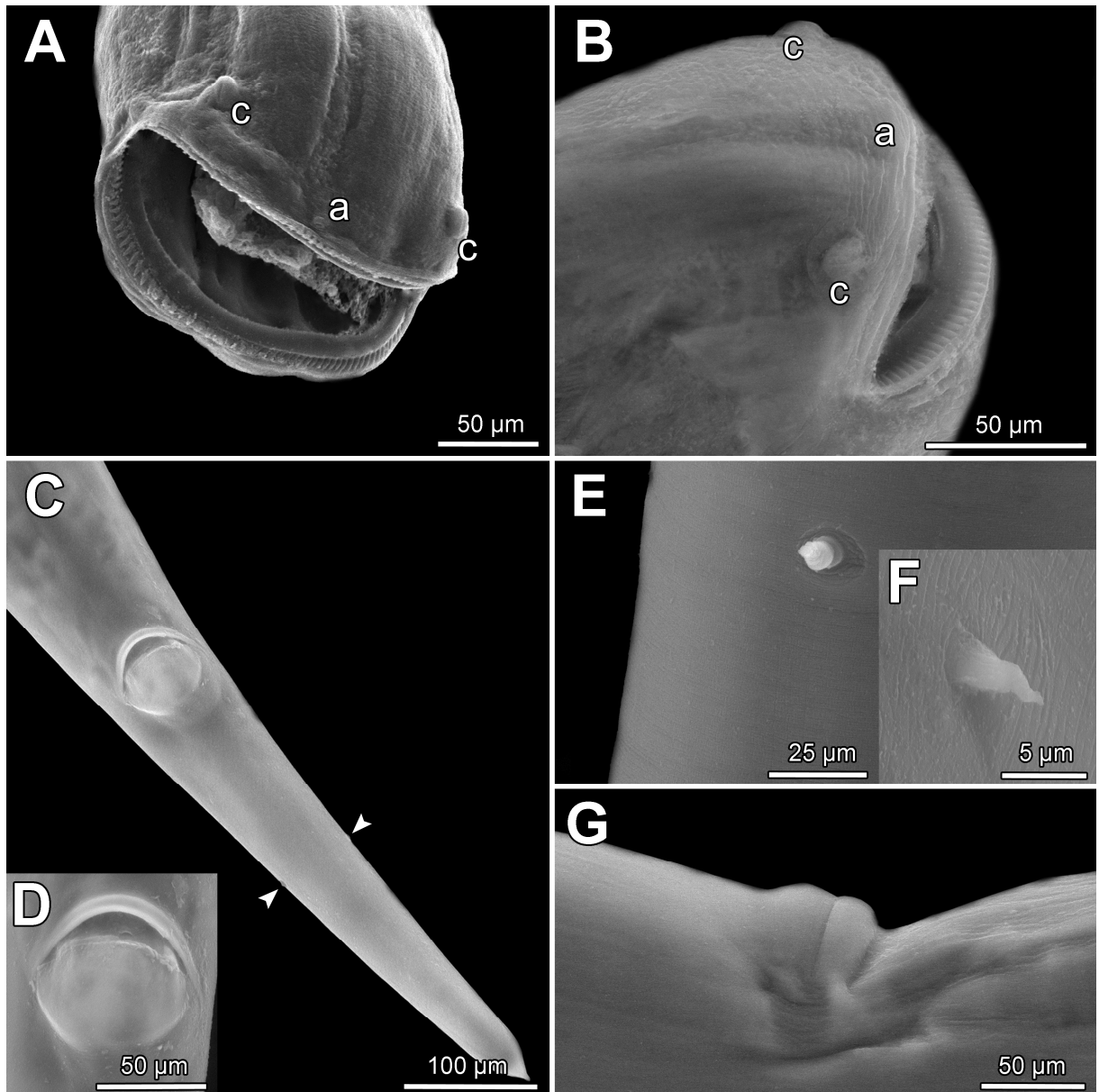


Figura 4. Eletromicrografias de MEV das fêmeas de *Cucullanus bagre* Petter, 1974 parasito em *Bagre bagre* (Linnaeus, 1766) do litoral do Rio de Janeiro, Brasil. A, B. Extremidade cefálica, vistas sub-apical e subventral. C. Extremidade posterior, vista ventral (cabeças de seta indicam fasmídeos). D. Região anal, vista ventral. E, F. Deirídio, vistas apical e lateral. G. Região vulvar, vista lateral. *Abreviações:* a, anfídio; c, papila cefálica.

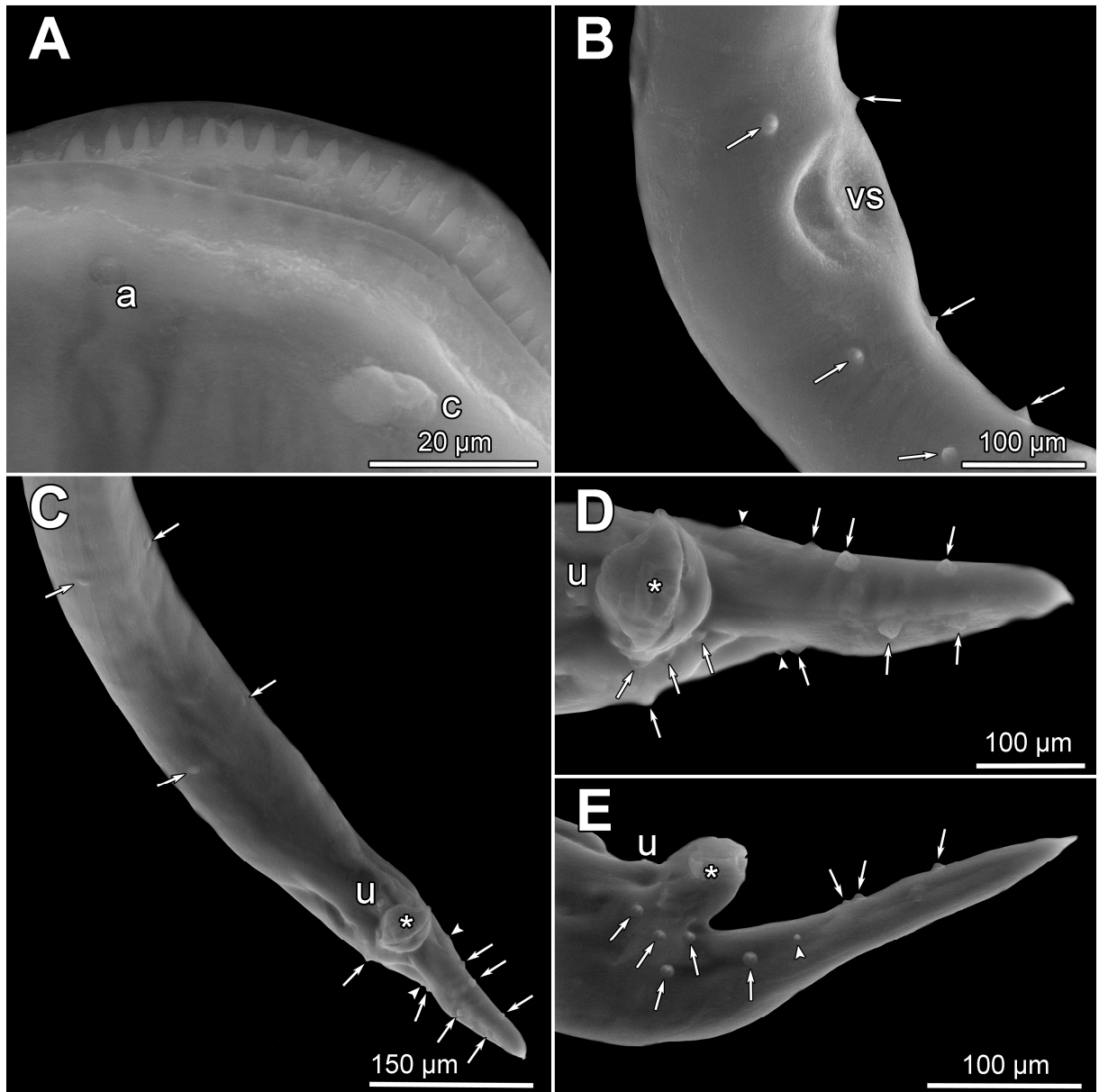


Figura 5. Eletromicrografias de MEV dos machos de *Cucullanus bagre* Petter, 1974 parasito em *Bagre bagre* (Linnaeus, 1766) do litoral do Rio de Janeiro, Brasil. A. Abertura oral, vista lateral. B. Região da ventosa ventral, vista subventral. C. Extremidade posterior, vista ventral. D, E. Região caudal, vistas ventral e lateral (asteriscos, setas e cabeças de seta indicam lábio cloacal, papilas caudais e fasmídeos, respectivamente). *Abreviações:* a, anfídio; c, papila cefálica; u, papila ímpar; vs, ventosa ventral.

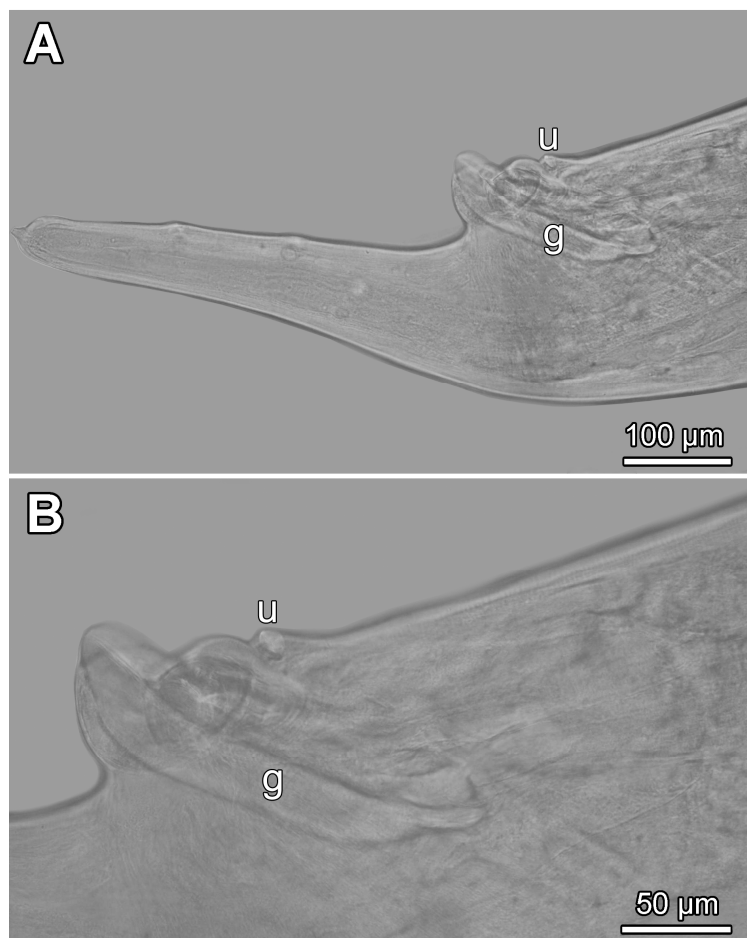


Figura 6. Fotomicrografias da região posterior de um fragmento de um *Cucullanus bagre* Petter, 1974 macho proveniente do material tipo depositado no MNHN. A, B. Região caudal e cloacal, respectivamente, vistas laterais. *Abreviações:* g, gubernáculo; u, papila ímpar.

Comentários: Com base na presença de um lábio cloacal bem desenvolvido nos macho, na forma do gubernáculo, poro excretor muito posterior com dutos excretores de parede espessa e a espécie de hospedeiro, os espécimes aqui analisados claramente pertencem à espécie *Cucullanus bagre* Petter, 1974. Este parasito foi originalmente descrito de forma bastante resumida, porém com ilustrações relativamente boas, parasitando *B. bagre* em Cayenne na Guiana Francesa (PETTER, 1974b). Todavia, alguns detalhes foram omitidos na descrição original (i.e. descrição precisa da região apical anterior, detalhes morfológicos das placas esclerotizadas do esofástoma, morfometria do esofástoma, morfologia e morfometria dos ovos, e outros). Além disso, somente uma fêmea juvenil foi registrada e descrita por Petter (1974b).

Os dados morfométricos do material analisado neste estudo, foram bastante similares àqueles apresentados por Petter (1974b) (ver Tabela 1). A maior diferença encontrada foi no comprimento do gubernáculo o qual foi menor nos presentes espécimes (178–182 vs. 210), porém esta discrepância é claramente irrelevante. Quando comparadas as fêmeas adultas e jovens, as únicas diferenças notadas foram no comprimento corporal (13,4–18,6 vs. 10 mm) e da cauda (450–520 vs. 370), onde logicamente os espécimes adultos apresentaram medidas maiores. Indivíduos adultos tendem a serem maiores que os juvenis, principalmente aquelas fêmeas que produzem e alocam muitos ovos na fase reprodutiva. Adicionalmente, alguns dos atributos do hospedeiro (e.g. tamanho corporal), intensidade parasitária, fatores genéticos e ambientais às vezes podem influenciar na variabilidade morfométrica (ESCH et al., 1990; JANOBY et al., 1992).

As análises do presente estudo revelaram a presença de uma pequena papila ímpar adicional, anterior à abertura cloacal. Esta estrutura minuta não foi observada por Petter (1974b), uma vez que foi possível visualizá-la em um fragmento de macho proveniente do material tipo re-examinado. Todavia, esta estrutura é de difícil observação sob microscopia de luz em alguns espécimes.

Atualmente existem 17 espécies de *Cucullanus* descritas e registradas em peixes Siluriformes (considerando ambientes marinhos e de água doce), seis das quais registradas em peixes da família Ariidae (incluindo *C. bagre*) (YAMAGUTI, 1954; PETTER, 1974b; BILQEES; FATIMA, 1980; PETTER; LE BEL, 1992; BHARATHA-LAKSHMI, 2000; LÓPEZ-CABALLERO et al., 2009). Além disso, *C. bagre* foi registrado uma única vez, após sua descrição original, parasitando *Ariopsis assimilis* (Günther, 1864) (Ariidae) na Baía de Chetumal, México (AGUIRRE-MACEDO et al., 2007). Das seis espécies de *Cucullanus* registradas em peixes ariídeos, *C. armatus* Yamaguti, 1954 parasito de *Arius* sp. em Borneo e *C. quadrii* Bilqees & Fatima, 1980 parasito de *Netuma thalassina* (Rüppel, 1837) no Paquistão, diferem de *C. bagre* por apresentarem a região cloacal sem protruções (YAMAGUTI, 1954; BILQEES; FATIMA, 1980). *Cucullanus baylisi* Bharatha-Lakshmi, 2000 também registrado parasitando *N. thalassina* na Índia, possui apenas 6 pares de papilas caudais ao invés de 10 pares e uma ímpar como *C. bagre* (BHARATHA-LAKSHMI, 2000). As outras duas espécies restantes são morfologicamente bem relacionadas à *C. bagre*, são elas: *C. costaricensis* López-Caballero, Osorio-Sarabia et García-Prieto, 2009 parasito em *Bagre pinnimaculatus* (Steindachner, 1876) do Rio Tempisque, Costa Rica e *C. laurotravassosi* Petter & Le Bel, 1992 parasito em *Arius* sp. do Rio Adelaide, Austrália (PETTER; LE BEL, 1992; LÓPEZ-CABALLERO et al., 2009). Porém, *C. laurotravassosi* não apresenta papila pré-cloacal ímpar e nem lábio cloacal, e *C. costaricensis* apresenta o poro excretor anterior aos deirídeos, estruturas esclerotizadas no esofástoma totalmente diferentes bem como a estrutura do lábio cloacal também diferente de *C. bagre*; além disso, ambas as espécies supracitadas parasitam hospedeiros de água doce (PETTER; LE BEL, 1992; LÓPEZ-CABALLERO et al., 2009).

O posicionamento bastante posterior do poro excretor também é característico em algumas outras espécies de *Cucullanus* que não *C. bagre*, são elas: *C. bourdini* Petter & Le Bel, 1992 parasito em peixes lutjanídeos, holocentrídeos e balistídeos do Pacífico Sul, *C. maldivensis* Moravec, Lorber & Konečný, 2008 em *Macolor niger* (Forskål, 1775) (Perciformes: Lutjanidae) das Ilhas Maldivas no Oceano Índico e *C. rhamphichthydis* Moravec, Kohn & Fernandes, 1997 parasito do peixe-faca *Rhamphichthys rostratus* (Linnaeus, 1766) (Gymnotiformes: Rhamphichthyidae) no rio Paraná, Brasil (PETTER; LEBELL, 1992; MORAVEC et al., 1997, 2008; MORAVEC; JUSTINE, 2011). Todavia, *C. bourdini* e *C. maldivensis* apresentam e espículos mais longos (834–993 e 952, respectivamente vs. 360–429) e gubernáculos menores (111–129 e 93, respectivamente vs. 172–182) que *C. bagre*. Somente a fêmea de *C. rhamphichthydis* é conhecida, e Moravec et al. (1997) atribuiu a diagnose específica deste parasito à “posição de ambos deirídeos e poro excretor muito posterior ao final do esôfago”, e de fato este caráter juntamente com a morfologia da região anterior do parasito facilmente diferencia esta espécie de *C. bagre*.

Considerando outras espécies de *Cucullanus* que apresentam o lábio cloacal protraído, e registradas parasitando peixes marinhos do Atlântico Sul e México, somente *C. mycteropercae* Mejía-Madrid & Guillén-Hernández, 2011 parasito em *Mycteroperca bonaci* (Poey, 1860) (Perciformes: Serranidae) da costa da península de Yucatán, México, apresenta machos com comprimento de espículos sobrepondo os de *C. bagre* (420–710 vs. 340–629) (MEJÍA-MADRID; GUILLÉN-HERNÁNDEZ, 2011). Porém, *C. mycteropercae* apresenta um protuberância elipsóide no lábio cloacal anterior a qual é única entre as espécies de *Cucullanus* conhecidas até o momento. Adicionalmente, *C. mycteropercae* apresenta gubernáculo menor que *C. bagre* (120–150 vs. 172–210), e ambas diferem na morfologia das estruturas esclerotizadas presentes no esofástoma (MEJÍA-MADRID; GUILLÉN-HERNÁNDEZ, 2011).

Tabela 1. Medidas comparativas de machos e fêmeas de *Cucullanus bagre* Petter, 1974 do presente estudo e fornecidas na descrição original de Petter (1974b).

Medidas morfométricas	Estudo atual		Petter (1974)	
	♂	♀	♂	♀*
Comprimento total (mm)	11,3–19	13,4–18,6	14–16	10
Largura	200–270	200–310	275	225
Comprimento do esôfago (mm)	1,2–1,4	1,2–2,0	1,3	1,1
Razão esôfago/comprimento total (%)	7,3–11,1	7,9–10,7	10,5	8,3
Anel nervoso à extremidade anterior	400–450	445–500	400	410
Razão anel nervosa/comprimento esôfago (%)	32–34	30–38	32	39
Deirídeos à extremidade anterior (mm)	0,826–1,1	1,0–1,3	1,1	0,9
Poros excretor à extremidade anterior (mm)	1,6–1,8	1,6–1,9	1,8	1,5
Ventosa ventral à extremidade posterior (mm)	1,0–1,5	-	1,26	-
Gubernáculo	172–182	-	210	-
Comprimento do espículo	360–429	-	340	-
Razão espículo/comprimento total (%)	2,1–3,5	-	2,3	-
Vulva à extremidade anterior	-	7,6–11,4	-	6,2
Razão vulva/comprimento total (%)	-	60–66	-	62
Comprimento do ovo	-	70–84	-	-
Largura do ovo	-	40–50	-	-
Cauda	345–447	450–520	400	370

*Fêmea jovem.

3.4 DISCUSSÃO

Devido à alta semelhança morfológica entre parasitos dos gêneros *Cucullanus* e *Dichelyne* Jägerskiöld, 1902, é comum encontrarmos classificações de algumas espécies de forma incorreta em um desses gêneros (CAMPOS et al., 1993; GONZÁLEZ-SOLÍS et al., 2007; MORAVEC; JUSTINE, 2011). Estes problemas estão frequentemente relacionados à observação da presença / ausência de ceco intestinal, o qual às vezes pode ser difícil de detectar passando despercebido facilmente. Outras características que auxiliam a diferenciação entre *Cucullanus* e *Dichelyne* são a posição relativa da abertura bucal em relação ao eixo corporal, presença / ausência de estruturas esclerotizadas no esofástoma e o grau de espessamento da cutícula na região esofagiana (PETTER, 1974a; MORAVEC; JUSTINE, 2011).

