

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA

BRUNO HIDEO UEDA

Ectoparasitos branquiais de *Brycon* (Pisces: Bryconinae): especialização das estruturas de fixação.

Maringá

2016

BRUNO HIDEO UEDA

Ectoparasitos branquiais de *Brycon* (Pisces: Bryconinae): coevolução e especialização das estruturas de fixação

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Biologia das Interações Orgânicas.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Cezar Pavanelli

Coorientador: Prof. Dr. Julien Claude

Maringá

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

Ueda, Bruno Hideo  
U22e Ectoparasitos branquiais de *Brycon* (Pisces: Bryconinae): especialização das estruturas de fixação / Bruno Hideo Ueda. - - Maringá, 2016.  
62 f. : il., tabs., figs., color.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Cezar Pavanelli.  
Co-orientador: Prof. Dr. Julien Claude.  
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada, 2016.

1. Ictioparasitologia. 2. Parasitos de Peixes. 3. Parasitologia de água doce. 4. Monogenea. I. Pavanelli, Gilberto Cezar, orient. II. Claude, Julien, co-orient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada. IV. Título.

CDD 21. ed. 571.99917

MGC - 001737

BRUNO HIDEO UEDA

Ectoparasitos branquiais de *Brycon* (Pisces: Bryconinae): especialização das estruturas de fixação

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Biologia das Interações Orgânicas pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Gilberto Cezar Pavanelli  
Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

Profa. Dra. Leticia Cucolo Karling  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Fabricio Hiroiuki Oda  
UniCesumar

Prof. Dr. Cláudio Henrique Zawadzki  
Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. Marcelo Picinin Bernuci  
UniCesumar

Aprovada em: 13 de julho de 2016.

Local de defesa: Sala 102, Bloco G-90, *campus* da Universidade Estadual de Maringá.

## **Dedicatória**

*Dedico este trabalho à minha família.*

## **Agradecimentos**

*A minha família por estar presente em todos os momentos da minha vida, por me apoiar, incentivar e permitir que eu pudesse continuar os estudos.*

*Ao meu orientador Dr. Gilberto Cezar Pavanelli, por todo seu apoio, ensinamento e confiança durante o doutorado.*

*Um agradecimento ao Dr. Ricardo Massato Takemoto, por todos os ensinamentos, paciência e amizade.*

*À Thamy pela companhia, trocas de ensinamentos e carinho em diversos momentos.*

*Ao Lucas, amigo de longa data e companheiro de cachorrão.*

*Agradeço a Dra. Sybelle Bellay pela sua amizade e toda sua paciência e dedicação para me ensinar o mundo obscuro da estatística.*

*Agradeço a Dra. Letícia Cucolo Karling por ter dado seu sangue e um pedaço do dedo para capturar para mim um matrinxã furioso e faminto.*

*Ao Dr. Rodrigo Junio da Graça por sua amizade e por ter sido meu Uke durante nossos treinos de Aikido - Domo arigato gozaimashita.*

*Aos membros do Laboratório de Ictioparasitologia por todos os momentos que passamos juntos.*

*Ao Dr. Sérgio Furtado dos Reis que gentilmente doou o seu livro, que foi fundamental para a execução da tese.*

*Ao Dr. Julien Claude que me recebeu em seu laboratório e disponibilizou seu tempo para me ensinar uma nova metodologia.*

*À CAPES pela bolsa de estudo e pela bolsa e suporte durante o doutorado-sancuíche.*

*À Fundação Araucária que financiou o projeto da tese.*

## **Epígrafe**

**Não entre em pânico! (*Don't panic*)**

*Douglas Adams*

## **Ectoparasitos branquiais de *Brycon* (Pisces: Bryconinae): especialização das estruturas de fixação**

### **Resumo**

A geometria morfométrica é uma técnica muito útil para revelar as diferenças morfológicas das estruturas esclerotizadas dos monogenéticos. Primeiramente, este trabalho investigou a variação morfológica das âncoras de monogenéticos em diferentes hospedeiros e bacias hidrográficas. Para isso, as espécies de monogenéticos foram coletados de três diferentes espécies de peixes do gênero *Brycon*. Para acessar as variações morfológicas foi utilizado a geometria morfométrica, uma técnica que preserva a geometria da estrutura anatômica durante a análise, permite comparações estatísticas das formas e facilita representações gráficas por formas referenciais. Os resultados demonstraram que fatores intrínsecos do hospedeiro e seu ambiente podem influenciar no tamanho e forma do haptor dos monogenéticos. As variações intraespecíficas demonstram o potencial de adaptabilidade dos monogenéticos, permitindo, deste modo, explorar diferentes espécies de hospedeiros. O último capítulo trata-se do registro de sete espécies de monogenéticos e descrição de uma nova espécie de monogenético parasitando brânquias da piraputanga, *Brycon hilarii* do rio Cuiabá, estado do Mato Grosso. Foram registradas as espécies *Anacanthorus elegans*, *A. kruidenieri*, *A. spiralocirrus*, *A. bryconi*, *Jainus amazonensis*, *Trinibaculum braziliensis*, *Tereancistrum kerri*, além da descrição de *Annulotrematoides* sp. n. As principais características que permitem classificar *Annulotrematoides* sp. n. como uma nova espécie são o formato das barras e órgão copulador masculino que se apresenta diferente das demais espécies do gênero e a presença de âncoras dorsais em formato de cálice.

**Palavras-chaves:** Geometria morfométrica, Monogenea, *Brycon*, água doce



# **Gills ectoparasites of Brycon ((Pisces: Bryconinae): Specialization of the attaching structures.**

## **Abstract**

The morphometric geometry is a very useful technique to reveal the morphological differences of sclerotized structures monogeneans. First, this study investigated the morphological variation of monogeneans anchors in different hosts and hydrographic basins. The species of monogeneans were collected from three different fish species of the genus *Brycon*. To access the morphological variations was used geometric morphometric, a technique that preserves the geometry of the anatomical structure during analysis enables statistical comparisons of shapes and facilitates graphical representations by reference forms. The results showed that intrinsic factors of the host and its environment can influence the size and shape of the haptor monogeneans. The intraspecies variation demonstrates the potential for adaptability of monogenetic, allowing thus explore different host species. The last chapter is the record of seven species of monogeneans and description of a new species of monogenetic parasitizing the gills piraputanga, *Brycon hilarii* Cuiabá river, Mato Grosso. The species *Anacanthorus elegans*, *A. kruidenieri*, *A. spirallocirrus*, *A. bryconi*, *Jainus amazonensis* *Trinibaculum braziliensis* *Tereancistrum kerri*, were recorded for the first time, beyond the description of *Annulotrematoides* sp. n. The main features for classifying *Annulotrematoides* sp. n. as a new species are the hamuli shape and male copulatory organ that looks different from the other species of the genus.

**Keywords:** Geometric morphometrics, Monogenea, *Brycon*, freshwater.

## Sumário

1. Introdução.....	10
1.2 Referências.....	12
2. CAPÍTULO 2: Comparação morfológica de âncoras de monogenéticos de peixes de água doce por meio da Geometria morfométrica.....	14
2.1 Introdução .....	16
2.2 Materiais e Métodos.....	18
2.2.1 Coletas de dados.....	18
2.2.2 Geometria morfométrica .....	18
2.2.3 Teste de pressupostos .....	20
2.2.4 Análises estatísticas.....	21
2.3 Resultados .....	21
2.3.1 Principais diferenças morfológicas encontradas nos parasitos .....	24
2.3.2 Diferenças entre a forma dos parasitos entre hospedeiros e rios.....	28
2.3.3 Similaridades entre os parasitos da espécie <i>Jainus amazonensis</i> .....	29
2.4 Discussão .....	30
2.4.1 Tamanho das âncoras dos monogenéticos .....	30
2.4.2 Variação na forma das âncoras.....	31
2.4.3 Plasticidade morfológica e especificidade ao hospedeiro .....	33
2.5 Conclusão.....	34
2.6 Referências.....	34
2.7 Anexo I.....	37
3. CAPÍTULO 3: Monogenéticos branquiais de <i>Brycon hilarii</i> (Valenciennes, 1950) (Osteichthyes: Characidae) do Rio Cuiabá: registro da fauna de monogenéticos e descrição de uma nova espécie de <i>Annulotrematoides</i> .....	48
3.1 Introdução .....	50
3.2 Materiais e métodos .....	51
3.3 Resultados .....	52
3.4 Discussão .....	55
3.5 Referências.....	56
3.6 Anexo II .....	57

## 1. Introdução

A morfometria é um ramo da ciência que pode ser definida como um estudo estatístico das mudanças na forma e no tamanho dos organismos (MONTEIRO e REIS 1999). Por ser uma metodologia que informa como essas variáveis se relacionam entre si (SLICE, 2007) diversas disciplinas demonstram interesse em quantificar as variações morfológicas, como taxonomia (mensurar as diferenças entre espécies), ecologia (diferentes pressões ambientais podem influenciar nas características morfológicas) e genética (mensurar a herdabilidade de caracteres morfológicos) (PERES-NETO, 1995).

A morfometria pode ser resumida como um estudo quantitativo da forma. Os dados morfométricos utilizados nas análises são obtidos por meio de marcos anatômicos, que são os pontos nos quais as estruturas biológicas são amostradas, permitindo identificar as variações de forma entre elas nos diferentes exemplares em estudo (BOOKSTEIN, 1997). Esses marcos caracterizam-se como pontos de correspondência presentes em cada objeto, que coincidem entre e dentro das populações (DRYDEN e MARDIA, 1998).

A morfometria é dividida em dois tipos de análises: a morfometria tradicional e a geométrica. A morfometria tradicional estuda a variação e covariação de medidas de distâncias lineares entre marcos anatômicos homólogos (distâncias ou ângulos das estruturas) (ROHLF e MARCUS, 1993).

O uso de caracteres morfométricos tradicionais está relacionado à obtenção de medidas longitudinais ao eixo do corpo, armazenando grande quantidade de informações repetitivas em uma mesma região, enquanto o caractere na direção oblíqua encontra-se ausente. As medidas concentram-se em uma mesma região, produzindo uma cobertura desigual da forma do corpo (BOOKSTEIN et al., 1985).

Uma alternativa para a morfometria tradicional é a Geometria Morfométrica (GM), que tem como objetivo descrever e localizar as regiões onde ocorrem as mudanças, reconstruindo e reconstituindo graficamente tais mudanças na forma (MONTEIRO e REIS, 1999). A GM representa uma ferramenta importante em análises taxonômicas e sistemáticas, apresentando vantagens em comparação à morfometria tradicional, visto que permite melhor aproximação para medidas de variação de forma entre organismos e a relação dessas variações com o ambiente (VIGNON e SASAL, 2010).

A GM tem sido usada em análises morfológicas em inúmeros organismos (ADAMS et al., 2004), tais como tartarugas (CLAUDE et al., 2003), peixes (VAN STEENBERGE et al., 2015) e roedores (ASTÚA et al., 2015). Pode-se destacar trabalhos com monogenéticos, que são parasitos conhecidos pelo corpo flexível e pelas estruturas esclerotizadas utilizadas para a fixação no hospedeiro (haptor).

A evolução morfológica do haptor é frequentemente considerada como resultado de um processo adaptativo ao hospedeiro e/ou ao ambiente, o que se reflete na filogenia parasitária (VIGNON e SASAL, 2010). Devido a essas características adaptativas, os monogenéticos são considerados um excelente modelo para questões ecológicas e evolucionistas, tais como riqueza de espécie, especificidade ao hospedeiro, estruturas da comunidade e interações coevolutivas dos hospedeiros e parasitos (HOBERG e KLASSEN, 2002; HUYSE et al., 2005).

O uso da GM representa uma nova abordagem analítica na compreensão da variabilidade morfológica das estruturas esclerotizadas do haptor para monogenéticos. Pesquisas recentes têm aplicado a GM aos monogenéticos buscando responder questões envolvendo plasticidade fenotípica das estruturas do haptor (MARINIELLO et al., 2004; OLSAD et al., 2009), ecologia e evolução (POISOT e DESDEVISES, 2010).

Após esta contextualização, o presente trabalho utilizou a GM para acessar as variações da forma das âncoras do parasito em diferentes hospedeiros e ambientes. Dessa maneira testou-se, no primeiro capítulo, as seguintes hipóteses: i) os parasitos de uma mesma bacia hidrográfica e da mesma espécie de hospedeiro apresentam âncoras com formas similares, visto que estão submetidos às mesmas pressões seletivas referentes ao micro e macroambiente; ii) monogenéticos com maior variação morfométrica nas âncoras infestam número superior de espécies de peixes. No segundo capítulo foi apresentada a fauna parasitária de *Brycon hilarii*, um peixe natural do Pantanal, com a descrição de uma nova espécie de monogenético.

## 1.2 Referências

ASTÚA, D.; BANDEIRA, I.; GEISE, L. Cranial morphometric analyses of the cryptic rodent species *Akodon cursor* and *Akodon montensis* (Rodentia, Sigmodontinae). **Oecologia Australis**, v. 19, n. 1, p. 143-157, 2015.

ADAMS, D. C.; ROHLF, F. J.; SLICE, D. E. Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'. **Italian Journal of Zoology**, v. 71, p. 5-16, 2004.

BOOKSTEIN, F. L. **Morphometric tools for landmark data**. Geometry and Biology. New York, Cambridge University Press, 456p., 1997.

BOOKSTEIN, F. L.; CHERNOFF, B.; ELDER, R.; HUMPHRIES, J.; SMITH, G.; STRAUSS, R. Morphometrics in evolutionary biology. **The Academy of Natural Sciences of Philadelphia**, v. 15, p. 1-277, 1985.

CLAUDE, J.; PARADIS, E.; TONG, H.; AUFFRAY, J. C. A geometric morphometric assessment of the effects of environment and cladogenesis on the evolution of the turtle shell. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 79, p. 485-501, 2003.

DRYDEN, I. L.; MARDIA, K. V. **Statistical shape analysis**. Wiley, New York, 1998.

HOBERG, E. P.; KLASSEN, G. J. Revealing the faunal tapestry: co-evolution and historical biogeography of host and parasites in marine systems. **Parasitology**, v. 124, n. 7, p. 3-22, 2002.

HUYSE, T.; POULIN, R.; THÉRON, A. Speciation in parasites: a population genetics approach. **Trends in Parasitology**, v. 21, n. 10 p. 469-475, 2005.

MARINIELLO, L.; ORTIS, M.; D'AMELIO, S.; PETRARCA, V. Morphometric variability between and within species of *Ligophorus* Euzest & Suriano, 1977 (Monogenea: Ancyrocephalidae) in the Mediterranean Sea. **Systematic Parasitology**, v. 57, p. 183-190, 2004.

MONTEIRO, L. R.; REIS, S. F. **Princípios de morfometria geométrica**. Ed. Holos, Ribeirão Preto, 198 p., 1999.

OLSTAD, K.; BACHMANN, L.; BAKKE, T. A. Phenotypic plasticity of taxonomic and diagnostic structures in gyrodactylosis-causing flatworms (Monogenea, Platyhelminthes). **Parasitology**, v. 136, p. 1305-1315, 2009.

PERES-NETO, P. R. Introdução a análises morfométricas. **Oecologia Brasiliensis**, v. 2, p. 57-89, 1995.

POISOT, T.; DESDEVISES, Y. Putative speciation events in *Lamellodiscus* (Monogenea: Diplectanidae) assessed by a morphometric approach. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 99, p. 559-569, 2010.

ROHLF, F. J.; MARCUS, L. F. A revolution in morphometrics. **Tree**, v. 8, n. 4, p. 129-132, 1993.

SLICE, D. E. Geometric morphometrics. **Annual Review Anthropology**, v. 36, p. 261-281, 2007.

VAN STEENBERGE, M.; PARISELLE, A.; HUYSE, T.; VOLCKAERT, F. A. M.; SNOEKS, J.; VANHOVE, M. P. M. Morphology, molecules, and monogenean parasites: an example of an integrative approach to cichlid biodiversity. **PLoS ONE**, v. 10, n. 4, p. 1-42, 2015.

VIGNON M, SASAL P. The use of geometric morphometrics in understanding shape variability of sclerotized haptor structures of monogeneans (Platyhelminthes) with insights into biogeographic variability. **Parasitology International**, v. 59, p. 183-191, 2010.

## **2. CAPÍTULO 2**

### **Comparação morfológica de âncoras de monogenéticos de peixes de água doce por meio da Geometria morfométrica**

Artigo elaborado e formatado conforme as normas para publicação científica no periódico The Journal of Parasitology

## **Comparação morfológica de âncoras de monogenéticos de peixes de água doce por meio da Geometria morfométrica**

### **Resumo:**

Este trabalho investigou que: i) os parasitos de uma mesma bacia hidrográfica e da mesma espécie de hospedeiro apresentam âncoras com formas similares, visto que estão submetidos às mesmas pressões seletivas referentes ao micro e macroambiente; ii) monogenéticos com maior variação morfométrica nas âncoras infestam número superior de espécies de peixes. Para isso, as espécies de monogenéticos foram coletados de três diferentes espécies de peixes do gênero *Brycon*. Para acessar as variações morfológicas foi utilizado a geometria morfométrica, uma técnica que preserva a geometria da estrutura anatômica durante a análise, permite comparações estatísticas das formas e facilita representações gráficas por formas referenciais. Os resultados demonstraram que fatores intrínsecos do hospedeiro e seu ambiente podem influenciar no tamanho e forma dos escleritos haptorial dos monogenéticos. As variações intraespecíficas demonstram o potencial de adaptabilidade dos monogenéticos, permitindo, deste modo, explorar diferentes espécies de hospedeiros.

Palavras-chave: Morfometria, Monogenea, ambiente dulcícola, plasticidade fenotípica, *Brycon*

### **Abstract:**

This study investigated that: i) the parasites of the same hydrographic basin and the same host species have anchors with similar shape, as they are subject to the same selective pressures for the micro and macro environment; ii) monogenetics with greater variation in morphometric anchors infest larger number of fish species. For this species monogeneans were collected from three different fish species of the genus *Brycon*. To access the morphological variations was used morphometric geometry, a technique that preserves the geometry of the anatomical structure during analysis enables statistical comparisons of shapes and facilitates graphical representations by reference forms. The results showed that intrinsic factors of the host and its environment can influence the size and shape of the haptorial sclerites monogenetics. The intraspecies variation demonstrates the potential for adaptability of monogenetic, allowing thus explore different host species.



Keywords: Morphometry, Monogenea, freshwater environment, phenotypic plasticity, *Brycon*.

## 2.1 Introdução

A ecomorfologia é um importante mecanismo para visualizar as variações morfológicas de uma determinada população natural, inferir nas causas ecológicas e evolutivas (Costa et al., 2004) e entender como os organismos respondem às pressões ambientais. Os resultados dessa linha de pesquisa podem ajudar a compreender quais adaptações evolutivas atravessaram fronteiras filogenéticas com o objetivo de ampliar o *fitness* (Thompson, 2005), contextualizando as convergências morfológicas de diferentes organismos (Bush, 2009).

