

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PARASITOLOGIA

MARIANA BRANDÃO SIMÕES

**BIODIVERSIDADE DE HELMINTOS PARASITOS DE PEIXES DO BAIXO RIO
DOCE, BRASIL**

Belo Horizonte

2024

MARIANA BRANDÃO SIMÕES

**BIODIVERSIDADE DE HELMINTOS PARASITOS DE PEIXES DO BAIXO RIO
DOCE, BRASIL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Parasitologia.

Área de concentração: Helminologia

Orientador: Dr. Hudson Alves Pinto

Coorientadora: Dra. Narcisa
Imaculada Brant Moreira

Belo Horizonte

2024

043

Simões, Mariana Brandão.

Biodiversidade de helmintos parasitos de peixes do baixo Rio Doce, Brasil [manuscrito] / Mariana Brandão Simões. – 2024.
186 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Dr. Hudson Alves Pinto. Coorientadora: Dra. Narcisa Imaculada Brant Moreira.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Parasitologia.

1. Parasitologia. 2. Taxonomia. 3. Helmintos. 4. Osteichthyes. I. Pinto, Hudson Alves. II. Moreira, Narcisa Imaculada Brant. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 576.88/.89



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PARASITOLOGIA

FOLHA DE APROVAÇÃO

TESE 352/2024/01

TÍTULO DA TESE: "BIODIVERSIDADE DE HELMINTOS PARASITOS DE PEIXES DO BAIXO RIO DOCE, BRASIL"

ALUNA: MARIANA BRANDÃO SIMÕES

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: HELMINTOLOGIA

Tese de Doutorado defendida e aprovada, no dia **vinte e sete de fevereiro de 2024**, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação Parasitologia da Universidade Federal de Minas Gerais constituída pelos seguintes Doutores:

José Luis Fernando Luque Alejos

Membro externo - UFRRJ

Reinaldo Jose da Silva

Membro externo - UNESP/BOTUCATU

Ricardo Massato Takemoto

Membro externo - UEM

Simone Chincz Cohen

Membro externo - FIOCRUZ, RJ

Narcisa Imaculada Brant Moreira

Coorientadora - UFES

Hudson Alves Pinto

Orientador - UFMG

Belo Horizonte, 27 de fevereiro de 2024.



Documento assinado eletronicamente por **Hudson Alves Pinto, Professor do Magistério Superior**, em 28/02/2024, às 16:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Reinaldo José da Silva, Usuário Externo**, em 28/02/2024, às 19:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Simone Chincz Cohen, Usuário Externo**, em 28/02/2024, às 21:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Narcisa Imaculada Brant Moreira, Usuária Externa**, em 29/02/2024, às 18:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **José Luis Fernando Luque Alejos, Usuário Externo**, em 04/03/2024, às 14:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ricardo Massato Takemoto, Usuário Externo**, em 04/03/2024, às 15:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3026151** e o código CRC **C516F748**.

Trabalho desenvolvido no Laboratório de Biologia de Trematoda, Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais e no Laboratório de Helmintologia Animal, Departamento de Patologia, Universidade Federal do Espírito Santo.

AGRADECIMENTOS

Qualquer desafio que aceitamos enfrentar e superamos é muito mais gratificante quando temos pessoas que fazem toda diferença em nossas vidas. E todo o meu percurso para chegar até aqui, finalizando uma tese de doutorado, só foi possível graças a essas pessoas. Somente essas palavras não serão o suficiente para descrever o tamanho da minha gratidão a todos.

O início do meu doutorado foi totalmente surpreendente devido, infelizmente, à pandemia da Covid-19. Tive que readaptar todo o meu projeto e a minha vida para superar um dos maiores desafios dos tempos modernos. Nada disso seria possível sem o apoio e a compreensão de diversas pessoas, em especial, aos meus orientadores.

Ao meu orientador Hudson Alves Pinto, que, desde a minha defesa de mestrado, da qual fez parte da banca avaliadora, traçamos uma caminhada científica amigável. Me estimulou a entrar no doutorado, mesmo sabendo dos desafios de morar em outro estado. Acreditou desde o início no potencial do projeto e, o mais importante, sempre salientou que, com determinação e, segundo suas próprias palavras, “animação”, tudo seria possível. Muito obrigada pelos ensinamentos, pela paciência e compreensão ao longo de todos estes anos.

A minha querida amiga e coorientadora, Narcisa Imaculada Brant Moreira, por toda a contribuição ao longo desses 13 anos de parceria e paciência. Me acolheu como sua primeira aluna, que chegou sem avisar em sua vida logo no início da sua carreira na UFES. Desde então, foi parte indispensável da minha caminhada acadêmica, o que permitiu o surgimento de uma linda amizade. Amadureci com seus conselhos, suas puxadas de orelha e com o seu carinho. Posso dizer que a profissional que me tornei hoje reflete muito você.

A minha família, em especial a minha mãe, Ana Maria, que me apoiou e me estimulou imensamente nesta trajetória acadêmica. Sem ela, muitas coletas não seriam possíveis. Esteve comigo nem que se fosse apenas para me acompanhar no carro até cidades no interior do estado. Ao meu pai, Tevanis, que sempre me estimulou a estudar e correr atrás dos meus sonhos. Também quero agradecer

aos meus irmãos, Belorme e Letícia, e minha avó, Maria, que sempre tiveram orgulho das minhas conquistas. Sou grata pelo apoio por todos esses anos.

Ao meu esposo, Diego, que vem me acompanhado nessa trajetória acadêmica desde o mestrado, me ajudando a superar e me estimulando a sempre buscar o melhor de mim. Não tenho palavras para agradecer todo o apoio que me deu, desde o namoro, noivado, até o nosso casamento no último ano do meu doutorado. Agradeço por ter participado de todo o processo, das angústias, ansiedades, alegrias e até mesmo das coletas. Muito obrigada por sua paciência, por sempre acreditar em mim e contribuir para que a nossa história chegasse até aqui.

Aos meus amigos do Laboratório de Helminologia Animal, em especial ao Elimayke, que contribuiu imensamente para a conclusão deste projeto. Sempre muito determinado e entusiasmado em fazer a coisa dar certo. É uma pessoa que posso contar sempre, tanto com a contribuição científica quanto com a sua amizade. Também quero agradecer a Yasmin Madureira, por toda ajuda em traduções e montagem dos mapas. Agradeço também à João Maike, Washington e Leonardo, que me ajudaram e acreditaram no potencial do projeto.

Aos queridos amigos e colegas do Laboratório de Biologia de Trematoda, que receberam essa capixaba de braços abertos em Belo Horizonte e contribuíram muito nessa longa trajetória. Quero agradecer em especial à Danimar Lopéz-Hernández, que foi uma das primeiras pessoas que me acolheu na cidade e contribuiu muito nas análises moleculares realizadas neste projeto. Agradeço também a Marisa Valadão, sempre tão carinhosa e divertida comigo, a Olivía Soares, Jordana Assis, Núbia e Phillipe Vieira Alves por toda ajuda e conselhos, que foram muito valiosos para este trabalho.

Aos professores do Departamento de Patologia da UFES, em especial a aqueles que sempre encontrava pelos corredores da Universidade: Prof^a Blima Fux, Kênia Valéria dos Santos, Sara Tavares, Cinthia Furst e Prof. Gustavo Leite. Sou grata a todos pelos conselhos e ajuda ao longo desses anos.

Tenho muita gratidão ao auxílio e apoio dos técnicos do Laboratório de Ultraestrutura Celular Carlos Antonio Redins (Luccar) pela elaboração das

imagens em microscopia eletrônica de varredura, pela permissão da utilização dos equipamentos pelo Prof. Marco Cezar, diretor desse laboratório.

Muito esforço deste trabalho também ocorreu graças ao empenho dos pescadores e moradores locais em cada ponto de coleta, que nos auxiliou no reconhecimento da área e no processo de captura dos peixes. Agradeço particularmente ao Sr. Milton, em Regência; Dona Aparecida e os pescadores Fernando e o filho em Linhares; Sr. Antônio e Alcino, pescadores em Colatina; Sr. Silas, pescador em Baixo Guandu e Aimorés.

À Sumara Aparecida Guilherme e Sibeles das Graças Guilherme Abreu, secretárias do Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, ICB, UFMG. Agradeço a disposição e rapidez para solucionar tudo.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, pelos conhecimentos oferecidos.

À Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de doutorado nos primeiros anos do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financiamento das análises moleculares (Edital Universal 2021, processo 404083/2021-8).

Agradeço ainda a todos que não mencionei, mas que contribuíram para que este sonho pudesse ser possível. A todos, o meu muito obrigada!

RESUMO

Estudos envolvendo a biodiversidade de helmintos parasitos de peixes têm possibilitado a ampliação do conhecimento sobre diferentes aspectos relacionados às relações parasito-hospedeiro envolvendo estes organismos, tais como a potencialidade de alguns grupos de helmintos atuarem como bioindicadores da qualidade do ambiente. Em se tratando de ambientes degradados, o Rio Doce é um exemplo de ambiente impactado por contaminação de rejeitos de minério ocorridos em novembro de 2015, em Mariana, Minas Gerais. Embora estudos sobre a helmintofauna de peixes possam trazer informações sobre a saúde ambiental, dados sobre essa temática são praticamente inexistentes para este importante rio brasileiro. Dessa forma, o presente estudo visa contribuir para o conhecimento da taxonomia da helmintos parasitos de peixes na região do Baixo Rio Doce. Para isso, coletas de peixes foram realizadas na calha principal do Rio Doce em três regiões localizadas em centros urbanos no norte do Espírito Santo (Linhares, Colatina e Baixo Guandu) e em três afluentes. Os peixes coletados foram necropsiados e os helmintos encontrados foram fixados e posteriormente processados para estudo morfológico em microscópio de luz, microscopia eletrônica de varredura e análises genéticas. No total, 317 espécimes de peixes de 34 espécies foram analisados, dos quais 109 (34,27%) estavam infectados por helmintos. Os estudos taxonômicos revelaram a presença de 13 espécies de helmintos (Cestoda, Trematoda e Nematoda) entre os peixes avaliados. Duas espécies de cestódeos, *Proteocephalus macrophallus* e *Proteocephalus microscopicus* foram encontradas em *Cichla kelberi*. Entre os trematódeos, três espécies de Diplostomidae (*Austrodiplostomum compactum*, *Austrodiplostomum* sp. e *Dolichorchis* sp.) foram encontradas nos olhos de diferentes espécies de peixes e as metacercárias de *Dolichorchis* sp. foram registradas pela primeira vez no país. Metacercárias com morfologia compatível com *Clinostomum dimorphum* e *Clinostomum* sp. foram encontradas em diferentes espécies de hospedeiros, sendo esta última compatível com isolados não nomeados deste gênero encontrados na Argentina e México. Metacercárias de *Manteria* sp. são registradas pela primeira vez no Brasil. Entre os nematoides, três espécies da família Camallanidae foram encontradas em diferentes espécies de peixes. Também são propostos novos registros de *Contracaecum* sp. e *Ichthyouris* sp. em diferentes espécies de hospedeiros. O presente estudo representa a primeira contribuição para o conhecimento da helmintofauna de peixes no Baixo Rio Doce, e poderá servir de subsídio para futuros estudos relacionados a avaliação de impactos ambientais. De forma qualitativa, os dados obtidos demonstram que apesar da contaminação prévia por rejeitos de mineração no Rio Doce, várias espécies de helmintos com ciclo biológico complexo ainda ocorrem na região avaliada, apontando para a existência de relações ecológicas relacionadas aos processos de transmissão parasitária.

Palavras-chave: Parasitologia Ambiental, Taxonomia, Helmintofauna, Ictiofauna.

ABSTRACT

Studies involving the biodiversity of fish helminth parasites have expanded the knowledge on different aspects of host-parasite relationships involving these organisms. Such studies have revealed the potential of some helminth groups to act as bioindicators of environmental quality. In this context, the Doce River is an example of degraded environment involving contamination mining dam collapses in Mariana, Minas Gerais, in November 2015. Although studies on the helminth fauna of fishes can provide useful information about the environmental health, information on this topic are practically non-existent for this important Brazilian river. Therefore, the present study aims to contribute to the knowledge of the taxonomy composition of helminth parasites of fish in the Lower Doce River. For this purpose, fish samplings were carried out in the main channel of the Doce River at 3 regions located in the urban centers in the north of Espírito Santo State (Linhares, Colatina and Baixo Guandu) and three tributaries. The fish collected were necropsied, and the helminths found were fixed and subsequently processed for morphological study under light microscopy, scanning electron microscopy (SEM) and genetic analyzes. In total, 317 fish specimens from 34 species were analyzed, of which 109 (34.27%) were found infected with helminth parasites. The taxonomic studies carried out revealed the presence of 13 species of helminths (Cestoda, Trematoda and Nematoda) among the fish evaluated. Two species of cestodes, *Proteocephalus macrophallus* and *Proteocephalus microscopicus* were identified in *Cichla kelberi*. Among trematodes, three species of Diplostomidae (*Austrodiplostomum compactum*, *Austrodiplostomum* sp. and *Dolichorchis* sp.) were found in the eyes of different fish species. Additionally, metacercariae of *Dolichorchis* sp. is recorded for the first time in the country. Metacercariae with morphology compatible with *Clinostomum dimorphum* and *Clinostomum* sp. were found in different hosts, and the last one is compatible with unnamed isolates of this genus found in Argentina and Mexico. Metacercariae of *Manteria* sp. represent the first record of metacercariae of the family Acanthocolpidae in Brazil. Among nematodes, 3 species of the family Camallanidae, *Procamallanus (Procamallanus) peraccuratus*, *Procamallanus (Spirocamallanus) inopinatus*, *Procamallanus (Spirocamallanus) sp.*, were found in different fish species. Are also proposed new records of *Contracaecum* sp. and *Ichthyoris* sp. in different hosts. The present study represents the first contribution to the knowledge of the helminth fauna of fish in the Lower Doce River and can serve as a basis for future studies related to the assessment of environmental impacts. Qualitatively, the data obtained demonstrate that despite previous contamination by mining wastes in the Doce River, several helminth species with a complex life cycle still occur in the evaluated region, pointing to the existence of ecological relationships related to parasite transmission processes.

Keywords: Environmental Parasitology, Taxonomy, Helminth fauna, Ichthyofauna.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. A área do Rio Doce atingida pelo rejeito de minério desde o ponto do rompimento da barragem de Fundão, em Mariana (MG) até desaguar no Oceano Atlântico, em Regência (ES).	31
Figura 2. Regiões de coleta de peixes ao longo do Baixo Rio Doce, bem como os seus respectivos afluentes.	40
Figura 3. Rio Doce, em Linhares, na região do porto	41
Figura 4. Regiões de coletas na área central de Linhares, ES. O asterisco indica a localização da Lagoa Juparanã, considerada a maior do Brasil.....	42
Figura 5. Rio São José, em época de cheia.....	43
Figura 6. Rio Doce, em Colatina, no centro da cidade.	44
Figura 7. Regiões de coletas na área central de Colatina, ES.	45
Figura 8. Rio Santa Maria, em época de cheia.....	46
Figura 9. Rio Doce, em Baixo Guandu.....	47
Figura 10. Regiões de coletas em Baixo Guandu (ES) e Aimorés (MG).	48
Figura 11. Rio Manhuaçu, em época de cheia.	49
Figura 12. Fotomicrografias de exemplares maduros de <i>Proteocephalus macrophallus</i> , parasito de <i>Cichla kelberi</i> , coletado em Linhares/AFL	70
Figura 13. Representação de <i>Proteocephalus macrophallus</i> , parasito de <i>Cichla kelberi</i> , coletado em Linhares/AFL.....	71
Figura 14. Fotomicrografias de <i>Proteocephalus microscopicus</i> , parasito de <i>Cichla kelberi</i> coletado em Colatina/RD.	74
Figura 15. Representação de <i>Proteocephalus microscopicus</i> , parasito de <i>Cichla kelberi</i> , coletado em Colatina/RD.....	75

Figura 16. Fotomicrografias de <i>Manteria</i> sp., parasito de <i>Lycengraulis grossidens</i> coletado em Colatina/RD. Vista lateral do parasito por completo, em destaque a ventosa ventral.	79
Figura 17. Fotomicrografias de <i>Manteria</i> sp., parasito de <i>Lycengraulis grossidens</i> coletado em Colatina/RD, com enfoque na extremidade anterior e espinhos.....	80
Figura 18. Representação de <i>Manteria</i> sp., parasito de <i>Lycengraulis grossidens</i> coletado em Colatina/RD, vista ventral	81
Figura 19. Relações filogenéticas baseadas em fragmento do gene 28S rDNA de <i>Manteria</i> sp. (em negrito) e espécies da família Acanthocolpidae com dados disponíveis no GenBank baseada em baseadas em análises de Máxima Verossimilhança (MV) e Inferência Bayesiana (IB)..	82
Figura 20. Fotomicrografia de metacercária de <i>Dolichorchis</i> sp., parasito de <i>Hoplias malabaricus</i> coletado em Linhares/AFL, vista ventral.	87
Figura 21. Representação de metacercárias de <i>Dolichorchis</i> sp., parasito de <i>Hoplias malabaricus</i> coletado em Linhares/AFL.	88
Figura 22. Fotomicrografias de metacercárias de <i>Austrodiplostomum compactum</i> , encontradas em diferentes peixes no Baixo Rio Doce, ES.	91
Figura 23. Fotomicrografia de exemplar jovem de <i>Austrodiplostomum compactum</i> encontrado nos olhos de <i>Rinelocaria</i> sp. em Baixo Guandu/RD... ..	92
Figura 24. Presença de metacercárias de <i>Austrodiplostomum compactum</i> nos olhos de <i>Hoplias malabaricus</i> coletados em Baixo Guandu/RD, detalhe nas setas.....	92
Figura 25. Representação de metacercárias de <i>Austrodiplostomum compactum</i> , encontradas em diferentes peixes no Baixo Rio Doce, ES.	93
Figura 26. Fotomicrografias de metacercárias de <i>Austrodiplostomum</i> sp. encontrado nos olhos de <i>Pterygoplichthys</i> sp. em Baixo Guandu/RD.	96

Figura 27. Representação de metacercárias de <i>Austrodiplostomum</i> sp., parasito de <i>Pterygoplichthys</i> sp. coletado em Baixo Guandu/RD	97
Figura 28. Fotomicrografias dos primórdios genitais de metacercárias de <i>Clinostomum</i> sp., parasito de <i>Cichla kelberi</i> coletado em Linhares/AFL.....	100
Figura 29. Microscopia eletrônica de varredura, vista ventral de metacercária de <i>Clinostomum</i> sp. encontrado em <i>Pseudauchenipterus affinis</i> , podendo observar a ventosa oral (seta menor) e ventral (seta maior).....	100
Figura 30. Fotomicrografia das metacercárias de <i>Clinostomum</i> sp. encontradas em <i>Pseudauchenipterus affinis</i> (A) e <i>Cichla kelberi</i> (B), podendo ser observadas as diferenças estruturais.	101
Figura 31. Representação de <i>Clinostomum</i> sp., parasito de <i>Cichla kelberi</i> coletado em Linhares/AFL.....	102
Figura 32. Fotomicrografia de metacercária (hologenóforo) de <i>Clinostomum dimorphum</i> , parasito de <i>Hoplias malabaricus</i> coletado em Colatina/RD.....	106
Figura 33. Fotomicrografias das estruturas de <i>Clinostomum dimorphum</i> , parasito de <i>Hoplias malabaricus</i>	107
Figura 34. Representação de <i>Clinostomum dimorphum</i> , parasito de <i>Hoplias malabaricus</i> coletado em Colatina/RD, vista ventral	108
Figura 35. Relações filogenéticas baseadas em conjunto de dados ITS1-5.8S-ITS2 de <i>Clinostomum dimorphum</i> (em negrito) e outros membros da família Clinostomidae inferidas por Máxima Verossimilhança (MV) e Inferência Bayesiana (IB). O isolado de ' <i>Ithyoclinostomum</i> ' <i>yamagutii</i> (<i>incertae sedis</i>) está destacado em cinza.	110
Figura 36. Relações filogenéticas baseadas em 28S de <i>Clinostomum dimorphum</i> (em negrito) e outros membros da família Clinostomidae. O clado formado por isolados de ' <i>Ithyoclinostomum</i> ' <i>yamagutii</i> (<i>incertae sedis</i>) está destacado em cinza.	111

Figura 37. Relações filogenéticas baseadas no conjunto de dados Cox-1 de <i>Clinostomum dimorphum</i> (em negrito) e outros membros da família Clinostomidae. O clado formado por isolados de ' <i>Ithyoclinostomum yamagutii</i> (<i>incertae sedis</i>)' está destacado em cinza.	112
Figura 38. Fotomicrografia da cauda de um macho de <i>Procamallanus</i> (<i>Procamallanus</i>) <i>peraccuratus</i> , parasito de <i>Geophagus brasiliensis</i> , coletado em Aimorés/AFL, evidenciando o espículo maior com a estrutura terminal irregular (seta escura) e papilas pedunculadas (setas claras).	116
Figura 39. Microscopia eletrônica de varredura de um macho de <i>Procamallanus</i> (<i>Procamallanus</i>) <i>peraccuratus</i> , parasito de <i>Geophagus brasiliensis</i> , coletado em Aimorés/AFL.....	116
Figura 40. Fotomicrografias de adultos de <i>Procamallanus</i> (<i>Procamallanus</i>) <i>peraccuratus</i> , parasito de <i>Geophagus brasiliensis</i> , coletado em Aimorés/AFL.. ..	117
Figura 41. Representação de <i>Procamallanus</i> (<i>Procamallanus</i>) <i>peraccuratus</i> , parasito de <i>Geophagus brasiliensis</i> , coletado em Aimorés/AFL.. ..	118
Figura 42. Fotomicrografias de adultos de <i>Procamallanus</i> (<i>Spirocamallanus</i>) <i>inopinatus</i> , parasito de diferentes hospedeiros coletados na bacia do Baixo Rio Doce.....	123
Figura 43. Fotomicrografias de larva de <i>Procamallanus</i> (<i>Spirocamallanus</i>) <i>inopinatus</i> , parasito <i>Pygocentrus piraya</i> coletado em Colatina/RD	124
Figura 44. Representação de <i>Procamallanus</i> (<i>Spirocamallanus</i>) <i>inopinatus</i> , parasito de diferentes hospedeiros coletados na bacia do Baixo Rio Doce ...	125
Figura 45. Fotomicrografias de larva de <i>Procamallanus</i> (<i>Spirocamallanus</i>) sp., parasito de <i>Hoplias intermedius</i> coletado em Baixo Guandu/RD	128
Figura 46. Fotomicrografias da região anterior de <i>Contraecum</i> sp., parasito de diferentes hospedeiros coletados na bacia do Baixo Rio Doce.....	130

Figura 47. Representação de <i>Contracaecum</i> sp., parasito de diferentes hospedeiros coletados na bacia do Baixo Rio Doce.	131
Figura 48. Fotomicrografias de fêmeas de <i>Ichthyouris</i> sp., parasito de <i>Metynnis maculatus</i> coletado em Aimorés/AFL.....	135
Figura 49. Representação de <i>Ichthyouris</i> sp., parasito de <i>Metynnis maculatus</i> coletado em Aimorés/AFL.	136

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Relação helmintos parasitos reportados em lagos do Médio Rio Doce. Os dados foram obtidos de Moreira (2000) (para todas as espécies) e Belei e colaboradores (2013) (para *Austrodiplostomum compactum* e *Clinostomum dimorphum*). 35

Quadro 2. Dados gerais dos pontos de coletas, com as respectivas coordenadas geográficas e os períodos de amostragem. 39

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Espécies de peixes da Bacia do Baixo Rio Doce capturados e avaliados quanto a infecção por helmintos parasitos.	58
Tabela 2. Distribuição dos helmintos de peixes da bacia do Baixo Rio Doce coletados entre os períodos de novembro/2019 e janeiro/2022, bem como os seus hospedeiros, local de infecção e estágio de desenvolvimento dos helmintos, além dos descritores ecológicos..	64
Tabela 3. Dados morfométricos entre as espécies de <i>Proteocephalus</i> com os exemplares encontrados	72
Tabela 4. Dados morfométricos de metacercárias de <i>Manteria</i> sp., único registro do gênero publicado na América do Sul (ROJAS, TORRES & PEQUEÑO, 1999) e o exemplar jovem publicado no Brasil (AMATO, 1983).....	83
Tabela 5. Dados morfométricos de adultos de <i>Manteria brachydera</i> publicados na América do Sul por diferentes autores	84
Tabela 6. Dados morfométricos de metacercárias de <i>Austrodiplostomum</i> spp. encontradas em peixes do Baixo Rio Doce e em outras bacias, além de outras espécies do gênero conhecidas na região Neotropical	94
Tabela 7. Dados morfométricos de espécimes vouchers depositados em coleção de <i>Clinostomum dimorphum</i> (= <i>Ithyoclinostomum dimorphum</i>) encontrados em <i>Hoplias malabaricus</i> e <i>Hoplias intermedius</i> no Rio Doce, Espírito Santo, Brasil, em comparação com alguns exemplares encontrados no Médio Rio Doce e no rio São Francisco	109
Tabela 8. Dados morfométricos das espécies conhecidas de <i>Procamallanus</i> (<i>Procamallanus</i>) da América do Sul com os exemplares encontrados, baseado no estudo de Pinheiro <i>et al.</i> (2018).	119
Tabela 9. Dados morfométricos de <i>Procamallanus</i> (<i>Spirocamallanus</i>) <i>inopinatus</i> encontrados em peixes no Baixo Rio Doce e dados reportados por diferentes autores no Brasil.	126

Tabela 10. Dados morfométricos de <i>Ichthyouris</i> sp. encontrados no Baixo Rio Doce, Brasil, e dados reportados para espécies do gênero no Brasil por diferentes autores.....	137
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AB: Anel basal	O: Ovário
AC: Apêndice Caudal	Oni: Onívoro
AFL: Afluentes	Orig.: Origem
AL: Asa lateral	OP: Opérculo
AN: Anel Nervoso	OV: Ovos
ANU: Ânus	OT: Órgão Tribocítico
AV: Apêndice Ventricular	PE: Poro excretor
BC: Bolsa do Cirro	Per: Periféricos
BU: Bulbo	PF: Pré-faringe
C: Canais	PG: Poro Genital
Carn: Carnívoro generalista	Pisc: Piscívoro
CB: Cápsula bucal	PO: Projeção oral
CVB: Cavidade Bucal	PPadC: Papilas adcloacais
CD: Canal Deferente	PPoC: Papilas Pós-cloacais
CE: Coroa de espinhos	PPrC: Papilas Pré-cloacais
CES: Cristas Espirais	PV: Pseudoventosas
Cl: Cecos intestinais	PT: Primórdios Testiculares
CIR: Cirro	RD: Rio Doce
com.: comprimento	RU: ramificações do útero
DC: Dente Cefálico	SC: Saco do cirro
Detr.: Detritívoro	SU: Saco Uterino
DL: Papila Dorsolateral	VI: Vitelárias
EG: Esôfago glandular	T: Testículos
EM: Esôfago muscular	TA: Testículo Anterior
EMA: Espículo Maior	TP: Testículo Posterior
EME: Espículo Menor	Tot.: Total de peixes
ES: Espículos	Tro.: Trofismo
ESO: Esôfago	U: Útero
ED: Estágio de desenvolvimento	V: Ventosa
Euri.: Eurialinidade	VA: Ventosa Apical
Exó: Exótica	VE: Ventrículo Esofagiano
F: Faringe	VI: Vitelária
GA: glândula apical	VD: Vasos Deferentes
GM: Glândula de Mehlis	VO: Ventosa Oral
Herb: Herbívoro	VU: Vulva
IN: Intestino	VV: Ventosa Ventral
LA: Lábios	Zoob: Zoobentívoro
larg.: largura	1ª: Primária
Nat: Nativa	2ª: Secundária

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	23
1.1. O estudo da helmintofauna de peixes.....	23
1.2. O Rio Doce e a tragédia ambiental.....	29
1.2.1. <i>A composição ictiológica do Rio Doce</i>	31
1.2.2. <i>A parasitofauna de peixes na Bacia do Rio Doce</i>	33
2. JUSTIFICATIVA	37
3. OBJETIVOS	38
3.1. Objetivo geral.....	38
3.2. Objetivos específicos.....	38
4. MATERIAIS E MÉTODOS	39
4.1. Área de estudo.....	39
4.1.1. <i>Rio Doce, Linhares (Linhares/RD)</i>	41
4.1.2. <i>Rio São José, Linhares (Linhares/AFL)</i>	43
4.1.3. <i>Rio Doce, Colatina (Colatina/RD)</i>	44
4.1.4. <i>Rio Santa Maria, Colatina (Colatina/AFL)</i>	46
4.1.5. <i>Rio Doce, Baixo Guandu (Baixo Guandu/RD)</i>	47
4.1.6. <i>Rio Manhuaçu, Aimorés, MG (Aimorés/AFL)</i>	49
4.2. Captura e identificação dos peixes.....	50
4.3. Necropsia, coleta e fixação de helmintos.....	51
4.4. Caracterização morfológica.....	52
4.4.1. <i>Microscopia de luz</i>	52
4.4.2. <i>Microscopia eletrônica de varredura</i>	52
4.4.3. <i>Identificação Taxonômica</i>	52
4.5. Indicadores ecológicos.....	53
4.6. Caracterização genética.....	54
4.6.1. <i>Extração e quantificação de DNA</i>	54

4.6.2. Amplificação do DNA.....	54
4.6.3. Purificação por PEG.....	55
4.6.4. Sequenciamento de DNA.....	55
4.6.5. Análises das sequências.....	56
5. RESULTADOS	57
5.1. Espécies de peixes capturadas.....	57
5.2. Espécies de peixes infectadas por helmintos.....	62
5.2.1. Caracterização taxonômica dos helmintos encontrados.....	67
6. DISCUSSÃO	138
6.1 Proteocephalidae	138
6.2 Acanthocolpidae	139
6.3 Diplostomidae	141
6.4 Clinostomidae	144
6.5 Camallanidae	149
6.6 Anisakidae	151
6.7 Pharyngodonidae.....	152
6.8 Ausência de Monogenoidea.....	153
6.9 Aspectos ambientais e ictiofaunísticos.....	155
7. CONCLUSÕES.....	157
REFERÊNCIAS.....	159
ANEXO 1.....	181
ANEXO 2.....	182
ANEXO 3.....	183

1. INTRODUÇÃO

1.1. O estudo da helmintofauna de peixes

Nos últimos anos, os parasitos foram reconhecidos como importante componentes da biodiversidade global (POULIN & MORAND, 2004). O reconhecimento desta biodiversidade é importante não somente para a contribuição no avanço do inventário das espécies, mas também para o entendimento das relações parasito-hospedeiro (POULIN & MORAND, 2004). No entanto, essa biodiversidade ainda é pouco estudada. E, em se tratando de ictioparasitologia, a situação não é diferente. Segundo Pavanelli e colaboradores (2013), menos de 25% das espécies de peixes conhecidas foram necropsiadas para o reconhecimento da sua fauna parasitária. Além disso, a maioria dos estudos no Brasil concentra-se nas bacias hidrográficas da Amazônia e do Paraná (THATCHER, 2006; EIRAS, TAKEMOTO & PAVANELLI 2010; RODRIGUES, 2018).

Neste contexto, os parasitos de peixes podem refletir, mesmo que indiretamente, as interações bentônicas, planctônicas, além de outras interações ecológicas de seus hospedeiros, podendo ser tão sensíveis ao estresse ambiental quanto os peixes (SURES & NACHEV, 2022). Diferentes grupos de parasitos podem provocar alterações em seus hospedeiros, como produção excessiva de muco, alteração no crescimento, perda de peso, além de aumentar a vulnerabilidade à predação e mesmo levar o animal parasitado à morte (PAVANELLI, MACHADO & TAKEMOTO, 1997; MARCOGLIESE, 2004; THATCHER, 2006). De fato, estudos indicam que diferentes espécies de helmintos de peixes podem levar a alterações patológicas resultando em altas taxas de mortalidade, redução em capturas ou perdas comerciais, podendo os prejuízos serem incalculáveis, afetando o processo expansivo da piscicultura e da pesca local e esportiva (EIRAS, 1994).

Os peixes apresentam grande riqueza parasitária quando comparados a outras classes de vertebrados, uma vez que, assim como várias hipóteses sugerem, estes organismos vivem um logo período em estreita associação com diferentes espécies de invertebrados, seja na constituição de teias alimentares,

ou pela fácil mobilidade em ambiente aquático, favorecendo a ocupação de novos nichos ecológicos pelos parasitos (BARBER, HOARE & KRAUSE, 2000; ACOSTA *et al.*, 2016).

Dentre os estudos de parasitos de peixes, ressaltamos a importância da compreensão de sua helmintofauna, principalmente em ambientes de água doce, uma vez que podem funcionar como excelentes indicadores de biodiversidade, principalmente nos grupos que possuem mais de um hospedeiro em seu ciclo de vida (MARCOGLIESE, 2004; HECHINGER *et al.*, 2007; SURES *et al.*, 2017). Além disso, o meio aquático, em condições naturais, pode ser considerado relativamente estável e com condições ideais para o desenvolvimento de diferentes estádios larvais dos helmintos (PEREIRA *et al.*, 2018). Vale enfatizar ainda que os estudos de monitoramento em ecossistemas de água doce apresentam suma importância atualmente, pois são considerados ambientes altamente afetados pela ação antrópica, o que reflete, conseqüentemente, na diminuição gradativa de seu espaço e a degradação massiva do seu ecossistema, quando comparado à perda da biodiversidade em ambiente terrestre (SURES *et al.*, 2023).

No Brasil, uma rica helmintofauna em peixes é conhecida, sendo considerado um dos *hotspot* de biodiversidade de parasitos na América do Sul (LUQUE & POULIN, 2007; EIRAS, TAKEMOTO & PAVANELLI, 2010; LUQUE *et al.*, 2016). Além disso, certamente há ainda novas espécies a serem encontradas e descritas. Esta diversidade helmintológica é composta por diferentes grupos taxonômicos que utilizam peixes como hospedeiros intermediários ou definitivos. Entre os principais grupos de helmintos parasitos de peixes, encontram-se espécies dos filos Platyhelminthes (Classes Cestoda, Trematoda e Monogenoidea), Nematoda e Acanthocephala (THATCHER, 2006; EIRAS, TAKEMOTO & PAVANELLI, 2010; LUQUE *et al.*, 2016).

Com mais de 18 mil espécies nominiais descritas, a classe Trematoda é o grupo com maior número de espécies entre os Platyhelminthes (CRIBB *et al.*, 2001; GIBSON, JONES & BRAY, 2002; OLSON *et al.*, 2003; KOSTADINOVA & PÉREZ-DEL-OLMO, 2019). Considerando a fauna de helmintos da América do Sul, é o segundo grupo mais rico em espécies, perdendo apenas para Monogenoidea (LUQUE *et al.*, 2016). De fato, esta região registra o maior número de espécies de trematódeos digenéticos em peixes do mundo (KOHN,

FERNANDES & COHEN, 2007). O Brasil é o país com maior representatividade no subcontinente, com mais de 266 espécies destes parasitos já conhecidas em peixes marinhos e dulcícolas (KOHN, FERNANDES & COHEN, 2007; LUQUE *et al.*, 2016). Apesar disso, acredita-se que apenas 5% da fauna parasitária de trematódeos em peixes de água doce nesta região seja conhecida (CHOUDHURY *et al.*, 2016). Neste grupo, os peixes podem atuar como segundo hospedeiro intermediário (apresentando o estágio de metacercária), ou como hospedeiros definitivos.

A classe Cestoda apresenta cerca de 500 espécies de parasitos encontrados em peixes dulcícolas e marinhos no mundo (CAIRA & JENSEN, 2017). A ordem Onchoproteocephalidea, considerada mais importante do ponto de vista ictiológico, apresenta o maior número de espécies encontradas na América do Sul, sendo cerca de 50 espécies registradas no Brasil (CAIRA & JENSEN, 2017, COHEN *et al.*, 2023). Diferentes estágios larvais de vários grupos de cestódeos, como os pertencentes à ordem Diphyllbothriidea, podem também ser encontrados em peixes. Larvas do tipo plerocercoides podem se desenvolver na cavidade corpórea desses vertebrados e atingir quase o mesmo peso dos tecidos dos mesmos, podendo ser prejudiciais a estes hospedeiros intermediários (SCHOLZ, KUTCHA & OROS, 2021).

Outro importante grupo de parasito de peixes também conhecidos em várias regiões do mundo pertencem à classe Monogenoidea, com 835 espécies reportadas e 1133 associações parasito-hospedeiro conhecidas somente na América do Sul (LUQUE *et al.*, 2016). Mais de 300 espécies já registradas em 144 espécies de peixes de água doce na região Neotropical (BOEGER & VIANNA, 2006; COHEN & KOHN, 2008; COHEN *et al.*, 2013). Diferente dos trematódeos, as espécies de Monogenoidea apresentam ciclo de vida direto, sendo que os estágios larvais ocorrem no ambiente ou no próprio hospedeiro (MARCOTEGUI, 2011). Assim, o contato direto com o ambiente é muito maior do que aquele que ocorre com os demais grupos de helmintos, tornando os monogenéticos mais sensíveis a mudanças nos parâmetros físicos e químicos da água, podendo ser considerados bons bioindicadores ambientais (BAYOUMY *et al.*, 2008; NACHEV, 2010; GILBERT & AVENANT-OLDEWAGE, 2021).

Os nematoides representam o quarto grande grupo de helmintos com maior quantidade de associações parasitárias registradas em peixes nas bacias

neotropicais (LUQUE *et al.*, 2016). Estes vertebrados podem atuar como hospedeiros intermediários, albergando larvas em seus órgãos internos ou em sua musculatura, ou como hospedeiros definitivos, quando infectados por estágios adultos. Como nos outros grupos já comentados, a literatura relacionada ao grupo é vasta, com diversos artigos já publicados, incluindo chaves taxonômicas, descrições e/ou aspectos da biologia de diferentes espécies de nematoides encontrados em peixes de quase todos os estados brasileiros (VICENTE *et al.*, 1985; VICENTE & PINTO, 1999; LUQUE *et al.*, 2011). Atualmente mais de 300 espécies de cerca de 70 gêneros de nematoides são conhecidos por infectar peixes marinhos e dulcícolas na América do Sul (LUQUE *et al.*, 2011, 2016). Diferentes compilações sobre as diversas espécies de nematoides de peixes de água doce, incluindo informações detalhadas sobre localidade, habitat, sítio de infecção e estágio de desenvolvimento, podem ser encontradas em Moravec (1998), Thatcher (2006) e Luque e colaboradores (2011).

Por fim, embora seja relativamente pouco conhecido em peixes neotropicais, o filo Acanthocephala apresenta mais de 34 espécies registradas em peixes marinhos e dulcícolas no Brasil (LUQUE & POULIN, 2007). As principais espécies encontradas em peixes pertencem aos gêneros *Echinorhynchus* Zoegam, 1776, *Neoechinorhynchus* Stiles & Hassall, 1905, *Quadrigyrus* Van Cleave, 1920, *Rhadinorhynchus* Travassos, 1923, *Polyacanthorhynchus* Travassos, 1920 e *Gorytocephalus* Nickol & Thatcher, 1971 (THATCHER, 2006; SANTOS *et al.*, 2008). Os acantocéfalos parasitos de peixes podem ser encontrados na forma de cistacantos nos tecidos de seus hospedeiros, principalmente no caso dos membros da família Polymorphidae (SANTOS *et al.*, 2008).

Um ponto que merece atenção no que se refere à helmintofauna de peixes, são as espécies de helmintos potencialmente zoonóticas. Em todo o Brasil, a pesca é uma importante atividade econômica e recreativa, e os peixes se apresentam como uma importante fonte de proteína para a alimentação da população. Tendo em vista a introdução e disseminação do hábito alimentar relacionado a ingestão de pratos contendo peixes crus ou malcozidos, especialmente daqueles relacionados à culinária oriental (sushi, sashimi) e peruana (ceviche), o número de ocorrências de ictiozoonoses parasitárias

possivelmente aumentará. Entre os principais grupos de helmintos com potencial zoonótico encontram-se diferentes famílias de trematódeos (Opisthorchiidae, Heterophyidae, Clinostomidae), cestódeos (Diphyllobothridae como *Dibothriocephalus latus* (Linnaeus, 1758) (= *Diphyllobothrium latum*) e *Adenocephalus pacificus* Nybelin, 1931 (= *Diphyllobothrium pacificum*) e de nematoides (Anisakidae e Gnathostomidae) (AMATO-NETO, AMATO & AMATO, 2007; CORNAGLIA *et al.*, 2016; SANTOS, 2017; SCHOLZ *et al.*, 2019; SANTOS & BORGES, 2020).

No geral, as zoonoses ocasionadas pela ingestão de peixes crus devem ser levadas em consideração com o intuito de alertar a comunidade científica e autoridades sanitárias para este importante problema de saúde pública e incentivar a realização de novas pesquisas relacionadas à epidemiologia, prevenção e controle destas parasitoses (CARDIA & BRESCIANI, 2012). No contexto atual, os possíveis impactos de alterações antrópicas na ocorrência e transmissão de helmintos potencialmente zoonóticos são desconhecidos, agregando ainda mais a importância do estudo destes parasitos causadores de tais enfermidades.

Em uma outra vertente, os helmintos que infectam o pescado podem produzir efeitos deletérios aos peixes e reflexos negativos à piscicultura. Muitos desses patógenos reduzem as taxas de assimilação e crescimento dos hospedeiros, levando à diminuição do valor comercial dos peixes ou limitando a exploração de algumas espécies cultivadas (EIRAS, 1994), além de aumentar a suscetibilidade dos animais parasitados a infecções por organismos oportunistas, tais como fungos, vírus e bactérias (LEIRA *et al.*, 2017). Estes parasitos podem se alojar em diferentes órgãos, como por exemplo nos olhos, na pele, nos músculos, contribuindo para mudança no comportamento, alterando o seu crescimento e causando outros malefícios até mesmo mortais (KUBITZA & KUBITZA, 2004; VIANNA *et al.*, 2005; THATCHER, 2006). No contexto da piscicultura, alguns grupos de helmintos têm se destacado, como nematoides da família Anisakidae e Capilaridae (MORAIS, 2005), trematódeos das famílias Diplostomidae e Clinostomidae (KUBITZA & KUBITZA, 2004; VIANNA *et al.*, 2005) além de diversas espécies de Monogenoidea, sendo Dactylogyridae a principal família da região Neotropical, as quais são consideradas altamente patogênicas aos seus hospedeiros (THATCHER, 2006; LIZAMA *et al.*, 2007).

Além disso, nos últimos anos, a Parasitologia Ambiental tem sido uma abordagem que avalia o impacto das alterações ambientais, especialmente as antropogênicas, na biologia de parasitos e hospedeiros. Segundo Marcogliese (2005), os parasitos são “úteis” no ecossistema para resolver inconsistências na cadeia alimentar. No entanto, devido ao aumento de poluentes ambientais, o uso de parasitos como bioindicadores surge na circunstância de preocupação global com o meio ambiente.

Neste contexto, a avaliação da perda de diversidade de parasitos aquáticos nas últimas décadas surge como um novo cenário de pesquisas e perspectivas na área ambiental (SURES *et al.*, 2023; WOOD *et al.*, 2023). Ademais, o desequilíbrio da integridade biótica do ecossistema aquático reflete nos parâmetros ecológicos das comunidades de parasitos, os quais possuem grande potencial para responder como indicadores de estresse ambiental ou baixa qualidade da água (NACHEV & SURES, 2016; YADAV *et al.*, 2021).

Em linhas gerais, as respostas dos hospedeiros e das comunidades variam com o ciclo de vida do parasito, com o tipo de estresse ambiental e o tempo de exposição ao contaminante (MARCOGLIESE, 2004, SURES *et al.*, 2023). Algumas vertentes defendem que ambientes degradados ou impactados tendem a ter menor riqueza e abundância parasitária (MARCOGLIESE, 2004; HUDSON, DOBSON & LAFFERTY, 2006; SURES *et al.*, 2023). Isso se deve a redução dos estágios de vida livre desses parasitos no ambiente, seja por estarem diretamente afetados ou pela redução de seus hospedeiros intermediários, que afetam o ciclo de vida dos parasitos (MARCOGLIESE, 2005). Descobertas recentes retratam que a diversidade de parasitos com ciclos de vida heteróxenos, que necessitam de um ou mais hospedeiros intermediários, como Digenea, Cestoda e Acanthocephala, tendem a diminuir em ambientes degradados em comparação aos parasitos monóxenos, os quais necessitam de apenas um hospedeiro em seu ciclo de vida, como os monogenoideos. Isso se deve ao aumento da susceptibilidade que os agentes estressores podem causar no hospedeiro, prejudicando o seu mecanismo de defesa e favorecendo o parasitismo de organismos monóxenos (CHAPMAN *et al.*, 2015; SURES & NACHEV, 2022; SURES *et al.*, 2023; WOOD *et al.*, 2023). Além disso, parasitos especialistas, ou seja, que infectam apenas um grupo ou uma única espécie de hospedeiro, são mais susceptíveis à estresses ambientais pois não apresentam

capacidade de mudar para uma nova espécie como os generalistas (CIZAUSKAS *et al.*, 2017).

Dessa forma, o levantamento e caracterização dos helmintos de peixes possui importância não somente em estudos taxonômicos, mas também tem o potencial de permitir o monitoramento das comunidades em ecossistemas aquáticos. Esses organismos podem responder a mudanças climáticas e a impactos ambientais de diferentes tipos de poluentes, incluindo pesticidas, metais pesados, efluentes industriais, derivados de petróleo, dentre outros, o que podem influenciar direta- ou indiretamente as diversas relações ecológicas envolvendo parasitos e hospedeiros (SURES *et al.*, 2023). Sendo assim, o conhecimento sobre a taxonomia e biologia destes parasitos se apresentam como pré-requisito para o uso destes organismos como bioindicadores, além de auxiliar em descoberta de novas espécies, novas áreas de ocorrências e hospedeiros, além de poder subsidiar estudos filogenéticos e ajustes na classificação. Este conhecimento taxonômico sobre a biodiversidade local serve, por exemplo, como base para pesquisas subsequentes focadas em ecologia parasitária, manejo e conservação ambiental (LUQUE & POULIN, 2007).

1.2. O Rio Doce e a tragédia ambiental

O Rio Doce é um dos importantes rios que cortam os estados de Minas Gerais (MG) e o Espírito Santo (ES). Nasce no município de Ressaquinha, em MG, corta o ES e desagua no Oceano Atlântico, na cidade de Regência, litoral capixaba (VIEIRA, 2010). Divide-se em três seções geograficamente distintas: Alto (desde as cabeceiras até a foz do rio Matipó), Médio (da confluência do rio até a divisa de MG e ES) e Baixo curso (da jusante da Usina Hidrelétrica de Mascarenhas até a sua foz) (VIEIRA, 2010). A bacia do Rio Doce, considerada uma das principais redes fluviais do sudeste do Brasil, faz parte das bacias denominadas Drenagens Costeiras do Atlântico (BUCKUP, 2011), as quais apresentam relativa riqueza com alto índice de endemismo (ALVES *et al.*, 2021).

No início do século XIX, o Rio Doce foi considerado um canal que oferecia vantagens econômicas ao estado de MG conferindo-lhe acesso direto ao mar e ao mercado mundial (ESPINDOLA, 2007). Diante deste quadro econômico, grandes mineradoras se interessaram pela região a fim de transportar o minério

ao longo do rio, dando origem a barragens e construções para a exploração dos recursos minerais de regiões em MG, nas proximidades do Rio Doce (ESPINDOLA, 2007).

Ainda que a extração mineral seja um importante setor para o desenvolvimento do país, a atividade gera grande quantidade de resíduos que deveriam ser geridos corretamente a fim de amenizar os impactos ambientais que podem ocasionar (CARVALHO *et al.*, 2017). Quando mal executadas, as estruturas utilizadas no processo, como barragens de rejeitos, podem sofrer rupturas e impactar significativamente a flora e fauna local, além da população residente (OLIVEIRA, 2019). Infelizmente, este fato ocorreu no dia 5 de novembro de 2015, quando o Brasil presenciou a maior catástrofe ecológica da história do país nos últimos tempos: o rompimento da barragem de Fundão no município de Mariana (MG). Mais de 70 milhões de metros cúbicos de rejeitos relacionados à extração de minério de ferro (PORTO, 2016) atingiram rios e moradias localizadas a jusante desta barragem, ocasionando grave e, provavelmente, irreversível dano ecológico e social (OLIVEIRA, 2019). A avalanche de lama de rejeitos causou grande destruição no distrito de Bento Rodrigues, Mariana, deixando mais de 600 pessoas desabrigadas, 18 mortas e uma pessoa desaparecida (PORTO, 2016). A contaminação por rejeitos de mineração dizimou grande parte da fauna e da flora em algumas localidades e pode estar associada a alterações ecossistêmicas não completamente conhecidas, inclusive no ambiente marinho (SANTOS *et al.*, 2017). Além disso, os rejeitos dessa barragem foram transportados ao longo do Rio Doce, chegando até a sua foz no estado do Espírito Santo (Figura 1).

Qualquer alteração no meio ambiente afeta consideravelmente o equilíbrio ecológico do habitat (MARCOGLIESE, 2005). No caso do rompimento de barragens de rejeitos de minérios, as consequências são drásticas e complexas. Como a água exerce o papel de transporte de elementos no meio aquático, acaba transmitindo os contaminantes em seu meio para a flora, fauna e seres humanos, causando consequências muitas vezes irreparáveis.

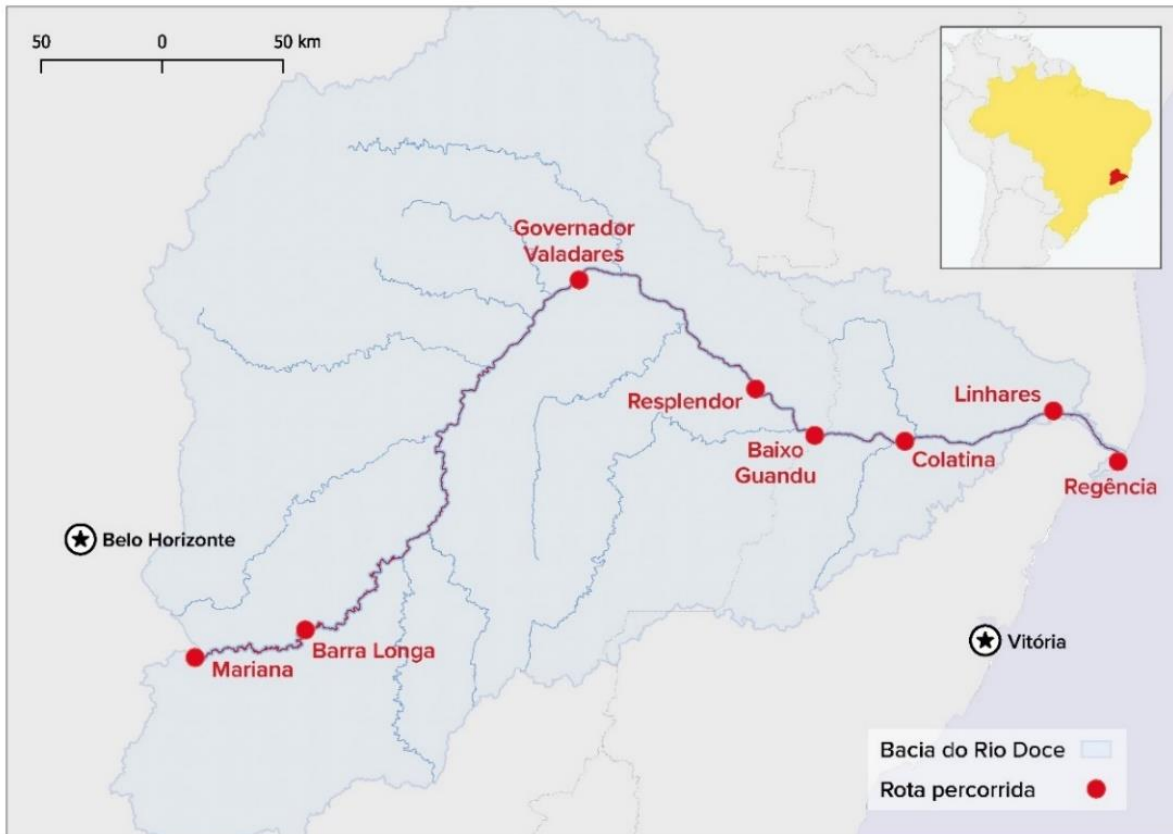


Figura 1. A área do Rio Doce atingida pelo rejeito de minério desde o ponto do rompimento da barragem de Fundão, em Mariana (MG) até desaguar no Oceano Atlântico, em Regência (ES).

1.2.1. A composição ictiológica do Rio Doce

Cerca de 180 espécies de peixes pertencentes a 46 famílias e 19 ordens já foram registradas na bacia do Rio Doce. Siluriformes é a ordem com maior número de espécies (58), seguida por Characiformes (28) e Perciformes (25). Entre as diferentes famílias, Loricariidae (Siluriformes) é a que representa maior número de espécies (22), seguida por Trichomycteridae (Siluriformes) (17) e Characidae (Characiformes) (14) (ALVES *et al.*, 2021). No Rio Doce como um todo, estima-se a ocorrência de 80 espécies endêmicas, 86 estuarinas e cerca de 17 exóticas (VIEIRA, 2010; ALVES *et al.*, 2021). Entre as suas três regiões, o Baixo Rio Doce é a menos estudada quanto a sua ictiofauna (VIEIRA, 2010). No entanto, um levantamento recente realizado por Rodrigues e colaboradores (2022) nesta região registra 24 ordens, 44 famílias, 84 gêneros e 115 espécies de peixes.