Devido às possíveis confusões de classificação genérica entre espécies de *Cucullanus* e *Dichelyne*, a nova espécie foi também comparada a todas àquelas pertencentes ao subgênero *Dichelyne* (*Cucullanellus*), as quais apresentam machos com ventosa ventral. Porém, todas as características de diagnose específica de *Cucullanus* sp. também diferenciam facilmente esta nova espécie aqui proposta das demais pertencentes à *Dichelyne* (*Cucullanellus*), principalmente com base no arranjo das papilas caudais.

Um fato curioso é que Alves et al. (2005) examinaram diversos espécimes de *B. caprisus* e *B. vetula* provenientes da mesma localidade de coleta do presente trabalho e identificaram os parasitos encontrados como *Dichelyne* sp., os quais estavam parasitando ambas as espécies de peixes. Felizmente, alguns espécimes voucher analisados por Alves et al. (2005) foram depositados na CHIOC (números de acesso 35319, 35320), enquanto que outros espécimes foram mantidos em nosso laboratório. Sendo assim, após compararmos os presentes espécimes com aquele coletados por Alves et al. (2005), concluiu-se que ambas as amostras representam a mesma espécie de parasito. Provavelmente, esses autores confundiram as gônadas, as quais estão presentes na região do esôfago, como possíveis cecos intestinais e classificaram erroneamente os parasitos como sendo *Dichelyne* sp., quando na verdade eles pertencem a *Cucullanus* sp.

A análise do material tipo de *C. bagre* depositado no MNHN revelou que os espécimes se encontram em péssimo estado de conservação. Este material está representado por apenas 4 fragmentos de nematoides, dos quais um é uma parte anterior desprovida de esofástoma, um é uma parte mediana do corpo impossível de identificar, e dois fragmentos são de partes posteriores de um macho adulto e uma fêmea jovem, respectivamente, sendo que todos estes fragmentos são difíceis de serem identificados a nível específico. O fragmento melhor preservado é parte de um macho, porém sem espículos, com alguns pares de papilas caudais impossíveis de serem visualizados; este espécime está quase se fragmentando em três partes e sua região anterior foi cortada. Ainda sim, algumas características importantes puderam ser observadas neste material, i.e., presença de papila ímpar anterior a abertura cloacal, o gubernáculo, alguns pares de papilas caudais (como mostra a Fig. 6A, B) e a posição relativa do poro excretor ao final do esôfago. Por fim, os espécimes tipo que deveriam estar em dois frascos diferentes (números de acesso 345BA [MNHN] e 302BA [MNHN]), estavam na verdade juntos em um frasco único. Sendo assim, foi impossível discernir holótipo, alótipo e parátipos e neste caso, de acordo com o Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (ICZN), estes fragmentos de espécies devem representar uma série tipo, sendo considerados como sintipos, uma vez que é impossível a diferenciação do holótipo entre os demais.

Cucullanus bagre também apresenta um tipo e arranjo único das estruturas esclerotizadas no esofástoma. A presente análise revelou que a estrutura reniforme, a estrutura lateral e aquela em forma de arco são peculiarmente alongadas, estas características são

bastante particulares e presentes em poucas espécies de *Cucullanus* apenas. Estas estruturas diferiram do esquema apresentado nas ilustrações de Petter (1974b) quanto à forma, tamanho e arranjo e, infelizmente, não puderam ser observadas no material tipo devido ao seu estado de conservação precário.

Considerando o ciclo de vida de alguns cucullanídeos, existem evidências de que algumas espécies são primariamente heteroxenas, utilizando invertebrados (i.e. crustáceos, poliquetas) como hospedeiros intermediários, porém uma fase histotrófica no hospedeiro definitivo substituiu a necessidade de um hospedeiro intermediário para outras espécies (ANDERSON, 2000). Um exemplo pode ser observado em *C. chabaudi* Le-Van-Hoa & Pham-Ngoc-Khue, 1967 parasito de *Pangasius pangasius* (Hamilton, 1822) (Siluriformes: Pangasiidae) no Vietnã, que completa o seu desenvolvimento de larva a fase adulta no hospedeiro definitivo. Por outro lado, *D. (C.) minutus* (Rudolphi, 1819) parasito de *Platichthys flesus* (Linnaeus, 1758) (Pleuronectiformes: Pleuronectidae) na Região Paleártica, utiliza o poliqueta *Hediste diversicolor* (O. F. Müller, 1776) (Nereididae) como hospedeiro intermediário obrigatório. Todavia, o conhecimento dos padrões de transmissão de nematoides cucullanídeos ainda é incipiente, requerendo mais estudos experimentais (ANDERSON, 2000).

Após este estudo, as características consideradas importantes para a diagnose específica de *C. bagre* são a presença de protruções bastante conspícuas na região caudal de ambos os sexos, o número e arranjo de papilas caudais nos machos e a posição posterior do poro excretor, o qual apresenta ducto excretor com paredes espessas. Este é o primeiro registro de *C. bagre* em águas brasileiras, fato que expande a distribuição geográfica deste parasito para o Atlântico Sul.

3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIRRE-MACEDO, M. L.; VIDAL-MARTÍNEZ, V. M.; GONZÁLEZ-SOLÍS, D.; CABALLERO, P. I. Helminth communities of four commercially important fish species from Chetumal Bay, Mexico. **Journal of Helminthology**, v. 81, p. 19–31, 2007.
- ANDERSON, R. C.; CHABAUD, A. G.; WILLMOTT, S. **Keys to the nematode parasites of vertebrates: archival volume**. CABI Publishing, Wallingford, Reino Unido. 2009. 480p.
- ALVES, D. R.; PARAGUASSÚ, A. R.; LUQUE, J. L. Community ecology of the metazoan parasites of the grey triggerfish, *Balistes capriscus* Gmelin, 1789 and queen triggerfish *B. vetula* Linnaeus, 1758 (Osteichthyes: Balistidae) from the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 14, p. 71–77, 2005.
- BARRETO, A. L. B. Revisão da família Cucullanidae Barreto, 1916. (1). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 14, p. 70–87, 1922.
- BERLAND, B. On the morphology of the head in four species of the Cucullanidae (Nematoda). **Sarsia**, v. 43, p. 15–64, 1970.
- BHARATHA-LAKSHMI, B. A new parasite of the genus *Cucullanus* (Nematoda: Cucullanidae) from the fish *Airus thalassinus*. **Boletín Chileno de Parasitología**, v. 55, p. 106–108, 2000.
- BILQEES, F. M.; FATIMA, H. Marine fish nematodes of Pakistan. XII. *Cucullanus quadrii*, new species (Cucullanidae) from *Arius serratus* of Karachi coast. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 12, p. 27–31, 1980.
- CABAÑAS-CARRANZA, G.; CASPETA-MANDUJANO, J. M. A new cucullanid species (Nematoda) from the freshwater fish *Vieja intermedia* (Günther, 1862) (Cichlidae) in Mexico. **Journal of Parasitology**, v. 93, p. 646–649, 2007.
- CAMPOS, A.; CARBONELL, M. D.; RODRIGUEZ-BABIO, C. *Cucullanus carbonelli* n. sp. (Nematoda, Cucullanidae) parasite du poisson labridé *Symphodus tinca*. **Vie Milieu**, v. 43, p. 225–229, 1993.
- CASPETA-MANDUJANO, J. M.; MORAVEC, F.; AGUILAR-AGUILAR, R. *Cucullanus mexicanus* sp. n. (Nematoda: Cucullanidae) from the intestine of the freshwater catfish *Rhamdia guatemalensis* (Pimelodidae) in Mexico. **Helminthologia**, v. 37, p. 215–217, 2000.
- CHABAUD, A. G. **Keys to the genera of the superfamilies Cosmocерcoidea, Seuratoidea, Heterakoidea and Subuluroidea**. In: Anderson, R. C., Chabaud, A. G. & Willmot, S. (Eds), *CIH keys to the nematode parasites of vertebrates*.: Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, Reino Unido, pp. 1–27, 1978.
- DANIEL, V. I.; TIMI, J. T.; SARDELLA, N. H. *Cucullanus marplatensis* sp. nov. (Nematoda, Cucullanidae) parasitizing *Odontesthes argentinensis* (Valenciennes, 1835) (Pisces, Atherinidae) from Argentinean waters. **Acta Parasitologica**, v. 47, p. 41–46, 2002.

ESCH, G.; BUSH, A.; AHO, J. **Parasite communities: patterns and process**. Chapman and Hall, Londondres, Reino Unido. 1990. 335 p.

FERRAZ, E.; THATCHER, V. E. *Bacudacnitis grandistomis* gen. et sp. nov. (Nematoda; Cucullanidae) parasita intestinal de um bagre, *Pseudodoras niger* (Valenciennes) da Amazonia. **Amazoniana**, v. 10, p. 249–253, 1988

FIGUEIREDO, J. L.; MENEZES, L. A. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. II Teleostei (1)**. Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. 1978. 110 p.

FIGUEIREDO, J. L.; MENEZES, L. A. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. VI Teleostei (5)**. Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. 2000. 116 p.

FROESE, R.; PAULY, D. (Eds.) FishBase. **World Wide Web electronic publication**. Disponível em: <www.fishbase.org>, version 05/2014. Acesso em: janeiro de 2015.

GIESE, E. G.; FURTADO, A. P.; LANFREDI, R. M.; SANTOS, J. N. A new cucullanid species (Nematoda) from *Ageneiosus ucayalensis* Castelnau, 1855 (Pisces: Auchenipteridae) from Pará, Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 96, p. 389–394, 2010.

GONZÁLEZ-SOLÍS, D.; TUZ-PAREDES, V. M.; QUINTAL-LORIA, M. A. *Cucullanus pargi* sp. n. (Nematoda: Cucullanidae) from the grey snapper *Lutjanus griseus* off the southern coast of Quintana Roo, Mexico. **Folia Parasitologica**, v. 54, p. 220–224, 2007.

JANOVY, J. JR.; CLOPTON, R. E.; PERCIVAL, T. J. The roles of ecological and evolutionary influences in providing structure of parasite species assemblages. **Journal of Parasitology**, v. 74, p. 630–640, 1992.

KØIE, M. The life cycle of *Dichelyne (Cucullanelus) minutus* (Nematoda: Cucullanidae). **Folia Parasitologica**, v. 48, p. 304–310, 2001.

LACERDA, A. C. F.; TAKEMOTO, R. M.; MARCHIORI, N. C.; MARTINS, M. L.; PAVANELLI, G. C. New species of *Cucullanus* (Nematoda: Cucullanidae), an intestinal parasite of the peacock bass *Cichla piquiti* (Perciformes: Cichlidae) from the Tocantins River, Brazil. **Journal of Helminthology**, (in press) doi: 10.1017/S0022149X13000485, 2013.

LANFRANCHI, A. L.; TIMI, J. T.; SARDELLA, N. H. *Cucullanus bonaraensis* n. sp. (Nematoda: Cucullanidae) parasitizing *Urophycis brasiliensis* (Pisces: Phycidae) from Argentinean waters. **Journal of Parasitology**, v. 90, p. 808–812, 2004.

LE-VAN-HOA; PHAM-NGOC-KHUE. Morphology and developmental cycle of *Cucullanus chabaudi* n. sp., parasite of the fish *Pangasius pangasius* H. B. (*P. buchanani*) of South Vietnam. **Bulletin de la Société de Pathologie Exotique et de ses Filiales**, v. 60, p. 315–318, 1967.

LÓPEZ-CABALLERO, J.; OSORIO-SARABIA, D.; GARCÍA-PRIETO, L. *Cucullanus costaricensis* n. sp. (Nematoda: Cucullanidae), a parasite of *Bagre pinnimaculatus*

(Siluriformes: Ariidae) from Río Tempisque, Costa Rica. **Journal of Parasitology**, v. 95, p. 413–423, 2009.

MEJÍA-MADRID, H. H.; AGUIRRE-MACEDO, M. L. Redescription and genetic characterization of *Cucullanus dodsworthi* (Nematoda: Cucullanidae) from the checkered puffer *Sphoeroides testudineus* (Pisces: Tetraodontiformes). **Journal of Parasitology**, v. 97, p. 695–706, 2011.

MEJÍA-MADRID, H. H.; GUILLÉN-HERNÁNDEZ, S. A new cucullanid from the black grouper *Mycteroperca bonaci* (Osteichthyes: Serranidae) off the coast of Yucatán, México. **Journal of Parasitology**, v. 97, p. 122–127, 2011.

MORAND, S.; RIGBY, M. C. Cucullanid nematodes from coral reef fishes of French Polynesia, with a description of *Cucullanus faliexae* n. sp. (Nematoda: Chitwoochabaudiidae). **Journal of Parasitology**, v. 84, p. 1213–1217, 1998.

MORAVEC, F. **Nematodes of freshwater fishes of the Neotropical region**. Academia, Praga, República Tcheca. 1998. 464 p.

MORAVEC, F.; JUSTINE, J. L. Cucullanid nematodes (Nematoda: Cucullanidae) from deep-sea marine fishes off New Caledonia, including *Dichelyne etelidis* n. sp. **Systematic Parasitology**, v. 78, p. 95–108, 2011.

MORAVEC, F.; KOHN, A.; FERNANDES, B. M. M. Nematode parasites of fishes of the Paraná River, Brazil. Part 2. Seuratoidea, Ascaridoidea, Habronematoidea and Acuarioidea. **Folia Parasitologica**, v. 40, p. 115–134, 1993.

MORAVEC, F.; KOHN, A.; FERNANDES, B. M. M. New observations on seuratoid nematodes parasitic in fishes of the Paraná River, Brazil. **Folia Parasitologica**, v. 44, p. 209–223, 1997.

MORAVEC, F.; LORBER, J.; KONEČNÝ, R. *Cucullanus maldivensis* n. sp. (Nematoda: Cucullanidae) and some other adult nematodes from marine fishes off the Maldive Islands. **Systematic Parasitology**, v. 70, p. 61–69, 2008.

MORAVEC, F.; SASAL, P.; WÜRTZ, J.; TARASCHEWSKI, H. *Cucullanus oceanensis* sp. n. (Nematoda: Cucullanidae) from Pacific eels (*Anguilla* spp.). **Folia Parasitologica**, v. 52, p. 343–348, 2005.

MOREIRA, N. I. B.; ROCHA, G. N.; COSTA, H. M. A. A new nematode species (Seuratoidea, Cucullanidae), parasitizing *Parauchenipterus striatulus* (Steindachner, 1876) (Pisces, Auchenipteridae) in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, p. 39–41, 2000.

OLSEN, L. S. Some nematodes parasitic in marine fishes. **Publication of the Institute of Marine Science**, v. 2, p. 173–215, 1952

PEREIRA, F. B.; VIEIRA, F. M.; LUQUE, J. L. A new species of *Cucullanus* Müller, 1777 (Nematoda: Cucullanidae) parasitic in the grey triggerfish *Balistes capriscus* Gemlin

(Osteichthyes: Balistidae) off Rio de Janeiro, Brazil. **Systematic Parasitology**, v. 87, p. 283–291, 2014.

PETTER, A. J. Essai de classification de la famille des Cucullanidae. **Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle, 3^e série No. 225, Zoologie**, v. 117, p. 1469–1490, 1974a.

PETTER A. J. Deux nouvelles espèces de Cucullanidae parasites de poissons en Guyane. **Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris, 3^a série, n^o 255, Zoologie**, v. 177, p. 1459–1467, 1974b.

PETTER, A. J. **Description d'un nouveau nematode parasite de poisson, em Guadeloupe: *Cucullanus caballeroi* sp. nov.** In: *Excerta parasitológica en memoriam del doctor Eduardo Caballero y Caballero. Publicaciones especiales 4.* Mexico City: Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, pp. 459–462. 1977.

PETTER, A. J.; LEBEL, J. Two new species in the genus *Cucullanus* (Nematoda: Cucullanidae) from the Australian region. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, p. 201–206, 1992.

PINTO, R. M.; VICENTE, J. J.; NORONHA, D. On some family related parasites (Nematoda, Cucullanidae) from the marine fish *Paralonchurus brasiliensis* (Steindachner, 1875) (Pisces, Ostraciidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, p. 207–212, 1992.

SANTOS, E.; VICENTE, J. J.; JARDIM, C. R. Helminths of fishes of Amazonian rivers from the Helminthological Collection of the Instituto Oswaldo Cruz II. **Atas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro**, v. 20, p. 11–19, 1979.

SARDELLA, N. H.; NAVONE, G. T.; TIMI, J. T. A new species of *Cucullanus* (Nematoda: Cucullanidae) parasite of *Genypterus blacodes* and *G. brasiliensis* (Pisces: Ophidiidae) in the South West Atlantic. **Parasite**, v. 4, p. 41–47, 1997.

TIMI, R. T.; LANFRANCHI, A. L. A new species of *Cucullanus* (Nematoda: Cucullanidae) parasitizing *Conger orbignianus* (Pisces: Congridae) from Argentinean waters. **Journal of Parasitology**, v. 92, p. 151–154, 2006.

TÖRNQUIST, N. Die Nematodenfamilien Cucullanidae und Camallanidae nebst weiteren Beiträgen zur Kenntnis der Anatomie und Histologie der Nematoden. **Göteborgs Kungliga Vetenskaps-och Vitterhets-samhälles Handlingar, Femte Följden, Ser. B**, v. 2, p. 1–441, 1931.

VAZ, Z.; PEREIRA, C. Contribuição ao conhecimento dos nematóides de peixes do Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, v. 5, p. 87–103, 1974.

VICENTE, J. J.; FERNANDES, B. M. Sobre um novo Nematódeo do gênero *Cucullanus* Mueller, 1777 parasito do 'Namorado' (Nematoda, Camallanoidea). **Atas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro**, v. 17, p. 31–33, 1973.

VICENTE, J. J.; SANTOS, E. Alguns helmintos de peixes do litoral norte Fluminense. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 71, p. 95–113, 1973.

VICENTE, J. J.; SANTOS, E. Alguns helmintos de peixes do litoral norte Fluminense II. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 72, p. 173–180, 1974.

YAMAGUTI S. Parasitic worms mainly from Celebes Part. 9. Nematodes of fishes. **Acta Medicinæ Okayama**, v. 9, p. 122–133, 1954.

YOOYEN, T.; MORAVEC, F.; WONGSAWAD, C. Two new species of *Cucullanus* Müller, 1777 (Nematoda: Cucullanidae) from marine fishes off Thailand. **Systematic Parasitology**, v. 78, p. 139–149, 2011.

CAPÍTULO III -

DUAS NOVAS ESPÉCIES DE NEMATOIDES CYSTIDICOLÍDEOS (NEMATODA: CYSTIDICOLIDAE) PARASITOS EM DUAS ESPÉCIES DE PEIXES MARINHOS (KYPHOSIDAE, HOLOCENTRIDAE) DO LITORAL DO RIO DE JANEIRO, BRASIL.^{1,2}

¹Artigo publicado: PEREIRA, F. B.; PEREIRA, A. M. N.; LUQUE, J. L. *Pseudascarophis brasiliensis* sp. nov. (Nematoda: Cystidicolidae) parasitic in the Bermuda chub *Kyphosus sectatrix* (Perciformes: Kyphosidae) from southeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 108, 476–480, 2013. doi: 10.1590/0074-0276108042013013

²Artigo publicado: PEREIRA, F. B.; PEREIRA, A. N. N.; LUQUE, J. L. A new species of *Comephoronema* (Nematoda: Cystidicolidae) from the squirrelfish *Holocentrus adscensionis* (Beryciformes: Holocentridae) off Brazil. **Folia Parasitologica**, v. 61, p. 55–62, 2014. doi: 10.14411/fp.2104.001

RESUMO

Duas espécies de nematoides cystidicolídeos (Nematoda: Cystidicolidae) são descritos em duas espécies diferentes de peixes marinhos da Baía de Angra dos Reis, região costeira do Rio de Janeiro, Brasil. *Pseudascarophis* sp. parasito no estômago de *Kyphosus sectatrix* (Linnaeus, 1758) (Perciformes: Kyphosidae) difere de suas congêneras por apresentar asa lateral ao longo do corpo, papilas cefálicas distintas, porém inconspícuas, machos com três pares de papilas pré-cloacais e um par de adcloacais, difere também devido a morfologia dos ovos e aspectos morfométricos do esôfago glandular e dos espículos. *Comephoronema* sp. parasito no intestino e cecos de *Holocentrus adscensionis* (Osbeck, 1765) (Beryciformes: Holocentridae) se distingue facilmente de suas congêneras devido ao grande número de papilas pré-cloacais presentes nos machos (i.e. 18 pares + 1 ímpar) e também pela presença de uma placa bidentada na margem interna do pseudolábio, por apresentar ovos maduros com dois longos filamentos em apenas um polo do mesmo, pelo tamanho corporal dos machos (9,4–11,5 mm), das fêmeas (10,2–19,9 mm), do espículo esquerdo (222–278 µm) e da razão entre o comprimento dos espículos esquerdo e direito (1 : 2,2–2,8). Esta é a quinta espécie nominal de *Comephoronema*, o primeiro nematóide registrado parasitando *H. adscensionis* e a primeira espécie no gênero, registrada no Oceano Atlântico. *Pseudascarophis tropica* foi transferida para o gênero *Ascarophis* Van Beneden, 1871 como *A. tropica* devido a sua diagnose ambígua.