Neste contexto são comumente utilizadas as análises morfométricas – técnicas desenvolvidas para quantificar a variação morfológica dos organismos. Dentre estas metodologias a mais utilizada é a morfometria tradicional, onde medidas lineares como comprimento, ângulos e proporções das estruturas morfológicas são utilizadas em análises estatísticas (Adams et al., 2004). Os resultados desta abordagem permitem visualizar as diferenças morfológicas por relações estatísticas ou por gráficos de dispersão (Rohlf e Marcus, 1993).

Outra metodologia preconizada para essas análises é a geometria morfométrica, um método baseado em marcos anatômicos (*landmarks*). Estes marcos são pontos demarcados ao longo de estruturas biológicas e que servem de referências às formas destas estruturas, facilitando os processos de amostragem, identificação e as possíveis explicações sobre os processos biológicos (Rohlf e Marcus, 1993). Esta abordagem apresenta algumas vantagens sobre o método tradicional, pois 1) preserva a geometria da estrutura anatômica durante toda a análise, 2) permite comparações estatísticas das formas, 3) facilita representações gráficas por formas referenciais – reproduções que resultam da média das estruturas de todos os espécimes – o que permite o estudo da evolução na variação destas (Vignon e Sasal, 2010) e 4) apresenta uma grande robustez estatística, ou seja, uma grande resistência diante dos desvios das suposições feitas (Rohlf e Marcus, 1993).

Tendo em vista as vantagens que esta metodologia oferece, o presente trabalho quantificou as diferenças morfológicas intra e interespecíficas entre as morfologias das âncoras de espécies de monogenéticos encontradas em três espécies de peixes coletadas em diferentes rios do Brasil. A aplicação desta técnica na comparação entre diferentes

espécies de monogenéticos justifica-se pelo desenvolvimento de diferentes órgãos de fixação especializados, cuja função é otimizar a exploração dos hospedeiros (Whittington e Kearns, 1991; Šimková et al., 2001; Bush, 2009). Por apresentarem alto nível de especialização dos órgãos de fixação, muitos pesquisadores têm focado em comparações de variações morfológicas entre espécies parasitárias (Chisholm e Whittington, 1998; Cribb, Chisholm e Bray, 2002; Vignon, Parsille e Vanhove, 2011).

Monogenéticos são ectoparasitos de peixes que têm ciclo de vida monoxênico e possuem, como característica morfológica principal, estruturas esclerotizadas para se fixar em seus hospedeiros. Outra característica dos monogenéticos é a alta especificidade dos órgãos de fixação, cuja convergência adaptativa moldou as estruturas do haptor às brânquias de seus hospedeiros (Poulin, 1992). Nesse sentido, a evolução morfológica das estruturas do haptor e a especificidade ao hospedeiro podem ser consideradas resultado de processos adaptativos ao hospedeiro e ao ambiente (Morand et al., 2002; Šimková e Morand, 2008). Geralmente estes parasitos ocorrem em apenas uma espécie de hospedeiro, entretanto, podem estar relacionados a gêneros e famílias de hospedeiros (Poulin, 1992).

A subfamília Bryconinae inclui 43 espécies nominais, dos quais 41 são do gênero *Brycon* (Lima, 2003), um importante grupo presente em quase todas as bacias hidrográficas brasileiras, com vários exemplos usados na indústria da aquicultura (Gomes et al., 2000). Entre estas espécies Bryconinae destacamos *Brycon orbignyianus* Günther, 1869, *Brycon melanopterus* Cope, 1872, e *Brycon hilarii* Cuvier e Valenciennes, 1849, três espécies que apresentam comprimento semelhante (cerca de 35 cm) e sobreposição no espectro de alimentação, com o comportamento onívoro, alimentando-se de frutas, sementes e artrópodes (Santos et al., 2006).

O uso da geometria morfométrica permite acessar as variações da forma das âncoras do parasito em diferentes hospedeiros e ambientes. Dessa maneira testou-se as seguintes hipóteses: i) os parasitos de uma mesma bacia hidrográfica e da mesma espécie de hospedeiro apresentam âncoras com formas similares, visto que estão submetidos às mesmas pressões seletivas referentes ao micro e macroambiente; ii) monogenéticos com maior variação morfométrica nas âncoras infestam uma gama superior de espécies de peixes.

## 2.2 Materiais e Métodos

### 2.2.1 Coletas de dados

Os espécimes de *Brycon melanopterus* foram capturados no Rio Solimões (3°18'46.3"S 60°05'56.6"O), AM, em setembro de 2013, *B. hilarii* no Rio Cuiabá (15°38'37.9"S 56°04'17.4"O), MS, em novembro de 2014 e os de *B. orbignyanus* no Rio Paraná (22°49'55.3"S 53°33'59.9"O), PR, durante o ano de 2010 (Figura 1). As brânquias, fixadas em formol 5%, foram examinadas no Laboratório de Ictioparasitologia do Nupélia (Núcleo de Pesquisas em Limnologia Ictiologia e Aquicultura, UEM). Os monogenéticos foram coletados com ajuda de microscópio estereoscópico e posteriormente foram montadas lâminas em meio Hoyer para estudar as estruturas esclerotizadas (Kritisky et al., 1986).



**Figura 1** – Mapa hidrográfico do Brasil com os pontos de coleta dos peixes.

### 2.2.2 Geometria morfométrica

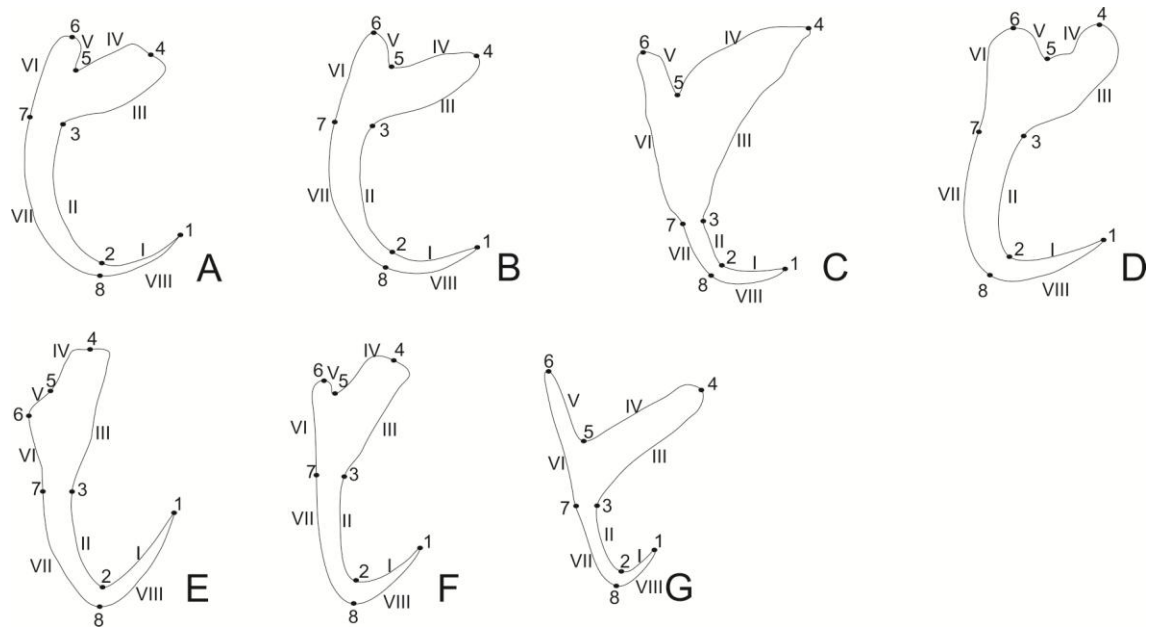
Para realizar a geometria morfométrica, foram utilizadas as âncoras, pois essas estruturas não estão sujeitas a grandes variações devido à contração ou ao achatamento durante a fixação (Lim e Gibson, 2009). Fotos dos espécimes de monogenéticos foram

capturadas usando microscópio Axionplan 2 com câmera acoplada. As fotos foram utilizadas para digitalizar os marcos anatômicos em duas dimensões, usando o programa TPSDig 2 (Rohlf, 2006). Em cada âncora oito marcos anatômicos (1-8) foram inseridos nos pontos principais das estruturas (Figura 2). Para uma descrição mais acurada da morfologia das âncoras, foram adicionados oito semimarcos anatômicos (I-VIII), pois as curvas das raízes, da lâmina e da ponta podem apresentar diferenças biológicas significativas, particularmente quando se avalia diferenças intraindividuais (Vignon e Sasal, 2010). Os dados obtidos com a digitalização consistem de coordenadas no plano Cartesiano ( $x$  e  $y$ ) dos 16 marcos (marcos anatômicos e semi marcos anatômicos).

Todos os dados dos marcos anatômicos foram sobrepostos por Quadrados Mínimos de Procrustes (Rohlf, 1990), um método que rotaciona, translada e proporcionaliza as coordenadas dos marcos anatômicos em uma configuração referência (ou média) e permite quantificar as diferenças morfológicas entre os parasitos estudados. O tamanho geométrico de cada espécime foi estimado pelo tamanho do centroide, o qual representa o centro geométrico da âncora, determinado pelas médias dos valores de posição no plano cartesiano (configuração referência) de todos os marcos anatômicos das âncoras (Bookstein, 1991). O procedimento de Procrustes permite o tratamento do tamanho e da forma como dois componentes independentes, então as coordenadas das configurações sobrepostas são consideradas como dados crus para análises estatísticas futuras (Claude et al., 2003).

Para analisar como a forma e o tamanho variam dentro e entre os grupos parasitários, uma análise de componentes principais (PCA) foi construída com as coordenadas rotacionadas, transladas e proporcionalizadas pelo Procrustes.

Para reduzir possíveis erros de digitalização dos marcos anatômicos, todas as fotografias e digitalizações das âncoras foram processadas duas vezes, em momentos diferentes, transformando as duas repetições em dados para análises estatísticas posteriores (Claude et al., 2003; Llopis-Belenguer et al., 2015).



**Figura 2.** A: Âncora dorsal de *A. bryconi*; B: Âncora ventral de *A. bryconi*; C: Âncora dorsal de *Annutrematoides* sp. n.; D: Âncora ventral de *Annulotrematoides* sp. n.; E: Âncora dorsal de *J. amazonensis*; F: Âncora dorsal de *T. braziliensis*; G: Âncora ventral de *T. braziliensis*. 1-8: representam a ordem dos marcos anatômicos. I-VIII representam a ordem das curvas.

### 2.2.3 Teste de pressupostos

Inicialmente, é necessário verificar a magnitude de diferenças dentro dos grupos relativas às diferenças inter-grupais. Se as variações dentro dos grupos forem altas, o teste das hipóteses fica impossibilitado. No presente trabalho os grupos foram definidos como parasitos de uma mesma espécie infestando a mesma espécie de hospedeiro na mesma bacia hidrográfica. Deste modo a variação do tamanho e da forma das âncoras dentro dos grupos foi comparada à variação entre os grupos (parasitos de uma mesma espécie, mas de diferentes hospedeiros e bacias hidrográficas). A comparação entre os tamanhos foi feita por meio de uma análise de variância (ANOVA) unifatorial, e a comparação entre as formas das âncoras foi feita por meio de uma análise multivariada da variância unifatorial (MANOVA). Em ambas as análises se considerou a espécie a fonte de variação.

Os erros de medidas das formas das âncoras foram estimados de todas as réplicas por Procrustes ANOVA unifatorial, considerando indivíduos como fonte de variação (Klingenberg e McIntyre, 1998). Este método consiste no cálculo da soma dos quadrados dos médios de cada coordenada divididos pelos graus de liberdade relevantes para cada efeito (Claude et al., 2003).

#### 2.2.4 Análises estatísticas

Como a variação dentro dos grupos foi menor que a variação entre os grupos, as hipóteses do presente trabalho puderam ser testadas. Para verificar se os parasitos de uma mesma bacia hidrográfica e da mesma espécie de hospedeiro apresentaram âncoras com formas e tamanhos diferentes, foi utilizada uma MANOVA, levando em conta a espécie do parasito como fonte de variação.

Para verificar a similaridade entre os tamanhos e as formas das âncoras das populações de diferentes rios e hospedeiros foi calculada a distância de Mahalanobis entre os centroides.

Para verificar qual espécie de monogenético apresentou maior variação morfométrica utilizou-se o valor da estatística F e os resíduos, ambos obtidos na MANOVA. Maiores valores destes índices são associados a maior variação morfométrica (Rodríguez-González et al., 2015).

Para cada espécie foi computada uma configuração média (referência) das superposições dos indivíduos pertencente a essa espécie, incluindo as réplicas.

As sobreposições dos marcos anatômicos e a PCA foram feitas no programa R versão 3.2.2, utilizando o pacote "geomorph". O cálculo da distância de Mahalanobis foi realizado utilizando o programa R versão 3.2.2 e o pacote "MASS".

### 2.3 Resultados

Trinta espécimes de *B. melanopterus* foram coletados no rio Solimões, em fevereiro de 2012. Vinte e cinco indivíduos de *B. hilarii* foram coletadas no rio Cuiabá em novembro de 2014. Trinta e um indivíduos de *B. orbygnianus* foram coletados no rio Paraná em março de 2010.

**Tabela I.** Espécies de hospedeiros, locais de coleta, espécies de parasitos e quantidade de parasitos utilizada no trabalho.

Espécies de hospedeiros	Locais de coleta	Monogenea	Número de parasitos
<i>Brycon melanopterus</i>	Rio Solimões	<i>Annulotrematoides bryconi</i>	43
		<i>Jainus amazonensis</i>	34
		<i>Trinibaculum braziliensis</i>	38
<i>Brycon hilarii</i>	Rio Cuiabá	<i>Annulotrematoides bryconi</i>	36
		<i>Annulotrematoides</i> sp. n.	40
		<i>Jainus amazonensis</i>	40
<i>Brycon orbygnianus</i>	Rio Paraná	<i>Trinibaculum braziliensis</i>	42
		<i>Jainus amazonensis</i>	37

A MANOVA realizada no teste de pressupostos demonstrou que a variação de forma da âncora dentre os monogenéticos parasitando a mesma espécie de hospedeiro

na mesma bacia hidrográfica foi significativamente menor (F) do que a variação entre os grupos (mesma espécie em diferentes hospedeiros e bacias hidrográficas) (Tabela II).

**Tabela II.** Manova indicando a variação intraespecífica e interespecífica da forma das âncoras dos monogenéticos.

	G.L.	Pillai	F Aprox.	num g.l.	den g.l.	Pr (>F)	Erros de medição
<i>Annulotrematoides bryconi</i>							
Âncora ventral	72	45,556	1,6991	5256	5184	<2,2e-16***	0,13
Resíduo	73						
Âncora dorsal	76	47,195	1,6171	5852	5776	<2,2e-16***	0,23
Resíduo	77						
<i>Annulotrematoides. sp. n.</i>							
Âncora ventral	31	23,474	3,0213	992	961	<2,2e-16***	0,16
Resíduo	32						
Âncora dorsal	39	27,266	2,2656	1560	1521	<2,2e-16***	0,11
Resíduo	40						
<i>Jainus amazonensis</i>							
Âncora dorsal	110	68,526	1,6374	12210	12100	<2,2e-16***	0,16
Resíduo	111						
<i>Trinibaculum braziliensis</i>							
Âncora ventral	78	49,993	1,7624	6162	6084	<2,2e-16***	0,25
Resíduo	79						
Âncora dorsal	63	42,319	2,0143	4032	3969	<2,2e-16***	0,09
Resíduo	64						

Valores de significância: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 '' 1

G.L.=grau de liberdade; F Aprox.=valor aproximado da estatística F; num g.l.=numerador do grau de liberdade; den g.l.=denominador do grau de liberdade; Pr=nível de probabilidade.

De maneira semelhante, a ANOVA realizada no teste de pressupostos demonstrou que a variação de tamanho da âncora dentre os monogenéticos parasitando a mesma espécie de hospedeiro na mesma bacia hidrográfica foi significativamente menor do que a variação entre os grupos (mesma espécie em diferentes hospedeiros e bacias hidrográficas) (Tabela III).

**Tabela III.** Anova representando a variação intraespecífica e interespecífica do tamanho da âncora dos monogenéticos.

Monogenea	Procrustes Anova					Erros de medições
	g.l.	S.Q.	M.S.	Valor F	Pr(>F)	
<i>Annulotrematoides bryconi</i>						
Âncora ventral	72	4552780	63233	115.9	<2e-16***	0.01
Resíduo	73	39819	545			

Âncora dorsal	76	2407034	31672	38.33	<2e-16***	0.05
Resíduo	77	63619	826			
<i>Annulotrematoides. sp. n.</i>						
Âncora ventral	31	246323	7946	69.89	<2e-16***	0.02
Resíduo	32	3638	114			
Âncora dorsal	39	317740	8147	23.21	<2e-16***	0.06
Resíduo	40	11156	279			
<i>Jainus amazonensis</i>						
Âncora dorsal	110	7689282	69903	274.8	<2e-16***	0.007
Resíduo	111	28238	254			
<i>Trinibaculum braziliensis</i>						
Âncora ventral	78	4862742	62343	248.4	<2e-16***	0.008
Resíduo	79	19827	251			
Âncora dorsal	63	446981	7095	66.5	<2e-16***	0.02
Resíduo	64	6828	107			

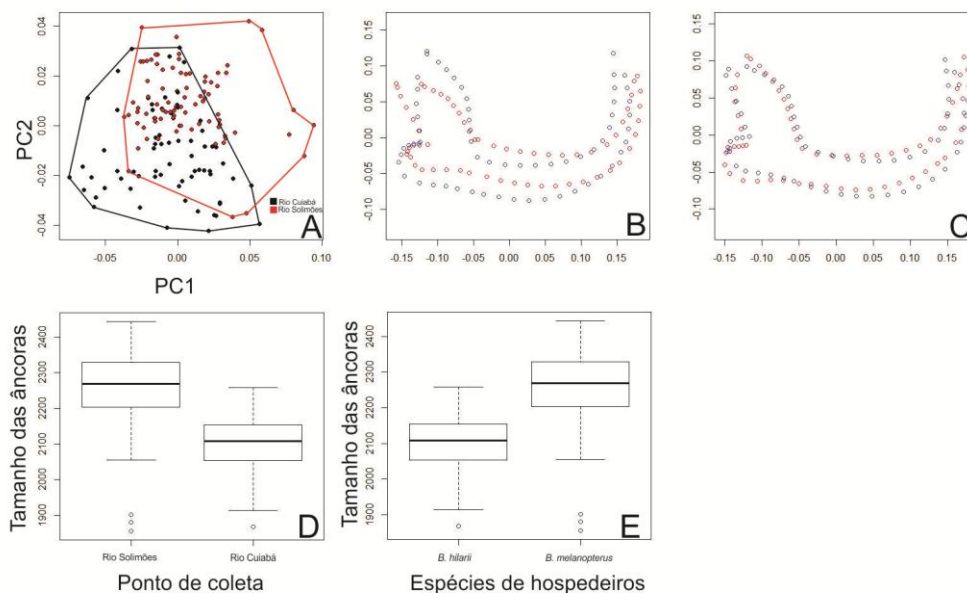
Níveis de significância: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

g.l.=Grau de liberdade; S.Q.=Soma dos quadrados; M.S.=Média da soma dos quadrados; Valor de F estatística; Pr.=nível de probabilidade.