Registros de espécies exóticas no Rio Doce são datados do final de década de 1990 (ALVES *et al.*, 2021). Segundo Vieira (2010), no Baixo Rio Doce, 17 espécies são consideradas exóticas. Essas espécies, além dos impactos diretos causados pelo desequilíbrio ecológico na biodiversidade da comunidade devido a sua introdução no meio, também podem transmitir patógenos e parasitos para as espécies nativas do rio (REID *et al.*, 2019). Uma dessas espécies exóticas muito comum de ser encontradas neste rio é *Cichla kelberi* Kullander & Ferreira, 2006, conhecida popularmente como “tucunaré amarelo”, principalmente devido a sua coloração e manchas claras nas nadadeiras pélvicas, anal e caudal, o que distingue de outras espécies de tucunarés (GOMES, 2002). Habita ambientes lênticos, se reproduz principalmente na estação chuvosa (ZARET, 1980), apresenta dimorfismo sexual durante a época reprodutiva, quando os machos apresentam uma protuberância pós-occipital (FONTENELE, 1948) e possuem alta taxa de fertilidade (FONTENELE, 1950). Peixes pertencentes ao gênero *Cichla* são considerados nativos do rio Amazonas e invasores em diversas bacias brasileiras (LEITE *et al.*, 2021), tais como o Rio Doce.

A porção do Baixo Rio Doce é a única que apresenta peixes invasores marinhos com importância para a pesca e culinária local, destacando-se as espécies dos gêneros *Caranx* Lacépède, 1801 (xaréus), *Eugerres brasiliensis* Cuvier, 1830 (carapeba), bagres marinhos (Ariidae), entre outros (VIEIRA, 2010).

Algumas espécies nativas e exóticas desta região são amplamente comercializadas nos mercados de Linhares e Colatina (ES), tais como *Hoplias intermedius* (Günther, 1864) (trairão), *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (traíra), *Hypostomus affinis* (Steindachner, 1877) (cascudo), além de pacumã (*Lophiosilurus alexandrii* Steindachner, 1876), tucunarés (*Cichla* spp.), piranhas (*Pygocentrus* spp.), acarás [*Astronatus ocellatus* (Agassiz, 1831)] e tilápias (*Oreochromis* sp. e *Tilapia* sp.) (VIEIRA, 2010). Por fim, algumas espécies são consideradas ameaçadas de extinção nesta porção do rio, tais como *Brycon devillei* (Castelnau, 1855) (piabanha), *Prochilodus vimboides* Kner, 1859 (curumatã), *Xenurolebias izecksohni* (da Cruz, 1983) (peixe-anual) e *Potamarius grandoculis* Steindachner, 1877 (bragre) (VIEIRA, 2010).

Nos últimos anos, levantamentos sobre a qualidade físico-química do sedimento em diferentes pontos da Bacia do Rio Doce foram realizados visando o monitoramento dos impactos ambientais decorrentes do acidente ocorrido em

Mariana (HATJE *et al.*, 2017; GUEVARA *et al.*, 2018). A contaminação dos metais derramados no rio pode ter ocasionado intoxicação nos animais, principalmente nos peixes locais. As elevadas concentrações de níquel (Ni) e cobre (Cu), analisadas por Carvalho e colaboradores (2017), podem aumentar a secreção mucosa presente nas brânquias de peixes, impedindo o movimento normal dos filamentos branquiais, levando a morte destes animais. Além destes, outros metais como o mercúrio (Hg), ferro (Fe) e cromo (Cr) reagem com o oxigênio presente na água, o que conseqüentemente pode induzir a peroxidação de lipídios, danos ao DNA e alteração na homeostase de sais minerais essenciais ao organismo (DE JESUS & DE CARVALHO, 2008).

No entanto, a maioria destes estudos (COPPO *et al.*, 2018; FERREIRA *et al.*, 2020; MACÊDO *et al.*, 2020; WEBER *et al.*, 2020) estão concentrados principalmente nos Alto e Médio cursos do rio. A deposição dos sedimentos de minério sobre os substratos pode ter ocasionado alteração nos cursos d'água, diminuindo conseqüentemente a disponibilidade de habitats e microhabitats (ALVES *et al.*, 2021). Isso pode ter alterado o ecossistema local, inclusive no Baixo curso do rio, o qual apresenta poucos estudos sobre o reflexo da lama neste ambiente. Além disso, estudos parasitológicos e as conseqüências que a presença destes metais pode ter ocasionado nas relações parasito-hospedeiro nesta porção do rio são inexistentes.

1.2.2. A parasitofauna de peixes na Bacia do Rio Doce

Mesmo diante da importância do estudo da parasitofauna em peixes e o uso de parasitos como bioindicadores ambientais, são poucos os estudos realizados no Rio Doce a respeito da ictioparasitofauna como um todo. Especificamente no Baixo Rio Doce, trabalhos dentro desta temática são inexistentes.

Moreira (2000) realizou um levantamento da helmintofauna de peixes coletados em lagos do Médio Rio Doce, em Minas Gerais, nas áreas do Parque Estadual do Rio Doce. Neste estudo, foram comparadas a fauna parasitária de peixes nativos e introduzidos no local, sendo que cerca de 60% dos peixes

coletados estavam parasitados com algum táxon de helminto, principalmente por nematoides.

Em 2013, Belei e colaboradores registraram metacercárias de *Austrodiplostomum compactum* (Lutz, 1928) e *Clinostomum dimorphum* (Diesing, 1950) (= *Ithyoclinostomum dimorphum*) em *H. malabaricus* coletados na Lagoa Carioca, também no Médio Rio Doce, indicando a presença desses parasitos antes do rompimento da barragem de Fundão em Mariana. A partir de 2015, ano em que a tragédia ocorreu, não houve pesquisas relacionadas ao monitoramento de parasito em peixes no Rio Doce, indicando carência nos estudos da helmintofauna parasitária local, principalmente após o desequilíbrio ambiental que os rejeitos da lama trouxeram.

Os registros dos parasitos e peixes coletados no Rio Doce encontrados por Moreira (2000) e Belei e colaboradores (2013) podem ser observados no quadro 1.

Quadro 1. Relação helmintos parasitos reportados em lagos do Médio Rio Doce. Os dados foram obtidos de Moreira (2000) (para todas as espécies) e Belei e colaboradores (2013) (para *Austrodiplostomum compactum* e *Clinostomum dimorphum*).

Helmintos Parasitos		Hospedeiros
Táxon	Estágio	
FILO ACANTHOCEPHALA CLASSE EOACANTOCEPHALA Quadrigyridae Van Cleave, 1920 <i>Quadrigyrus brasiliensis</i> Machado-Filho 1941	Adultos Cistacantos	<i>Hoplerythrinus unitaeniatus</i> <i>Hoplias malabaricus</i>
<i>Quadrigyrus machadoi</i> Fabio, 1983	Adultos	<i>Hoplias malabaricus</i>
<i>Quadrigyrus</i> sp.	Cistacantos	<i>Rhamdia quelen</i>
FILO PLATHYHELMINTHES CLASSE TREMATODA Clinostomidae Lühe, 1901 <i>Clinostomum dimorphum</i> (= <i>Ithyoclinostomum dimorphum</i>) (Diesing, 1850)	Metacercárias	<i>Hoplerythrinus unitaeniatus</i> <i>Hoplias malabaricus</i>
<i>Clinostomum heluans</i> Braun, 1899		<i>Astronotus ocellatus</i>
<i>Clinostomum marginatum</i> (Rudolphi, 1819)		<i>Geophagus brasiliensis</i> <i>Moenkausia doceana</i> <i>Oligosarcus solitarius</i> <i>Parauchenipterus striatulus</i> <i>Rhamdia quelen</i>
Diplostomidae Poirier, 1886 <i>Austrodiplostomum compactum</i> (Lutz, 1928)		<i>Cichla ocellaris</i> <i>Cyphocharax gilberti</i> <i>Hoplias malabaricus</i> <i>Loricariichthys spixii</i> <i>Rhamdia quelen</i>
Diplostomídeos indeterminados		<i>Geophagus brasiliensis</i> <i>Parauchenipterus striatulus</i> <i>Rhamdia quelen</i>
Gorgoderidae Looss, 1899 <i>Phyllodistomum spatula</i> (Odhner, 1902)		<i>Hoplerythrinus unitaeniatus</i>
CLASSE MONOGENOIDEA Indeterminados	Adultos	<i>Rhamdia quelen</i>
FILO NEMATODA CLASSE CHROMADOREA Ascarididae (Baird, 1853) Indeterminados	Larvas	<i>Cyphocharax gilberti</i> <i>Hoplerythrinus unitaeniatus</i> <i>Hoplias malabaricus</i> <i>Parauchenipterus striatulus</i> <i>Rhamdia quelen</i>

<p>Anisakidae Railliet & Henry, 1912 <i>Contraecaecum</i> spp.</p>	Larvas	<p><i>Astyanax bimaculatus</i> <i>Geophagus brasiliensis</i> <i>Hoplerythrinus unitaeniatus</i> <i>Hoplias malabaricus</i> <i>Leporinus steindachneri</i> <i>Loricariichthys spixii</i> <i>Moenkausia doceana</i> <i>Oligosarcus solitarius</i> <i>Pachipops adspersus</i> <i>Parauchenipterus striatulus</i> <i>Pygocentrus nattereri</i> <i>Rhamdia quelen</i></p>
<p>Raphidascarididae Hartwich, 1954 <i>Hysterothylacium rhamdjae</i> Brizola & Tanzola, 1995</p>	Adultos	<i>Rhamdia quelen</i>
<p>Cucullanidae Cobbold, 1864 <i>Cucullanus heliomartinsi</i> Moreira, Rocha & Costa, 2000</p>	Adultos	<i>Parauchenipterus striatulus</i>
<p><i>Paraseuratum soaresi</i> Fabio, 1982</p>	Adultos	<i>Hoplias malabaricus</i>
<p>Diectophymidae Railliet, 1915 <i>Eustrongylides</i> sp.</p>	Larvas	<p><i>Hoplias malabaricus</i> <i>Parauchenipterus striatulus</i></p>
<p>Pharyngodonidae Travassos, 1919 Indeterminados</p>	Adultos	<i>Cyphocharax gilberti</i>
<p><i>Cosmoxynemoides aguirrei</i> Travassos, 1949</p>		<i>Cyphocharax gilberti</i>
<p><i>Travnema</i> sp.</p>		<i>Cyphocharax gilberti</i>
<p>Camallanidae Railliet & Henry, 1915 <i>Procamallanus (Spirocamallanus) hilarii</i> Vaz & Pereira, 1934</p>		<i>Hoplias malabaricus</i>
<p><i>Procamallanus (Spirocamallanus) iheringi</i> Travassos, Artigas & Pereira, 1928</p>		<i>Leporinus steindachneri</i>
<p><i>Procamallanus (Spirocamallanus) inopinatus</i> Travassos, Artigas & Pereira, 1928</p>		<p><i>Astyanax bimaculatus</i> <i>Astyanax fasciatus</i> <i>Hoplias malabaricus</i> <i>Leporinus steindachneri</i> <i>Moenkausia doceana</i></p>
<p><i>Procamallanus (Procamallanus) peraccuratus</i> Pinto, Fabio, Noronha & Rolas, 1976</p>		<p><i>Crenicichla lacustris</i> <i>Geophagus brasiliensis</i> <i>Hoplias malabaricus</i> <i>Oligosarcus solitarius</i></p>
<p>Rhabdochonidae Skrjabin, 1946 <i>Rabdochona</i> sp.</p>		<i>Pygocentrus nattereri</i>

2. JUSTIFICATIVA

O estudo dos helmintos parasitos de peixes fornece informações relevantes a respeito de seus hospedeiros, bem como sobre os ambientes em que estes organismos são encontrados de maneira geral. Apesar da importância destes parasitos como parte fundamental da biodiversidade global, ainda existem lacunas a serem exploradas, sobretudo em relação à sistemática e taxonomia. Além da carência de estudos sobre a fauna parasitária, pesquisas relacionadas a ambientes impactados também exigem atenção. Em áreas sujeitas a impactos ambientais, tais como na Bacia do Rio Doce, podem ocorrer alterações na dinâmica da população aquática local, identificando regiões com altas e baixas diversidades parasitárias, sendo crucial para o entendimento do funcionamento ecossistêmico nesses ambientes impactados.

Ainda que a Bacia do Rio Doce seja uma área exposta aos impactos ambientais nos últimos tempos, pouco se sabe sobre a helmintofauna destes locais, o que nos traz uma lacuna quanto a uma ferramenta promissora na avaliação do meio biótico e das pressões antrópicas exercidas sobre o ambiente. Nesse sentido, o presente estudo visa contribuir para o conhecimento da fauna parasitária de peixes verificada atualmente no Baixo Rio Doce, região pouco explorada neste aspecto. Assim, este é o primeiro levantamento taxonômico de helmintos de peixes neste importante ambiente fluvial do Brasil, após o rompimento da barragem em 2015 e o primeiro em sua calha principal. O conhecimento sobre a biodiversidade de helmintos de peixes do Rio Doce pode contribuir para estudos futuros envolvendo o monitoramento ambiental, a avaliação da restauração da saúde do ecossistema, além da vigilância de espécies destes parasitos com importância médica e veterinária.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Caracterizar taxonomicamente a fauna helmintológica de peixes capturados na região do Baixo Rio Doce, Brasil.

3.2. Objetivos específicos

- Realizar a identificação taxonômica, por abordagem morfológica, de helmintos parasitos de peixes capturados na região do Baixo Rio Doce;
- Realizar a identificação taxonômica, por abordagem genética, de alguns helmintos parasitos de peixes capturados na região do Baixo Rio Doce;
- Determinar os descritores ecológicos (riqueza parasitária, intensidade e abundância) de helmintos dos peixes capturados;

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Área de estudo

As coletas de peixes foram realizadas em 6 pontos localizados em coleções aquáticas da bacia do Baixo Rio Doce, entre novembro de 2019 e janeiro de 2022. Três destes pontos de coleta correspondem à calha do Rio Doce nas cidades de Linhares, Colatina e Baixo Guandu, grandes centros urbanos do estado do Espírito Santo. Além destas áreas, foram realizadas coletas em três afluentes que não foram atingidos pelos rejeitos de minério, a saber: Rio São José, em Linhares; Rio Santa Maria, em Colatina; Rio Manhuaçu, em Aimorés, (MG) (Figura 2). Em cada região, foram realizadas pelo menos duas coletas, alternando períodos de cheia e seca do rio. No Quadro 2, são apresentadas as informações gerais sobre cada ponto amostral.

Quadro 2. Dados gerais dos pontos de coletas, com as respectivas coordenadas geográficas e os períodos de amostragem.

Locais de coleta	Principais coordenadas geográficas*	Período de coletas			
		2019	2020	2021	2022
Rio Doce (Linhares)	19°25'34" S 40°07'15" W	Novembro	Março Novembro	Março Maio	-
Rio São José	19°22'54" S 40°04'34" W	-	Janeiro	Março	-
Rio Doce (Colatina)	19°31'53.8" S 40°38'49.0" W	-	Dezembro	Janeiro	-
Rio Santa Maria	19°33'00.8"S 40°38'08.5"W	-	-	Abril Junho	-
Rio Doce (Baixo Guandu)	19°30'08.9"S 41°01'34.8"W	-	-	Julho Setembro	-
Rio Manhuaçu	19°28'52.8"S 41°05'30.9"W	-	-	Novembro	Janeiro

*Principais coordenadas onde foi encontrado maior quantitativo de peixes parasitados.

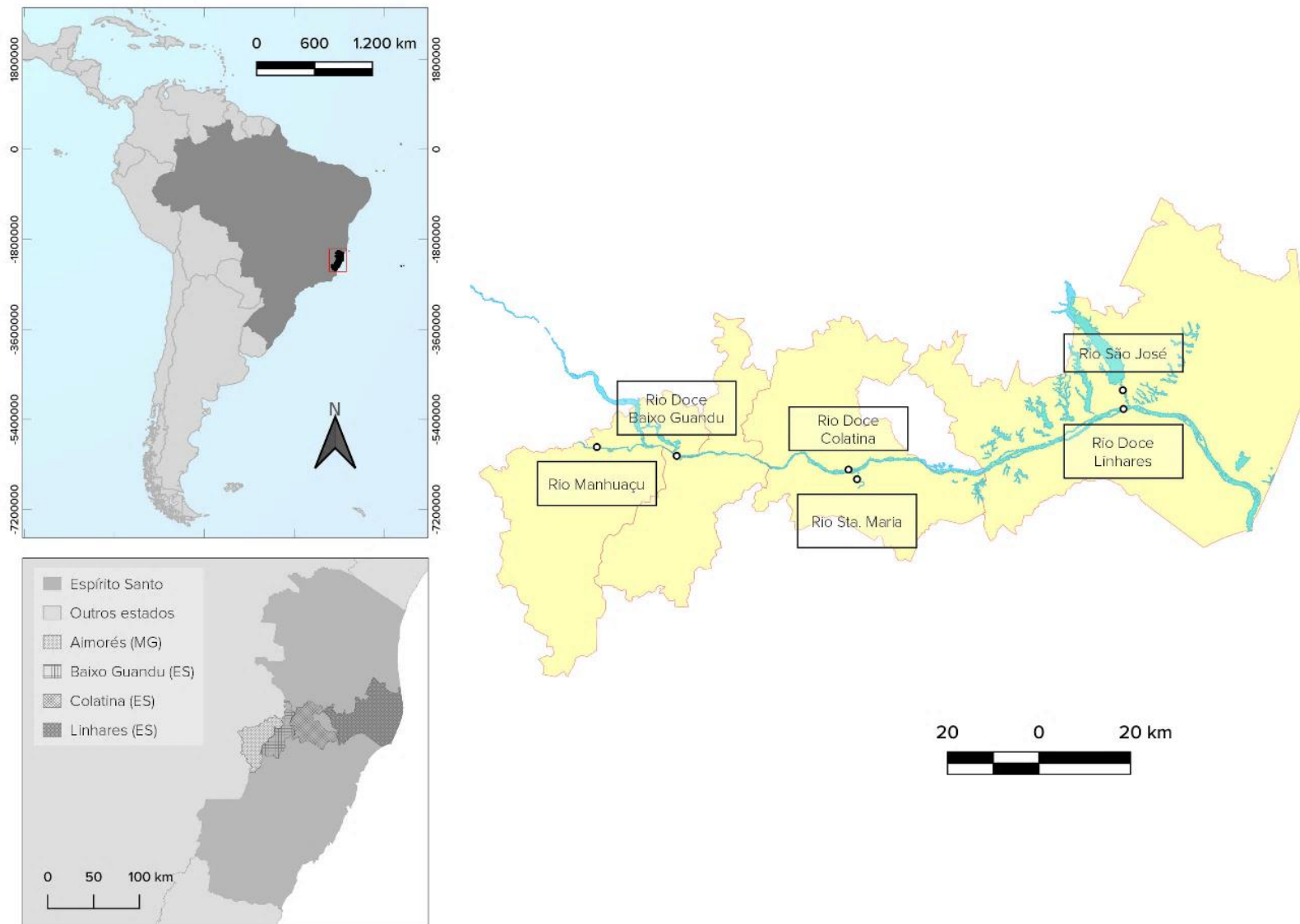


Figura 2. Regiões de coleta de peixes ao longo do Baixo Rio Doce, bem como os seus respectivos afluentes.

4.1.1. Rio Doce, Linhares (Linhares/RD)

Linhares é um grande polo urbano no norte do Espírito Santo. Apresenta um histórico baseado em ocupações às margens do Rio Doce, quando as navegações se tornavam importantes para a população local e para o desenvolvimento da cidade (ZAMBOM, 2009). Atualmente, é apelidada como a “cidade das águas” pois possui um dos maiores conjuntos de lagoas da América Latina, chegando a 90 lagoas (PORTAL LINHARES, 2022). Dentre estas, encontra-se a maior do Brasil, a Lagoa Juparanã (PORTAL LINHARES, 2022) .

O Rio Doce, no centro de Linhares, apresenta uma longa extensão, de uma margem à outra. Na época de seca, vários bancos de areia ficam em evidência, dificultando, muitas vezes, a navegação; a água fica mais clara, mas correntezas são perceptíveis. Já em época de cheia, a água fica mais turva, com muitos sedimentos devido a presença de correntezas mais fortes, e poucos bancos de areia ficam aparentes. A comparação entre os dois ambientes pode ser observada na Figura 3 (A, B) e a sua localização cartográfica representada na Figura 4.



Figura 3. Rio Doce, em Linhares, na região do porto. **A.** O rio em época de seca. **B.** O mesmo local em época de cheia.

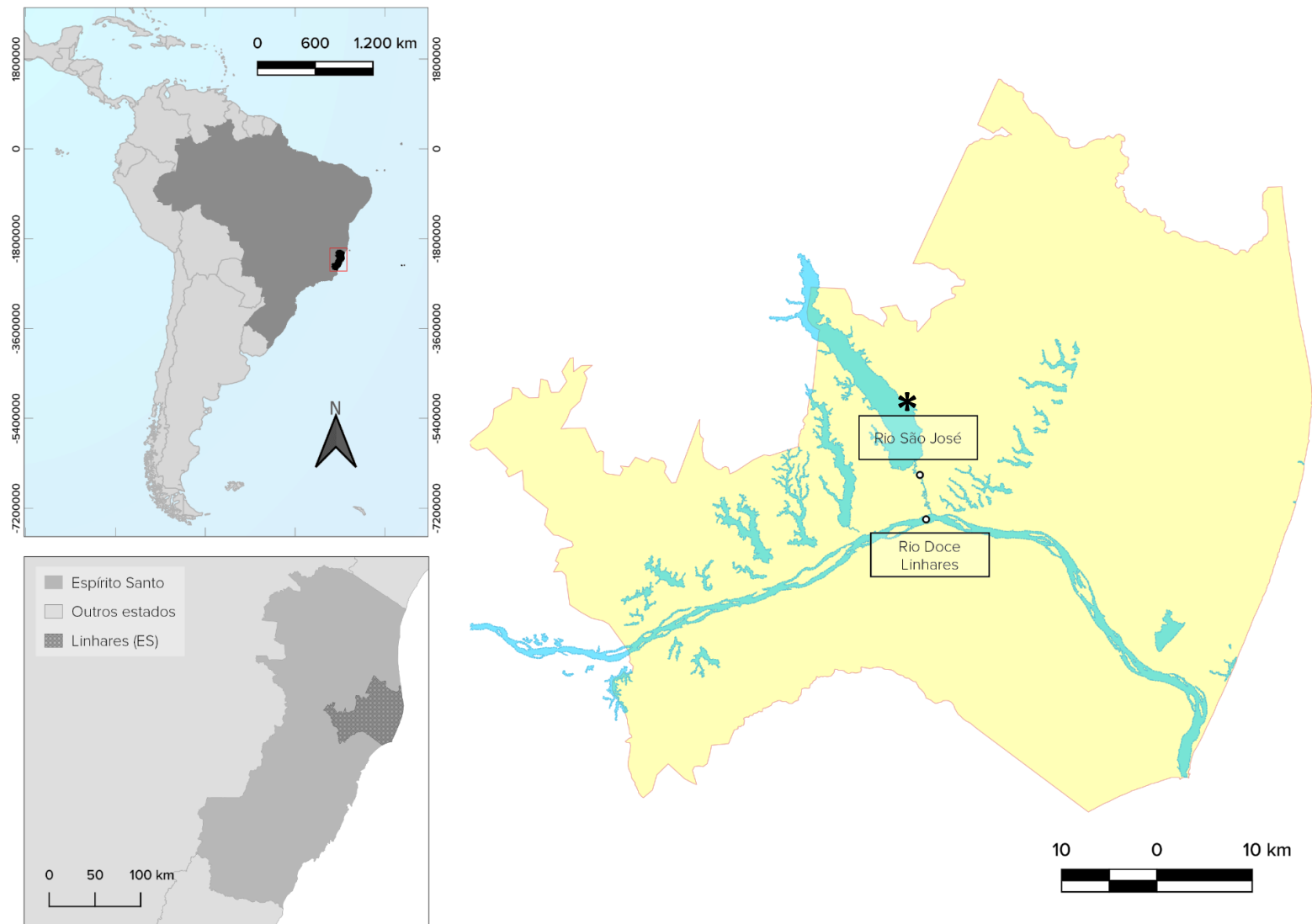


Figura 4. Regiões de coletas na área central de Linhares, ES. O asterisco indica a localização da Lagoa Juparanã, considerada a maior do Brasil.

4.1.2. Rio São José, Linhares (Linhares/AFL)

O Rio São José é um afluente que parte da Lagoa Juparanã (Figura 4) e possui extensão e largura mais curta em relação ao Rio Doce, além de apresentar curso d'água mais lento e fundo com mais sedimentos e folhagens (Figura 5). É importante salientar que, de acordo com os moradores locais, logo após o rompimento da barragem de Fundão em Mariana, foi realizada uma barreira de pedras na desembocadura do Rio São José, no encontro com o Rio Doce, a fim de que fosse evitado a contaminação deste afluente com os rejeitos de minério que atingiriam o Rio Doce em Linhares. Este fato pode ter contribuído para amenizar a poluição por minérios no Rio São José e em outras importantes regiões nas proximidades, como a Lagoa Juparanã.



Figura 5. Rio São José, em época de cheia.

4.1.3. Rio Doce, Colatina (Colatina/RD)

Colatina é uma das principais cidades industriais no interior do estado com influência no leste capixaba (IBGE, 1957). Também apresenta aspectos históricos baseados na ocupação do Rio Doce. A ocupação das áreas do município tem relação com a expansão da lavoura cafeeira para as terras ao norte do Rio Doce, além da importância da implantação da estação da Estrada de Ferro Diamantina, hoje conhecida como Estrada de Ferro Vitória a Minas (PREFEITURA DE COLATINA, 2022). Assim como em Linhares, o Rio Doce tem grandes contribuições na formação cultural e no desenvolvimento local.

Em Colatina, o Rio Doce apresenta características semelhantes às apresentadas anteriormente, lóxico e extenso, atravessando o centro da cidade e faz parte do cartão postal local. Em épocas de cheia, também é possível observar a água turva e com bastante correnteza e, em secas, grandes bancos de areia são formados, como observados na Figura 6 (A, B). A Figura 7 representa a sua localização cartográfica.

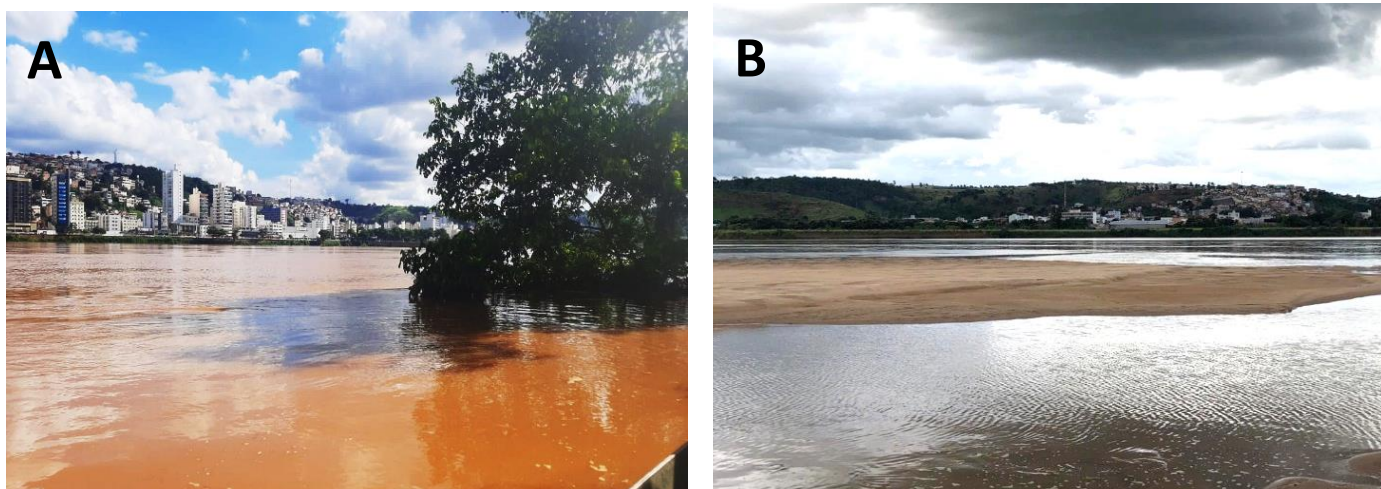


Figura 6. Rio Doce, em Colatina, no centro da cidade. **A.** O rio em época de cheia. **B.** O rio em época de seca, com a formação de bancos de areia.

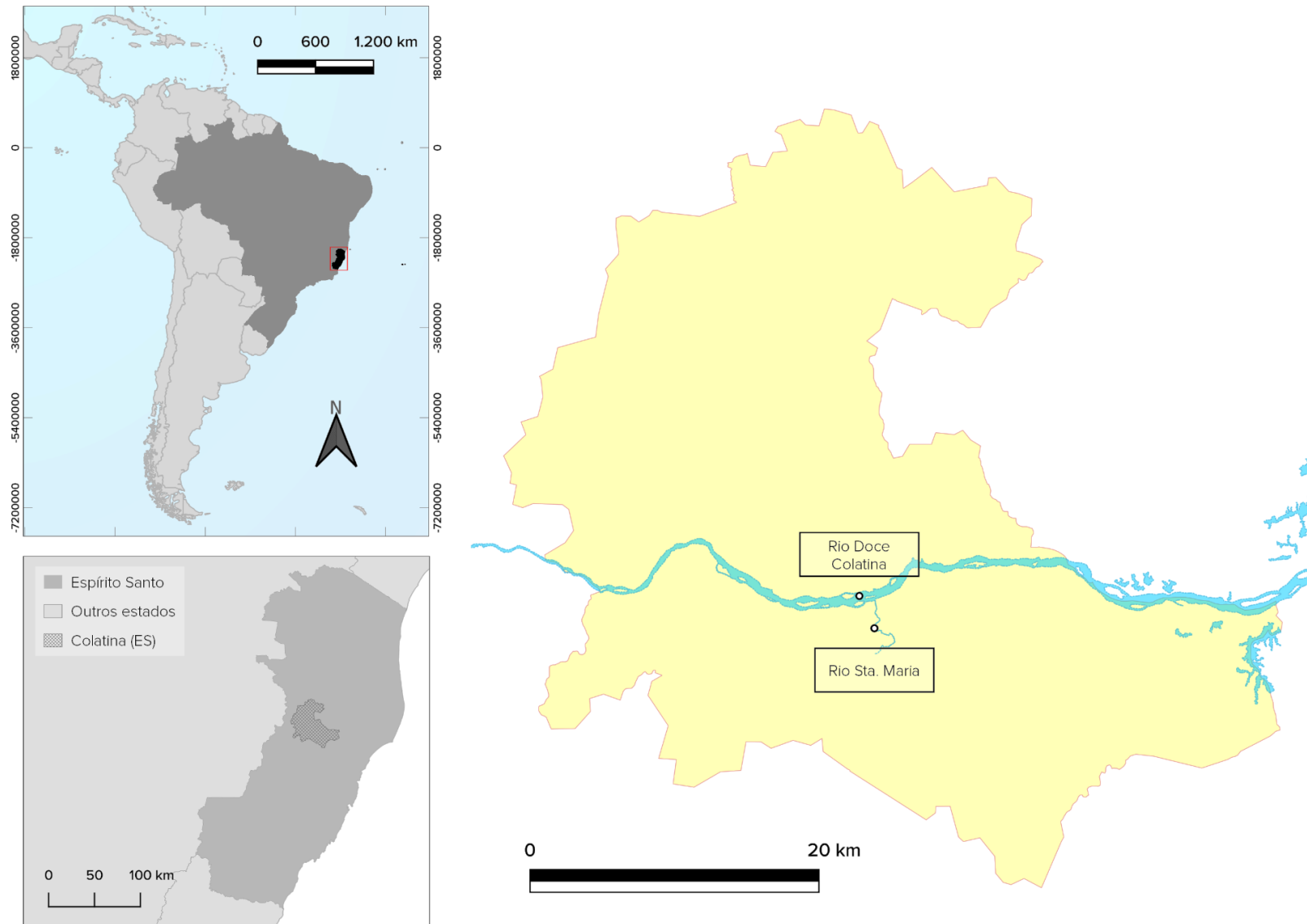


Figura 7. Regiões de coletas na área central de Colatina, ES.

4.1.4. Rio Santa Maria, Colatina (Colatina/AFL)

O Rio Santa Maria (Figura 7) apresenta características que se assemelham ao Rio São José, um pouco mais estreito de uma margem a outra (Figura 8). Por estar muito próximo ao centro urbano, recebe muitos rejeitos de esgoto doméstico, exalando até mesmo um odor desagradável, principalmente em época de seca. Segundo relatos dos moradores locais, os rejeitos da barragem de Fundão não chegaram a contaminar esse rio.



Figura 8. Rio Santa Maria, em época de cheia.

4.1.5. Rio Doce, Baixo Guandu (Baixo Guandu/RD)

Localizado na divisa com Minas Gerais, o município de Baixo Guandu foi ocupado no final do século XIX, também às margens do Rio Doce onde se concentra a maior parte da população local. Atualmente, a economia é intensificada com a mineração de pedras ornamentais e o comércio local (PREFEITURA MUNICIPAL DE BAIXO GUANDU, 2022).

Diferente de Linhares e Colatina, o Rio Doce em Baixo Guandu já possui características de transição entre o Médio e Baixo curso do rio (Figuras 9 A, B). É um ambiente tipicamente lântico, com trechos lóticos de fundos rochosos, o que favorece espécies estritamente reofílicas, ou seja, peixes que necessitam do ambiente lótico para completarem o seu ciclo de vida, como os loracarídeos (cascudos) (VIEIRA, 2010). A Figura 10 representa a sua localização cartográfica.



Figura 9. Rio Doce, em Baixo Guandu. **A.** O rio em época de cheia. **B.** O rio em época de seca.

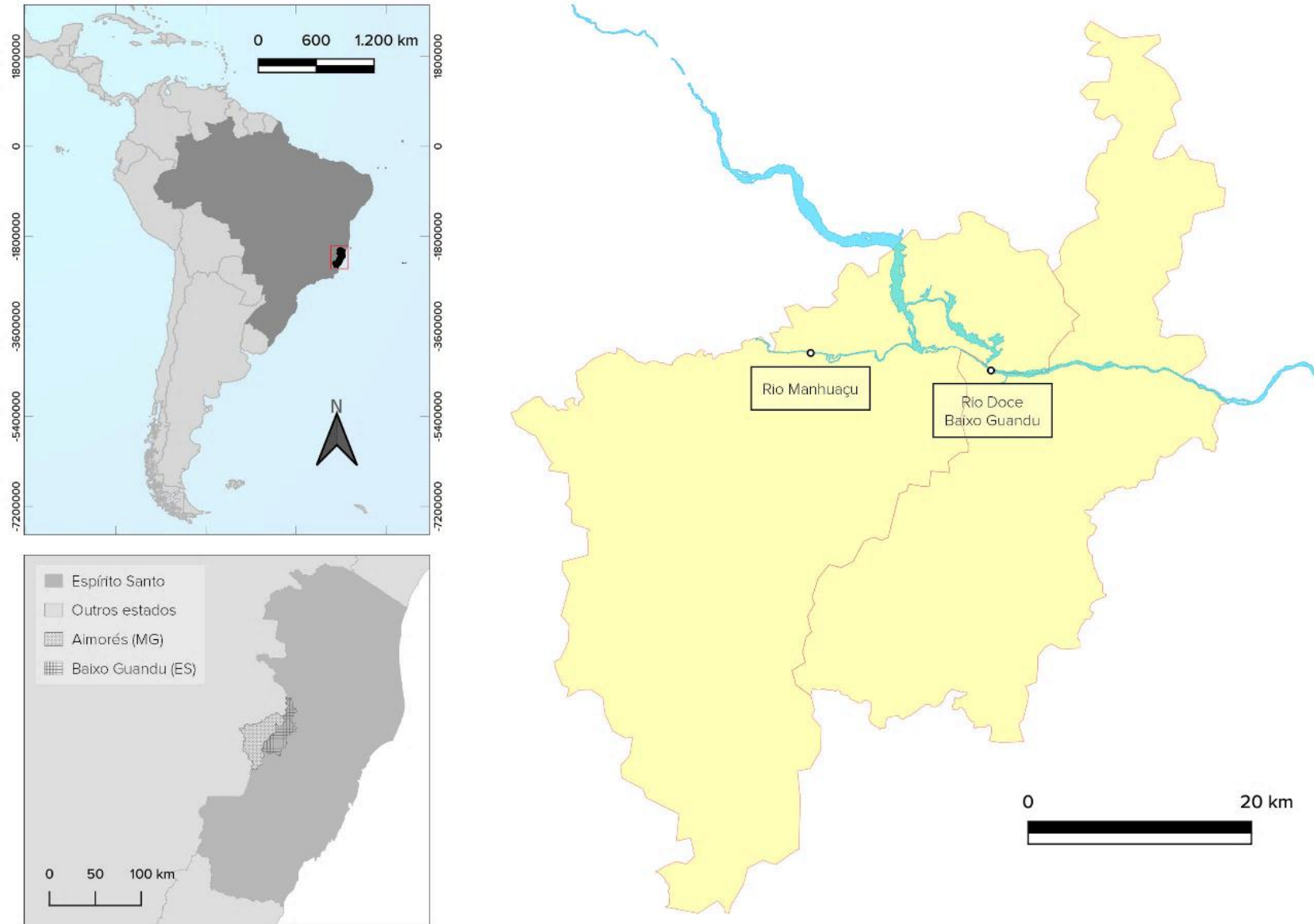


Figura 10. Regiões de coletas em Baixo Guandu (ES) e Aimorés (MG).

4.1.6. Rio Manhuaçu, Aimorés, MG (Aimorés/AFL)

O Rio Manhuaçu nasce no estado de Minas Gerais e desagua no Rio Doce em Aimorés (Figura 10), município mineiro que faz divisa com Baixo Guandu. Apresenta características semelhantes ao Rio Doce local, porém com extensões um pouco menores de uma margem à outra (Figura 11).



Figura 11. Rio Manhuaçu, em época de cheia.

4.2. Captura e identificação dos peixes

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética de Uso Animal da UFES (CEUA/UFES), com o número de autorização 27/2019 (Anexo 1) e pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) com o número de autorização 70071 (Anexo 2). Os peixes foram capturados com rede de espera de 5 a 17 metros de comprimento por 1,5 m de altura, com malhas de 1 a 14 cm entre-nós. As redes eram armadas nas margens e no meio do rio no final da tarde e retiradas na manhã do dia seguinte, ficando expostas à coluna d'água por aproximadamente 12 horas, seguindo a metodologia de Santos, Ferreira & Pinho (2017). As coletas foram realizadas com o auxílio de pescadores locais.

A maioria dos peixes foi capturada na rede ainda vivo, mas os exemplares mortos também foram recolhidos para análise. Quando vivos, os peixes foram eutanasiados por imersão em solução de óleo de cravo (Eugenol, Isoeugenol e Metileugenol), na concentração de 3000 mg/L, seguindo a Resolução Normativa 37 do CONCEA (2018). Após isso, todos os animais foram mantidos sob refrigeração em gelo em caixa de isopor para transporte, separados por pontos de coleta. Parte dos animais foi identificada ainda em campo e examinados previamente quanto a presença de algum parasito em seu exterior. No laboratório, os peixes foram separados por espécies, pesados (g), mensurados (mm) e fotografados. Os peixes coletados foram identificados de acordo com Vieira e colaboradores (2015). O número de animais coletados está de acordo com o estabelecido pelo Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais (IBAMA).

Os hospedeiros coletados foram classificados quanto a origem, o grau de eurialinidade (tolerância da espécie quanto à salinidade da água) e o trofismo de acordo com a classificação estabelecida por Rodrigues e colaboradores (2022). Quanto a origem, as espécies encontradas foram classificadas como nativa ou exótica. Quanto ao grau de eurialinidade, foram coletadas espécies consideradas primária, quando os peixes de água doce possuem baixa tolerância à salinidade; secundária, quando os peixes de água doce apresentam alguma tolerância à salinidade; e periféricos, ou seja, peixes marinhos que ocasionalmente ocorrem em ecossistemas de água doce. Em relação ao

trofismo, as espécies coletadas foram classificadas como zoobentívoras (alimentam-se principalmente de invertebrados móveis bentônicos); piscívoro (alimenta-se apenas ou principalmente de peixes vivos); carnívoro generalista (alimentação em invertebrados móveis e peixes); onívoro (alimenta-se de vegetais e animais); detritívoro (as principais fontes de alimento são detritos e sedimentos); e herbívoro (alimentam-se principalmente de material vegetal).

4.3. Necropsia, coleta e fixação de helmintos

As necropsias foram realizadas no Laboratório de Helmintologia Animal, no Departamento de Patologia da UFES. Os peixes tiveram inicialmente a superfície externa examinada e em seguida foram necropsiados em até 24 horas após a coleta e o processamento de todos os peixes de cada ponto de coleta era realizado em até uma semana. As brânquias foram minuciosamente analisadas, abrindo-se o opérculo com o auxílio de um bisturi, tesoura e pinça e, em seguida, separadas em frascos e/ou placas de Petri. Foi adicionado formol 1: 4.000 nos frascos contendo as brânquias e agitado 50-70 vezes. Além disso, foi realizada uma raspagem da superfície corporal para análise direta das escamas para o encontro de monogenídeos.

Olhos, tegumento, escamas e nadadeiras foram examinados cuidadosamente, com o auxílio de estereoscópio, a procura de metacercárias de digenéticos encistadas as quais, ao serem encontradas, foram imediatamente rompidas para a liberação e coleta dos parasitos.

Para análise interna, filés da musculatura dos peixes foram retirados e examinados a procura de metacercárias encistadas. Após abertura da cavidade abdominal, as vísceras foram removidas e transferidas para placas de Petri contendo salina (NaCl 0,65%). Cada órgão foi aberto longitudinalmente, com o uso de estiletes e pinças, e examinado sob microscópio estereoscópico. Os helmintos encontrados foram coletados e inicialmente mortos em água quente (70°C). Dependendo do tamanho do espécime, para os trematódeos e cestódeos realizou-se a compressão no sentido dorsoventral entre duas lâminas e em seguida foi adicionada formalina 10% para fixar o material. Os nematódeos foram limpos inicialmente com um pincel fino e fixados também com formalina 10%, sem compressão.

4.4. Caracterização morfológica

4.4.1. *Microscopia de luz*

Para a identificação, os trematódeos e cestódeos foram submetidos a coloração por corantes a base de carmim, seguida pela desidratação em série de etanol, diafanização em creosoto de Faia ou óleo de cravo e montagem em bálsamo do Canadá. Os nematoides foram clarificados em lactofenol de Amann e montados em preparações não-permanentes entre lâmina e lamínula.

Os helmintos foram identificados a partir de exames detalhados de suas estruturas através de microscopia de luz e seus caracteres morfológicos foram mensurados utilizando o programa TSView 6.1 (Tucsen Imaging Technology Co. Limited), através de fotografias. As ilustrações foram realizadas com o auxílio do programa Corel Draw 2019 a partir de imagens obtidas em microscópio.

4.4.2. *Microscopia eletrônica de varredura*

Para algumas espécies de helmintos realizou-se a observação morfológica por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para isso, alguns espécimes foram fixados em uma solução contendo glutaraldeído 2,5%, paraformaldeído 2% e 0,1 M de tampão cacodilato e pós-fixados em tetróxido de ósmio 1%. Em seguida, foram desidratados em série alcoólica, submetidos à ponto crítico com CO₂ e metalizados com ouro. As micrografias foram obtidas por microscópio JEOL, modelo SEM 1110 LV. Os procedimentos do MEV foram realizados no Laboratório de Ultraestrutura Celular Carlos Alberto Redins (LUCCAR) da UFES.

4.4.3. *Identificação Taxonômica*

A identificação dos helmintos foi realizada considerando as diferentes abordagens realizadas, dependendo da espécie. Para identificação genérica, foram utilizadas chaves taxonômicas disponíveis para os diferentes grupos de helmintos encontrados, a saber: Nematoda (VICENTE *et al.*, 1985; MORAVEC, 1998; VICENTE & PINTO, 1999; ANDERSON, CHABAUD & WILLMOTT, 2009), Cestoda (KHALIL, JONES & BRAY, 1994) e Trematoda (GIBSON, JONES &

BRAY, 2002; JONES, GIBSON & BRAY, 2005; KOHN, FERNANDES & COHEN, 2007). A identificação específica, quando possível, foi baseada em literatura especializada, incluindo artigos com descrição e redescrição de espécies. Os dados morfométricos dos parasitos avaliados estão apresentados em micrômetros, exceto quando indicação contrária. Os dados são fornecidos pela média seguida pela amplitude entre parênteses.

4.5. Indicadores ecológicos

Os descritores ecológicos (riqueza, intensidade, intensidade média e abundância média) foram calculados de acordo com Bush e colaboradores (1997), utilizando-se o pacote de dados do software Microsoft Excel e as seguintes representações e fórmulas:

Riqueza: Número de espécies de parasitos presentes em cada espécie de hospedeiro

Intensidade de infecção: Número de indivíduos de uma determinada espécie de parasito em um único hospedeiro

Intensidade média de infecção: $\frac{\text{Número de parasitos de uma espécie}}{\text{Número hospedeiros infectados pela espécie de parasito}}$

Abundância média de infecção: $\frac{\text{Número de parasitos de uma espécie}}{\text{Número de hospedeiros examinados}}$

4.6. Caracterização genética

4.6.1. Extração e quantificação de DNA

Para alguns táxons pertencentes ao filo Platyhelminthes (Cestoda e Trematoda) foram realizadas análises genéticas visando complementar a identificação morfológica. Para isso, amostras de algumas espécies de parasitos obtidas, identificadas morfológicamente, foram fixadas em etanol 99% para a realização de estudo genético. O DNA foi extraído utilizando os kits *Wizard® Genomic DNA Purification* (Promega), ou QIAamp DNA Micro Kit (QIAGEN), dependendo do tamanho do espécime. O processo de extração de DNA seguiu as instruções do fabricante. A quantificação do DNA extraído foi realizada por avaliação da absorbância em 260nm em espectrofotômetro de microvolume NanoDrop™ Lite (Thermo Scientific™). Para determinação da pureza do DNA obtido foi avaliada a relação da absorbância entre os comprimentos de onda 260nm e 280 nm.

4.6.2. Amplificação do DNA

A amplificação das regiões alvo avaliadas no estudo foi realizada por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Foram utilizados pelo menos dois marcadores moleculares. Entre os genes nucleares, tentativas de amplificação da região espaçadora transcrita interna (ITS1-5.8S-ITS2) e da região 28S foram realizadas para a maioria das amostras. Além disso, porções do gene mitocondrial citocromo c oxidase subunidade I (Cox-1) foram também avaliadas. Os pares de oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) utilizados foram Dig12/1500R ou LSU-5/1500R para a região 28S (TKACH *et al.*, 2003; OLSON & TKACH, 2005), BD1/BD2 para ITS (LUTON *et al.*, 1992), JB3/CoIR-Trema R, Dice1/BarCoxR, ou Plat-diploCOX1F/Plat-diploCOX1R para o gene Cox-1 (MIURA *et al.*, 2005; MOSZCZYNSKA *et al.*, 2009; LÓPEZ-CABALLERO *et al.*, 2019).

As PCRs foram realizadas em um volume final de 25 µl, consistindo de 12,5 µl de Platinum™ Hot Start PCR Master Mix (Invitrogen™), 1,25 pmol de cada primer e cerca de 50 ng de DNA molde e água ultra pura. Para a visualização

dos produtos da amplificação, foi realizada eletroforese em gel de agarose 1% corado com Unisafe Dye® Nucleic Acid Staining Solution (20.000x) (Uniscience corp.) na quantidade de 1,5µl para cada 30ml de tampão Tri-acetato-EDTA (TAE) 0,5M. O tamanho dos fragmentos amplificados foi estimado pela comparação com padrão de pesos moleculares.

4.6.3. Purificação por PEG

Após a visualização de bandas únicas no gel, realizou-se a purificação dos produtos da PCR com polietileno glicol (PEG) (20% PEG 8.000 em solução de NaCl 2,5M) (Promega, EUA). O produto da PCR (23 µL, 2 µL são usados na eletroforese) foi transferido para um microtubo de 1 mL, adicionando-se em seguida PEG na mesma quantidade e posteriormente, homogeneizado em vórtex por 1 minuto. O tubo foi incubado em banho seco a 37°C por 15 minutos e em seguida este foi centrifugado por 15 min a 14.000 rpm, sendo o sobrenadante descartado. Em seguida, foram adicionados 125 µL de etanol 80% refrigerado, o tubo centrifugado por 5 min a 14.000 rpm e o sobrenadante descartado. Este último passo foi repetido mais uma vez. Para finalizar o protocolo, o tubo foi mantido aberto a temperatura ambiente até a evaporação de todo o etano. O DNA foi ressuscitado em 20 µL de água ultrapura e dosado em NanoDrop™ Lite.

4.6.4. Sequenciamento de DNA

Os produtos da PCR já purificados foram sequenciados bidireccionalmente com os mesmos *primers* mencionados para a amplificação. No caso dos *amplicons* obtidos para a região 28S, foram utilizados também os primers internos 300F e ECD2R (TKACH *et al.*, 2003). As amostras foram preparadas para o sequenciamento segundo as recomendações da empresa ACTGene (Alvorada, RS; <https://actgene.com.br/>), sendo sequenciadas por eletroforese capilar com o sequenciador automático ABI3730, utilizando-se polímero BigDye v3.1 e POP7 (Applied Biosystems™).

4.6.5. Análises das sequências

As sequências obtidas para cada espécie foram montadas e editadas com auxílio do programa ChromasPro versão 2.0.1 (Technelysium Pty Ltd, Austrália), para a obtenção de uma única sequência consenso. Em um primeiro momento, realizou-se a comparação com dados disponíveis no GenBank por pesquisa por similaridade, utilizando-se a ferramenta Basic Alignment Search Tools (BLAST) do National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) (National Library of Medicine, EUA). No caso das sequências mitocondriais, foi realizada também a pesquisa na plataforma Barcode of Life Data System (BOLDSYSTEMS), do *Centre for Biodiversity Genomics*, Canada (<http://www.boldsystems.org/>). Em seguida, alinhamentos foram construídos com auxílio do programa MEGA X (KUMAR *et al.*, 2018). Foram consideradas as sequências cogenéricas e as pertencentes ao gênero mais próximo filogeneticamente. Nos casos em que foram realizadas reconstruções filogenéticas, os modelos evolutivos foram determinados pelo *Bayesian information criterion* (BIC) no programa MEGA X. As árvores filogenéticas foram geradas a partir do algoritmo baseado em Inferência Bayesiana (IB) e Máxima Verossimilhança (MV).

As árvores MV foram geradas no MEGA X, sendo a robustez dos ramos das árvores geradas medida pela utilização do teste *bootstrap* com 1000 repetições. As análises de IB foram realizadas em MrBayes v.3.2.6 (RONQUIST *et al.*, 2012) usando a análise de cadeia de Markov Monte Carlo (MCMC) em duas execuções simultâneas de quatro cadeias por 1.000.000 de gerações e amostragem a cada 100 gerações. O suporte dos nós foi fornecido pela probabilidade posterior. Para a visualização das árvores foi utilizado o programa FigTree v.1.4.2. Para fins de apresentação das filogenias, utilizou-se a árvore inferida por inferência bayesiana, às quais foram incluídos os valores de *bootstrap* obtidos por MV.

5. RESULTADOS

5.1 Espécies de peixes capturadas

Um total de 317 peixes pertencentes a 6 ordens, 19 famílias e 34 espécies foram avaliados no presente estudo. As espécies e número de exemplares coletados e avaliados em cada uma das seis localidades são apresentados na Tabela 1. Os dados referentes aos pesos e comprimentos das espécies de peixes coletadas estão disponíveis no Anexo 3.

Mais da metade das espécies coletadas (18, 52,94%) é considerada nativa da bacia do Rio Doce, baseadas nos estudos de Vieira (2010), Alves e colaboradores (2021) e Rodrigues e colaboradores (2022). Quanto à classificação por tolerância à salinidade, 9 espécies (26,47%) apresentam pouca ou baixa tolerância, ao passo que outras 8 (23,53%) são consideradas marinhas que ocasionalmente migram para os ecossistemas de água doce (RODRIGUES *et al.*, 2022). As demais espécies apresentam alguma tolerância para a salinidade ou sua classificação é desconhecida.

Com respeito ao hábito alimentar, 8 espécies (23,53%) são consideradas piscívoras, ou seja, se alimentam de outros peixes do ambiente. Apenas *P. argenteus*, que é considerada detritívora, foi encontrada em todas as localidades coletadas, somando 34 peixes capturado em diferentes ocasiões.

A maioria das espécies foi obtida nos afluentes do Baixo Rio Doce, principalmente no Rio São José, totalizando 79 exemplares coletados. Algumas espécies como *Megaleporinus conirostris* (Steindachner, 1875), *Cichla monoculus* Agassiz, 1831, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758), *Caranx latus* Agassiz, 1831, *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824), *Harttia loricariformis* Steindachner, 1877, *Harttia gracilis* Oyakawa, 1993, *Hypostomus auroguttatus* Kner, 1854, *Hypostomus luetkeni* (Steindachner, 1877), só foram capturadas em afluentes, enquanto outras como *Lycengraulis grossidens* (Spix & Agassiz, 1829), *Astronatus ocellatus* (Agassiz, 1831), *Pachyurus adpersus* Steindachner, 1879, *Pseudauchenipterus affinis* (Steindachner, 1877), *Pterygoplichthys pardalis* (Castelnau, 1855), *Rineloricaria* sp. só foram coletadas no Rio Doce.