Palavras-chave: Holocentridae, Kyphosidae, Parasitos.

ABSTRACT

Two new species of cystidicolid nematodes (Nematoda: Cystidicolidae) are described from two different species of fishes from Angra dos Reis Bay, off Rio de Janeiro, Brazil. *Pseudascarophis* sp. parasitic in the stomach of *Kyphosus sectatrix* (Linnaeus, 1758) (Perciformes: Kyphosidae) differs from its congeners by having lateral alae, distinct but inconspicuous cephalic papillae, three pairs of precloacal and one pair of adcloacal papillae in males, by the morphology of the eggs and by the morphometry of glandular oesophagus and spicules. *Comephoronema* sp. a parasite of the intestine and caeca of *Holocentrus adscensionis* (Osbeck, 1765) (Beryciformes: Holocentridae) is easily distinguishable from its congeners based in the high number of precloacal papillae in males (18 pairs + 1 unpaired) and also by the bidentate plate structure on the inner margin of pseudolabia, mature eggs with two long filaments on a single pole, body length of male (9,4–11,5 mm) and female (10,2–19,9 mm), left specile length (222–278 μm) and length ratio of spicules (1 : 2,2–2,8). This is the fifth nominal species of *Comephoronema*, the first nematode registered parasitizing *H. adscensionis* and the first species of the genus reported in the Atlantic Ocean. *Pseudascarophis tropica* is transferred to the genus *Ascarophis* Van Beneden, 1871 as *A. tropica* (Slov'eva, 1996) due to its ambiguous diagnosis.

Key-words: Holocentridae, Kyphosidae, Parasites.

4.1 INTRODUÇÃO

A família Cystidicolidae Skrjabin, 1946 inclui nematoides parasitos em diversos taxa de peixes de água doce a marinhos (MORAVEC; JUSTINE, 2010). A taxonomia e a classificação deste grupo de parasitos é bastante complicada, uma vez que a maioria das espécies apresenta tamanho corporal muito pequeno e diversas características morfológicas importantes são visualizadas apenas através da microscopia eletrônica de varredura (MEV) (MORAVEC; JUSTINE, 2010). Sendo assim, diversas espécies de cystidicolídeos ainda permanecem descritas de forma inadequada e incompleta (MORAVEC; JUSTINE, 2010).

Atualmente, apenas quatro espécies de cystidicolídeos (sem incluir aquelas aqui descritas), pertencentes a quatro gêneros diferentes, foram registradas em peixes da costa Brasileira, são elas: *Parascarophis sphyrnae* Campana-Rouget, 1955, *Ascarophis marina* Szidat, 1961, *A. brasiliensis* Magalhães-Pinto, Vicente & Noronha, 1984, *Neascarophis mariae* Pereira, Timi, Vieira & Luque, 2012 (LUQUE et al., 2011; PEREIRA et al., 2012).

Durante análises parasitológicas em peixes marinhos do litoral do Rio de Janeiro, diversos nematoides parasitos foram encontrados. Análises detalhadas utilizando microscopia óptica e eletrônica de varredura (MEV) revelaram que estes nematoides representavam duas espécies pertencentes a gêneros diferentes de cystidicolídeos ainda não conhecidas, as quais são descritas a diante. *Pseudascarophis* sp. parasito no estômago de *Kyphosus sectatrix* (Linnaeus, 1758) (Perciformes: Kyphosidae) e *Comephoronema* sp. parasito nos cecos intestinais e intestino de *Holocentrus adscensionis* (Osbeck, 1765) (Beryciformes: Holocentridae).

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Coleta dos hospedeiros e parasitos

Os peixes foram coletados através da pesca comercial por redes e obtidos frescos dos pescadores locais da Baía de Angra dos Reis, estado do Rio de Janeiro, Brasil. Os hospedeiros foram acondicionados em caixa térmica com gelo e levados para o Laboratório de Parasitologia de Peixes da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, onde foram imediatamente analisados para presença de parasitos. Foram estudados 6 espécimes de *K. sectatrix* (2 machos medindo 31–42 cm; 4 fêmeas 40–31 cm) e 6 espécimes de *H. adscensionis* (2 machos 21,5–22,0 cm; 4 fêmeas 20,0–23,0 cm). Os hospedeiros foram identificados segundo Figueiredo & Menezes (1985) e Menezes & Figueiredo (1985), a nomenclatura e classificação taxonômica foram atualizadas segundo Froese & Pauly (2014). O trato digestório dos peixes foi retirado e os seguintes órgãos individualizados em placas de petri para análise: esôfago, estômago e intestino. Os nematoides encontrados foram lavados em solução fisiológica (NaCl a 0,9% em H₂O destilada), fixados em solução de formol a 4% frio e acondicionados em etanol 70°GL.

4.2.2 Análise morfológica dos parasitos

Para as análises morfológicas os parasitos foram clarificados em glicerina montados entre lâmina e lamínula, e observados sob microscópio de luz Olympus BX51. As ilustrações foram feitas utilizando um tubo de desenho acoplado ao microscópio óptico. As medidas apresentadas estão em micrometros (μm), a não ser quando indicado de forma diferente. Alguns espécimes utilizados para microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram desidratados em uma série crescente de concentrações de etanóis, secos por evaporação em hexametil disilazano (HDMS), metalizados com ouro e examinados no microscópio eletrônico a JEOL JSM-740 1F, operando a 4 kV. Espécimes estudados no presente trabalho foram depositados na Coleção Helminológica do Instituto de Parasitologia, do Centro de Biologia da Academia de Ciências da República Tcheca, České Budějovice (IPCAS) e na Coleção Helminológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC). A classificação sistemática dos parasitos está de acordo com Moravec (1998, 2007) e Anderson et al. (2009).

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Descrição de *Pseudascarophis* sp. (Figuras 1 e 2) Família Cystidicolidae Skrjabin, 1946

Descrição geral: Fêmeas maiores que os machos, parte anterior do corpo mais delgada que a posterior; cutícula espessa a com estrias transversais. Extremidade cefálica arredondada, contendo quatro papilas cefálicas inconspícuas, visíveis somente em MEV (Fig. 2A, B); um par de anfidios laterais, postero-lateral ao pseudolábio (Fig. 2A). Abertura oral oval e dorso-ventralmente alongada; papilas submedianas e sublábios ausentes. Dois pseudolábios laterais em forma de “T” em vista apical, emergindo externamente e levemente elevado em relação às margens laterais da abertura oral, arqueando medialmente para se fundir às paredes da parte anterior da cavidade bucal, sem protrusões apicais. (Figs. 1B, 2A, B). Quatro processos digitiformes como dentes (2 subdorsais e 2 subventrais) anteriormente direcionados, emergindo sub-marginalmente da superfície interna da cavidade oral e não se projetando além da margem desta abertura (Figs. 1B, 2A, B). Deirídeos bifurcados (Fig. 2C), imediatamente anterior ao comprimento médio do vestíbulo (Fig. 1A). Vestíbulo longo, com um prostômio distinto em forma de funil, visível em vista lateral (Fig. 1A). Parte glandular do esôfago bastante longa, muito maior que a parte muscular. Anel nervoso circundando o esôfago muscular próximo a sua junção com o vestíbulo, poro excretor imediatamente posterior ao anel nervoso (Fig. 1A). Uma estreita asa lateral está presente em ambos os sexos (Fig. 2D, E), extendendo-se do nível do prostômio até a região caudal.

Descrição dos machos (baseada em 10 espécimes adultos; medidas do holótipo entre parênteses): Corpo com 10,3–15,4 (12,8) mm comprimento; largura ao nível do anel nervoso 38–54 (43), ao nível da junção esôfago-intestino 41–78 (56) e ao nível do ânus 51–81 (60). Altura do pseudolábio 7–9 (8). Vestíbulo incluindo o prostômio com 130–145 (136) comprimento; prostômio medindo 8–12 (10) comprimento, 8–12 (10) de largura, em vista lateral. Comprimento do esôfago muscular 290–390 (330), do esôfago glandular 4,3–6,6 (5,5) mm; razão entre o comprimento dos esôfagos glandular e muscular 1: 14,4–21,5 (1:16,6). Comprimento total do esôfago incluindo o ventrículo, representando 41–50 (46)% do comprimento corporal. Anel nervoso, deirídios e poro excretor a 140–180 (164), 50–65 (46) e 150–225 (180) da extremidade anterior, respectivamente. Extremidade posterior do corpo enovelada em forma de espiral, contendo uma asa caudal vesicular (Figs. 1G, 2G). Dez pares de papilas caudais; pré-cloacais: 3 pares de papilas subventrais pedunculadas, das quais o segundo e terceiro pares são próximos entre si (Fig. 1F). Um par de papilas laterais pedunculadas ligeiramente posteriores à abertura cloacal, e às vezes na linha da cloaca. Papilas pós-cloacais: 6 pares, os primeiros quatro pares subventrais e pedunculados, quarto par menor que os outros; dois últimos pares próximos ao ápice da cauda, localizados na mesma linha, sendo que um é grande e lateral e o outro ventral e muito pequeno onde os poros fasmidiais estão localizados (Fig. 1F). Ao menos três linhas longitudinais de estrias cuticulares serrilhadas (área rugosa), anterior à cloacal, se extendendo por mais ou menos 190 (Figs. 1G, 2H). Espículo esquerdo medindo 344–418 (381) de comprimento, com extremidade proximal arredondada a parte distal inflada dorso-ventralmente terminando em ponta afiada (Fig. 1I); seu eixo medindo 145–178 (161), formando 21–46 (45)% do comprimento total do espículo (medido em 3 indivíduos). Espículo direito com 100–116 (109) de comprimento, robusto com extremidade distal arredondada e proximal em ponta fina (Fig. 1H). Razão entre o comprimento dos espículos 1: 3,1–4,1 (1: 3,5). Cauda cônica, medindo 200–280 (237) e com extremidade arredondada.

Descrição das fêmeas (baseada em 10 espécimes adultos, medidas do alótipo entre parênteses): Corpo com 15,9–19,8 (17,7) mm comprimento; largura ao nível do anel nervoso 41–54 (47), ao nível da junção esôfago-intestino 52–80 (65) e ao nível do ânus 50–86 (67). Altura do pseudolábio 6–9 (8). Vestíbulo incluindo o prostômio com 110–143 (131) comprimento; prostômio medindo 11–13 (12) comprimento, 8–12 (10) largura, em vista lateral. Comprimento do esôfago muscular de 300–465 (382), do esôfago glandular 5,3–6,7 (6,1) mm; razão entre o comprimento dos esôfagos glandular e muscular 1: 12,8–18,9 (1:16,1). Comprimento total do esôfago incluindo o ventrículo, representando 33–38 (36)% do comprimento corporal. Anel nervoso, deirídios e poro excretor a 130–171 (153), 50–68 (61) e 149–220 (185) da extremidade anterior, respectivamente. Vulva posterior ao meio do corpo, localizada a 10,9–12,3 (11,6) mm da extremidade anterior, representando 60–71 (66)% do comprimento corporal; lábios da vulva não elevados (Fig. 1C). Cauda cônica com 110–150 (124) de comprimento e extremidade arredondada (Figs. 1E, 2F). Aberura dos fasmídeos em pequenas papilas laterais próximas à extremidade da cauda (Figs. 1E, 2F). Útero anfidélfico ocupando metade do corpo, contendo numerosos ovos. Ovos maduros (contendo larva), medindo 30–33 × 20–22, com parede espessa, casca lisa e com dois tufos formados por quatro filamentos finos, um em cada pólo do ovo (Fig. 1D).

Resenha Taxonômica e Ecológica.

Hospedeiro tipo: *Kyphosus sectatrix* (Linnaeus, 1758) (Perciformes: Kyphosidae).

Sítio de infecção: Estômago.

Localidade tipo: Baía de Angra dos Reis (23°00'S, 44°10'W), Rio de Janeiro, Brasil.

Prevalência: 4 peixes infectados / 5 analisados.

Intensidade de infecção: 10 ± 11 (3–26) nematoides por peixe infectado.

Depósito de espécimes: Holótipo, alótipo e parátipos na CHIOC (35848a, b; 35849a, b).

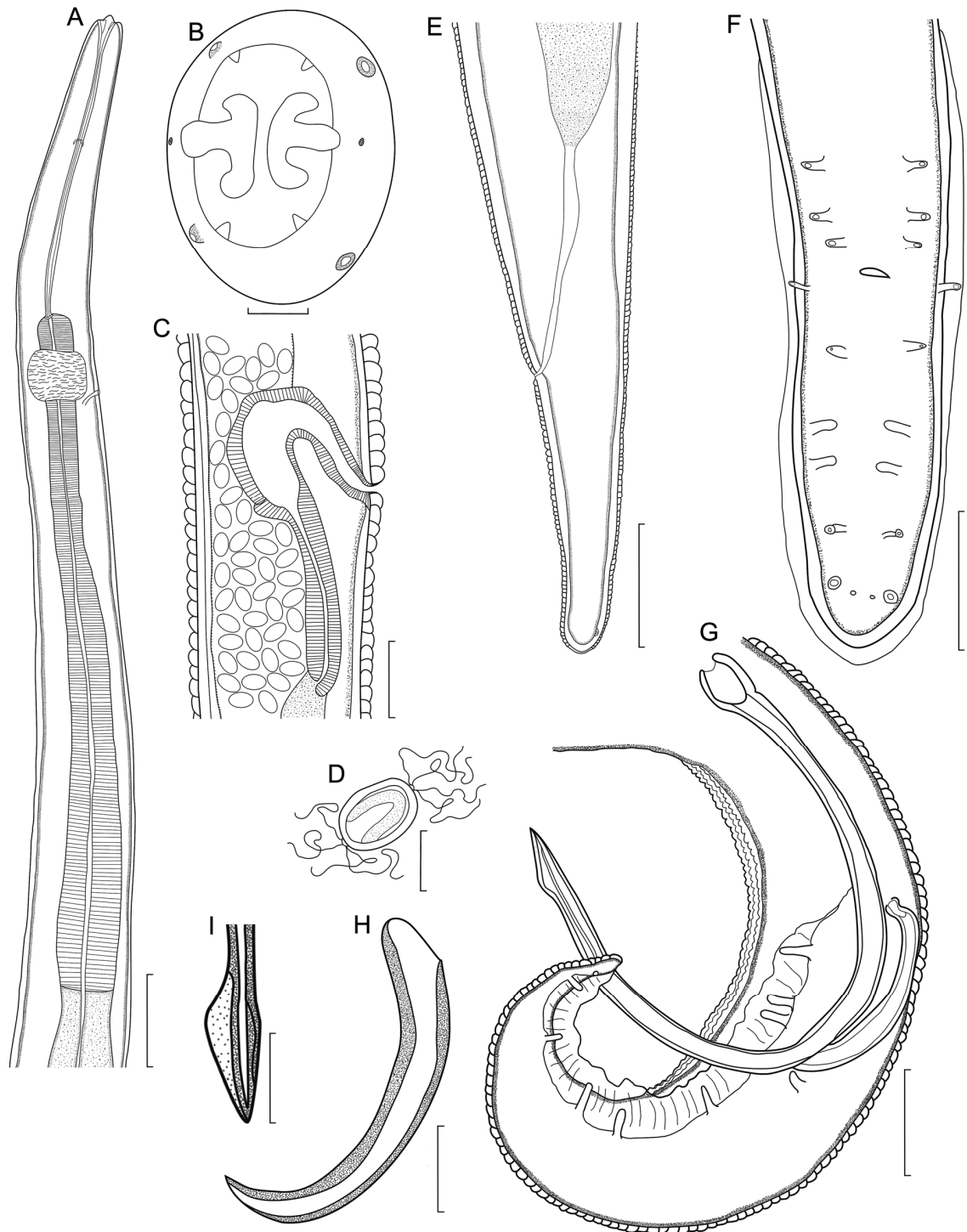


Figura 1. Morfologia de *Pseudascarophis* sp. parasito em *Kyphosus sectatrix* (Linnaeus, 1758) do litoral do Rio de Janeiro, Brasil. A. Extremidade anterior, vista lateral. B. Extremidade cefálica, vista apical. C. Região da vulva, vista lateral. D. Ovo. E. Região posterior da fêmea, vista lateral. F, G. Região posterior do macho, vistas ventral e lateral. H, I. Espículo direito e parte distal do esquerdo, respectivamente. *Barras de escala:* A, C, G = 50 μ m; B = 2 μ m; D, H, I = 20 μ m; E, F = 75 μ m.

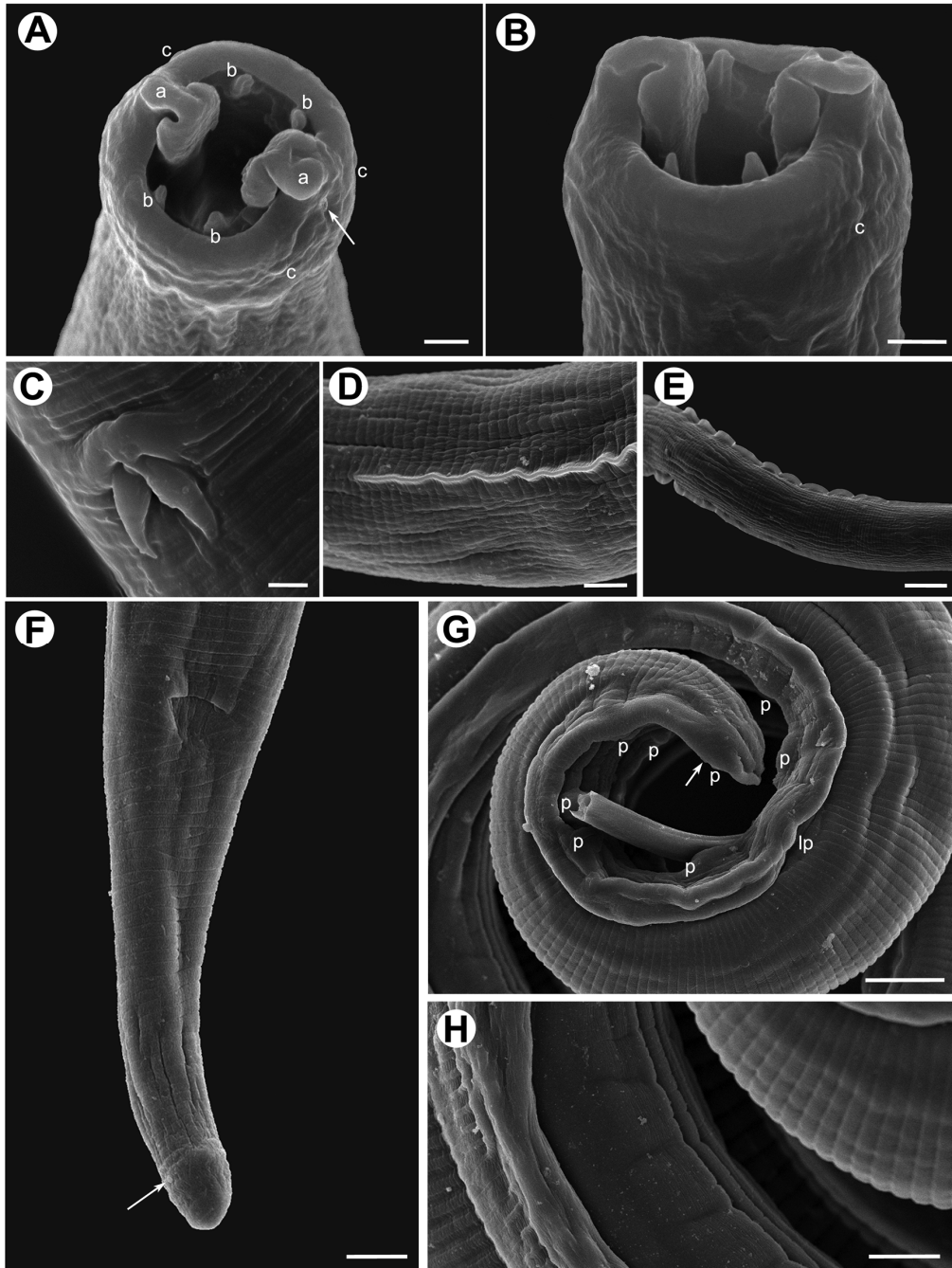


Figura 2. Eletromicrografias de MEV de *Pseudascarophis* sp. parasito em *Kyphosus sectatrix* (Linnaeus, 1758) do litoral do Rio de Janeiro, Brasil. A, B. Extremidade cefálica, vista apical e subapical (seta indica anfídeo). C. Deirídio. D, E. Asa lateral, vista lateral e ventral. F. Cauda da fêmea, vista subventral (seta indica fasmídeo). G. Extremidade posterior do macho, vista lateral (seta indica fasmídeo). H. Área rugosa. Barras de escala: A, B, C = 2 μ m; D = 5 μ m; E, G = 20 μ m; F, H = 10 μ m. Abreviações: a, pseudolábio; b, dente em processo digitiforme; c, papila cefálica; p, papilas cuadais; lp, papila caudal lateral.