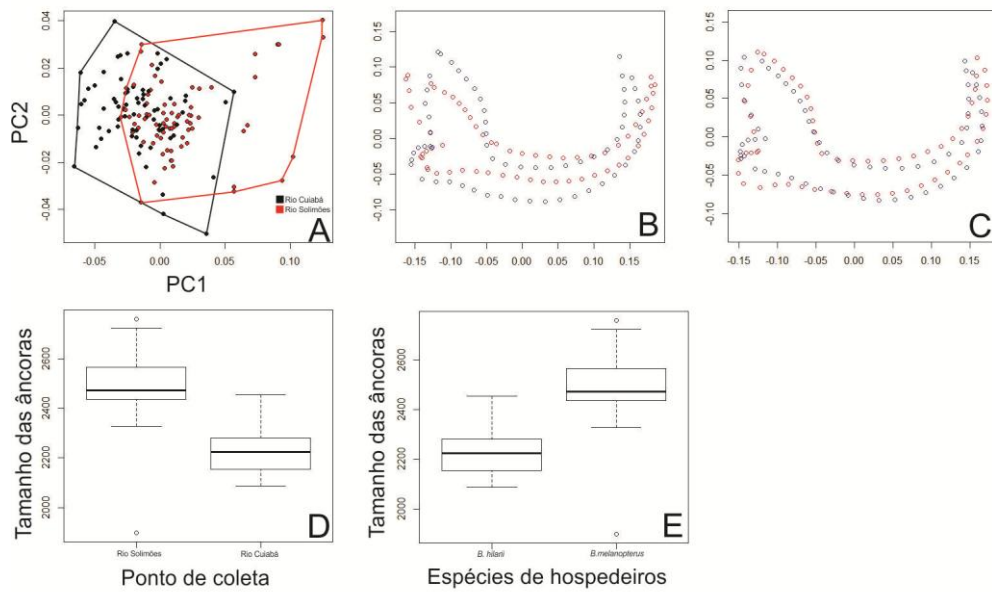
### 2.3.1 Principais diferenças morfológicas encontradas nos parasitos

As principais diferenças apresentadas nas âncoras dos monogenéticos analisados estão concentradas na raiz superficial, profunda e na lâmina.



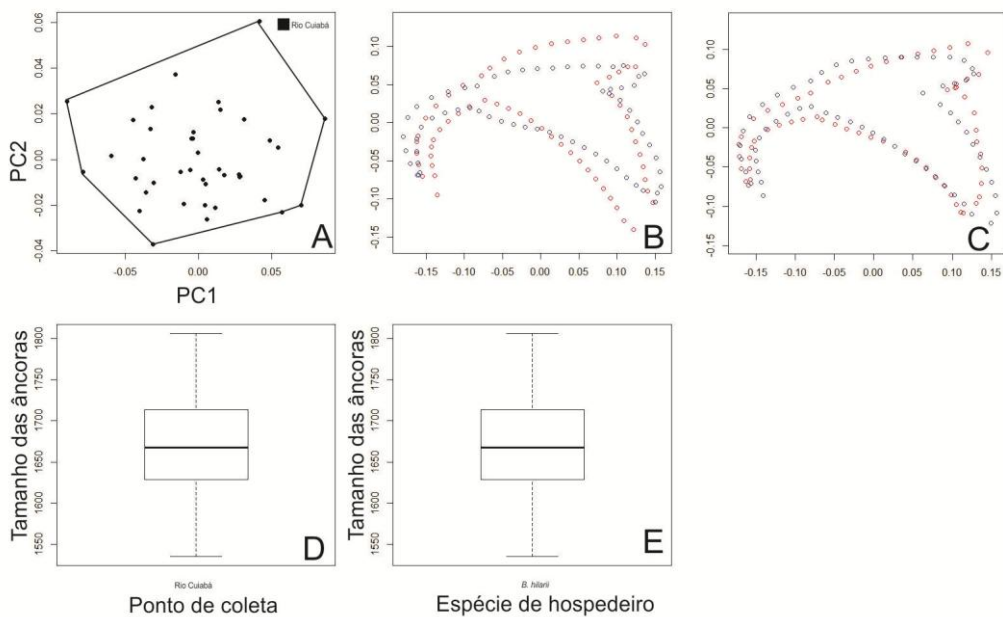
**Figura 3.** A: Gráfico demonstrando a variação de tamanho (eixo x) e forma (eixo y); B: Análise do primeiro componente principal (PC1 55,6%) das âncoras dorsais de *A. bryconi*; C: Análise do segundo componente principal (PC2 11,1%) das âncoras dorsais de *A. bryconi*; D: Comparação do tamanho das âncoras entre os rios; E: Comparação do tamanho das âncoras entre os hospedeiros.

A PCA construída com as coordenadas proporcionalizadas demonstrou como a forma e o tamanho das âncoras dos monogenéticos variaram dentro e entre os grupos parasitários. Os resultados de *Annulotrematoides bryconi* indicaram que a variância do tamanho das âncoras (indicada pela Coordenada Principal 1, no eixo x) explicou 55,6% do total da variância das âncoras dorsais. Neste caso, as principais variações estão nos marcos 3, 4, 6 e 7. Ainda com relação às âncoras dorsais, PC2 indicou que a forma destas explicou 11,1% do total da variância, sendo as principais diferenças presentes nos marcos 1 e 8 (Figura 3). O tamanho das âncoras ventrais explicou 43% do total das variações, enquanto a forma das âncoras ventrais explicou 17,3% do total das variações (Figura 4).

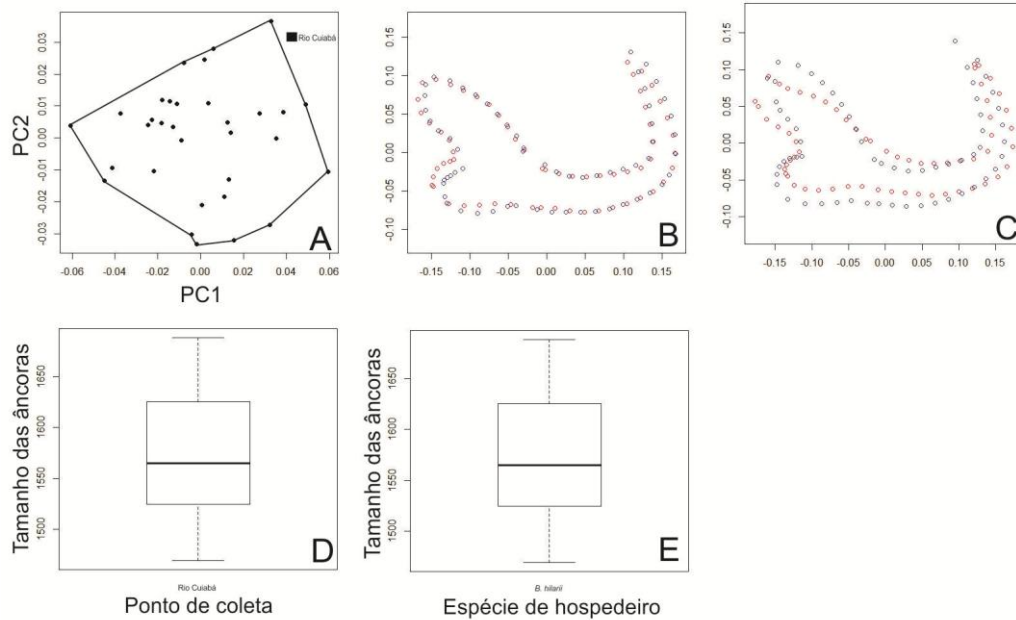


**Figura 4.** A: Gráfico demonstrando a variação de tamanho (eixo x) e forma (eixo y); B: Análise do primeiro componente principal (PC1 43%) das âncoras ventrais de *A. bryconi*; C: Análise do segundo componente principal (PC2 17,3%) das âncoras dorsais de *A. bryconi*; D: Comparação do tamanho das âncoras entre os rios; E: Comparação do tamanho das âncoras entre os hospedeiros.

Os resultados da PC1 de *Annulotrematoides* sp. n. indicaram que PC1 explicou 44,5%, enquanto PC2 explicou 13,3% do total de variação das âncoras dorsais. Neste caso, as principais diferenças estavam concentradas nas curvas 4 e 7 (Figura 5). Quanto às âncoras ventrais as principais variações estavam nas curvas 3 e 4, e PC1 explicou 36,2%, enquanto a PC2 explicou 14,1% do total das variações das âncoras ventrais (Figura 6).

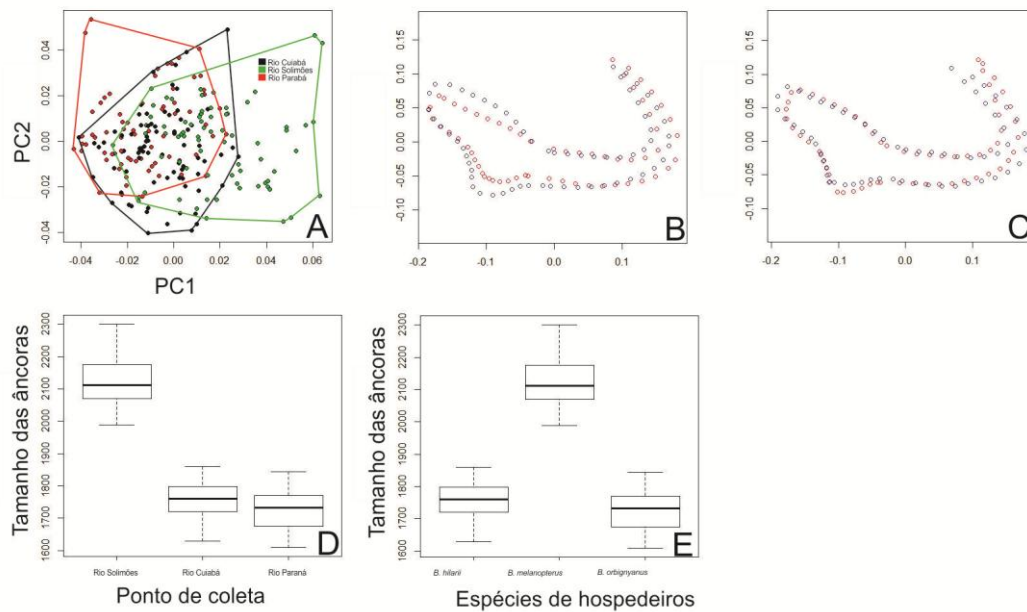


**Figura 5.** A: Gráfico demonstrando a variação de tamanho (eixo x) e forma (eixo y); B: Análise do primeiro componente principal (PC1 44,5%) das âncoras dorsais de *Annutrematoides* sp. n.; C: Análise do segundo componente principal (PC2 13,3%) das âncoras dorsais de *Annutrematoides* sp. n.; D: *Boxplot* do tamanho da âncora dorsal no rio Cuiabá; E: *Boxplot* do tamanho da âncora dorsal no hospedeiro *B. hilarii*.



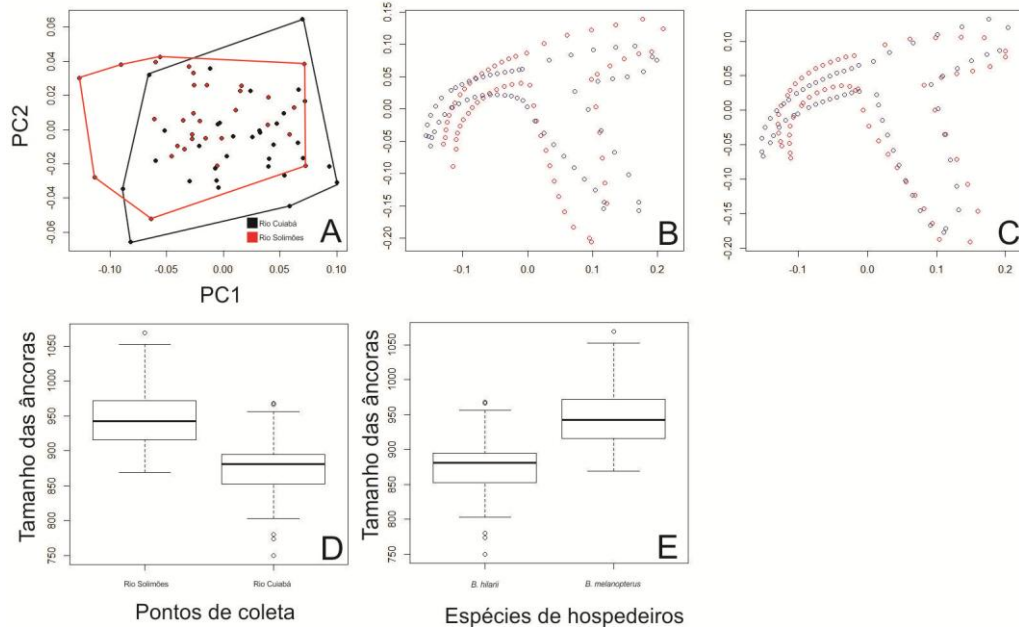
**Figura 6.** A: Gráfico demonstrando a variação de tamanho (eixo x) e forma (eixo y); B: Análise do primeiro componente principal (PC1 36,2%) das âncoras ventrais de *Annutrematoides* sp. n.; C: Análise do segundo componente principal (PC2 14,1%) das âncoras dorsais de *Annutrematoides* sp. n.; D: *Boxplot* do tamanho da âncora dorsal no rio Cuiabá; E: *Boxplot* do tamanho da âncora dorsal no hospedeiro *B. hilarii*.

Com relação ao monogênético *Jainus amazonensis*, a PC1 explicou 27,2% do total da variância, enquanto a PC2 explicou 17,7% do total da variância. As principais diferenças estavam nas curvas 1, 3, 5, 6 e 8. (Figura 7). Nesta espécie, a âncora ventral apresenta um prolongamento que se deformou durante a fixação, dificultando a digitalização e fornecendo dados pouco confiáveis. Por esse motivo, estas âncoras não foram utilizadas no presente trabalho.

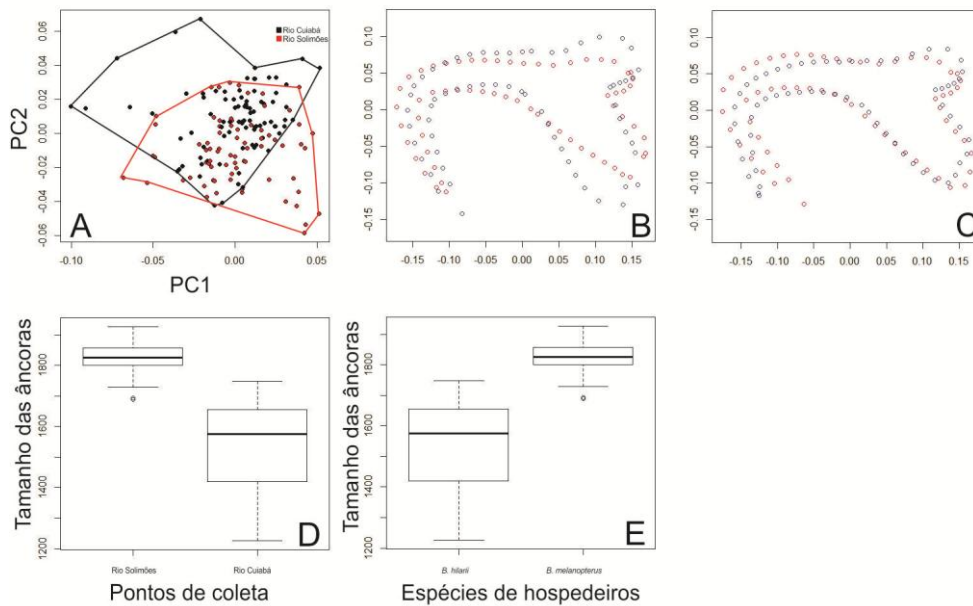


**Figura 7.** A: Gráfico demonstrando a variação de tamanho (eixo x) e forma (eixo y); B: Análise do primeiro componente principal (PC1 27,2%) das âncoras dorsais de *Jainus amazonensis*; C: Análise do segundo componente principal (PC2 17,7%) das âncoras dorsais de *Jainus amazonensis*; D: Comparação do tamanho das âncoras entre os rios; E: Comparação do tamanho das âncoras entre os hospedeiros.

A PCA com as coordenadas de *Trinibaculum braziliensis* indicaram que a PC1 explicou 36,2% do total de variação, enquanto a PC2 explicou 14,1% do total de variação das âncoras dorsais. As principais diferenças estavam nas curvas 1, 2, 7 e 8 (Figura 8). A PC1 teve 28,3% de explicação e a PC2 teve 20% de explicação. As principais diferenças estavam nas curvas 1, 3, 6 e 8 (Figura 9).



**Figura 8.** A: Gráfico demonstrando a variação de tamanho (eixo x) e forma (eixo y); B: Análise do primeiro componente principal (PC1 36,2%) das âncoras dorsais de *T. braziliensis*; C: Análise do segundo componente principal (PC2 14,1%) das âncoras dorsais de *T. braziliensis*; D: Comparação do tamanho das âncoras entre os rios; E: Comparação do tamanho das âncoras entre os hospedeiros.



**Figura 9.** A: Gráfico demonstrando a variação de tamanho (eixo x) e forma (eixo y); B: Análise do primeiro componente principal (PC1 28,3%) das âncoras ventrais de *T. braziliensis*; C: Análise do segundo componente principal (PC2 20%) das âncoras ventrais de *T. braziliensis*; D: Comparação do tamanho das âncoras entre os rios; E: Comparação do tamanho das âncoras entre os hospedeiros.

### 2.3.2 Diferenças entre a forma dos parasitos entre hospedeiros e rios

Os resultados da Manova indicaram que todos os grupos de monogenéticos analisados no presente estudo foram morfologicamente diferentes ( $F=136.79$ ;  $p<0,001$ ).

Em outras palavras, não houveram espécies cujas âncoras fossem morfologicamente similares.

As variações morfológicas encontradas em cada espécie de parasito demonstram que há diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, levando em conta a espécie de hospedeiro como fonte de variação (Tabela IV). Os espécimes de parasito de uma espécie de hospedeiro variaram morfologicamente de outros parasitos de outras espécies de hospedeiros.