Tabela 1. Espécies de peixes da Bacia do Baixo Rio Doce capturados e avaliados quanto a infecção por helmintos parasitos. Orig. = Origem; Nat = Nativa; Exó = Exótica; Euri. = Eurialinidade; 1ª = primária; 2ª = secundária; Per = periféricos; Tro. = Trofismo; Zoob = zoobentívoro; Pisc = Piscívoro; Carn = Carnívoro generalista; Oni = Onívoro; Detr. = Detritívoro; Herb = herbívoro (classificação segundo Rodrigues *et al.*, 2022); RD = Rio Doce; AFL = Afluentes (AFL1 = Rio São José; AFL2 = Rio Santa Maria; AFL3 = Rio Manhuaçu); Tot. = Total de peixes. *= espécies encontradas infectadas por helmintos.

Táxon dos peixes capturados	Popular	Orig.	Euri.	Tro.	Linhares		Colatina		Baixo Guandu/Aimorés		TOT.
					RD	AFL1	RD	AFL2	RD	AFL3	
ORDEM CHARACIFORMES											
Família Anostomidae											
<i>Megaleporinus conirostris</i> (Steindachner, 1875)	Piau	Nat	1ª	Oni	-	3	-	3	-	-	6
Família Bryconidae											
<i>Salminus brasiliensis</i> (Cuvier, 1816)	Dourado	Exó	1ª	Pisc	-	-	1	1	-	-	2
Família Erythrinidae											
* <i>Hoplias intermedius</i> (Günther, 1864)	Trairão	Nat	1ª	Pisc	2	-	1	-	11	5	19
* <i>Hoplias malabaricus</i> (Bloch, 1794)	Traíra	Nat	1ª	Pisc	1	2	1	-	9	2	15
Família Prochilodontidae											
<i>Prochilodus argenteus</i> Spix & Agassiz, 1829	Curimatã	Exó	1ª	Detr	3	10	7	9	2	3	34
Família Serrasalminidae											
* <i>Metynnis maculatus</i> (Kner, 1858)	Pacu prata	Exó	-	Oni	-	-	-	-	17	2	19
* <i>Pygocentrus nattereri</i> Kner, 1858	Piranha vermelha	Exó	1ª	Pisc	3	8	-	5	-	8	24
* <i>Pygocentrus piraya</i> (Cuvier, 1819)	Piranha preta	Exó	1ª	Pisc	3	36	4	-	-	-	43

Táxon dos peixes capturados	Popular	Orig	Euri.	Tro.	Linhares		Colatina		Baixo Guandu/Aimorés		TOT.
					RD	AFL1	RD	AFL2	RD	AFL3	
ORDEM CICHLIFORMES											
Família Cichlidae											
<i>Astronatus ocellatus</i> (Agassiz, 1831)	Oscar/Acará	Exó	-	Carn	1	-	-	-	-	-	1
* <i>Cichla kelberi</i> Kullander & Ferreira, 2006	Tucunaré	Exó	2 ^a	Pisc	-	4	1	-	-	1	6
<i>Cichla monoculus</i> Agassiz, 1831	Tucunaré	Exó	2 ^a	Pisc	-	-	-	2	-	-	2
<i>Coptodon rendalli</i> (Boulenger, 1897) (= <i>Tilapia rendalli</i>)	Tilápia	Exó	2 ^a	Herb	-	1	1	-	-	-	2
* <i>Geophagus brasiliensis</i> (Quoy & Gaimard, 1824)	Cará	Nat	2 ^a	Oni	-	-	-	-	-	3	3
<i>Oreochromis niloticus</i> (Linnaeus, 1758)	Tilápia do Nilo	Exó	2 ^a	Herb	-	-	-	1	-	-	1
ORDEM CLUPEIFORMES											
Família Engraulidae											
* <i>Lycengraulis grossidens</i> (Spix & Agassiz, 1829)	Manjubinha	Nat	Per	Carn	23	-	18	-	-	-	41
ORDEM MUGILIFORMES											
Família Mugilidae											
<i>Mugil liza</i> Valenciennes, 1836	Tainha	Nat	Per	Detr	-	1	19	1	-	-	21
ORDEM PERCIFORMES											
Família Carangidae											
<i>Caranx latus</i> Agassiz, 1831	Chicharro	Nat	Per	Zoob	-	-	-	5	-	-	5

Táxon dos peixes capturados	Popular	Orig	Euri.	Tro.	Linhares		Colatina		Baixo Guandu/Aimorés		TOT.
					RD	AFL1	RD	AFL2	RD	AFL3	
Família Centropomidae <i>Centropomus parallelus</i> Poey, 1860	Robalo	Nat	Per	Carn	2	2	3	-	-	-	7
Família Gerreidae <i>Diapterus rhombeus</i> (Cuvier, 1829)	Carapeba	Nat	Per	Zoob	1	1	1	2	-	-	5
Família Sciaenidae <i>Menticirrhus americanus</i> (Linnaeus, 1758)	Corvina	Nat	Per	Zoob	-	1	-	-	-	-	1
<i>Pachyurus adspersus</i> Steindachner, 1879	Corniva	Nat	Per	Zoob	-	-	-	-	2	-	2
ORDEM SILURIFORMES											
Família Ariidae <i>Genidens genidens</i> (Cuvier, 1829)	Bagre branco	Nat	Per	Zoob	1	-	-	1	-	-	2
Família Auchenipteridae * <i>Pseudauchenipterus affinis</i> (Steindachner, 1877)	Barrigudinho	Nat	1 ^a	Oni	2	-	-	-	-	-	2
Família Callichthyidae <i>Hoplosternum littorale</i> (Hancock, 1828)	Cambuti	Exó	-	Detr	2	1	-	-	-	1	4
Família Clariidae <i>Clarias gariepinus</i> (Burchell, 1822)	Bagre africano	Exó	-	Pisc	1	-	-	-	-	5	6

Táxon dos peixes capturados	Popular	Orig	Euri.	Tro.	Linhares		Colatina		Baixo Guandu/ Aimorés		TOT.
					RD	AFL1	RD	AFL2	RD	AFL3	
					Família Loricariidae						
<i>Harttia loricariformis</i> Steindachner, 1877	Cascudo-barata	Nat	-	-	-	-	-	-	-	3	3
<i>Harttia gracilis</i> Oyakawa, 1993	Cascudo-barata	Nat	-	-	-	-	-	-	-	1	1
* <i>Hypostomus affinis</i> (Steindachner, 1877)	Cascudo-areia	Nat	-	Zoob	-	-	-	-	9	4	13
* <i>Hypostomus auroguttatus</i> Kner, 1854	Cascudo	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2
* <i>Hypostomus luetkeni</i> (Steindachner, 1877)	Cascudo	Nat	-	-	-	-	-	-	-	1	1
* <i>Pterygoplichthys</i> sp.	Cascudo-abacaxi	Exó	-	Herb	1	4	1	-	1	-	7
<i>Pterygoplichthys pardalis</i> (Castelnau, 1855)	Cascudo	Exó	-	Herb	-	-	-	-	1	-	1
* <i>Rineloricaria</i> sp.	Cascudo-viola	Nat	-	-	-	-	-	-	1	-	1
Família Pimelodidae											
* <i>Pimelodus maculatus</i> Lacepède, 1803	Mandi chorão	Exó	1 ^a	Oni	2	4	1	4	4	-	15
TOTAL					48	78	59	34	57	41	317

5.2 Espécies de peixes infectadas por helmintos

Do total de 317 peixes analisados, 109 (34,38%) foram encontrados infectados por helmintos. A relação de espécies de parasitos, discriminados por peixes parasitados, sítio de infecção, estágio evolutivo e região de coleta, é indicado na Tabela 2.

Das 34 espécies de peixes que foram capturadas, 15 estavam infectadas (*C. kelberi*, *G. brasiliensis*, *H. affinis*, *H. auroguttatus*, *H. intermedius*, *H. luetkeni*, *H. malabaricus*, *L. grossidens*, *M. maculatus*, *P. affinis*, *P. maculatus*, *P. nattereri*, *P. piraya*, *Pterygoplichthys* sp. e *Rinecolaria* sp.). Entre as espécies infectadas, a maior riqueza de helmintos foi encontrada em *H. intermedius* (R=5), seguida de *H. malabaricus* (R=4), *C. kelberi* (R=4), *P. piraya* (R=3), *P. nattereri* (R=2), *M. maculatus* (R=2) e *Rinecolaria* sp. (R=2). As demais espécies apresentaram R=1. Não foram encontrados ectoparasitos no atual estudo.

Muitas espécies de peixes coletadas não apresentaram nenhum exemplar parasitado, como *A. ocellatus*, *C. gariepinus*, *C. latus*, *C. monoculus*, *C. parallelus*, *C. rendalli*, *D. rhombeus*, *G. genidens*, *H. littoralle*, *H. loricariformis*, *H. gracilis*, *M. americanus*, *M. conirostris*, *M. liza*, *O. niloticus*, *P. adspersus*, *P. argenteus*, *P. pardalis* e *S. brasiliensis*. A única espécie que foi coletada em todas as localidades, *P. argenteus*, não apresentou nenhum tipo de parasitismo. Com relação às localidades, em um quantitativo geral, o Rio Doce em Baixo Guandu apresentou maior riqueza (7 espécies de helmintos), seguido pelo Rio São José em Linhares (6 espécies de helmintos). O Rio Santa Maria foi o que apresentou a menor riqueza de espécies de helmintos em relação às demais regiões (apenas 2 espécies).

No total, foram encontrados 916 parasitos (523 formas larvais e 393 adultas), revelando a presença de 13 espécies de helmintos (Tabela 2). A maior parte das espécies identificadas, bem como em abundância e riqueza nos hospedeiros capturados, pertencem ao grupo dos Trematoda (6 espécies), seguida por Nematoda (5 espécies) e, por fim, Cestoda (2 espécies). Os táxons encontrados estão distribuídos em 6 ordens (Onchoproteocephalidea, Strigeida, Plagiorchiida, Ascaridoidea, Spirurida e Oxyurida) e 7 famílias (Proteocephalidae, Diplostomidae, Clinostomidae, Acanthocolpidae, Anisakidae,

Camallanidae e Pharyngodonidae). Em algumas espécies de hospedeiros, foi possível identificar mais de uma espécie de parasito.

As espécies de helmintos encontradas e os dados ecológicos relacionados ao parasitismo por cada espécie de helmintos estão representados na Tabela 2.

Tabela 2. Distribuição dos helmintos de peixes da bacia do Baixo Rio Doce coletados entre os períodos de novembro/2019 e janeiro/2022, bem como os seus hospedeiros, local de infecção e estágio de desenvolvimento dos helmintos, além dos descritores ecológicos: relação entre parasitados/coletados (Re), abundância média (AM), intensidade (I, para até 3 hospedeiros) e intensidade média (IM, para mais de 3 hospedeiros), calculados para as espécies. (ED = Estádio de desenvolvimento).

Helminto	Hospedeiro	Sítio de infecção	ED	Localidade	Re	AM	I	IM
FILO PLATYHELMINTHES								
CLASSE CESTODA								
ORDEM ONCHOPROTEOCEPHALIDEA								
Família Proteocephalidae								
<i>Proteocephalus macrophallus</i> (Diesing, 1850)	<i>Cichla kelberi</i>	Intestino	Adultos	Linhares/AFL	4/4	6,5 (3–11)	-	6,5 (3–11)
<i>Proteocephalus microscopicus</i> (Woodland, 1935)	<i>Cichla kelberi</i>	Intestino	Adultos	Colatina/RD	1/1	20	20	-
CLASSE TREMATODA								
ORDEM STRIGEIDA								
Família Diplostomidae								
	<i>Cichla kelberi</i>	Olhos	Metacercária	Linhares/AFL	1/4	4	4	-
	<i>Hoplias intermedius</i>	Olhos	Metacercária	Baixo Guandu/RD	4/11	1,09 (1–5)	-	3,0 (1–5)
				Linhares/AFL	1/2	22	22	-
	<i>Hoplias malabaricus</i>	Olhos	Metacercária	Aimorés/AFL	1/2	0,5	1	-
				Baixo Guandu/RD	2/9	0,77	2;5	-
				Aimorés/AFL	2/4	1	1;3	-
<i>Austrodiplostomum compactum</i> (Lutz, 1928)	<i>Hypostomus affinis</i>	Olhos	Metacercária	Baixo Guandu/RD	2/9	0,77	2;5	-
	<i>Hypostomus auroguttatus</i>	Olhos	Metacercária	Aimorés/AFL	1/2	9	9	-
	<i>Hypostomus luetkeni</i>	Olhos	Metacercária	Aimorés/AFL	1/1	1	1	-
	<i>Pimelodus maculatus</i>	Olhos	Metacercária	Colatina/AFL	1/4	2	2	-
	<i>Pterygoplichthys</i> sp.	Olhos	Metacercária	Baixo Guandu/RD	1/1	3	3	-
	<i>Pygocentrus piraya</i>	Olhos	Metacercária	Linhares/AFL	1/36	0,08	3	-
	<i>Rineloricaria</i> sp.	Olhos	Metacercária	Baixo Guandu/RD	1/1	3	3	-

Helminto	Hospedeiro	Sítio de infecção	ED	Localidade	Re	AM	I	IM
<i>Austrodiplostomum</i> sp.	<i>Pterygoplichthys</i> sp.	Olhos	Metacercária	Baixo Guandu/RD	1/1	3	3	-
<i>Dolichorchis</i> sp.	<i>Hoplias malabaricus</i>	Olhos	Metacercária	Linhares/AFL	1/2	6,5	13	-
Família Clinostomidae								
<i>Clinostomum dimorphum</i> (Diesing, 1850) nov. comb.	<i>Hoplias intermedius</i>	Fígado	Metacercária	Baixo Guandu/RD	1/11	0,09	1	-
	<i>Hoplias malabaricus</i>	Cavidade branquial Coração	Metacercária	Colatina/RD	1/1	5	5	-
<i>Clinostomum</i> sp.	<i>Cichla kelberi</i>	Musculatura Intestino	Metacercária	Linhares/AFL	2/4	4,25	6;11	-
	<i>Pseudauchenipterus affinis</i>	Musculatura	Metacercária	Linhares/RD	1/2	2	4	-
ORDEM PLAGIORCHIIDA								
Família Acanthocolpidae								
<i>Manteria</i> sp.	<i>Lyncegraulis grossidens</i>	Brânquias	Metacercária	Linhares/RD	22/23	9,56 (1–27)	-	10,0 (1–27)
				Colatina/RD	14/18	6,77 (3–20)	-	8,71 (3–20)
FILO NEMATODA								
ORDEM ASCARIDOIDEA								
Família Anisakidae								
<i>Contraecum</i> sp.	<i>Hoplias intermedius</i>	Intestino	Larva	Baixo Guandu/RD	1/11	0,18	2	-
	<i>Pygocentrus nattereri</i>	Intestino	Larva	Linhares/AFL	3/8	0,37	1;1;1	-
	<i>Pygocentrus piraya</i>	Intestino	Larva	Colatina/RD	1/4	0,25	1	-
				Linhares/AFL	4/36	0,41 (1–7)	-	3,75 (1–7)

Helminto	Hospedeiro	Sítio de infecção	ED	Localidade	Re	AM	I	IM			
ORDEM SPIRURIDA											
Família Camallanidae											
<i>Procamallanus (Procamallanus) peraccuratus</i> Pinto, Fábio, Noronha & Rolas, 1976	<i>Geophagus brasiliensis</i>	Intestino	Adulto	Aimorés/AFL	3/3	2,67	1;3;4	-			
				Aimorés/AFL	1/5	0,4	2	-			
				Baixo Guandu/RD	1/11	0,09	1	-			
<i>Procamallanus (Spirocamallanus) inopinatus</i> Travassos, Artigas & Pereira, 1928	<i>Hoplais malabaricus</i>	Intestino	Adulto	Aimorés/AFL	1/2	1	2	-			
				Baixo Guandu/RD	1/9	0,11	1	-			
				Baixo Guandu/RD	1/17	0,05	1	-			
<i>Procamallanus (Spirocamallanus) sp.</i>	<i>Metynnis maculatus</i>	Intestino	Adulto	Linhares/RD	1/3	0,33	1	-			
				<i>Pygocentrus nattereri</i>	Intestino	Adulto	Colatina/AFL	3/5	0,8	1;1;2	-
							Aimorés/AFL	8/8	8,87 (1–20)	-	8,87 (1–20)
<i>Procamallanus (Spirocamallanus) sp.</i>	<i>Hoplais intermedius</i>	Ceco intestinal	Larva	Linhares/RD	1/3	0,33	1	-			
				Colatina/RD	2/4	1,75	2;5	-			
ORDEM OXYURIDA											
Família Pharyngodonidae											
<i>Ichthyouris sp.</i>	<i>Metynnis maculatus</i>	Intestino	Adulto	Baixo Guandu/RD	5/17	13,88 (16–114)	-	47,2 (16–114)			
				Aimorés/AFL	2/2	3	2;4	-			

5.2.1 Caracterização taxonômica dos helmintos encontrados

FILO PLATYHELMINTHES Gegenbaur, 1859

CLASSE CESTODA van Beneden, 1849

Ordem Onchoproteocephalidea Caira, Jensen, Waeschenbach, Olson, & Littlewood, 2014

Família Proteocephalidae La Rue, 1911

Subfamília Proteocephalinae Mola, 1929

Gênero *Proteocephalus* Weinland, 1858

Proteocephalus macrophallus (Diesing, 1850)

(Figuras 12 e 13; Tabela 3)

Resumo Taxonômico

Hospedeiro: *Cichla kelberi* Kullander & Ferreira, 2006 (Cichliformes: Cichlidae).

Localidade: Linhares/AFL.

Relação parasitados/coletados: 4/4.

Estágio de desenvolvimento: adultos (maduros e imaturos).

Sítio de infecção: intestino.

Descrição (n = 23 maduros e 6 imaturos): vermes pequenos (Fig. 12A), de coloração esbranquiçada. Presença de proglotes imaturas, maduras (Fig. 12D, 13C) e grávidas (Fig. 13D). Vermes maduros com 6,18 mm (4,21–8,77) de comprimento e 1.013 (523–1.435) de largura. Imaturos com 2,51 mm (1,65–4,06) de comprimento por 362 (273–554) de largura. Alguns exemplares com escólex não distintos do estróbilo (Fig. 12A; 13A) e outros distintos (Fig. 12B; 13B), com 374 (211–533) de comprimento e 653 (431–1.034) de largura em vermes maduros. Quatro ventosas dorsoventrais com estreitas aberturas e fortes estruturas musculares de fixação (Fig. 12A, B, C; 13A, B), com 297 (160–454)

de diâmetro. Em alguns exemplares, é possível observar a presença de uma pequena glândula apical (Fig. 12C; 13B) com 124 (96–157) de diâmetro. Presença de colo pequeno (Fig. 12A, B), com 633 (291–791) de comprimento. Estróbilo constituído por 21 (14–28) proglotes (Fig. 12A) em vermes maduros. Proglotes mais posteriores com formato retangular ou triangular, com 730 (446–1.258) de comprimento e 874 (224–1.454) de largura em maduros (Fig. 12D; 13C). Trinta e três (21–43) testículos, formato esféricos ou ovais (Fig. 12D; 13C), com 58 (43–103) de comprimento e 36 (28–58) de largura. Bolsa do cirro alongada, ocupando a parte central da proglote. Ductos espermáticos não observados. Poros genitais irregularmente alternados. Glândula de Mehlis (Fig. 13C, D) com 92 (32–122) de diâmetro. Ovário bilobado, massivo, ocupando a parte inferior de cada proglote (Fig. 12D; 13C, D), com 150 (100–210) de comprimento e 167 (65–471) de largura. Folículos vitelínicos arranjados em duas fileiras laterais (Fig. 12D; 13C, D). Útero central, ramificado em paredes finas. Ductos vitelínicos não observados.

Dados genéticos: Um fragmento de 1364 pb foi gerado para a região 28S. A comparação com dados disponíveis no GenBank revelou baixa divergência (um nucleotídeo, 0,15%) com um isolado de *P. macrophallus* (KP729394) obtido de *Cichla monoculus* Spix, 1829 de Iquitos, Peru (DE CHAMBRIER *et al.*, 2015). A divergência em relação a outras espécies de Proteocephalidae parasitos de peixes foi superior a 4,9%. Para a o gene Cox-1, foi obtido um fragmento de 801 pb, o qual apresentou divergências relativamente altas (15,6-18,7%) em relação a outros Proteocephalidae com dados disponíveis para comparação [*Pseudoendorchis* spp., *Spatulifer maringaensis* Pavanelli & Rego, 1989, *Riggenbachiella paranaense* (Pavanelli & Rego, 1989) e *Monticellia magna* (Rego, Santos & Silva, 1974)]. Os dados obtidos representam as primeiras sequências Cox-1 para *P. macrophallus*.

Comentários taxonômicos: *Proteocephalus macrophallus* foi descrita originalmente por Diesing (1850) como *Taenia macrophalla*, renomeada como *P. macrophallus* por Woodland (1933) e redescrita por Scholz e colaboradores

(1996). Os exemplares do presente estudo foram identificados como *P. macrophallus* principalmente por apresentarem estruturas e medidas características da espécie, incluindo corpo curto; ausência de ventosa apical; e proglotes mais posteriores com paredes grossas entre seus divertículos (SCHOLZ *et al.*, 1996). Na redescrição realizada por Takemoto & Pavanelli (1996), os autores descrevem um escólex bem definido e presença do pescoço, o que coincide com alguns exemplares encontrados no atual trabalho (Fig. 12B), apesar da maioria apresentar um escólex não distinto do estróbilo (Fig. 12A). Além disso, em alguns exemplares foi possível observar uma estrutura semelhante a uma glândula apical, também conhecida como glândula frontal que, segundo Rego (1999), é considerado frequente em espécies de *Proteocephalus*, apesar de não ter sido descrito originalmente em *P. macrophallus* (Fig. 12C; 13B). A estrutura é muito reduzida, o que não confere com as características de uma ventosa apical, como observada em *Proteocephalus gibsoni* Rego & Pavanelli, 1991 (REGO, 1999) (tabela 3).

Apesar de haver registros em diferentes localidades no Brasil e em diferentes hospedeiros, inclusive em *C. kelberi*, este é o primeiro registro de *P. macrophallus* em peixes no Baixo Rio Doce, o que contribui para a ampliação da distribuição geográfica deste parasito na América do Sul.

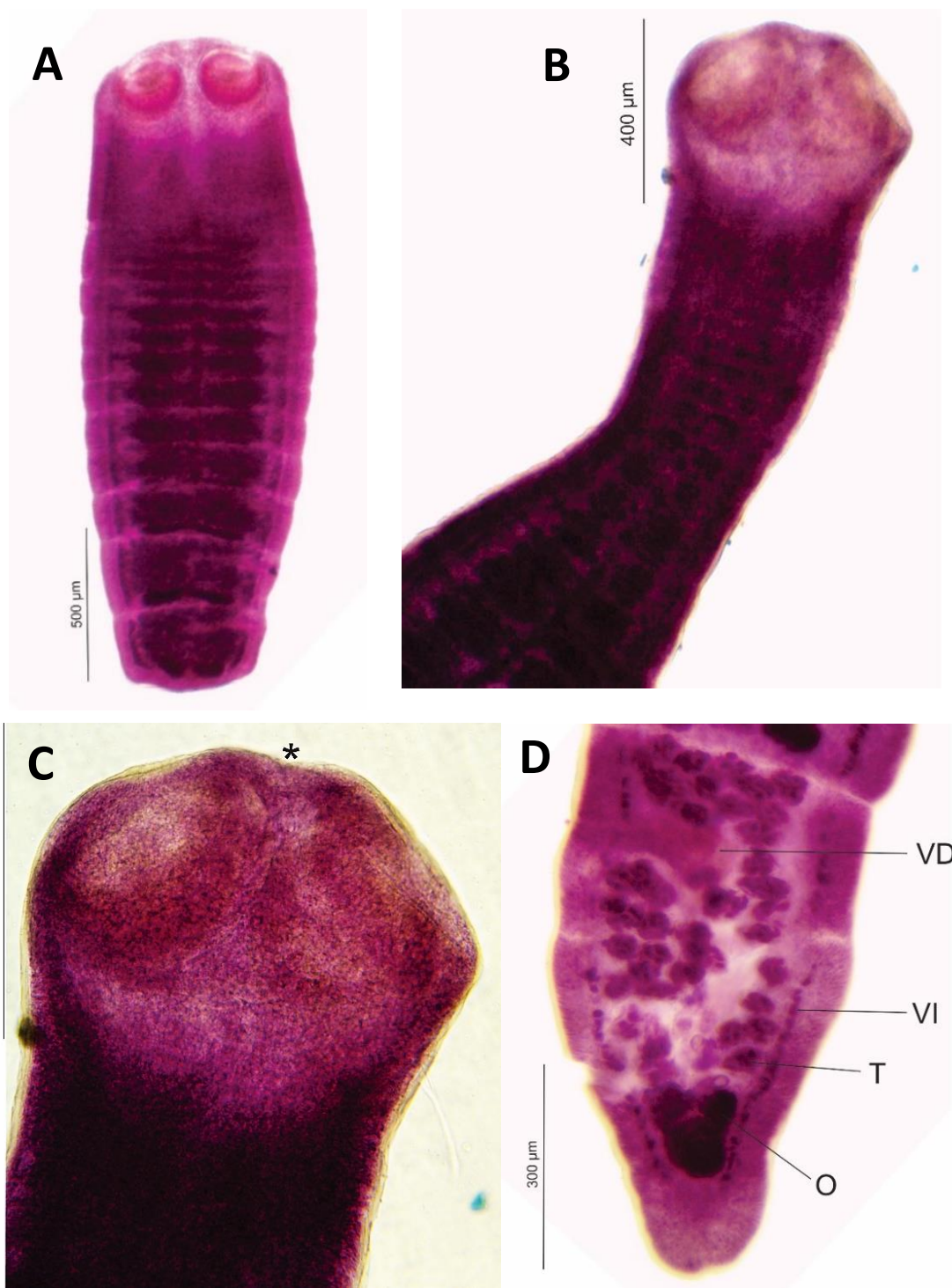


Figura 12. Fotomicrografias de exemplares maduros de *Proteocephalus macrophallus*, parasito de *Cichla kelberi*, coletado em Linhares/AFL. **A.** Verme inteiro, vista ventral. **B.** Região anterior. **C.** Região cefálica, evidenciando a região da glândula apical (asterisco). **D.** Última proglote madura. VD: vasos deferentes; VI: vitelárias; T: testículos; O: ovário.

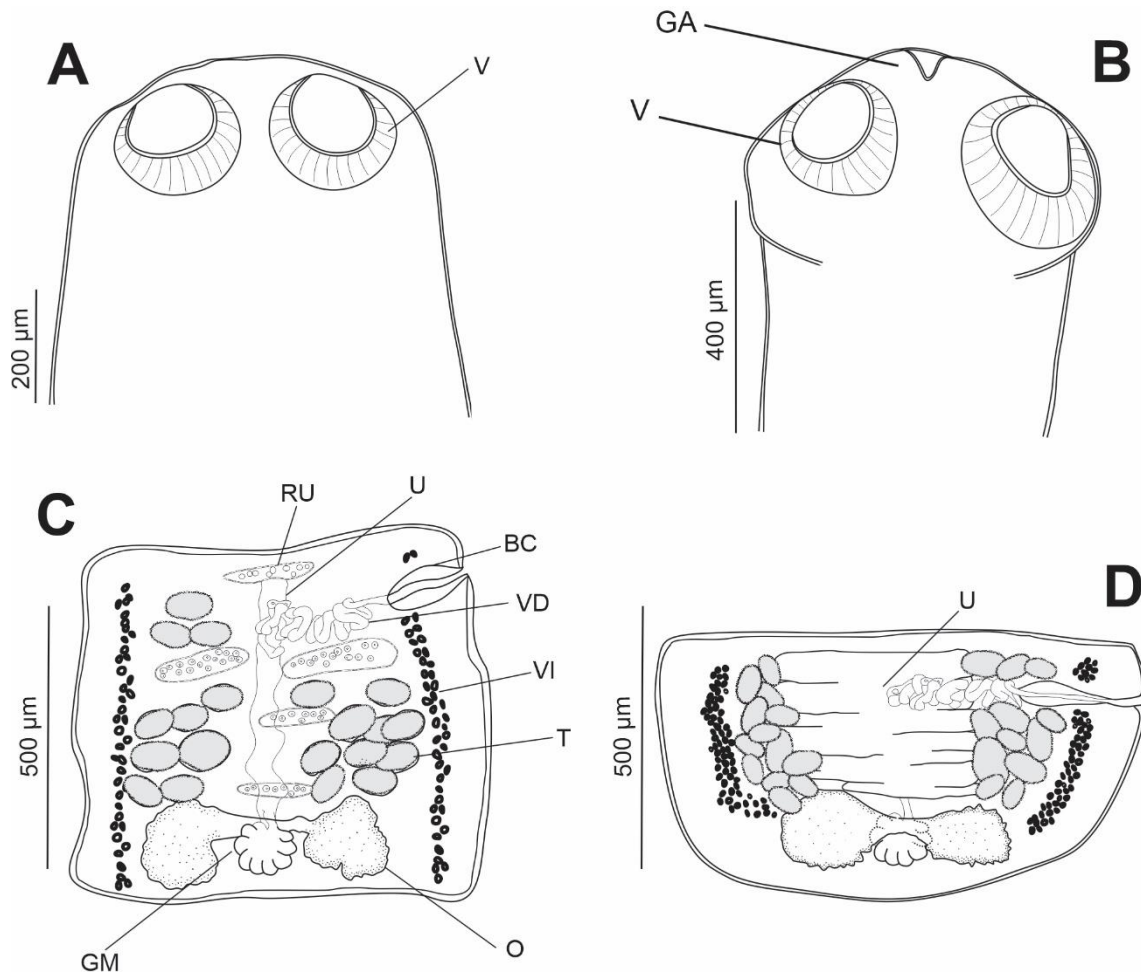


Figura 13. Representação de *Proteocephalus macrophallus*, parasito de *Cichla kelberi*, coletado em Linhares/AFL. **A.** Escólex com as ventosas dorsais em evidência. **B.** Escólex evidenciando a glândula apical. **C.** Proglote madura. **D.** Proglote grávida. V: ventosa; GA: glândula apical; RU: ramificações do útero; U: útero; BC: bolsa do cirro; VD: vaso deferente; VI: vitelárias; T: testículos; O: ovário; GM: Glândula de Mehlis.

Tabela 3. Dados morfométricos entre as espécies de *Proteocephalus* com os exemplares encontrados (medidas em μm , exceto quando especificado). Legenda: com.: comprimento; larg.: largura.

Espécies/ características	Presente estudo	<i>Proteocephalus gibsoni</i> Rego & Pavanelli, 1991	<i>Proteocephalus macrophallus</i> Scholz <i>et al.</i> , 1996	<i>Proteocephalus macrophallus</i> Takemoto & Pavanelli, 1996	<i>Proteocephalus microscopicus</i> Takemoto & Pavanelli, 1996
Hospedeiro	<i>Cichla kelberi</i>	<i>Geophagus brasilienses</i> ; <i>Astronotus ocellatus</i>	<i>Cichla ocellaris</i>	<i>Cichla kelberi</i> <i>Cichla monoculus</i> <i>Cichla ocellaris</i> <i>Cichla piquiti</i>	<i>Cichla kelberi</i> <i>Cichla monoculus</i> <i>Cichla ocellaris</i> <i>Cichla piquiti</i>
Localidade	Rio Doce (ES)	Rio Amazonas (AM); Rio Paraná (PR); Rio Doce (MG)	Venezuela; Rio Amazonas (Brasil)	Rio Amazonas (AM); Rio Paraná (PR); Rio São Francisco; Rio Tocantis-Araguaia;	
Comprimento (mm)	4,21–8,77	23,0–58,0	6,0–9,0	5,41–11,06	2,05–2,78
Número de proglotes	14–28	–	25–30	19	6–12
Estrutura do Escólex	Presença de glândula apical	Sulcado, com ventosa apical pequena	Indistinto do estróbilo, sem ventosa ou glândula apical	Distinto do estróbilo, sem ventosa ou glândula apical	Distinto do estróbilo, sem ventosa ou glândula apical
Escólex (com.)	211–533	–	–	530	550
Escólex (larg.)	431–1.034	–	1090–1485	790	630
Poros genitais	Aberturas irregularmente alternadas	Aberturas irregulares com tendência a unilateralidade	Aberturas irregularmente alternadas	Aberturas irregularmente alternadas	Aberturas irregularmente alternadas
Número de testículos	21–43	Menos de 100	38–71	49–57	19–26
Estrutura do Ovário	Dois longos lobos	Lobados	Dois longos lobos	Dois longos lobos	Dois longos lobos
Ovário (com.)	100–210	550	–	150	70
Ovário (larg.)	65–471	–	–	860	380

Proteocephalus microscopicus (Woodland, 1935)

(Figuras 14 e 15)

Resumo taxonômico

Hospedeiro: *Cichla kelberi* Kullander & Ferreira, 2006 (Cichliformes: Cichlidae).

Localidade: Colatina/RD.

Relação parasitados/coletados: 1/1.

Estágio de desenvolvimento: adultos (maduros).

Sítio de infecção: intestino.

Descrição (n=6): pequenos vermes com cerca de 7 proglotes (5–9) (Fig. 15A), medindo 1,55 mm (1,11–2,30) de comprimento e 247,66 (176,12–291,16) de largura. Presença de proglotes maduras e grávidas. Escólex com 4 ventosas e pescoço, muitas vezes, indiferenciado (Fig. 14A). Proglotes mais posteriores bem largas, com formato irregular (Fig. 14B; 15A, B). Cerca de 14 (11–18) testículos ovais, espalhados lateralmente pela proglote (Fig. 15B), medindo cerca de 25 (19–35) de comprimento e 17 (13–22) de largura. Cirro alongado, vasos deferentes distribuídos até a parte central da proglote (Fig. 15B). Ductos espermáticos não observados. Poros genitais irregularmente alternados, situados na porção mediana a superior de cada proglote. Glândula de Mehlis (Fig. 15B) com 19 (18–20) de diâmetro. Ovário bilobado, massivo, ocupando a parte inferior de cada proglote madura (Fig. 15B), com cerca de 98 (70–143) de comprimento e 30 (24–34) de largura. Folículos vitelínicos arranjados em duas fileiras laterais (Fig. 15B). Ductos vitelínicos não observados. Úteros ocupando a porção mediana das proglotes grávidas, ramificando-se da extremidade mais superior da proglote até os ovários (Fig. 15B).

Dados genéticos: Um fragmento de 1414 pb foi obtido para a região 28S, que apresentou maior proximidade com os isolados *P. macrocephalus*. As divergências genéticas em relação ao isolado desta espécie oriundo de Iquitos, Peru e do Brasil (presente estudo) foram 2,64% e 2,49%, respectivamente. As

divergências genéticas verificadas para essa região nuclear em relação a outros representantes da família foram superiores a 5,63%. Um fragmento de 856 pb do gene Cox-1 foi obtido para *P. microscopicus* e a comparação com a mesma região de *P. macrocephalus* deste estudo revelou uma divergência de 9,24%, confirmando que se trata de espécies distintas. Já as divergências de *P. microscopicus* em relação às outras espécies da família disponíveis para comparação foram superiores a 14,7%. Os dados aqui obtidos representam as primeiras sequências geradas para *P. microscopicus*.

Comentários taxonômicos: Os exemplares encontrados assemelham-se à redescritção de *P. microscopicus* devido ao tamanho reduzido do corpo, quantidade de proglotes e o formato do escólex achatado (TAKEMOTO & PAVANELLI, 1996). Os exemplares encontrados apresentam um número reduzido de testículos em relação à redescritção de Takemoto & Pavanelli (1996) (9-14 x 22 da redescritção), mas as demais características condizem com a espécie em questão. Este é o primeiro registro de *P. microscopicus* em peixes no Baixo Rio Doce, o que contribui para a ampliação da distribuição geográfica deste parasito na América do Sul.

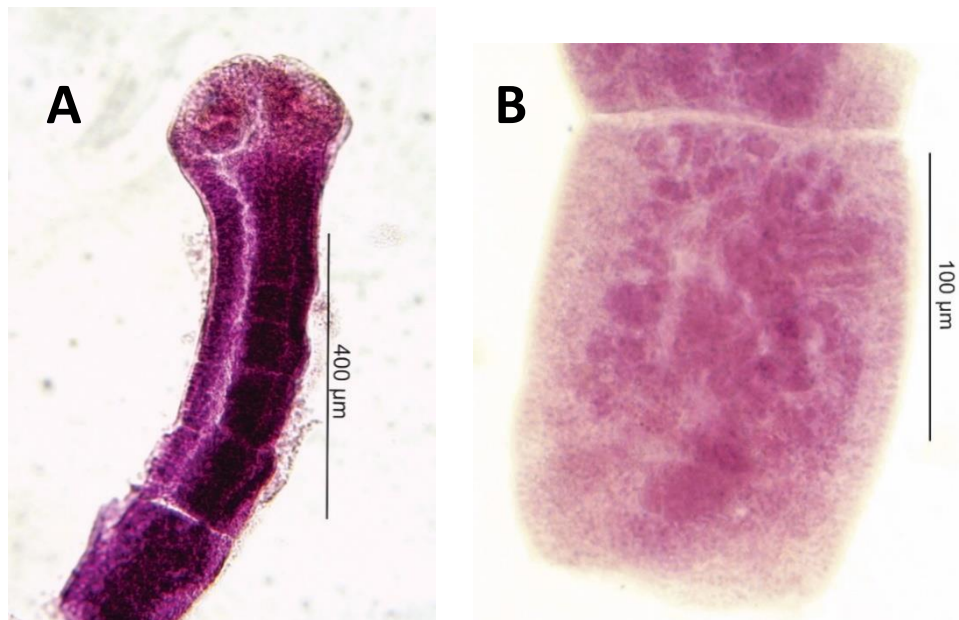


Figura 14. Fotomicrografias de *Proteocephallus microscopicus*, parasito de *Cichla kelberi* coletado em Colatina/RD. **A.** Região anterior. **B.** Proglote madura.

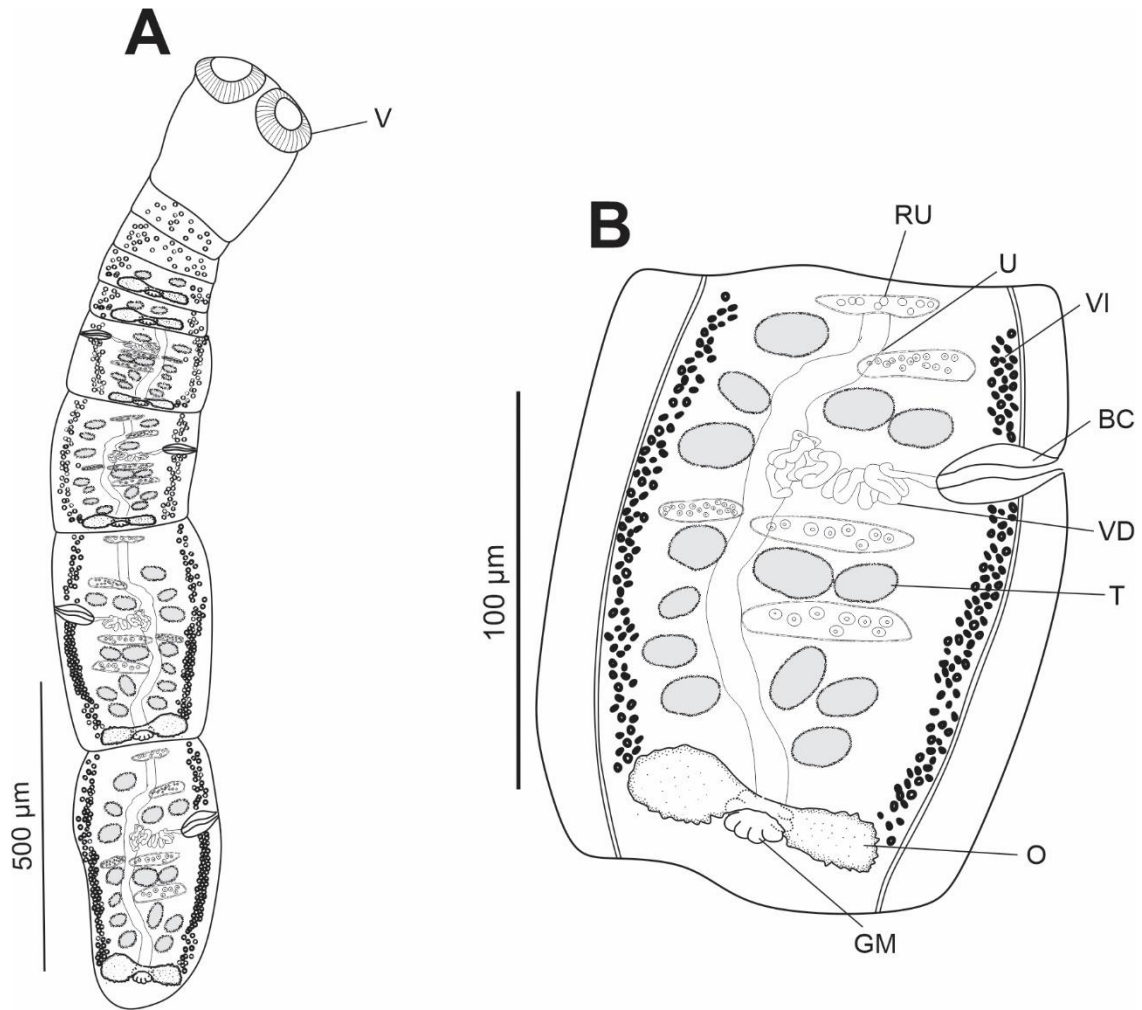


Figura 15. Representação de *Proteocephalus microscopicus*, parasito de *Cichla kelberi*, coletado em Colatina/RD. **A.** Vista total do parasito. **B.** Proglote madura. V: ventosa; RU: ramificações do útero; U: útero; BC: bolsa do cirro; VD: vaso deferente; VI: vitelárias; T: testículos; O: ovário; GM: Glândula de Mehlis.

CLASSE TREMATODA Rudolphi, 1808**SUBCLASSE DIGENEA Carus, 1863**

Ordem Plagiorchiida La Rue, 1957

Superfamília Lepocreadioidea Odhner, 1905

Família Acanthocolpidae Lühe, 1909

Gênero *Manteria* Caballero, 1950

Manteria sp.

(Figuras 16, 17 e 18; Tabelas 4 e 5)

Resumo taxonômico

Hospedeiro: *Lycengraulis grossidens* (Spix & Agassiz, 1829) (Clupeiformes: Engraulidae).

Localidade: Linhares/RD e Colatina/RD.

Relação parasitados/coletados: 22/23 Linhares/RD; 14/18 Colatina/RD.

Estágio de desenvolvimento: metacercárias.

Sítio de infecção: brânquias.

Descrição (n=8): Metacercárias encistadas pequenas e cistos ovais. Parasitos pequenos, corpo estreito e alongado com 1,18 mm (877–1.673) de comprimento e 91 (57–133) de largura (Fig. 16, 18A). Extremidade anterior envolvida por coroa de espinhos dispostos em duas fileiras alternadas, dorsais e laterais, com tamanhos desiguais, formadas por 47 (41–58) espinhos (Fig. 17A, B, C; 18B), interrompidas na região da ventosa oral (Fig. 18B). Ventosa oral desenvolvida, subglobular, ventralmente subterminal (Fig. 17C; 18B), menor que a ventosa ventral (acetábulo), com duas pequenas projeções laterais cônicas e alongadas, medindo 101 (81–123) de diâmetro (Fig. 16; 17B; 18A, B). Tegumento com pequenos espinhos que se iniciam na base da ventosa oral e estendem-se ao longo do corpo (Fig. 17C, D; 18A). Ventosa ventral protuberante, musculosa e cuneiforme, localizado no terço anterior do corpo, próximo à ventosa oral, medindo 228 (199–284) de comprimento e 207

(144–257) de largura (Fig. 16, 18A). Pré-faringe longa, medindo 138 (100–182) de comprimento. Faringe desenvolvida fortemente muscularizada, piriforme, medindo 105 (53–163) de comprimento e 56 (38–93) de largura (Fig. 18A). Dois primórdios testiculares pequenos, ovais, com bordas regulares, localizados um após o outro, próximos à extremidade posterior (Fig. 16, 18A). Testículo anterior com 37 (28–43) de comprimento e 35 (33–43) de largura; testículo posterior com 43 (28–59) de comprimento e 34 (28–42) de largura. Primórdio ovariano oval, pré-testicular, maior que os testículos, com 78 (43–135) de diâmetro (Fig. 18A). Folículos vitelínicos numerosos, esféricos ou ovais, distribuídos a partir do acetábulo até a extremidade posterior, reduzidos em número ao nível das zonas ovarianas e testiculares (Fig. 16, 18A).

Dados genéticos: Foi obtida um fragmento do gene 28S com 956 bp. A comparação com dados disponíveis no GenBank revelou maior proximidade com um isolado identificado como *Cercaria capricornica* IV Barnett, Smales & Cribb (2008) originária de molusco gastrópode *Nassarius olivaceus* (Bruguière, 1789) da Austrália (divergência genética de 5,85%) (BARNETT & MILLER, 2018) e com *Tormopsolus orientalis* Yamaguti, 1934, encontrada em peixes, *Seriola dumerli* (Risso 1810), na França (BRAY *et al.*, 2005). A reconstrução filogenética baseada em IB e MV (Figura 19), confirmou a inclusão do parasito encontrado como um representante da família Acanthocolpidae, revelando ainda o agrupamento com os dois táxons listados acima com um bom suporte nodal (1/99). Para a região ITS, um fragmento com 1047pb foi obtido, sendo a comparação com dados do GenBank revelaram maior proximidade com *Cercaria capricornica* VI da Austrália, e *Neophasis oculata* (Levinsen, 1881) e *Neophasis anarrichae* (Nicoll, 1909) da Rússia (únicas espécies da família Acanthocolpidae com dados ITS disponíveis para comparação). Entretanto, as divergências genéticas em relação a esses isolados foram altas (8,2-8,5%). A análise de sequências Cox-1 (402 pb) revelou a inexistência de dados genéticos de representantes da família Acanthocolpidae para comparação.

Comentários taxonômicos: Os caracteres morfológicos dos exemplares encontrados assemelham-se aos dos representantes do gênero *Manteria*

devido, principalmente, à presença de: coroa de espinhos interrompidos ventralmente; extensos folículos vitelínicos localizados entre o acetábulo e a porção posterior do corpo; ventosas orais e ventrais próximas umas às outras; metade posterior do corpo muito maior que a anterior (SIDDIQI & CABLE, 1960) (Tabela 4).

A maior parte dos relatos referentes ao gênero são baseados em adultos encontrados principalmente em peixes da família Carangidae (AMATO, 1983). Os exemplares encontrados apresentam características que os definem como metacercárias devido a diferenças significativas aos adultos, tais como: presença de coroa ao redor da ventosa oral com número de espinhos semelhantes (média de 41–58 nas metacercárias x 50–60 em *M. brachydera*, forma adulta); disposição dos espinhos ao longo do corpo, que estão distribuídos até a região ligeiramente posterior ao acetábulo (x até a região ovariana em *M. brachydera*, forma adulta) (CABALLERO, 1950), características muito próximas aos exemplares encontrados, podendo ser comparado aos adultos (Tabela 5).

Rojas, Torres & Pequeño (1999) retratam o primeiro registro de metacercárias do gênero *Manteria* na América do Sul encontrados na musculatura de *Caprodon longimanus* (Günther, 1859), coletado na costa do Chile. No entanto, os exemplares encontrados diferem das metacercárias publicadas pelos autores devido ao formato e tamanho do corpo (alongado x forma de pera); número de espinhos ao redor da ventosa oral (41–58 x 30–36); além da disposição dos espinhos corporais (extremidade anterior até região do acetábulo x todo o tegumento). No Brasil, Amato (1983) encontrou adultos e jovens no estômago e no intestino de *Oligoplites palometa* (Cuvier) no sul do país. No entanto, os exemplares jovens assemelham-se aos espécimes encontrados no atual estudo devido ao tamanho do corpo; tamanho da pré-faringe (longa nas metacercárias x curta nos adultos); posição e tamanho dos primórdios genitais (muito próximos à porção final do corpo e tamanho reduzido x porção mediana do terceiro terço do corpo em maior tamanho). No entanto, o comprimento dos primórdios difere da descrição destes jovens. Assim, os exemplares são classificados como metacercárias de *Manteria* sp. As comparações dos exemplares encontrados com o registro das metacercárias

de Rojas, Torres & Pequeño (1999) e os jovens de Amato (1983) estão retratadas na Tabela 4.

Além disso, este trabalho menciona um novo sítio de infecção para este gênero, uma vez que não há relatos de encontro dessas metacercárias nas brânquias de peixes. Além disso, este também é o primeiro registro deste gênero em peixes no Baixo Rio Doce e em água doce, uma vez que os demais relatos são oriundos de peixes de ambiente marinho (CABALLERO, 1950; FREITAS & KOHN, 1964; AMATO, 1983; ROJAS, TORRES & PEQUEÑO, 1999)



Figura 16. Fotomicrografias de *Manteria* sp., parasito de *Lycengraulis grossidens* coletado em Colatina/RD. Vista lateral do parasito por completo, em destaque a ventosa ventral.

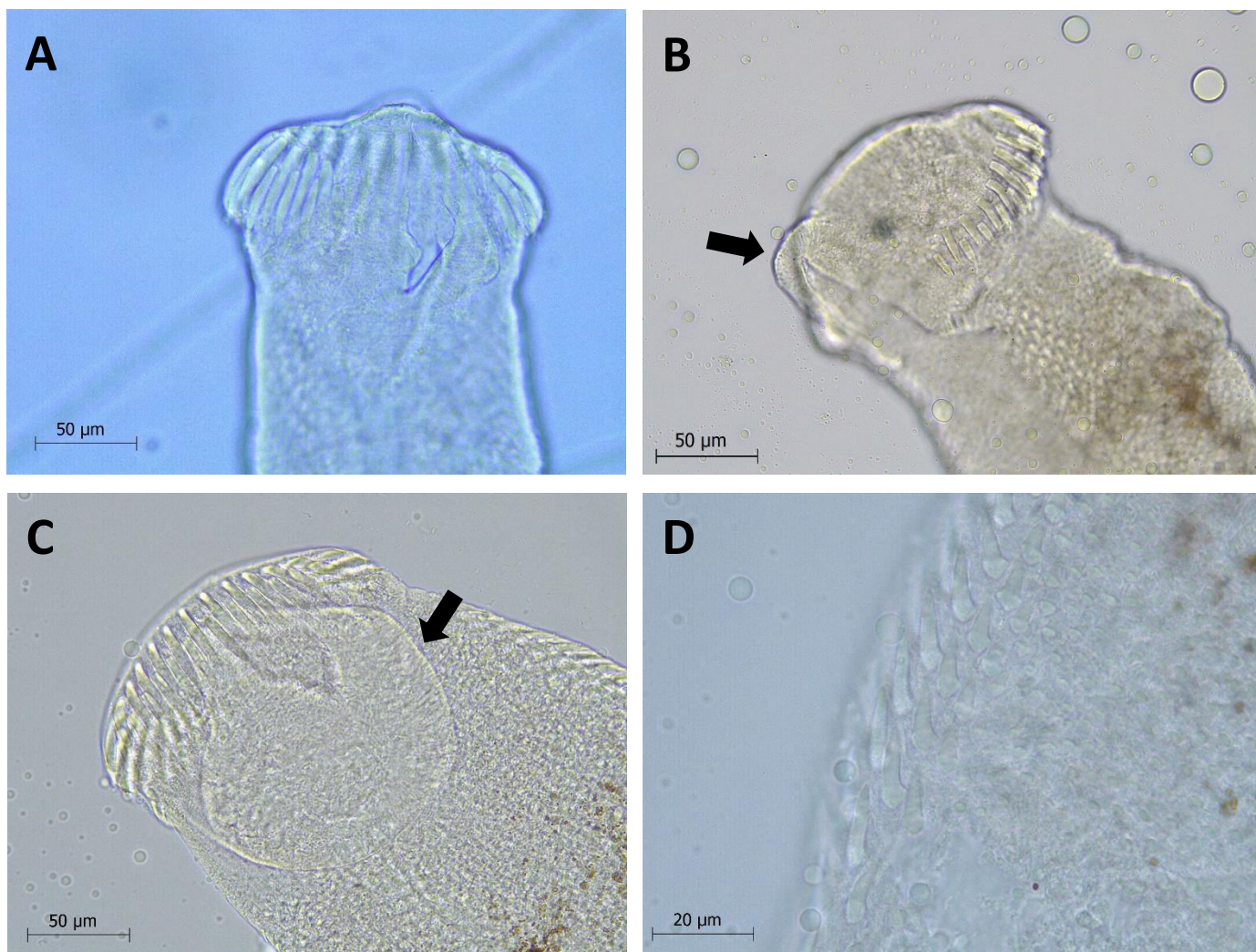


Figura 17. Fotomicrografias de *Manteria* sp., parasito de *Lycengraulis grossidens* coletado em Colatina/RD, com enfoque na extremidade anterior e espinhos. **A.** Extremidade anterior, podendo ser observada a coroa de espinhos. **B.** Extremidade anterior, com destaque para as projeções orais alongadas. **C.** Destaque para a ventosa oral. **D.** Espinhos ao longo do tegumento do parasito.