Comentários: A morfologia geral da espécie nova está em acrodo com a maioria das características diagnósticas de *Pseudascarophis* Ko, Margolis & Machida, 1985, gênero que foi criado para alojar *P. kyphosi* Ko, Margolis & Machida, 1985 parasito de *Kyphosus cinerascens* (Forsskål, 1775), no Japão (KO et al., 1985). De fatos, a estrutura da região oral é quase idêntica entre a nova espécie e *P. kyphosi*, indicando que os espécimes aqui estudados, realmente pertencem ao gênero *Pseudascarophis* (*sensu* KO et al., 1985; MORAVEC, 2007). A homologia das estruturas cefálicas entre ambas as espécies supracitadas, confirma então a validade de *Pseudascarophis*.

As diferenças encontradas entre a nova espécie e *P. kyphosi* são a presença de asa lateral, presença de papila cefálica (referida como indistinta no gênero), três pares de papila pré-cloacais e um par adcloacal nos machos (vs. três pares de pré-cloacais e ausência de par adcloacal) e a casca do ovo lisa ao invés de rugosa como em *P. kyphosi* (KO et al., 1985). Outras diferenças encontradas entre *Pseudascarophis* sp. e *P. kyphosi* estão baseadas na morfometria, os machos apesar de exibirem tamanhos corporais similares os da nova espécie apresentam o esôfago glandular mais longo (4,3–6,6 vs. 2,9–3,0 mm), cauda e espículos esquerdo e direito mais longos (200–280 vs. 125–150, 344–418 vs. 185–210, 100–116 vs. 80–90, respectivamente). Considerando as fêmeas, as de *P. kyphosi* são maiores que as da nova espécie (27,2–33,4 vs. 15,0–19,8 mm) e, conseqüentemente, todas as outras medidas são também maiores. Os ovos de ambas as espécies são similares em comprimento, porém os de *P. kyphosi* são mais estreitos (14–17 vs. 20–22) e apresentam tufo polares com filamentos mais numerosos (ao menos 6).

Atualmente, apenas outras duas espécies estão descritas no gênero *Pseudascarophis*, *P. tropica* Slov'eva, 1996 e *P. genypteri* Muñoz & George-Nascimento, 2001 (SLOV'EVA, 1996; MUÑOZ; GEORGE-NASCIMENTO, 2001). Todavia, ambas apresentam características que levantam dúvidas a respeito do verdadeiro status genérico das mesmas. Por exemplo, a inclusão de *P. tropica* no gênero é baseada em diversos critérios diagnósticos ambíguos e não apresenta estudo morfológico a partir de análises de MEV (ver SLOV'EVA, 1996). Além disso, a descrição original de *P. tropica* parasitando *Parupeneus chrysopleuron* (Temminck & Schlegel, 1843) (Perciformes: Mullidae) sugere diversas similaridades entre esta e *Ascarophis parupenei* Moravec, Orecchia & Paggi, 1988 (e.g. morfologia da região cefálica, cauda do macho e da fêmea e ovos não filamentados) parasito do peixe congênico *P. indicus* (Shaw, 1803) (MORAVEC et al., 1988).

A outra espécie incluída em *Pseudascarophis*, *P. genypteri* parasito em *Genypterus chilensis* (Guichenot, 1848) (Ophidiiformes: Ophidiidae) no Chile (MUÑOZ; GEORGE-NASCIMENTO, 2001), foi originalmente incluída neste gênero por não apresentar papilas cefálicas nem lábios e medianos e submedianos, bem como devido à presença de estriações cuticulares proeminentes ao longo do corpo e por apresentar o terço anterior do corpo mais largo que a região posterior. *Pseudascarophis genypteri* foi diferenciado de *Ascarophis* com base em apenas duas características, i.e., pseudolábio arredondado ao invés de cônico e terço anterior mais largo que o resto do corpo. Todavia, esta espécie se difere de *Pseudascarophis* sp. por apresentar espículos mais longos, pseudolábio arredondado que se fundem no meio da abertura oral, oito processos bucais digitiformes, ovos sem filamentos e quatro pares de papilas pré-cloacais e 5 pares pós-cloacais.

4.3.2 Descrição de *Comephoronema* sp. (Figuras 3, 4, 5 e 6) **Família Cystidicolidae Skrjabin, 1946**

Descrição geral: Nematoides esbranquiçados, de tamanho mediano. Corpo alongado e delgado, se estreitando na região anterior. Cutícula espessa, com estriações transversais bastante evidentes ao longo de quase todo o corpo. Extremidade cefálica arredondada (Fig.

5B), quatro lábios submedianos achatados delimitando uma abertura oral oval, e apresentando extensões laterais (Fig. 5A). Quatro sublábios bilobados e submedianos, contidos na abertura oral como estruturas separadas, alongados, delgados e em forma de placa, o lobo proximal é ligeiramente mais curto que o distal (Fig. 5A). Sublábios submedianos margeam a maior parte da abertura oral (Figs. 3D, 5A). Dois pseudolábios laterais e estreitos, fundidos à parede da abertura oral em suas bases distais, cada um com uma pequena protrusão terminal suave e arredondada (Figs. 3D, 5A, C); margens internas de ambos os pseudolábios dorsoventralmente alongadas, paralelas entre si, formando uma estrutura tipo placa bidentada (Fig. 5A–C). Quatro papilas cefálicas bilobadas e dois anfídios laterais conspícuos (Figs. 3D, 5A, C). Esôfago muito longo, parte glandular 4–7 vezes mais longa que a muscular (Fig. 3A). Poro excretor ao nível do anel nervoso ou levemente posterior ao mesmo. Deirídios pequenos e simples (Figs. 3F, G, 5D), localizados entre o fim do vestíbulo e o anel nervoso (Fig. 3A).

Descrição do macho (baseada em 6 espécimes, medidas do holótipo entre parênteses): Comprimento total 9,4–11,5 (10,4) mm, largura ao nível do anel nervoso 81–115 (92), da junção esôfago-intestino 109–171 (136), do ânus 99 – 127 (107). Projeções anteriores do pseudolábio 5–9 (6) de altura. Vestíbulo incluindo o prostômio com comprimento 140–165 (155); prostômio medindo 16–26 (21) comprimento, 15–19 (16) largura, em vista lateral. Esôfago muscular com 400–510 (445) comprimento, largura máxima 32–50 (46); esôfago muscular com 2,1–2,9 (2,4) mm comprimento, largura máxima 60–80 (71). Razão entre os comprimentos do esôfago muscular e glandular de 1: 5,1–6,7 (1: 5,2). Comprimento total do esôfago incluindo o vestíbulo representando 29–32 (31)% do comprimento corporal. Anel nervoso, deirídeos e poro excretor situados à 160–220 (198), 157–195 (175) e 200–232 (206) da extremidade anterior, respectivamente. Extremidade posterior curvada ventralmente, com uma ampla asa caudal subventral (Figs. 4A, 5H, 6A). Abertura cloacal delimitada por anel cuticular (Figs. 2A, 4A). Trinta e sete papilas pré-cloacais pedunculadas no total: primeira papila ímpar e sublateral, as restantes formando 17 pares distribuídos em grupos de dois sendo um subventral e um sublateral (Figs. 4A, B, 5H, 6A). Seis pares de papilas pós-cloacais, sendo 5 de pedunculadas e subventrais, e um pequeno par sésil e ventral (Figs. 4A–D, 5G, H, 6A, E). Dois fasmídeos com aberturas muito pequenas localizados posteriormente às papilas sésseis (Figs. 4D, 5G, 6E). Área rugosa formada por três estriações longitudinais serrilhadas, as quais se unem na região anterior da cloaca formando uma única estria simples (Fig. 4A), ou com final descontínuo (Fig. 6A), medindo 920 de comprimento no holótipo. Espículo esquerdo fracamente quitinizado, medindo 222–278 (247) de comprimento, de base reta e porção distal terminando em ponta final, apresentando uma dilatação ventral triangular (Fig. 5F); seu eixo medindo 148–196 de comprimento, representando 60–70 (66)% do comprimento total do espículo. Espículo direito medindo 96 – 112 (102) de comprimento, com base reta, um alargamento mediano e região distal com ponta romba (Fig. 4E). Razão dos comprimentos dos espículos direito e esquerdo 1: 2,2–2,8 (1: 2,4). Cauda cônica com 158–190 (172) de comprimento e extremidade arredondada, provida de uma pequena protuberância subterminal e semi-esférica, direcionada ventralmente (Figs. 4D, 5G, 6E).

Descrição das fêmeas (baseada em 3 espécimes, medidas do alótipo entre parênteses): Comprimento total 10,2–19,9 (14,7) mm, largura ao nível do anel nervoso 100–120 (111), da junção esôfago-intestino 150–260 (188), do ânus 107 – 178 (136). Projeções anteriores do pseudolábio 6–10 (8) de altura (Fig. 3B). Vestíbulo incluindo o prostômio com comprimento de 140–162 (151); prostômio medindo 18–25 (22) comprimento, 11–20 (16) largura, em vista lateral. Esôfago muscular com 400–550 (468) comprimento, largura máxima 51–90 (64); esôfago muscular com 2,8–3,8 (3,2) mm comprimento, largura máxima 75–82 (79). Razão entre os comprimentos do esôfago muscular e glandular de 1: 6,5–7,0 (1: 6,8). Comprimento

total do esôfago incluindo o vestíbulo representando 23–33 (27)% do comprimento corporal. Anel nervoso, deirídeos e poro excretor situados a 177–184 (180), 152–180 (161) e 160–175 (164) da extremidade anterior, respectivamente. Cauda cônica (Fig. 3H) com 88–100 (93) de comprimento, com duas papilas semi-esféricas terminais localizadas subventralmente (Fig. 5F); cada papila com um poro fasmidial muito pequeno em seu centro (Fig. 5F). Vulva levemente pós-equatorial, distando 6,3–11,0 (8,4) da extremidade anterior, representando 55–61 (57)% do comprimento corporal. Vagina muscular dirigida posteriormente (Figs. 1E, 4B). Lábios vulvares não elevados (Figs. 5E, 6B, C). Útero anfidélfico. Ovos completamente desenvolvidos contendo larvas, com parede espessa e casca lisa, medindo $33\text{--}37 \times 2\text{--}27$. Ovos embrionados e larvados com dois filamentos longos em um polo (Figs 3I, 6D).

Resenha Taxonômica e Ecológica.

Hospedeiro tipo: *Holocentrus adscensionis* (Osbeck, 1765) (Beryciformes: Holocentridae).

Sítio de infecção: Intestino e cecos.

Localidade tipo: Baía de Angra dos Reis (23°00'S, 44°10'W), Rio de Janeiro, Brasil.

Prevalência: 4 peixes infectados / 6 analisados.

Intensidade de infecção: $5 \pm 0,3$ (3–7) nematoides por peixe infectado.

Depósito de espécimes: Holótipo, alótipo e parátipos na CHIOC (35879a, b; 35881; 35882; 35880) e na IPCAS (N–1015).

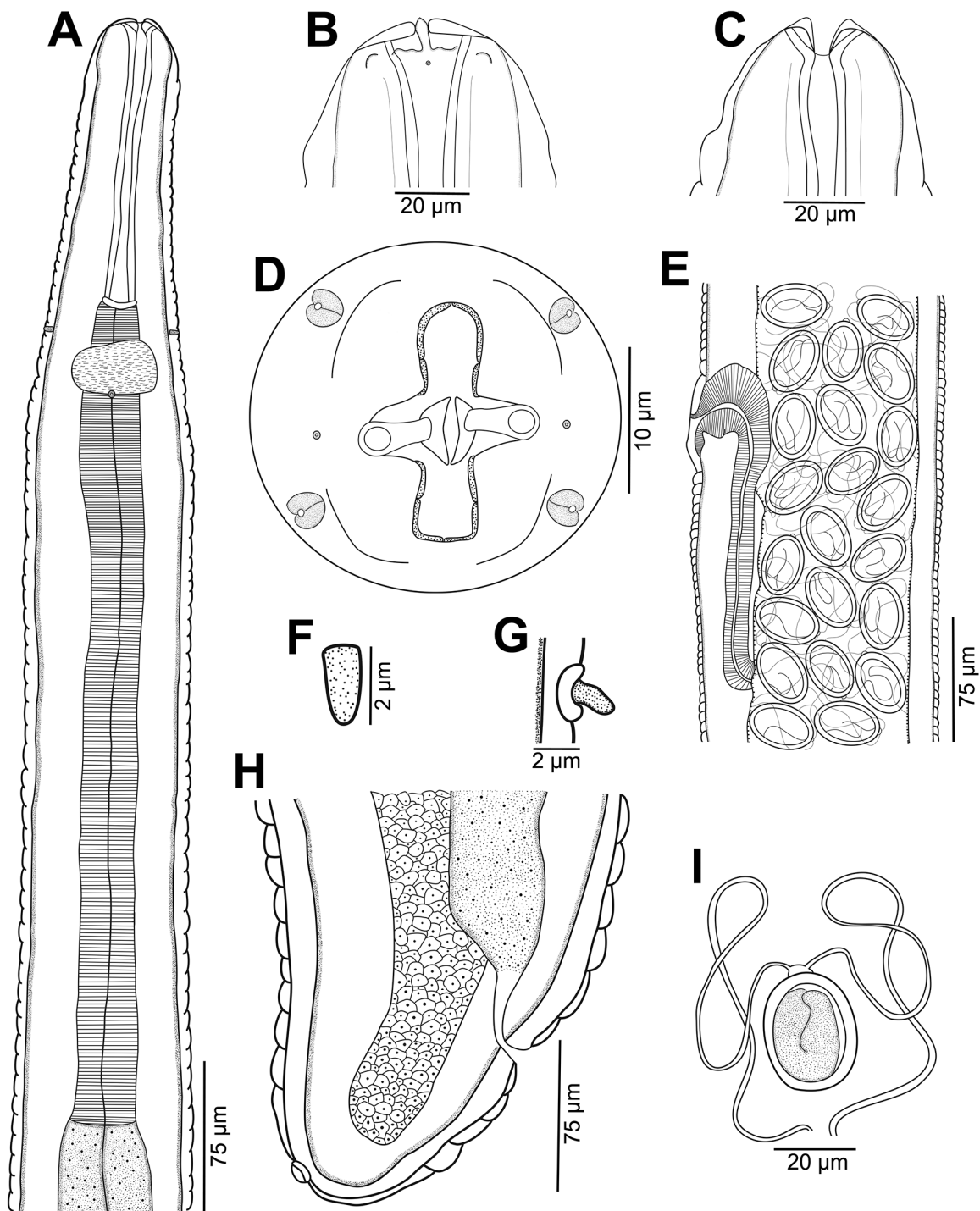


Figura 3. Morfologia de *Comephoronema* sp. parasito em *Holocentrus adscensionis* (Osbeck, 1765) do litoral do Rio de Janeiro, Brasil. A. Extremidade anterior, vista ventral. B, C, D Extremidade cefálica, vistas lateral, dorsoventral e apical. E. Região vulvar contendo ovos larvados, vista lateral. F, G. Deirídio, vistas apical e lateral. H. Região caudal da fêmea, vista lateral. I. Ovos larvados (filamentos não representados totalmente).

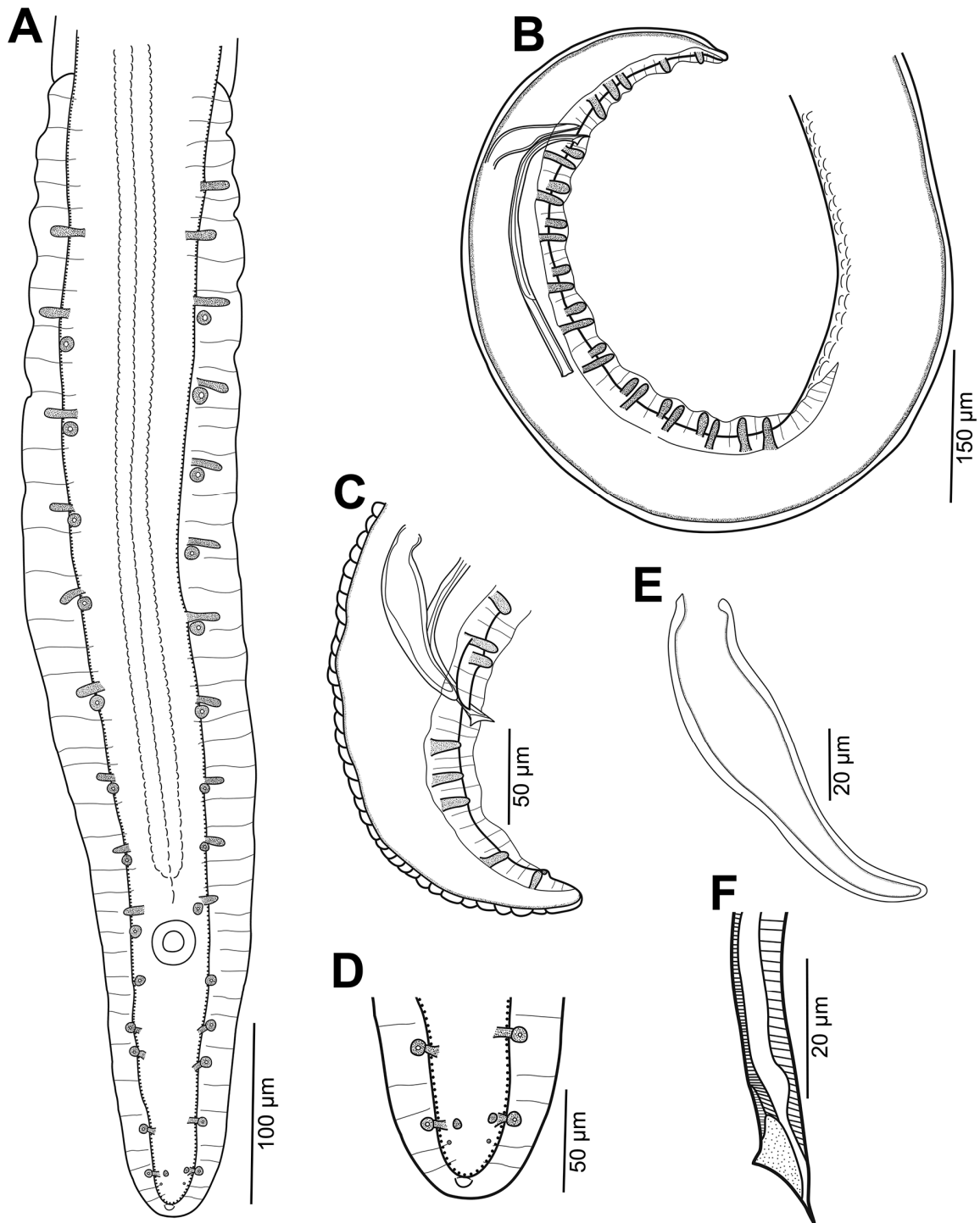


Figura 4. Morfologia dos machos de *Comephoronema* sp. parasito em *Holocentrus adscensionis* (Osbeck, 1765) do litoral do Rio de Janeiro, Brasil. A, B. Extremidade posterior, vistas ventral e lateral. C. Região caudal, vista lateral. D. Porção terminal da cauda, vista ventral. E. Espículo direito. F. Extremidade distal do espículo esquerdo, vista lateral.