**Tabela IV.** Manova indicando as diferenças entre as espécies de parasitos encontrados em diferentes hospedeiros.

	<b>g.l.</b>	<b>Pillai</b>	<b>Aprox F</b>	<b>num g.l.</b>	<b>Den g.l.</b>	<b>Pr (&gt;F)</b>
<i>A. bryconi</i>	1	0.56713	9.1712	9	63	1.005e-08***
Resíduo	71					
<i>J. amazonensis</i>	2	1.062	9.2456	24	196	<2.2e-16***
Resíduo	108					
<i>T. braziliensis</i>	1	0.52518	6.5357	11	65	3.351e-07***
Resíduo	75					

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

g.l., grau de liberdade; Aprox F, valor aproximado da estatística F; num g.l., numerador do grau de liberdade; den g.l., denominador do grau de liberdade; Pr, nível de probabilidade.

As variações morfológicas encontradas em cada espécie de parasito demonstram que há diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, levando em conta as bacias hidrográficas como fonte de variação (Tabela V). Em outras palavras, os espécimes de parasito de um rio variaram morfologicamente de outros parasitos de outros rios.

**Tabela V.** Manova indicando as diferenças entre as espécies de parasitos coletados em diferentes rios.

	<b>g.l.</b>	<b>Pillai</b>	<b>Aprox F</b>	<b>num g.l.</b>	<b>Den g.l.</b>	<b>Pr (&gt;F)</b>
Paraná x Solimões	1	0.74996	14.497	12	58	2.435e-13***
Resíduo	69					
Paraná x Cuiabá	1	0.55292	6.596	12	64	1.659e-07***
Resíduo	75					
Cuiabá x Solimões	1	0.71273	12.612	12	61	2.064e-12**
Resíduo	72					

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

g.l., grau de liberdade; Aprox F, valor aproximado da estatística F; num g.l., numerador do grau de liberdade; den g.l., denominador do grau de liberdade; Pr, nível de probabilidade.

### 2.3.3 Similaridades entre os parasitos da espécie *Jainus amazonensis*

O cálculo da distância de Mahalanobis considerou apenas a espécie presente nas três bacias hidrográficas – *Jainus amazonensis* – e demonstrou que os espécimes oriundos do rio Cuiabá e Paraná apresentaram um valor similar. Isso indica que os

espécimes dessas bacias hidrográficas apresentam maior similaridade morfológica entre si, se comparado com espécimes oriundos do rio Solimões (Tabela 6).

**Tabela 6.** Distância de Mahalanobis indicando as similaridades morfológicas entre espécimes de *Jainus amazonensis* coletados em diferentes rios.

	Solimões	Cuiabá
Cuiabá	15.13165	
Paraná	16.44764	8.72247

## 2.4 Discussão

Os parasitos são influenciados por diferentes fontes de heterogeneidade ambiental: o macroambiente (representado pelos aspectos abióticos do ecossistema em que o hospedeiro vive), o microambiente (representado pelas características bióticas do próprio hospedeiro), além das interações entre esses fatores (Thomas et al. 2002). Estas distinções ambientais podem induzir diferenças intra e interespecíficas nas populações de parasitos, podendo induzir, ou não, a convergência adaptativa entre a morfologia dos parasitos de diferentes hospedeiros e rios (Buchmann e Lindenstrøm, 2002).

Estas diferenças morfológicas de diferentes espécies podem ser exploradas por diferentes técnicas, dentre elas a geometria morfométrica (Vignon e Sasal, 2010). Apesar de apresentar algumas vantagens sobre as técnicas tradicionais, ainda é uma ferramenta pouco explorada para analisar as diferenças morfológicas dos parasitos monogenéticos de peixes (Vignon e Sasal, 2010), sendo este o primeiro trabalho onde a técnica de geometria morfométrica é aplicada em monogenéticos de água doce. No presente estudo foi demonstrado como esta ferramenta pode ser útil para analisar as diferenças morfológicas de monogenéticos entre seus macro e micro habitats. Os dados mostram que as medidas baseadas nas âncoras apresentaram diferenças morfológicas em suas âncoras, tanto dentro dos grupos como entre os grupos.

### 2.4.1 Tamanho das âncoras dos monogenéticos

A principal função do haptor é fixar o parasito na brânquia do hospedeiro, portanto essa estrutura deve ser adaptada tanto ao formato das brânquias do peixe quanto ao ecossistema em que o hospedeiro habita (Poulin, 2002). As variações morfológicas no haptor já foram registradas em espécies marinhas de monogenéticos (Vignon, 2011), onde verificou-se que o padrão de respostas às pressões ambientais, em relação ao tamanho e forma, pode variar até mesmo entre espécies correlacionadas. Os

resultados deste trabalho mostram claramente que o habitat do hospedeiro (macro-habitat) e as características dos hospedeiros (micro-habitat) podem ser consideradas fontes significativas que influenciaram no tamanho das âncoras dos monogenéticos.

A temperatura já foi evidenciada como um fator abiótico que pode influenciar o tamanho das âncoras dos monogenéticos, apresentando uma correlação negativa com a temperatura, pois a baixa temperatura cria um ambiente desfavorável para o crescimento das âncoras (Mo 1991; Dmitrieva e Dmitrov, 2002; Dávidová, Jarkovský e Gelnar, 2005). Apesar destes trabalhos terem sido realizados em monogenéticos marinhos, acredita-se que um padrão de resposta semelhante foi observado no presente trabalho. As maiores âncoras observadas neste trabalho encontraram-se no rio Solimões, seguido do rio Cuiabá e o menor tamanho foi observado no rio Paraná e, segundo a Agência Nacional das Águas (ANA, 2014), as maiores temperaturas seguem este padrão - o rio Solimões com uma temperatura mais alta, seguido do rio Cuiabá e do rio Paraná, este último com temperaturas médias mais baixas.

Outro fator que pode influenciar no tamanho das âncoras é o tamanho do peixe. Diversos trabalhos demonstram que o tamanho do parasito pode ser dependente do comprimento do hospedeiro (Morand et al. 1996; Morand et al., 2000; Sasal et al., 1999). A hipótese mais aceita é que hospedeiros maiores fornecem mais recursos e espaço, resultando em um maior crescimento do parasito (Sasal et al., 1999). Além disso, peixes maiores são mais ativos e podem habitar ambientes com maior correnteza (Hughes, 1966). Já em relação aos monogenéticos as âncoras maiores seriam uma resposta que lhes permitiria uma fixação mais forte às brânquias dos peixes (Sasal et al., 1999).

#### *2.4.2 Variação na forma das âncoras*

As diferenças mais significativas observadas neste trabalho se relacionaram à forma da lâmina e da raiz das âncoras. Existe a hipótese de que a forma do haptor dos monogenéticos está mais relacionado à adaptação ao hospedeiro do que à proximidade filogenética dos parasitos (Šimková et al., 2001; Šimková et al., 2006; Whittington e Kearns, 2011). Nesse sentido, espera-se que monogenéticos infestando o mesmo peixe de um determinado rio possuam alguma semelhança morfológica, pois estão sob a mesma pressão seletiva. Entretanto, os resultados deste trabalho refutaram esta afirmação, pois observou-se que os parasitos de um peixe do mesmo rio não apresentaram convergências morfológicas, apesar de encontrarem-se sob as mesmas pressões



seletivas. Por exemplo, *Jainus amazonensis* infestando *Brycon melanopterus* do rio Solimões não apresentou caracteres morfológicos comuns com *Trinibaculum braziliensis* e *Annulotrematoides bryconi*. Estes resultados são algo surpreendentes, pois demonstram que a morfologia dos parasitos não apresentou convergência adaptativa em resposta ao micro-habitat. A falta de trabalhos que analisem a morfologia dos monogenéticos de água doce por meio da morfometria geométrica é um empecilho para comparações de resultados.

Uma outra hipótese sugere que a proximidade filogenética dos hospedeiros promova uma semelhança entre as estruturas morfológicas dos monogenéticos (Morand et al., 2002), ideia corroborada pelos resultados aqui apresentados. Estudos sobre a filogenia de *Brycon* spp. revelaram que as espécies *B. hilarii* e *B. orbigyanus* são mais próximos filogeneticamente do que com *B. melanopterus* (Hilsdorf et al., 2008; Antunes et al., 2010; Abe et al., 2014). Essa similaridade filogenética entre os peixes se refletiu na fauna parasitária. Apesar de parasitos de uma mesma espécie infestando diferentes espécies de peixe terem apresentado morfologias diferentes, a distância de Mahalanobis indicou que os parasitos dos peixes dos rios Cuiabá e Paraná foram mais semelhantes entre si do que com os parasitos do rio Solimões, seguindo a filogenia dos hospedeiros.

Nesse sentido, a morfologia dos hospedeiros – um reflexo da filogenia – pode ser o principal fator responsável pela evolução morfológica do haptor (Morand et al. 2002), apesar de outros fatores ecológicos, como temperatura e corrente da água não serem descartados como influentes na morfologia do haptor dos monogenéticos.

Com base nos resultados obtidos, pode-se sugerir um processo de coespeciação dos parasitos com os hospedeiros como explicação para este resultado, já que os parasitos da espécie *J. amazonensis* seguiu a filogenia dos hospedeiros. Huyse et al. (2003) demonstraram, em um estudo filogenético, que diversas espécies de *Gyrodactylus* acompanharam o processo de especiação dos seus hospedeiros. Como a separação geográfica de populações de hospedeiros submete os peixes e seus parasitos a novas condições macro ambientais, resultando em alterações morfológicas características do processo de coespeciação (Bentz et al., 2001). Entretanto, Desdevises et al. (2002) ressaltam que esta hipótese não pode ser aplicada a todas as espécies de monogenéticos, o que pode ser esclarecido com trabalhos futuros de filogenia que envolvam biologia molecular e morfometria.

#### 2.4.3 Plasticidade morfológica e especificidade ao hospedeiro

A especificidade do hospedeiro é expressada como o número de espécies de hospedeiros conhecidos no qual uma espécie de parasito pode ocorrer (Poulin, 1998). Indivíduos que infestam apenas uma espécie de hospedeiro são chamados de especialistas, enquanto um parasito que infesta duas ou mais espécies de hospedeiros é chamado de generalista (Humphery-Smith, 1989). Entretanto, os fatores que levam um parasito ser especialista ou generalista não são bem compreendidos (Šimková et al., 2001).

A variação dentro da mesma espécie pode alterar seu nível de especificidade aos hospedeiros, pois um parasito que apresenta alta variação morfológica intraespecífica pode utilizar um maior número de espécies de hospedeiros (Kaci-Chaouchi, Verneau e Desdevises, 2008). Baixos valores dos resíduos da ANOVA têm sido relacionados a menores variabilidades morfológicas e, conseqüentemente, a maiores níveis de especificidade do parasito ao hospedeiro (Šimková et al., 2001; Rodríguez-González et al., 2015), pois o tamanho e a forma se encaixariam melhor com as características do microambiente (Šimková et al., 2001; Mancheva et al., 2009).

Esta relação entre variação morfológica e especiação, observada pelos valores dos resíduos da ANOVA, foi corroborada no presente estudo. *Jainus amazonensis* apresentou a maior variação morfológica no tamanho e na forma das âncoras, além de apresentar o maior valor de resíduo, um reflexo da baixa especificidade deste monogenético. Este parasito foi registrado em cinco espécies diferentes de hospedeiros (*B. amazonicus*, *B. cephalus*, *B. melanopterus*, *B. orbignyanus* e *B. hilarii*), enquanto *Annulotrematoides* sp. n., espécie que apresentou o menor resíduo de ANOVA, foi registrado apenas em um hospedeiro (*B. hilarii*). A variabilidade morfológica intraespecífica permitiu ao parasito explorar um número maior de espécies de hospedeiros.

A especificidade do parasito está conectada à especialização das estruturas de fixação (Šimková et al., 2006); quanto menor for o número de hospedeiros do parasito, maior será a especialização das estruturas de fixação. Olstad et al. (2009) demonstraram que quando *Gyrodactylus salaris* muda de hospedeiro, há mudança na morfologia das estruturas esclerotizadas devido as condições desfavoráveis do novo hospedeiro. Parasitos generalistas possuem grandes variações morfológicas pelo fato de que as espécies de hospedeiros usadas inserem diferentes pressões ambientais na morfologia dos parasitos (Kaci-Chaouchi, Verneau e Desdevises, 2008).

## 2.5 Conclusão

A geometria morfométrica é uma técnica muito útil para revelar as diferenças morfológicas das estruturas esclerotizadas dos monogenéticos. Os fatores intrínsecos do hospedeiro e seu ambiente podem influenciar no tamanho e forma do haptor dos monogenéticos. Entretanto, tendo como referência apenas os nossos resultados, não foi possível concluir quais fatores têm maior influência nos parasitos.

Este estudo sugere que a adaptação morfológica das âncoras representa uma importante característica para a especialização ao hospedeiro, sendo que a maior variabilidade na forma da âncora permite ao parasito explorar um maior número de espécies. Monogenéticos parecem ter um grande potencial para se adaptar a variadas condições ambientais e a diferentes hospedeiros. As variações intraespecíficas demonstram o potencial de adaptabilidade dos monogenéticos, permitindo, deste modo, explorar diferentes espécies de hospedeiros. Estudos futuros com parasitos de peixes de água doce são importantes para verificar se há um padrão típico desse ambiente, pois os trabalhos publicados com o mesmo enfoque referiam-se a monogenéticos de peixes marinhos.

## 2.6 Referências

- Abe, K. T., T. C. Mariguela, G. S. Avelino, F. Foresti, C. Oliveira. 2014. Systematic and historical biogeography of the Bryconidae (Ostariophysi: Characiformes) suggesting a new rearrangement of its genera and an old origin of Mesoamerican ichthyofaunal. *Evolutionary Biology* **14**: 1-15.
- Adams, D. C., F. J. Rohlf, D. E. Slice. 2004. Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'. *Italian Journal of Zoology* **71**: 5-16.
- ANA. Agência Nacional de Águas. 2014. **Relatórios das estações ecológicas.**
- Antunes, R. S. P., V. N. Gomes, S. M. A. P. Prioli, R. A. Prioli, H. F. Júlio Jr, L. M. Prioli, C. S. Agostinho, A. J. Prioli. 2010. Molecular characterization and phylogenetic relationships among species of the genus *Brycon* (Characiformes: Characidae) from four hydrographic basins in Brazil. *Genetics and Molecular Research* **9** (2): 674-684.
- Bentz, S., S. Leroy, L. du Preez, J. Mariaux, C. Vaucher, O. Verneau. 2001. Origin and evolution of African *Polystoma* (Monogenea: Polystomatidae) assessed by molecular methods. *International Journal for Parasitology* **31**: 697-705.
- Bookstein, F. L. 1991. **Morphometrics tool for landmark data: geometry and biology.** Cambridge: Cambridge University Press.
- Buchmann, K.; T. Lindenstrøm. (2002). Interactions between monogenean parasites and their fish hosts. *International Journal for Parasitology* **32**: 309-319.
- Bush, S. E. 2009. Does behavioural flexibility facilitate host switching by parasites?. *Functional Ecology* **23**: 578-586.

- Chisholm, L. A., I. A. Whittington. 1998. Morphology and development of the haptors among the Monocotylidae (Monogenea). *Hydrobiologia* **383**: 251-261.
- Claude, J., E. Paradis, H. Tong, J. C. Auffray. 2003. A geometric morphometric assessment of the effects of environment and cladogenesis on the evolution of the turtle shell. *Biological Journal of the Linnean Society* **79**: 485-501.
- Costa, L. F., S. F. Reis, R. A. T. Arantes, A. C. R. Alves, G. Multinari. 2004. Biological shape analysis by digital curvature. *The Journal of the Pattern Recognition Society* **37**: 525-524.
- Cribb, T. H., L. A. Chisholm, R. A. Bray. 2002. Diversity in the Monogenea and Digenea: does lifestyle matter?. *International Journal for Parasitology* **32** (3): 321-328.
- Dávidová, M., J. Jarkovský, I. Matějusková, I. M. Gelnar. 2005. Seasonal occurrence and metrical variability of *Gyrodactylus rhodei* Žitňan 1964 (Monogenea, Gyrodactylidae). *Parasitology Research* **95**: 398-405.
- Desdevises, Y., S. Morand, O. Jousson, P. Legendre. 2002. Coevolution between *Lamellodiscus* (Monogenea: Diplectanidae) and Sparidae (Teleostei): the study of a complex host-parasite system. *Evolution* **56** (12): 2459-2471.
- Dmitrieva, E., G. Dimitrov. 2002. Variability in the taxonomic characters of Black Sea gyrodactylids (Monogenea). *Systematic Parasitology* **51**: 199-206.
- Gomes, L. C., B. Baldisserotto, J. A. Senhorini. 2000. Effect of stocking density on water quality, survival, and growth of larvae of the matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae), in ponds. *Aquaculture* **183**: 73-81.
- Hilsdorf, A. W., C. Oliveira, F. C. T. Lima, C. K. Matsumoto. 2008. A phylogenetic analysis of *Brycon* and *Henochilus* (Characiformes, Characidae, Bryconinae) based on the mitochondrial gene 16S rRNA. *Genetics and Molecular Biology* **31** (1): 366-371.
- Hughes, G. M. 1966. The dimensions of fish gills in relation to their function. *Journal of Experimental Biology* **45**: 177-195.
- Humphery-Smith, I. 1989. The evolution of phylogenetic specificity among parasitic organisms. *Parasitology Today* **5**: 385-387.
- Huyse, T., V. Audenaert, F. A. M. Volckaert. 2003. Speciation and host-parasite relationships in the parasite genus *Gyrodactylus* (Monogenea, Platyhelminthes) infecting gobies of the genus *Pomatoschistus* (Gobiidae, Teleostei). *International Journal for Parasitology* **33**: 1679-1689.
- Kaci-Chaouch, T., O. Verneau, Y. Desdevises. 2008. Host specificity is linked to intraspecific variability in the genus *Lamellodiscus* (Monogenea). *Parasitology* **135**: 607-616.
- Klingenberg, C. P., G. S. McIntyre. (1998). Geometric morphometrics of developmental instability: Analysing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes methods. *Evolution* **52**: 1363-1375.
- Kritsky, D. C., V. E. Thatcher, W. A. Boeger. 1986. Neotropical Monogenea. 8. Revision of *Urocleidoides* (Dactylogyridae, Ancyrocephalinae). *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 53 (1): 1-37.
- Lim, L. H. S., D. I. Gibson. 2009. A new monogenean genus from an ehippid fish off Peninsular Malaysia. *Systematic Parasitology* **73**: 13-25.
- Lima, F. C. T. 2003. Subfamily Bryconinae (Characins, Tetras). In: Reis, R.E; Kulander, S. O; Ferraris Jr, C. J. (Orgs.) **Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America**. EDPURCS, Porto Alegre: p.174-181.
- Mancheva, K., E. Karaivanova, G. Atanasov, S. Stojanoski, I. Nedeva. 2009. Analysis of the influence of the host body size on morphometrical characteristics of *Ancylodiscoides siluri* and *Ancylodiscoides vistulensis*. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* **23** (1): 735-741.