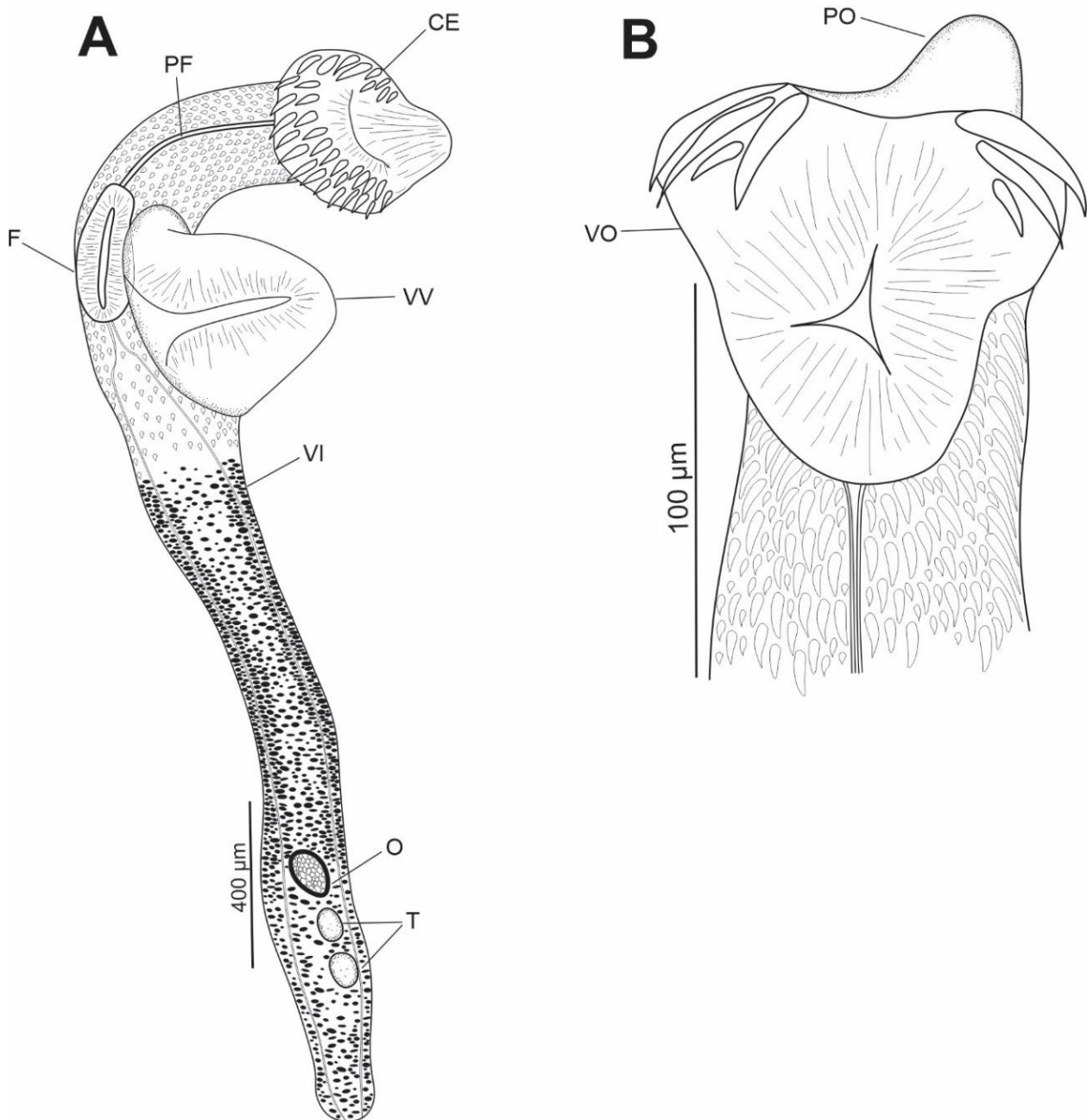


Figura 18. Representação de *Manteria* sp., parasito de *Lycengraulis grossidens* coletado em Colatina/RD, vista ventral. **A.** Corpo total do parasito. **B.** Extremidade anterior com em destaque para a coroa de espinhos e a ventosa oral. CE: Coroa de espinhos; PF: Pré-faringe; F: Faringe; VI: Vitelária; VV: Ventosa Ventral; O: Ovário; T: Testículos; PO: Projeção oral; VO: Ventosa oral.

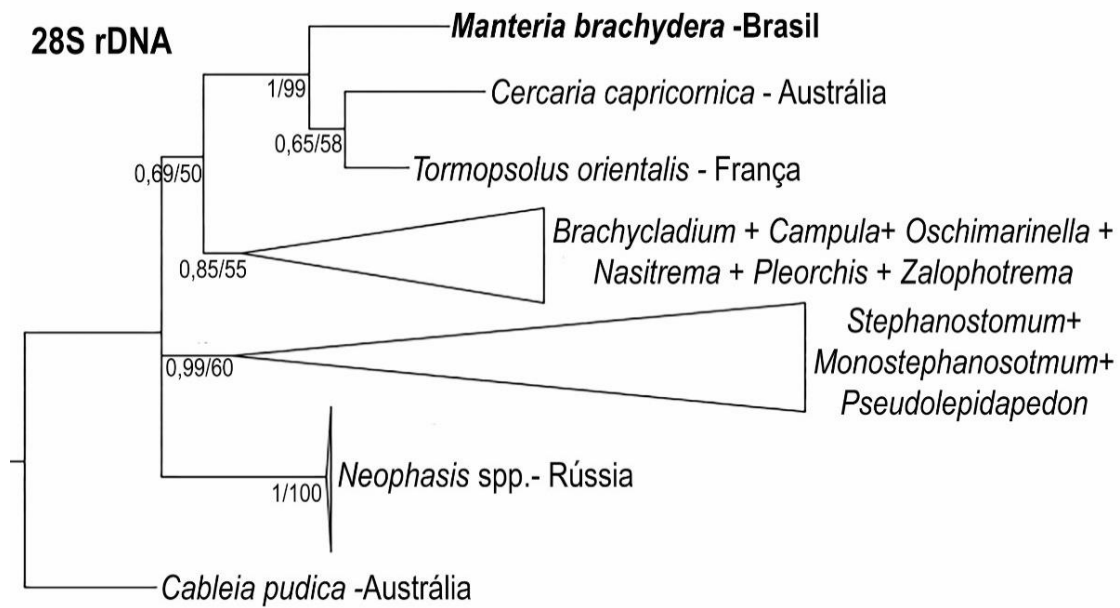


Figura 19. Relações filogenéticas baseadas em fragmento do gene 28S rDNA de *Manteria* sp. (em negrito) e espécies da família Acanthocolpidae com dados disponíveis no GenBank baseada em análises de Máxima Verossimilhança (MV) e Inferência Bayesiana (IB). O suporte nodal é indicado como MV/IB.

Tabela 4. Dados morfométricos de metacercárias de *Manteria* sp., único registro do gênero publicado na América do Sul (ROJAS, TORRES & PEQUEÑO, 1999) e o exemplar jovem publicado no Brasil (AMATO, 1983) (medidas em µm exceto quando especificado). Legenda: com.: comprimento; larg.: largura.

Táxons/Características	<i>Manteria</i> sp.	<i>Manteria brachydera</i>	<i>Manteria</i> sp.
Autoria	Presente estudo	Amato, 1983	Rojas, Torres & Pequeño, 1999
Localidade	Espírito Santo, Brasil	Santa Catarina, Brasil	Ilha de Alejandro Selkirk, Chile
Hospedeiro	<i>Lycengraulis grossidens</i>	<i>Oligoplites palometa</i>	<i>Caprodon longimanus</i>
Sítio de infecção	Cavidade branquial	Intestino, Estômago	Musculatura
Formato do corpo	Alongado	Alongado	Abaulado, em forma de “pera”
Comprimento (mm)	0,87–1,67	3,27	1,7–2,1
Largura	50–130	150	780–1100
Nº de espinhos da ventosa oral	41–58	–	30–36
Ventosa ventral (com.)	190–280	225	312–449
Ventosa ventral (larg.)	140–250	200	–
Pré-faringe (com.)	100–182	200	–
Faringe (com.)	50–160	100	100–140
Faringe (larg.)	30–90	75	–
Posição dos primórdios genitais	Próximos à porção posterior do corpo	Próximos à porção posterior do corpo	Porção mediana do terceiro terço do corpo
Primórdio testicular anterior (com.)	20–40	200	250–270
Primórdio testicular anterior (larg.)	30–40	100	–
Primórdio testicular posterior (com.)	20–50	225	250–270
Primórdio testicular posterior (larg.)	20–40	100	–
Início dos folículos vitelínicos	Abaixo da ventosa ventral	–	Abaixo da ventosa ventral
Distribuição dos espinhos corporais	Por todo o tegumento	–	Por todo o tegumento

Tabela 5. Dados morfométricos de adultos de *Manteria brachydera* publicados na América do Sul por diferentes autores (medidas em µm exceto quando especificado). Legenda: com.: comprimento; larg.: largura.

Autores/Características	Caballero, 1950	Freitas & Kohn, 1964*	Amato, 1983
Localidade	São Francisco, Equador	Rio de Janeiro, Brasil	Santa Catarina, Brasil
Hospedeiro	<i>Oligoplites saurus</i> <i>Caranx hippos</i>	<i>Scombroides</i> sp.	<i>Oligoplites palometa</i>
Sítio de infecção	Intestino	Intestino	Intestino Estômago
Comprimento (mm)	2,63–6,48	7,76–9,06	9,45–14,47
Largura	310–650	670–850	440–630
Nº de espinhos da ventosa oral	50–60	33	41–49
Ventosa ventral (com.)	160	370–420	340–360
Ventosa ventral (larg.)	150–280	320–350	260–360
Pré-faringe (com.)	57	–	179–342
Faringe (com.)	100–170	170	120–140
Faringe (larg.)	70–90	80–100	60–90
Posição dos órgãos genitais	Porção mediana do terceiro terço do corpo	Porção mediana do terceiro terço do corpo	Porção mediana do terceiro terço do corpo
Testículo anterior (com.)	160–170	560–770	600–830
Testículo anterior (larg.)	–	300–430	360–490
Testículo posterior (com.)	220–170	800–910	740–900
Testículo posterior (larg.)	–	320–450	330–490
Início dos folículos vitelínicos	Na altura da vesícula seminal	Na altura da bolsa do cirro	Na altura da vesícula seminal
Distribuição dos espinhos corporais	Extremidade anterior até a região ovariana	Região do acetábulo até a extremidade posterior	Todo o tegumento

*Descrita pelos autores como *Manteria costalimai*, espécie sinonimizada com *M. brachydera* por Overstreet (1969).

Ordem Strigeida Poche, 1926

Superfamília Diplostomoidea Poirier, 1886

Família Diplostomidae Poirier, 1886

Gênero *Dolichorchis* Dubois, 1961

Dolichorchis sp.

(Figuras 20 e 21)

Resumo Taxonômico

Hospedeiro: *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Characiformes: Erythrinidae).

Localidade: Linhares/AFL.

Relação parasitados/coletados: 1/2.

Estágio de desenvolvimento: metacercárias.

Sítio de infecção: olhos.

Descrição (n=8): metacercárias com corpo dividido em segmento anterior e posterior (Fig. 20, 21). Segmento anterior oval, medindo 204 (168–233) de comprimento e 187 (154–209) de largura (Fig. 20, 21); porção posterior menor que a anterior, com dois canais em forma de U invertido em vista ventral, medindo 45 (35–53) de comprimento e 103 (96–116) de largura (Fig. 21). Ventosa oral terminal e oval, medindo 42 (37–49) de comprimento e 48 (43–58) de largura. Faringe muscular e esférica medindo 30 (26–33) de comprimento (Fig. 21). Ventosa ventral arredondada, medindo 28 (24–34) de comprimento e 35 (40–44) de largura (Fig. 21). Duas pseudoventosas laterais na porção anterior do corpo (Fig. 21). Esôfago curto bifurcado em dois longos cecos intestinais que se estendem até próximo a porção final do corpo (Fig. 21). Órgão tribocítico desenvolvido, 56 (37–77) de comprimento e 53 (44–66) de largura (Figs. 20 e 21).

Dados genéticos: Um fragmento de 420 pb do gene Cox-1 foi obtido para essa espécie, o qual não apresentou divergência genética em relação a um isolado de *Dolichorchis* sp. encontrado em uma ave, maçarico-preto (*Phimosus infuscatus*) no Pantanal, Mato Grosso (ACHATZ *et al.*, 2022).

Comentários taxonômicos: Os exemplares encontrados apresentam semelhanças com as metacercárias descritas por Szidat (1969) como *Tetracotyloides gymnoti* encontrada em *Gymnotus carapo* Linnaeus, 1758 na Argentina. Essa espécie também foi encontrada nos olhos e possui morfologia geral e medidas bastante semelhantes. Contudo, o formato e a posição dos primórdios genitais, bem como a reentrância corporal observada em *T. gymnoti* não ficou clara nos atuais exemplares, dificultando a identificação morfológica.

No entanto, devido ao trabalho taxonômico atrelado aos dados genéticos, foi possível identificar os atuais exemplares como pertencentes ao gênero *Dolichorchis* o qual, historicamente, foi considerado um subgênero de *Diplostomum* (ACHATZ *et al.*, 2022) mas foi reclassificado por Niewiadomska (2002) como um gênero independente. Além disso, outras características diagnósticas de *Dolichorchis* são compatíveis aos exemplares encontrados, tais como a presença de pseudoventosas; ventosas oral, ventral e faringe pouco desenvolvidas; e ventosa ventral próxima ao órgão tribocítico (GIBSON, JONES & BRAY, 2002).

No atual trabalho, os exemplares analisados obtiveram os mesmos dados genéticos de *Dolichorchis* sp. VVT1 descritos por Achatz e colaboradores (2022). Além disso, esta é a primeira descrição de metacercárias deste gênero parasitando peixes, assim como uma nova distribuição geográfica para o grupo.



Figura 20. Fotomicrografia de metacercária de *Dolichoorchis* sp., parasito de *Hoplias malabaricus* coletado em Linhares/AFL, vista ventral.

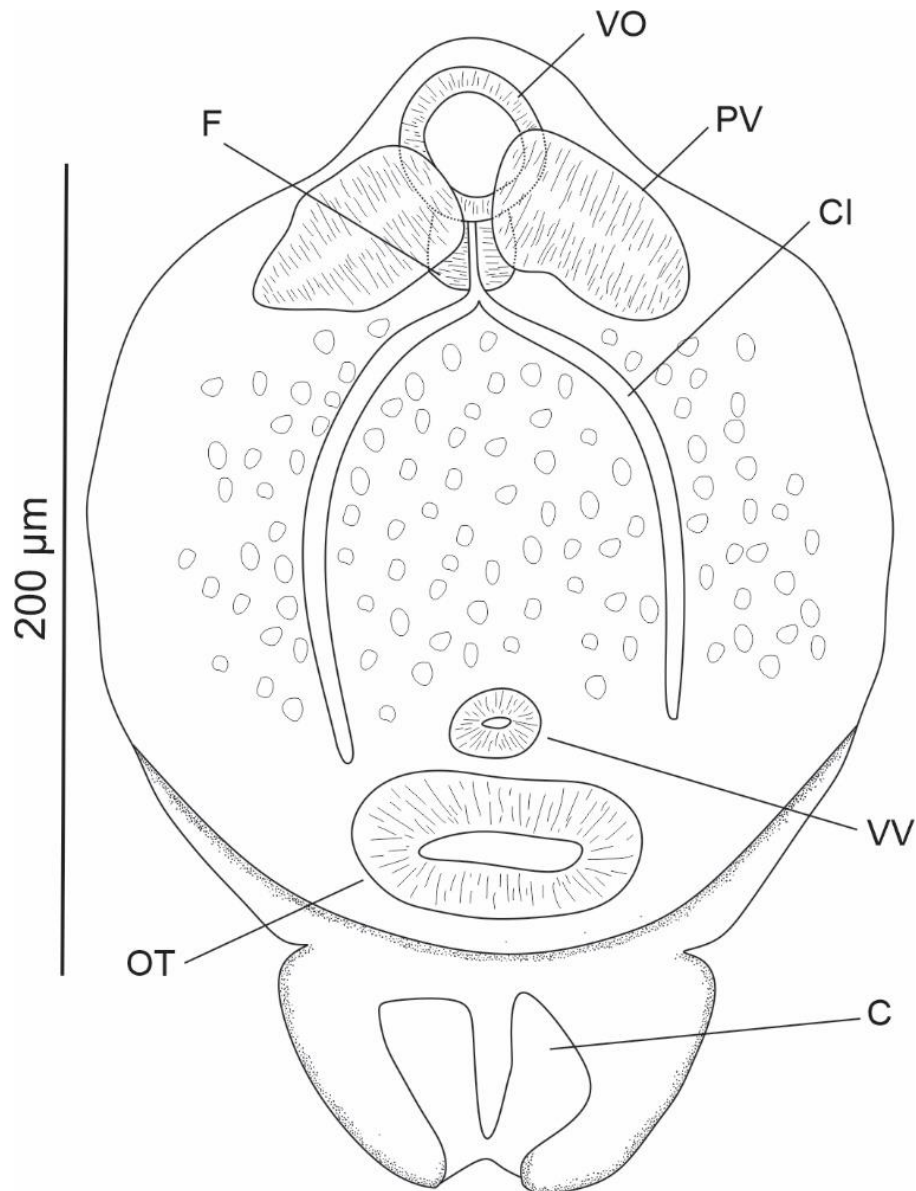


Figura 21. Representação de metacercárias de *Dolichorchis* sp., parasito de *Hoplias malabaricus* coletado em Linhares/AFL. VO: Ventosa oral; PV: Pseudoventosas; F: Faringe; CI: Cecos intestinais; VV: Ventosa Ventral; OT: Órgão tribocítico; C: Canais.

Gênero *Austrodiplostomum* Szidat & Nani, 1951

Austrodiplostomum compactum (Lutz, 1928)

(Figuras 22, 23 e 25; Tabela 6)

Resumo Taxonômico

Hospedeiros: *Cichla kelberi* Kullander & Ferreira, 2006 (Cichliformes: Cichlidae); *Hoplias intermedius* (Günther, 1864); *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Characiformes: Erythrinidae); *Hypostomus affinis* (Steindachner, 1877); *Hypostomus auroguttatus* Kner, 1854; *Hypostomus luetkeni* (Steindachner, 1877); *Rineloricaria* sp. (Siluriformes: Loricariidae); *Pimelodus maculatus* Lacepède, 1803 (Siluriformes: Pimelodidae); *Pygocentrus piraya* (Cuvier, 1819) (Characiformes: Serrasalminidae).

Localidades: Linhares/AFL; Baixo Guandu/RD; Aimorés/AFL.

Relação parasitados/coletados: 1/4 em *C. kelberi*; 4/13 em *H. affinis*; 1/2 em *H. auroguttatus*; 4/19 em *H. intermedius*; 1/1 em *H. luetkeni*; 4/11 em *H. malabaricus*; 1/5 em *P. maculatus*; 2/36 em *P. piraya*; 1/1 em *Rineloricaria* sp.

Estágio de desenvolvimento: metacercárias.

Sítio de infecção: olhos (Figura 24).

Descrição (n=18): metacercárias de corpo foliáceo, ligeiramente côncavo ventralmente, bi-segmentado, porção posterior terminando em segmento cônico (Fig. 22, 25). Corpo com 1,56 mm (1,06–2,42) de comprimento e 464 (361–851) de largura. Ventosa oral subesférica, subterminal, medindo 63 (40–76) de comprimento por 65 (41–80) de largura (Fig. 22, 23, 25), com duas pseudo-ventosas laterais (Fig. 25), bem desenvolvidas. Faringe alongada medindo 70 (43–86) de comprimento (Fig. 22B, 23, 25). Ventosa ventral ausente. Cecos intestinais longos, terminando próximo à extremidade posterior, ao nível dos primórdios genitais (Fig. 25). Órgão tribocítico elíptico, alongado e bem desenvolvido, situado no terço posterior do corpo, medindo 318 (192–418) de comprimento e 142 (110–186) de largura (Fig. 21, 25).

Dados genéticos: Um fragmento de 477pb do gene Cox-1 foi obtido, o qual apresentou baixa divergência genética (0,5-1,0%) em relação a isolados de *A. compactum* de diferentes países (Brasil, México, EUA). As divergências em relação a outras espécies do gênero descritas foram maiores: 10% em relação a *A. mordax* da Argentina, e 8,7-9,0% em relação a espécies não descritas formalmente nos EUA e México (*Austrodiplostomum* sp.1 e *Austrodiplostomum* sp.2) e na Ucrânia (*Austrodiplostomum* sp.).

Comentários taxonômicos: As metacercárias encontradas no presente estudo possuem características gerais compatíveis com as descritas para *A. compactum* por Kohn e colaboradores (1995) e Ostrowski de Núñez (2017), incluindo a presença de corpo bi-segmentado, região anterior ligeiramente côncava ventralmente, ventosa oral subterminal e duas pseudo-ventosas bem desenvolvidas, cecos simples, atingindo até o nível da genitália e órgão tribocítico elíptico, e os achados genéticos puderam comprovar a identificação da espécie. Uma forma imatura foi encontrada em *Rineloricaria* sp, no mesmo sítio de infecção das formas maduras (Figura 23).

Além das características taxonômicas e genéticas, segundo Ostrowski de Núñez (2017), a distribuição geográfica e o mecanismo de especificidade do hospedeiro são essenciais para a distinção das espécies de *Austrodiplostomum*. *A. compactum* tem ampla distribuição e baixa especificidade parasito-hospedeiro (RAMOS *et al.*, 2013; LOCKE *et al.*, 2015; GARCIA-VARELA *et al.*, 2016), como reporta Ramos e colaboradores (2013), ao listar pelo menos 36 hospedeiros diferentes para a espécie em questão. Aparentemente, *A. mordax* apresenta distribuição mais restrita, próximo ao seu hospedeiro intermediário, *O. bonariensis*, em lagos argentinos e no sul do Brasil, parasitando primariamente cérebro de seus hospedeiros (MONTEIRO, 2006; DRAGO, LUNASCHI & SCHENONE, 2011; OSTROWSKI DE NÚÑEZ, 2017). A comparação destas duas espécies com os exemplares encontrados está elucidada na Tabela 5.

Este é o primeiro registro de metacercária de *A. compactum* em peixes no Baixo Rio Doce e no Espírito Santo. Além disso, 5 novos hospedeiros são registrados para a espécie: *H. auroguttatus*, *H. luetkeni*, *P. maculatus*, *P. piraya* e *Rineloricaria* sp.

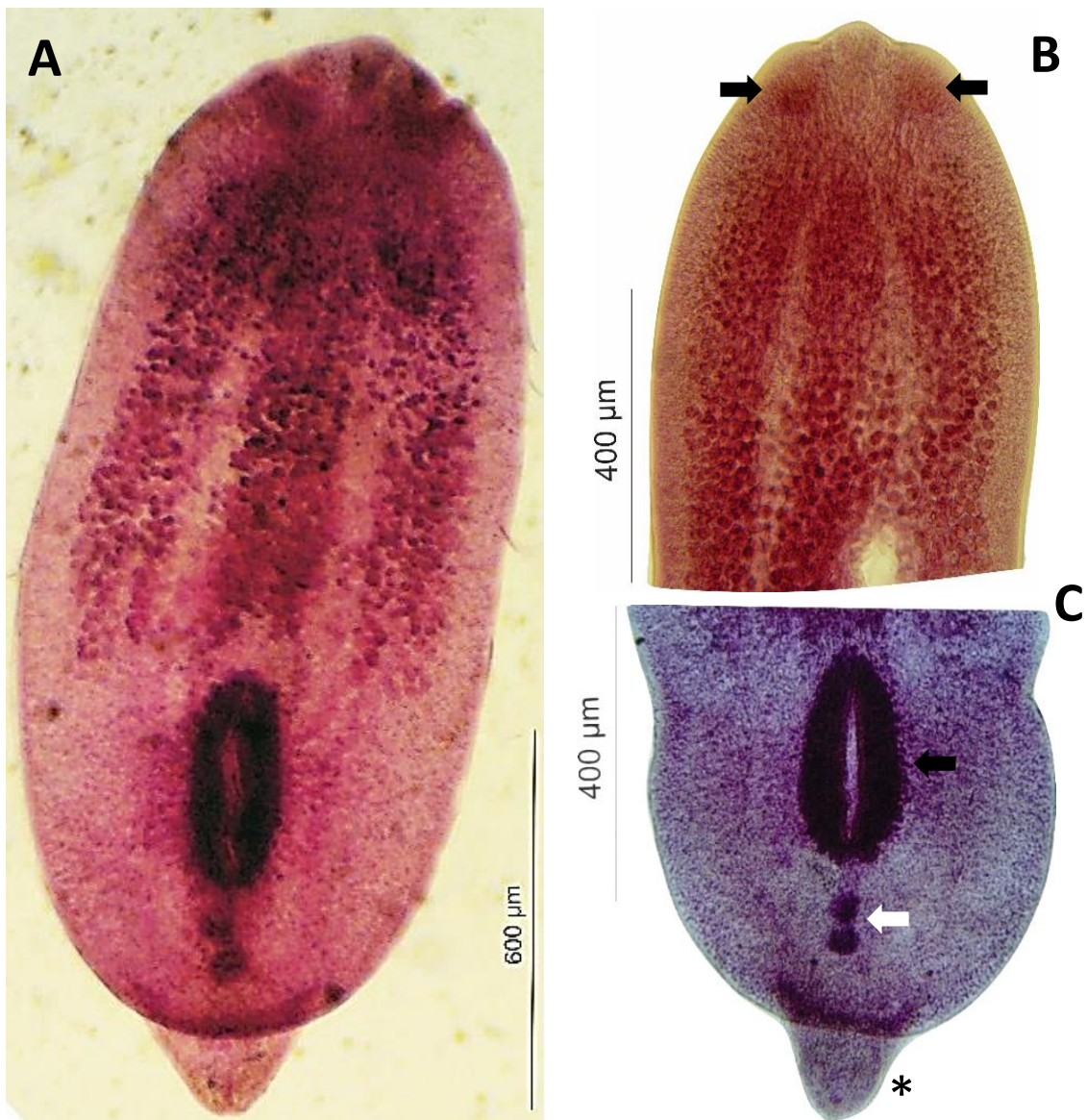


Figura 22. Fotomicrografias de metacercárias de *Autrodiplostomum compactum*, encontradas em diferentes peixes no Baixo Rio Doce, ES. **A.** Parasito em vista ventral. **B.** Região anterior do corpo em vista ventral, evidenciando as pseudoventosas (setas). **C.** Região posterior do corpo em vista ventral evidenciando primórdios genitais (seta branca), órgão tribocítico (seta preta) e segmento posterior (asterisco).



Figura 23. Fotomicrografia de exemplar jovem de *Austrodiplostomum compactum* encontrado nos olhos de *Rinelocaria* sp. em Baixo Guandu/RD.



Figura 24. Presença de metacercárias de *Austrodiplostomum compactum* nos olhos de *Hoplias malabaricus* coletados em Baixo Guandu/RD, detalhe nas setas.

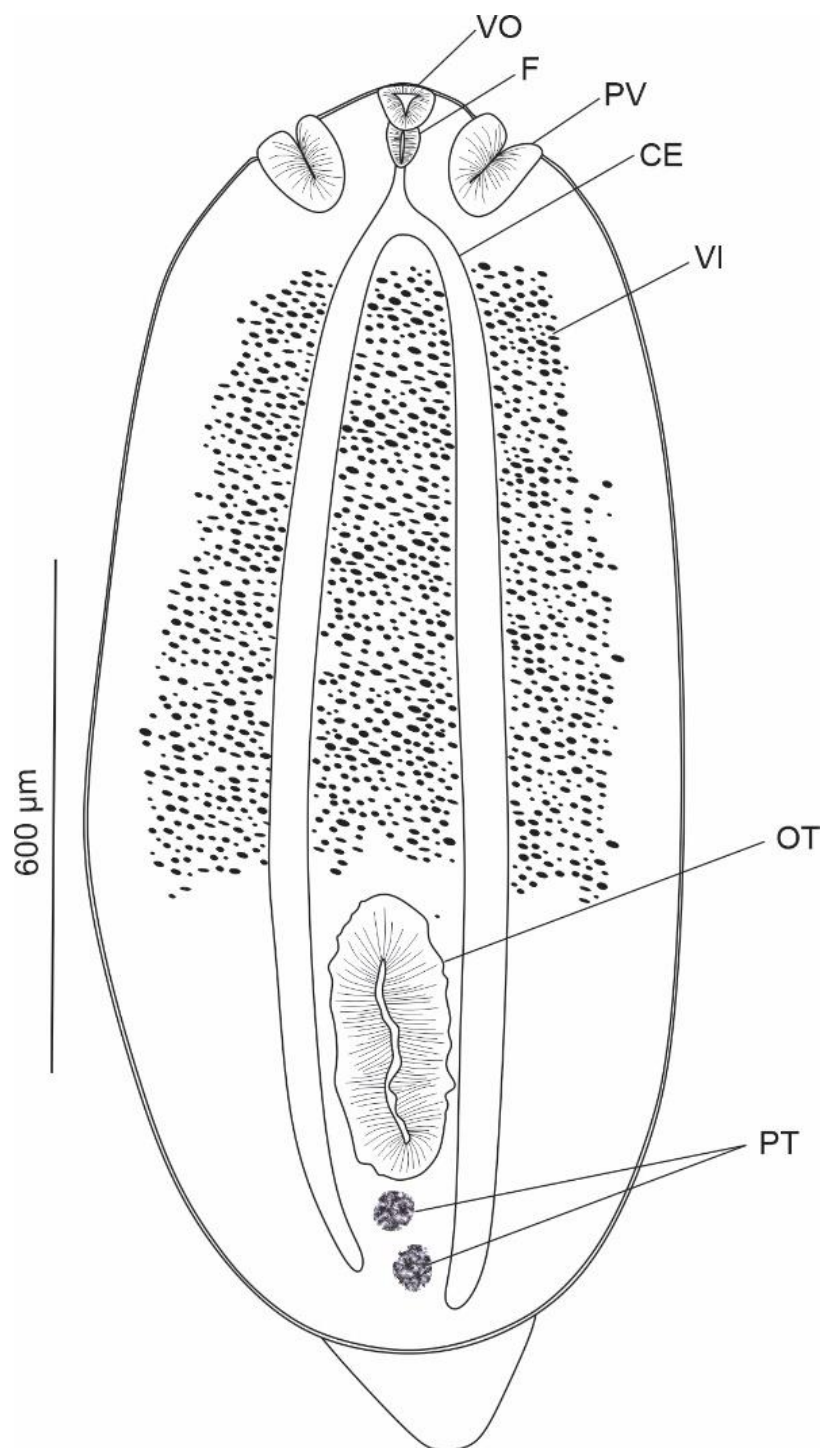


Figura 25. Representação de metacercárias de *Austrodiplostomum compactum*, encontradas em diferentes peixes no Baixo Rio Doce, ES. VO: Ventosa oral; F: Faringe; PV: Pseudoventosas; CE: Cecos intestinais; VI: Vitelárias; OT: Órgão tribocítico; PT: Primórdios Testiculares.

Tabela 6. Dados morfométricos de metacercárias de *Austrodiplostomum* spp. encontradas em peixes do Baixo Rio Doce e em outras bacias, além de outras espécies do gênero conhecidas na região Neotropical (medidas em µm exceto quando especificado). Legenda: com.: comprimento; larg.: largura.

Espécies/ características	Presente estudo	<i>A. compactum</i>	<i>A. compactum</i>	<i>A. compactum</i>	<i>A. mordax</i>
Localidade	Brasil	Brasil	Brasil	Venezuela	Argentina
Autor	–	Kohn <i>et al.</i> (1995)	Ramos <i>et al.</i> (2020)	Ostrowski de Núñez (2017)	Ostrowski de Núñez (2017)
Hospedeiro	<i>C. kelberi</i> , <i>H. intermedius</i> <i>H. malabaricus</i> , <i>Hy. affinis</i> <i>Hy. auroguttatus</i> <i>Hy. luetkeni</i> , <i>Rineloricaria sp.</i> <i>P. maculatus</i> , <i>Py. piraya</i>	<i>Plagioscion</i> <i>squamosissimus</i>	<i>Plagioscion</i> <i>squamosissimus</i>	<i>Geophagus sp.</i>	<i>Odonthestes</i> <i>bonariensis</i>
Sítio de infecção	Olhos	Olhos	Olhos	Olhos	Cérebro
Comprimento (mm)	1,06–2,42	1,47–2,74	0,94–1,58	1,28–1,53	0,86–1,21
Largura	361–851	600–1180	311–624	512–720	304–432
Ventosa oral (com.)	40–76	41–97	29–59	64–77	48–67
Ventosa oral (larg.)	41–80	56–116	32–72	61–74	58–67
Faringe (com.)	43–86	64–94	38–90	48–64	38–64
Órgão tribocítico (com.)	192–418	260–390	202–538	288–384	192–224
Órgão tribocítico (larg.)	110–186	112–300	104–258	144–224	96–144

Austrodiplostomum sp.

(Figuras 26 e 27)

Resumo Taxonômico*Hospedeiros: Pterygoplichthys* sp. (Siluriformes: Loricariidae).*Local:* Baixo Guandu/RD.*Relação parasitados/coletados:* 1/1.*Estágio de desenvolvimento:* metacercárias.*Sítio de infecção:* olhos.

Descrição (n=3): metacercárias de corpo foliáceo, ligeiramente côncavo ventralmente, bi-segmentado, porção posterior terminando em segmento cônico, sem separação aparente (Fig. 26A, C; 27). Corpo medindo 1,33 mm (0,70–1,71) de comprimento e 502 (436–572) de largura. Ventosa oral subesférica, subterminal, medindo 66 (49–86) de comprimento por 76 (42–106) de largura, com duas pseudo-ventosas laterais, bem desenvolvidas (Fig. 26B, 27). Faringe alongada medindo 127 (53–218) de comprimento (Fig. 27). Ventosa ventral ausente. Cecos intestinais longos, dilatando-se na porção final de seu comprimento, terminando próximo à extremidade posterior, ao nível dos primórdios genitais (Fig. 27). Órgão tribocítico esférico e bem desenvolvido, situado no terço posterior do corpo, medindo 236 (123–349) de comprimento e 231 (136–327) de largura (Fig. 26A, C; 27). Primórdios genitais distantes entre si (Fig. 26A, C; 27).

Comentários taxonômicos: Os exemplares encontrados assemelham-se ao gênero *Austrodiplostomum* baseado nas descrições de Kohn e colaboradores (1995) e Ostrowski de Núñez (2017) quanto a presença de ventosa oral subterminal, duas pseudo-ventosas bem desenvolvidas, cecos simples estendidos até o nível dos primórdios genitais e presença de órgão tribocítico. No entanto, a bisegmentação não aparente nos exemplares, órgão tribocítico esférico e os primórdios genitais distantes entre si são diferenças marcantes em

relação a *A. compactum*. Dessa forma, os exemplares encontrados são provisoriamente identificados como *Austrodiplostomum* sp. Estudo genéticos futuros permitirão estabelecer a identidade desse morfotipo.

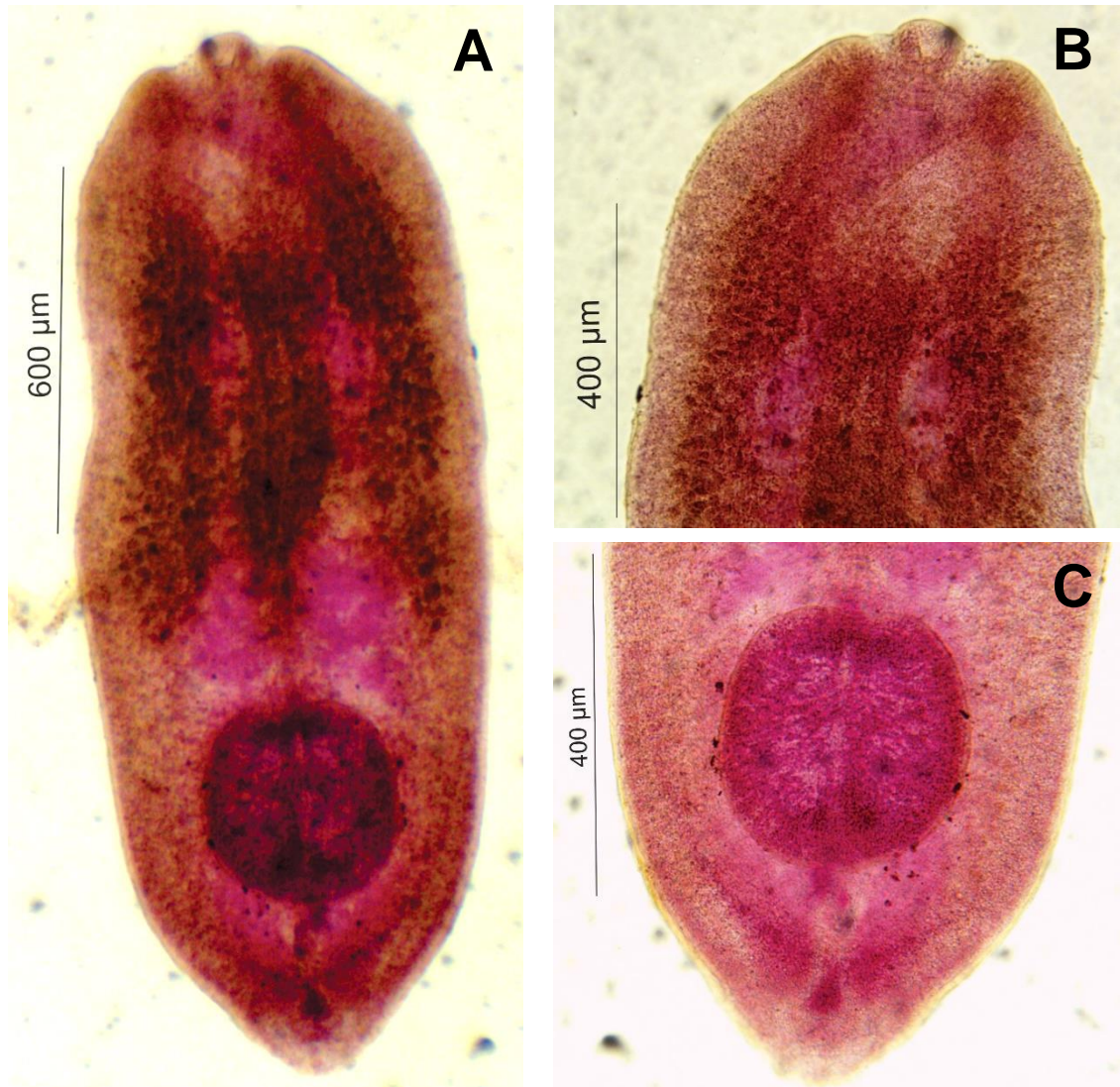


Figura 26. Fotomicrografias de metacercárias de *Austrodiplostomum* sp. encontrado nos olhos de *Pterygoplichthys* sp. em Baixo Guandu/RD. **A.** Corpo inteiro, vista ventral. **B.** Região anterior em maior escala, com destaque para a ventosa oral. **C.** Região posterior em maior escala com destaque para o órgão tribocítico.

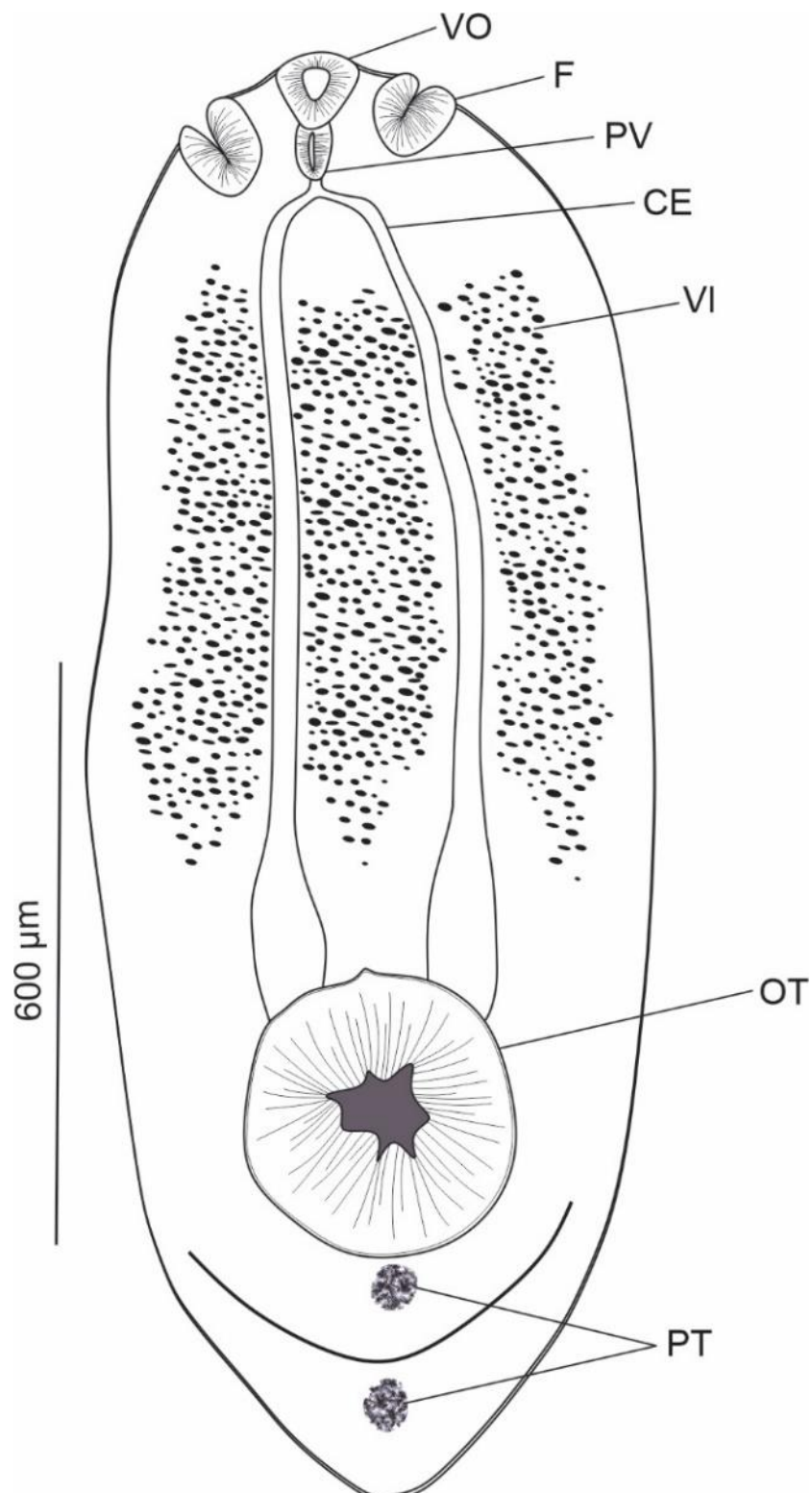


Figura 27. Representação de metacercárias de *Austrodiplostomum* sp., parasito de *Pterygoplichthys* sp. coletado em Baixo Guandu/RD. VO: Ventosa oral; F: Faringe; PV: Pseudoventosas; CE: Cecos intestinais; VI: Vitelárias; OT: Órgão tribocítico; PT: Primórdios Testiculares.

Superfamília Clinostomoidea Lühe, 1901

Família Clinostomidae Lühe, 1901

Subfamília Clinostominae Lühe, 1901

Gênero *Clinostomum* Leidy, 1856

Clinostomum sp.

(Figuras 28, 29, 30 e 31)

Resumo Taxonômico

Hospedeiro: *Cichla kelberi* Kullander & Ferreira, 2006 (Cichliformes: Cichlidae); *Pseudauchenipterus affinis* (Steindachner, 1877) (Siluriformes: Auchenipteridae).

Local: Linhares/RD; Linhares/AFL.

Relação parasitados/coletados: 2/4 em *C. kelberi* (Linhares/AFL); 1/2 em *P. affinis* (Linhares/RD).

Estágio de desenvolvimento: metacercárias.

Sítio de infecção: musculatura, cavidade celomática e cavidade opercular.

Descrição (n=8 em *C. kelberi*): Corpo robusto e alongado, medindo 3,8 mm (2,12–5,57) de comprimento e 860 (221–1.204) de largura, côncavo ventralmente (Fig. 30B; 31). Ventosas oral e ventral musculosas (Fig. 31). Ventosa oral medindo 259 (110–918) de comprimento e 167 (100–253) de largura. Ventosa ventral bem desenvolvida, medindo 615 (523–762) de comprimento e 570 (522–654) de largura (Fig. 30B; 31). Porção anterior do corpo com estruturas glandulares, possivelmente vitelárias, estendendo-se até na altura da ventosa ventral. Cecos intestinais longos, simples, com parede levemente sinuosa, sem ramos laterais ou divertículos (Fig. 31). Poro genital localizado acima do testículo anterior. Testículos irregulares localizados na região mediana do corpo (Fig. 28A, 31). Testículo anterior medindo 296 (115–440) de comprimento e 199 (44–393) de largura, testículo posterior medindo 354 (233–441) de comprimento e 187 (107–284) de largura. Ovário intertesticular, submediano, medindo 78 (39–115) de comprimento e 73 (51–108) de largura

(Fig. 28A, 31). Útero intercecal, medindo 418 (159–680) de comprimento e 120 (34–206) de largura, localizado entre a glândula de Mehlis e a ventosa ventral (Fig. 28B, 31).

Dados genéticos: Fragmentos de 1198 pb da região 28S foram obtidos para as amostras das metacercárias encontradas em *C. kelberi* e *P. affinis*, as quais não apresentaram divergência nucleotídica. As sequências obtidas foram idênticas a *Clinostomum* sp. encontrada em *Rhamdia guatemalensis* (Günther, 1864) no México (MH159730) e em *Gobiomorus maculatus* (Günther, 1859) na Costa Rica (MH159731). Outras três linhagens de *Clinostomum* spp. apresentaram divergências genéticas inferiores a 1%. Visando avançar na identificação específica, fragmentos de 608 pb do gene Cox-1 foram obtidos para as duas amostras, as quais apresentaram 100% de similaridade entre si. Além disso, a espécie apresentou baixo nível de divergência genética (0,66%) em relação a metacercárias de *Clinostomum* sp. encontradas em *Crenicichla vittata* Heckel, 1840 na Argentina (MONTES *et al.*, 2021), indicando a coespecificidade entre estes isolados. Divergências inferiores a 3% foram também encontrados em relação a vários isolados de metacercárias *Clinostomum* sp. encontrados em diferentes espécies de peixes no México por diferentes autores (LOCKE *et al.*, 2015; PÉREZ-PONCE DE LEÓN *et al.*, 2016; SERENO-URIBE *et al.*, 2018).

Comentários taxonômicos: As metacercárias encontradas neste trabalho foram classificadas como *Clinostomum* sp. por apresentarem o saco do cirro e o poro genital localizado anterior ou lateralmente ao testículo anterior; vitelárias estendidas até o nível da ventosa ventral; útero geralmente estendido até o nível da ventosa ventral (KANEV, RADEV & FRIED, 2002). Além disso, os espécimes encontrados em *P. affinis* são muito menores que em *C. kelberi* (Figuras 29; 30A), provavelmente coespecíficos e, apesar da diferença de tamanho e encontro do parasito em diferentes espécies de hospedeiro, as análises genéticas demonstram que os exemplares encontrados nos dois hospedeiros pertencem a mesma espécie.

Os espécimes encontrados se assemelham a *C. marginatum* com base nos órgãos genitais localizados na porção mediana do corpo e a presença do

disco oral bem desenvolvido (THATCHER, 1981). No entanto, não há dados genéticos dessa espécie oriundos da localidade tipo (América do Sul) em banco de dados para permitir a identificação por abordagem molecular. Apesar de haver registro deste parasito em lagos do Médio Rio Doce (MOREIRA, 2000), o atual trabalho amplia a distribuição geográfica do gênero, para a calha do rio, no Baixo Rio Doce. Embora os dados moleculares não tenham permitido chegar a uma identificação em nível de espécie, os dados obtidos revelam se tratar de uma espécie amplamente distribuída pelo continente Americano, tendo em vista a baixa divergência no Cox-1 encontrada em relação a isolados da Argentina e México.

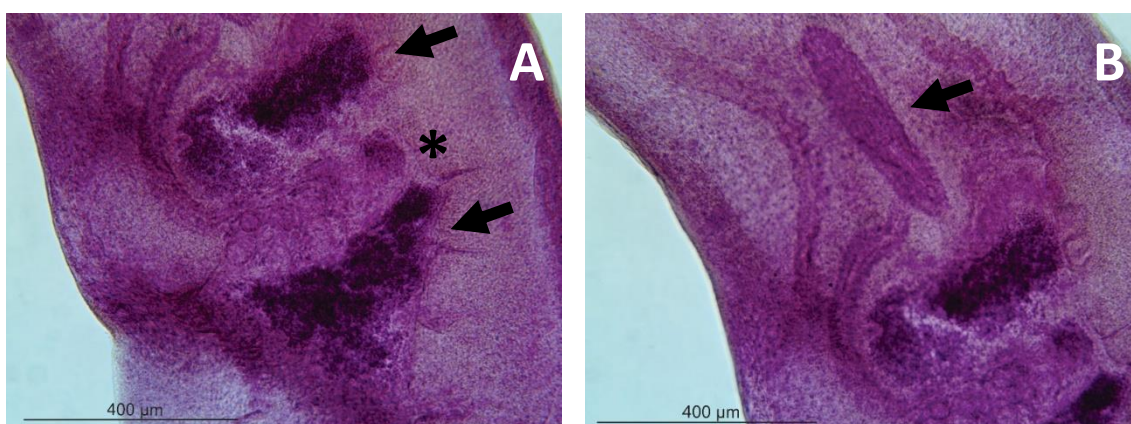


Figura 28. Fotomicrografias dos primórdios genitais de metacercárias de *Clinostomum* sp., parasito de *Cichla kelberi* coletado em Linhares/AFL. **A.** Testículos (setas) e ovário (asterisco). **B.** Útero em evidência (seta).

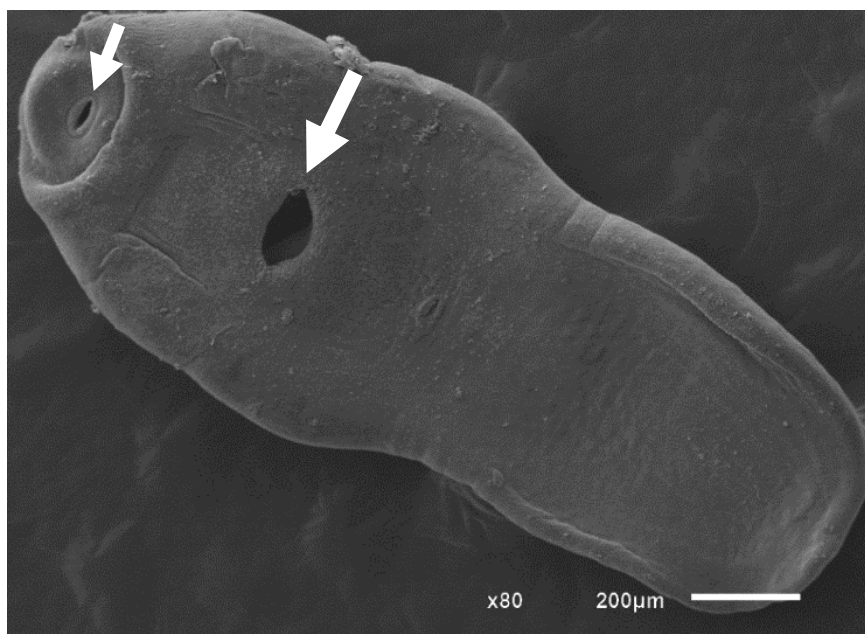


Figura 29. Microscopia eletrônica de varredura, vista ventral de metacercária de *Clinostomum* sp. encontrado em *Pseudacanthopterus affinis*, podendo observar a ventosa oral (seta menor) e ventral (seta maior).

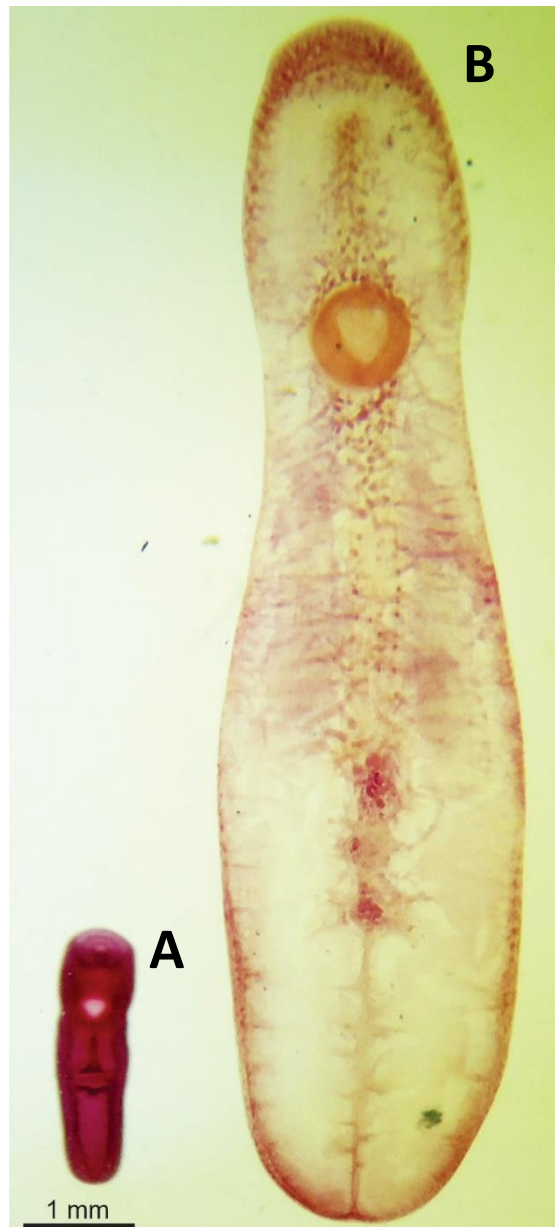


Figura 30. Fotomicrografia das metacercárias de *Clinostomum* sp. encontradas em *Pseudauchenipterus affinis* (A) e *Cichla kelberi* (B), podendo ser observadas as diferenças estruturais.