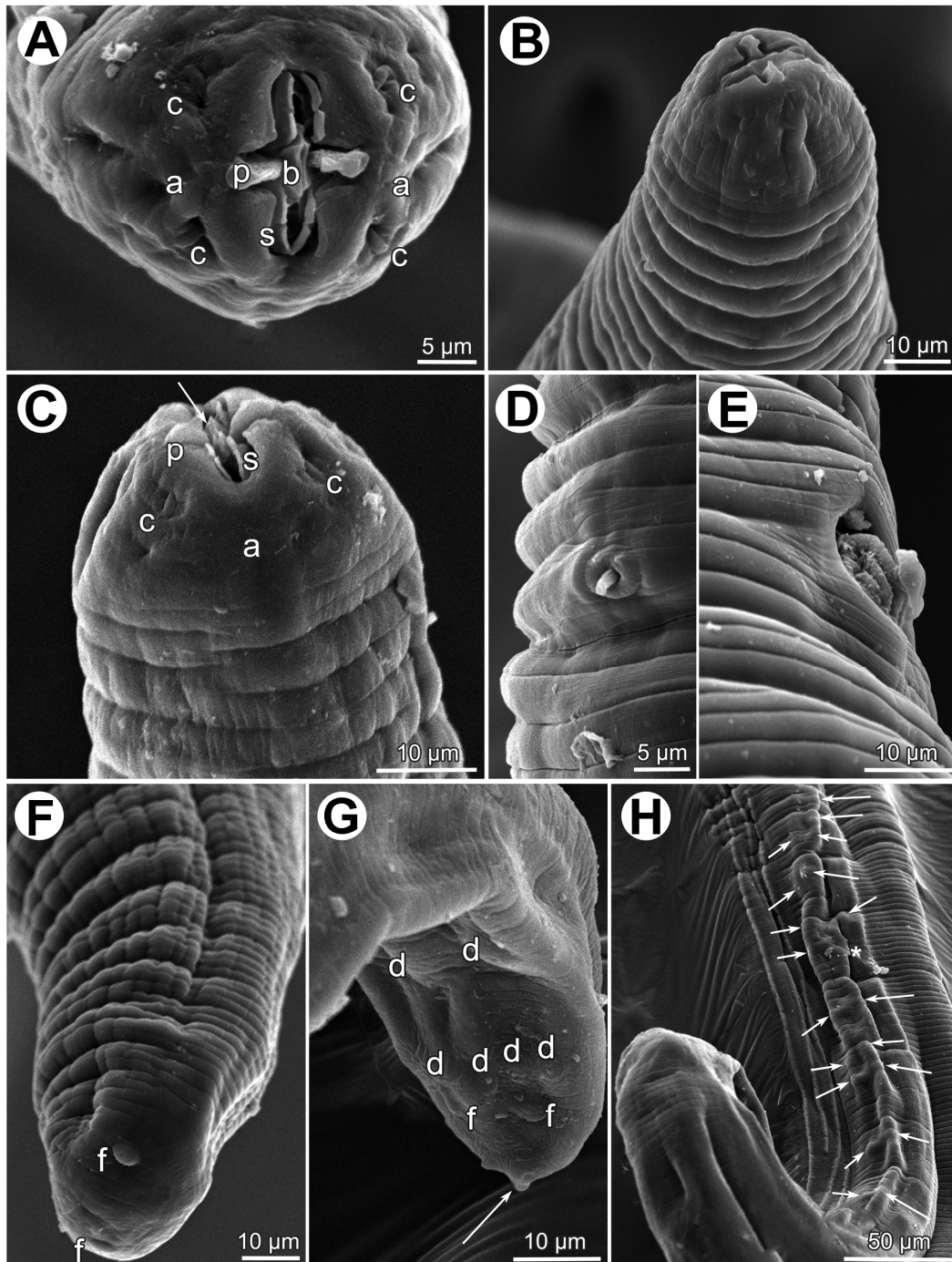


Figura 5. Eletromicrografias de MEV de *Comephoronema* sp. parasito em *Holocentrus adscensionis* (Osbeck, 1765) do litoral do Rio de Janeiro, Brasil. A, B, C. Extremidade cefálica, vistas apical e subapical (seta indica placa bidentada). D. Deirídio. E. Vulva. F. Cauda da fêmea, vista subapical. G. Região caudal do macho (seta indica protuberância terminal). H. Extremidade posterior do macho (setas indicam papilas caudais, asterisco indica papila danificada). *Abreviações:* a, anfídeo; b, placa bidentada; c, papila cefálica; d, papila caudal; f, poros fasmidiais; p, pseudolábio; s, lábio sub-mediano.

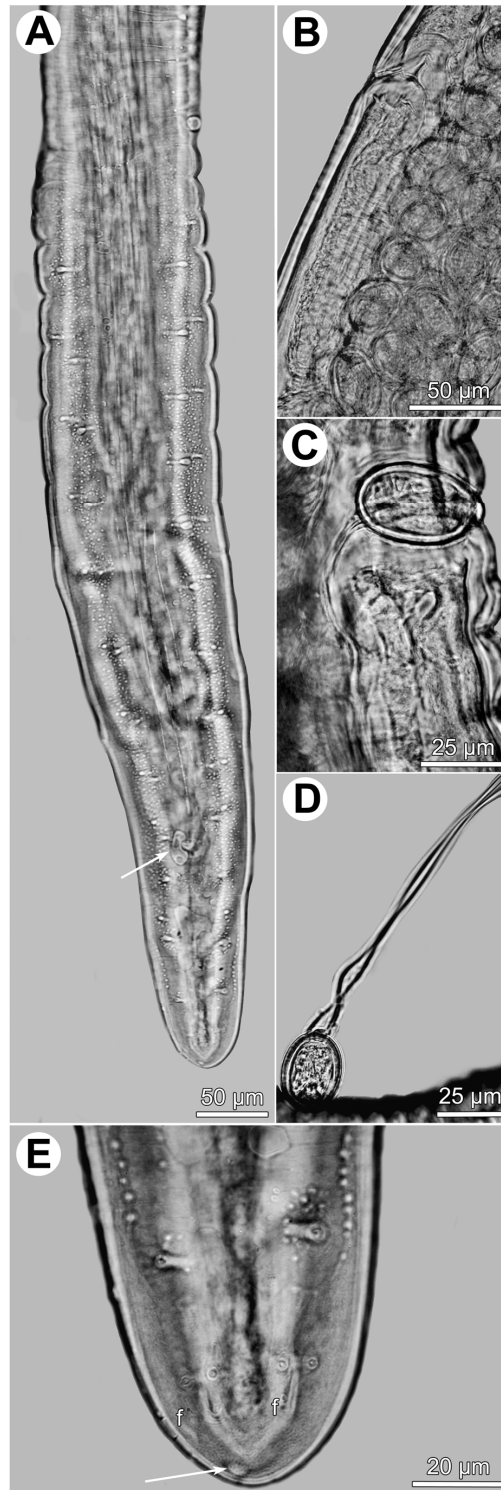


Figura 6. Fotomicrografias de *Comephoronema* sp. parasito em *Holocentrus adscensionis* (Osbeck, 1765) do litoral do Rio de Janeiro, Brasil. A. Extremidade posterior do macho, vista ventral. B. Vulva e útero com ovos, vista lateral. C. Ovo na porção terminal da vulva, vista lateral. D. Ovo após ser ejetado da vulva. E. Porção terminal da cauda macho (seta indica protuberância terminal). Abreviação: f, poro fasmidial.

Comentários: O material analisado no presente estudo pertence ao gênero *Comephoronema* Layman, 1933 por possuir abertura oral oval, quatro lábios submedianos, quatro sublábios submedianos e bilobados, dois pseudolábios laterais e estreitos, quatro papilas cefálicas simples, e principalmente pelo fato dos machos apresentarem muitas papilas pré-cloacais (MORAVEC; KLIMPEL, 2007). As espécies do gênero *Ascarophis*, o qual é morfologicamente próximo de *Comephoronema*, possuem no máximo quatro pares de papilas pré-cloacais, enquanto que espécies de *Comephoronema* apresentam ao menos seis pares (MORAVEC; KLIMPEL, 2007).

Atualmente, existem quatro espécies válidas no gênero *Comephoronema*, duas registradas em peixes de água doce da Eurásia Paleártica chamadas, *C. werestschagini* Layman, 1933 e *C. oschmarini* Trofimenko, 1974 e duas em peixes marinhos, *C. beatriceinsleyae* (Holloway & Klewer, 1966) na Antártica e *C. macrochiri* Moravec & Klimpel, 2007 na dorsal Meso-Atlântica (MORAVEC; KLIMPEL, 2007).

A característica mais marcante que difere *Comephoronema* sp. de suas congênicas é o alto número de papilas pré-cloacais nos machos. Além disso, a nova espécie apresenta algumas características na região cefálica ainda não descritas nas outras espécies do gênero, i.e., papilas cefálicas bilobadas e uma placa bidentada na margem interna do pseudolábio.

Comephoronema sp. é morfologicamente próximo de *C. macrochiri* parasito de *Halosauropsis macrochir* (Günther, 1878) (Notacanthiformes: Holosauridae) descrito por Moravec & Klimpel (2007). Todavia, *C. macrochiri* possui menor número de papilas pré-cloacais (6 vs. 18 pares e 1 ímpar), os machos são menores (4,5–7,4 vs. 9,4–11,5 mm), o espículo esquerdo é maior (297–375 vs. 222–278) e razão entre os comprimentos dos espículos diferente (1: 3,3–3,7 vs. 1: 2,2–2,8) (MORAVEC; KLIMPEL, 2007).

A nova espécie se difere da outra espécie marinha *C. beatriceinsleyae*, pois a primeira apresenta ovos com filamentos em apenas um polo, enquanto que a última possui ovos com filamentos em ambos os polos. Além disso, *Comephoronema* sp. possui espículos esquerdo menor (222–278 vs. 485–571) e razão entre os comprimentos dos espículos diferente (1: 2,2–2,8 vs. 1: 4,0–5,4) do que *C. beatriceinsleyae*.

As duas espécies parasitas em peixes de água doce, *C. werestschagini* e *C. oschmarini* diferem claramente de *Comephoronema* sp., pois seus ovos maduros apresentam tufo com numerosos filamentos em ambos os polos. Adicionalmente, *C. werestschagini* é evidentemente menor que a nova espécie (machos medindo 3,9–6,1 vs. 9,4–11,5 mm; fêmeas 6,8–7,4 vs. 10,2–19,9 mm) (TROFIMENKO, 1974; MORAVEC; KLIMPEL, 2007). *Comephoronema oschmarini* possui deirídios com forma diferente (bifurcados), poro excretor muito posterior ao nível do anel nervoso e a razão vestibulo / comprimento do corpo menor que a da nova espécie (machos 20–24 vs. 29–32%; fêmeas 14 vs. 23–33%) (MORAVEC et al., 2007).

4.4 DISCUSSÃO

A taxonomia dos gêneros que compõem a família Cystidicolidae é ainda mal resolvida e complicada, sendo que atualmente, existem 27 gêneros propostos (MORAVEC, 2007; MORAVEC; JUSTINE, 2010; MORAVEC; SOBECKA, 2012). Diversas espécies de cystidicolídeos provavelmente permanecem classificadas de forma errônea, principalmente aquelas inclusas em *Ascarophis*, o qual representa um tipo de gênero “catchall” nesta família de nematoide (FERRER et al., 2005; MORAVEC; KLIMPEL, 2007). Chabaud (1975) sinonimizou *Comephoronema* e *Cystidicola* Fischer, 1978, porém posteriormente Moravec & Nagasawa (1999) validaram novamente ambos os gêneros, com base no argumento de que *Comephoronema* apresenta mais afinidades com *Salvelinema* Trofimenco, 1962 do que com *Cystidicola*, principalmente com base no grande número de papilas pré-cloacais nos machos. De fato e em acordo com Moravec & Klimpel (2007), estes gênero podem representar sinonímia, porém mais estudos são necessários para conclusões mais sólidas.

Neste mesmo contexto, diversos gêneros de cystidicolídeos são bastante similares entre si (e.g. *Ascarophis*, *Caballeronema* Margolis, 1977, *Capillospirura* Skrjabin, 1942, *Cystidicoloides* Skinker, 1931, *Pseudascarophis* e *Similascarophis* Muñoz, González & George-Nascimento, 2004), com apenas minutas diferenças representadas por detalhes de suas estruturas cefálicas, as quais são visíveis somente em MEV. Além disso, existe outro problema pelo fato de que várias características intermediárias destas estruturas cefálicas podem ser interpretadas mais como variações interespecíficas do que como intergenéricas (MORAVEC; KLIMPEL, 2007).

A presença de quatro papilas cefálicas submedianas é característica em nematoides espirunina (MORAVEC, 2000) e, essas estruturas aparentemente inconspícuas em *Pseudascarophis kyphosi*, provavelmente não foram observadas por Ko et al., 1985 quando o gênero foi proposto, e agora são registradas em *Pseudascarophis* sp. aqui descrita. A presença de asa lateral é uma característica incomum entre os cystidicolídeos, exceto em dois gêneros, i.e. *Ctenascarophis* Mamaev, 1968 e *Metabronema* (Taylor, 1925) (CRITES et al., 1993; MORAVEC; JUSTINE, 2007). Aparentemente, esta estrutura está ausente em *P. kyphosi* uma vez que não foi descrita por Ko et al. (1985), enquanto que em *Pseudascarophis* sp. ela é claramente visualizada. Todavia, para que maior conclusão a respeito da ausência ou presença deste caráter no gênero *Pseudascarophis*, este precisa ser revisado e todas as espécies atualmente conhecidas melhor estudadas, principalmente porque algumas delas parecem estar alocadas errôneamente neste gênero.

A inclusão de *Pseudascarophis tropica* em *Pseudascarophis* é dúbia e baseada em critérios diagnósticos ambíguos, como destacado anteriormente. Dois dos principais caracteres utilizados pelo autor foram “a estrutura da extremidade da cabeça, e os sistemas digestório e reprodutivo” (SLOV’EVA, 1996), o que representa uma frase vaga e sem sentido específico. Além disso, esta espécie é descrita apresentando quatro formações tipo dentes levemente protraídas para fora da abertura oral, porém estas estruturas não estão representadas nas ilustrações fornecidas por Slov’eva (1996) e os espécimes não foram estudados através de MEV. Por isso, e pela grande proximidade morfológica e de ocorrência de hospedeiro, desta espécie com *Ascarophis parupenei* (ver comentários na descrição de *Pseudascarophis* sp.), *P. tropica* é transferida para o gênero *Ascarophis* como *Ascarophis tropica* (Slov’eva, 1996). Apesar de *Pseudascarophis genypteri* também aparentemente não pertencer a este gênero, esta espécie permanece retida em *Pseudascarophis* até que novas análises sejam realizadas.

O gênero *Comephoronema* apresenta cinco espécies (incluindo aquela aqui descrita), as quais são parasitos do trato digestório de peixes marinhos e de água doce (MORAVEC et al., 2007). *Comephoronema werestschagini*, espécie tipo do gênero, está registrada parasitando peixes escorpaeniformes (família Abyssocotidae, Comephoridae,

Cottocomephoridae) endêmicos a região do Lago Baikal, Sibéria, Rússia, na Região Paleártica (LAYMAN, 1933). A outra espécie que ocorre em ambiente de água doce, *C. oschmarini*, é encontrada em *Lota lota* (Linnaeus, 1758) (Gadiformes: Lotidae) ao longo da Europa e da Sibéria, e parece ser espécie específica deste peixe (TROFIMENKO, 1974; MORAVEC et al., 2007). É interessante notar que ambas as espécies supracitadas apresentam a morfologia dos ovos bastante similar, ou seja, tufo de numerosos filamentos em ambos os polos, sendo que esta característica não está presente em nenhuma das espécies de *Comephoronema* que parasitam peixes marinhos.

As espécies marinhas de *Comephoronema* estão representadas por *C. beatriceinsleyae* parasito de *Lycodictes* spp. (Perciformes: Zoracidae) em McMurdo Sound e Mar de Weddell na Antártica (HOLLOWAY; KLEWER, 1966; ROCKA, 2002, 2004) e *C. macrochiri* encontrado no peixe abissal *Halosaurus macochir* (Günther, 1878) da drosia Meso-Atlântica (MORAVEC; KLIMPEL, 2007). Similar a *Comephoronema* sp., estas espécies apresentam uma redução no número de filamentos polares dos ovos (dois a quatro filamentos somente); esta sinapomorfia pode indicar uma relação mais estreita entre as espécies marinhas. *Comephoronema* sp. representa o primeiro registro de ocorrência do gênero na Região Neotropical do Atlântico, e como a primeira espécie de nematoide parasitando *Holocentrus adscensionis*.

4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, R. C.; CHABAUD, A. G.; WILLMOTT, S. **Keys to the nematode parasites of vertebrates: archival volume.** CABI Publishing, Wallingford, Reino Unido. 2009. 480p.

CHABAUD, A. G. **Keys to the Genera of the Order Spirurida. Part 2. Spiruroidea, Habronematoidea and Acuárioidea.** In: R.C. Anderson, A.G. Chabaud and S. Willmott (Eds.), *CIH Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates.* Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, Reino Unido, p. 29–58, 1975.

CRITES J. L.; OVERSTREET, R. M.; MAUNG, M. *Ctenascarophis lesteri* n. sp. and *Prospinitectus exiguous* n. sp. (Nematoda: Cystidicolidae) from the skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*. **Journal of Parasitology**, v. 79, p. 847–859, 1993.

FERRER, E.; AZNAR, F. J.; BALBUENA, J. A.; KOSTADINOVA, A.; RAGA, J. A.; MORAVEC, F. A new cystidicolid nematode from *Mullus surmuletus* (Perciformes: Mullidae) from the western Mediterranean. **Journal of Parasitology**, v. 91, p. 335–344, 2005.

FIGUEIREDO, J. L.; MENEZES, N. A. **Manual de Peixes Marinhos do Sudeste do Brasil III. Teleostei (2).** Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. 1985. 90 p.

FROESE, R.; PAULY, D. (Eds.) FishBase. **World Wide Web electronic publication.** Disponível em: <www.fishbase.org>, version 05/2014. Acesso em: janeiro de 2015.

HOLLOWAY, H. L.; KLEWER, H. L. *Rhabdochona beatriceinsleyae* n. sp. (Nematoda: Spiruridea: Rhabdochonidae), from the Antarctic zoarcid, *Rhigophila dearborni*. **Transactions of the American Microscopy Society**, v. 88, p. 460–471, 1966.

KO, R. C.; MARGOLIS, L.; MACHIDA, M. *Pseudascarophis kyphosi* n.gen., n.sp. (Nematoda: Cysticolidae) from the stomach of the fish *Kyphosus cinerascens* (Forsk.) from Japan. **Canadian Journal of Zoology**, v. 63, p. 2684–2688, 1985.

LAYMAN, E. M. Parasitic worms of fishes of Lake Baikal. **Trudy Baikalskoy Limnologicheskoy Stantsii**, v. 4, p. 5–99 (em russo), 1933.

LUQUE, J. L.; AGUIAR, J. C.; VIEIRA, F. M.; GIBSON, D. I.; SANTOS, C. P. Checklist of Nematoda associated with the fishes of Brazil. **Zootaxa**, v. 3082, p. 1–88, 2011.

MENEZES, N. A.; FIGUEIREDO J. L. **Manual de peixes marinhos do Brasil V. Teleostei (4).** Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. 1985. 105 p.

MORAVEC, F. **Nematodes of the Freshwater Fishes of the Neotropical Region.** Academia, Prague, República Tcheca. 1998. 464 p.

MORAVEC, F. Some aspects of the taxonomy and biology of adult spirurine nematodes parasitic in fishes: a review. **Folia Parasitologica**, v. 54, p. 239–257, 2007.