- Mo, T. A. 1991. Seasonal variations of opisthaptor hard parts of *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 (Monogenea: Gyrodactylidae) on parr of Atlantic salmon *Salmo salar* L. in the River Batnfjordselva, Norway. *Systematic Parasitology* **19**: 231-240.
- Morand, S., M. S. Hafner, R. D. M. Page, D. L. Reed. 2000. Comparative body size relationships in Pocket Gophers and their Chewing Lice. *The Biological Journal of the Linnean Society* **70**: 239–241.
- Morand, S.; P. Legendre, S. L. Gardner, J. P. Hugot. 1996. Body size evolution of oxyurid parasites: the role of hosts. *Oecologia* **107**: 274–281.
- Morand, S., A. Šimková, I. Matejusová, L. Plaisance, O. Verneau, Y. Desdevises. 2002. Investigating patterns may reveal processes: evolutionary ecology of ectoparasitic monogeneans. *International Journal for Parasitology* **32**: 111-119.
- Olstad, K., L. Bachmann, T. A. Bakke. 2009. Phenotypic plasticity of taxonomic and diagnostic structures in gyrodactylosis-causing flatworms (Monogenea, Platyhelminthes). *Parasitology* **136**: 1305-1315.
- Poulin, R. 1992. Determinants of host-specificity in parasites of freshwater fishes. *International Journal for Parasitology* **22** (6): 753-758.
- Poulin, R. 1998. **Evolutionary ecology of parasites**: from individuals to communities. Ed. Chapman and Hall, London, 212p.
- Poulin, R. 2002. The evolution of monogenean diversity. *International Journal for Parasitology* **32** (3): 245-254.
- Ricklefs, R. E., D. B. Miles. 1994. Ecological and evolutionary inferences from morphology: an ecological perspective. In: Wainwright P. C.; Reilly, S. M. (eds). **Ecological morphology**. University of Chicago Press, Chicago: 13–41.
- Rodríguez-González, A., R. Miguel-Lozano, C. Llopis-Belenguer, J. A. Balbuena. 2015. Phenotypic plasticity in haptor structures of *Ligophorus cephalis* (Monogenea: Dactylogyridae) on the flathead mullet (*Mugil cephalus*): a geometric morphometric approach. *Journal for Parasitology* **45** (5): 295-303.
- Rohlf, F. J. 1990. Rotational fit (Procrustes) method. In: Rohlf, F. J, Bookstein, F. L. (Eds.) **Proceedings of the Michigan morphometrics workshop**. Ann Arbor: University of Michigan Museum of Zoology: 227–236.
- Rohlf, F. J. 2006. **Tpsdig, digitize landmarks and outlines. Version 2.10**. Ed. Stony Brook, NY: State University of New York at Stony Brook: Department of Ecology and Evolution.
- Rohlf, F. J., L. F. Marcus. 1993. A revolution in morphometrics. *Tree* **8** (4): 129-132.
- Santos, G. M., E. J. G. Ferreira, J. A. S. Zuanon. 2006. **Peixes comerciais de Manaus**. Ibama/AM, ProVárzea, Manaus, Brasil. 144p.
- Sarda, S., J. B. Company, C. Costa. 2005. Shape, habitat and behaviour: a preliminary approach to the distribution of the decapod crustaceans in the water column. *Marine Biology* **147** (3): 611–618.
- Sasal, P., S. Trouvé, C. Müller-Graf, S. Morand. 1999. Specificity and host predictability: a comparative analysis among monogenean parasites of fish. *Journal of Animal Ecology* **68**: 437–444.
- Šimková, A., Y. Desdevises, M. Gelnar, S. Morand. 2001. Morphometric correlates of host specificity in *Dactylogyrus* species (Monogenea) parasites of European Cyprinid fish. *Parasitology* **123**: 169–177.
- Šimková, A., S. Morand. 2008. Co-evolutionary patterns in congeneric monogeneans: a review of *Dactylogyrus* species and their cyprinid hosts. *Journal of Fish Biology* **73**: 2210–2227.
- Šimková, A., O. Verneau, M. Gelnar, S. Morand. 2006. Specificity and specialization of congeneric monogeneans parasitizing cyprinid fish. *Evolution* **60**: 1023-1037.

- Thomas, F., S. P. Brown, M. Sukhdeo, F. Renaud. 2002. Trends in Parasitology **18** (9): 387-390.
- Thompson, J. N. 2005. Coevolution: The geographic mosaic of coevolutionary arms races. Current Biology **15** (24): R992-R994.
- Vignon, M. 2011. Inference in morphological taxonomy using collinear data and small sample sizes: Monogenean sclerites (Platyhelminthes) as a case study. Zoologica Scripta **40** (3): 306-316.
- Vignon, M., A. Pariselle, M. P. M. Vanhove. 2011. Modularity in attachment organs of African *Cichlidogyrus* (Platyhelminthes: Monogenea: Ancyrocephalidae) reflects phylogeny rather than host specificity or geographic distribution. Biological Journal of the Linnean Society **102** (3): 694-706.
- Vignon, M., P. Sasal. 2010. The use of geometric morphometrics in understanding shape variability of sclerotized haptor structures of monogeneans (Platyhelminthes) with insights into biogeographic variability. Parasitology International **59**: 183-191.
- Whittington, I. D., G. C. Kear. 2011. Hatching strategies in Monogenean (Platyhelminth) parasites that facilitate host infection. Integrative and Comparative Biology **51**: 91-99.
- Whittington, I. D., G. C. Kear. 1991. The adhesive attitudes of some gill-parasitic capsalid monogeneans. Journal of Helminthology **65**: 280-285.

## 2.7 Anexo I

### **JOURNAL OF PARASITOLOGY**

#### **POLICY AND GUIDELINES FOR AUTHORS**

The *Journal of Parasitology* is the official journal of the American Society of Parasitologists (ASP). The *Journal* is nonprofit and dues of the membership support the cost of publication. Manuscripts in English are accepted from investigators in any country regardless of whether they are members of the ASP. The *Journal* publishes official business of the ASP and results of new, original research, dealing primarily with helminths, protozoa and other parasitic organisms.

#### **Conditions of acceptance**

Manuscripts are received by the *Journal of Parasitology* with the understanding that:

- 1) all authors have approved submission;
- 2) the results or ideas contained therein are original;
- 3) the work has not been published previously;
- 4) the paper is not under consideration for publication elsewhere and will not be submitted elsewhere unless rejected by the *Journal of Parasitology* or withdrawn by written notification to the editor of the *Journal of Parasitology*;
- 5) if accepted for publication and published, the manuscript, or portions thereof, will not be published elsewhere unless consent is obtained in writing from the editor of the *Journal of Parasitology*;
- 6) reproduction and fair use of articles in the *Journal of Parasitology* are permitted in accordance with the United States Copyright Revision Law (PL94-533), provided the intended use is for nonprofit educational purposes. All other use requires consent and fees where appropriate;
- 7) the obligation for page charges and redactory fees is accepted by the authors.

Articles reporting original research, invited reviews, and short communications are evaluated by at least 2 anonymous reviewers selected by an Associate Editor. All papers must include a short rationale (50-100 words) in the Introduction on the conceptual or larger importance of the work; the scale of parasitological research is diverse, and it is the authors' responsibility to effectively convey to editors and reviewers why their work is important. Critical comments are reviewed and published on the judgment of the editor. The final decision of whether to publish is made by the editor after reviews and opinions of the editorial board are considered.

## Forms of publication

*Articles:* The *Journal* publishes articles reporting on high-quality, hypothesis-driven, self-contained original research dealing primarily with parasitic organisms.

*Short Communications:* A Short Communication is for a concise, but independent report representing a significant or high-impact contribution to parasitology, which may not lend itself to inclusion in a typical, more comprehensive article. Short Communications are peer-reviewed, and they must also be focused on high-quality, hypothesis-driven, self-contained original research. They should not be preliminary reports nor contain purely incremental data, and the paper should be of significance and broad interest to the field of parasitology.

The *Journal* **does not** publish papers that deal with host or locality records, except for the most unusual cases,

and where the information is of broad interest with impact on larger syntheses or critical issues in parasitology. If a prospective author has an exceptional case, he/she should first contact the editor to determine the paper's potential acceptability.

*Review articles:* Only invited reviews are published. Unsolicited reviews should not be submitted, but topics may be suggested to the editor or members of the editorial board.

*Critical comments:* Critical comments are for correcting errors of published fact, providing alternative interpretations of published data, or presenting new ideas based on published information.

*Book reviews:* Books having a broad interest to the ASP are reviewed by invitation.

## GUIDELINES FOR AUTHORS Electronic submission

The *Journal of Parasitology* accepts papers submitted online using the **PeerTrack** system provided by Allen

Press (<http://www.edmgr.com/jparasitology>). The only software required is Adobe Acrobat Reader (available free from [www.adobe.com](http://www.adobe.com)). First time users of the system are required to register for an account and will be assigned an account login and password. The account login and password are required for subsequent use of the system. The system allows authors to check the status of their manuscript and to add updated files. Access to manuscripts submitted electronically is strictly controlled by login and user privileges, thus assuring data security and confidentiality.

Text files should be submitted as Microsoft Word files (doc or docx), text, Postscript, or rich text. Line and page numbering are required. **Do not submit the text of your manuscript as a PDF file.** Figure legends must be submitted in the manuscript and not as part of the figures themselves. Plates must not be embedded in the manuscript, but rather submitted as individual files uploaded into PeerTrack. After successful submission to PeerTrack, the manuscript will be assigned a tracking number and to an Associate Editor.

## Regular Articles

Manuscripts are to be organized in the following format and sequence, beginning with that for the running head, numbered consecutively.

*Running head:* Starts with RH: Provide the last names of authors (use et al. for more than 2) and a shortened title. The entire running head may not exceed 60 characters and spaces. Style: RH: JONES ET AL. - LIFE CYCLE OF *H. DIMINUTA*, or RH: JONES AND SMITH - LIFE CYCLE OF *H. DIMINUTA*

*Title:* Immediately after the running head give the title of the article (in all caps), names of authors, and address of the first author. Include the *e-mail* address, in italics, of the corresponding author only. The manuscript title and authors' names should be in bold type, and the same font size (preferably 12 pts) as the text. All other information should be in roman type, but not in bold font. Titles should be short and descriptive. Avoid "empty words" such as

-preliminary studies on ... and biology or ecology of .... Do not use author and date citations with scientific names in

the title. In the title only, numbers less than 11 are spelled out; numbers indicating papers in a series will not be accepted. Present addresses and addresses for remaining authors, if different from that of the first author, are given as footnotes, and are to follow the figure legend(s). Footnote designations are as follows: \*, †, ‡, §, ||, #, ¶, \*\*, ††. (See examples at end of guidelines.) Please note that while author names are in bold font, symbols denoting footnotes are not.

*Abstract:* The abstract must not exceed 400 words. The abstract should be factual (as opposed to indicative) and should outline the objective, methods used, conclusions, and significance of the study. The abstract is headed with

the word abstract in capital letters, ending with a colon. Text is run in after the colon, is not subdivided into paragraphs, and does not contain literature citations.

*Introduction:* The introduction should **immediately** (no space) follow the abstract and should be un-headed. The introduction should establish the context of the paper by stating the general field of interest, presenting findings of others that will be challenged or developed, and specifying the specific question or hypothesis to be addressed. Accounts of previous work should be limited to the minimum information necessary to give an appropriate perspective. Do not use extra spacing between paragraphs in the Introduction, or throughout the text. The Introduction must include a short rationale (50-100 words) explaining why the work is important.

*Materials and methods:* This section should give sufficient information to permit repetition of the study by others. Methods and apparatus used should be indicated, but specific brand names and models need to be mentioned only if significant. The source, e.g., city and state (if in the U.S.A.), both spelled in full, of special equipment or chemicals should also be given. If the source is outside the U.S.A., then the city and country should be given. Previously published or standard techniques are to be referenced, but not detailed. Generic descriptions should be given for unusual compounds used.

The primary heading for this section should be typed in all bold capital letters, starting at the left-hand margin of the page. The heading is unnumbered and ends without punctuation. Second-level headings in bold type should be on a separate line beginning at the left-hand margin. The initial letter of the first word is the only capital letter except as needed for proper nouns. These headings are unnumbered and end without punctuation. Third-level headings are indented for a paragraph, italicized, and end with a colon, also italicized. The initial letter of the first word is the only capital letter, except capitals needed for proper nouns. Text runs in immediately following this heading. Further subdivision should not be needed. If the materials and methods section is short, it should not be subdivided; it is unnecessary to provide headings, beyond the primary head, for a series of subsections comprising single paragraphs.

*Results:* This section should contain a concise account of the new information. Tables and figures are to be used as appropriate, but information presented in them should not be repeated in the text. Avoid detailing methods and interpreting results in this section. The results section can be subdivided and headed as for the materials and methods section.

*Discussion:* An interpretation and explanation of the relationship of the results to existing knowledge should appear in the discussion section. Emphasis should be placed on the important new findings, and new hypotheses should be identified clearly. Conclusions must be supported by fact and data. Headings and subdivisions, if needed, in this section are as described for the materials and methods section.

*Acknowledgments:* These should be concise. Ethics require that colleagues be consulted before being acknowledged for their assistance in the study. The heading for this section is as for the primary head described for the materials and methods section. Subdivisions are not used in this section.

*Literature cited:* Citations are arranged alphabetically. All references cited in the text must appear in the literature-cited section, and all items in this section must be cited in the text. Citation of unpublished studies or reports is not permitted, i.e., a volume and page number must be available for serials and a publisher, city, state, and full pagination for books. Abstracts not subjected to peer review may not be cited in the text or in the Literature cited section. Work may be cited as "in press" only when the paper has been accepted for publication. If absolutely necessary, a statement may be documented in the text of the paper by "pers. comm.". The citation is indicated in the style: (X. Y. Smith, pers. comm.). Personal communications do not appear in the literature-cited section.

Style in the text:

Allen (1989) (Allen, 1989)

(Allen and Smith, 1989) (Allen et al., 1989) (Jones, 1987; Allen, 1989)—chronological

(Jones, 1987; Allen, 1989; Smith, 1989)—chronological and alphabetical within year

(Jones, 1987, 1988a, 1988b, 1989)

Multiple authors with the same year of publication: [As long as the first author, and the year are the same, you can now use the letter designators to distinguish between publications.](#)

Style in the Literature cited section (note that indentations are no longer required): Journal article, 1 author  
Nollen, P. M. 1990. Chemosensitivity of *Philophthalmus megalurus* (Trematoda) miracidia. *Journal of Parasitology* **76**: 439–440.

Journal article, 2 authors

Edwards, D. D., and A. O. Bush. 1989. Helminth communities in avocets: Importance of the compound community. *Journal of Parasitology* **75**: 225–238.

Book

Schmidt, G. D., and L. S. Roberts. 1989. *Foundations of parasitology*, 4th ed. Times Mirror/Mosby College Publishing Company, St. Louis, Missouri, 750 p.

Chapter in edited book



Nesheim, M. C. 1989. Ascariasis and human nutrition. *In* Ascariasis and its prevention and control. D. W. T. Crompton, M. C. Nesbemi, and Z. S. Pawlowski (eds.). Taylor and Francis, London, U.K., p. 87–100.

Thesis or dissertation

Monks, W. S. 1987. Relationship between the density of *Moniliformis moniliformis* and distribution within the definitive host population. M.S. Thesis. University of Nebraska-Lincoln, Lincoln, Nebraska, 64 p.

Number of authors

If there are more than 10 authors, then include names of the first 10, followed by et al.

Note that abbreviations are not used for titles or serial publications and spaces appear between initials. The Literature cited section has a primary heading as described for materials and methods.

*Footnotes:* Footnotes are used only for the title page of regular articles to indicate authors' addresses. Those for tables are typed directly under the table to which they pertain. Footnotes appear at the end of the manuscript directly after the figure legends (see example at end of guidelines).

*Tables:* Tables are used only to present data that cannot be incorporated conveniently into the text. Ordinarily, values from statistical tests are not published as tables; tests employed and probability accepted for significance can be stated in the materials and methods section with significant differences indicated in tables by footnotes or in the text by a statement.

Tables must be designed to fit in 1 or 2 columns. Only rarely may they be designed to fit the height of a printed

page. Generally, if the width does not fit the height of a typed page, the table is too wide. Tables may be continued on following pages to accommodate length, but pages cannot be photoreduced, single-spaced, oversized, or otherwise modified to contain additional material.

Tables are numbered with Roman numerals in a continuous series and so referenced, in sequence, in the text.

Captions are typed above the data on the same page. Species names are spelled out in full (and italicized) the first time used in each caption. All columns in a table must have headings, with the first letter of the first word and proper nouns capitalized, e.g., Number sampled, % Recaptured.

Horizontal lines should be avoided in the body of the table; vertical lines are not permitted. If symbols are necessary, the table must be prepared as a line drawing and treated as a figure. Use of letters and numbers as superscripts or subscripts is not permitted. Table footnotes must be used in the sequence that follows: \*, †, ‡, §, ||, #,

¶, \*\*, †† and they should not be superscripted or subscripted.

*Figures:* All figure captions are to appear consecutively after the Literature cited section. Do not place figure captions on the same page as the figures. Each figure or plate of figures must have a caption. The caption is written

in paragraph style, beginning with the word "Figure." Captions are typed in roman, except when italic type is required, e.g., a genus and species. For plates, a summary statement should precede the specific explanation of each figure. Avoid repeating information for each figure that can be placed in the summary statement. Genus and species names are spelled out in full the first time used in each caption. The caption must contain an explanation of all abbreviations used on the figures and indicate the value of lines or scale bars used to show size. Moreover, size should not be indicated by magnification in the caption because the figure might not be printed at the size calculated.

## Figures & Plates

Plates should be submitted composed of one or more figures ready for final publication. **Please note** that all

figures should be submitted as separate files and **not** as part of the text. Figure legends should not be placed on the plate; they should be at the end of the manuscript file directly after the literature cited section. With the initial submission for review, each plate must conform to *Journal* specifications for publication. Plates must be sized to 1 column (88 mm) or 2 columns (182 mm) width, and must be no longer than 210 mm in height to leave sufficient room beneath for a figure legend (in case of very long figure legends, plates must be adjusted to allow for the legend). When composing plates, sizing of individual figures should be proportional to information content of the individual figure. Plates are to be arranged fully rectangular, without surrounding outlines or empty white space (with the exception of PDF files), with a ~0.5–1 mm white line at final print size between all abutted images in plates. Plates must be submitted in any one of the following styles: black and white line art, grayscale, or color. Plates must be submitted as JPG (quality level >9), TIF, PDF, or EPS files; DOC, DOCX, XLS, XLSX, PPT, PPTX, GIF, or PNG files are not acceptable. Plates submitted as black and white line art, including line drawings, black and white graphs, and charts, must have a minimum resolution of 1200 dpi and must be submitted in bitmap mode (not to be confused with the BMP file format). Plates submitted as grayscale (halftone) photographs, charts, or graphs must have a minimum resolution of 300 dpi and must be submitted in grayscale mode, **not** color mode (RGB or CMYK). Plates submitted as color photographs, charts, or graphs, must have a minimum resolution of 450 dpi and must be submitted in CMYK color mode. If color

figures are submitted, please note that the cost of printing a color plate is \$500, and is \$75 for a version online. This is the responsibility of the authors.