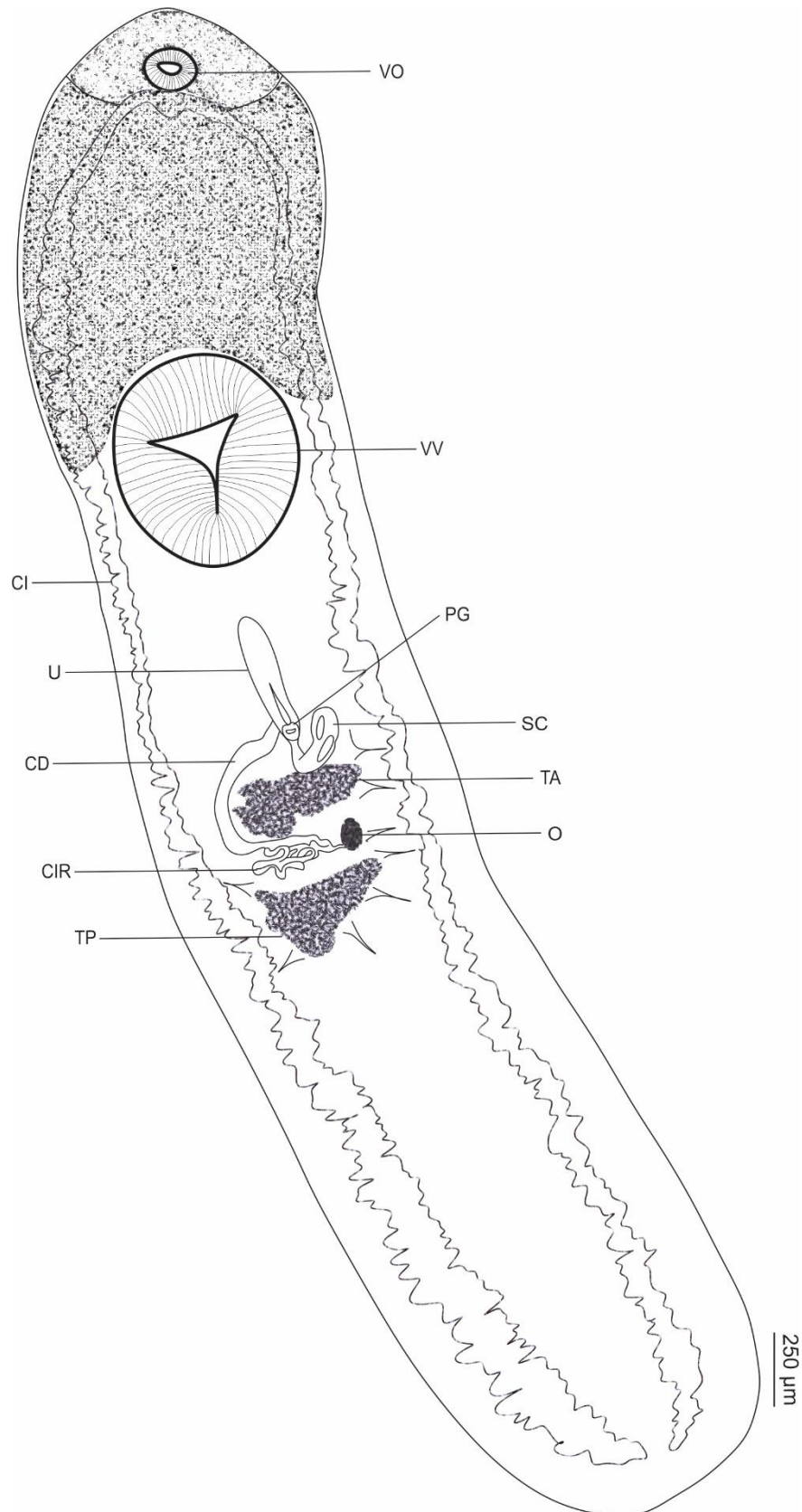


Figura 31. Representação de *Clinostomum* sp., parasito de *Cichla kelberi* coletado em Linhares/AFL. VO: Ventosa Oral; VV: Ventosa Ventral; CI: Cecos Intestinais; U: Útero; PG: Poro Genital; SC: Saco do cirro; CD: Canal Deferente; TA: Testículo Anterior; O: Ovário; CIR: Cirro; TP: Testículo Posterior.

Clinostomum dimorphum (Diesing, 1850)

(= *Ithyoclinostomum dimorphum*)

(Figuras 32, 33 e 34; Tabela 7)

Resumo Taxonômico

Hospedeiro: *Hoplias intermedius* (Günther, 1864); *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Characiformes: Erythrinidae).

Local: Colatina/RD; Baixo Guandu/RD.

Relação parasitados/coletados: 1/1 em *H. malabaricus*; 1/11 em *H. intermedius*.

Estágio de desenvolvimento: metacercárias.

Sítio de infecção: encistado nas brânquias, coração, cavidade pericárdica e fígado.

Descrição (n=4): Corpo alongado, de porte médio a grande, delgado, medindo 38,33 (32–45) mm de comprimento e 3,90 (3,74–4,15) mm de largura (Fig. 32, 34A). Tegumento sem estriações. Ventosa oral pequena, subterminal, medindo 410 (360–460) de comprimento e 545 (500–590) de largura (Fig. 32, 33A, 34A). Ventosa ventral com abertura subtriangular, medindo 1,61 (1,46–1,71) mm e 1,43 (1,37–1,46) mm de largura (Fig. 32, 33B; 34A). Cecos simples, longos, estreitos na região cervical, terminando na extremidade posterior do corpo (Fig. 34A). Poro genital lateral, situado na zona intercecal próximo ao testículo anterior. Bolsa do cirro com vesícula seminal enovelada, pré-testicular (Fig. 34B). Testículos grandes, lobados, dendrítico, localizados no terço posterior do corpo (Fig. 33C; 34B). Testículo anterior medindo 200 (150–270) de comprimento e 1.033 (970–1130) de largura. Testículo posterior medindo 300 (180–450) de comprimento e 847 (520–1113) de largura. Ovário pequeno, lobulado, submediano, intertesticular, menor que a glândula de Mehlis, medindo 250 (210–290) de comprimento e 136 (110–160) de largura (Fig. 34B). Útero situado na área intracecal, anterior ao testículo anterior (Fig. 33C; 34B).

Dados genéticos: Foram obtidas duas sequências da região ITS (970 pb para exemplar obtido em *H. malabaricus* e 979 para o encontrado em *H. intermedius*);

uma sequência parcial do gene 28S (1.253 pb de exemplar de *H. malabaricus*); e duas sequências parciais de Cox-1 (666 pb para vermes das *Hoplías* spp.). As análises filogenéticas mostraram inequivocadamente que *Ithyoclinostomum dimorphum* está alinhado com o clado de *Clinostomum* do Novo Mundo (Figuras 35, 36 e 37). A outra espécie classificada dentro de *Ithyoclinostomum*, *Ithyoclinostomum yamagutii* Rosser, Woodyard, Mychajlonka, King, Griffin, Gunn & López-Porras, 2020, aparece como uma linhagem independente, observado também pela análise do Cox-1, sendo considerado o táxon mais antigo da linhagem (Figura 37). Entretanto, nas demais filogenias, aparece como um clado irmão (Figuras 35 e 36). Em adição, a monofilia de Clinostominae e Ithyoclinostominae não foi apoiado por nenhuma das análises realizadas no atual estudo. Na verdade, as análises demonstraram o clado *I. dimorphum* dentro de *Clinostomum*. Além disso, os dados do Cox-1 confirmaram a coespecificidade entre metacercárias de diferentes espécies de peixes (0,9% divergência molecular, ou seja, seis pares de bases de divergência na posição do terceiro códon mas com aminoácidos idênticos de acordo com o código translacional do trematódeo).

Comentários gerais: Os exemplares encontrados pertencem à família Clinostomidae por apresentar principalmente, ventosa oral podendo ou não estar circundada por um colarinho; ventosa ventral robusta, localizada na metade anterior do corpo; testículos ligeiramente lobulados e irregulares; bolsa do cirro intertesticular ou pré-testicular; ovário intertesticular, mediano ou submediano, oval, esférico ou irregular; útero tubular, principalmente anterior à genitália terminal, comumente intercecal (JONES, GIBSON & BRAY, 2005).

Os clinostomídeos foram encontrados em duas espécies diferentes, *H. malabaricus* e *H. intermedius*, em duas regiões do rio Roce (Linhares e Colatina) no ES. Foram classificados inicialmente como *Ithyoclinostomum dimorphum* Witenberg, 1926 com base no extenso tamanho do corpo, com mais de 10 mm de comprimento, característica considerada única para esta espécie por muito tempo e foi o principal traço diferencial para a proposição de *Ithyoclinostomum* e Ithyoclinostominae (YAMAGUTI, 1958; KANEV, RADEV & FRIED, 2002).

Não é a primeira vez que a espécie é publicada parasitando *H. malabaricus* no Brasil. Briosio-Aguiar e colaboradores (2019) publicaram uma recente lista de hospedeiros do gênero na América Central e do Sul. As metacercárias encontradas no Brasil são registradas principalmente em *H. malabaricus* e *Hoplerythrinus unitaeniatus*, coletados em diferentes localidades, tais como o rio São Francisco (COSTA *et al.*, 2015) e na Bacia Amazônica (BENIGNO *et al.*, 2014), além de no Médio Rio Doce (MOREIRA, 2000; BELEI *et al.*, 2013). As comparações morfométricas dos exemplares coletados com a literatura estão ilustrados na Tabela 7.

No entanto, apesar da diferença no comprimento do corpo entre as espécies do gênero, as análises filogenéticas aqui apresentadas (Figuras 35, 36 e 37) revelaram que não há suporte para que essas espécies sejam consideradas como pertencentes a gêneros distintos de clinostomídeos. Os dados morfométricos dos exemplares encontrados, em comparação com outros exemplares publicados como *I. dimorphum*, são elucidados na Tabela 7. Os resultados filogenéticos obtidos neste estudo estão detalhados em Simões e colaboradores (2022).



Figura 32. Fotomicrografia de metacercária (hologenóforo) de *Clinostomum dimorphum*, parasito de *Hoplias malabaricus* coletado em Colatina/RD.

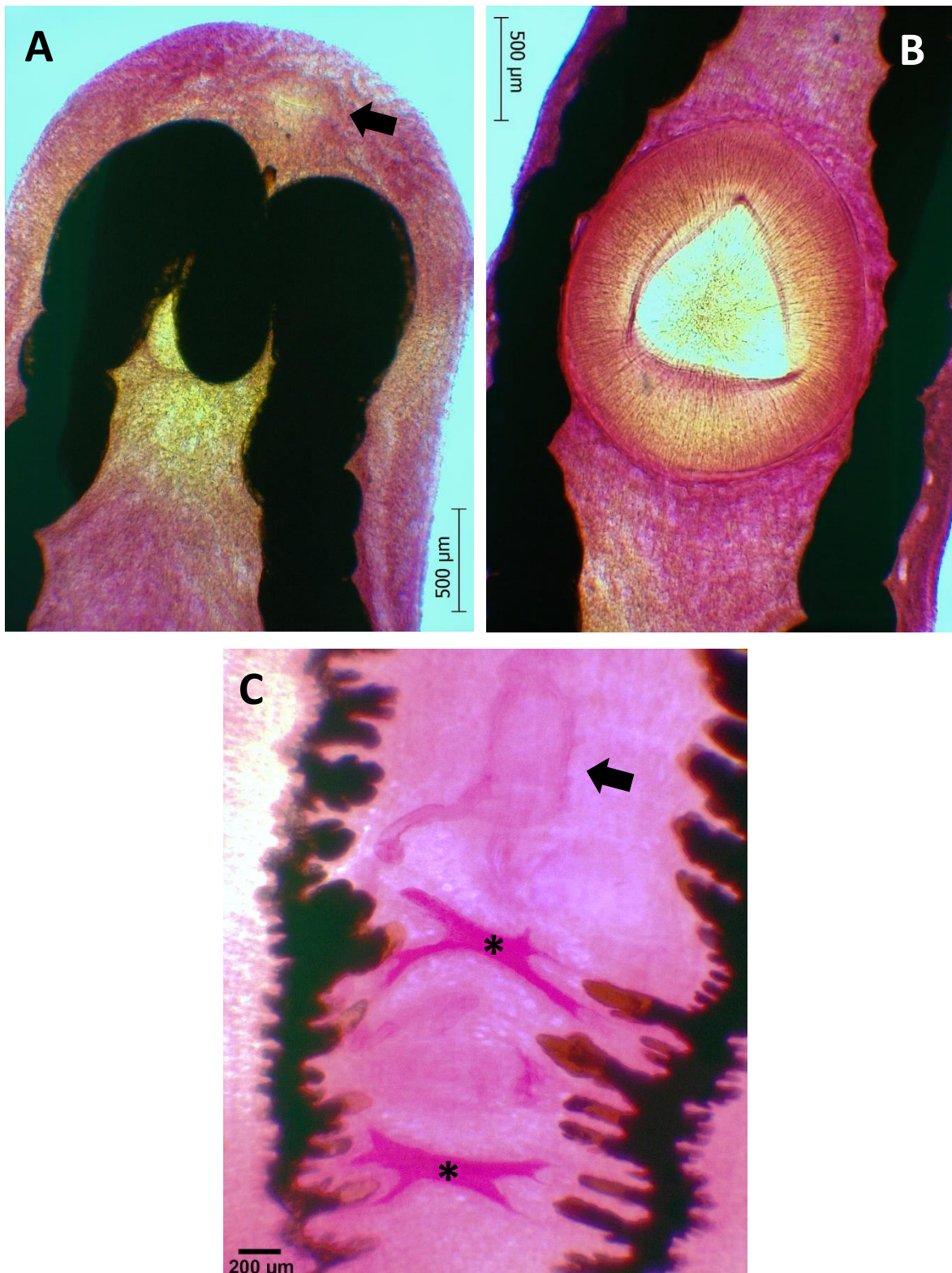


Figura 33. Fotomicrografias das estruturas de *Clinostomum dimorphum*, parasito de *Hoplias malabaricus*. **A.** Detalhe da região anterior, apresentando ventosa oral (seta). **B.** Ventosa ventral. **C.** Órgãos genitais, com destaque para o útero (seta) e os testículos (asteriscos).

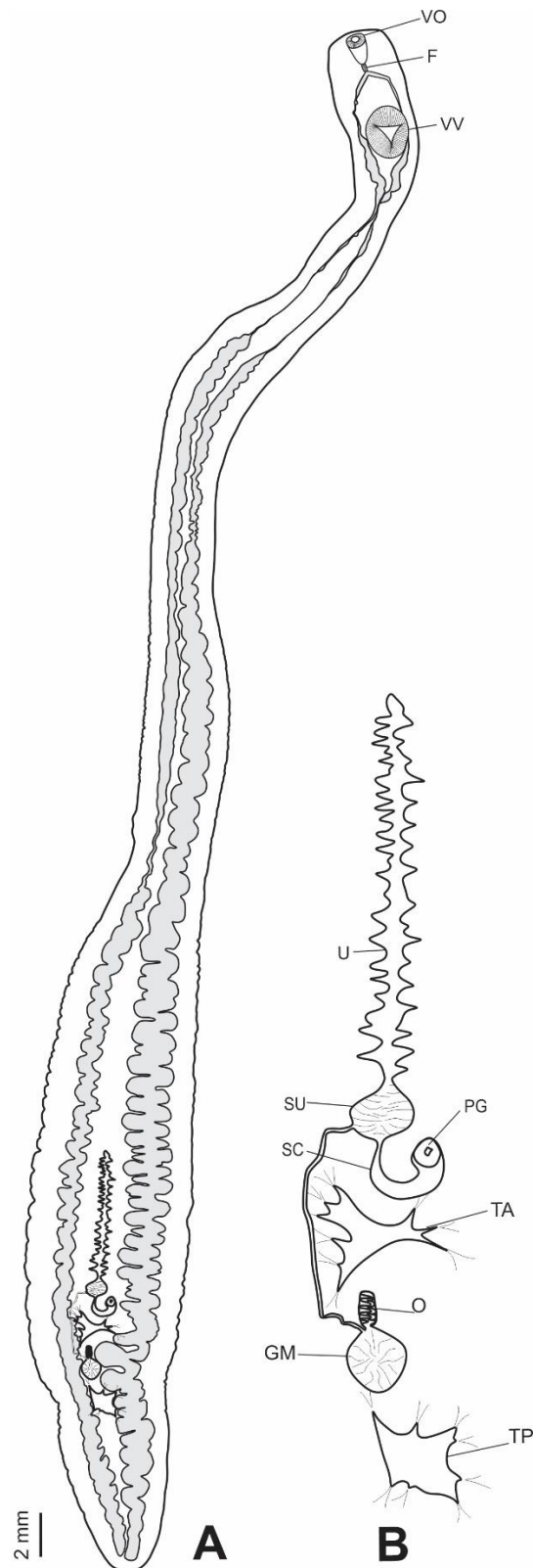


Figura 34. Representação de *Clinostomum dimorphum*, parasito de *Hoplias malabaricus* coletado em Colatina/RD, vista ventral. **A.** Corpo total do parasito. **B.** Detalhe dos órgãos genitais. VO: Ventosa Oral; F: Faringe; VV: Ventosa Ventral; U: Útero; SU: Saco Uterino; SC: Saco do cirro; PG: Poro Genital; TA: Testículo Anterior; O: Ovário; GM: Glândula de Mehlis; TP: Testículo Posterior.

Tabela 7. Dados morfométricos de espécimes vouchers depositados em coleção de *Clinostomum dimorphum* (= *Ithyoclinostomum dimorphum*) encontrados em *Hoplias malabaricus* e *Hoplias intermedius* no Rio Doce, Espírito Santo, Brasil, em comparação com alguns exemplares encontrados no Médio Rio Doce e no rio São Francisco (medidas em µm exceto quando especificado). Legenda: com.: comprimento; larg.: largura.

Hospedeiro/ características	<i>Hoplias intermedius</i> <i>Hoplias malabaricus</i>	<i>Hoplias malabaricus</i> <i>Hoplerythrinus</i> <i>unitaeniatus</i>	<i>Hoplias malabaricus</i> <i>Hoplerythrinus</i> <i>unitaeniatus</i>	<i>Hoplias malabaricus</i> <i>Hoplias intermedius</i>
Autoria	Presente estudo	Moreira, 2000	Benigno <i>et al.</i> , 2014	Costa <i>et al.</i> , 2015
Localidade	Baixo Guandu, Colatina Baixo Rio Doce	Médio Rio Doce, Minas Gerais	Ilha de Marajó, Pará	Rio São Francisco, Minas Gerais
Sítio de infecção	Fígado Coração, Cavidade branquial	Musculatura, opérculo, base das nadadeiras, arcos branquiais, área cardíaca, cloaca, brânquias	Mesentério Musculatura	Cavidade celômica, estômago
Comprimento (mm)	32–45	43–95	23,55	15–33
Largura (mm)	3,74–4,15	3,38–4,62	1,9	1,50–4,00
Ventosa oral (com.)	360–460	565–653	360	300–320
Ventosa oral (larg.)	500–590	600–688	400	520–570
Ventosa ventral (mm) (com.)	1,46–1,71	3,75–4,81	1,15	0,90–1,20
Ventosa ventral (mm) (larg.)	1,37–1,46	1,44–2,06	1,25	0,92–1,42
Testículo anterior (com.)	150–270	480–1310	470	–
Testículo anterior (larg.)	970–1130	750–1190	340	–
Testículo posterior (com.)	180–450	690–1310	450	–
Testículo posterior (larg.)	520–1113	610–1000	230	–
Ovário (com.)	210–290	540–1310	180	–
Ovário (larg.)	110–160	620–1560	120	–

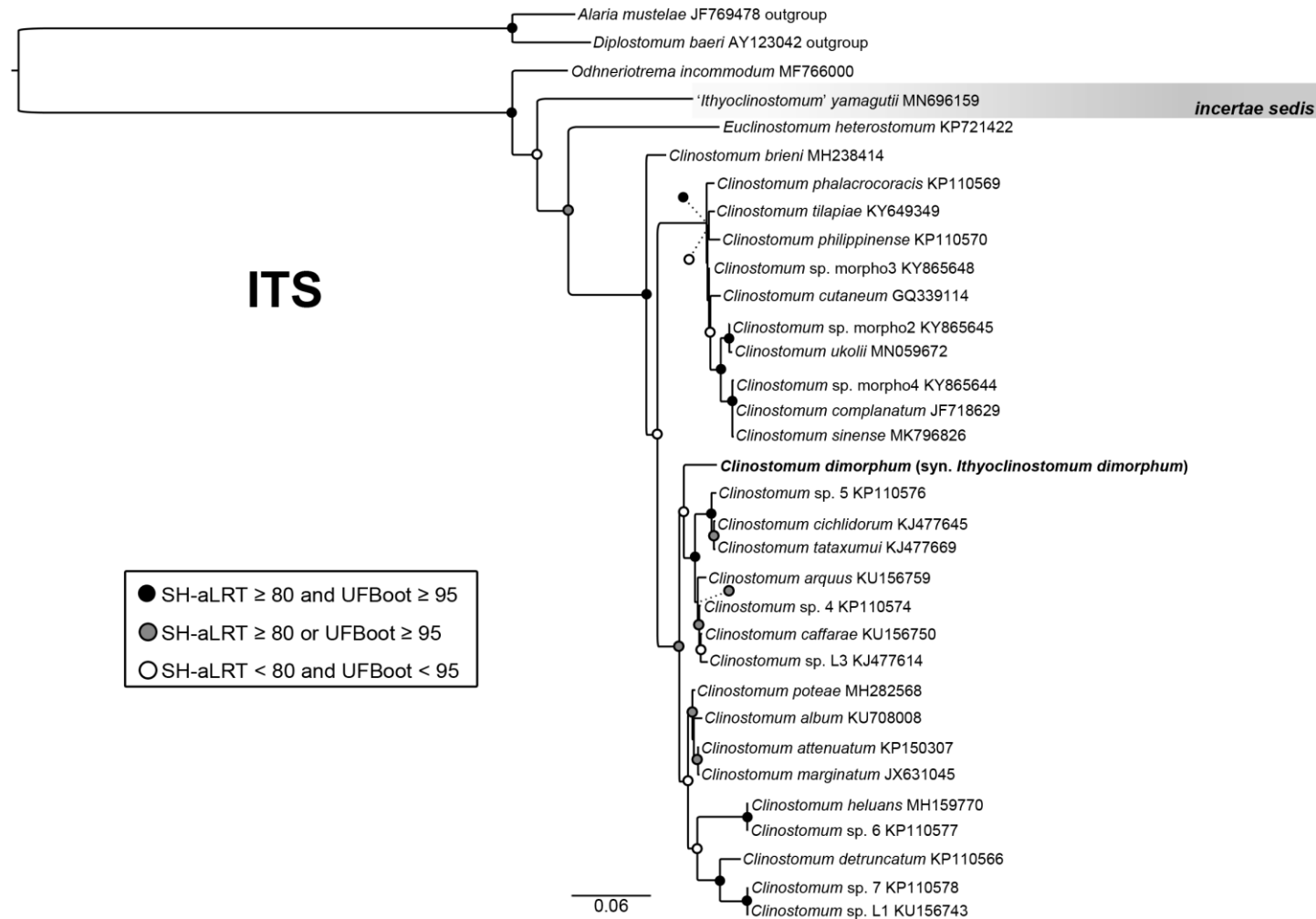


Figura 35. Relações filogenéticas baseadas em conjunto de dados ITS1-5.8S-ITS2 de *Clinostomum dimorphum* (em negrito) e outros membros da família Clinostomidae inferidas por Máxima Verossimilhança (MV) e Inferência Bayesiana (IB). O isolado de '*Ithyoclinostomum*' *yamagutii* (*incertae sedis*) está destacado em cinza. A barra de escala indica o número de substituições por nucleotídeo.

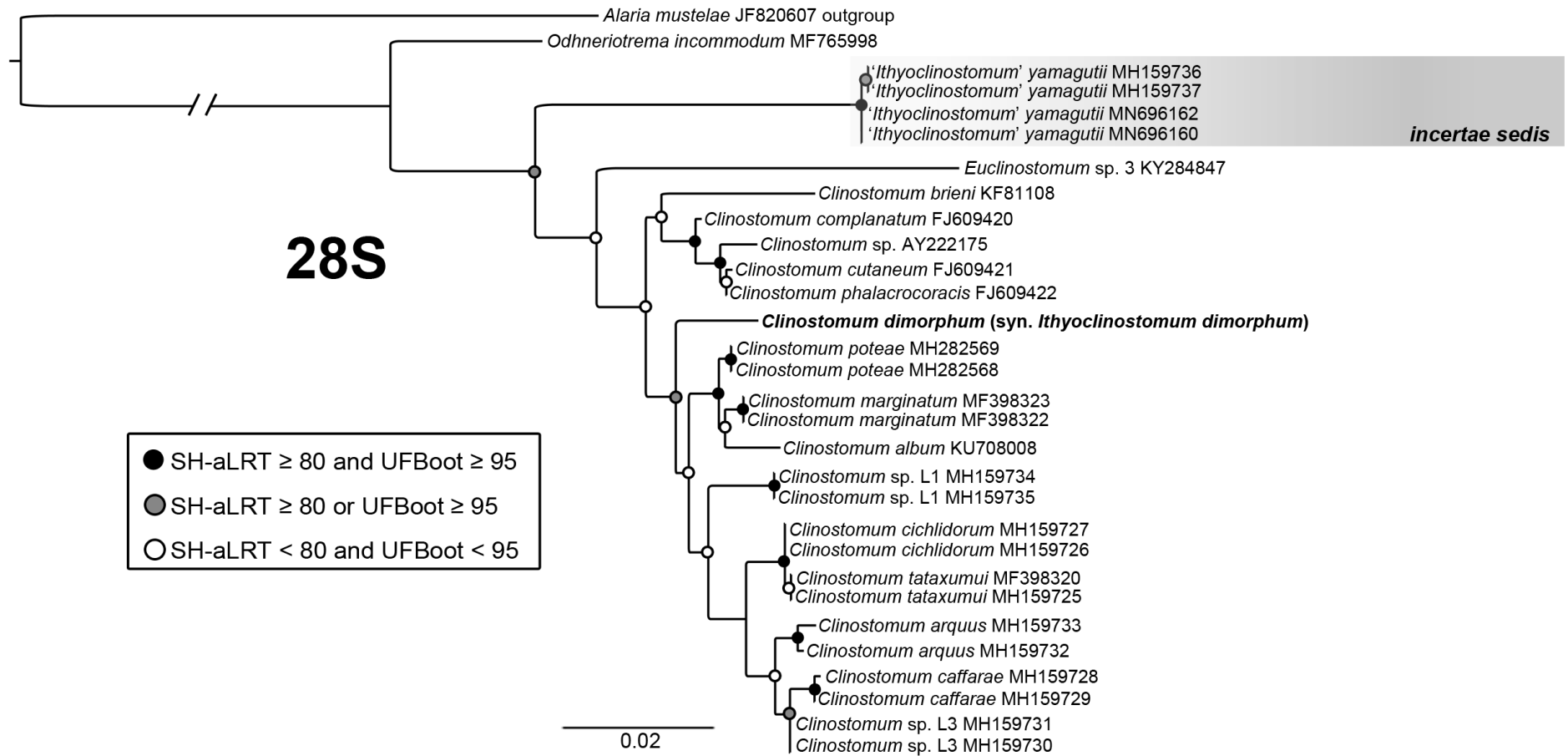


Figura 36. Relações filogenéticas baseadas em 28S de *Clinostomum dimorphum* (em negrito) e outros membros da família Clinostomidae. O clado formado por isolados de '*Ithyoclinostomum*' *yamagutii* (*incertae sedis*) está destacado em cinza. A barra de escala indica o número de substituições por nucleotídeo.

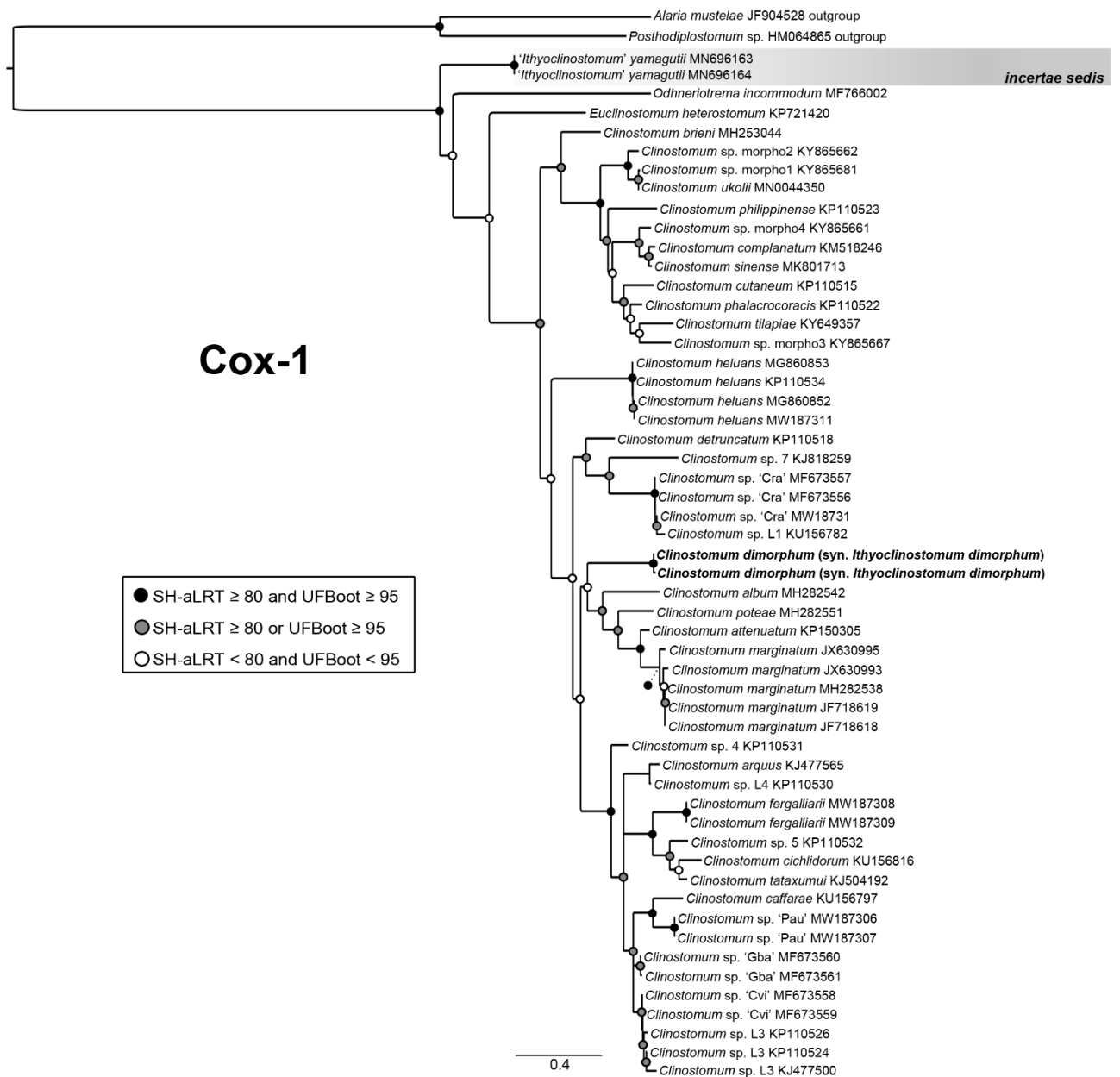


Figura 37. Relações filogenéticas baseadas no conjunto de dados Cox-1 de *Clinostomum dimorphum* (em negrito) e outros membros da família Clinostomidae. O clado formado por isolados de '*Ithyoclinostomum*' *yamagutii* (*incertae sedis*) está destacado em cinza. A barra de escala indica o número de substituições por nucleotídeo.

FILO NEMATODA Cobb, 1932
CLASSE CHROMADOREA Inglis, 1983

Ordem Spirurida Chitwood, 1933

Superfamília Camallanoidea Railliet & Henry, 1915

Família Camallanidae Railliet & Henry, 1952

Subfamília Procamallaninae Yeh, 1960

Gênero *Procamallanus* Baylis, 1923

Procamallanus (Procamallanus) peraccuratus Pinto, Fábio, Noronha & Rolas,
1976

(Figuras 38, 39, 40 e 41; Tabela 8)

Resumo taxonômico

Hospedeiro: *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824) (Perciformes: Cichlidae).

Local: Aimorés/AFL.

Relação parasitados/coletados: 3/3.

Estágio de desenvolvimento: adultos.

Sítio de infecção: Intestino.

Descrição (n=6): corpo esbranquiçado, cutícula com finas estriações transversais. Abertura oral circular, circundada por quatro papilas duplas (Fig. 40A). Cápsula bucal esclerotizada, sem cristas espirais, alongada longitudinalmente, de coloração marrom alaranjada, com anel basal bem desenvolvido (Fig. 40A). Um par de pequenos anfídeos laterais presentes. Ausência de dentes oroesofágicos. Presença de esôfago muscular mais curto que o glandular (Fig. 41A). Poro excretor localizado próximo à porção final do esôfago muscular (Fig. 41A).

Machos (n=3): Corpo medindo 13,74 mm (13,19–14,30) de comprimento e 170 (136–199) de largura. Cápsula bucal, incluindo anel basal, com 155 (89–187) de comprimento e 77 (43–107) de largura (Fig. 40A). Anel nervoso e poro excretor a 378 (221–583) e 509 (431–664) da extremidade anterior, respectivamente. Esôfago muscular medindo 481 (438–520) de comprimento e 64 (60–66) de largura; esôfago glandular medindo 661 (661–691) de comprimento e 93 (60–126) de largura. O comprimento da cápsula bucal e do esôfago total equivale a 11,86% do comprimento total do corpo. Extremidade posterior recurvada ventralmente, provida de asa caudal desenvolvida, medindo 34 (29–39) de largura, com as laterais unidas na porção anterior da cauda (Fig. 39A; 40B). Presença de nove pares de papilas caudais, sendo três pares pré-cloacais, dois pares adcloacais, quatro pares pós-cloacais, sendo três pares pedunculadas e um par sésil (Fig. 38; 39B, 41C). Espículos desiguais, apresentando, na porção distal, expansão mais esclerotizada e recurvada, em forma de gancho retorcido (Fig. 38; 40B; 41C). Espículo maior medindo 235 (229–242) de comprimento e espículo menor medindo 178 (149–207) de comprimento. Gubernáculo ausente. Comprimento da cauda 221 (209–232) (Fig. 39A, 40B e 41C).

Fêmeas (n=3): Corpo alongado medindo 17,37 (15,94–19,80) mm de comprimento e 305 (295–313) de largura. Capsula bucal, incluindo anel basal, com 126 (95–188) de comprimento e 67 (57–95) de largura (Fig. 41A, B). Derídeos, anel nervoso e poro excretor a 174 (153–192), 224 (216–234) e 324 (284–350) da extremidade anterior, respectivamente (Fig. 41A). Esôfago muscular medindo 536 (486–619) de comprimento e 60 (56–63) de largura; esôfago glandular medindo 714 (631–821) de comprimento e 102 (77–129) de largura (Fig. 41A). O comprimento da cápsula bucal e do esôfago total equivale a 16,76% do comprimento total do corpo. Vulva não proeminente, pós-equatorial, situada a 8,22 (4,92–11,31) mm da extremidade anterior, a 47,32% do comprimento do corpo total. Cauda cônica medindo 469 (374–545) com um par de fasmídeos laterais próximos à extremidade (Fig. 40C). Ovovíparas (Fig. 40D), didelfas e anfidelfas.

Comentários taxonômicos: A morfologia dos exemplares aqui apresentados corresponde à *P. (P.) peraccuratus* devido às características da cápsula bucal, principalmente a ausência de dentes, o que difere das duas espécies brasileiras *Procamallaus (Procamallanus) annipetterae* Kohn & Fernandes, 1988 e *Procamallanus (Procamallanus) spiculastratus* Pinheiro, Melo, Monks, Santos & Giese, 2018, além da presença da asa caudal e da estrutura do espículo maior. A comparação morfométrica entre os exemplares encontrados com algumas espécies brasileiras podem ser observadas na Tabela 8.

Segundo Pinto e colaboradores (1976), na descrição original da espécie, a identificação do espículo maior foi um desafio pois acreditava-se em um suposto “complexo espículo-gubernáculo”, assim como ocorreu com os espécimes analisados neste estudo. No entanto, os autores chegaram à conclusão de que as peças copuladoras desta espécie, principalmente o espículo maior, pode estar pouco quitinizada ou em más condições de análises, o que pode levar erroneamente a identificar um suposto gubernáculo. Atualmente, é aceito que o gubernáculo é ausente nesta espécie e a estrutura terminal do espículo maior é dilatada com formato irregular (Fig. 38, 41C).



Figura 38. Fotomicrografia da cauda de um macho de *Procamallanus* (*Procamallanus*) *peraccuratus*, parasito de *Geophagus brasiliensis*, coletado em Aimorés/AFL, evidenciando o espículo maior com a estrutura terminal irregular (seta escura) e papilas pedunculadas (setas claras).

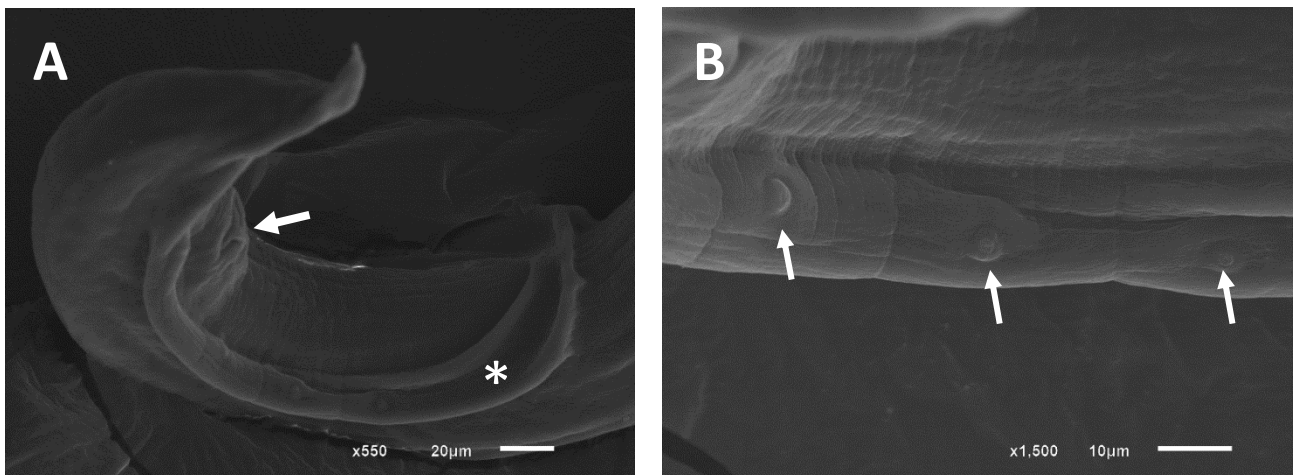


Figura 39. Microscopia eletrônica de varredura de um macho de *Procamallanus* (*Procamallanus*) *peraccuratus*, parasito de *Geophagus brasiliensis*, coletado em Aimorés/AFL. **A.** Asas caudais (asterisco) e para abertura da cloaca (seta), vista ventral. **B.** Destaque para as papilas caudais, vista ventral (setas).

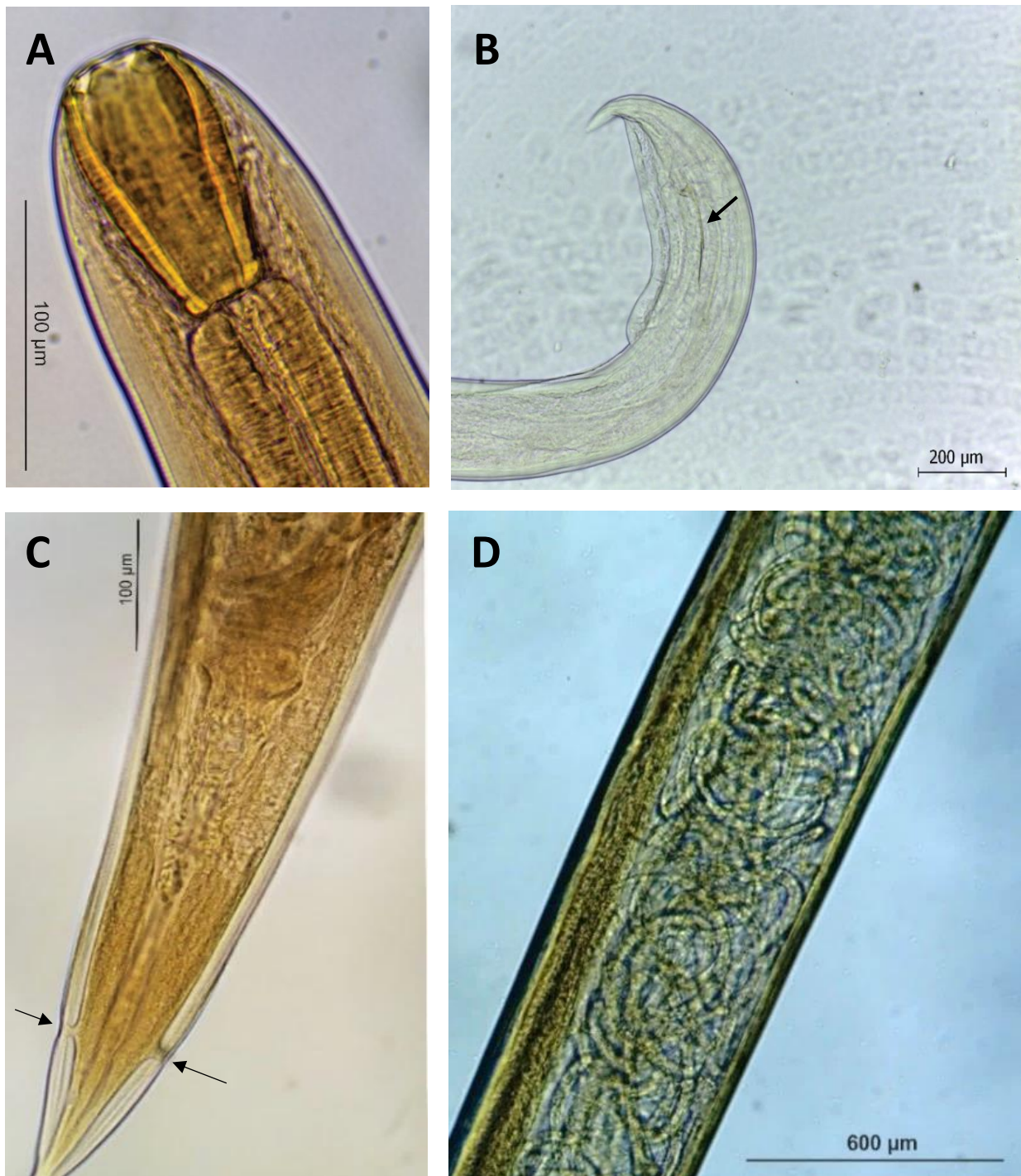


Figura 40. Fotomicrografias de adultos de *Procammallanus* (*Procammallanus*) *peraccuratus*, parasito de *Geophagus brasiliensis*, coletado em Aimorés/AFL. **A.** Região anterior de um macho, com destaque para a cápsula bucal. **B.** Região posterior de um macho, com destaque para os espículos (seta). **C.** Extremidade posterior de uma fêmea, evidenciando fasmídeos (setas). **D.** Região uterina com larvas.

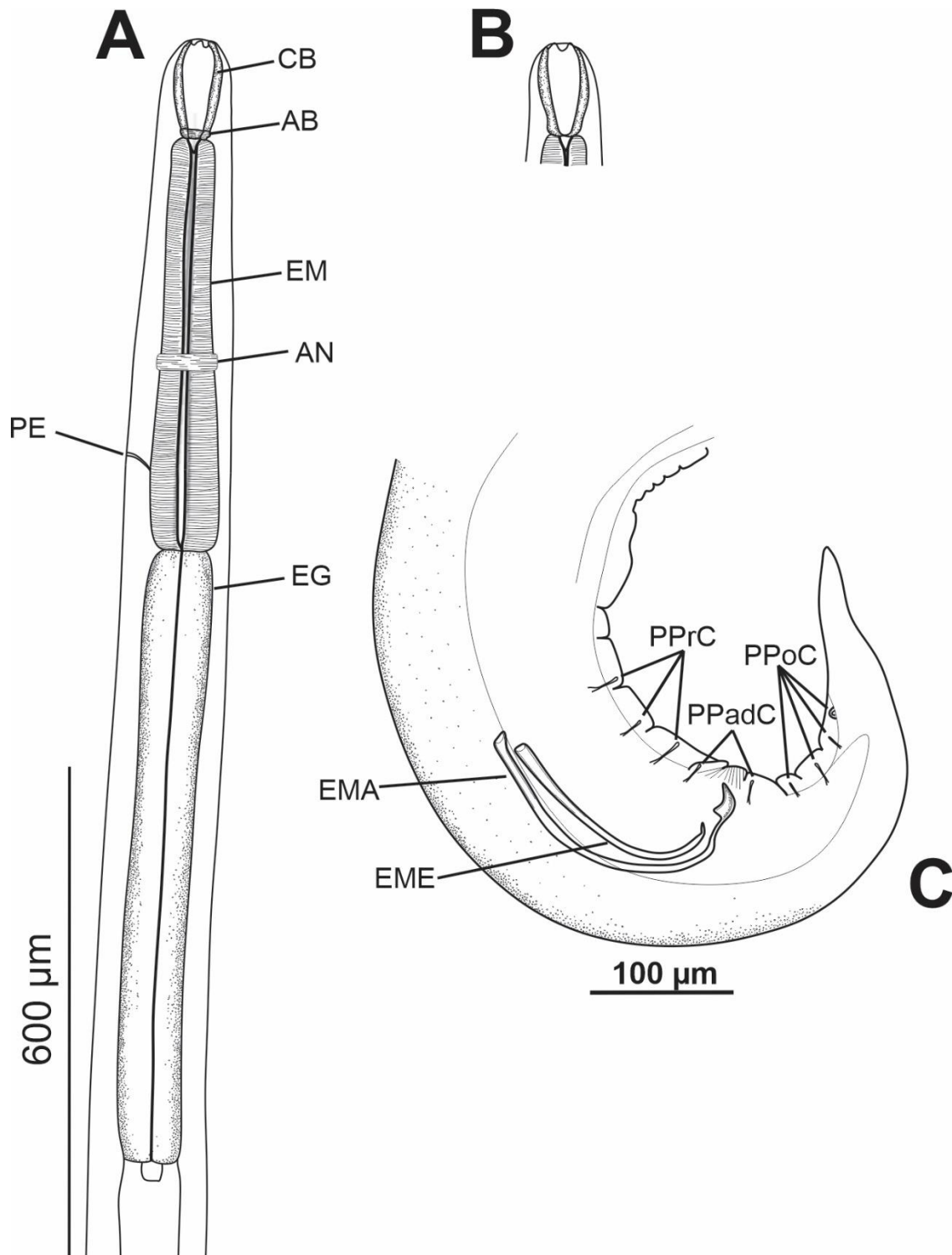


Figura 41. Representação de *Procammallanus (Procammallanus) peraccuratus*, parasito de *Geophagus brasiliensis*, coletado em Aimorés/AFL. **A.** Vista ventral de uma fêmea. **B.** Vista dorsal, sem a visualização do anel basal. **C.** Região posterior do macho. CB: Cápsula bucal; AB: Anel basal; EM: Esôfago muscular; AN: Anel nervoso; PE: Poro excretor; EG: Esôfago glandular; PPrC: Papilas Pré-cloacais; PPadC: Papilas adcloacais; PPoC: Papilas Pós-cloacais; EMA: Espículo Maior; EME: Espículo Menor.

Tabela 8. Dados morfométricos das espécies conhecidas de *Procamallanus* (*Procamallanus*) da América do Sul com os exemplares encontrados, baseado no estudo de Pinheiro *et al.* (2018) (medidas em µm exceto quando especificado). Legenda: com.: comprimento; larg.: largura; DL: papila dorsolateral.

Caracteres	Presente estudo		<i>P. (P.) peraccuratus</i> Pinto <i>et al.</i> (1976)		<i>P. (P.) annipetterae</i> Kohn <i>et al.</i> (1988)		<i>P. (P.) spiculastratus</i> Pinheiro <i>et al.</i> (2018)	
	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea
Hospedeiro	<i>Geophagus brasiliensis</i>		<i>Geophagus brasiliensis</i> <i>Australoleros facetus</i>		<i>Corydoras paleatus</i>		<i>Astronotus ocellatus</i>	
Localidade	Minas Gerais, Brasil		Espírito Santo, Brasil		Paraná, Brasil		Pará, Brasil	
Comprimento (mm)	13,19–14,30	15,94–19,80	9,42–9,75	12,78–22,34	9,69	21,8	8–11	17–20
Largura	136–200	295–314	150–170	210–400	500	720	105–147	160–173
Cápsula bucal (com.)	89–187	95–188	72–87	87–113	131	180	57–74	78,83
Cápsula bucal (lar.)	43–107	57–95	49	52–66	123	187	32–39	47–52
Dentes	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	Presente	Presente	Presente
Deirídeos	–	153–192	–	–	–	–	91–119	147–167
Anel nervoso	221–583	216–234	220	230–240	298	326	156–188	220–223
Poros excretor	431–664	284–350	–	260–330	–	–	248–292	330–397
Esôfago muscular (com.)	438–520	486–619	410–440	560–660	625	644	316–395	413–493
Esôfago glandular (com.)	661–691	631–821	450–520	580–660	868	887	421–558	600–693
Vulva (mm)	–	4,92–11,31	–	6,7–10,90	–	–	–	8–11
Papilas pré-cloacais (par)	3	–	3	–	2	–	3	–
Papilas adcloacais (par)	2	–	2	–	2	–	2	–
Papilas pós-cloacais (par)	4	–	4	–	1	–	3 + 2DL	–
Espículo maior	229–242	–	270–290	–	210	–	312–335	–
Espículo menor	149–207	–	180–200	–	160	–	229–284	–
Asa caudal	Presente	–	Presente	–	Ausente	–	Presente	–
Cauda	209–232	374–545	140	220–310	336	281	156–205	190–220

Subgênero *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) Olsen, 1952

Procamallanus (*Spirocamallanus*) *inopinatus* Travassos, Artigas & Pereira,
1928

(Figuras 42, 43 e 44; Tabela 9)

Resumo Taxonômico

Hospedeiro: *Hoplias intermedius* (Günther, 1864); *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Characiformes: Erythrinidae); *Pygocentrus nattereri* Kner, 1858, *Pygocentrus piraya* (Cuvier, 1819) (Characiformes: Serrasalminidae).

Local: Colatina/AFL; Aimorés/AFL; Linhares/RD; Colatina/RD; Baixo Guandu/RD.

Relação parasitados/coletados: *P. nattereri*: 3/5 Colatina/AFL, 8/8 Aimorés/AFL, 1/3 Linhares/RD; *P. piraya*: Linhares/RD 1/3, Colatina/RD 2/4; *H. intermedius*: Aimorés/AFL 1/5, Baixo Guandu/RD 1/11; *H. malabaricus*: Baixo Guandu/RD 1/9, Aimorés/AFL 1/2.

Estágio de desenvolvimento: adultos e larvas.

Sítio de infecção: intestino e cecos pilóricos.

Descrição: Nematóides de corpo fusiforme, com cutícula estriada transversalmente. Abertura oral arredondada, composta por 3 círculos contendo 4 papilas cefálicas cada, totalizando 12 papilas. Presença de dois pequenos anfídeos laterais. Dois dentes medianos presentes, um ventral e um dorsal, levemente delineados acima da abertura da cápsula bucal. Cápsula bucal globosa, de coloração marrom, com paredes fortemente esclerotizadas e com 16 (9–21) cristas espirais que ocupam cerca de 2/3 da cápsula. Anel basal simples e bem desenvolvido. Esôfago muscular claviforme, separado da cápsula bucal por espesso anel esclerotizado. Esôfago glandular longo, sub-cilíndrico. Papilas cervicais não evidenciadas.

Machos (n=8 no intestino): Corpo alongado medindo 6,95 (5,04–8,60) mm de comprimento e 233 (190–322) de largura. Cápsula bucal (Fig. 42A), incluindo o anel basal, medindo 169 (95–243) de comprimento e 142 (78–205) de largura.

Treze (12–14) cristas espirais na cápsula bucal. Esôfago muscular (Fig. 42A) medindo 424 (319–832) de comprimento e 165 (109–266) de largura; esôfago glandular medindo 648 (568–749) de comprimento e 134 (109–155) de largura. Anel nervoso e poro excretor a 188 (145–250) e 195 (158–233) de distância da extremidade anterior, respectivamente. Cauda recurvada ventralmente (Fig. 42C, 44C), com estreita asa caudal e com dez pares de papilas caudais assim distribuídas: quatro pares précloacais, um par adcloacal e cinco pares pós-cloacais (Fig. 44C). Espículos curtos, iguais e semelhantes, medindo 123 (73–154) de comprimento (Fig. 42C, 44C). Gubernáculo ausente. Comprimento da cauda 287 (214–384).