- MORAVEC, F.; GONZÁLEZ-SOLÍS, D. Structure of the cephalic end of *Ascarophis mexicana* (Nematoda: Cystidicolidae), as revealed by SEM. **Folia Parasitologica**, v. 54, p. 155–156, 2007.
- MORAVEC, F.; HANZELOVÁ, V.; GERDEAUX, D. New data on the morphology of *Comephoronema oschmarini* (Nematoda, Cystidicolidae), a little-known gastrointestinal parasite of *Lota lota* (Teleostei) in Palaeartic Eurasia. **Acta Parasitologica**, v. 52, p. 135–141, 2007.
- MORAVEC, F.; JUSTINE, J. L. Redescription of *Metabrenema magnum* (Nematoda: Cystidicolidae), a swimbladder parasite of the carangid fish *Gnathanodon speciosus* off New Caledonia. **Folia Parasitologica**, v. 54, p. 293–300, 2007.
- MORAVEC, F.; JUSTINE, J. L. Two cystidicolids (Nematoda, Cystidicolidae) from marine fishes off New Caledonia. **Acta Parasitologica**, v. 54, p. 341–349, 2009.
- MORAVEC, F.; JUSTINE, J. L. Two new genera and species of cystidicolids (Nematoda, Cystidicolidae) from marine fishes off New Caledonia. **Parasitology International**, v. 59, p. 198–205, 2010.
- MORAVEC, F.; KLIMPEL, S. A new species of *Comephoronema* (Nematoda: Cystidicolidae) from the stomach of the abyssal halosaur *Halosauropsis macrochir* (Teleostei) from the Mid-Atlantic Ridge. **Journal of Parasitology**, v. 93, p. 901–906, 2007.
- MORAVEC, F.; KLIMPEL, S. Two new species of cystidicolid nematodes from the digestive tract of the deep-sea fish *Coryphaenoides mediterraneus* (Giglioli) (Macrouridae) from the Mid-Atlantic Ridge. **Systematic Parasitology**, v. 73, p. 37–47, 2009.
- MORAVEC, F.; KLIMPEL, S.; KARA, E. *Neoascarophis macrouri* n. sp. (Nematoda: Cystidicolidae) from the stomach of *Macrourus berglax* (Macrouridae) in the eastern Greenland Sea. **Systematic Parasitology**, v. 63, p. 231–237, 2006.
- MORAVEC, F.; NAGASAWA, K. Morphology and taxonomy of *Salvelinema* species (Nematoda: Cystidicolidae), swimbladder parasites of Pacific area salmonids. **Folia Parasitologica**, v. 46, p. 123–131, 1999.
- MORAVEC, F.; ORECCHIA, P.; PAGGI, L. Three interesting nematodes from the fish *Parupeneus indicus* (Mullidae, Perciformes) of the Indian Ocean, including a new species, *Ascarophis parupenei* sp. n. (Habronematoidea). **Folia Parasitologica**, v. 35, p. 47–57, 1988.
- MORAVEC, F.; SOBECKA, E. *Collarinema eutriglae* n. sp. (Nematoda: Cystidicolidae) a new gastric parasite of the scorpaeniform fish *Eutrigla gurnardus* (Osteichthyes: Triglidae) in the North Sea, with remarks on the systematic status of *Collarinema* Sey, 1970. **Systematic Parasitology**, v. 81, p. 71–77, 2012.
- MUÑOZ, G.; GEORGE-NASCIMENTO, M. *Pseudascarophis genypteri* n. sp. (Nematoda: Cystidicolidae) parasite from the red ling *Genypterus chilensis* off Chile. **Journal of Parasitology**, v. 87, p. 1106–1111, 2001.

PEREIRA, A. N.; TIMI, J. T.; VIEIRA, F. M.; LUQUE, J. L. A new species of *Neoascarophis* (Nematoda: Cystidicolidae) parasitic in *Mullus argentinae* (Perciformes: Mullidae) from the Atlantic coast of South America. **Folia Parasitologica**, v. 59, p. 64–70, 2012.

ROCKA, A. Nematodes of the Weddell Sea (Antarctic). **Acta Parasitologica**, v. 47, p. 294–299, 2002.

ROCKA, A. Nematodes of the Antarctic fishes. *Polish Polar Research*, v. 25, p. 135–152, 2004.

SOLOV'EVA, G. F. *Pseudascarophis tropica* n. sp. (Nematoda: Spirurina), a parasite of South China Sea fishes. **Parazitologiya**, v. 25, p. 556–558 (em russo), 1996.

TROFIMENKO, V. Ya. New data on nematodes of the genera *Cottocomephoronema* and *Comephoronema* parasites of burbot. **Trudy GELAN**, v. 24, p. 199–207 (em russo), 1974.

CAPÍTULO IV -

**NEMATOIDES KATHLANÍDEOS (COSMOCERCOIDEA:
KATHLANIIDAE) PARASITOS EM PEIXES: REDESCRIÇÃO E
ESTUDO MOLECULAR DE *Spectatus spectatus* TRAVASSOS, 1923,
INCLUINDO EMENDA DO GÊNERO.**

RESUMO

Spectatus spectatus Travassos, 1923 (Nematoda: Kathlaniidae) encontrado no intestino de *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) (Characiformes: Serrasalminidae) do rio Miranda, Mato Grosso do Sul, Brasil é redescrito com base na análise morfológica e molecular de material recém coletado, e re-avaliação dos espécimes tipo e todos os vouchers depositados na Coleção Helminológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC). Depois das análises, diversas características importantes foram observadas, incluindo aquelas descritas de forma incorreta e ausentes na descrição original, i.e., a morfologia dos lábios, presença de lábios suplementares, faringe e anel cuticular circundando a abertura oral associado a um aparato cuticular complexo anterior à faringe, o número e arranjo corretos das papilas caudais (13 pares mais uma ímpar) e a posição correta do anel nervoso. Devido ao fato de *S. spectatus* ser a espécie tipo do gênero, a diagnose genérica do mesmo foi emendada, incluindo essas importantes características aqui observadas. *Chabaudinema* Díaz-Ungría, 1968, outro gênero de kathlaniídeo, e sua espécie tipo *C. americanum*, foram sinonimizadas com *Spectatus* e *S. spectatus*, respectivamente, devido à ausência de diferenças entre estes táxons, as quais foram confirmadas depois das presentes observações. Os dados moleculares revelaram que *S. spectatus* ocupa uma posição basal entre os nematoides da superfamília Cosmocercoidea e, claramente difere de seu gênero morfológicamente próximo *Falcaustra* Lane, 1915. As análises filogenéticas mostraram que o sistema morfológico adotado para classificação das famílias de Cosmocercoidea é artificial, uma vez que todas elas são parafiléticas com representantes agrupando-se separadamente e formando ramos com suporte alto em diferentes clados. Este é o primeiro estudo molecular e morfológico utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV) de *S. spectatus*.

Palavras-chave: Taxonomia morfológica, Taxonomia molecular, Characiformes.

ABSTRACT

Spectatus spectatus Travassos, 1923 (Nematoda: Kathlaniidae) found in the intestine of *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) (Characiformes: Serrasalminidae) from River Miranda, Mato Grosso do Sul, Brazil was redescribed based on molecular and morphological evaluation of newly collected material, and analyzes of type and voucher specimens from the Coleção Helminológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC). After evaluation, several important features could be observed, including those that were lacking, overlooked and not clear in the original description i.e., morphology of lips, presence of supplementary lips, pharynx and cuticular ring surrounding the oral opening associated with complex cuticular apparatus anterior to pharynx, the correct number and arrangement of caudal papillae (13 pairs plus one unpaired) and the correct position of the nerve ring. Since *S. spectatus* is the type species of *Spectatus*, the generic diagnosis was emended including these new important features. *Chabaudinema* Díaz-Ungría, 1968, another genus of kathaliid, and *C. americanum* its type species, were synonymised with *Spectatus* and *S. spectatus*, respectively, due to the lack of differences between these taxa, that were confirmed after our observations. The molecular data has revealed that *S. spectatus* occupies a basal position among the Cosmocercoidea and clearly differs from its closely-related genus *Falcaustra* Lane, 1915. Phylogenetic analysis showed that the morphological system adopted to classify the families of Cosmocercoidea is artificial, since all the families are paraphyletic with representatives not nesting together and forming well-supported branches in different clades. This study represents the first assessment of molecular and ultrastructural (base on SEM) data of *S. spectatus*.

Key-words: Morphological taxonomy, Molecular taxonomy, Characiformes.

5.1 INTRODUÇÃO

O gênero *Spectatus* Travassos, 1923 (Nematoda: Kathlaniidae) inclui apenas duas espécies de nematoides, *S. spectatus* Travassos, 1923 e *S. cichlassomae* Moravec & Baruš, 1971, parasitos do intestino posterior de peixes dulcícolas das Américas Central e do Sul (MORAVEC, 1998). Sua espécie tipo, *S. spectatus*, é registrada parasitando principalmente peixes da família Serrasalminidae, porém, também ocorrem em doidadídeos (Doradidae), nos rios do centro-oeste ao sul do Brasil, e parte central a leste da Argentina (TRAVASSOS, 1923; TRAVASSOS; KOHN, 1965; HAMANN, 1982a, b; MORAVEC, 1998; CAMPOS et al., 2009). Apesar de sua ampla ocorrência, a caracterização morfológica de *S. spectatus* e, conseqüentemente, a diagnose do gênero, ainda é pobre carecendo de detalhes importantes e assim causando problemas na diferenciação entre *Spectatus* e os gêneros de kathalniídeos, *Falcaustra* Lane, 1915 e *Chabaudinema* Díaz-Ungría, 1968 (ver BAKER, 1980). Desta forma, é importante obter dados morfológicos e, principalmente moleculares, mais detalhados sobre esses gêneros a fim de clarificar suas relações.

Neste trabalho é fornecida a diagnose emendada de *Spectatus* e a redescrição de *S. spectatus* (incluindo micrografias de varredura), com base em material recém coletado e reavaliação do material tipo e diversos vouchers depositados na Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC). Adicionalmente, as relações filogenéticas entre *S. spectatus* e outros nematoides da superfamília Cosmocercoidea foram analisadas pela primeira vez.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Coleta dos hospedeiros e parasitos

Um indivíduo da espécie *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) (Characiformes: Serrasalminidae) (comprimento total de 40,5 cm) foi coletado, através da pesca artesanal, no rio Miranda, Mato Grosso do Sul, Brasil. Os hospedeiros foram identificados por especialistas em ictiologia da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS). A nomenclatura e classificação taxonômica do hospedeiro foram atualizadas de acordo com Froese & Pauly (2014). O peixe foi eutanasiado por congelamento lento, seu trato digestório retirado e os seguintes órgãos individualizados em placas de petri para análise parasitológica: esôfago, estômago e intestino. Os nematoides encontrados foram lavados em solução fisiológica (NaCl a 0.9% em H₂O destilada) ainda vivos, fixados em solução de formol a 4% quente e acondicionados em etanol 70°GL. Para as análises moleculares a parte mediana do corpo de alguns espécimes foi fixada em etanol 96–99%, e as partes restantes fixadas para morfologia em formol.

5.2.2 Análise morfológica dos parasitos

Para as análises morfológicas os parasitos foram clarificados em glicerina montados entre lâmina e lamínula, e observados sob microscópio de luz Olympus BX51. As ilustrações foram feitas utilizando um tubo de desenho acoplado ao microscópio óptico. As medidas apresentadas estão em micrometros (µm), a não ser quando indicado de forma diferente. Alguns espécimes utilizados para microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram desidratados em uma série crescente de concentrações de etanóis, secos em hexametil disilazano (HDMS), metalizados com ouro e examinados no microscópio eletrônico JEOL JSM-740 1F, operando a 4 kV. Foram re-examinados os espécimes tipo de *Spectatus spectatus* e todos os seus respectivos vouchers, bem como aqueles identificados como *Spectatus* sp., depositados na Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC) (ver Tabela 1 para lista de espécimes e Tabela 2 para medidas morfométricas). Espécimes estudados no presente trabalho foram depositados na Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC). A classificação sistemática dos parasitos está de acordo com Moravec (1998) e Anderson et al. (2009).

5.2.3 Análises moleculares dos parasitos

As porções anteriores e posteriores destes espécimes, i.e. hologenóforos (espécimes voucher dos quais as amostras para análises moleculares foram extraídas; ver ASTRIN et al., 2013 para mais detalhes) foram identificados com base na morfologia. Os táxons adicionais utilizados nas análises filogenéticas foram obtidos através do GenBank e estão listados na Tabela 3. Estes táxons foram selecionados de acordo com a proximidade taxonômica (Ordem, Superfamília, Família e Gênero), disponibilidade e confiabilidade de sequências. Os grupos externos foram escolhidos segundo análises filogenéticas previamente disponíveis na literatura.

O DNA genômico foi isolado utilizando o kit de extração DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Hilden, Germany), de acordo com as instruções do fabricante. A subunidade menor (SSU) do rDNA (gene 18S) foi amplificada usando os oligonucleotídeos iniciadores PhilonemaF + PhilonemaPCRr e protocolos descritos por Černotíková et al. (2011).

Os produtos da PCR foram purificados por tratamento enzimático utilizando exonuclease I e fosfatase alcalina (WERLE et al., 1994) e seqüenciados no GATC Biotech (Konstanz, Germany) usando os mesmos oligonucleotídeos iniciadores da PCR e mais internos adicionais WF760 e WR800 (Černotíková et al., 2011).

Os contíguos das sequências foram alinhados por correspondência no programa Geneious (Geneious ver. 7 criado por Biomatters, disponível em <http://www.geneious.com/>) e o consenso das sequências depositados na base de dados do GenBank sobre o número de acesso XXXXXX–XXXXXX (SSU rDNA).

O consenso das sequências referentes ao gene 18S foram alinhados separadamente usando o algoritmo E-INS-i do programa MAFFT (KATO et al., 2002) implementado no programa Geneious, e as posições alinhadas de forma ambígua foram excluídas. Os alinhamentos dos genes foram então submetidos às análises de máxima parcimônia (MP) e inferência Bayesiana (IB). As árvores filogenéticas das análises de MP e IB foram calculadas e construídas a partir do modelo de evolução GTR+I+G usando os plug-ins PHYML (GUINDON; GASCUEL, 2003) e MrBayes (HUELSENBECK; RONQUIST, 2001) do programa Geneious, respectivamente. O modelo evolutivo foi escolhido utilizando o programa jModelTest 2 (GUINDON; GASCUEL, 2003; DARRIBA et al., 2012). A análise de IB foi rodada por 2×10^6 generations, com amostragem de toda 500ª árvore e descartando uma fração “burn-in” de 55×10^5 árvores. O suporte nodal para a análise de MP foi estimado por 100 replicações não paramétricas de bootstrap.

Tabla 1. Lista dos espécimes de *Spectatus* Travassos, 1923 depositados na Coleção Helminológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC) os quais foram re-examinados no presente trabalho.

Nº de acesso	Identificação dos espécimes	Status dos espécimes	Comentários
8626; 1654; 1656; 20737; 20746	<i>Spectatus</i> sp.	Vouchers	Mal preservado; identificação específica impossível
1655	<i>Spectatus</i> sp.	Vouchers	Mal preservado; somente cápsula bucal visível indicando que os espécimes representam <i>Camallanus</i> sp.
4049; 4051-53; 4060; 4078; 11102-11104	<i>Spectatus spectatus</i>	Vouchers	Mal preservado; identificação específica impossível
14724-27; 14744; 14745; 14749; 14752; 16054-56; 20507; 20735-36; 20738-45; 20750-53	<i>Spectatus spectatus</i>	Vouchers*	Mal preservado; possível de se observar algumas estruturas e realizar medidas (ver comentários e discussão)
37498a, b	<i>Spectatus spectatus</i>	Vouchers*	Bem preservados; possível medir e observar quase todas estruturas
20747	<i>Spectatus spectatus</i>	Machos tipo*	4 espécimes na mesma lâmina; mal preservados mas possível visualizar papilas caudais e outras estruturas
20748	<i>Spectatus spectatus</i>	Fêmeas tipo*	4 espécimes na mesma lâmina; possível identificar ao nível específico
20749	<i>Spectatus spectatus</i>	Parátipo*	1 fêmea mal preservada; identificação específica impossível; falta a parte anterior do corpo, espécime fragmentado

*espécimes utilizados no presente estudo para as análises morfométricas e morfológicas

Table 2. Medidas comparativas de *Spectatus spectatus* Travassos, 1923 depositados na Coleção Helminológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC) e do presente trabalho, de diferentes hospedeiros definitivos e localidades. NM = não mensurado.

Hospedeiro	<i>Piaractus brachypomus</i> (Cuvier, 1818)*		<i>Piaractus mesopotamicus</i> (Homberg, 1887)‡			Pacú (espécie não identificada)	
	rio São João, MT†	rio Salobra, MT	Pq. Nac. do Pantanal, MS	rio Miranda, MS§	rio Paraná, SP	rio Salobra, MS	rio Paraná, SP
Macho	n = 5	n = 5	n = 1	n = 2	n = 5	n = 5	n = 2
Comprimento (mm)	12,7-13,1	16,3-18,8	17,2	17,1-17,7	21,7-23,0	15,9-17,5	20,4-21,6
Largura	580-766	NM	790	829-928	917-1000	540-610	662
Faringe	60-63	54-72	43	57-90	67-78	47-68	69
Corpo (mm)	13,1-13,7	1,6-1,7	1,3	1,4-1,5	1,6-1,7	1,6-1,8	1,1-2,0
Ístimo	270-341	306-388	314	373-390	281-363	223-420	308-383
Comprimento do bulbo	251-275	172-260	212	223-266	241-283	236-341	228-397
Largura do bulbo	295-316	230-289	231	292-320	296-341	290-319	353-362
Razão esôfago/comprimento (%)	14-15	11-13	11	12	10-11	13-14	10-13
Anel nervo ao ápice anterior	445-472	484-541	420	512	482-569	486-555	NM
Poros excretor ao ápice anterior (mm)	1,4	1,6-1,7	1,4	1,5-1,6	1,7-1,9	1,6-1,8	1,9-2,0
Gubernáculo	218-279	241-278	235	231-272	220-294	245-273	266-275
Espículo	832-879	831-887	955	751-906	867-1000	788-860	909-934
Razão espículo/comprimento (%)	6,6-6,7	4,5-5,1	5,6	4,2-5,3	3,8-4,6	4,5-5,1	4,3-4,4
Cauda	383-525	507-592	515	556-563	442-631	380-573	446-577
Fêmea	n = 6	n = 5	n = 1	n = 2	n = 5	n = 5	n = 1
Comprimento (mm)	13,9-21,1	16,6-20,7	24,1	18,4-19,3	21,7-23,1	16,5-17,5	23,7
Largura	924-947	NM	NM	903-939	NM	609-709	721
Faringe	74-85	50-82	70	59-92	62-82	65-80	NM
Corpo (mm)	1,6-1,7	1,6-1,7	1,8	1,6-1,7	1,7-1,8	NM	NM
Ístimo	379-382	291-386	226	341-395	281-455	371	NM
Comprimento do bulbo	250-291	235-276	318	259-270	232-374	285-333	NM
Largura do bulbo	309-325	279-310	346	328-333	315-337	293-379	NM
Razão esôfago/comprimento (%)	11,4-15,7	10,9-12,8	9,5	11,9-12,1	10,3-11,5	14,1-14,9	NM
Anel nervo ao ápice anterior	521-565	490-557	500	423-503	538-620	503	NM
Poros excretor ao ápice anterior (mm)	1,6-1,9	1,7-1,8	1,7	1,7	1,8-1,9	1,6-1,8	NM
Vulva ao ápice anterior (mm)	9,1-13,3	10,1-12,8	14,5	11,3-12,2	14,0-14,3	10,3-11,7	15,5
Posição relativa da vulva (%)	63,1-65,6	60,9-64,9	60	61,2-63,3	61,9-64,3	62,7-66,6	65,1
Cauda	399-546	368-383	NM	418-527	520-527	393-501	NM

*hospedeiro tipo; †localidade tipo; ‡hospedeiro do presente estudo; §localidade do presente estudo.

Tabela 3. Lista dos nematoides cosmocercóides (Cosmocercioidea) dos quais as sequências da subunidade menor (SSU) do rDNA foram usadas nas análises.

Parasito	Espécie de hospedeiro	Grupo de hospedeiro e habitat	Nº de acesso do GenBank
ATRACTIDAE			
<i>Labeonema</i> sp.	<i>Synodontis ocellifer</i> Boulenger, 1900	peixe dulcícola	EF375487
<i>Rondonia rondoni</i> (Travassos, 1920)	<i>Pterodoras granulosus</i> (Valenciennes, 1821)	peixe dulcícola	DQ442679
COSMOCERCIDAE			
<i>Cosmocercoides dukae</i> (Holl, 1928)	<i>Deroceras parnomitanum</i> (Lessona & Pollonera, 1882)	gastrópode terrestre	FJ516753
<i>Nemhelix bakeri</i> (Morand, 1986)	<i>Helix aspersa</i> Müller, 1774	gastrópode terrestre	DQ118537
<i>Raillietnema</i> sp.	<i>Ceratobatrachus guentheri</i> Boulenger, 1884	anfíbio anuro	DQ503461
KATHLANIIDAE			
<i>Cruzia americana</i> Maplestone, 1930	<i>Didelphis virginiana</i> (Kerr, 1792)	mamíferos terrestres	U94371
<i>Falcaustra araxiana</i>	<i>Emys orbicularis</i> (Linnaeus, 1758)	tartaruga dulcícola	KM200716
<i>Falcaustra catesbeiana</i>	<i>Lithobatis catesbeianus</i> (Shaw, 1802)	anfíbio anuro	AB818380
MYOLAIMIDAE			
<i>Myolaimus</i> sp.*	Sem informação	Sem informação	MSU81585
RHABDITIDAE			
<i>Teratorhabditis synpapillata</i> * Sudhaus, 1985	Sem informação	Sem informação	AF083015

*grupos externos

5.3 RESULTADOS

5.3.1 Emenda na diagnose do gênero *Spectatus* Travassos, 1923

Superfamília Cosmocercoidea Railliet, 1916

Família Kathlaniidae Lane, 1914

Diagnose emendada: Abertural oral rodeada por seis lábios externos. Quatro papilas cefálicas, 2 dorsais e 2 ventrais, mais 2 anfídeos laterais, localizados na margem apical dos lábios. Lábios suplementares presente ou ausentes. Cavidade bucal delimitada por um anel esclerotizado hexagonal associado a um complexo aparato cuticular anterior à faringe. Esôfago com uma pequena faringe anterior, seguida por corpo, ístimo e bulbo posterior em forma de pêra, pré-bulbo ausente. Macho com dois espículos iguais e ventosa ventral. Gubernáculo presente, em forma de “V”, consistindo de duas peças, uma dorsal e outra ventral. Útero didélfico e anfidélfico. Vulva próxima ao meio do corpo, ligeiramente posterior. Ovos não contêm larva. Cauda cônica em ambos os sexos. Parasitos intestinais de peixes de água doce.