Letters of labels, labels and values of axes in graphs, or other elements must be legible when printed at final

print size. Please print each figure prior to submission and critically evaluate legibility. All black text must be crisp and pure black, not pixelated or gray, or possess fuzzy edges. All letters and numbers appearing on a plate must be in a sans-serif font (e.g., Helvetica, Ariel, Geneva, Gills-Sans, Lucida, or Verdana). All species binomina, such as those on phylogenetic trees or in graphs, must be italicized. Non-scientific names, for example, "sp.," locality, strain, GenBank accession number, or reference label, must not be italicized. All figures in a plate are to be identified with a figure number or capital letter in the upper or lower left-hand corner, applied directly within the figure and without an added background, shadowing, outline, circle, period, or parentheses. At final print size, font height for numbers/letters identifying figures must be at least 4 mm and not more than 6 mm high. The font size used for labeling structures in the figures must be at most two-thirds of the size of the numbers/letters used for identifying the figure.

If possible, scale bars should be situated at the lower right-hand corner of the figure. Scale bars should be no thicker than ~0.5–1 mm at printed size and normally would be at least 10 mm long and no longer than one-half the width of the figure being scaled. Scale bars (including those for substitutions on phylogenetic trees) may be labeled directly on the figure with their dimensions, bearing in mind that scale bars as generated by microscopic devices typically do not meet *Journal* standards for resolution or font specifications; alternatively, they may be defined in the figure legends. Separate figures in a plate may not share a single scale bar, except in the special circumstance in which **all** figures in the plate share the same scale.

Prior to review, the Graphics Associate Editor will examine the submitted paper to be certain that all figures conform to *Journal* specifications as described above. The Graphics Associate Editor will also evaluate the level of professional quality relative to what is expected for final publication. Manuscripts with figures that do not conform to *Journal* standards will be returned promptly to the author(s) for revision.

**PLEASE NOTE:** Re-sampling poor resolution images to a larger size does not improve resolution. Resubmitted

manuscripts that have merely re-sampled images to a larger size will be returned to the author.

### **Special instructions for taxonomic (systematics) papers**

Taxonomic papers have a distinct style that must be adhered to in preparing a manuscript. Single species descriptions will NOT be considered for publication except under circumstances where the contribution is presented so as to be of broad interest with impact on larger syntheses or critical issues and/or where higher-level classifications are incorporated simultaneously with the single species description.

A taxonomic paper should follow instructions given for a regular article, i.e., the title page, abstract, introduction, and materials and methods. In taxonomic papers, however, the results section is replaced by a section headed **DESCRIPTION** (or **REDESCRIPTION**, as the case may be), beginning at the left-hand margin and the DESCRIPTION is followed in the next line by the italicized scientific name in bold type; it begins at the left-hand margin. Synonyms and reference to figures follow, each as a separate line at the left-hand margin (these are not in bold font). The text of the Description follows as a new paragraph beginning with *Diagnosis*. The DESCRIPTION section must be written using a telegraphic style, i.e., do not employ prepositions, start sentences with the subject, and refrain from using verbs except as absolutely necessary.

This DESCRIPTION is followed by a **Taxonomic summary** section, headed as described for second-level headings in the instructions for the materials and methods section. The Taxonomic summary section comprises a listing of the type host, other hosts, site, locality, and specimens deposited. Each of these topics is italicized, ends with a colon that is also italicized, but not indented.

The *Host* subsection must include the full scientific name of the host, the authority's name, and an indication if

*Symbiotype* specimens were deposited in a vertebrate museum along with accession numbers. The *Locality* should include map coordinates (e.g., 95°5'11"N, 48°3'15"W) as well as the name of the locality, e.g., ocean, river, etc., and the geopolitical region. *Prevalence and density* data are included when known. Museum accession numbers for appropriate type material (new taxa) and for voucher specimens (surveys) are required; the accession number of the museum must be preceded by the acronym of the appropriate museum. It is highly recommended that authors deposit one, or more, type or voucher specimens in the U.S. National Parasite Collection, Beltsville, Maryland. Appropriate photographic material should be deposited for descriptions of coccidia. Frozen tissues must also include accession numbers if deposited in a museum. In the case of phylogenetic studies involving, or based upon, molecular sequence data, novel nucleotide, or protein sequence data must be deposited an appropriate public database (e.g. NCBI Nucleotide or Protein database), and accession numbers must be obtained and added to the manuscript no later than the proof stage.

The Taxonomic summary is followed by a **Remarks** section, headed as described for second level headings in the instructions for the materials and methods section. The Remarks section must include comparisons to all similar taxa so as to definitively distinguish new taxa from existing taxa; the section heading is typed in bold font and begins at the left margin.

The final section of a taxonomic paper should be the **DISCUSSION**, which includes a thoughtful dialogue

regarding important considerations of phylogenetic position, molecular survey information, etc. It should be a synthesis section, placing the new findings in a phylogenetic and/or ecological context as appropriate.

### **Short Communications**

Manuscripts are to be organized in the following format and sequence with all pages, numbered consecutively.

*Title page:* Short Communications do not have a running head, but should be identified as such on the title page, i.e., RH: SHORT COMMUNICATION. On first page, give the title of the note in bold type and capitalize the first letter of all principal words. On a separate line, give the names of the authors, also in bold type, and capitalize only the authors' initials and first letter of the last name. The addresses currently are run in after the last author's name, with a comma in bold type separating the names and beginning address. Follow with addresses of the authors in roman type, joined by semicolons, matched to authors other than the first one by symbols like those used for regular articles. Begin all lines at the left-hand margin. To identify the corresponding author use the following: Correspondence should be sent to: followed by an email address in italic type; this is the person with whom the editor will correspond and to who page proofs will be sent.

*Abstract:* An abstract is to be provided as described for regular articles.

*Text:* The text of a short communication is written without sections and without extra spacing between paragraphs. Acknowledgments may be given, without heading, as the last paragraph. Literature is cited in the text as described for articles. A brief rationale explaining the importance of the work (50-100 words) should appear in the first introductory paragraph after the Abstract.

*Literature cited, tables, figure captions, and figures:* These items are in the form and sequence described for articles.

### **Review articles**

Invited review articles should be submitted using the format described for articles, except that other section names may be used in place of the materials and methods, results, and discussion sections. Headings should be restricted to major headings and no more than 2 sublevels. Use of tabular data or figures from the work of others must be consistent with copyright law, and it is the responsibility of the author to supply appropriate permissions when the manuscript is submitted.

### **Critical comments**

Manuscripts are to be organized in the following format and sequence with all pages, beginning with the title page, numbered consecutively.

#### **CRITICAL COMMENT...**

*Title:* Starting at the left-hand margin, give the title of the article in bold type and capitalized. Immediately following title, give the name of the author(s) in bold type.

*Names and addresses of authors:* These follow the title. The style is as described for Regular Articles.

*Text:* The text is written without subdivision. Literature citations are made as for articles. Acknowledgments may be included as an un-headed final paragraph.

*Literature cited:* If citations have been used in the text, the Literature cited section is as described for articles.

*Tables, figure captions, and figures:* When present, these are as described for articles.

### **Book reviews**

Manuscripts are organized in the following format and sequence with all pages, beginning with that for the title, numbered consecutively.

*Title:* Give the title of the book being reviewed, and other critical information, in the following style: **Toxoplasmosis of Animals and Man**, by J. P. Dubey and C. P. Beattie. CRC Press, Boca Raton, Florida. 1988. 220 p. ISBN Number. Hardcover \$124.95.

Note that, unlike in the Literature cited section, the first letters of principal words are capitalized. The words "edited by" are substituted for "by" when appropriate. The book title, etc., should begin at the left-hand margin.

*Text:* Begin as a new paragraph immediately following the book title. The text usually is not subdivided. If literature must be cited, a headed Literature cited section follows the text in the style described for articles. Figures and tables should not be used.

*Name and address of author:* This information follows the text or, if present, the Literature cited section. The reviewer's name should be in bold type; the address should follow, but not in bold type.

### General points of style

*Scientific names:* The full binomen is written out at the first use of a species name in the abstract, text, figure legends and tables. At subsequent use, the genus is abbreviated by use of the first letter, except at the beginning of a sentence where it is written out and in any situation where abbreviations would cause confusion. Genera and

species should be italicized, not underlined, throughout the manuscript. Author and date citations for scientific names need not be used in non-systematic papers. In systematic papers, author and date citations are used the first time a species is mentioned in the abstract and the text, but not subsequently except as described for tables and figures. Use must be according to the International Code of Zoological Nomenclature (or the relevant taxonomic code if the organism is a plant, bacteria, or virus) and should be consistent for all parasite and host species mentioned. Author and date citations used only as authorities for scientific names do not appear in the Literature cited section.

Authors are reminded that names of taxa are not names of organisms, e.g., *Fasciola* is the name of a genus (a group of related species) and as such it does not lay eggs, ingest cells, possess a sucker, etc. These are properties of organisms. Taxonomic names should not be used as adjectives.

*Ecological terms:* The terms prevalence, incidence, intensity, mean intensity, density, relative density, abundance, infrapopulation, suprapopulation, site, niche, and habitat are to be used as recommended by the ASP Ad Hoc Committee on the Use of Ecological Terms in Parasitology (1982, *Journal of Parasitology* **68**: 131–133); also

see Bush et al. (1997, *Journal of Parasitology* **83**: 575–583) for an expanded and updated treatment of ecological terminology.

*Mathematical and chemical notations:* Authors should write mathematical equations so that they can be set in 1 line of type. When 1 unit appears in a denominator, use the solidus, e.g., g/m<sup>2</sup>; for 2 or more units in a denominator, use negative exponents, e.g., g·m<sup>-2</sup>·day<sup>-1</sup>. Manuscripts submitted to the *Journal of Parasitology* should conform to the same conventions as those used for chemical and biochemical/molecular nomenclature.

All chemical structures not accommodated by a single line of type must be drafted and reproduced as figures.

*Use of numbers:* In the text, numbers should be Arabic numerals except when beginning a sentence. Naked decimals are not permitted in the text, tables, legends, or on figures, i.e., 0.1, **not** .1. Numbers greater than 999 must have commas. Metric units are to be used in all articles. The 24-hour system is used to indicate time, e.g., 1500 hr.

*Miscellaneous:* Unless stated otherwise, U.S.A. is understood for locations, including addresses of authors, and is not stated.

Words and abbreviations in Latin and other non-English languages, except for genus and species names, are

not italicized. American spelling supersedes British, Australian, Indian, or other spelling.

No and none are treated as singular, e.g., no worm was found. If this form is not satisfactory, avoid use of the words.

The suffix -like is hyphenated only in combination with a name in italic type or to avoid a triple l. Many appropriate studies involve killing of animals, but authors will not say that they sacrificed animals.

Abbreviations such as mo, yr, wk are used when a number is present. Otherwise they are spelled out in full, e.g., 10-yr-old, 6 wk.

Degree symbols are not used with temperatures. They are only used with latitude/longitude and angles.

*Supplemental materials:* [You can refer to supplemental material in your article but please understand that the supplemental material is not printed with your article. It will be posted online and linked to your article on the journal website. When including supplemental material you should label the supplemental files separately in PeerTrack.](#)

*Acronyms and abbreviations:* At first use, acronyms are placed in parentheses following the name written out in full. At subsequent use, the acronym alone is used. An acronym may begin a sentence. Sentences may not begin with an abbreviation, and abbreviations are as recommended in the Council of Science Editors (CSE) style manual. The *Journal* uses all International System of Measurement (SI) metric unit abbreviations. Common CSE and SI abbreviations include the following (the same abbreviation is used for plural form):

wk (week)

hr (hour; use 0–2400 hr for time)

sec (second) min (minute)  
 mo (month)  
 day (not abbreviated) n. sp. (new species) n. gen. (new genus)  
 L (liter; but ml for milliliter) RH (relative humidity)  
 p.o. (per os)  
 s.c. (subcutaneous)  
 i.pl. (intrapleural)  
 i.p. (intraperitoneal)  
 PI (post-inoculation, or post-infection)  
 p. (page)  
 ad lib. (ad libitum) U.S.A. (as a noun) U.S. (as an adjective)  
 sp. gr. (specific gravity)  
 t-test  
 U-test  
 P (probability)  
 X (arithmetic mean)  
 r (correlation coefficient)  
 n (sample size)  
 SD (standard deviation of the mean) SE (standard error of the mean)  
 df (degrees of freedom) NS (not significant) *Basic SI units*

Meter	m Kilogram	kg Second	sec
Ampere	A Volt	V Mole	mol

*Prefixes for SI units*

Factor	Prefix	Symbol
10 <sup>-1</sup>	deci	d
10 <sup>-2</sup>	centi	c
10 <sup>-3</sup>	milli	m
10 <sup>-6</sup>	micro	μ
10 <sup>-9</sup>	nano	n
10 <sup>-12</sup>	pico	p
10 <sup>1</sup>	deca	da
10 <sup>2</sup>	hecto	h
10 <sup>3</sup>	kilo	k
10 <sup>6</sup>	mega	M
10 <sup>9</sup>	giga	G
10 <sup>12</sup>	tera	T

### Animal care and use

The ASP conforms to the “**U.S. Government Principles for the Utilization and Care of Vertebrate Animals Used in Testing, Research and Training.**” Work involving vertebrate animals reported in any paper submitted to the *Journal of Parasitology* must have been conducted within the following guidelines adapted from a statement by The American Association for Laboratory Animal Science (1989, *Laboratory Animal Science* 39: 267).

- 1) The transportation, care, and use of animals for research and teaching must conform to the appropriate national guidelines (in the U.S.A., the Animal Welfare Act) and other applicable laws, guidelines, and policies. Authors should refer to the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (U.S. DHEW Publication Number [NIH] 86–23, as revised in 1985 or subsequently).
- 2) Experiments using animals should be designed and conducted with full consideration given for their relevance to human or animal health, the acquisition of knowledge, or the welfare of society.
- 3) Animal species selected for experimentation must be appropriate for the results expected, and the number used should be the minimum justified by sound statistical analysis.
- 4) All experimental and maintenance procedures require the avoidance of creating conditions that would lead to animal discomfort, distress, or pain, consistent with sound scientific practices.
- 5) If animals are to be subjected to momentary distress or pain, appropriate anesthesia must be employed. Painful experiments must not be conducted on anaesthetized animals that have been paralyzed by chemicals or other procedures.
- 6) Animals used in experiments that cause chronic pain or distress must be killed as soon as the experiments are concluded.
- 7) Veterinary care for laboratory animals is essential. Animals maintained in the laboratory must be kept in conditions appropriate for that species and under conditions that contribute to their health and comfort.
- 8) All persons using laboratory animals should be well trained for the conduct of experiments on living animals.
- 9) When exceptions to these principles are required, decisions regarding animal use must be made by the appropriate institutional animal care and use committee.
- 10) The use of animals obtained from natural populations must be in accordance with regulations and policies of appropriate federal or state agencies.

### Page charges and redaction fees

The first 3 pages of each published manuscript are without charge. The charge for pages in excess of 3 are \$45 per published page for articles with at least 1 author who is a member, and \$75 per published page for articles with no authors who are members. Nonmembers intending to publish in the *Journal of Parasitology* are encouraged to become members of the Society. The current annual dues are \$85.00 (students \$50.00 hardcopy and online, and online only \$20.00).

Authors are allowed up to 5 alterations free of charge. Each subsequent alteration costs \$5.00. Authors are reminded that added or removed characters may necessitate other corrections.

Plates not intended for color printing should be submitted in black and white or half tones. For color plates, authors should provide appropriate instructions as to whether they should be reproduced in color in the on-line version only, or both the on-line and printed versions. Please note that the cost of a color plate is \$500 for printed copy, and \$75 for an online version only, and is the responsibility of the authors. Charges are subject to change without notice.

### **Return of materials**

Papers not conforming to the *Journal* standards and formatting guidelines, including standards for figures, will be immediately returned to the author for appropriate modification prior to being subjected to the review process. Such papers will be treated as a new submission when the properly modified revision is received. Manuscripts are accepted only with the understanding that the work was conducted in compliance with all relevant laws and within the ASP policy on animal care and use, a separate statement regarding animal care and use is not printed as a part of each paper. Likewise, use of the word euthanasia is redundant.

Papers are not dedicated to individuals. Dedication is only at the direction of the ASP Council and it is in the form of an entire issue.

### **Revising manuscripts**

When manuscripts are returned for revision, a cover letter from the editor provides directions that must be followed carefully. A point-by-point statement of what has been revised and a brief rebuttal of those criticisms not addressed should be provided. All suggestions of the reviewers and the Associate Editor and editor must be addressed individually. Reviewers are usually kept anonymous and assigned numbers to retain anonymity. The revised manuscript and the author's comments may be reviewed again (by the same referee[s]), subject to the discretion of the editor.

Retain a complete and exact copy of the manuscript, tables, and figures for reference.

If figures do not need to be changed, you can save time by letting them carry through on your revision. If you simply replace figures that have already passed the graphics editor, they will need to be checked again.

### **Correcting proof and ordering reprints**

Authors are responsible for the accuracy of their proofs and, therefore, what ultimately is printed in the *Journal*. **Corrected proofs must be returned to the editor promptly**, ideally on the same day as received. Proofs are sent by e-mail and corrections can be sent by e-mail to Dr. Michael Sukhdeo at: [journalofparasitology@gmail.com](mailto:journalofparasitology@gmail.com). Proofs are to be corrected, not revised. Additions usually are disallowed except to correct errors made in typesetting and by the editor. Correction of errors made by the author may be billed to the author at the rate of \$5.00 each. Queries on the proof are to be answered by "yes" or "no,"; and if there is no change to be made you should write "OK as set"

The *Journal of Parasitology* now uses EzReprint, a user-friendly, automated online system for purchasing article

reprints. Prior to publication of the issue, you will receive an e-mail with a unique URL (SmartLink) and information about the reprint order process. Clicking on the SmartLink will take you directly to a web portal where you may place your reprint order. The email will be sent to you from [reprints@authorbilling.com](mailto:reprints@authorbilling.com). You may want to add this to your "safe senders" list to ensure that you receive the message.

Only the author designated to receive correspondence receives proof and reprint order forms. It is the responsibility of this author to clear the proof with other authors and to provide the opportunity for them to order reprints. Reprint orders are to be sent to Allen Press using the standardized form provided.

### **Schedule for printing instructions**

These instructions can be found online at: <http://amsocparasit.org/journal/guidelines>

### **Acknowledgments**

These instructions are a revision of policies and practices formulated by previous editors.

Michael Sukhdeo, Center for Research on Animal Parasites (C.R.A.P.), Department of Ecology, Evolution and Natural Resources, Rutgers University, New Brunswick, New Jersey 08901. Email: [journalofparasitology@gmail.com](mailto:journalofparasitology@gmail.com).