Fêmeas (n=26 no intestino): Corpo alongado medindo 20,05 mm (7,23–33,80) de comprimento e 511 (408–743) de largura. Cápsula bucal (Fig. 42B, 44A, B), incluindo o anel basal, medindo 152 (99–283) de comprimento e 138 (94–256) de largura. Dezesete (13–21) cristas espirais na cápsula bucal (Fig. 44B). Esôfago muscular (Fig. 44A) medindo 479 (369–976) de comprimento e 159 (130–277) de largura; esôfago glandular medindo 810 (359–1471) de comprimento e 178 (77–386) de largura. Anel nervoso (Fig. 42B, 44A) e poro excretor a 290 (203–438) e 288 (232–345) de distância da extremidade anterior, respectivamente. Vulva situada no segundo terço do corpo, a 12,65 mm (9,06–16,93) de distância da extremidade anterior. Ovejector voltado para a extremidade posterior. Fasmídeos não observados. Cauda romba, sem distinção de um apêndice terminal, medindo 261 (172–431). Fêmeas ovovivíparas, didelfas, anfidelfas.

Larvas não encistadas (n=2 nos cecos pilóricos) (Figura 43): Nematoides de corpo fusiforme, com cutícula estriada transversalmente, medindo 6,86 mm (5,97–7,74) de comprimento e 396 (221–571) de largura. Cápsula bucal globosa (Fig. 43A), com paredes fortemente esclerotizadas, medindo 81 (78–85) de comprimento e 65 (63–66) de largura. Dentes medianos não aparentes. Presença de 11 (9–14) cristas espirais que ocupam a porção mediana da cápsula bucal. Anel basal simples e pouco desenvolvido. Esôfago muscular claviforme. Esôfago glandular longo, sub-cilíndrico. Papilas cervicais não evidenciadas.

Cauda romba (Fig. 43C), terminando em duas projeções espiniformes na porção caudal terminal. Primórdio genital tubular (Fig. 43B).

Comentários taxonômicos: Os exemplares adultos encontrados no atual estudo são identificados como *Procamallanus (Spirocamallanus) inopinatus* principalmente devido a presença de dois grandes dentes medianos; a posição relativa da vulva, localizada no segundo terço do corpo; 10 pares de papilas caudais; e a forma da cápsula bucal (LUQUE *et al.*, 2011; AILÁN-CHOCKE *et al.*, 2020). As novas considerações sobre a espécie realizadas por Ailán-Chocke e colaboradores (2020) foram levadas em consideração no atual estudo, tais como a presença de 12 papilas cefálicas, e não 8 papilas, descritas originalmente por Moreira e colaboradores (1994), que atualiza a descrição feita por Moravec e colaboradores (1997). Ainda segundo Ailán-Chocke e colaboradores (2020), o número de cristas na cápsula bucal é muito controverso, pois muitos estudos mostram que as cristas não ocupam mais do que 2/3 da cápsula bucal (TRAVASSOS, 1928; KLOSS, 1966; PETTER & THATCHER, 1988; MORAVEC & THATCHER, 1997), assim confirmado no atual estudo, ao passo que alguns autores comentam encontrar a ocupação completa da cápsula pelas cristas espirais (PETTER & DLOUHY, 1985; VICENTIN *et al.*, 2013).

Quanto às larvas, as principais características que definem o parasito encontrado como larva de quarto estágio de *P. (S.) inopinatus*, segundo Moravec (1998), são: cápsula bucal com cerca de 8-9 cristas espirais internamente, paredes da cápsula mais espessa e o primórdio genital tubular.

As medidas dos exemplares encontrados estão apresentadas na Tabela 9, sendo comparadas com a descrição original de Travassos e colaboradores (1928), de Moreira e colaboradores (1994), e da revisão mais recente da espécie por Ailán-Chocke e colaboradores (2020). Este é o primeiro registro deste parasito encontrados em peixes do Baixo Rio Doce.

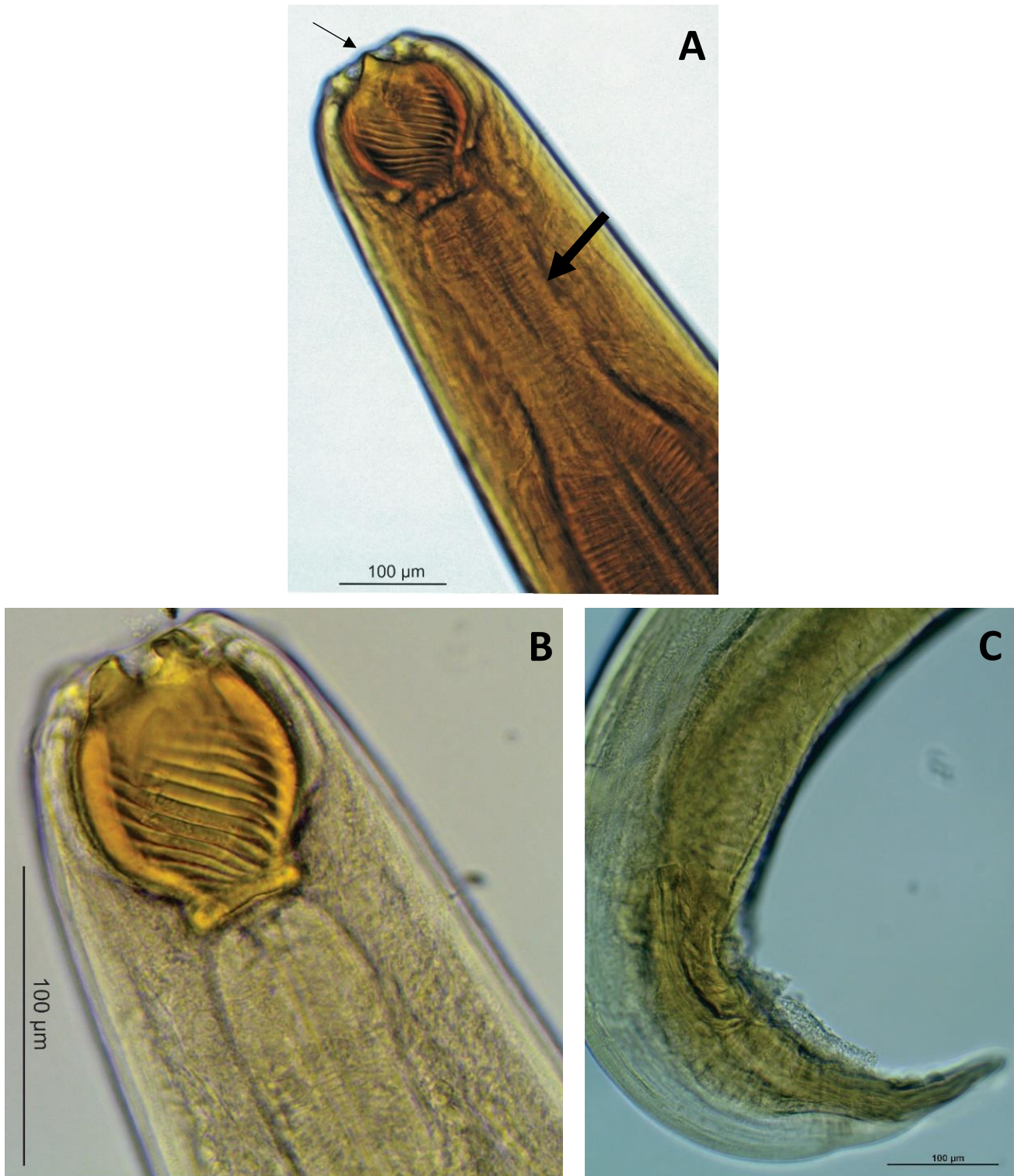


Figura 42. Fotomicrografias de adultos de *Procammallanus* (*Spirocamallanus*) *inopinatus*, parasito de diferentes hospedeiros coletados na bacia do Baixo Rio Doce. **A.** Visão geral da cápsula, com destaque para o dente ventral (seta menor), e região anterior do esôfago muscular (seta maior) de um macho. **B.** Detalhe da cápsula bucal com as estrias de uma fêmea. **C.** Porção posterior do macho.



Figura 43. Fotomicrografias de larva de *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) *inopinatus*, parasito *Pygocentrus piraya* coletado em Colatina/RD. **A.** Extremidade anterior, vista ventral. **B.** Primórdio genital tubular indicado pela seta. **C.** Extremidade posterior, vista ventral.

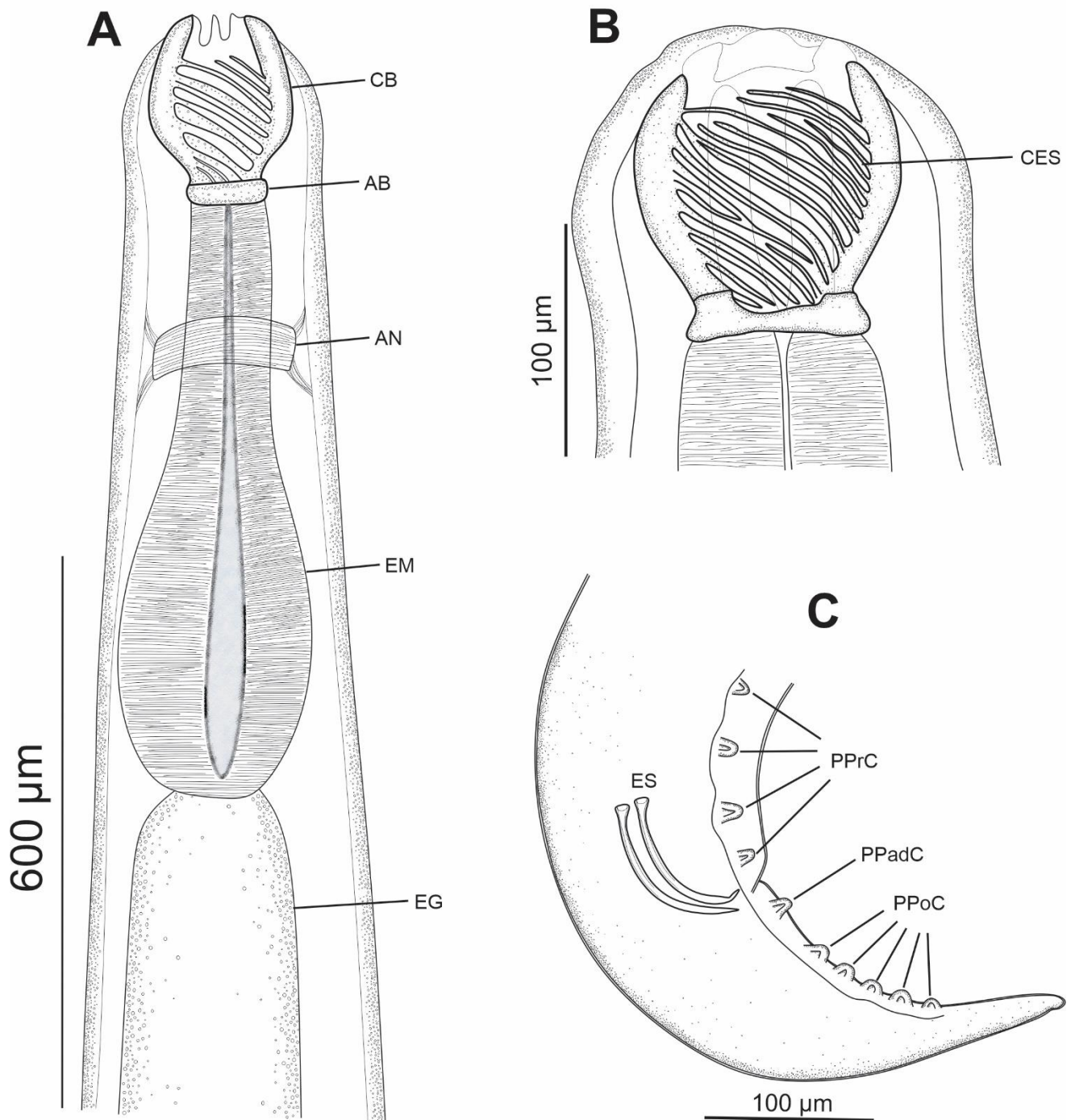


Figura 44. Representação de *Procamlanus* (*Spirocamallanus*) *inopinatus*, parasito de diferentes hospedeiros coletados na bacia do Baixo Rio Doce. **A.** Vista ventral de uma fêmea. **B.** Extremidade anterior, com destaque para as cristas espirais na cápsula bucal. **C.** Região posterior do macho, com destaque para as papilas. CB: Cápsula bucal; AB: Anel basal; EM: Esôfago muscular; AN: Anel nervoso; EG: Esôfago glandular; CES: Cristas Espirais; PPrC: Papilas Pré-cloacais; PPadC: Papilas adcloacais; PPOC: Papilas Pós-cloacais; ES: Espículos.

Tabela 9. Dados morfométricos de *Procamallanus (Spirocamallanus) inopinatus* encontrados em peixes no Baixo Rio Doce e dados reportados por diferentes autores no Brasil (medidas em μm). Legenda: com.: comprimento; larg.: largura.

Caracteres	Presente estudo		Travassos, Artigas & Pereira (1928)		Moreira et al. (1994)		Ailán-Chocke et al. (2020)	
Hospedeiro	<i>Hoplias intermedius</i> <i>Hoplias malabaricus</i> <i>Pygocentrus nattereri</i> <i>Pygocentrus piraya</i>		<i>Megaleporinus</i> sp.		<i>Megaleporinus taeniatus</i> <i>Megaleporinus piau</i> <i>Megaleporinus reinhardti</i> <i>Schizodon knerii</i> <i>Serrasalmus brandtii</i>		<i>Megaleporinus elongatus</i>	
Localidade	Espírito Santo Minas Gerais		São Paulo		Minas Gerais		Mato Grosso do Sul	
	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea*
Comprimento (mm)	5,04–8,60	7,23–33,80	5,12	16,0–30,0	3,95–4,90	11,86–15,59	5,23–7,78	20,57–24,37
Largura	190–322	408–743	240	800	180–290	350–540	150–240	680–760
Cápsula bucal (com.)	95–243	99–283	90	90	70–80	93–110	68–91	113–142
Cápsula bucal (lar.)	78–205	94–256	120	120	60–70	84–93	70–78	123–158
Número de cristas espirais	12–14	13–21	15	15	12–13	14–16	11–14	17
Derídeos	–	–	–	–	–	–	107–130	140–252
Anel nervoso	145–250	203–438	–	200–280	180–210	210–300	121–208	235–270
Poro excretor	158–233	232–345	250–320	320	240–300	360–466	182–260	340–390
Esôfago muscular (com.)	319–832	369–976	360	450	270–320	360–420	270–370	500–550
Esôfago glandular (com.)	568–749	359–1.471	–	–	440–540	670–794	410–550	925–940
Vulva (mm)	–	9,06–16,93	–	–	–	6,66–9,00	–	11,30–13,93
Papilas pré-cloacais (par)	4	–	3	–	3	–	4	–
Papilas adcloacais (par)	1	–	–	–	2	–	–	–
Papilas pós-cloacais (par)	5	–	5	–	5	–	6	–
Espículo	73–154	–	120	–	113–120	–	90–132	–
Cauda	214–384	172–431	200	200	100–180	170–200	168–268	180–210

*Referência às fêmeas grávidas.

Procamallanus (Spirocamallanus) sp.

(Figura 45)

Resumo taxonômico

Hospedeiro: Hoplias intermedius (Günther, 1864).

Local: Baixo Guandu/RD.

Relação parasitados/coletados: 1/11.

Estágio de desenvolvimento: larva não encistada.

Sítio de infecção: cecos pilóricos.

Descrição (n=1): corpo medindo 15,78 mm de comprimento e 562 de largura. Cápsula bucal (Fig. 45A) medindo 90 de comprimento e 125 de largura. Vinte e três cristas transversais aparentes, finas e irregulares que se ramificam em direção às laterais anteriores da cápsula bucal (Fig. 45A). Anel basal quitinoso (Fig. 45A) medindo 16 de comprimento e 75 de largura. Esôfago muscular medindo 392 de comprimento e 144 de largura. Esôfago glandular com 801 de comprimento e 150 de largura. Anel nervoso a 172 da extremidade anterior. Ânus a 232 da extremidade posterior do corpo. Cauda pequena, pontiaguda (Fig. 45B).

Comentários taxonômicos: os exemplares encontrados são caracterizados como larvas de 4^o estágio de *Procamallanus (Spirocamallanus)* devido a pouca distinção do anel basal da cápsula bucal e a coloração transparente das larvas em relação aos adultos, que são comumente avermelhadas (SANTOS, CARDÉNAS & LENT, 1999), indicando a ingestão de sangue na forma adulta (NOBLE & KING 1960).

Além das características descritas, o parasito encontrado apresenta cristas irregulares que se ramificam em direção às laterais anteriores da cápsula bucal, tais como a descrição de larvas de *P. (Spirocamallanus)*, a qual apresenta cristas irregulares, finas e oblíquas (CAMPANA-ROUGET, 1961).

As larvas encontradas diferem de *P. (S.) inopinatus* principalmente devido ao número de cristas na cápsula bucal [23 no presente estudo x 8-9 em *P. (S.) inopinatus*] e ausência do primórdio tubular genital, presente em *P. (S.) inopinatus* (MORAVEC, 1998). No entanto, não foi possível chegar ao nível de espécie deste parasito devido à complexidade e ausência de estruturas de adultos que possam justificar a identificação do parasito. De qualquer forma, este é o primeiro encontro de exemplares larvais de *Procamallanus (Spirocamallanus)* sp. em *Hoplias intermedius* e no Baixo Rio Doce, ampliando sua distribuição geográfica.

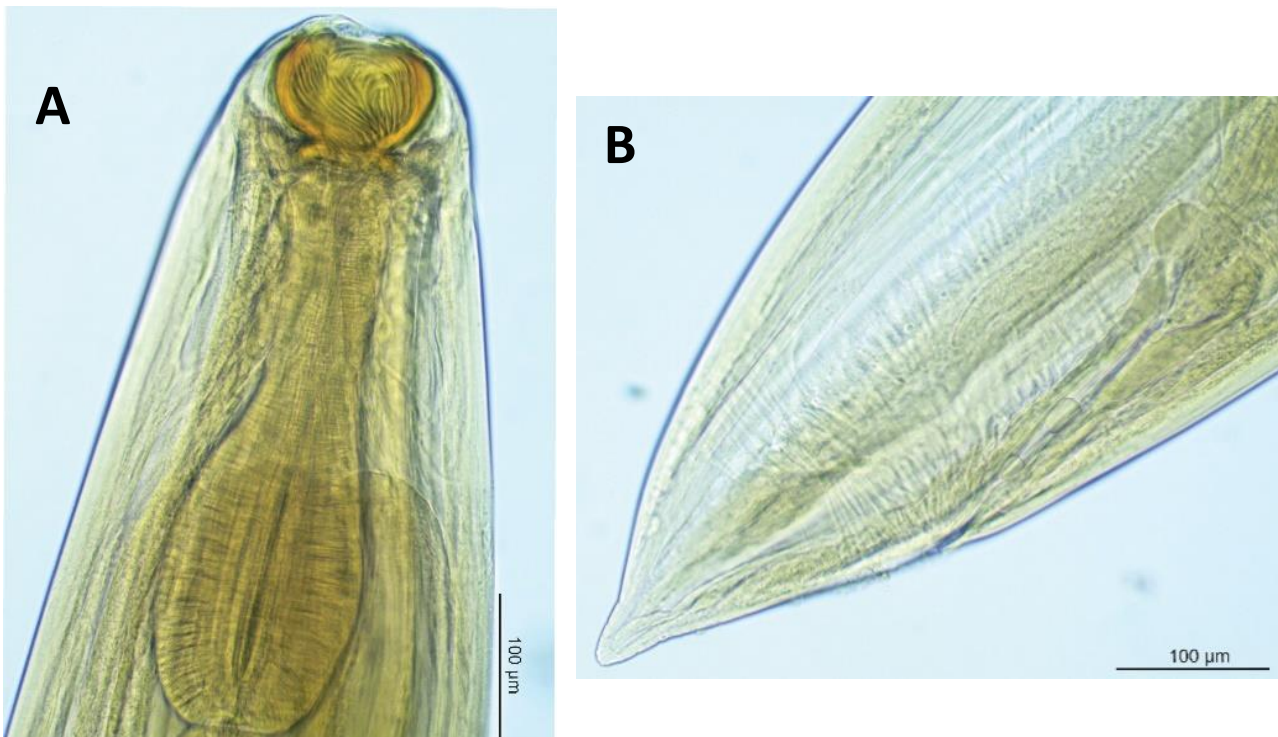


Figura 45. Fotomicrografias de larva de *Procamallanus (Spirocamallanus)* sp., parasito de *Hoplias intermedius* coletado em Baixo Guandu/RD. **A.** Porção anterior, vista lateral. **B.** Porção posterior.

Ordem Ascaridoidea Railliet & Henry, 1915

Família Anisakidae Railliet & Henry, 1912

Gênero *Contracaecum* Railliet & Henry, 1912

Contracaecum sp.

(Figuras 46 e 47)

Resumo taxonômico

Hospedeiro: *Hoplias intermedius* (Günther, 1864) (Characiformes: Erythrinidae); *Pygocentrus nattereri* Kner, 1858, *Pygocentrus piraya* (Cuvier, 1819) (Characiformes: Serrasalminidae).

Local: Linhares/AFL; Colatina/RD; Baixo Guandu/RD.

Relação parasitados/coletados: 5/41 em *P. piraya*; 3/8 em *P. nattereri*; 1/11 em *H. intermedius*.

Estágio de desenvolvimento: larvas não encistadas.

Sítio de infecção: Cavidade abdominal.

Descrição (n=16): Nematoides de coloração esbranquiçada, com estriações cuticulares transversais por todo o corpo (Fig. 46, 47A, B), medindo 11,23 mm (9,31–23,87) de comprimento e 586 (432–745) de largura máxima. Extremidade cefálica pequena, apresentando três lábios pouco desenvolvidos (Fig. 46, 47A, B). Dente cefálico presente (Fig. 46B, 47A). Presença de primórdios de deirídeos localizados na altura do anel nervoso (Fig. 46A). Poro excretor localizado próximo à extremidade anterior, na base dos lábios. Anel nervoso posicionado a 287 (256–338) da região anterior. Ventrículo esofágico pequeno, redondo (Fig. 47B), medindo 140 (123–167) de diâmetro, localizado entre o esôfago e o apêndice ventricular posterior (Fig. 47B), o qual mede 482 (389–607) de comprimento. Cauda cônica, com apêndice (Fig. 47C), medindo 132 (97–183).

Comentários taxonômicos: Os parasitos encontrados correspondem com a descrição de Moravec (1998) de *Contracaecum* do tipo 2, uma vez que este

grupo de anisaquídeos são caracterizados pela presença de abertura oral rodeada por três lábios; poro excretor localizado próximo à extremidade anterior; esôfago com um pequeno ventrículo e apêndice ventricular posterior e ceco intestinal anterior, que se estende anteriormente ao anel nervoso, além da presença de apêndice ventricular bem menor que o ceco intestinal e de um dente cefálico, que é um indicativo de larva de 3º estágio neste grupo (MORAVEC, 1998; TIMI *et al.*, 2001; FELIZARDO *et al.*, 2009; FONSECA *et al.*, 2016). Devido à complexidade da identificação morfológica a nível de espécie em espécimes larvais, os exemplares encontrados são definidos a nível de gênero, como *Contracaecum* sp. De qualquer forma, o atual estudo representa o primeiro registro de larvas do Tipo 2 em peixes no Baixo Rio Doce e primeiro relato em *H. intermedius* e *P. piraya*.

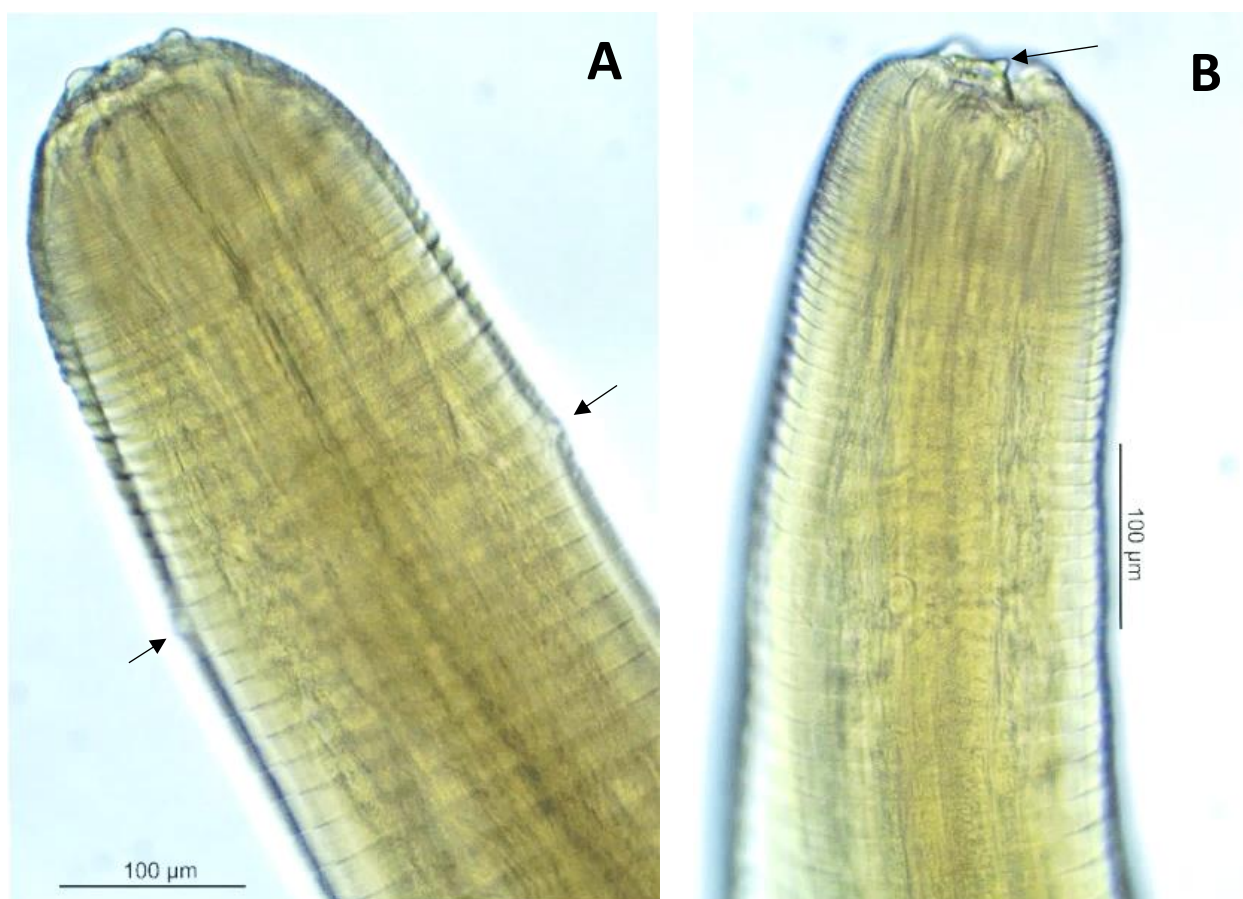


Figura 46. Fotomicrografias da região anterior de *Contracaecum* sp., parasito de diferentes hospedeiros coletados na bacia do Baixo Rio Doce. **A.** Região anterior e derídeos (setas). **B.** Seta indicando o dente cefálico, característico de larvas Tipo 2 de 3º estágio.

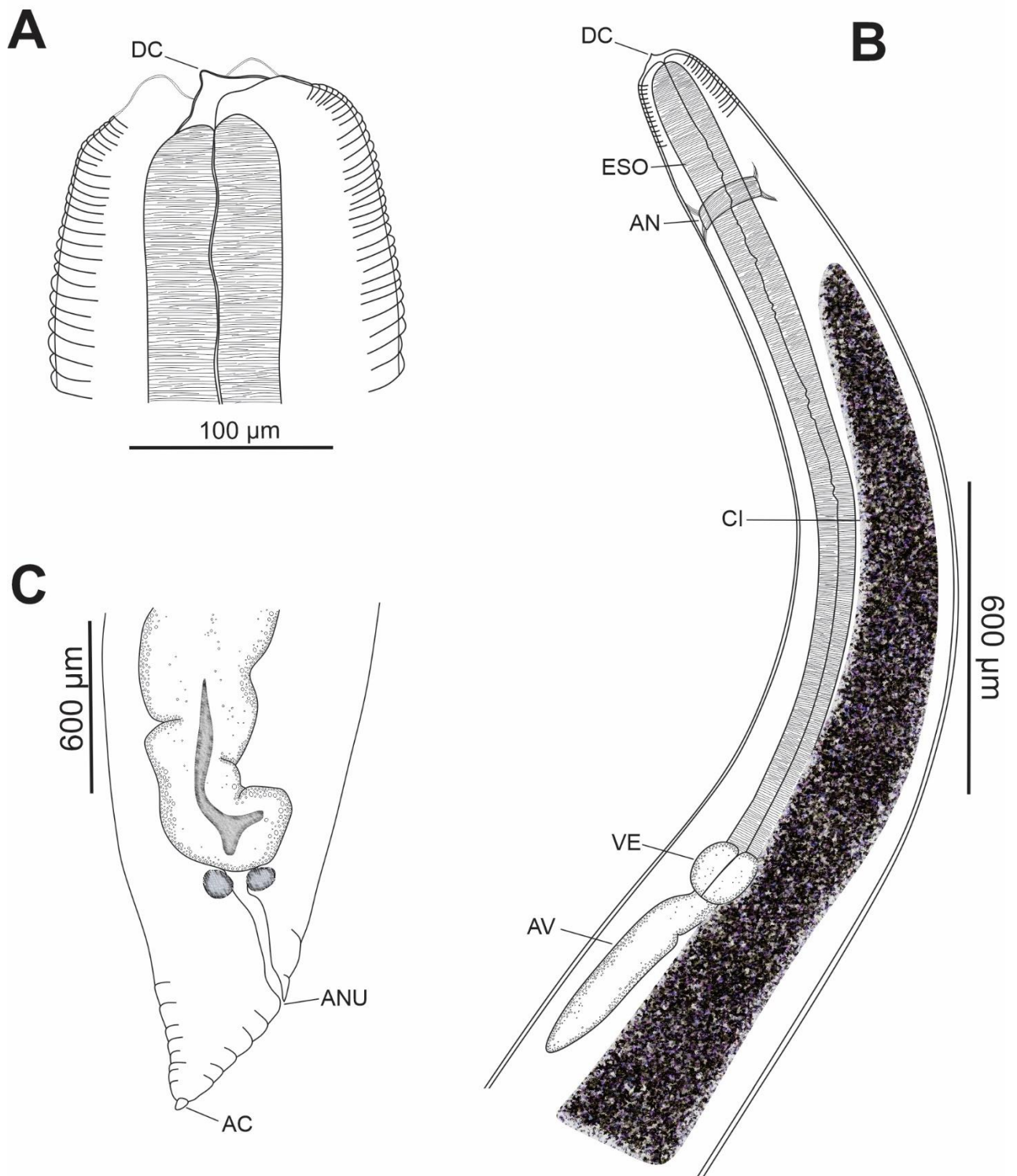


Figura 47. Representação de *Contracaecum* sp., parasito de diferentes hospedeiros coletados na bacia do Baixo Rio Doce. **A.** Extremidade anterior. **B.** Vista ventral. **C.** Extremidade posterior. Legenda = DC: Dente Cefálico; ESO: Esôfago; AN: Anel nervoso; CI: Ceco Intestinal; VE: Ventrículo Esofagiano; AV: Apêndice Ventricular; ANU: Ânus; AC: Apêndice Caudal.

Ordem Oxyurida Chabaud, 1974

Superfamília Oxyuroidea Cobbold, 1864

Família Pharyngodonidae Travassos, 1919

Gênero *Ichthyouris* Inglis, 1962

Ichthyouris sp.

(Figuras 48 e 49; Tabela 10)

Resumo taxonômico

Hospedeiro: *Metynniss maculatus* (Kner, 1858) (Família: Serrasalmidae).

Local: Aimorés/AFL; Baixo Guandu/RD.

Relação parasitados/coletados: 5/17 em Baixo Guandu/RD; 2/2 Aimorés/AFL.

Estágio de desenvolvimento: adultos.

Sítio de infecção: intestino.

Descrição: Nematóide pequeno e de cor esbranquiçada. Cutícula com estrias transversais conspícuas; asa lateral presente, estreita, iniciando-se próximo à extremidade anterior, estendendo até próximo à abertura anal. Abertura oral hexagonal, presença de seis pequenos lábios associados à pequenas protuberâncias em sua base, e dois anfídeos. Cavidade bucal com aparência circular em corte transversal, com paredes finas. Anel nervoso circundando o corpo do esôfago, ligeiramente posterior à faringe. Esôfago muscular, longo e estreito, com constrição em sua porção final. Bulbo esofágico, piriforme e fortemente musculoso, com válvula esclerotizada. Tubo intestinal simples, retilíneo. Cauda longa e estreita, espiniforme. Machos desconhecidos.

Fêmeas (n= 6): Corpo medindo 2,41 mm (2,02–2,55) de comprimento e 308 (260–333) de largura (Fig. 48A, E; 49A). Cavidade bucal medindo (Fig. 48C, D, 49B) 26 (20–29) de comprimento e 24 (19–28) de largura. Esôfago, incluindo o bulbo (Fig. 48A, E), medindo 376 (344–397) de comprimento: corpus medindo 378 (339–463) de comprimento e 48 (39–72) de largura; istmo 18 (11–22) de

comprimento e 34 (22–48) de largura; bulbo esofágico medindo 93 (82–117) de comprimento e 102 (89–111) de largura (Fig. 49A). Anel nervoso a 163 (100–205) de distância da extremidade anterior (Fig. 48A, E; 49A, B). Vulva pré-equatorial (Fig. 49A), a 1,11 mm (0,95–1,29) de distância da extremidade anterior. Útero prodelto, formando um “loop” próximo à porção posterior do esôfago (Fig. 49A); ovários tendo início na região caudal, além do ânus. Cauda muito longa (Fig. 48D, 49A), medindo 391 (354–412) de comprimento. Ovos numerosos, não larvados, de casca lisa; alongados (Fig. 48B, 49C), medindo 136 (125–149) de comprimento e 57 (42–77) de largura, apresentam uma extremidade mais estreita e a outra mais larga, na qual se verifica presença de um opérculo (Fig. 48B, 49C). Filamentos polares não foram observados.

Comentários taxonômicos: os nematoides encontrados no atual trabalho apresentam as características que justificam a sua posição da superfamília Oxyuroidea, tais como a presença do esôfago que se apresenta com um corpo muscular, longo e estreito, podendo ser seguido por istmo diferenciado ou não, e bulbo esférico muscular com válvula esclerotizada ou não. Pertencem a família Pharyngodonidae pela presença de cutícula muito estriada, membranosa e quebradiça; asa lateral presente ou não; esôfago longo, dividido em ístimo e bulbo; ovos alongados e assimétricos, podendo apresentar vários filamentos polares em ambas as extremidades (INGLIS, 1962; MORAVEC, 1998; VICENTE & PINTO, 1999; RODRIGUES *et al.*, 2017).

Segundo a atualização da chave de Pharyngodonidae por Rodrigues e colaboradores (2017), os exemplares encontrados são classificados como *Ichthyouris* devido a presença de uma cauda longa, delgada e pontiaguda, abertura oral hexagonal, presença de asa lateral e ovos não larvados (RODRIGUES *et al.*, 2017). Além disso, a presença de um esôfago cilíndrico, longo e sem dilatação em sua base posterior, próximo ao bulbo, auxilia na diferenciação de alguns gêneros, tais como *Cosmoxynema*, *Cosmoxynemoides* e *Travnema* (MORAVEC, 1998). Os exemplares também não se enquadram na descrição original de *Spinoxyouris* e *Brasilnema* pela ausência de dentes em sua cavidade bucal (MORAVEC, 1998).

O gênero é relatado com dimorfismo sexual, e os caracteres taxonômicos do macho são importantes para determinação a nível específico. No entanto, não foi possível encontrar machos no atual trabalho. Portanto, os exemplares encontrados são determinados como *Ichthyouris* sp, configurando o primeiro registro deste grupo em peixes do Baixo Rio Doce. A Tabela 10 compara as características das fêmeas com espécies descritas para este gênero já relatadas no Brasil.

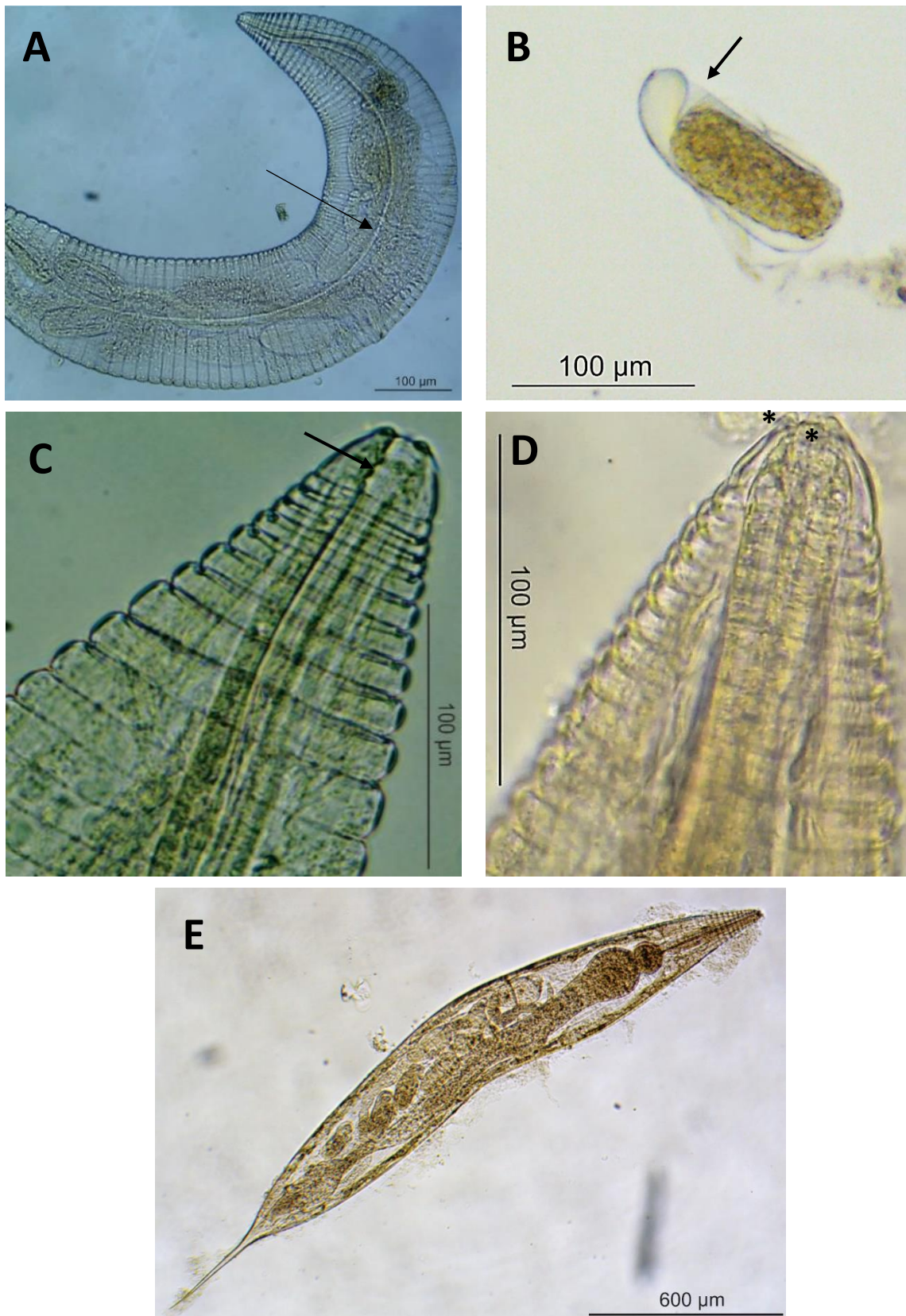


Figura 48. Fotomicrografias de fêmeas de *Ichthyouris* sp., parasito de *Metynniss maculatus* coletado em Aimorés/AFL. **A.** Vista geral da extremidade anterior, asa lateral em evidência (seta). **B.** Ovo embrionado, com destaque para o opérculo. **C.** Cavidade bucal em evidência (seta). **D.** Extremidade anterior do parasito, com destaque (setas) para os lábios. **E.** Visualização geral do corpo.

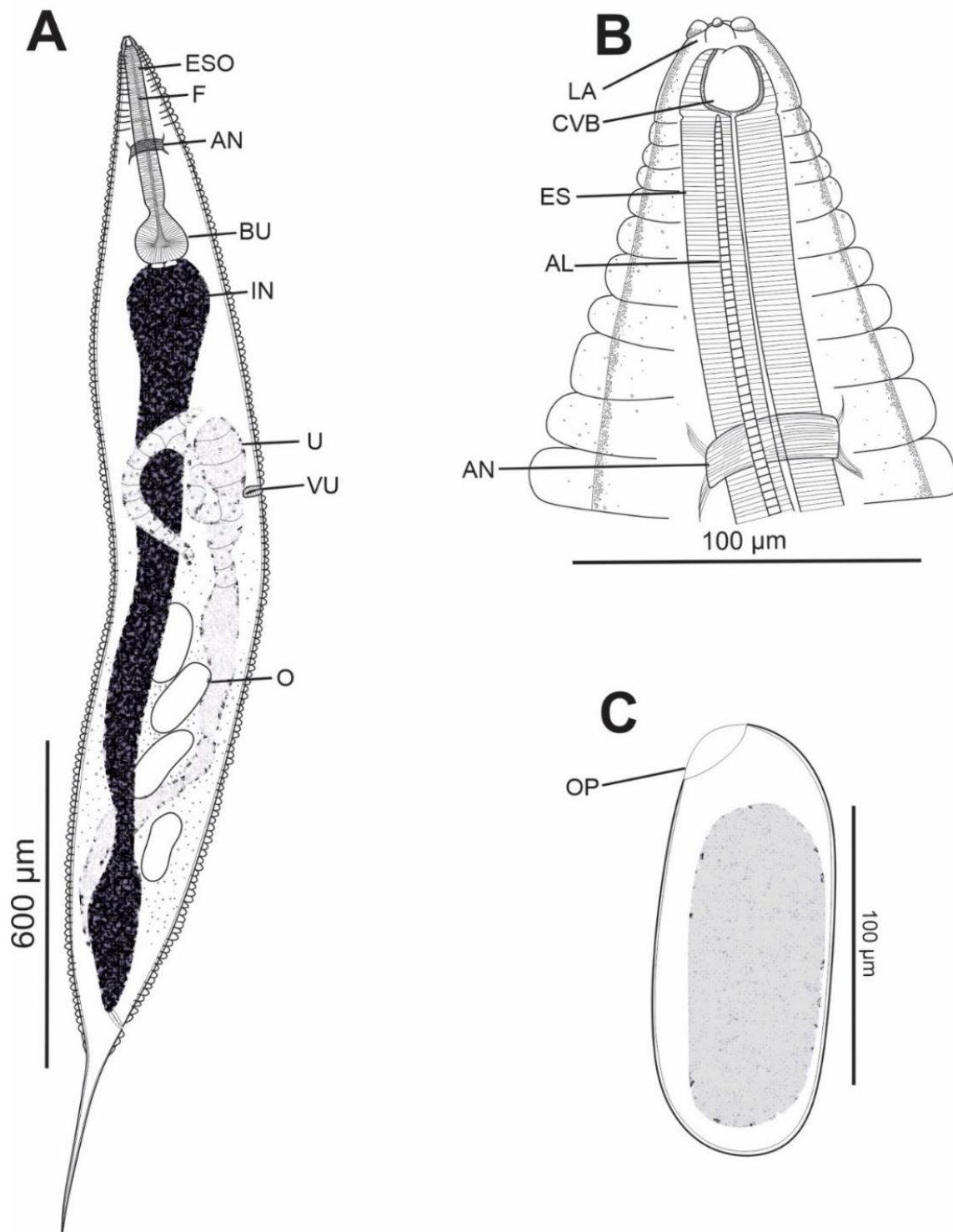


Figura 49. Representação de *Ichthyouris* sp., parasito de *Metynnix maculatus* coletado em Aimorés/AFL. **A.** Vista completa do parasito. **B.** Extremidade anterior. **C.** Ovo embrionado. Legenda = ESO: Esôfago; LA: Lábios; CVB: Cavidade Bucal; F: Faringe; AN: Anel Nervoso; BU: Bulbo; IN: Intestino; AL: Asa lateral; U: Útero; VU: Vulva; OV: ovos; OP: Opérculo.

Tabela 10. Dados morfométricos de *Ichthyouris* sp. encontrados no Baixo Rio Doce, Brasil, e dados reportados para espécies do gênero no Brasil por diferentes autores. Legenda: com.: comprimento; larg.: largura.

Caracteres	Presente estudo	<i>Ichthyouris ro</i>	<i>Ichthyouris brasiliensis</i>	<i>Ichthyouris voltagrandensis</i>	<i>Ichthyouris bursata</i>	<i>Ichthyouris nunani</i>
Autoria	-	Inglis (1962)	Moravec, Kohn & Fernades (1992)	Martins, Yoshitoshi & Umekita (2001)	Moravec & Laoprasert (2008)	Cárdenas <i>et al.</i> , 2019
Hospedeiro	<i>Metynnis maculatus</i>	<i>Mesonauta festivus</i> (= <i>Cichlasoma festivum</i>)	<i>Megalancistrus parananus</i> (= <i>Megalancistrus aculeatus</i>)	<i>Myleus tiete</i>	<i>Mesonauta festivus</i>	<i>Curimata acutirostris</i> <i>Laemolyta taeniata</i>
Localidade	Espírito Santo/Minas Gerais (Brasil)	Rio Amazonas (Brasil) Guiana	Rio Paraná (Brasil/Paraguai)	Minas Gerais, (Brasil)	Rio Amazonas (Brasil)	Rio Tocantis (Brasil)
Comprimento (mm)	2,02–2,55	2,10–2,40	3,16–4,50	3,00–3,80	1,89–2,94	1,85–4,25
Largura	260–333	150–190	231–422	200–760	218–340	300–420
Asa lateral	Presente	Presente	Presente	Ausente	Presente	Presente
Abertura oral	Hexagonal	Hexagonal	Hexagonal	Triangular	Hexagonal	Hexagonal
Cavidade bucal	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Presente
Corpus (com.)	339–463	490–560	387–435	350–490	240–315	340–410
Corpus (larg.)	39–72	–	60–78	64–80	42–48	30–50
Ístmo (com.)	11–22	–	6–9	2–6	6–9	5
Ístmo (larg.)	22–48	–	12–36	30–40	24–27	27–30
Bulbo (com.)	82–117	114–116	120–135	96–130	96–105	100–120
Bulbo (larg.)	89–111	102–112	126–159	100–144	105–126	120–160
Anel nervoso	100–205	130–150	165–198	130–224	123–150	110–140
Poros excretor	–	500–590	625–993	780–984	449–680	320–850
Vulva (mm)	0,95–1,29	0,85–0,98	1,13–1,65	0,84–1,68	0,87–1,15	0,89
Cauda	354–412	410–520	639–870	336–816	286–354	400–600
Ovos (com.)	125–149	36	93–99	112–125	96–111	80–100
Ovos (larg.)	42–77	11	33–36	29–37	33–42	30–40
Filamentos polares	Ausentes	Um por polo	Numerosos	Dois unilaterais	Um ou dois por polo	Numerosos

6. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos durante as análises de 317 exemplares de peixes oriundos dos seis pontos de amostras permitiram a identificação de 13 espécies de helmintos, todas registradas pela primeira vez na Bacia do Baixo Rio Doce, sendo este o primeiro estudo realizado na calha principal do Rio Doce.

A diversidade e riqueza dos parasitos encontrados no atual estudo pode ser influenciada por diferentes espécies presentes no ambiente, sendo adquiridas principalmente pela rota trófica (GUIDELLI *et al.*, 2003). A baixa abundância e baixa intensidade de alguns parasitos podem indicar um prejuízo do ciclo biológico desses organismos (OVERSTREET, 1997). No entanto, considerando-se os trabalhos de Moreira (2000) e Belei e colaboradores (2013), como as únicas informações disponíveis para a bacia do Rio Doce, algumas espécies encontradas no atual estudo já foram registradas em ambos estudos anteriores: *Clinostomum* sp., *Clinostomum dimorphum* (= *Ithyoclinostomum dimorphum*), *Austrodiplostomum compactum*, *Contracaecum* sp., *Procamallanus* (*Procamallanus*) *peraccuratus*, *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) *inopinatus*, o que pode indicar uma possível manutenção do ciclo biológico destes organismos no meio, mesmo após o impacto pelo rompimento da barragem em Mariana (MG).

Aspectos taxonômicos relacionados às relações parasito-hospedeiro identificadas são discutidas a seguir, agrupadas pelas famílias dos helmintos encontrados.

6.1 Proteocephalidae

Cestódeos da família Proteocephalidae são frequentemente encontrados em intestinos de peixes ciclídeos, como *Cichla kelberi*, da região Neotropical (FREZE, 1965; SCHMIDT, 1986; REGO, 1994; de CHAMBRIER, REGO & VAUCHER, 1999; REGO *et al.*, 1999; de CHAMBRIER *et al.*, 2004).

Dentro deste táxon, a subfamília Proteocephalinae apresenta 186 espécies distribuídas em 19 gêneros que parasitam invertebrados com distribuição cosmopolita (CAIRA & JENSEN, 2014).

Entre os proteocephalíneos, o gênero *Proteocephalus* é o segundo mais representativo em número de espécies (73), perdendo apenas para *Ophiotaenia*, com 88 espécies. Espécies de *Proteocephalus* foram registradas em diferentes continentes, sendo que no Brasil doze foram reportadas parasitando dezessete espécies de peixes de água doce (CAIRA & JENSEN, 2014; ALVES *et al.*, 2017). Dentre estas, *P. macrophallus* e *P. microscopicus* se destacam pelo maior número de registros, realizados em pelo menos quatro espécies de hospedeiros de diferentes localidades, sendo os registros mais comuns em *Cichla* spp. (SCHOLZ *et al.*, 1996; TAKEMOTO & PAVANELLI, 1996; KOHN *et al.*, 2011; SANTOS *et al.*, 2011; LACERDA *et al.*, 2013; YAMADA & TAKEMOTO, 2013; SANTOS-CLAPP & BRASIL-SATO, 2014; LEHUN *et al.*, 2020).

Proteocephalus macrophallus e *P. microscopicus* são descritas como exclusivas de *Cichla* e, até então, não foram descritas em outras espécies de peixes (REGO, 1994; SANTOS *et al.*, 2011; YAMADA & TAKEMOTO, 2013). Dentre as espécies parasitadas pelo gênero *Proteocephalus*, *C. kelberi* se destaca em estudos da sua fauna parasitária em diferentes bacias no Brasil (REGO & PAVANELLI, 1990; SCHOLZ *et al.*, 1996; YAMADA & TAKEMOTO, 2013). No atual trabalho, o encontro destes parasitos em *C. kelberi* corroboram os estudos sobre uma possível especificidade parasito-hospedeiro de ambas as espécies de *Proteocephalus* com peixes do gênero *Cichla*. Além disso, o atual estudo retrata as primeiras sequências do gene Cox-1 para *P. macrophallus* e *P. microscopicus*, contribuindo para estudos taxonômicos futuros destas espécies.

6.2 Acanthocolpidae

Neste trabalho, mais da metade das espécies coletadas são consideradas nativas do Rio Doce e mais de um terço são marinhas que ocasionalmente migram para os ecossistemas de água doce. É o caso da espécie *Lycengraulis grossidens*, popularmente conhecida como “manjubinha” ou “sardinha prata”, que faz parte da família Engraulididae e compreende o grupo das anchovas, as quais habitam as regiões costeiras e rios tropicais da América do Sul (BLOOM & LOVEJOY, 2012). Segundo Lucena e colaboradores (1994) e Ramos (2005), *L. grossidens* é classificada como anádroma ou semi-anádroma, quando a espécie

entra no estuário e nos rios no outono e início do inverno para a desova em água doce e retorna ao ambiente marinho no final da primavera. Em ambientes estuarinos e de água doce, *L. grossidens* tem registros em diferentes regiões do Brasil, incluindo o Rio Doce e a Baía de Vitória no Espírito Santo (MAI *et al.*, 2013). A pesca artesanal e recreativa desta espécie em diferentes estuários brasileiros contribui para o fortalecimento da economia local, podendo atingir até 30 toneladas/ano (MARQUES, 1997; MILANI & FONTOURA, 2007).

O hábito alimentar de *L. grossidens* revela grande potencialidade em integrar, como hospedeiros intermediários ou definitivos, do ciclo de vida de vários parasitos transmitidos ao longo da cadeia alimentar, principalmente pela sua alimentação generalista, abrangendo insetos, crustáceos, moluscos, poliquetas etc. (MAI *et al.*, 2013). No entanto, o conhecimento sobre a helmintofauna em *L. grossidens* é escasso no Brasil, sendo relatado apenas os trematódeos *Parahemiurus anchoviae* Vaz & Pereira, 1930 e *Parahemiurus merus* (Linton, 1910) Yamaguti, 1938 (EIRAS, VELLOSO & JÚNIOR, 2017) em sua fase adulta.