5.3.2 Redescrição de *Spectatus spectatus* Travassos, 1923 (Figuras 1 e 2)

Família Kathlaniidae Railliet, 1916

Descrição geral: Nematoides esbranquiçados, médios a grandes, com cutícula lisa. Extremidade cefálica levemente inflada (Figs. 1A, 2B). Abertura oral cercada de dobras cuticulares as quais formam 6 lábios externos: 2 dorsais, 2 ventrais e 2 laterais, cada um contendo uma papila média em sua região medial apical (Figs. 1A, 2A), Lábios dorsais e ventrais com papila cefálica, lábios laterais com uma papila anfidial adjacente a uma estrutura tubular (Figs. 1A, 2A, C). Oito lábios suplementares formando um círculo interno aos lábios (Figs. 1A, 2A). Cavidade oral delimitada por um anel esclerotizado hexagonal ou pentagonal composto por 6 placas, associado a um aparato cuticular complexo anterior à faringe, composto de placas articuladas, com forma de “W” em vista dorso-ventral (Figs. 1A, E, F, 2A). Faringe anterior curta seguida por um esôfago muscular composto por corpo, ístimo levemente dilatado e um bulbo posterior piriforme, o qual contém uma válvula central em forma de digital (Fig. 1D). Válvula esôfago-intestinal formada por duas estruturas discoidais (Fig. 1D). Anel nervoso estreito, circundando o esôfago em seu segundo terço (Fig. 1D). Poro excretor conspícuo, localizado ligeiramente posterior à junção corpo-ístimo do esôfago (Fig. 1D). Intestino amarronzado, reto, com uma expansão bulbosa em seu final anterior (Fig. 1G). Machos com bandas musculares ventrais e oblíquas, ventosa ventral e gubernáculo (Fig. 1K). Cauda cônica.

Descrição dos machos (baseada em 2 espécimens): Corpo 17,1–17,7 mm comprimento, 829–928 largura máxima. Faringe medindo 57–90 comprimento. Comprimento total do esôfago 2,0–2,1 mm, do corpo 1,4–1,5 mm, do ístimo 373–390. Bulbo 223–266 comprimento, 292–320 largura. Comprimento total do esôfago representando 11,6–11,9% do comprimento corporal. Anel nervoso e poro excretor a 512 e 1,5–1,6 mm da extremidade anterior. Extremidade posterior levemente curvada ventralmente. Ventosa ventral bem desenvolvida, 2,5–2,6 mm do ápice da cauda. Treze pares de papilas caudais pouco desenvolvidas: 7 pares precloacais e subventrais, dos quais 2 são anteriores a ventosa ventral; 2 pares adcloacais, sendo 1 subventral e 1 lateral; 4 pares pós-cloacais, primeiro e segundo pares subventrais, seguido por um par lateral e o último par ventral próximo a ponta da cauda (Figs. 1J–L, 2D–H). Pequenos poros fasmidiais subventrais, localizados entre o segundo e terceiro pares de papilas pós-cloacais (Figs. 1J, L, 2D, F, G). Papila ímpar ventral anterior a abertura cloacal

(Figs. 1J, L, 2D–H). Região anterior da abertura cloacal elevada e internamente suportada por uma estrutura esclerotizada (Fig. 1L). Região posterior da abertura cloacal com ornamentos cuticulares suaves, formando uma área em forma de “T” (Figs. 1J, 2F, H). Gubernáculo em forma de “V”, composto por uma peça dorsal e outra ventral (Fig. 1C), medindo 231–272 de comprimento em vista ventral. Estrutura esclerotizada (crura) corniforme suportando dorsalmente o gubernáculo, e de difícil observação (Fig. 1B). Espículos iguais, com parte proximal arredondada e parte distal pontiaguda (Fig. 1K), 751–906 comprimento, representando 4,2–5,3% do comprimento corporal. Cauda cônica terminando em ponta afiada (Figs. 1J–L, 2D–G), com 556–563 comprimento.

Descrição das fêmeas (baseada em 2 espécimes): Corpo 18,4–19,3 mm comprimento, 903–939 largura máxima. Faringe medindo 59–92 comprimento. Comprimento total do esôfago 2,2–2,3 mm, corpo 1,6–1,7 mm, ístimo 341–395. Bulbo 259–270 comprimento, 228–333 largura. Comprimento total do esôfago representando 11,9–12,1% do comprimento corporal. Anel nervoso e poro excretor a 423–503 e 1,7 mm da extremidade anterior. Vagina dirigida posteriormente, com musculatura bem desenvolvida, seguida por um ovojetor muscular curto (Fig. 1H). Útero anfidélfico repleto de ovos, ovários curtos e tubulares (Fig. 1H). Vulva a 11,2–12,2 mm da extremidade anterior, representando 61,2–63,3% do comprimento corporal. Ovos com parede espessa, contendo células grandes (Fig. 1I), medindo 85–98 × 51–63. Poros fasmidiais inconspícuos, de difícil observação, localizados próximo ao ápice caudal. Cauda cônica terminada em ponta fina, 418–527 comprimento.

Resenha Taxonômica e Ecológica.

Hospedeiro tipo: *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) (Characiformes: Serrasalminidae).

Outros hospedeiros: *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) (Characiformes: Serrasalminidae) (TRAVASSOS & KOHN, 1965; HAMANN, 1982a; PARRA et al., 1997; SANTOS et al., 2003; CAMPOS et al., 2009; presente estudo) e *Pterodoras granulosus* (Valenciennes, 1821) (Siluriformes: Doradidae) (HAMANN, 1982b).

Sítio de infecção: Intestino posterior.

Localidade tipo: Rio Chibá, Porto São João, Mato Grosso, Brazil.

Outras localidades: Sistema de drenagem do rio Paraná no Brazil (Mato Grosso: rios São Lourenço e Porto Esperança; Mato Grosso do Sul: rios Aquidauana, Miranda e Salobra; São Paulo: Pirassununga e Porto Cabral, rio Paraná) (TRAVASSOS & KOHN, 1965; HAMANN, 1982a; PARRA et al., 1997; SANTOS et al., 2003; CAMPOS et al., 2009; presente estudo) e *Pterodoras granulosus* (Valenciennes, 1821) (Siluriformes: Doradidae) (HAMANN, 1982b) e Argentina (rio Paraná) (HAMANN, 1982b).

Depósito de espécimes: 1 voucher macho, 1 voucher fêmea CHIOC (36729a) e hologenóforo CHIOC (36729b).

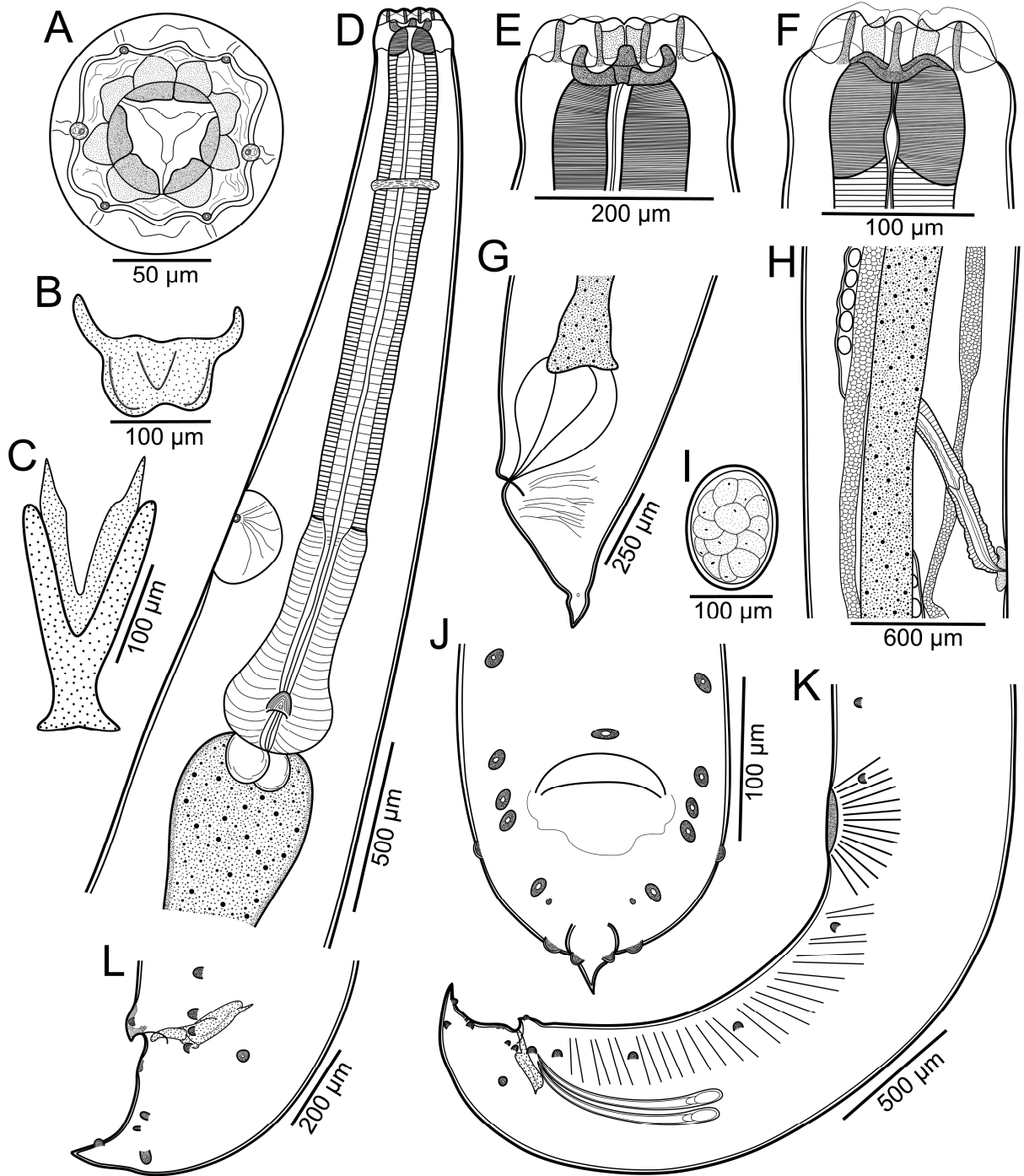


Figura 1. Morfologia de *Spectatus spectatus* Travassos, 1923 parasito em *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) do rio Miranda, Mato Grosso do Sul, Brasil. A. Extremidade cefálica, vista apical. B. Estrutura corniforme (crura). C. Gubernáculo, vista ventral. D. Região anterior, vista dorsoventral. E, F. Extremidade cefálica, vistas dorsoventral e lateral. G. Região posterior da fêmea, vista lateral. H. Região vulvar, vista lateral. I. Ovo. J. Cauda do macho, vista ventral. K. Região posterior do macho, vista lateral. L. Cauda do macho, vista lateral.

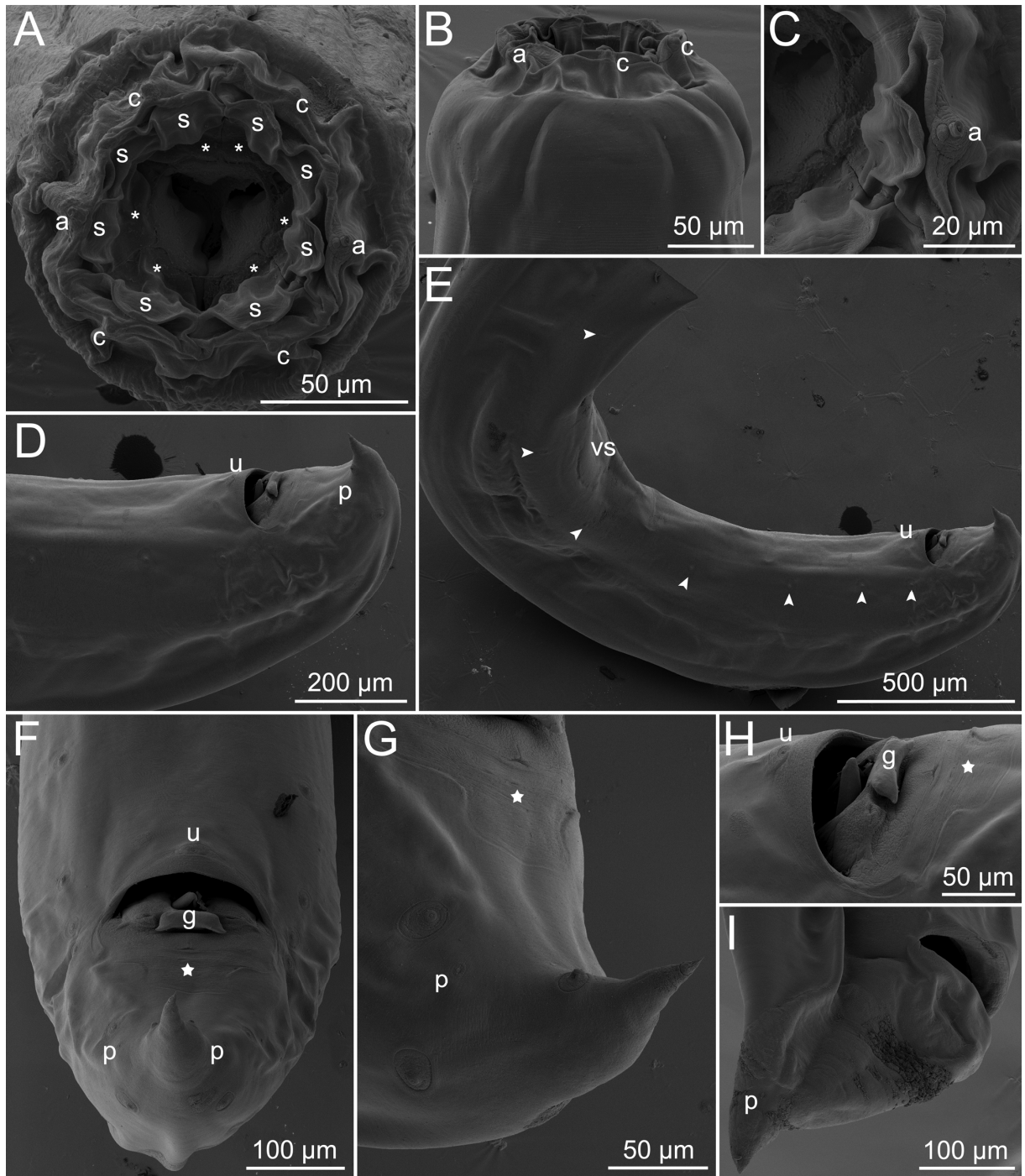


Figura 2. Eletromicrografias de MEV de *Spectatus spectatus* Travassos, 1923 parasito em *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) do rio Miranda, Mato Grosso do Sul, Brasil. A. Extremidade cefálica, vista apical (asteriscos indicam anel cuticular). B. Extremidade cefálica, vista sublateral. C. Detalhe do anfídeo. D. Região caudal do macho, vista lateral. E. Região posterior do macho, vista sublateral (cabeças de seta indicam papilas caudais). F, G, H. Regões caudal e cloacal dos machos, vistas ventral e sublateral, respectivamente (estrela indica área em forma de “T”). I. Cauda da fêmea, vista lateral. *Abreviações:* a, anfídeo; c, papila cefálica; g, gubernáculo; p, fasmídeo; u, papila ímpar; vs, ventosa ventral.

Comentários: Os nematoides encontrados em *Piaractus mesopotamicus* apresentaram alguma semelhança com a espécie *Spectatus spectatus* Travassos, 1923, descrito parasitando o hospedeiro congênico *P. brachyomus* (Cuvier, 1818) na região do Pantanal, Mato Grosso do Sul, Brasil. Apesar de apresentar uma morfometria semelhante (ver Tabela 3), o presente material diferiu das descrições de Travassos (1923) e Travassos (1956) em alguns aspectos morfológicos. Por isso, todos os espécimes depositados na CHIOC (incluindo o material tipo) identificado como *S. spectatus* e *Spectatus* sp. foram re-examinados. A maior parte deste material estava completamente degenerada, ou em condições muito ruins, tornando impossível a identificação dos parasitos (ver Tabela 1).

As principais diferenças encontradas entre o presente material e os dados morfológicos disponíveis na literatura para *S. spectatus* (TRAVASSOS, 1923; TRAVASSOS, 1956) foram: a presença de faringe e um anel cuticular associado a um aparato esclerotizado complexo na região oral, e o número e arranjo das papilas caudais nos machos. Todavia, todos estes caracteres morfológicos puderam ser observados nos espécimes tipo e vouchers, incluindo o número e arranjo das papilas caudais, o qual foi invariável sendo o mesmo em todos os machos analisados (i.e. 13 pares mais uma papila ímpar). Outra divergência foi na posição do anel nervoso em que, Travassos (1956) descreve a posição desta estrutura como sendo ao nível do por excretor, quando na verdade ela é bem mais anterior e de posição invariável.

As observações utilizando microscopia óptica e MEV também revelaram diversas características interessantes que não foram descritas originalmente (ver TRAVASSOS, 1923; TRAVASSOS, 1956), e.g. a estrutura correta dos lábios, papilas cefálicas e anfídeos, a presença de lábios suplementares, a posição dos fasmídeos em ambos os sexos, a estrutura detalhada do gubernáculo, a presença de uma estrutura esclerotizada corniforme (crura) suportando o gubernáculo e a presença de ornamentações formando uma área em forma de T imediatamente posterior a cloaca.

Além de *S. spectatus*, existe apenas outra espécie descrita no gênero chamada *S. cichlasomae* Moravec & Baruš, 1971, parasito de *Nandopsis tetracanthus* (Valenciennes, 1831) (Perciformes: Cichlidae) em Habana, Cuba (MORAVEC; BARUŠ, 1971). Esta espécie foi descrita com base em apenas um indivíduo fêmea e, de acordo com Moravec (1998), necessita de redescrição. Além disso, a classificação de *S. cichlasomae* em *Spectatus* é incerta, pois sua morfologia não concorda em grande parte com a diagnóse do gênero. Todavia, *S. cichlasomae* é mantida em *Spectatus* devido à falta de dados e até que novos dados moleculares e morfológicos estejam disponíveis.

5.3.3 Caracterização molecular de *S. spectatus* e suas relações filogenéticas com outros nematoides da superfamília Cosmocercoidea

Foi obtida a sequência parcial da subunidade (SSU) menor do rDNA (1.745 pares de bases). Esta sequência obteve maior grau de semelhança com *Raillietnema* sp., *Cruzia americana* Maplestone, 1930, *Nemhelix bakeri* (Morand, 1986) e *Cosmocercoides dukae* (Holl, 1928) (95,1, 94,9, 94,8 e 94,4% de identidade de sequência, respectivamente). No cladograma construído a partir das análises de MP e IB, *S. spectatus* diferiu de todos os gêneros de Cosmocercoidea formando um ramo separado e único (Fig. 3). A topografia das árvores filogenéticas gerada pelas análises de MP e IB foi a mesma, não variando.

Comparando a nova sequência de *S. spectatus* com aquelas de outros parasitos cosmoceróides, disponíveis e obtidas através do GenBank, os resultados mostraram que esta espécie forma um ramo separado com alto suporte, o qual é basal e grupo irmão do clado que inclui todos os outros gêneros de Cosmocercoidea (Fig. 3). O gênero *Falcaustra* Lane, 1915 formou uma assemblagem monofilética entre os nematoides cosmoceróides, com alto suporte (Fig. 3).