#### EXAMPLE FOR REGULAR ARTICLE

The following presents a sample layout of the way in which your manuscript should appear for a Regular Article.

RH: NADLER ET AL. - GENETICS OF GEOGRAPHIC VARIATION IN *A. SUUM* (not to exceed 60 characters and spaces) **GENETIC STRUCTURE OF MIDWESTERN *ASCARIS SUUM* POPULATIONS: A COMPARISON OF ISOZYME AND RAPD MARKERS**

Steven A. Nadler, Rachel L. Lindquist\*, and Thomas J. Near

Department of Biological Sciences, Northern Illinois University, DeKalb, Illinois 60115. Correspondence should be sent to:

[snadler@ucdavis.edu](mailto:snadler@ucdavis.edu) (the e-mail address is of the corresponding author ONLY)

**ABSTRACT:** Isozyme and random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers were used to characterize the genetics of geographic variation among population samples of *Ascaris suum*. ...

Molecular markers are of great potential utility for revealing intraspecific variation among parasite populations. (**Note:** This was the first sentence of the Introduction; it is not preceded by a heading.) By studying the genotypes or haplotypes of individuals ... **MATERIALS AND METHODS**

*Ascaris suum* adults were collected from the intestines of pigs at a local meat processing plant ...

#### **RESULTS Isozyme data**

Six of the 13 loci surveyed showed evidence of polymorphism; however, only 3 of the 6 variable loci showed sufficient enzymatic activity and resolution on gels to score. ...

#### **RAPD data and comparative analysis of markers**

Of the 29 RAPD primers surveyed, 9 yielded amplification products that met both subjective. ...

#### **DISCUSSION Isozyme data**

*Geographic variation:* Relatively few studies have focused on the genetics of geographic variation among populations of parasitic helminths. In part, this is due to ... *Polymorphisms:* A paradigm of parasite population structure is that parasitic organisms are characterized by small populations with high levels of inbreeding ...

#### **Genetic drift**

Genetic drift among *A. suum* intrapopulations may be promoted by their small effective population size and founder effects. The overall sex ratio ...

#### **ACKNOWLEDGMENTS**

We are grateful to Don Temperly for assistance at FDI ...

#### **LITERATURE CITED**

Anderson, R. M., and R. M. May. 1978. Regulation and stability of host-parasite population interactions. I. Regulatory process. *Journal of Animal Ecology* **47**: 219–247.

Anderson, T. J. C., M. E. Romero-Abal, and J. Jaenike. 1993. Genetic structure and epidemiology of *Ascaris* populations: Patterns

and host affiliation in Guatemala. *Parasitology* **107**: 319–334.

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, and J. James. 1995. Botulism. *Journal of Parasitology* **81**: 1–10.

Monks, W. S. 1987. Relationship between the mean density of *Moniliformis moniliformis* and distribution within the definitive host population. M.S. Thesis. University of Nebraska-Lincoln, Lincoln, Nebraska, 64 p.

Nesheim, M. C. 1989. Ascariasis and human nutrition. In *Ascariasis and its prevention and control*, D. W. T. Crompton, M. C. Mescheim, and Z. S. Pawlowski (eds.). Taylor and Francis, London, U.K., p. 87–100.

Schmidt, G. D., and L. S. Roberts. 1989. *Foundations of parasitology*, 4th ed. Times Mirror/Mosby Publishing Company, St. Louis, Missouri, 750 p.

Figure 1. Random amplified polymorphic DNA fingerprints for 11 *Ascaris suum* individuals ...

Figures 2–4. Isozymes and intrapopulations. (2) Gels showing the genetic make-up of .... (3) Comparison of 4 intrapopulations ....(4) Isozymes from *Ascaris suum* ....

\*Department of Biology, Southeast Missouri State University, Cape Girardeau, Missouri 63701.

#### EXAMPLE FOR TAXONOMIC PAPER

The following represents a sample layout of a manuscript formatted for submission as a Taxonomic Paper.

RH: CAIRA ET AL.–TWO NEW AFRICAN *ECHINOBOTHRUM* SPECIES

## NEW AFRICAN SPECIES OF *ECHINOBOTHRUM* (CESTODA: DIPHYLLIDEA) AND IMPLICATIONS FOR THE IDENTITIES OF THEIR SKATE HOSTS

J. N. Caira, N. Rodriguez, and M. Pickering

Department of Ecology & Evolutionary Biology, 75 N. Eagleville Road, University of Connecticut, Storrs, Connecticut 06269–3043. Correspondence should be sent to: [janine.caira@uconn.edu](mailto:janine.caira@uconn.edu)

ABSTRACT: Two new species of diphyllidean cestodes of the genus *Echinobothrium*, each hosted by a different skate species in the *Raja miraletus* complex, are described. *Echinobothrium mercedesae* n. sp. is ...  
In their recent reconfiguration of diphyllidean genera to conform to the phylogenetic relationships of the order, Caira et al. (2013) ...

### MATERIALS AND METHODS

The following skates were examined for cestodes; names follow Naylor et al. (2012). Six specimens of *Raja cf. miraletus* 1 (5 females 45.5–50 cm in total length [TL] and 1 male 49 cm TL) collected at depths ranging from 46–79.9 m ...

### DESCRIPTION

#### *Echinobothrium mercedesae* n. sp.

(Figs. 1–5, 11–16)

*Description (based on whole mounts of 13 mature worms and 2 worms observed with SEM):* Worms euapolytic, 1,086–1,284 (1,165 ± 77; 13) long by 144–219 (189 ± 20; 13) wide ...

#### Taxonomic summary

*Type and only known host:* *Raja cf. miraletus* 2 (sensu Naylor et al., 2012). *Type and only locality:* Soumbédioune, Senegal (14°40'42"N, 17°27'42"W). *Site of infection:* Spiral intestine.

*Prevalence of infection:* One of 6 skates examined (16.7%); ...

*Specimens deposited:* Holotype (MNHN No. XXXXX) and 4 paratypes (MNHN No. XXXXX); 4 paratypes (LRP Nos. XXXX); ...

*Etymology:* This species honors ...

### Remarks

*Echinobothrium mercedesae* n. sp. differs from all but 8 of its 29 valid congeners (see Kuchta and Caira, 2010; Ivanov and

Caira, 2012; Caira et al., 2013) in number ....

#### *Echinobothrium yiae* n. sp.

(Figs. 6–10; 17–22)

*Description (based on whole mounts of 8 immature, 4 mature, and 2 gravid worms; 2 scoleces observed with SEM):* Worms apolytic, 978–2,009 (1,344 ± 392; 6) long by 206–600 (348 ± 179; 6) wide at level of terminal proglottid, with 4–6 (5 ± 1; 6) proglottids. Scolex ...

#### Taxonomic summary

*Type and only known host:* *Raja cf. miraletus* 1 sensu Naylor et al. (2012).

*Type locality:* Coast of South Africa, 33°48'42"S, 26°38'24"E at a depth of 80 m.

*Additional localities:* None.

*Site of infection:* Spiral intestine.

*Prevalence of infection:* Two of 6 skates examined (33.3%); ...

*Etymology:* This species is named ...

*Specimens deposited:* Holotype (SAMCTA No. XXXXX) and 4 paratypes (SAMCTA Nos. XXXXX); ...

### Remarks

With respect to the 29 valid species of *Echinobothrium* sensu stricto recognized by Caira et al. (2013), *Echinobothrium yiae* n. sp. differs from ...

### DISCUSSION

Our results conform to those of Caira et al. (2013) with respect to diphyllideans parasitizing skates of the family Rajidae ...



## ACKNOWLEDGMENTS

We thank Tim Ruhnke, Ken Barber, Claire Healy, Carrie Fyler, and Joseph Mega for assisting with the collection of material in

Senegal. Kirsten Jensen assisted ...

## LITERATURE CITED

(See examples for **REGULAR ARTICLE**.) (Figure legends will follow.)

## EXAMPLE FOR SHORT COMMUNICATION

The following represents a sample layout of the way in which your manuscript should appear for a Short Communication.

RH: SHORT COMMUNICATIONS

### Hepatic Sarcocystosis In a Horse

**C. R. Davis, B. C. Barr\***, **J. R. Pascoe†**, **H. J. Olander‡**, and **J. P. Dubey§**, Department of Anatomy, Physiology and Cell Biology, University of California, Davis, California 95616; \*University of California, California Veterinary Diagnostic Laboratory, Davis, California 95616; †Department of Surgical and Radiological Sciences, University of California, Davis, California 95616; ‡Department of Pathology, Microbiology and Immunology, University of California, Davis, California 95616; §Parasite Biology and Epidemiology Laboratory, Livestock and Poultry Sciences Institute, Agriculture Research Service, United States Department of Agriculture, Beltsville, Maryland 20705-2350. Correspondence should be sent to: *jdubey@anri.barc.usda.gov* (the e-mail address is of the corresponding author ONLY)

ABSTRACT: This report examines the phylogenetic relationships of *Tetrabothrium* spp. ...

The various species of *Tetrabothrium* are examined within an evolutionary context (this constitutes the first sentence of the text).

If you wish to acknowledge, add without a title as an indented sentence immediately following the last paragraph of the Short

Communication.

## LITERATURE CITED

(See **EXAMPLE** for **REGULAR ARTICLE**.) (Figure legends will follow.)

## 3. CAPÍTULO 3

**Monogenéticos branquiais de *Brycon hilarii* (Valenciennes, 1950)  
(Osteichthyes: Characidae) do Rio Cuiabá: registro da fauna de  
monogenéticos e descrição de uma nova espécie de *Annulotrematoides***

Artigo elaborado e formatado  
conforme as normas para  
publicação científica no periódico  
Acta Scientiarum. Biological  
Sciences.

**Monogenéticos branquiais de *Brycon hilarii* (Valenciennes, 1950) (Osteichthyes: Characidae) do Rio Cuiabá: registro da fauna de monogenéticos e descrição de uma nova espécie de *Annulotrematoides***

**Resumo:**

Neste artigo são registradas oito espécies de monogenéticos parasitando brânquias da piraputanga, *Brycon hilarii* do rio Cuiabá, estado do Mato Grosso, sendo uma delas considerada espécie nova para a ciência. Os hospedeiros foram coletados em novembro de 2014. Foram registradas as espécies *Anacanthorus elegans*, *A. kruidenieri*, *A. spirallocirrus*, *A. bryconi*, *Jainus amazonensis*, *Trinibaculum braziliensis*, *Tereancistrum kerri*, além da descrição de *Annulotrematoides* sp. n. As principais características que permitem classificar *Annulotrematoides* sp. n. como uma nova espécie são o formato das barras e órgão copulador masculino que se apresenta diferente das demais espécies do gênero, e a presença de âncoras dorsais em formato de cálice.

Palavras-chave: Monogenea, Piraputanga, Dactylogyridae, Ectoparasito, Rio Cuiabá

**Abstract:**

In this article are recorded eight species of monogenetic parasitizing the gills piraputanga, *Brycon hilarii* from Cuiabá river, Mato Grosso. The hosts were collected in November 2014. Parasites were quantified, identified and preserved according to the literature. The species *Anacanthorus elegans*, *A. kruidenieri*, *A. spirallocirrus*, *A. bryconi*, *Jainus amazonensis*, *Trinibaculum braziliensis*, *Tereancistrum kerri*, were recorded for the first time in this fish, besides the description of *Annulotrematoides* sp. n. The main features for classifying *Annulotrematoides* sp. n. as a new species are the bars shape and male copulatory organ that looks different from the other species of the genus and the presence of dorsal anchors cup format.

Keywords: Monogenea, Piraputanga, Dactylogyridae, ectoparasite, Cuiabá river

**3.1 Introdução**

Há diversos registros de monogenéticos parasitando o gênero *Brycon*, como, *Annulotrematoides bryconi*, *Jainus amazonensis*, *Anacanthorus brevis*, *A. elegans*, *A. kruidenieri*, *A. spirallocirrus*, *A. brevicirrus*, *A. franciscanus*, *Tereancistrum kerri*, *Trinibaculum brazilensis*, *Rhinoxenus anaclaudiae*. Entretanto, não há nenhum registro de monogenéticos parasitando *Brycon hilarii* (Valenciennes, 1950) (Sin. *Brycon*

*microlepis* Perugia, 1897), sendo este o primeiro registro da fauna de monogenéticos para *B. hilarii*.

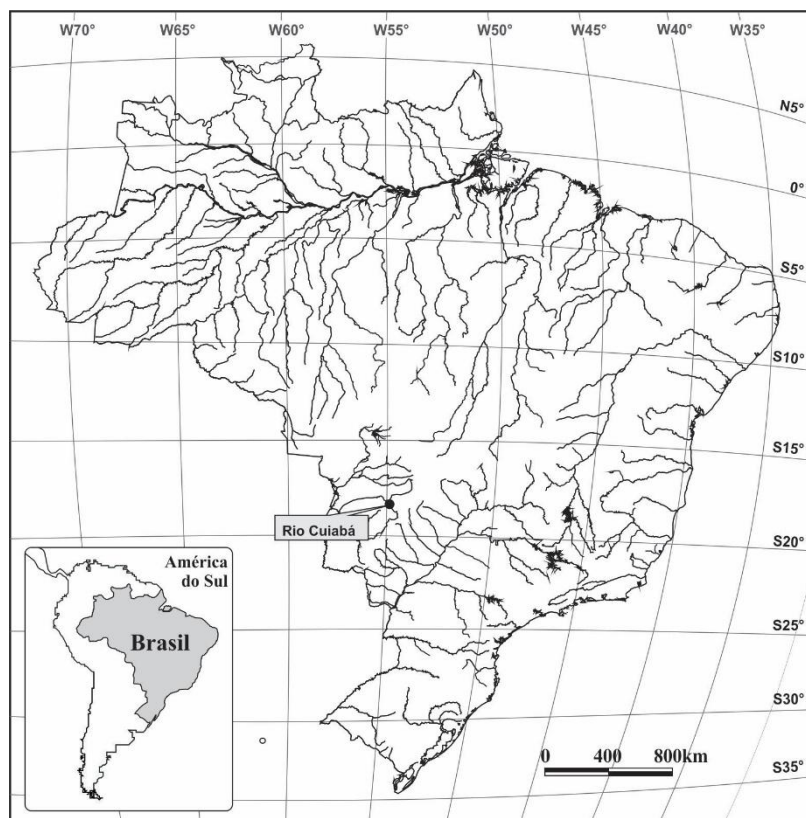
*B. hilarii* é um peixe omnívoro da subfamília Bryconinae (Britski et al., 1999). Conhecido popularmente como piraputanga, é uma espécie endêmica da Bacia do Alto Paraguai (Rezende, 2003). O consumo de sua carne é especialmente apreciada na cidade de Cuiabá, capital do estado do Mato Grosso (Milanin et al., 2010), caracterizando-se como uma importante fonte de renda para o comércio local.

Há registros de poucos trabalhos científicos publicados utilizando essa espécie de peixe como ferramenta de pesquisa. Na área da parasitologia pode-se destacar o registro de *Thynnascaris* sp. por Rego e Vicente (1988), a descrição de *Myxobolus brycon* por Azevedo et al. (2011) e a descrição de *Myxobolus oliveirai* por Milanin et al. (2010). Neste estudo, foi descrita a fauna ectoparasitária de monogenéticos branquiais e a proposta uma nova espécie de *Annuletrematoides*.

### 3.2 Materiais e métodos

Foram coletados e analisados 25 espécimes de *B. hilarii* do rio Cuiabá (15°38'37.9"S 56°04'17.4"O) no estado do Mato Grosso (Figura 1) no mês de novembro de 2014. As brânquias foram fixadas em formol 5% e analisadas posteriormente em microscópio estereoscópio para a observação de monogenéticos. Os espécimes foram montados em meio Hoyer para identificação e estudo das estruturas esclerotizadas (Kritisky et al., 1986). As medidas são apresentadas todas em micrometros, com valor médio seguido da amplitude e número (n) de espécimes medidos apresentados em parênteses.

As ilustrações da nova espécie foram realizadas com o auxílio de tubo de desenho acoplado ao microscópio Nikon YS 2 A enumeração dos pares de ganchos marginais do haptor se baseia em Mendoza-Franco et al. 1999. A prevalência (P), intensidade média (IM) e abundância média (AM) de infestação dos parasitos foram registradas. A terminologia ecológica segue Bush et al. 1997. Os peixes foram identificados por técnicos do Nupélia e exemplares testemunhos foram depositados na coleção ictiológica do Nupélia, UEM. Os holótipos e os voucher espécimes foram depositados na Coleção Helminológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC), Rio de Janeiro, Brasil.



**Figura 1.** Mapa hidrográfico do Brasil com o ponto de coleta de *Brycon hilarii*.

### 3.3 Resultados

Abundância, prevalência e intensidade média.

Todos os peixes analisados estavam parasitados com pelo menos uma espécie de monogênico. A tabela 1 mostra os valores de prevalência, intensidade e abundância média.

**Tabela 1.** Número de peixes infestados (NI), Número de parasitos coletados (NP), Prevalência (P %), Intensidade Média (IM), Abundância Média (AM) dos parasitos de *Brycon hilarii* coletados no Rio Cuiabá no mês de novembro de 2014.

Parasito	NI	NP	P(%)	IM	AM
<b>Monogenea</b>					
<i>Anacanthorus elegans</i>	25	78	100	3,12	3,12
<i>Anacanthorus kruidenieri</i>	21	26	84	1,23	1,04
<i>Anacanthorus spiralocirrus</i>	4	10	56	2,5	0,4
<i>Annulotrematoides bryconi</i>	25	266	100	10,64	10,64
<i>Annulotrematoides</i> sp. n.	21	56	84	2,66	2,24
<i>Jainus amazonensis</i>	25	571	100	22,84	22,84
<i>Trinibaculum braziliensis</i>	25	802	100	32,08	32,08
<i>Tereancistrum kerri</i>	4	7	16	1,75	0,28

## Descrição da nova espécie de monogenético

*Annulotrematoides* sp n.