O encontro de representantes de digeneicos nesta espécie de hospedeiro amplia o conhecimento da helmintofauna em *L. grossidens*, tais como representantes da família Acanthocolpidae Lühe, 1909. Os acantocolpídeos são parasitos de peixes marinhos, principalmente, e são caracterizados pela presença de espinhos em seu tegumento, além da perda de vesícula externa e presença da vesícula seminal uterina (BRAY *et al.*, 2005). Os membros dessa família são encontrados, em seu estágio adulto, no intestino de peixes carnívoros. No Brasil, 5 gêneros e 11 espécies já foram descritos (FERNANDES *et al.*, 2009; TIMI *et al.*, 2010; PEREIRA *et al.*, 2014) contudo, nenhum ciclo biológico é conhecido.

Uma das espécies pertencentes à família Acanthocolpidae encontrada neste estudo foi identificada como *Manteria* sp. O gênero *Manteria* foi descrito originalmente como subgênero de *Dihemistephanus* por Manter (1940), parasito de *Oligoplites saurus* (Bloch & Schneider, 1801) e *Caranx hippos* (Linnaeus, 1766), no Equador, mas foi reclassificado por Caballero (1950) em um gênero separado, tendo como a espécie tipo *M. brachydera*. Por conseguinte, a espécie foi registrada por Bravo-Hollis (1954) em *Oligoplites altus* (Günther, 1868) e em *Oligoplites mundus* (Günther, 1868) no oceano Pacífico no México (AMATO,

1983). No Brasil, Amato (1983) relata o encontro de *M. brachydera* no intestino e estômago de *Oligoplites palometa* (Cuvier, 1832) em Santa Catarina. Freitas & Kohn (1964) relatam o encontro de *Manteria costalimai* Freitas & Kohn, 1964 no intestino de *Scombroides* sp. na Baía de Guanabara, Rio de Janeiro. Essa espécie foi também reportada em *Oligoplites* sp. na Venezuela, mas foi sinonimizada por Overstreet (1969) como *Manteria brachydera* (Manter, 1940) Caballero, 1950, que é atualmente, a única espécie conhecida para o gênero.

O único registro de metacercárias do gênero *Manteria* conhecido na América do Sul foi publicado por Rojas, Torres & Pequeño (1999), em *Caprodon longimanus* (Günther, 1859) na costa do Chile. Assim como no trabalho dos autores citados, o presente estudo encontrou alta prevalência de indivíduos infectados com cerca de 358 metacercárias encistadas na cavidade branquial de 41 exemplares de *L. grossidens* coletados no Rio Doce em Colatina e Linhares, ES. Um novo sítio de infecção também é registrado, além da proposta da primeira reconstrução filogenética da espécie, confirmando sua inclusão na família Acanthocolpidae e os primeiros dados genéticos gerados para *Manteria* sp.

6.3 Diplostomidae

Entre as espécies de peixes coletados, além de *C. kelberi*, espécies do gênero *Hoplias* destacam-se pela alta carga parasitária já relatada, além de apresentar helmintos com potencial zoonótico (*Contracaecum* sp. e *Ascoscotyle* sp., por exemplo) (ROSIM, 2010; BENIGNO *et al.*, 2014). *Hoplias malabaricus* é considerada a terceira espécie de peixe neotropical continental de maior riqueza parasitária, com mais de 100 espécies de parasitos já registrados (HASUIKE *et al.*, 2023). Devido ao seu hábito alimentar, considerado piscívoro, esta é uma espécie que atua como importante hospedeiro definitivo e intermediário de helmintos (BARROS *et al.*, 2007), como os trematódeos da família Diplostomidae.

Metacercárias da família Diplostomidae apresentam como características diagnósticas o corpo foliáceo e bissegmentado; ventosa oral situada na extremidade anterior do corpo, conectada a uma faringe muscular; esôfago curto

bifurcado em dois longos cecos intestinais na extremidade posterior do corpo (NIEWIADOMSKA, 2002), características semelhantes às encontradas nos exemplares apresentados neste trabalho.

É fato que a identificação taxonômica é um desafio, assim como a identificação específica de diplostomídeos. A taxonomia deste grupo é complexa, sobretudo em estágio de metacercária, pois a morfologia dessas fases larvais é incompleta em relação à dos adultos (GRACZYK, 1991). Graças à taxonomia integrada, é possível identificar espécimes com caracteres morfológicos dúbios, como a espécie encontrada *Dolichorchis* sp. Este parasito é encontrado em aves piscívoras em sua fase adulta e suas metacercárias são consideradas do tipo “*Diplostomulum*”, encontradas em peixes (GIBSON, JONES & BRAY, 2002).

Em um recente trabalho publicado por Achatz e colaboradores (2022), que realizaram a reconstrução filogenética através de análises moleculares de diferentes espécies de Diplostomidae, são conhecidas duas espécies/linhagens de *Dolichorchis* distribuídas na região Neotropical, *Dolichorchis bonariensis* Ostrowski de Núñez, 1970, encontrados em *Phalacrocorax brasilianus* (Gmelin) e *Dolichorchis lacombeensis* Lunaschi & Drago, 2006 em *Ardea cocoi* (Linnaeus), ambos na Argentina e todas na sua forma adulta. No entanto, graças aos dados genéticos, os mesmos autores encontram uma suposta nova linhagem de *Dolichorchis*, em que eles intitulam como *Dolichorchis* sp. VVT1, parasito de *Phimosus infuscatus* (Lichtenstein) coletado no Brasil, apesar de não conseguirem identificar como uma nova espécie devido as características imaturas que dificultaram a identificação taxonômica.

Os atuais exemplares apresentam a mesma composição genética de adultos de *Dolichorchis* sp. VVT1, o que contribui para o conhecimento de um novo hospedeiro, *H. malabaricus*, sendo este o primeiro registro em peixes e uma nova forma evolutiva (metacercárias) para o grupo.

Além de *Dolichorchis* sp., outros diplostomídeos foram encontrados no presente estudo. Entre estes, *Austrodiplostomum compactum* merece destaque uma vez que foi considerado o parasito mais representativo em número de espécie de peixes parasitados (dez no total), a maioria piscívoro ou onívoro, indicando uma generalização na relação parasito-hospedeiro em seu ciclo de vida.

O gênero *Austrodiplostomum* foi descrito por Szidat & Nani (1951) quando relataram o encontro da espécie-tipo *Austrodiplostomum mordax* Szidat & Nani, 1951 parasitando aves neotropicais da espécie *Phalacrocorax brasilianus* (Gmelin, 1789) (= *Nannopterum brasilianus*) e peixes da espécie *Odontheistes bonariensis* (Valenciennes, 1835) capturadas na Argentina (OSTROWSKI DE NÚÑEZ, 2017). Dubois (1970) transferiu o gênero *Austrodiplostomum* como subgênero de *Diplostomum*, até o restabelecimento do gênero por Niewiadomska (2002). Hoje, é reconhecida a presença de duas espécies para este gênero: *Austrodiplostomum mordax* Szidat & Nani, 1951 e *Austrodiplostomum compactum* (Lutz, 1928) (sin. *Austrodiplostomum ostrowskiae* Dronen, 2009) (OSTROWSKI DE NÚÑEZ, 2017; ACHATZ *et al.*, 2022), parasito de peixes de água doce e pássaros do gênero *Phalacrocorax* na região Neotropical e, mais recentemente, no sul dos EUA (ROSSER *et al.*, 2016).

As metacercárias desse trematódeo digeneico é parasita, principalmente, do humor vítreo, humor aquoso e cérebro, de uma variedade de peixes (OSTROWSKI DE NÚÑEZ 1982; PINEDA-LÓPEZ 1985; GARCIA *et al.* 1993; KOHN *et al.* 1995; PAVANELLI *et al.* 1997; MACHADO *et al.* 2000; MARTINS *et al.* 1999, 2002; SANTOS *et al.* 2002; PAES *et al.* 2003). Seu ciclo de vida, estabelecido por Ostrowski de Núñez (1982), inclui caramujos do gênero *Biomphalaria*, uma variedade de peixes de água doce como hospedeiros intermediários e as aves piscívoras da espécie *Phalacrocorax brasilianus* [= *Phalacrocorax olivaceus*], a qual é considerada o hospedeiro definitivo do ciclo do parasito (TRAVASSOS *et al.*, 1969; MONTEIRO *et al.*, 2011; OSTROWSKI DE NÚÑEZ, 1982; 2017). Apresenta ampla distribuição geográfica na região Neotropical, inclusive no Brasil, parasitando uma variedade de peixes de água doce. Ramos e colaboradores (2013) relatam que 36 espécies de peixes de água doce no Brasil foram mencionadas com infecção de *A. compactum* principalmente nos olhos, mas também na cavidade craniana, brânquias, músculo, bexiga natatória e rim, comprovando uma baixa especificidade de parasitismo da metacercárias para com o seu hospedeiro intermediário.

No atual estudo, a partir da checklist estabelecida por Ramos e colaboradores (2013), é possível ampliar o número de hospedeiros de *A. compactum*, tais como *H. auroguttatus*, *H.luetkeni*, *P. maculatus*, *P. piraya* e *Rineloricaria* sp., que ainda não haviam sido relatados em trabalhos anteriores.

Além disso, a prevalência de infecção foram relativamente baixas em alguns hospedeiros, como *H. malabaricus*, dados menores que os resultados de Belei e colaboradores no Médio Rio Doce (2013).

Segundo Martins e colaboradores (2002), as altas taxas de infecção das metacercárias de *A. compactum* podem depender do aumento da temperatura ambiente. Mesmo que os exemplares do atual estudo sejam coletados na estação mais quente e úmida da região (entre setembro e janeiro), alguns fatores podem interferir nas taxas de infecção, tais como transparência da água, condutividade e presença de clorofila a (que sugere uma pequena quantidade de nutrientes na água), até mesmo a presença de rejeitos de minério de ferro na água, podendo limitar o crescimento da população de caramujos (primeiro hospedeiro intermediário) e afetar, conseqüentemente, as taxas de intensidade, prevalência e abundância de infecção nos hospedeiros coletados (CARVALHO *et al.*, 2012; RAMOS *et al.*, 2013). No entanto, tal inferência não foi possível realizar na presente pesquisa, podendo ser base para futuros estudos.

A. compactum apresenta uma vasta lista de espécies de hospedeiros, e, apesar de apresentar um ciclo de vida complexo, sua capacidade generalista pode favorecer sua sobrevivência em ambientes impactados, tais como o Rio Doce. O encontro de novos hospedeiros para *A. compactum* no atual estudo podem servir de base para estudos específicos a respeito do assunto.

Além de *A. compactum*, outro representante do gênero *Austrodiplostomum* foi encontrado no presente estudo parasitando *Pterygoplichthys* sp., que também não havia sido reportado como hospedeiro de um diplostomídeo. No entanto, devido a diferenças significativas em sua morfologia, principalmente pelo aspecto esférico do órgão tribocítico, os exemplares de *Pterygoplichthys* sp. foram identificados como *Austrodiplostomum* sp. o que, de qualquer forma, amplia a distribuição geográfica deste gênero na região Neotropical e uma possível nova espécie.

6.4 Clinostomidae

Além de apresentar cestódeos e diplostomídeos em suas vísceras, exemplares de *C. kelberi* também se encontravam parasitados por alguns

clinostomídeos, tais como *Clinostomum* sp. Dois hospedeiros estavam poliparasitados por *P. macrophallus* e *Clinostomum* sp., ambos no rio São José, em Linhares.

Os membros da família Clinostomidae Lühe, 1901 são trematódeos digenéticos encontrados, na fase adulta, na cavidade oral e no esôfago, principalmente de aves e répteis, mas ocasionalmente em mamíferos, incluindo humanos (KANEV, RADEV & FRIED, 2002). *Clinostomum* é um dos gêneros mais ricos em espécies nesta família, sendo considerados cosmopolitas (KANEV, RADEV & FRIED, 2002). Na América do Sul, são conhecidas três espécies do gênero, *Clinostomum detruncatum* Braun 1899, *Clinostomum heluans* Braun, 1899, e *Clinostomum marginatum* (Rudolphi, 1819) e as metacercárias são relatadas em diferentes espécies de peixes no Brasil (VICENTE & FERNANDES, 1978; DIAS *et al.*, 2003; PINTO & MELO, 2012). *Clinostomum marginatum* é considerado o mais comum de ocorrer tanto em aves quanto em peixes (PINTO *et al.*, 2015).

Os clinostomídeos coletados em *C. kelberi* e *P. affinis* se assemelham a *C. marginatum* no entanto, apesar de esta espécie ter sido sequenciada a partir de isolados obtidos de aves e peixes na América do Norte (CAFFARA *et al.*, 2011; ROSSER *et al.*, 2017), sua atribuição específica deve ser confirmada uma vez que isolados da localidade-tipo no Brasil, são sequenciados (PINTO *et al.*, 2015; MONTES *et al.*, 2021). Dessa forma, optamos em classificar os parasitos como *Clinostomum* sp. sendo, de qualquer forma, o primeiro registro da espécie no Baixo Rio Doce.

Apesar dos avanços na era molecular sobre o conhecimento taxonômico das espécies pertencentes à família Clinostomidae, alguns grupos desses parasitos de vertebrados permanecem com poucos estudos. É o caso das espécies do gênero *Ithyoclinostomum* Wittenberg, 1925, até recentemente monotípico e restrito na América do Sul, mas, com a publicação de novas ocorrências, sua distribuição expandiu-se para a América do Norte após a descrição de uma nova espécie do gênero.

A espécie-tipo do gênero *Ithyoclinostomum*, *Ithyoclinostomum dimorphum*, foi originalmente descrita como *Distoma dimorphum* por Diesing (1850) de ardeídeos no Brasil. Desde então, uma complexa história taxonômica começou a se desenrolar. Primeiramente, diferentes espécies foram encontradas no

material estudado por Diesing (1850), uma das quais foi incluída no gênero *Clinostomum* (como *Clinostomum dimorphum*) por Braun (1901). Então, anos mais tarde, *C. dimorphum* foi alocado em um novo gênero, *Ithyoclinostomum* Witenberg, 1926, caracterizado por seu impressionante tamanho, podendo atingir até 10 cm. Desde então, a descoberta de aves e peixes abrigando clinostomídeos muito grandes identificados como *I. dimorphum* tornou-se comum na América do Sul, e a maioria dos relatos veio do Brasil (para uma lista detalhada de hospedeiros, localidades e relatos, ver Briosio-Aguilar *et al.*, 2019). Até onde sabemos, estes são os maiores trematódeos encontrados nestes vertebrados [considerando o respectivo estágio de desenvolvimento – adulto de aves e metacercárias de peixes (principalmente eritrinídeos)]. Essa característica morfológica peculiar foi considerada diagnóstica para o gênero e utilizada, por exemplo, para tipificar a subfamília Ithyoclinostominae por Yamaguti (1958). Esta classificação baseada no tamanho foi mantida na revisão taxonômica mais recente da espécie (KANEV, RADEV & FRIED, 2002). Tal espécie, classificada inicialmente como *I. dimorphum*, foi encontrada em exemplares de *Hoplias* spp. no presente estudo, e as análises foram publicadas em recente artigo (SIMÕES *et al.*, 2022).

Apesar dos avanços na classificação filogenética dos trematódeos, especialmente dos Clinostomidae, não existiam sequências disponíveis para *I. dimorphum*, espécie-tipo do gênero *Ithyoclinostomum*. Mais recentemente, a segunda espécie do gênero, *Ithyoclinostomum yamagutii* Rosser, Woodyard, Mychajlonka, King, Griffin, Gunn & López-Porras, 2020, foi descrita em aves e ligada a metacercárias de peixes na América do Norte e América Central (BRIOSIO-AGUILAR *et al.*, 2019; ROSSER *et al.*, 2020). Novamente, o grande tamanho (~25 mm; porém muito menor que *I. dimorphum*) foi um dos diferenciais para inclusão dos espécimes no gênero *Ithyoclinostomum*. Embora dados filogenéticos robustos tenham revelado *I. yamagutii* como distinto de outros gêneros de clinostomídeos, o status congênere com *I. dimorphum* precisava ser confirmado.

As análises filogenéticas baseadas nas análises genéticas no presente trabalho puderam revelar que *I. dimorphum* não deve ser considerada gênero distinto de clinostomídeos. Assim, propomos a sinonimização de *Ithyoclinostomum* Witenberg, 1926 com *Clinostomum* Leidy, 1856 e o

restabelecimento de *Clinostomum dimorphum* (Diesing, 1850) (SIMÕES *et al.*, 2022). No entanto, em nossas análises filogenéticas, o recentemente descrito *Ithyoclinostomum yamagutii* apresentou-se como uma linhagem precoce divergente e isolada de outros clinostomídeos, como demonstrado anteriormente por Briosio-Aguilar e colaboradores (2019) e Rosser e colaboradores (2020). Por um lado, esses autores atribuíram seus espécimes a *Ithyoclinostomum* principalmente com base: no tamanho grande do corpo, na posição do saco do cirrus (pré-testicular), na forma dos testículos (profundamente lobados), gônadas localizadas no quarto posterior do corpo e a grande área livre (sem nenhum órgão interno) entre a ventosa ventral e o testículo anterior; essas características são encontradas nas espécies-tipo do gênero, *Ithyoclinostomum dimorphum*, agora *C. dimorphum*. Por outro lado, os mesmos autores comentam, de forma assertiva, que a obtenção de dados moleculares da espécie-tipo de *Ithyoclinostomum* é crucial tanto para confirmar ou rejeitar sua hipótese quanto para avaliar as inter-relações entre outros gêneros de clinostomídeos, o que foi feito neste estudo. As filogenias e as altas divergências moleculares verificadas entre *C. dimorphum* e *I. yamagutii* revelam inequivocamente que estas espécies não são congênicas.

É possível que "*Ithyoclinostomum*" *yamagutii* possa merecer um novo gênero de clinostomídeos para acomodá-lo. No entanto, dado o cenário complexo levantado na taxonomia baseada em morfologia de Clinostomidae (características tradicionalmente usadas, como tamanho do corpo e disposição do sistema genital, não eram confiáveis para fins de classificação de nível superior), optamos por não erigir um novo gênero para "*Ithyoclinostomum*" *yamagutii* até que dados moleculares de outros gêneros de clinostomídeos estejam disponíveis, especialmente para *Clinostomatopsis sorbens* (Braun, 1899), o tipo e única espécie do gênero *Clinostomatopsis* Dollfus, 1932 (KANEV, RADEV & FRIED, 2002). Este gênero de clinostomídeos é o único conhecido de aves sem dados moleculares disponíveis. Nossa abordagem conservadora também se justifica devido às semelhanças morfológicas entre "*Ithyoclinostomum*" *yamagutii* e *C. sorbens* que incluem: gônadas localizadas na extremidade posterior do corpo e presença de testículos profundamente lobados ou de formato irregular. Dada a provável natureza plesiomórfica/homoplástica dos traços morfológicos usados para diferenciar subfamílias e gêneros (por

exemplo, posição dos poros genitais e extensão anterior de vitellaria). Também optamos por não transferir "*Ithyoclinostomum*" *yamagutii* para o gênero *Clinostomatopsis*.

Apesar da contribuição da filogenia molecular para propor uma classificação mais natural que reflita a evolução dos membros da família Clinostomidae, alguns táxons-chave (gêneros e espécies tipo) ainda precisam ser sequenciados para testar a taxonomia integrativa e caso não haja concordância, rever uma delas, morfologia ou genética. Por exemplo, em répteis, o clinostomídeo *Odhneriotrema incommodum* (Leidy, 1856) foi sequenciado com base em vermes encontrados em jacarés dos EUA (WOODYARD *et al.*, 2017). No entanto, não há dados moleculares disponíveis para *Odhneriotrema microcephala* (Travassos, 1922), a espécie-tipo do gênero *Odhneriotrema* Travassos, 1928, descrita para o Brasil. Assim, apesar das semelhanças morfológicas entre essas espécies, a possibilidade de corresponderem a gêneros distintos não pode ser descartada. Tal atraso na geração de dados moleculares também é verificado para o gênero *Nepthrocephalus* Odhner, 1902, encontrado em répteis africanos, que é o gênero tipo de Nephrocephalinae Travassos, 1928. Portanto, a posição filogenética de seus membros em relação aos demais clinostomídeos é desconhecido.

No geral, as questões taxonômicas levantadas neste estudo destacam a importância da disponibilidade de dados moleculares para as espécies-tipo de gêneros de trematódeos descritos da América do Sul. Desde o século XIX, dezenas de gêneros de trematódeos foram propostos para este continente, inicialmente a partir de material coletado no Brasil pelo naturalista Johann Natterer e descrito por helmintólogos europeus. Mais tarde no século XX, renomados taxonomistas de trematódeos como Szidat, Travassos, Thatcher e seus discípulos descreveram vários outros gêneros de trematódeos (CRIBB & BRAY, 2011), especialmente no Brasil e na Argentina. Infelizmente, a maioria das espécies-tipo desses gêneros não foi sequenciada até agora. A falta de sequências para essas espécies pode ser reflexo da demora e acesso limitado às metodologias de sequenciamento em comparação com países desenvolvidos. Esse viés é verificado em diferentes grupos de trematódeos (POULIN & JORGE 2019), e apesar dos avanços verificados nos últimos anos, a maioria das espécies de trematódeos descritos da América do Sul ainda não

foram sequenciados. Tais informações são essenciais para uma classificação mais robusta e natural e principalmente para apoiar uma distribuição inter ou transcontinental de espécies atribuídas ao mesmo gênero.

6.5 Camallanidae

Três espécies de nematoides da família Camallanidae [*Procamallanus* (*Procamallanus*) *peraccuratus*, *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) *inopinatus* e *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) sp.] foram encontradas em diferentes hospedeiros coletados. Estes helmintos são parasitos de estômago e intestino de peixes, anfíbios e répteis (YAMAGUTI, 1961). As espécies pertencentes a esta família apresentam a cápsula bucal com formato proeminente e esclerotizado (PINHEIRO *et al.*, 2018). Yeh (1960) subdividiu a família em duas subfamílias: Camallaninae Railliet & Henry, 1915 (cápsula bucal dividida em duas metades) e Procamallaninae Yeh, 1960 (cápsula bucal única).

Dentro de Procamallaninae, cinco gêneros já foram descritos: *Procamallanus*, *Malayocamallanus* Jothy e Fernando, 1970, *Punctocamallanus* Moravec e Scholz, 1991, *Spirocamallanoides* Moravec & Sey, 1988 e *Denticamallanus* Moravec & Thatcher, 1997 (MORAVEC & SCHOLZ 1991; MORAVEC & THATCHER 1997; RIGBY & RIGBY 2014).

A principal característica dos membros do gênero *Procamallanus* é a presença da cápsula bucal fortemente esclerotizada (BAYLIS, 1923; MORAVEC & SCHOLZ, 1991; MORAVEC & THATCHER, 1997). Nematoides deste gênero são predominantemente parasitos de peixes de água doce e ampla distribuição geográfica. Existem cerca de 40 espécies pertencentes ao subgênero *Procamallanus* (*Procamallanus*) registradas em várias partes do mundo, porém apenas 3 espécies são conhecidas no Brasil: *Procamallanus* (*Procamallanus*) *peraccuratus*, *Procamallanus* (*Procamallanus*) *annipetterae* e *Procamallanus* (*Procamallanus*) *spiculastratus* (PINTO *et al.*, 1976; KOHN *et al.*, 1988; PINHEIRO *et al.*, 2018).

Os exemplares encontrados no atual estudo em *Geophagus brasiliensis* foram identificados como *P. (P.) peraccuratus*, o qual já foi relatado em diferentes regiões do Brasil, como no sul do país (BELLAY *et al.*, 2011; LEHUN *et al.*, 2023).

Na região sudeste, existem relatos em rios no Rio de Janeiro (CARVALHO, TAVARES & LUQUE, 2010), no Espírito Santo (PINHEIRO *et al.*, 1976) e em Minas Gerais, no Médio Rio Doce (MOREIRA, 2000), a maioria coletada em *G. brasiliensis*. Dessa forma, este trabalho amplia a distribuição geográfica do parasito e é o primeiro registro desta espécie em peixes no Baixo Rio Doce.

Nematoides do subgênero (*Procamallanus*) *Spirocamallanus* também foram encontrados no atual estudo, outro camallanídeo que, só no Brasil, são descritas 19 espécies pertencentes a este subgênero e a espécie com maior número de registros no país é *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) *inopinatus* (LUQUE *et al.*, 2011). Esta espécie foi descrita originalmente em 1928 infectando peixes no sul do Brasil (TRAVASSOS *et al.* 1928; KOHN & FERNANDES, 1987) e, desde então, já foi relatado parasitando diferentes famílias de peixes, dentro de Characiformes, Perciformes e Siluriformes (MORAVEC, 1998; AILÁN-CHOKE *et al.*, 2020).

Procamallanus (*S.*) *inopinatus* infecta uma ampla gama de peixes hospedeiros nos sistemas de bacias hidrográficas do Brasil (TAKEMOTO *et al.*, 2009; KOHN *et al.*, 2011; GONÇALVES *et al.*, 2016; FUJIMOTO *et al.*, 2018), e já foi relatada no médio Rio Doce, parasitando *Leporinus steindachneñi* Eigenmann, 1907, *A. bimaculatus* e *H. malabaricus* (MOREIRA, 2000). Luque e colaboradores (2011) listaram 56 espécies de peixes de água doce infectados por este parasito e o atual estudo amplia esta lista uma vez que é a primeira vez que se relata o encontro deste parasito em *H. intermedius*.

No presente estudo, *P. (S.) inopinatus* é considerada o segundo parasito com baixa especificidade encontrado, além de *A. compactum*, sendo coletado em 5 espécies de hospedeiros, todos piscívoros, e em quase todos os pontos de coleta, com exceção em Linhares/AFL. Segundo Neves e colaboradores (2020), essa espécie é considerada fortemente resistente às mudanças ambientais, o que aumenta as chances de expandir sua distribuição geográfica. Isso poderia explicar o encontro deste parasito em diferentes espécies de peixes e localidades no presente estudo, tanto em áreas afetadas ou não. Apesar de não ser possível realizar a relação de causa e efeito destes parasitos como bioindicadores no presente trabalho, muitos outros já foram realizados utilizando *P. (S.) inopinatus* para este fim. Ribeiro (2013) registrou a presença de *P. (S.) inopinatus* infectando *Psalidodon paranae* (Eigenmann, 1914) do rio Paraná em

áreas altamente poluídas por efluentes de regiões urbanas e agrícolas, indicando que este nematoide também pode ser utilizado como bioindicador. Morais (2012), já utilizou *P. (S.) inopinatus* como bioindicador de metais pesados, o que evidencia sua presença em sistemas hídricos contaminados por esses componentes como o rio Doce, que foi contaminado pelo minério da barragem. Os dados disponibilizados neste trabalho poderão auxiliar estudos futuros com a espécie em questão.

Apesar de ser uma espécie muito comum de ser encontrada em peixes de água doce em várias regiões do Brasil, o presente estudo encontrou duas espécies de larvas de *Procamallanus (Spirocamallanus)*; uma classificada como *P. (S.) inopinatus* e a outra inconclusiva a nível específico. No entanto, é possível observar diferenças significativas no número de cristas na cápsula bucal [(23 contra 8-9 em *P. (S.) inopinatus*)] e ausência do primórdio tubular genital, presente em *P. (S.) inopinatus*, o que difere desta espécie. Dessa forma, ainda que não tenham sido encontradas as formas adultas deste indivíduo, há um forte indicativo de que existem outras espécies de *Procamallanus (Spirocamallanus)* em peixes do Baixo Rio Doce.

6.6 Anisakidae

Entre os nematoides coletados, larvas de *Contracaecum* sp., pertencentes à família Anisakidae, foram encontradas encistadas na cavidade intestinal de três espécies de peixes (*H. intermedius*, *P. nattereri* e *P. piraya*). Segundo Martins, Onaka & Frederick (2004), os parasitos adultos deste táxon se alojam no estômago ou intestino delgado de aves piscívoras. Os copépodes de água doce podem ser infectados por larvas de segundo estágio, livre nadantes, quando as ingerem. O terceiro estágio larval pode ser encontrado comumente encapsulados nos mesentérios e órgão viscerais de peixes de água doce e salgada, assim como encontrado no presente estudo.

Segundo Pavanelli e colaboradores (2015), o gênero *Contracaecum* apresenta ampla distribuição geográfica e é encontrado tanto em peixes selvagens quanto em sistemas de cultivo, sendo relatado em mais de 70 espécies de peixes em quase todas as regiões do Brasil. Em complemento,

Pinheiro e colaboradores (2019) e Reis e colaboradores (2021) realizaram um checklist dos peixes registrados com *Contracaecum* sp. em diferentes bacias hidrográficas brasileiras, além de registros de peixes marinhos infectados com as larvas do parasito. O presente estudo amplia os registros deste parasito em *H. intermedius*, sendo considerado um novo hospedeiro para as espécies do gênero.

Tanto *Contracaecum* sp. quando *Clinostomum* sp. podem apresentar potencial zoonótico devido aos seus semelhantes ciclos de vida, quando adultos se alojam no estômago ou no intestino delgado de aves piscívoras e seus ovos são liberados na água. Em ambos os ciclos, os peixes podem atuar tanto como hospedeiro intermediário ou paratênico, quando se alimentam de copépodes, moluscos, gastrópodes e outros peixes menores, os quais são meios de manutenção do ciclo do parasito. Os seres humanos são considerados os hospedeiros acidentais, em casos de consumo de peixes infectados por estas larvas (CHUNG *et al.*, 1995; AOHAGI *et al.*, 1992; MARTINS, ONAKA & FREDERICK, 2004; MADI & SILVA, 2005). Dessa forma, o encontro de parasitos com potencial zoonótico, tais como as larvas do nematoide *Contracaecum* sp., além dos trematódeos *Clinostomum* sp., atua como um alerta de saúde pública para estudos futuros.

6.7 Pharyngodonidae

A terceira família de nematoides registrada no atual estudo é Pharyngodonidae. Esta família apresenta 8 gêneros de parasitos que são encontrados em peixes na América do Sul, segundo a mais recente atualização do grupo por Rodrigues e colaboradores (2017): *Brasilnema* Moravec, Kohn & Femandes, 1992; *Cosmoxynema* Travassos, 1949 (machos desconhecidos); *Cosmoxynemoides* Travassos, 1949 (machos desconhecidos); *Ichthyouris* Inglis, 1962; *Oxyuricassis* Rodrigues *et al.*, 2017; *Parasynodontisia* Moravec, Kohn & Femandes, 1992; *Spinoxyuris* Petter, 1994; *Travnema* Pereira, 1938 (MORAVEC, KOHN & FERNANDES, 1992; MORAVEC, 1998).

Estes nematoides foram encontrados em *Metynniss maculatus*, sendo este o primeiro registro de nematoides parasitos neste hospedeiro no Brasil. Espécie

da família Pharyngodonidae, tais como *Spinoxyuris oxydoras* Petter, 1994, foi registrada parasitando outras espécies de *Metynnis* no Brasil, tais como encontrado em *Metynnis hypsauchen* Müller e Troschel, 1844 da bacia do Rio Jari, na Amazônia brasileira e em *Metynnis lippincottianus* (Cope, 1870) da planície de inundação do alto rio Paraná e rio Corvo e Guairacá (MOREIRA, 2008), na região da Amazônia oriental, Macapá (AP) (HOSHINO & TAVARES-DIAS, 2014) e em planície de Inundação do Alto rio Paraná e Tributários do rio Paranapanema (MOREIRA, 2008). No entanto, especificamente o gênero *Ichthyouris*, pertencente à família Pharyngodonidae, não havia sido relatado em peixes dessa espécie, sendo um registro totalmente inovador para a área.

O gênero *Ichthyouris* foi o primeiro descrito para a família Pharyngodonidae. A espécie tipo, *Ichthyouris ro* Inglis, 1962, foi encontrada no intestino de *Electochromis ornatus* (Regan, 1922) na Guiana (MORAVEC, KOHN & FERNANDES, 1992) e redescrita por Cárdenas e colaboradores (2018). Atualmente, são conhecidas sete espécies pertencentes ao gênero, *I. ro*; *Ichthyouris ovifilamentosa* Moravec & Thatcher, 2001; *Ichthyouris brasiliensis* Moravec, Kohn & Fernades (1992); *Ichthyouris voltagrandsis* Martins, Yoshitoshi & Umekita (2001); *Ichthyouris bursata* Moravec & Laoprasert (2008); *Ichthyouris laterifilamenta* Moravec *et al* (1992); *Ichthyouris nanuni* Cárdenas *et al.*, 2019 (MARTINS, YOSHITOSHI & UMEKITA, 2001; CÁRDENAS *et al.*, 2018; 2019).

No entanto, devido a ausência de machos da espécie e a complexidade de identificação a nível específico baseado em apenas um sexo, os exemplares encontrados foram classificados a nível genérico, a serem determinados geneticamente em estudos futuros.

6.8 Ausência de Monogenoidea

Apesar do presente trabalho encontrar uma variedade de grupos de helmintos em diferentes espécies de peixes, um fato que chamou a atenção foi que representantes da classe Monogenoidea, mencionado em diferentes trabalhos com alto índice de captura na ictiofauna (KOHN & COHEN, 1998;

MORAIS, 2012; HASUIKE *et al.*, 2023), não foram encontrados nos peixes avaliados.

Sabe-se que os peixes da classe Characiformes apresentam alta abundância de monogenóides, que apresentam adaptações diferentes para parasitar este grupo de peixes (BOEGER & VIANNA, 2006; YAMADA *et al.* 2007). Uma das espécies desta ordem capturadas no atual estudo que já foi relatada por Moraes (2012) com alta prevalência, riqueza e abundância de monogenóides é *Pygocentrus nattereri*, com mais de 50 mil exemplares deste grupo de parasito encontrados em *P. nattereri* na bacia Amazônica e já foi considerada a espécie com maior número de metazoários parasitos de peixes de água doce no Brasil (EIRAS *et al.*, 2010).

Outro Characiformes que foi encontrado em todos os pontos de coleta no atual estudo, *P. argenteus*, não apresentou qualquer parasito, nem mesmo monogenóides, como já relatado em literaturas com diferentes espécies de *Prochilodus* spp., como Leite e colaboradores (2018). Mesmo sendo uma espécie de peixe migratória (RESENDE *et al.* 1996), que pode habitar áreas que têm características estruturais diferentes, incluindo zonas úmidas e barragens (CARO *et al.* 1997), o que pode favorecer a alta riqueza parasitária observada em outros estudos, tal fato não pode ser comprovado neste trabalho.

Em comparação aos resultados obtidos pelos estudos realizados no Rio Doce, Moreira (2000) relata que menos de 1% dos peixes coletados estavam parasitados por monogenéticos e Belei e colaboradores (2013) não mencionam o encontro destes organismos em seu estudo.

Em se tratando das coletas, a técnica adotada para eutanasiar os peixes foi o uso do óleo de cravo diluído em álcool e água. No entanto, quando as coletas dependiam apenas dos pescadores, alguns relataram que realizam a concussão mecânica ao capturar os peixes, principalmente com aqueles carnívoros, tais como *P. nattereri*. O uso de óleo de cravo é relatado por Belei e colaboradores (2013), mas não é mencionado no estudo de Moreira (2000).

Dessa forma, a ausência deste grupo de platelmintos pode ser interpretada de diversas formas, desde o processo de concussão mecânica, problemas com transporte dos peixes até o laboratório, presença do óleo de cravo que estimulou a retirada desses parasitos no peixe, ausência destes organismos neste sistema fluvial a, de fato, influência direta de parâmetros físicos e químicos do ambiente

sobre estes parasitos, o que também pode ter refletido na ausência de acantocéfalos. De qualquer forma, a reflexão desse fato pode ser importante para a interpretação da influência de ectoparasitos em ambientes contaminados com metais ou devido a diferentes métodos de captura e eutanásia de peixes.

6.9 Aspectos ambientais e ictiofaunísticos

Em se tratando de ambientes contaminados, apesar do atual estudo coletar peixes de diferentes ambientes, afetados ou não diretamente pelos rejeitos de minério, não foi possível realizar comparações devido ao baixo quantitativo de peixes coletados em cada região. Apenas *P. piraya* apresentou um número expressivo de peixes coletados no rio São José, em Linhares (36); *L. grossidens*, no Rio Doce em Linhares (23) e em Colatina (18); e a espécie *Mugil liza*, com 19 exemplares coletados no Rio Doce, em Colatina. Do total de peixes, apenas a espécie *Prochilodus argenteus* foi encontrado em todas as localidades coletadas, somando 34 peixes coletados. Outras espécies foram encontradas em quase todos os locais amostrados, tais como *H. malabaricus* (exceto rio Santa Maria) e *P. maculatus* (exceto rio Manhuaçu). Com relação às localidades, em um quantitativo geral, o Rio Doce em Baixo Guandu apresentou maior número de parasitos (268), seguido pelo Rio Doce em Linhares.

Devido à proximidade com a região litorânea, muitas espécies encontradas neste trabalho são consideradas estuarinas, ou seja, utilizam o Rio Doce em seu ciclo de vida, a exemplo de *Genidens genidens* e *L. grossidens* (CHAO, PEREIRA & VIEIRA, 1985). Algumas espécies consideradas exóticas no Rio Doce foram coletadas, segundo o levantamento que Vieira realizou em 2010, tais como *M. conirostris*, *S. brasiliensis*, *P. nattereri* e *P. piraya*, *C. kelberi*, *C. rendalli*, *O. niloticus*, *C. gariepinus* e *P. maculatus*. A introdução de espécies não nativas, principalmente piscívoras, é um problema antigo relatado no Rio Doce e a presença desses vertebrados pode ser a causa da extinção de espécies de peixes e a queda dos estoques pesqueiros (ALVES *et al.*, 2021). Ainda de acordo com o levantamento de Vieira (2010), a espécie *Caranx latus* não havia sido relatada no Baixo Rio Doce até então. Somente em 2022, Rodrigues e colaboradores registram o encontro da espécie na foz do Rio Doce, em Regência (ES). Dessa forma, o atual estudo relata a permanência de espécies

consideradas exóticas e o encontro de *C. latus* no Rio Doce, em Colatina, fato que pode contribuir para estudos de ictiofauna futuros.

O estudo taxonômico e levantamento da parasitofauna é parte fundamental na compreensão da biodiversidade local. Dessa forma, o atual estudo tem a importância de abordar os primeiros dados taxonômicos e sistemáticos da helmintofauna de peixes coletados no Baixo Rio Doce. De forma qualitativa, os dados obtidos demonstram que apesar da contaminação prévia por rejeitos de mineração no Rio Doce, várias espécies de helmintos com ciclo biológico complexo ainda ocorrem na região avaliada, apontando para a existência de relações ecológicas relacionadas aos processos de transmissão parasitária.

De fato, a maioria das espécies de helmintos obtidas de peixes da calha principal tem o ciclo biológico heteroxênico, sendo o encontro das mesmas um indício de que as interações biológicas envolvidas na transmissão dos parasitos entre os diferentes hospedeiros permanecem ocorrendo no Rio Doce. Contudo, apenas estudos ecológicos futuros poderão trazer informações sobre a existência ou não de impacto da contaminação por rejeitos de mineração na comunidade de helmintos de peixes. Assim, os dados obtidos neste estudo podem contribuir como base para pesquisas futuras na região do Baixo Rio Doce, visando caracterizar potenciais bioindicadores de impactos e, conseqüentemente, contribuir para o monitoramento ambiental, além da vigilância de espécies parasitos de importância médica e veterinária.

7. CONCLUSÕES

Os estudos helmintológicos de amostras de peixes coletados na bacia do Baixo Rio Doce permitiram alcançar as seguintes conclusões:

- Treze espécies de helmintos parasitos foram encontradas em 15 espécies de peixes da Bacia do Baixo Rio Doce, sendo todas elas registradas pela primeira vez no Baixo Rio Doce. Desse total, 10 espécies foram encontradas na calha principal deste rio.
- Metacercárias de *Manteria* sp. são registradas pela primeira vez em *Lycengraulis grossidens* no Brasil, sendo as primeiras sequências genéticas geradas para essa espécie de trematódeos.
- Dados genéticos confirmaram que *Proteocephalus macrophalus* e *P. microscopicus* são espécies distintas.
- Metacercárias de *Dolichorchis* sp. ocorrem nos olhos de *Hoplias malabaricus*, sendo este o primeiro registro de metacercárias deste gênero em peixes no Brasil.
- *Clinostomum* sp., considerado geneticamente compatível com uma espécie indeterminada encontrada na Argentina e no México, ocorre em *C. kelberi* e *P. affinis* no Brasil.
- *Hypostomus auroguttatus*, *H. luetkeni*, *P. maculatus*, *P. piraya* e *Rineloricaria* sp. são novos hospedeiros de *A. compactum*.
- Estudos genéticos revelaram que não existe suporte filogenético para os gêneros *Ithyoclinostomum* e *Clinostomum* serem considerados distintos. Dessa forma, *Ithyoclinostomum* Witenberg, 1926 e *Clinostomum* Leidy 1856 são sinonimizados e *Clinostomum dimorphum* (Diesing, 1850) restabelecido.

- *Hoplias intermedius* é um novo hospedeiro conhecido para *P. (S.) inopinatus* e *Contracaecum* sp.
- *Contracaecum* sp. é registrado pela primeira vez em *Pygocentrus piraya*.
- *Ichthyouris* sp. é registrado pela primeira vez em *Metynnias maculatus*.
- Os dados obtidos demonstram que várias espécies de helmintos com ciclo biológico complexo ainda ocorrem na região avaliada, apontando a existência das relações ecológicas relacionadas aos processos de transmissão.

REFERÊNCIAS

- Achatz TJ, Martens JR, Kostadinova A, Pulis EE, Orlofske AS, Bell JÁ, Fecchio A, Oyarzún-Ruiz P, Syrota YY, Tkach VV 2022. Molecular phylogeny of *Diplostomum*, *Tylodelphys*, *Austrodiplostomum* and *Paralaria* (Digenea: Diplostomidae) necessitates systematic changes and reveals a history of evolutionary host switching events. *International Journal for Parasitology* 52: 47–63.
- Acosta AA, Godoy AT, Yamada, FH, Brandão H, Paes JVK, Bongiovani MF, Müller MI, Yamada POF, Narciso RB, da Silva RJ 2016. Aspectos parasitológicos dos peixes. In: da SILVA RJ. Integridade ambiental da represa de Jurumirim: ictiofauna e relações ecológicas. Editora UNESP, São Paulo, pp 115–192.
- Ailán-Choke LG, Tavares LER, Luque JL, Pereira, FB 2020. An integrative approach assesses the intraspecific variations of *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) *inopinatus*, a common parasite in Neotropical freshwater fishes, and the phylogenetic patterns of Camallanidae. *Parasitology* 147(14):1752–1764.
- Alves CBM, Gomes JPC, Pessali TC & Gasparini JL 2021. Peixes ameaçados de extinção na bacia do Rio Doce. Livro vermelho da biota aquática do Rio Doce ameaçada de extinção pós rompimento da barragem de Fundão: Mariana, Minas Gerais. Editora Publisher, Fundação Biodiversitas, Minas Gerais, pp 206–266.
- Alves PV, de Chambrier A, Scholz T, Luque JL 2017. Annotated checklist of fish cestodes from South America. *ZooKeys* 650: 1–205.
- Amato JFR 1983. Digenetic trematodes of percoid fishes of Florianópolis, Southern Brasil - Acanthocolpidae. *Revista Brasileira de Biologia* 43: 65–72.
- Amato JFR, Boeger WA & Amato SB 1991. Protocolos para laboratório coleta e processamento de parasitas do pescado. Imprensa Universitária, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 81 pp.
- Amato-Neto V, Amato JPG & Amato VS 2007. Probable recognition of human anisakiasis in Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 49(4): 261–262.
- Anderson RC, Chabaud AG, Willmott S 2009. Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates. Ed. Cabi North American Office, Archival Volume, Cambridge. 463 pp.
- Aohagi Y, Shibahara T, Machida N, Yamaga Y, Kagota K, Hayashi T 1992. Natural infections of *Clinostomum complanatum* (Trematoda: Clinostomatidae) in wild herons and egrets, Tottori Prefecture, Japan. *Journal of Wildlife Diseases* 28: 470–471.

- Barber I, Hoare D & Krause J 2000. Effects of parasites on fish behaviour: a review and evolutionary perspective. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 10(2): 131–165.
- Barnett LJ & Miller TL 2018. Phenotypic plasticity of six unusual cercariae in nassariid gastropods and their relationships to the Acanthocolpidae and Brachycladiidae (Digenea). *Parasitology International* 67 (2):225–232.
- Barros LA, Moraes FILHO J & Oliveira RL 2007. Larvas de nematóides de importância zoonótica encontradas em traíras (*Hoplias malabaricus* Bloch, 1794) no município de Santo Antônio do Leverger, MT. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 59: 533–535.
- Baylis HA 1923. Report on a collection of parasitic nematodes, mainly from Egypt. Part III. Camallanidae, etc. with a note on *Probstmatria* and an Appendix on Acanthocephala. *Parasitology* 15: 24–38.
- Bayoumy EM, Osman HAM, El-Bana LF & Hassanain MA 2008. Monogenean parasites as bioindicators for heavy metals status in some Egyptian Red Sea fishes. *Global Veterinaria* 2(3): 117–22.
- Belei F, Ferreira SR, Perin LM, Braga FR, Sampaio WMS, Araújo JV & Takemoto RM 2013. First report of *Austrodiplostomum compactum* and *Ithyoclinostomum dimorphum* in trahira (*Hoplias malabaricus*) from the middle course of the Rio Doce, Minas Gerais, Brazil. *Arquivos do Instituto Biológico* 80 (2): 249–252.
- Bellay S, Ueda BH, Takemoto RM, Lizama MAP, Pavanelli GC 2011. Fauna parasitária de *Geophagus brasiliensis* (Perciformes: Cichlidae) em reservatórios do estado do Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências* 10: 74–78.
- Benigno RN, Knoff M, Matos ER, Gomes DC, Pinto RM, São Clemente SC 2014. Morphological aspects of Clinostomidae metacercariae (Trematoda: Digenea) in *Hopleryttrinus unitaeniatus* and *Hoplias malabaricus* (Pisces: Erythrinidae) of the Neotropical region, Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 86(2): 733–744.
- Bloom DD & Lovejoy NR 2012. Molecular phylogenetics reveals a pattern of biome conservatism in New World anchovies (family Engraulidae). *Journal of Evolutionary Biology* 25: 701–715.
- Boeger WA & Vianna RT 2006. Monogenoidea. In: Aquatic Biodiversity in Latin America. Vol. 1. Amazon fish parasites (Second edition), Thatcher VE, Adis EJ, Arias JR, Rueda-Delgado G & Wantzen KM. Pensoft Series Faunisticas, Sofia, Moscow, pp 43–116.
- Braun M 1901. Die arten der Gattung *Clinostomum* Leidy. *Zoologische Jahrbücher. Abteilung für Systematik* 14: 1–48.

- Bray RA, Webster BL, Bartoli P, Littlewood DTJ 2005. A molecular phylogenetic study of the Acanthocolpidae (Digenea). *Acta Parasitologica* 50: 281–291.
- Bravo-Hollis M 1954. Trematodos de peces marinas de aguas mexicanas. VII. *Anales del Instituto de Biología de la Universidad Nacional de México* 25 (1-2): 219–252.
- Briosio-Aguilar R, García-Varela M, Hernández-Mena DI, Rubio-Godoy M & Pérez-Ponce de León G 2019. Morphological and molecular characterization of an enigmatic clinostomid trematode (Digenea: Clinostomidae) parasitic as metacercariae in the body cavity of freshwater fishes (Cichlidae) across Middle America. *Journal of Helminthology* 93: 461–474.
- Bush AO, Lafferty KD, Lotz JM & Shostak AW 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. *Journal of Parasitology* 83(4): 575–583.
- Buckup PA 2011. The Eastern Brazilian Shield. In Albert JS & Reis RE. Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes. University of California Press, California, pp 203–210.
- Caballero YCE 1950. Un nuevo género de tremátodo de peces marinos perteneciente a la familia Acanthocolpidae Lühe, 1909. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México* 21: 95–102.
- Caffara M, Locke SA, Gustinelli A, Marcogliese DJ, Fioravanti ML 2011. Morphological and molecular differentiation of *Clinostomum complanatum* and *Clinostomum marginatum* (Digenea: Clinostomidae) metacercariae and adults. *Journal of Parasitology* 97: 884–891.
- Caira JN & Jensen K 2014. A digest of elasmobranch tapeworms. *Journal of Parasitology* 100: 373–391.
- Caira JN & Jensen K 2017. Planetary biodiversity inventory (2008–2017): Tapeworms from vertebrate bowels of the earth. Yurchak Printing, Pennsylvania, 463 pp.
- Campana-Rouget Y 1961. Remarques sur le cycle évolutif de *Camallanus lacustris* (Zoeqa, 1776) et la phylogenie des Camallanidae. *Annales de Parasitologie* 36 (3): 425–434.
- Cárdenas MQ, Fernandes BMM, Malta JCO, Porto DB & Morais AM 2018. On two species of *Ichthyouris* (Nematoda: Pharyngodonidae) parasites of *Mesonauta festivus* (Pisces: Cichlidae) in the Brazilian Amazon region. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 89: 631–636.
- Cárdenas MQ, Fernandes BMM, Justo MCN & Cohen SC 2019. A New Species of *Ichthyouris* Inglis, 1968 (Nematoda: Pharyngodonidae) Parasitizing Two Characiform Fishes from Tocantins River, Maranhão State, Brazil. *Comparative Parasitology* 86 (1): 5–9.

- Cardia DFF, Bresciani KDS 2012. Helminthoses zoonóticas transmitidas pelo consumo de peixes de forma inadequada. *Veterinária e Zootecnia* 19 (1): 55–65.
- Caro A, Combes C & Euzet L 1997. What makes a fish a suitable host for Monogenea in the Mediterranean? *Journal of Helminthology* 71: 203–210.
- Carvalho AR, Kozlowiski RA, Abdallah VD, Luque JLF 2012. Metacercárias de Diplostomidae (Digenea: Diplostomoidea) em *Geophagus brasiliensis* (Perciformes: Cichlidae) do rio Guandu, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 34 (2): 233–239.
- Carvalho AR, Tavares LER & Luque JL 2010. Variação sazonal dos metazoários parasitos de *Geophagus brasiliensis* (Perciformes: Cichlidae) no rio Guandu, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 32 (2), 159–167.
- Carvalho MS, Moreira RM, Ribeiro KD & de Almeida AM 2017. Concentração de metais no Rio Doce em Mariana, Minas Gerais, Brasil. *Acta Brasiliensis* 1 (3): 37–41.
- Chao LH, Pereira LE & Vieira JP 1985. Estuarine fish community of the dos Patos Lagoon, Brazil. A baseline study. In *Fish Community Ecology in Estuaries and Coastal Lagoons: Towards an Ecosystem Integration* (A. Yanez-Arancibia, ed.). DR(R) UNAM Press, Mexico, pp. 429–450.
- Chapman JM, Marcogliese DJ, Suski CD, Cooke SJ 2015. Variation in parasite communities and health indices of juvenile *Lepomis gibbosus* across a gradiente of watershed land-use and habitat quality. *Ecological Indicators* 57: 564–572.
- Choudhury A, Aguirre-Macedo ML, Curran SS, Núñez MO, Overstreet RM, León GPP, Santos CP 2016. Trematode diversity in freshwater fishes of the Globe II: 'New World'. *Systematic of Parasitology* 93: 271–282.
- Chung DI, Moon CH, Kong HH, Choi DW, Lim DK 1995. The first human case of *Clinostomum complanatum* (Trematoda: Clinostomidae) infection in Korea. *Korean Journal of Parasitology* 33: 219–223.
- Cizauskas CA, Carlson CJ, Burgio KR, Clements CF, Dougherty ER, Harris NC, Phillips AJ 2017. Parasite vulnerability to climate change: an evidence-based functional trait approach. *Royal Society Open Science* 11; 4 (1): 160535.
- Cohen SC, Justo MCN, Cardenas MQ, Knoff M 2023. Proteocephalidae in Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil. PNUD. Disponível em: <<http://fauna.jbrj.gov.br/fauna/faunadobrasil/180424>>. Acesso em: 04 Mar. 2023.

- Cohen SC, Justo MCN & Kohn A 2013. South American Monogeneoidea parasites of fishes, amphibians and reptiles. Brasília: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.
- Cohen SC & Kohn A 2008. South American Monogenea-list of species hosts and geographical distribution from 1997 to 2008. *Zootaxa* 1924 (1): 1–42.
- CONCEA - Resolução Normativa Nº 37 – Diretriz para prática de eutanásia – Brasília, 15 de fevereiro de 2018. Diretriz da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – Concea.
- Coppo GC, Passos LS, Lopes TOM, Pereira TM, Merçon J, Cabral DS & Chippari-Gomes AR 2018. Genotoxic, biochemical and bioconcentration effects of manganese on *Oreochromis niloticus* (Cichlidae). *Ecotoxicology* 27: 1150–1160.
- Cornaglia J, Jean M, Bertrand K, Aumaitre H, Roy M & Nickel B 2016. Gnathostomiasis in Brazil: an emerging disease with a challenging diagnosis. *Journal of Travel Medicine* 30: 24(1).
- Costa DPC, Monteiro CM & Brasil-Sato MC 2015. Digenea of *Hoplías malabaricus* (Actinopterygii, Erythrinidae) from upper São Francisco River, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 24: 129–135.
- Cribb TH & Bray RA 2011. Trematode families and genera: have we found them all? *Trends Parasitology* 27: 149–154.
- Cribb TH, Bray RA, Littlewood DTJ, Pichelin SP & Herniou EA 2001. The digenea. *Interrelationships of the Platyhelminthes*, 168–185.
- de Chambrier A, Rego AA, Vaucher C 1999. *Euzetiella tetraphylliformis* n. gen., n. sp., (Eucestoda: Proteocephalidae), parasite du poisson d'eau douce néotropical *Paulicea luetkeni* (Siluriforme, Pimelodidae). *Parasite* 6: 43–47.
- de Chambrier A, Waeschenbach A, Fisseha M, Scholz T, Mariaux J 2015. A large 28S rDNA-based phylogeny confirms the limitations of established morphological characters for classification of proteocephalidean tapeworms (Platyhelminthes, Cestoda). *Zookeys* 27 (500): 25–59.
- de Chambrier A, Zehnder MP, Vaucher C & Mariaux J 2004. The evolution of the Proteocephalidea (Platyhelminthes, Eucestoda) based on an enlarged molecular phylogeny, with comments on their uterine development. *Systematic Parasitology* 57: 159–171.
- de Jesus TB & de Carvalho CEV 2008. Utilização de Biomarcadores em peixes como ferramenta para avaliação de contaminação ambiental por mercúrio (Hg). *Oecologia Australis* 12 (4): 680–693.