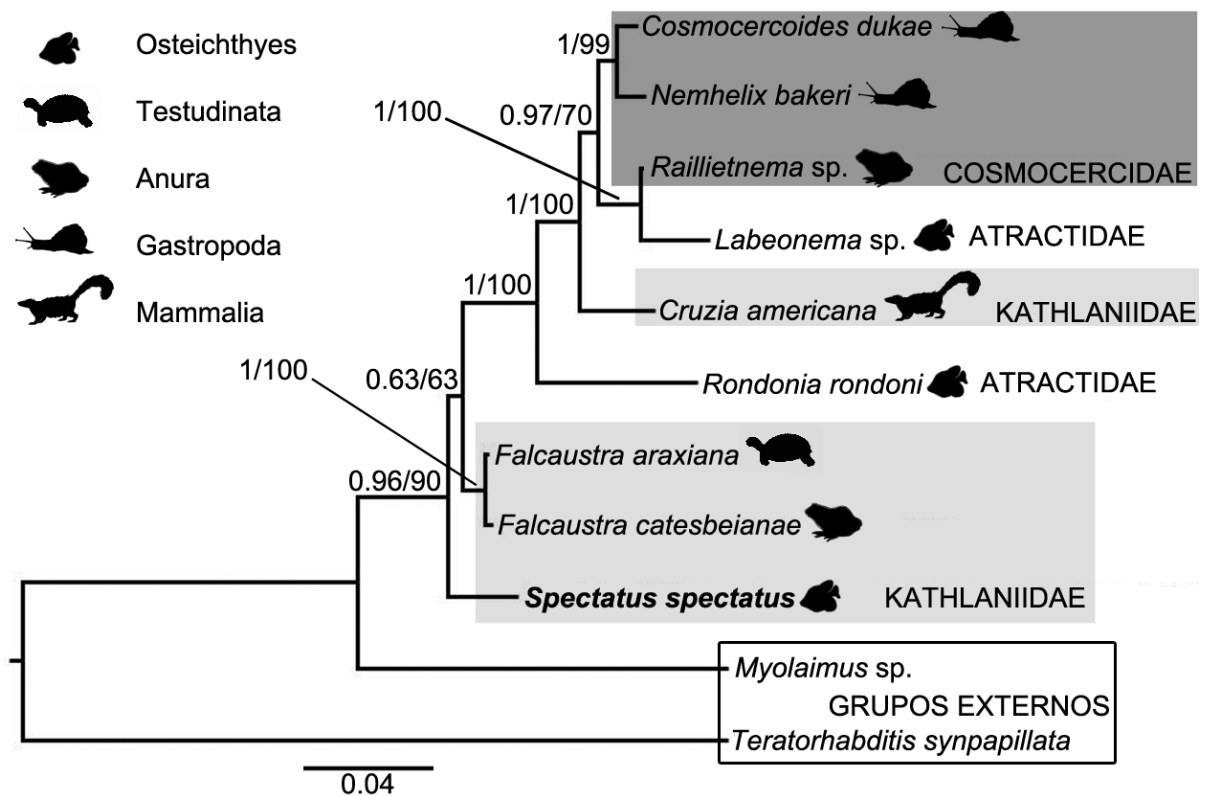


Figura 3. Árvore gerada a partir do modelo PHYML das análises filogenéticas das seqüências do gene 18S de nematoides cosmocercóides (famílias Atractidae, Cosmocercidae e Kathlaniidae). O primeiro número representa o suporte dos ramos pela probabilidade posterior Bayesiana (para 2×10^6 gerações; “bur-in” = 1×10^3); o segundo número é referente aos valores de bootstrap gerados a partir da máxima parcimônia (MP) (para 100 replicações).

5.4 DISCUSSÃO

A presença de faringe e de anel cuticular associado a um aparato esclerotizado complexo na região oral de *S. spectatus* representa um importante achado para resolver suas relações com o gênero *Chabaudinema*, o qual é morfologicamente próximo de *Spectatus*. Baker (1980) considerou *Chabaudinema* como sinonímia de *Spectatus* enquanto que Moravec (1998) e Anderson et al. (2009) retiveram os gêneros separados. As únicas características usadas para separar estes gêneros foram a presença ou ausência daquelas supracitadas, e uma vez que todas essas características estão presentes no material analisado no presente trabalho, *Chabaudinema* deve realmente ser considerado como sinonímia de *Spectatus* (*sensu* BAKER, 1980).

Spectatus americanum (Díaz-Úngría, 1968) n. comb (= *Chabaudinema americanum*) (*sensu* Baker, 1980), parasito em *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816) (Characiformes: Serrasalminidae) de Bolívar e Miranda na Amazônia Venezuelana, é bastante similar a *S. spectatus*. As únicas diferenças entre estas espécies são que *S. americanum* é maior (machos 30 vs. 12,7–23,0 mm; fêmeas 34,0 vs. 13,9–23,7 mm) e apresenta machos com 10 pares de papilas caudais (ao invés de 13 como em *S. spectatus*). É provável que Díaz-Úngría (1968) não tenha visualizado estes tres pares de papilas caudais e/ou estas pequenas variações possam ser intra-específicas. Além disso, a forma do gubernáculo e espículos, arranjo das papilas caudais, o anel cuticular circundando a abertura oral, o aparato cuticular na região anterior da faringe e a maior parte dos caracteres morfométricos são praticamente idênticos quando comparamos *S. americanum* com *S. spectatus*. Apesar de o acesso ao material tipo de *S. americanum* não ser possível, as diferenças mencionadas anteriormente não são suficientes para se suportar um táxon específico. Desta forma, *S. americanum* deve ser considerada como sinonímia de *S. spectatus*, como destacado por Baker (1980).

O alto grau de identidade de sequências entre *S. spectatus* e *Raillietnema* sp., *C. americana*, *N. bakeri* e *C. dukae* pode ser explicado pelo fato de estas espécies terem tamanhos de sequências similares no alinhamento e nenhum par de base ambíguo em suas sequências individuais.

De acordo com as análises filogenéticas, o gênero *Spectatus* é basal entre os outros gêneros de cosmocercóides, formando um ramo basal separado dos outros e próximo aos grupos externos. *Spectatus* também difere de *Falcaustra*, indicando que ambos realmente representam gêneros separados, contrário à classificação de Yorke & Maplestone (1926), os quais consideraram esses gêneros como sinonímias. O sistema morfológico adotado na classificação das famílias de Cosmocercioidea é artificial, uma vez que todas as famílias no cladograma (Fig. 3) são parafiléticas com representativos agrupando separadamente formando diferentes clados com suporte alto. Infelizmente, não existe nenhuma sequência disponível atualmente para espécimes identificados como *Chabaudinema*, desta forma o suporte molecular para as análises morfológicas não é possível até o presente momento.

Este trabalho representa o primeiro estudo molecular e morfológico utilizando MEV da espécie *S. spectatus*.

5.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, R. C.; CHABAUD, A. G.; WILLMOTT, S. **Keys to the nematode parasites of vertebrates: archival volume**. CABI Publishing, Wallingford, Reino Unido. 2009. 480p.
- ASTRIN, J. J.; ZHOU, X.; MISOF, B. The importance of biobanking in molecular taxonomy, with proposed definitions for vouchers in a molecular context. **Zookeys**, v. 365, p. 67–70, 2013.
- BAKER, M. R. Reclassification of *Oxysomatium inglisi* Anderson, 1964 and *Aplectana gigantica* Olsen, 1938 (Nematoda: Cosmocercoidea) from North American frogs. **Systematic Parasitology**, v. 1, p. 245–253, 1980.
- CAMPOS, C. M.; TAKEMOTO, R. M.; FONSECA, V. E.; MORAES, F. R.. Ecology of the endohelminth parasite community of *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) (Characiformes) from Aquidauana and Miranda Rivers, Pantanal, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 69, p. 87–92, 2009.
- ČERNOTÍKOVÁ, E.; HORÁK, A.; MORAVEC, F. Phylogenetic relationships of some spirurine nematodes (Nematoda: Chromadorea: Rhabditida: Spirurina) parasitic in fishes inferred from SSU rRNA gene sequences. **Folia Parasitologica**, v. 58, p. 135–148, 2011.
- DARRIBA, D., TABOADA, G. L., DOALLO, R.; POSADA, D. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. **Nature Methods**, v. 9, p. 772, 2012.
- DÍAZ-UNGRÍA, C. Helminths of fishes of Venezuela, with description of a new genus and three new species. **Boletín de la Sociedad Venezolana de Ciencia Naturales**, Tomo XXVII, n. 113–114, p. 537–549, 1968.
- FROESE, R.; PAULY, D. (Eds.) FishBase. **World Wide Web electronic publication**. Disponível em: <www.fishbase.org>, version 05/2014. Acesso em: janeiro de 2015.
- GUINDON, S.; GASCUEL, O. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. **Systematic Biology**, v. 52, p. 696–704, 2003.
- HAMANN, M. I. Parasitos del pacú (*Colossoma mitrei*) del río Paraná Medio, Republica Argentina (Pisces, Serrasalminidae). **Historia Natural**, v. 2, p. 153–160, 1982a.
- HAMANN, M. I. Parasitos en peces de la familia Doradidae del río Paraná Medio, Republica Argentina (Pisces, Siluriformes). **Historia Natural**, v. 2, p. 193–199, 1982b.
- HUELSENBECK, J. P.; RONQUIST, F. MrBayes: Bayesian inference of phylogenetic trees. **Bioinformatics**, v. 17, p. 754–755, 2001.
- KATO, K.; MISAWA, K.; KUMA, K.; MYIATA, T. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. **Nucleic Acids Research**, v. 30, p. 3059–3066, 2002.
- MORAVEC, F. **Nematodes of the freshwater fishes of the Neotropical region**. Academia, Praga, República Tcheca, 1998. 464 p.

MORAVEC, F.; BARUŠ, V. Studies on parasitic worms from Cuban fishes. **Acta Societatis Zoologicae Bohemoslovenicae**, v. 35, p. 56–74, 1971.

PARRA, J. E. G.; BRANDÃO, D. A.; CECCARELLI, P. S. Identificação e prevalência de nematódeos do pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887), da estação de piscicultura do CEPTA, Pirassununga, SP, Brasil. **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 27, p. 291–295, 1997.

SANTOS, S. M. C.; CECCARELLI, P. S.; RÊGO, R. F. Helminhos em peixes do Pantanal sul-matogrossense: primeira expedição do programa pantanal. **Boletim Técnico do CEPTA, Pirassununga**, v. 16, p. 15–26, 2003.

TRAVASSOS, L. Informações sobre a fauna helmintológica de Mato Grosso. Oxyuroidea, Kathlaniidae. **Folha Médica**, v. 4, p. 29–30, 1923.

TRAVASSOS, L. Sobre *Spectatus spectatus* Travassos, 1923 (Nematoda, Kathlaniidae). **Revista Ibérica de Parasitologia**, Tomo Extraordinário, p. 897–899, 1956.

TRAVASSOS, L.; KOHN, A. Lista dos helmintos de peixes encontrados na Estação Experimental de Biologia e Piscicultura de Emas, Pirassununga, Estado de São Paulo. **Papéis Avulsos de Zoologia, São Paulo**, v. 17, p. 35–52, 1965.

WERLE, E.; SCHNEIDER, C.; RENNER, M.; VÖLKER, M.; FIEHN, M. W. Convenient single-step, one tube purification of PCR products for direct sequencing. **Nucleic Acids Research**, v. 22, p. 4354–4355, 1994.

YORKE, W.; MAPLESTONE, P. A. **The nematode parasites of vertebrates**. J. & A. Churchill, Londres, Reino Unido. 1926. 536 p.

6. CONCLUSÕES GERAIS

- A fauna de nematoides parasitos tanto em peixes marinhos quanto dulcícolas é rica e diversa; das sete espécies de parasitos analisadas quatro se mostraram desconhecidas pela ciência.
- O conhecimento atual sobre os nematoides parasitos em peixes no Brasil ainda é extremamente rudimentar, várias lacunas e problemas foram detectados na literatura ao longo deste estudo.
- A fauna parasitária de nematoides em peixes dulcícolas é mais estudada do que a mesma em peixes marinhos em termos numéricos de trabalhos publicados.
- As relações filogenéticas dos gêneros da família Anisakidae e da superfamília Cosmocercoidea ainda são mal resolvidas devido à carência de dados moleculares.
- A classificação morfológica dos gêneros da família Cystidicolidae, e a diferenciação entre *Cucullanus* e *Dichelyne* são problemáticas devido ao grande número de descrições inadequadas e à carência de dados morfológicos e moleculares na literatura.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHO, J. M. Helminth communities of amphibian and reptiles: comparative approaches to understanding patterns and processes. In ESCH, G; BUSH, A.; AHO, J. **Parasite communities: patterns and processes**. Chapman and Hall, Londres, Reino Unido, p. 157–195, 1990.
- ALVES, D. R.; LUQUE, J. L. Ecologia das comunidades de metazoários parasitos de cinco espécies de escombrídeos (Perciformes: Escombridae) do litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 15, p. 167–181, 2006.
- ALVES, G. C., SILVA, D. T., NEVES, M. F. *Diocotophyma renale*: o parasita gigante do rim. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 8, sem paginação, 2007.
- AMO, L.; FARGALLO, J. A.; MARTÍNEZ-PADILLA, J.; MILLÁN, J.; LÓPEZ, P.; MARTÍN, J. Prevalence and intensity of blood and intestinal parasites in a field population of a Mediterranean lizard, *Lacerta lepida*. **Parasitology Research**, v. 96, p. 413–417, 2005.
- BICUDO, A. J. A.; TAVARES, L. E. R.; LUQUE, J. L. Larvas de Anisakidae (Nematoda: Ascaridoidea) parasitas da cabrinha *Prionotus punctatus* (Bloch, 1793) (Osteichthyes: Triglididae) do litoral do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 14, p. 109–118, 2005.
- BORGONIE, G.; GARCÍA-MOYANO, A.; LITTHAUER, D.; BERT W.; BESTER, A.; VAN HEERDEN, E.; MÖLLER, C.; ERASMUS, M.; ONSTOTT, T. C. Nematoda from the terrestrial deep subsurface of South Africa. **Nature**, v. 474, p. 79–82.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Dia Mundial das Zonas Úmidas – Pesca para o futuro? **World Wide Web electronic** publication. Disponível em: <www.mma.gov.br>, versão 2007. Acessado em 04 de dezembro, 2014.
- BROOKS, R. D.; LEÓN-RÈGAGNON, V.; PERÉZ-PONCE DE LEÓN, G. Los Parásitos y la Biodiversidad. In: HERNÁNDEZ, H. M.; GARCIA, A.N.; ÁLVAREZ, F.; ULLOA, M. (Eds.) **Enfoques Contemporáneos para el Estudio de La Biodiversidad**, UNAM, DF, México, p. 245–289, 2001.
- CANHOS, V. P.; PEIXOTO, A. L.; BARBOSA, M. R. V.; MENEZES, M.; MAIA, L. C.; VAZOLLER, R. F.; MARINONI, L.; CANHOS E. D. A. L. **Diretrizes e estratégias para a modernização de coleções biológicas brasileiras e a consolidação de sistemas integrados de informação sobre biodiversidade**. 1 ed, Brasília, DF, Ministério da Ciência e Tecnologia. 2006. 43p.
- CLAVER, S. F.; BLAY, E. V.; MITRE, R. M.; SUÁREZ-VARELA, M. M. M.; GONZÁLES, A. L. Enfermidades parasitárias de origem alimentario más frecuentes em España: incidencia y comparación com las de origem vírico y bacteriano. **Ars Pharmaceutica**, v. 41, p. 293–305, 2005.
- CÓRDENAS, M. Q.; MORAVEC, F.; KOHN, A. First record of *Philometra katsuwoni* (Nematoda, Philometridae), a parasite of skipjack tuna *Katsuwonus pelamis* (Perciformes, Scombridae), of South American Atlantic Coast. **Biota Neotropica**, v. 9, p. 263–266, 2009.

FROESE, R.; PAULY, D. (Eds.) FishBase. **World Wide Web electronic publication**. Disponível em: <www.fishbase.org>, version 05/2014. Acesso em: janeiro de 2015.

GASTON, K. J. The magnitude of global insect species richness. **Conservational Biology**, v. 5, 283–296, 1991.

GÓMEZ, A; NICHOLS, E. Neglected wild life: Parasitic biodiversity as a conservation target. **International Journal for Parasitology**, v. 2, p. 222–227, 2013.

GUREVITCH, J.; PADILLA, D. K. Are invasive species a major cause of extinctions? **Trends in Ecology and Evolution**, v. 19, p. 470–474, 2004.

HODDA, M. Phylum Nematoda. In: ZHANG, Z. Q. (Ed.) Animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness. **Zootaxa**, v. 3148, p. 63–95, 2011.

KREMEN, C. Managing ecosystem services: what do we need to know about their ecology? **Ecology Letters**, v. 8, p. 468–479, 2005.

LAMBSHEAD, P. J. D.; TIETJEN, J.; FERRERO, T.; JENSEN, P. Latitudinal diversity gradients in the deep sea with special reference to North Atlantic nematodes. **Marine Ecology Progress Series**, v. 194, p. 159–167, 1993.

LUQUE, J. L.; AGUIAR, J. C.; VIEIRA, F. M.; GIBSON, D. I.; SANTOS, C. P. Checklist of nematoda associated with the fishes of Brazil. **Zootaxa**, v. 3082, p. 1–88, 2011.

LUQUE, J. L.; ALVES, D. R. Ecologia das comunidades de metazoários parasitos, do xaréu, *Caranx hippos* (Linnaeus), e do xarelete, *Caranx latus* Agassiz (Osteichthyes: Carangidae) do litoral do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 18, p. 399–410, 2001.

LUQUE, J. L., ALVES D. R.; SABAS, C. S. Metazoários parasitos do xaréu *Caranx hippos* e do xarelete *Caranx latus* (Osteichthyes: Carangidae) no litoral do Estado do Rio de Janeiro. **Contribuições Avulsas Sobre a História Natural do Brasil, Série Zoológica**, v. 25, p. 1–17, 2000.

LUQUE, J. L.; CORDEIRO, A. S.; OLIVA, M. E. Metazoan parasites as biological tags for stock discrimination of whitemouth croaker *Micropogonias furnieri*. **Journal of Fish Biology**, v. 76, p. 591–600, 2010.

MARCOGLIESE, D. J. Parasites: Small players with crucial roles in the ecological theater. **EcoHealth**, v. 1, p. 151–164, 2004.

MARCOGLIESE, D. J. Parasites of the superorganism: are they indicators of ecosystems health? **International Journal for Parasitology**, v. 35, p. 705–716, 2005.

McCLELLAND, G. The trouble with sealworms (*Pseudoterranova decipiens* species complex, Nematoda): a review. **Parasitology**, v. 124, p. 183–203, 2002.

MEDURI, R.; SAMAL, A.; GARDNER, S. L. Worm-Web search: a Content-Based Image Retrieval (CBIR) system for the parasite image collection in the Harold W. Manter Laboratory of Parasitology, University of Nebraska State Museum. **Museum of Texas Tech University**, v. 11, p. 1–15, 2008.

MORAVEC, F. **Nematodes of the freshwater fishes of the Neotropical region**. Academia, Pragua, República Tcheca. 1998. 464 p.

POULIN, R. The functional importance of parasites in animal communities: many roles at many levels? **International Journal for Parasitology**, v. 29, p. 903–914, 1999.

RODRIGUES, J. A.; GIUDICE, D. S. A pesca marítima artesanal como principal atividade socioeconômica: o caso de Conceição de Vera Cruz, BA. **Cadernos do Logepa**, v. 6, p. 115–139, 2011.

SLIFKO, T. R.; SMITH, H. V.; ROSE, J. B. Emerging parasite zoonosis associated with water and food. **International Journal for Parasitology**, v. 3, p. 1379–1393, 2000.

TAVARES, L. E. R.; LUQUE, J. L. Community ecology of metazoan parasites of the later juvenile common snook *Centropomus undecimalis* (Osteichthyes, Centropomidae), forma the costa zone of the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 64, p. 523–529, 2004.

VIBE, P. P. *Dioctophyma* infection in humans. **Medical Parasitology**, v. 1, p. 83–84, 1985.

ZHANG, Z. Q. Animal biodiversity: Na update of classification and diversity in 2013. In: ZHANG, Z. Q. (Ed.) Animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness (Adendo 2013). **Zootaxa**, v. 3148, p. 63–95, 2013.