- Dias MLGG, Santos MJ, Souza GTR, Machado MH, Pavanelli GC 2003. Scanning electron microscopy of *Ihyoclinostomum dimorphum* (Trematoda: Clinostomidae), a parasite of *Ardea cocoi* (Aves: Ardeidae). *Parasitology Research* 90 (6): 335–358.
- Diesing CM 1850. Systema helminthum. Wilhelmun Braumiiller, Vindobonae. Vol. 1, 679 pp.
- Drago FB, Lunaschi LI & Schenone M 2011. Digenean parasites of the neotropic cormorant, *Phalacrocorax brasilianus* (Gmelin, 1789) (Aves: Phalacrocoracidae) from Argentina: Distribution extension and new host records. *Check List* 7: 871–875.
- Dubois G 1970. Synopsis des Strigeidae et des Diplostomatidae (Trematoda). *Mémoires de la Société des Sciences Naturelles* 10 (2): 259–727.
- Eiras JC 1994. Elementos de Ictioparasitologia. Fundação Eng. António de Almeida, Portugal, 339 pp.
- Eiras JC, Velloso AL & Júnior JP 2017. Parasitos de peixes marinhos da América do Sul. Editora da FURG, Rio Grande do Sul, 445 pp.
- Eiras JC, Takemoto RM & Pavanelli GC 2010. Diversidade dos parasitas de peixes de água doce do Brasil. Clichetec, Nupelia, Maringá, 333 pp.
- Espindola HS 2007. A navegação do Rio Doce 1800-1850. *Revista Navigator* 3 (5): 50–72.
- Felizardo NN, Knoff M, Pinto RM & Gomes DC 2009. Larval anisakid nematodes of the flounder, *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890 (Pisces: Teleostei) from Brazil. *Neotropical Helminthology* 3 (2): 57–64.
- Fernandes BMM, ADN Arci & SC Cohen 2009. New data on some species of Monogenea and Digenea parasites of marine fish from the coast of the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 18: 13–18.
- Ferreira FF, de Freitas MBD, Szinwelski N, Vicente N, Medeiros LCC, Schaefer CEGR, Dergam JA 2020. Impacts of the Samarco tailing dam collapse on metals and arsenic concentration in freshwater fish muscle from Doce River, southeastern Brazil. *Integrated Environmental Assessment and Management* 16 (5): 622–630.
- Fonseca MCG, Knoff M, Felizardo NN, Di Azevedo MIN, Torres E JL & Gomes DC 2016. Integrative taxonomy of Anisakidae and Raphidascarididae (Nematoda) in *Paralichthys patagonicus* and *Xystreurys rasile* (Pisces: Teleostei) from Brazil. *International Journal of Food Microbiology* 235 (17): 113–124.

- Fontenele O 1948. Um caráter sexual secundário extragenital nos Tucunarés (*Actinopterygii*, *Cichlidae*). *Revista Brasileira de Biologia* 8 (2): 185–188.
- Fontenele O 1950. Contribuição para o conhecimento da biologia dos tucunarés (*Actinopterygii*, *Cichlidae*) em cativeiro. Aparelho reprodutor. Hábitos de desova e incubação. *Revista Brasileira de Biologia* 10 (4): 503–519.
- Freitas JFR & Kohn A 1964. Segunda espécie do gênero *Manteria* Caballero, 1950 (*Acanthocolpidae*). *Atas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro* 8: 31–33.
- Freze VI 1965. *Essentials of cestodology*. Vol. V. *Proteocephalata in fish, amphibians and reptiles*. Moskva: Izdatelstvo “Nauka”, 538 pp. (In Russian: English translation, Israel Program of Scientific Translation 1969 (597).
- Fujimoto RY, Couto MVS, Souza NC, Madi RR, Eiras JC, Martins ML 2018. Seasonality of *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) *inopinatus* (Nematoda: Camallanidae) infection in *Bryconops melanurus* (Characiformes: Iguanodectidae). *Boletim do Instituto de Pesca* 44 (4): e334.
- Garcia MLJ, Osório-Saraiba D & Constantino F 1993. Prevalencia de los parasitos y las alteraciones histológicas que producen a las tilápias de la laguna de Amela Tecoman, Colima. *Veterinaria México* 24: 199–205
- García-Varela M, Sereno-Urbe AL, Pinacho-Pinacho CD, Dominguez-Dominguez O, Pérez-Ponce de León G 2016. Molecular and morphological characterization of *Austrodiplostomum ostrowskiae* Dronen, 2009 (Digenea: Diplostomatidae) a parasite of cormorants in the Americas. *Journal of Helminthology* 90: 174–185.
- Gibson DI, Jones A & Bray RA 2002. Keys to the Trematoda. CAB International, London. Vol. 1, 521 pp.
- Gilbert M & Avenant-Oldewage A 2021. Monogeneans as bioindicators: A meta-analysis of effect size of contaminant exposure toward Monogenea (Platyhelminthes). *Ecological Indicators* 130.
- Gonçalves RA, Oliveira MS & Neves LR 2016. Seasonal pattern in parasite infracommunities of *Hoplerythrinus unitaeniatus* and *Hoplias malabaricus* (*Actinopterygii*: *Erythrinidae*) from the Brazilian Amazon. *Acta Parasitologica* 61 (1): 119–129.
- Graczyk T 1991. Variability of metacercariae of *Diplostomum spathaceum* (Rudolphi, 1819). (Trematoda, Diplostomidae). *Acta Parasitologica* 36: 135–139.
- Guevara YZC, de Souza JJLL, Veloso GV, Veloso RW, Rocha PA, Abrahão WAP & Filho EIF 2018. Reference values of soil quality for the Rio Doce Basin. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 42: 1–16.

- Guidelli G, Tavechio WLG, Takemoto RM, Pavanelli GC 2003. Fauna parasitária de *Leporinus lacustris* e *Leporinus friderici* (Characiformes, Anostomidae) da planície de inundação do alto rio Paraná, Brasil. *Acta Scientiarum: Biological Sciences* 28: 281–290.
- Gomes JHC 2002. Ecologia trófica de espécies de peixes do reservatório de Três Marias (MG) [Tese]. Universidade Federal de São Carlos, São Paulo.
- Hasuike WT, Michelan G, Quagliato IS, Brandão H, Takemoto RM 2023. Metazoan parasites of *Hoplias* aff. *malabaricus*, *Trachelyopterus galeatus* and *Schizodon borellii* (Osteichthyes) from the Protected Area and its main tributary, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology* 32 (4): e008323.
- Hatje V, Pedreira RMA, de Rezende CE, Schettini CAF, de Souza GC, Marin DC & Hackspacher PC 2017. The environmental impacts of one of the largest tailing dam failures worldwide. *Scientific Reports* 7: 1–13.
- Hechinger RF, Lafferty KD, Huspeni TC, Brooks AJ & Kuris AM 2007. Can parasites be indicators of free-living diversity? Relationships between species richness and the abundance of larval trematodes and of local benthos and fishes. *Oecologia* 151: 82–92.
- Hoshino MDFG & Tavares-Dias M 2014. Ecology of parasites of *Metynnus lippincottianus* (Characiformes: Serrasalminae) from the eastern Amazon region, Macapá, State of Amapá, Brazil. *Acta Scientiarum* 36 (2): 249–255.
- Hudson PJ, Dobson AP, Lafferty KD 2006. Is a healthy ecosystem one that is rich in parasites? *Trends in Ecology & Evolution* 21: 381–385.
- Huspeni TC & Lafferty KD 2004. Using larval trematodes that parasitize snails to evaluate a saltmarsh restoration project. *Ecological Applications* 14:795–804.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística 1957. Enciclopédia dos Municípios Brasileiros. Edição do IBGE, Rio de Janeiro, Vol. I.
- Inglis WG 1962. *Ichthyouris* to gen. et sp. nov. (Nematoda): na Oxyurid from a Freshwater Fish. *Journal of Helminthology* 36: 45–50.
- Jones A, Gibson DI & Bray R 2005. Keys to the Trematoda. UK: CABI Publishing and The Natural History Museum, London, Vol. 2, pp. 9–64.
- Kanev I, Radev V & Fried B 2002. Family Clinostomidae Lühe, 1901. In: Gibson, D. I., Jones, A., Bray, R. A. (Ed.), Keys to the Trematoda, CAB International, Wallingford, Vol. 1, pp. 113–120.
- Khalil LF, Jones A & Bray RA 1994. Keys to the Cestode Parasites of Vertebrates. CAB International, Wallingford, England.

- Kloss GR 1966. Helmitos parasitos de espécies simpátricas de *Astyanax* (Pisces, Characidae). *Papéis Avulsos do Departamento de Zoologia São Paulo* 18: 189–219.
- Kohn A & Cohen SC 1998. South American Monogenea list of species hosts and geographical distribution. *International Journal for Parasitology* 17.
- Kohn A & Fernandes BMM 1987. Estudo comparativo dos helmintos parasitos de peixes do Rio Mogi Guassu, coletados nas excursões realizadas entre 1927 e 1985. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 82: 483–500.
- Kohn A, Fernandes BMM & Baptista Farias MFD 1995. Metacercariae of *Diplostomum* (*Austrodiplostomum*) *compactum* (Trematoda, Diplostomidae) in the eyes of *Plagioscion squamosissimus* (Teleostei, Scianidae) from the reservoir of the Hydroelectric Power Station of Itaipu, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 90 (3): 341–344.
- Kohn A, Fernandes BMM & Cohen SC 2007. South American trematodes parasites os fishes. Ed. Imprinta Express, CNPq, Fiocruz, Rio de Janeiro, 318 pp.
- Kohn A, Fernandes BMM, Pipolo HV & Godoy MP 1988. Helmitos parasitos de peixes das Usinas Hidrelétricas da Eletrosul (Brasil). II. Reservatórios de Salto Osório e de Salto Santiago, Bacia do Rio Iguaçu. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 84 (3): 299–303.
- Kohn A, Moravec F, Cohen SC, Canzi C, Takemoto RM, Fernandes BMM 2011. Helminths of freshwater fishes in the reservoir of the Hydroelectric Power Station of Itaipu, Paraná, Brazil. *Check List* 7: 681–690.
- Kostadinova A & Pérez-Del-Olmo A 2019. The Systematics of the Trematoda. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1154: 21–42.
- Kubitza F & Kubitza LMM 2004. Principais parasitoses e Doenças dos Peixes Cultivados. Copyright 4ed. Jundiaí, São Paulo, 118 pp.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C & Tamura K 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35: 1547–1549.
- Lacerda ACF, Takemoto RM, Poulin R, Pavanelli GC 2013. Parasites of the fish *Cichla piquiti* (Cichlidae) in native and invaded Brazilians basins: release not from the enemy, but from its effects. *Parasitology Research* 112: 279–288.
- Lehun AL, Duarte GSC & Takemoto RM 2023. Nematodes as indicators of environmental changes in a river with different levels of anthropogenic impact. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 95: e20200307.

- Lehun AL, Hasuike WT, Silva JOS, Ciccheto JRM, Michelin G, Rodrigues AFC, et al 2020. Checklist of parasites in fish from the upper Paraná River floodplain: an update. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 29(3): e008720.
- Leira MH, Reghim LS, Ciacci LS, Cunha LT, Botelho HA, Braz MS, Dias NP & Melo CCV 2017. Problemas sanitários das pisciculturas brasileiras. *PUBVET* 11 (6): 538–544.
- Leite LAR, Filho WRP, Azevedo RK & Abdallah VD 2021. *Proteocephalus macrophallus* (Cestoda: Proteocephalidae) Infecting *Cichla kelberi* (Cichliformes: Cichlidae) as a Bioindicator for Trace Metal Accumulation in a Neotropical River from Southeastern Brazil. *Water, Air, & Soil Pollution* 232 (12).
- Leite LAR, Pelegrini LS, Agostinho BN, Azevedo RK & Abdallah VD 2018. Biodiversity of the metazoan parasites of *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1837) (Characiformes: Prochilodontidae) in anthropized environments from the Batalha River, São Paulo State, Brazil. *Biota Neotropica* 18(3): e20170422.
- Lizama MAP, Takemoto RM, Ranzani-Paiva MJT, Ayroza LMS, Pavanelli GC 2007. Relação parasito-hospedeiro em peixes de pisciculturas da região de Assis, Estado de São Paulo, Brasil. 1. *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757). *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 29(2): 223–231.
- Locke SA, Al-Nasiri FS, Caffara M, Drago F, Kalbe M, Lapierre AR, McLaughlin JD, Nie P, Overstreet RM, Souza GTR, et al. 2015. Diversity, specificity and speciation in larval Diplostomidae (Platyhelminthes: Digenea) in the eyes of freshwater fish, as revealed by DNA barcodes. *International Journal for Parasitology* 45: 841–855.
- López-Caballero J, Mata-López R, Pérez Ponce de León G 2019. Molecular data reveal a new species of *Rhopalias* Stiles & Hassall, 1898 (Digenea, Echinostomatidae) in the *Common opossum, Didelphis marsupialis* L. (Mammalia, Didelphidae) in the Yucatán Peninsula, Mexico. *ZooKeys* 854: 145.
- Lucena CAS, Jardim AS & Vidal ES 1994. Ocorrência, distribuição e abundância de peixes na praia de Itapuã, Viamão, Rio Grande do Sul, Brasil. *Comunicações do Museu das Ciências e Tecnologia da PUCRS* 7: 3–27.
- Luque JL, Aguiar JC, Vieira FM, Gibson DI & Santos CP 2011. Checklist of Nematoda associated with the fishes of Brazil. *Zootaxa* 3082 (1): 1–88.
- Luque JL, Pereira FB, Alves PV, Oliva ME, Timi JT 2016. Helminth parasites of South American fishes: current status and characterization as a model for studies of biodiversity. *Journal of Helminthology* 1–15.
- Luque JL & Poulin R 2007. Metazoan parasite species richness in Neotropical fishes: Hotspots and the geography of biodiversity. *Parasitology* 134: 865–878.

- Luton K, Walker D, Blair D 1992. Comparisons of ribosomal internal transcribed spacers from two congeneric species of flukes (Platyhelminthes: Trematoda: Digenea). *Molecular Biochemical of Parasitology* 56 (2): 323–7.
- Macêdo AKS, Dos Santos KPE, Brighenti LS, Windmüller CC, Barbosa FA, Ribeiro RIMA & Thomé RG 2020. Histological and molecular changes in gill and liver of fish (*Astyanax lacustris* Lütken, 1875) exposed to water from the Doce basin after the rupture of a mining tailings dam in Mariana, MG, Brazil. *Science of The Total Environment*, 139505.
- Machado PM, Almeida SC, Pavanelli GC, Takemoto RM 2000. Ecological aspects of endohelminths parasitizing *Cichla monoculus* Spix, 1831 (Perciformes: Cichlidae) in the Paraná River near Porto Rico, State of Paraná, Brazil. *Comparative Parasitology* 67: 210–217.
- Madi RR & Silva MSR 2005. *Contracecum* Railliet & Henry, 1912 (Nematoda, Anisakidae): the parasitism related with the biology of three species of piscivorous fishes in the Jaguari reservoir, São Paulo State, Brazil. *Revista Brasileira de Zoociências* 7 (1): 15–24.
- Mai ACG, Vieira JP, Plavan AA, Nobrega MF, Moraes LE, Rodrigues FL & Marins LF 2013. Isolation and characterization of 18 microsatellites for *Lycengraulis grossidens* (Pisces: Clupeiformes). *Conservation Genetics Resources* 5: 15–18.
- Manter HW. Binder 021 1990. Bucephalidae (Trematoda Taxon Notebooks). Laboratory of Parasitology, Trematoda Taxon Notebooks. 21 pp.
- Marcogliese DJ 2004. Parasites: Small Players with Crucial Roles in the Ecological Theater. *EcoHealth* 1 (2): 151–164.
- Marcogliese DJ 2005. Parasites of the superorganism: Are they indicators of ecosystem health? *International Journal for Parasitology* 35: 705–716.
- Marcotegui PS 2011. Estudios taxonómicos y ecológicos de Monogenea y otros parasitos branquiales en peces de un ambiente estuarial. Tese (Doutorado) – Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (Cepave), Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Buenos Aires.
- Marques WM 1997. Estimativa da rejeição da pesca do camarão-rosa *Pennaeus paulensis* com aviãozinho no estuário da Lagoa dos Patos (RS), Brasil. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande.
- Martins ML, Fujimoto RY, Nascimento AA, Moraes FR 1999. Ocorrência de *Diplostomum* sp. Nordmann, 1832 (Digenea: Diplostomidae) em *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840) proveniente do reservatório de Volta Grande, MG, Brasil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 21 (2): 263–266.
- Martins ML, Melo A, Paiva FC, Fujimoto RY, Schalch SHC, Colombano NC 2002. Prevalência, sazonalidade e intensidade de infecção por *Diplostomum*

- (*Austrodiplostomum*) *compactum* Lutz, 1928 (Digenea, Diplostomidae), em peixes do reservatório de Volta Grande, estado de Minas Gerais, Brasil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 24 (2): 469–474.
- Martins ML, Onaka EM & Fenerick JJR 2004. Larval *Contracecum* sp. (Nematoda: Anisakidae) in *Hoplias malabaricus* and *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Osteichthyes: Erythrinidae) of economic importance in marshlands of Maranhão, Brazil. *Veterinary Parasitology* 127: 51–59.
- Martins ML, Yoshitoshi ER & Umekita H 2001. *Ichthyouris voltagrandensis* n.sp. (Nematoda: Pharyngodonidae) from *Myleus tiete* Eigenmann & Norris, 1900 (Osteichthyes: Characidae) in the Volta Grande Reservoir, MG, Brazil. *Revista Brasileira de Biologia* 61(2): 305–310.
- Milani PCC & Fontoura NF 2007. Diagnóstico da pesca artesanal na lagoa do casamento, sistema nordeste da laguna dos patos: uma proposta de manejo. *Biociências* 15 (1): 82–125.
- Miura O, Kuris AM, Torchin ME, Hechinger RF, Dunham EJ, Chiba S 2005. Molecular-genetic analyses reveal cryptic species of trematodes in the intertidal gastropod, *Batillaria cumingi* (Crosse). *Internacional Journal of Parasitology* 35 (7): 793–801.
- Monteiro CM 2006. Helmintofauna do biguá, *Phalacrocorax brasilianus* (Gmelin) (Aves, Phalacrocoracidae) do lago Guaíba, Guaíba, RS. Dissertação de Mestrado Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.
- Monteiro CM, Santos MD, Zuchi NA, Brasil-Sato MC 2011. Ecological parameters of the endohelminths in relation to size and sex of *Prochilodus argenteus* (Actinopterygii: Prochilodontidae) from the upper São Francisco River, Minas Gerais, Brazil. *Zoologia* 26 (4): 753–757.
- Montes MM, Barneche J, Pagano L, Ferrari W, Martorelli SR, de León GP 2021. Molecular data reveal hidden diversity of the genus *Clinostomum* (Digenea, Clinostomidae) in Argentina, with the description of a new species from *Ardea cocoi* (Ardeidae). *Parasitology Research* 120: 2779–2791.
- Morais AM 2012. Biodiversidade de parasitos da piranha vermelha *Pygocentrus nattereri* (Kner, 1858) (Characiformes; Serrasalminidae) e sua avaliação como bioindicadores na Amazônia Central. Tese (doutorado), INPA, Manaus, 243 p.
- Morais NCM 2005. Helminthos parasitos de jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) (Siluriformes) coletados em ambiente natural e em estação de piscicultura no sul do RS. Pelotas: UFPEL. Dissertação (Mestrado em Veterinária), Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.
- Moravec F 1998. Nematodes of freshwater fishes of the neotropical region. Academia Praha, 464 pp.

- Moravec F, Kohn A & Fernandes BMM 1992. Nematode parasites of fishes of the Paraná River, Brazil. Part. 3. Carnallanoidea and Dracunculoidea. *Folia Parasitologica* 40: 211–229.
- Moravec F & Laoprasert T 2008. Redescription of *Ichthyouris bursata* Moravec & Prouza, 1995 (Nematoda: Pharyngodonidae), a parasite of wild and aquarium-reared discus *Symphysodon* spp. (Osteichthyes). *Systematic of Parasitology* 71: 137–143.
- Moravec F & Scholz T 1991. Observations on some nematodes parasitic in freshwater fishes in Laos. *Folia Parasitologica* 38: 163–178.
- Moravec F & Thatcher VE 1997. *Procamallanus* (*Denticamallanus* subgen. n.) *dentatus* n. sp. (Nematoda: Camallanidae) from the characid fish, *Bryconops alburnoides*, in the Brazilian Amazon. *Parasite* 4: 239–243.
- Moreira LHA 2008. Análise comparativa das comunidades de metazoários endoparasitos de *Metynnis lippincottianus* (Cope, 1870) (Characidae) em dois diferentes ecossistemas aquáticos influenciados pela Usina Hidrelétrica de Rosana. Dissertação (mestrado em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais) – Universidade Estadual de Maringá.
- Moreira NIB 2000. Helmintos parasitos de peixes de lagos do médio Rio Doce, Minas Gerais, Brasil. Dissertação, Universidade Federal de Minas Gerais, Programa de Parasitologia, pp. 189.
- Moreira NIB, Oliveira CL, Costa HMA 1994. *Spirocamallanus inopinatus* (Travassos, Artigas & Pereira, 1928) e *Spirocamallanus saofranciscensis* sp. n. (Nematoda, Camallanidae) em peixes da Represa de Três Marias. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 46 (5): 485–500.
- Moszczyńska A, Locke SA, McLaughlin JD, Marcogliese DJ, Crease TJ 2009. Development of primers for the mitochondrial cytochrome c oxidase I gene in digenetic trematodes (Platyhelminthes) illustrates the challenge of barcoding parasitic helminths. *Molecular Ecology Resources* 9 (1): 75–82.
- Nachev M 2010. Bioindication capacity of fish parasites for the assessment of water quality in the Danube River. Inaugural – Dissertation. Universität Duisburg-Essen.
- Nachev M & Sures B 2016. Environmental parasitology: Parasites as accumulation bioindicators in the marine environment. *Journal of Sea Research* 113: 45–50.
- Neves LR, Silva LMA, Florentino AC, Tavares-Dias, M 2020. Distribution patterns of *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) *inopinatus* (Nematoda: Camallanidae) and its interactions with freshwater fish in Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology* 29(4): e012820.

- Niewiadomska K 2002. Superfamily Diplostomoidea Poirier, 1886. In: Gibson DI, Jones A & Bray RA (Ed.). Keys to the Trematoda. CABI Publishing, Wallingford, Vol. 1, pp 159–166.
- Noble ER & King RE 1960. The ecology of the fish *Gillichthys mirabilis* and one of its nematode parasites. *Journal of Parasitology* 46: 670–685.
- Oliveira JA 2019. Impactos socioambientais provocados pelo rompimento de barragens de contenção de rejeitos de mineração no estado de Minas Gerais. Orientador: Prof. Dr. Fábio Souto de Almeida. Monografia apresentada ao curso de Gestão Ambiental, Instituto Três Rios da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- Olson PD & Tkach VV 2005. Advances and trends in the molecular systematics of the parasitic Platyhelminthes. *Advances in Parasitology* 60: 165–243.
- Olson PD, Cribb TH, Tkach VV, Bray RA, Littlewood DT 2003. Phylogeny and classification of the digenea (Platyhelminthes: Trematoda). *International Journal for Parasitology* 33 (7): 733–755.
- Ostrowski de Núñez M 1982. Die Entwicklungszyklen von *Diplostomum (Austrodiplostomum) compactum* (Lutz, 1928) und *D. (A.) mordax* (Szidat und Nani, 1951) n. comb in Südamerika. *Zoologischer Anzeiger* 208: 393–404.
- Ostrowski de Núñez M 2017. Redescription of *Austrodiplostomum compactum* (Trematoda: Diplostomidae) from its type host and locality in Venezuela, and of *A. mordax* from Argentina. *Journal of Parasitology* 103 (5): 497–505.
- Overstreet RM 1969. Digenetic trematodes of marine teleost fishes from Biscayne Bay, Florida. *Tulane studies in Zoology and Botany* 15: 119–175.
- Overstreet RM 1997. Parasitological data as monitors of environmental health. *Parassitologia* 39 (3): 169–175.
- Paes JVK, Carvalho ED & Silva RJ 2003. Infection by *Austrodiplostomum compactum* metacercariae in fish from the Nova Avanhandava reservoir, Tiête river, São Paulo State, Brazil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 32 (3): 273–278.
- Pavanelli GC, Eiras JE, Yamaguchi ME, Takemoto RM 2015. *Zoonoses humanas transmissíveis por peixes no Brasil*. UniCesumar, Maringá.
- Pavanelli GC, Machado MH, Takemoto RM 1997. Fauna helmíntica de peixes do rio Paraná, região de Porto Rico, Paraná. In: Vazzoler AEAM, Agostinho AA, Hahn NS (Ed.). A planície de inundação do alto rio Paraná: aspectos físicos, biológicos e socioeconômicos. Eduem, Maringá, pp 307-329.
- Pavanelli GC, Takemoto RM & Eiras JC 2013. *Parasitologia de peixes de água doce do Brasil*. Eduem, Maringá, 452 pp.

- Pereira AN, C Pantoja, JL Luque & JT Timi 2014. Parasites of *Urophycis brasiliensis* (Gadiformes: Phycidae) as indicators of marine ecoregions in coastal areas of the South American Atlantic. *Parasitology Research* 113: 4281–4292.
- Pereira ES, Mauad JRC, Takemoto RM & Lima-Júnior SE 2018. Fish parasite diversity in the Amambai river, State Mato Grosso do Sul, Brazil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 40 (1): 1–7.
- Pereira Junior J, Francis AM, Morais NCM, Vianna RT 2004. *Hysterothylacium* sp. Larvae (Nematoda: Anisakidae) in *Micropogonias furnieri* (Sciaenidae) from Rio Grande do Sul coast, Brazil. *Atlântica* 1: 55–60.
- Pérez-Ponce de León G, Pinacho-Pinacho CD, Mendoza-Garfias B, Choudhury A & García-Varela M 2016. Phylogenetic analysis using the 28S rRNA gene reveals that the genus *Paracreptotrema* (Digenea: Allocreadiidae) is not monophyletic; description of two new genera and one new species. *Journal of Parasitology* 102.
- Petter AJ & Dlouhy C 1985. Nématodes de Poissons du Paraguay. III. Camallanina. Description d'une espèce et d'une sous-espèce nouvelles de la famille des Guyanemidae. *Revue Suisse de Zoologie* 92: 165–175.
- Petter AJ & Thatcher VE 1988. Observations sur la structure de la capsule buccale de *Spirocamallanus inopinatus* (Nematoda), parasite de poissons brésiliens. *Bulletin du Museum National d'Histoire Naturelle* 10: 685–692.
- Pineda-López PR 1985. Infección por metacercarias (Platyhelminthes: Trematoda) en peces de agua dulce de Tabasco. *Universidad Ciencia* 2: 47–60.
- Pinheiro RHS, Furtado AP, Santos JN & Giese EG 2019. *Contraecaecum* larvae: morphological and morphometric retrospective analysis, biogeography and zoonotic risk in the amazon. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 28 (1): 12–32.
- Pinheiro RHS, Melo FTV, Monks S, Santos JN & Giese EG 2018. A new species of *Procamallanus* Baylis, 1923 (Nematoda, Camallanidae) from *Astronotus ocellatus* (Agassiz, 1831) (Perciformes, Cichlidae) in Brazil. *ZooKeys* 790: 21–33.
- Pinto HA, Caffara M, Fioravanti ML & Melo AL. 2015. Experimental and Molecular Study of Cercariae of *Clinostomum* sp. (Trematoda: Clinostomidae) from *Biomphalaria* spp. (Mollusca: Planorbidae) in Brazil. *Journal of Parasitology* 101 (1): 108–113.
- Pinto HA, Mati VLT & Melo AL 2012. Infecção natural de *Poecilia reticulata* (Actinopterygii: Poeciliidae) por metacercárias na represa da Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca* 38: 257–264.

- Pinto RM, Fábio SP de, Noronha D & Rolas FJT 1976. Novas considerações morfológicas e sistemáticas sobre os *Procamallanus* brasileiros (Nematoda, Camallanoidea). *Memórias do Instituto Oswald Cruz* 74: 77–84.
- Portal Linhares 2022. História de Linhares. Disponível em: <https://www.portallinhares.com.br/sobre-linhares-es/#tab-id-2>. Acesso em 30 de março de 2022.
- Porto MFS 2016. A tragédia da mineração e do desenvolvimento no Brasil: desafios para a saúde coletiva. *Caderno de Saúde Pública* 32 (2): 1–3.
- Poulin R & Jorge F 2019. The geography of parasite discovery across taxa and over time. *Parasitology* 146: 168–175.
- Poulin R & Morand S 2004. Parasite Biodiversity. Smithsonian Books, Washington, 216 pp.
- Prefeitura de Colatina 2022. Histórias e Conquistas. Disponível em: <https://www.colatina.es.gov.br/colatina/>. Acesso em 30 de março de 2022.
- Prefeitura Municipal de Baixo 2022. Sobre Baixo Guandu. Disponível em: <https://pmbg.es.gov.br/sobre-baixo-guandu/> Guandu 2007. Acesso em 05 de abril de 2022.
- Ramos IP, Franceschini L, Zago AC, Zica EOP, Wunderlich AC, Carvalho ED, Silva RJ 2013. New host records and a checklist of fishes infected with *Austrodiplostomum compactum* (Digenea: Diplostomidae) in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 22: 511–518.
- Ramos IP, Pagliarini CD, Franceschini L & Silva RJ 2020. Metacercariae of *Austrodiplostomum compactum* (Trematoda, Diplostomidae) in nonnative fish species in Brazil: a possible explanation for the high rate of parasitic infection. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 92: e20180984.
- Ramos LA 2005. Auto-ecologia de *Lycengraulis grossidens* (Agassiz, 1829) (Clupeiformes, Engraulididae) em estuários do Rio Grande do Sul e sua pesca na barra do rio Tramandaí, RS, Brasil. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Rio Grande.
- Rego AA 1994. Order Proteocephalidea Mola, 1928. In Keys to the cestode parasites of vertebrates, L. F. Khalil, A. Jones, and R. A. Bray (eds.). CAB International, Wallingford, Oxon, U.K., pp 257–293.
- Rego AA 1999. Scolex morphology of proteocephalid cestodes parasites of Neotropical freshwater fishes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 94 (1): 37–52.
- Rego AA, Pavanelli G 1990. Novas espécies de cestóides proteocefálicos: parasitas de peixes não Siluriformes. *Revista Brasileira de Biologia* 50: 91–101.

- Rego AA, Pavanelli G 1991. *Proteocephalus gibsoni* nom. nov. for *Proteocephalus ocellatus* Rego and Pavanelli, 1990 preoccupied by *Proteocephalus ocellatus* (Rudolphi, 1802). *Revista Brasileira de Biologia* 51: 701.
- Reid AJ, Carlson AK, Creed IF, Eliason EJ, Gell PA, Johnson PT, Kidd KA, MacCormack, TJ, Olden J, Ormerod S, Smol J, Taylor WW, Tockner K, Vermaire JC, Dudgeon D & Cooke S 2019. Emerging threats and persistent conservation challenges for freshwater biodiversity. *Biological Reviews* 94: 849–873.
- Reis AMH, Santos CP, Nunes JLS, Mugnai R 2021. Checklist of nematodes parasitizing fish in the Brazilian Amazon. *Journal of Helminthology* 1–12.
- Resende EK, Catella AC, Nascimento FL, Palmeira SS, Pereira RAC, Lima MS & Almeida VLL 1996. Biologia do curimatá (*Prochilodus lineatus*), pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) e cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*) na bacia hidrográfica do rio Miranda, Pantanal do Mato Grosso do Sul, Brasil. EMBRAPA-CPAP, Corumbá, 75 pp.
- Ribeiro TS, Ghisi NC, Prioli AJ, Oliveira EC & Takemoto RM 2013. Diversity of nematodes of red-tail-lambari *Astyanax* aff. *paranae* (Teleostei: Characidae) from polluted sites of a tropical river system. *Neotropical Helminthology* 7(2): 271–281.
- Rigby MC & Rigby E 2014. Order Camallanida: Superfamilies Anguilliculoidea and Camallanoidea. In: Schmidt-Rhaesa A (Ed.) Handbook of Zoology: *Gastrotricha, Cycloneuralia and Gnathifera*: Vol. 2, Nematoda. Walter De Gruyter, Berlin, 637–659.
- Rodrigues AP 2018. Diversidade de helmintos da bacia do Rio Tramandaí, sul do Brasil. Tese (Doutorado) – Universidade do Vale dos Rio dos Sinos, Programa de Pós-Graduação em Biologia, São Leopoldo, RS.
- Rodrigues ARO, Furtado AP, Melo FTV, Santos JN 2017. *Oxyuricassis coronatus* n. gen. n. sp. and *O. hexaspinatus* n. sp. (Oxyurida: Pharyngodonidae): Parasites of *Lasiancistrus saetiger* (Siluriformes: Loricariidae) in Freshwater Rivers of the Brazilian Amazon. *Journal of Parasitology* 103(4): 390–398.
- Rodrigues VLA, Guabiroba HC, Vilar CC, Andrades R, Villela A, Hostim-Silva M, Joyeux JC 2022. Fish biodiversity of a tropical estuary under severe anthropic pressure (Doce River, Brazil). *Neotropical Ichthyology* 20 (3): 1–15.
- Rojas JR, Torres P & Pequeño G 1999. Acanthocolpid Metacercariae in the Sea Bass from Alejandro Selkirk Island, Chile. *Journal of Wildlife Diseases* 35 (1): 90–93.
- Ronquist F, Teslenko M, Van Der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S & Huelsenbeck JP 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference

- and model choice across a large model space. *Systematic biology* 61: 539–542.
- Rosim DF 2010. Biodiversidade das comunidades parasitárias em populações de *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Characiformes, Erythrinidae) provenientes de quatro regiões hidrográficas do Brasil. Dissertation. Rio de Janeiro. Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Rosser TG, Alberson NR, Khoo LH, Woodyard ET, Pote LM, Griffin MJ 2016. Characterization of the life cycle of a fish eye fluke, *Austrodiplostomum ostrowskiae* (Digenea: Diplostomatidae), with notes on two other diplostomids infecting *Biomphalaria obstructa* (Mollusca: Planorbidae) from Catfish Aquaculture Ponds in Mississippi, USA. *Journal of Parasitology* 102: 260–274.
- Rosser TG, Alberson NR, Woodyard ET, Cunningham FL, Pote LM & Griffin MJ 2017. *Clinostomum album* n. sp. and *Clinostomum marginatum* (Rudolphi, 1819), parasites of the great egret *Ardea alba* L. from Mississippi, USA. *Systematic Parasitology* 94: 35–49.
- Rosser TG, Woodyard ET, Mychajlonka MN, King DT, Griffin MJ, Gunn MA, López-Porras A 2020. *Ithyoclinostomum yamagutii* n. sp. (Digenea: Clinostomidae) in the great blue heron *Ardea herodias* L. (Aves: Ardeidae) from Mississippi, USA. *Systematic of Parasitology* 97: 69–82.
- Santos CAML 2017. Doenças parasitárias associadas ao consumo de pescado no Brasil: incidência e epidemiologia. *Higiene Alimentar* 31: 65–71.
- Santos CP & Borges JN 2020. Current Knowledge of Small Flukes (Digenea: Heterophyidae) from South America. *Korean Journal of Parasitology* 58 (4): 373–386.
- Santos CP, Cárdenas MQ & Lent H 1999. Studies on *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) *pereirai* Annereaux, 1946 (Nematoda: Camallanidae), with New Host Records and New Morphological Data on the Larval Stages. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 94 (5): 635–640.
- Santos CP, Gibson DI, Tavares LER & Luque JL 2008. Checklist of Acanthocephala associated with the fishes of Brazil. *Zootaxa* 1938 (1): 1–22.
- Santos JAD, Ferreira FF & Pinho FM 2017. Primeiro levantamento de ictiofauna da bacia do Rio Doce após o rompimento da barragem de rejeitos da Samarco, Mariana em MG. Universidade Federal de Viçosa, 1–38.
- Santos RS, Pimenta FDA, Martins ML, Takahashi HK, Marengoni NG 2002. Metacercárias de *Diplostomum* (*Austrodiplostomum*) *compactum* Lutz, 1928 (Digenea, Diplostomidae) em peixes do rio Paraná, Brasil. Prevalência, sazonalidade e intensidade de infecção. *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 24(2): 475–480.

- Santos RS, Roubledakis K, Marengoni NG, Takahashi HK, Pimenta FDA, Melo CMR, Martins ML 2011. Proteocephalid cestode infection in tucunaré *Cichla* sp. (Osteichthyes: Cichlidae) from Paraná River, São Paulo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 63: 584–590.
- Santos-Clapp MD, Brasil-Sato MC 2014. Parasite community of *Cichla kelberi* (Perciformes, Cichlidae) in the Tres Marias Reservoir, Minas Gerais, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 23: 367–374.
- Schmidt GD 1986. *Handbook of tapeworm identification*. Boca Raton, C.R.C. Press Inc., Florida, 675 pp.
- Scholz T, de Chambrier A, Prouza A, Royero R 1996. Redescription of *Proteocephalus macrophallus*, a parasite of *Cichla ocellaris* (Pisces: Cichlidae) from South America. *Folia Parasitologica* 43: 287–291.
- Scholz T, Kuchta R, Brabec J 2019. Broad tapeworms (Diphyllobothriidae), parasites of wildlife and humans: Recent progress and future challenges. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 1 (9): 359–369.
- Scholz T, Kuchta R & Oros M 2021. Tapeworms as pathogens of fish: A review. *Journal of Fish Diseases* 44 (12): 1883–1900.
- Sereno-Urbe AL, García-Varela M, Pinacho-Pinacho CD and Pérez-Ponce de León G 2018. Three new species of *Clinostomum* Leidy, 1856 (Trematoda) from Middle American fish-eating birds. *Parasitology Research* 117: 2171–2185.
- Siddiqi AH & Cable RM 1960. Digenetic trematodes of marine fishes of Puerto Rico. *Science Sur. Puerto Rico and Virgin Island* 17: 257–269.
- Simões MB, Alves PV, López-Hernández D, Couto EA, Moreira NIB, Pinto HA 2022. Size does not matter: molecular phylogeny reveals one of the largest trematodes from vertebrates, the enigmatic *Ithyoclinostomum dimorphum*, as a species of *Clinostomum* (Trematoda: Clinostomidae). *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 19: 84–88.
- Sures B & Nachev M 2022. Effects of multiple stressors in fish: how parasites and contaminants interact. *Parasitology* 149 (14): 1822–1828.
- Sures B, Nachev M, Selbach C & Marcogliese DJ 2017. Parasite responses to pollution: what we know and where we go in 'Environmental Parasitology'. *Parasites & Vectors* 10 (1): 1–19.
- Sures B, Nachev M, Schwelm J, Grabner D, Selbach C 2023. Environmental parasitology: stressor effects on aquatic parasites. *Trends in Parasitology* 39 (6).

- Szidat L 1969. Structure, Development, and Behaviour of New Strigeatoid Metacercariae from Subtropical Fishes of South America. *Journal Fisheries Research Board of Canada* 26 (4): 753–786.
- Takemoto RM & Pavanelli GC 1996. Proteocephalidean cestodes in the freshwater fish *Cichla monoculus* from the Paraná River, Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 31: 123–127.
- Takemoto RM, Pavanelli GC, Lizama MAP, Lacerda ACF, Yamada FH, Ceschini TL, et al 2009. Diversity of parasites of fish from the Upper Paraná River floodplain, Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 69 (2): 691–705.
- Thatcher VE 1981. Patologia de peixes da Amazônia Brasileira, 1. Aspectos gerais. *Acta Amazonica* 11: 125–140.
- Thatcher VE 2006. Amazon fish parasites. 2^a ed., ed. Aquatic Biodiversity in Latin America, Sofia, Moscow 508 pp.
- Timi JT, Luque JL & Poulin R 2010. Host ontogeny and the temporal decay of similarity in parasite communities of marine fish. *International Journal for Parasitology* 40: 963–968.
- Timi JT, Sardella NH & Navone GT 2001. Parasitic nematodes of *Engraulis anchoita* Hubbs et Marini, 1935 (Pisces, Engraulidae) off the Argentine and Uruguayan coasts, South West Atlantic. *Acta Parasitologica* 46 (3): 186–193.
- Tkach VV, Littlewood DTJ, Olson PD, Kinsella JM, Swiderski Z 2003. Molecular phylogenetic analysis of the Microphalloidea Ward, 1901 (Trematoda: Digenea). *Systematic Parasitology* 56: 1–15.
- Travassos L, Artigas P & Pereira C 1928. Fauna helmintológica de peixes de água doce do Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico* 1: 5–68.
- Travassos L, Freitas JFT & Kohn A 1969. Trematódeos do Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 67: 1–886.
- Vianna RT, Pereira Júnior J, Brandão DA 2005. *Clinostomum complanatum* (Digenea, Clinostomidae) density in *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Pimelodidae) from South Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 48 (4): 635–642.
- Vicente JJ & Fernandes GL 1978. Contribuição ao conhecimento dos helmintos de *Bagre bagre* (Linnaeus, 1766) Fowler, 1841 e de *Macrodon ancylodon* (Bloch, 1801) Jordan, Evermann & Clark, 1930, no litoral da ilha de São Luís, estado do Maranhão, Brasil. *Boletim do Laboratório de Hidrobiologia* 2 (1), 91–96.
- Vicente JJ & Pinto RM 1999. Nematóides do Brasil. Nematóides de peixes. Atualização: 1985-1998. *Revista Brasileira de Zoologia* 16 (3): 561–610.

- Vicente JJ, Rodrigues HO & Gomes DC 1985. Nematóides do Brasil. 1ª parte: Nematóides de peixes. *Atas da Sociedade Brasileira de Biologia* 25: 1–79.
- Vicentin W, Vieira KRI, Tavares LER, Costa FES, Takemoto RM, Paiva F 2013. Metazoan endoparasites of *Pygocentrus nattereri* (Characiformes: Serrasalminae) in the Negro River, Pantanal, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 22 (3): 331–338.
- Vieira F 2010. Distribuição, impactos ambientais e conservação da fauna de peixes da bacia do Rio Doce. *MG.BIOTA* 2 (5): 5–22.
- Vieira F, Gomes JPG, Maia BP & Martin LG 2015. Peixes do quadrilátero ferrífero: guia de identificação. Fundação Biodiversitas. ISBN: 978-85-85401-28-3
- Weber AA, Sales CF, Faria FS, Melo RMC, Bazzoli N, & Rizzo E 2020. Effects of metal contamination on liver in two fish species from a highly impacted neotropical river: A case study of the Fundão dam, Brazil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 190.
- Wood CL *et al* 2023. A reconstruction of parasite burden reveals one century of climate-associated parasite decline. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 120 1–9.
- Woodland WNF 1933. On the anatomy of some fishes cestodes described by Diesing from the Amazon. *Quarterly Journal of Microscopical Science* 76: 175–208.
- Woodyard ET, Rosser TG & Rush SA 2017. Alligator wrestling: morphological, molecular, and phylogenetic data on *Odhneriotrema incommodum* (Leidy, 1856) (Digenea: Clinostomidae) from *Alligator mississippiensis* Daudin, 1801 in Mississippi, USA. *Parasitology Research* 116, 464: 2981–2993.
- Yadav A, Kapoor N, Jaiswal N & Malhotra SK 2021. Parasites: futuristic indicators of an altered aquatic environment. In: SOBTI, R. C. *Advances in Animal Experimentation and Modeling – Understanding Life Phenomena*. Cambridge: Academic Press, pp 441–454.
- Yamada FH, Takemoto RM 2013. Metazoan parasite fauna of two peacock-bass cichlid fish in Brazil. *Check List* 9: 1371–1377.
- Yamaguti S 1958. *Systema Helminthum*. Vol. I. Digenetic Trematodes. Part I e II. Interscience Publishers Inc., New York, 1575 pp.
- Yamaguti S 1961. *Systema helminthum*. New York: *Interscience Publishers* 3.
- Yeh LS 1960. On a reconstruction of the genus *Camallanus* Railliet & Henry, 1915. *Journal of Helminthology* 34: 117–124.

Zambom MC 2009. A Petrobrás e sua influência nas formas de representação social da comunidade de Regência – ES. Rio de Janeiro. Dissertação de Mestrado em Políticas Sociais, Programa de Pós-graduação em Política Social, Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

Zaret TM 1980. Life history and growth relationships of *Cichla ocellaris*, a predatory South American Cichlid. *Biotropica* 12 (2): 144–157.

ANEXO 1

Demonstração da Autorização da Comissão de Ética de Uso Animal da UFES (CEUA/UFES), com o número 27/2019



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada **O IMPACTO DO ROMPIMENTO DA BARRAGEM DE FUNDÃO, MARJANA, MINAS GERAIS, NA COMUNIDADE DE HELMINTOS PARASITOS DE PEIXES NO RIO DOCE NO ESPÍRITO SANTO**
 Registrada sob o n.º 27/2019 sob a responsabilidade de **NARCISA IMACULADA BRANT MOREIRA**

que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto n.167 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO, em reunião no dia 26 de fevereiro de 2021.

Vigência da autorização: setembro/2019 a setembro/2023 Finalidade: Pesquisa

Número da Solicitação ou Autorização SISBIO: 70071-1 e 70071-3

Atividade(s): Captura Coleta de espécimes Marcação Outros:

Espécie(s)/Grupo(s) taxonômico(s): Peixes

Local(is) de realização da(s) atividade(s): Rio Doce, Rio Pancas, Rio São José e Rio Santa Maria do Doce (Estado do Espírito Santo)

Vitória-ES, 01 de março de 2021

Raquel Spinassé Dettoni
 Coordenadora da CEUA-UFES

*Este certificado revoga o previamente emitido aprovado na reunião Ordinária de 06 de setembro de 2019

ANEXO 2

Demonstração da Autorização do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) com o número de 70071



Ministério do Meio Ambiente - MMA

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 70071-6	Data da Emissão: 08/11/2021 15:29:20	Data da Revalidação*: 01/06/2022
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: NARCISA IMACULADA BRANT MOREIRA	CPF: 703.851.226-91
Título do Projeto: O IMPACTO DO ROMPIMENTO DA BARRAGEM DE FUNDÃO, MARIANA, MINAS GERAIS, NA COMUNIDADE DE HELMINTOS PARASITOS DE PEIXES NO RIO DOCE	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPIRITO SANTO	CNPJ: 32.479.123/0001-43

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta e captura de peixes	07/2019	07/2022
2	Coleta biológica de parasitos	07/2019	07/2022
3	Identificação morfológica	07/2019	07/2022
4	Análise dos resultados	07/2020	07/2023

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Mariana Brandão Simões	Pesquisadora	126.160.617-59	Brasileira
2	Elimayke Almeida Couto	Pesquisador	160.626.257-27	Brasileira
3	HUDSON ALVES PINTO	Sub-coordenador	061.607.746-70	Brasileira

ANEXO 3

Relação da média do comprimento total (m-ct) e de peso (m-p), bem como as amplitudes em parênteses (a partir de 2 exemplares por espécie), dos peixes coletados das três regiões amostradas entre novembro/2019 a janeiro/2022.

Hospedeiros	Linhares				Colatina				Baixo Guandu/Aimorés			
	Rio Doce		Afluente		Rio Doce		Afluente		Rio Doce		Afluente	
	m-ct	m-p	m-ct	m-p	m-ct	m-p	m-ct	m-p	m-ct	m-p	m-ct	m-p
ORDEM CHARACIFORMES												
Família Anostomidae												
<i>L. conirostris</i>	-	-	33,3 (30,7–37,6)	418,3 (345–530)	-	-	42,3 (39–45)	775,0 (650–985)	-	-	-	-
Família Bryconidae												
<i>S. brasiliensis</i>	-	-	-	-	56,5	2500,0	33,0	315,0	-	-	-	-
Família Erythrinidae												
<i>H. intermedius</i>	48,5 (46,5–50,5)	1180,0 (1020–1340)	-	-	47,0	1170,0	-	-	44,8 (41–60)	1167,3 (470–2550)	39,9 (38–44,5)	699,0 (565–995)
<i>H. malabaricus</i>	34,4	375,0	32,5 (32–33)	252,5 (175–330)	42,4	730,0	-	-	39,4 (31,5–48,5)	801,1 (400–1270)	35,3 (33,5–37)	612,5 (525–700)
Família Prochilodontidae												
<i>P. argenteus</i>	42,5 (31–63,5)	1606,7 (445–3900)	52,3 (43,3–70,1)	2350,6 (1225–6080)	50,8 (45,7–55,5)	2080,0 (1320–2865)	41,9 (36,5–49,3)	1264,3 (650–1970)	48,0 (44,5–51,5)	2200,0 (1755–2645)	37,6 (28–46,5)	434,8 (144,5–830)
Família Serrasalminidae												
<i>M. maculatus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	13,4 (12–14,5)	67,0 (39,1–79)	15,6 (15,2–16)	94,0 (90–97,9)
<i>P. nattereri</i>	21,5 (20,6–23)	256,7 (215–280)	24,5 (23–26,7)	385,6 (300–510)	-	-	21,8 (20–22,5)	295,0 (235–330)	-	-	16,4 (14,3–18)	127,2 (104,1–157,1)
<i>P. piraya</i>	23,0 (22–24,4)	361,7 (330–425)	23,0 (21–25,7)	322,4 (255–425)	22,5 (20–25)	270,0 (220–290)	-	-	-	-	-	-

ORDEM CICHLIFORMES												
Família Cichlidae												
<i>C. kelberi</i>	-	-	33,4 (31,3–36,6)	490,0 (425–605)	33,0	560,0	-	-	-	-	35,0	660,0
<i>C. monoculus</i>	-	-	-	-	-	-	26,5 (25,8–26,5)	250,0 (240–260)	-	-	-	-
<i>C. rendalli</i>	-	-	36,0	990,0	33,0	810,0	-	-	-	-	-	-
<i>O. niloticus</i>	-	-	-	-	-	-	35,5	940,0	-	-	-	-
ORDEM CLUPEIFORMES												
Família Engraulidae												
<i>L. grossidens</i>	14,9 (13–17,5)	25,5 (12,7–48)	-	-	14,7 (12,5–17)	22,5 (16–36,9)	-	-	-	-	-	-
ORDEM MUGILIFORMES												
Família Mugilidae												
<i>M. liza</i>	-	-	29,5	245,0	35,9 (32,1–44)	413,7 (240–845)	26,3	395,0	-	-	-	-
ORDEM PERCIFORMES												
Família Carangidae												
<i>C. latus</i>	-	-	-	-	-	-	20,5 (19,1–21,5)	136,6 (105–173)	-	-	-	-
Família Centropomidae												
<i>C. parallelus</i>	34,2 (32,7–35,6)	415,0 (350–480)	28,6 (28–29,1)	292,5 (290–295)	37,9 (31,5–42)	653,3 (385–825)	-	-	-	-	-	-
Família Cichlidae												
<i>A. ocellatus</i>	24,0	320,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>G. brasiliensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15,8 (14–17)	72,7 (57,7–88,5)
Família Gerreidae												
<i>D. rhombeus</i>	33,0	582,0	27,3	345,0	31,0	465,0	32,0 (28–36)	525,0 (320–730)	-	-	-	-

Família Sciaenidae												
<i>M. americanus</i>	-	-	26,1	195,0	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. adspersus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	31,0 (30,5–31,5)	340,0 (335–345)	-	-
ORDEM SILURIFORMES												
Família Ariidae												
<i>G. genides</i>	29,6	235,0	-	-	-	-	33,0	390,0	-	-	-	-
Família Auchenipteridae												
<i>P. affinis</i>	13,0	27,0 (25–29)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Família Callichthyidae												
<i>H. littoralle</i>	28,5 (22,5–34,5)	240,0 (210–270)	55,2	2370,0	-	-	-	-	-	-	23,0	260,0
Família Clariidae												
<i>C. gariepinus</i>	35,0	325,0	-	-	-	-	-	-	-	-	50,9 (39,5–66,5)	1122,0 (425–2080)
Família Loricariidae												
<i>H. loricariformis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13,2 (11,5–14,5)	17,6 (13,8–21,9)
<i>H. gracilis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22,0	120,0
<i>H. affinis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	34,1 (28–40)	375,0 (230–580)	27,7 (23–30)	193,8 (165–215)
<i>H. auroguttatus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30,0 (24–36)	385,0 (170–600)
<i>H. luetkeni</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19,5	78,5
<i>Pterygoplichthys</i> sp.	32,0	245,0	28,5 (27,5–30,5)	167,5 (130–205)	49,2	980,0	-	-	28,0	240,0	-	-
<i>P. pardalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	33,0	320,0	-	-

<i>Rineloricaria</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	35,5	255,0	-	-
Família Pimelodidae												
<i>P. maculatus</i>	28,9 (28,2–29,5)	270,0 (235–305)	30,4 (28–32)	336,3 (220–390)	20,5	85,0	27,6 (24–31,5)	230,0 (180–325)	35,7 (33,5–37,5)	565,0 (500–610)	-	-