Hospedeiro: *Brycon hilarii* (Characiformes, Characidae)

Prevalência: 84%

Intensidade média: 2,66

Sítio de infestação: Brânquias

Localidade: Rio Cuiabá

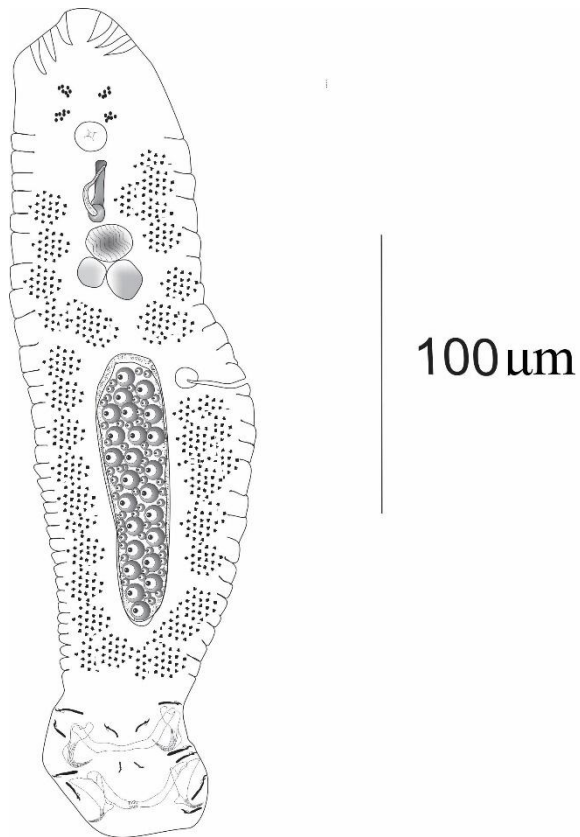
Espécimes representativos depositados: CHIOC XXXX

Espécimes examinados: (CHIOC XXX)

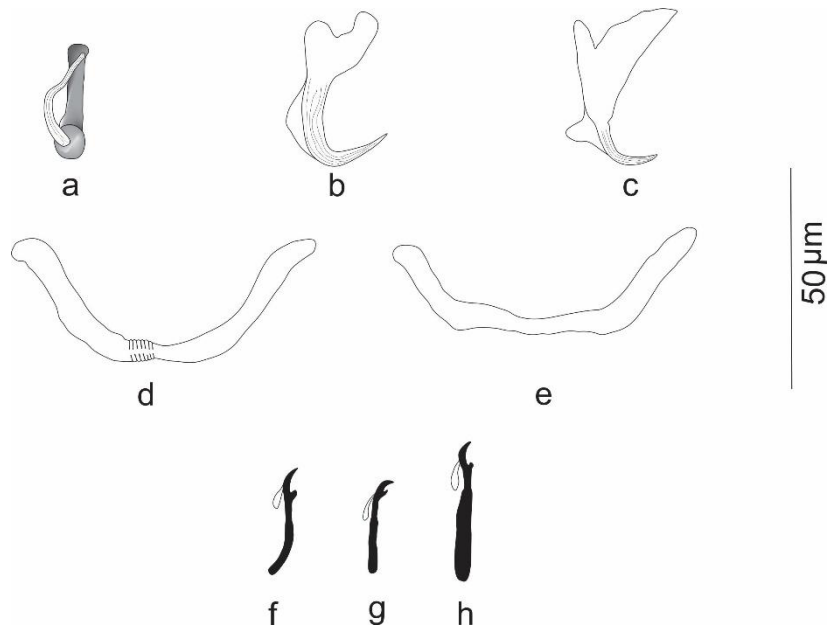
Etimologia: O nome específico, *Annulotrematoides eirasi* é em homenagem ao pesquisador Jorge da Costa Eiras em reconhecimento à sua contribuição a ictioparasitologia.

Corpo fusiforme com 387,3 (332–489,7, n=18) de comprimento e 140,6 (107,9–182,6, n=17) de largura, tegumento com constrições formando anéis. Lóbulos cefálicos desenvolvidos e glândulas cefálicas aparente. Faringe esférica 25 (21,2–30,6, n=12) de diâmetro. Haptor subhexagonal com 44,2 (30–60, n=20) de comprimento e 105,5 (76–124, n=20) de largura. Âncoras dorsais e ventrais bem distintas uma da outra. Âncora ventral com a base bem desenvolvida com 30 (25,5–33,1, n=25) de comprimento e base com 15,7 (12,7–19,5, n=25) de largura. Lâmina terminada em ponta com diversos sulcos longitudinais e filamentos da âncora iniciando na região proximal e terminando na região intermédia da lâmina. Âncora dorsal com 31,1 (28–34,8, n=30) de comprimento e 21,2 (17–24,6, n=30) de largura. Base da âncora maior do que a lâmina, lâmina terminada em ponta com diversos sulcos longitudinais e filamentos da âncora iniciando na região proximal e terminando na região intermédia da lâmina. Ganchos par 1 com 17,7 (11,9–21,2, n=21), ganchos par 5 com 14,7 (12,7–17,8, n=15) e ganchos pares 2, 3, 4, 6 e 7 com 25,1 (21,2–29,7, n=29) de comprimento. Barra ventral longa com elevação na região medial com elevação mais estreita do que as extremidades e 64,3 (56,1–88,4, n=27) de comprimento. Barra dorsal longa e similar com a barra ventral, mas na região medial a barra ventral apresenta pequenas ondulações e possui 67 (54,4–83,3, n=24) de comprimento. Órgão copulatório masculino em forma de tubo com a base levemente achatada. Peça acessória em forma de haste, com a base ligada à base do cirro e a ponta

da peça acessória situa-se próxima à ponta do cirro. Testículo dorsal ao germário. Vesícula seminal desenvolvida, situada abaixo do complexo copulatório. Dois reservatórios prostático situados abaixo da vesícula seminal. Vagina sinistral subesférica, com canal longo e estreito terminando em um receptáculo seminal. Vitelária densa e lateral em relação ao ovário. Não foi possível visualizar os cecos intestinais e vasos deferentes.



**Figura 2.** *Annulotrematoides* sp. n. de *Brycon hilarii*. Desenho composto (vista ventral). Escala de 100µm.



**Figura 3.** *Annulotrematoides* sp n. de *Brycon hilarii*. **a.** complexo copulatório – vista ventral; **b.** âncora dorsal; **c.** âncora ventral; **d.** barra ventral; **e.** barra dorsal; **f.** gancho par 1; **g.** gancho par 5; **h.** gancho pares 2, 3, 4 e 6. Escala de 50µm.

### 3.4 Discussão

Este é o primeiro registro sobre a fauna de monogenéticos da piraputanga, *B. hilarii*. O presente estudo registrou a ocorrência de oito espécies de monogenéticos parasitando *B. hilarii* do rio Cuiabá, Brasil. Dentre as espécies de monogenéticos encontradas, uma espécie foi considerada nova espécie para a ciência. As espécies *A. spiralocirrus*, *J. amazonensis*, *T. kerri* e *T. braziliensis* foram registradas por Andrade e Malta (2006) parasitando *B. amazonicus* de um canal de igarapé no Estado do Amazonas, Brasil. Cugliana et. al. (2003) registraram a espécie *A. bryconi* em *B. cephalus* de uma piscicultura em Pirassununga, Brasil. O resultado do presente trabalho demonstrou que *B. hilarii* possui mais espécies de monogenéticos do que as outras espécies de *Brycon* spp., demonstrando que espécies de peixes co-genéricas podem dividir espécie de parasitos.

*Annulotrematoides* sp. n.

A principal característica que permite classificar a nova espécie no gênero *Annulotrematoides* é a constrição ao longo do tegumento do corpo do parasito (Kritsky e Boeger, 1995). Até o presente trabalho, há quatro espécies de *Annulotrematoides* descritas: *A. amazonicus* (Kritsky e Boeger, 1995) em *Psectrogaster rutiloides*, *A.*



*parisellei* e *A. glossophallus* (Cohen et. al., 2012) em *Salminus brasiliensi*, *A. bryconi* (Cugliana, Cordeiro e Luque, 2003) em *B. cephalus*.

As estruturas esclerotizadas e o complexo copulatório masculino diferem significativamente em relação às outras espécies. As âncoras dorsais em formato de cálice e com a base mais desenvolvida do que a lâmina são características bem marcante para a nova espécie. As âncoras ventrais são semelhantes as âncoras ventrais de *A. parisellei*. A glândula anexa do órgão copulatório masculino se assemelha à glândula do órgão copulatório masculino de *A. glossophallus*, mas a peça acessória da nova espécie não apresenta uma extensão como em *A. glossophallus*. A barra dorsal e ventral é maior da espécie nova é maior e não tem semelhanças com as outras espécies. Os ganchos de *A. hilarii* sp. n. são semelhantes na forma dos ganchos de *A. bryconi*, mas o gancho par 1 é maior do que o gancho par 5 diferenciando de *A. bryconi*.

### 3.5 Referências

- Andrade, S. M. S. & Malta, J. C. O. (2006). Parasite fauna monitoring of matrinxã *Brycon amazonicus* (Spix & Agassiz, 1829) raised in na intensive husbandry system in a stream channel in the state of Amazonas, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 66(4), 1123-1132.
- Azevedo, C., Casal, G., Marques, D., Silva, E. & Matos, E. (2011). Ultrastructure of *Myxobolus brycon* n. sp. (Phylum Myxozoa), parasite of piraputanga fish *Brycon hilarii* (Teleostei) from Pantanal (Brazil). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 58(2), 88-93.
- Britski, H. A., Silimon, K. Z. & Lopes, B. S. (1999). *Peixes do pantanal*. Embrapa, Corumbá.
- Cohen, S. C., Kohn, A. & Boeger, W. A. (2012). Neotropical Monogenoidea. 57. Nine new species of Dactylogyridae (Monogenoidea) from the gill of *Salminus brasiliensis* (Characidae, Characiformes) from the Paraná River, State of Paraná, Brazil. *Zootaxa*, 3049, 57-68.
- Cugliana, A. M., Cordeiro, N. S. & Luque, J. L. (2003) *Annulotrematoides bryconi* sp. n. (Monogenea: Dactylogyridae) parasitic on *Brycon cephalus* (Osteichthyes: Characidae) from Brazil. *Folia Parasitologica* 50, 272-274.
- Kritsky, D. C. & Boeger, W. A. (1995). Neotropical Monogenoidea. 26. *Annulotrematoides amazonicus*, a new genus and species (Dactylogyridae: Ancyrocephalinae), from the gills of *Psectrogaster rutiloides* (Kner) (Teleostei: Characiformes: Curimatidae) from the Brazilian Amazon. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 108, 528-532.
- Kritsky, D. C., Thatcher, V. E. & Boeger, W. A. (1986). Neotropical Monogenea. 8. Revision of *Urocleidoides* (Dactylogyridae, Ancyrocephalinae). *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 53(1), 1-37.

Mendoza-Franco, E. F., Scholz, T., Vivas-Rodríguez, C. & Vargas-Vázquez, J. (1999). Monogeneans of freshwater fishes from cenotes (sinkholes) of the Yucatan Peninsula, Mexico. *Folia Parasitologica*, 46, 267–273.

Milanin, T., Eiras, J. C., Arana, S., Maia, A. A. M., Alves, A. L., Silva, M. R. M., Carriero, M. M., Ceccarelli, P. S. & Adriano, E. A. (2010). Phylogeny, ultrastructures, histopathology and prevalence of *Myxobolus oliveirai* sp. nov., a parasite of *Brycon hilarii* (Characidae) in the Pantanal wetland, Brazil. *Memória do Instituto Oswaldo Cruz*, 105(6), 762-769.

Rego, A. A. & Vicente, J. J. (1988). Excursão científica à zona do Pantanal, Estado de Mato Grosso, para coleta de helmintos. *Ciência e Cultura*, 40(1), 65-69.

Resende, E. K. (2003). Migratory fishes of the Paraguay-Paraná basin excluding the upper Paraná basin. In: Carolsfeld J., Harvey B., Ross C. & Baer A. (Eds), *Migratory fishes of South America: Biology, fisheries and conservation status*. World Fisheries Trust, Victoria, World Bank, 99-155.

### 3.6 Anexo II

#### INSTRUÇÕES PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS:

1. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, ISSN 1807-863X (on-line), é publicada trimestralmente pela Universidade Estadual de Maringá.
2. A revista publica artigos originais em todas as áreas relevantes de Ciências Biológicas, incluindo anatomia, bacteriologia, biologia molecular, bioquímica, botânica, citologia e biologia celular, comportamento animal, ecologia e limnologia, embriologia e histologia, morfofisiologia, genética, microbiologia, parasitologia e zoologia.
3. Os autores se obrigam a declarar a cessão de direitos autorais e que seu manuscrito é um trabalho original, e que não está sendo submetido, em parte ou no seu todo, à análise para publicação em outro meio de divulgação científica sob pena de exclusão. Esta declaração encontra-se disponível no endereço:  
<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/about/submissions>.
4. Os dados, ideias, opiniões e conceitos emitidos nos artigos, bem como a exatidão das referências, são de inteira responsabilidade do(s) autor(es). A eventual citação de produtos e marcas comerciais não significa recomendação de seu uso por parte do Conselho Editorial da revista.
5. Os relatos deverão basear-se nas técnicas mais avançadas e apropriadas à pesquisa. Quando apropriado, deverá ser atestado que a pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Biossegurança da instituição.
6. Os artigos submetidos deverão ser em inglês.
7. Os artigos serão avaliados por, no mínimo, três consultores da área de conhecimento da pesquisa, de instituições de ensino e/ou pesquisa nacionais e estrangeiras, de comprovada produção científica. Após as devidas correções e possíveis sugestões, o artigo será aceito se tiver dois pareceres favoráveis e rejeitado quando dois pareceres forem desfavoráveis.
8. O conflito de interesses pode ser de natureza pessoal, comercial, política, acadêmica ou financeira. Conflitos de interesses podem ocorrer quando autores, revisores ou editores possuem interesses que podem influenciar na elaboração ou avaliação de manuscritos. Ao submeter o manuscrito, os autores são responsáveis por reconhecer e revelar conflitos financeiros ou de outra natureza que possam ter influenciado o trabalho. Os autores devem identificar no manuscrito todo o apoio financeiro obtido para a execução do trabalho e outras conexões pessoais referentes à realização do mesmo. O revisor deve informar aos editores quaisquer conflitos de interesse que poderiam influenciar sobre a análise do manuscrito, e deve declarar-se não qualificado para revisá-lo.
9. Os artigos deverão ser submetidos pela internet, acessando o **Portal ACTA**, no endereço <http://www.uem.br/acta>.
10. A revisão de português (Resumo) e a revisão de língua estrangeira serão de responsabilidade e custeados pelos autores dos artigos já aceitos para publicação, mediante comprovação emitida pelos revisores credenciados.

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

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

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

c) O título, com no máximo vinte palavras, em português e inglês, deverá ser preciso. Também deverá ser fornecido um título resumido com, no máximo, seis palavras.

d) O resumo (bem como o *abstract*), não excedendo 200 palavras, deverá conter informações sucintas sobre o objetivo da pesquisa, os materiais experimentais, os métodos empregados, os resultados e a conclusão. Até seis palavras-chave que não estejam citadas no título deverão ser acrescentadas ao final tanto do resumo como do *abstract*.

e) Os artigos não deverão exceder 15 páginas digitadas, incluindo figuras, tabelas e referências. Deverão ser escritos em espaço 1,5 linhas e ter suas páginas e linhas numeradas. O trabalho deverá ser editado no *MS-Word*, ou compatível, utilizando *Times New Roman* fonte 12.

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

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

h) Tabelas, figuras e gráficos deverão ser inseridos no texto, logo após a sua citação. As tabelas deverão ter preferencialmente 7,65 ou 16 cm de largura. Os gráficos não deverão ter molduras externas, linhas internas ou mesmo cor de fundo. Para os gráficos de barra, usar padrões de preenchimento diferentes (horizontal, vertical, listras diagonais e múltiplos pontos).

i) As figuras (fotos, pranchas, mapas, desenhos ou esquemas) deverão ter o tamanho máximo de 16 x 23 cm, incluindo-se o espaço necessário para a legenda. Gráficos e figuras que possam ser publicados em uma única coluna (7,65 cm) serão reduzidos. Dessa forma, será necessário atentar para o tamanho de números ou letras, para que continuem visíveis após a redução. O tipo de fonte utilizado deverá ser *Times New Roman*, tamanho 8 pt. Gráficos e figuras confeccionados em planilhas eletrônicas devem vir acompanhados do arquivo com a planilha original. Deve-se utilizar escala de barras para indicar tamanho, a qual deverá, sempre que possível, estar situada à esquerda da figura; o canto inferior direito deve ser reservado para o número da(s) figura(s).

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

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

l) As equações deverão ser editadas, utilizando o *software Math Type* ou inseridas como figura jpg ou png.

m) As variáveis deverão ser identificadas após a equação.

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

o) A revista recomenda que oitenta por cento (80%) das referências sejam de artigos listados na base *ISI Web of Knowledge* e/ou *Scopus* com menos de 10 anos. Não serão aceitas nas referências citações de dissertações, teses, monografias, anais, resumos, resumos expandidos, jornais, magazines, boletins técnicos e documentos eletrônicos.

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

## MODELOS DE REFERÊNCIAS

Deverão ser organizadas em ordem alfabética, alinhamento justificado, conforme os exemplos seguintes, que se baseiam na norma da *American Psychological Association* (APA). Listar todos os autores do trabalho. Os títulos dos periódicos deverão ser completos e não abreviados e em itálico, sem o local de publicação.

## ARTIGOS

### Um autor

Oleksiak, M. F. (2008). Changes in gene expression due to chronic exposure to environmental pollutants. *Aquatic Toxicology*, 90(3), 161-171.

### Dois autores

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

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

Santana, N.F., Thomaz, T.A., & Roberto, M.C. (2015). Relationship between bacterial density and abiotic factors at different sediment depths of lakes in the Upper Paraná River floodplain. *Acta Scientiarum. Biological Science*, 37(1), 1-8. doi:10.4025/actasciobiolsci.v37i1.22240

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

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

## LIVROS

Haynie, D. T. (2001). *Biological thermodynamics*. Cambridge, UK: Cambridge University Press. Foster, R. G. & Kreitzman, L. (2005). *Rhythms of life: the biological clocks that control the daily live of every living thing*. Yale, US: Yale University Press.

Agostinho, A. A., Gomes, L. C., & Pelicice, F. M. (2007). Impactos dos represamentos. In A. A. Agostinho, L. C. Gomes, F. M. Pelicice (Ed.). *Ecologia e manejo de recursos pesqueiros em reservatórios do Brasil* (p. 107-152). Maringá, PR: Eduem.

**Prazo médio** entre submissão e publicação dos artigos publicados em 2015: 9,6 meses.

## Condições para submissão

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

1. A contribuição é original e inédita e não está sendo avaliada por outra revista.
2. Os manuscritos deverão ser submetidos em **inglês**.
3. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, Open Office ou RTF (desde que não ultrapasse 5MB).
4. Todos os endereços de páginas da Internet, incluídas no texto (Ex: <http://www.eduem.uem.br>) estão ativos e prontos para clicar.
5. O texto está em **espaço 1,5**; usa uma fonte de 12-pontos Times New Roman; emprega itálico ao invés de sublinhar (exceto em endereços URL); com figuras e tabelas inseridas no texto, e não em seu final. No máximo 15 páginas.
6. O texto segue os padrões de estilo e quisitos bibliográficos em [Diretrizes para Autores](#), na seção Sobre a Revista.
7. A identificação de autoria deste trabalho foi removida do arquivo e da opção propriedades do Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em [Assegurando a Avaliação por Pares Cega](#).
8. **TODOS OS CONTATOS MANTIDOS ENTRE O AUTOR E EDITORA DEVE MENCIONAR INICIALMENTE O NÚMERO DO MANUSCRITO INSERIDO NO SISTEMA**

## Declaração de Direito Autoral

## DECLARAÇÃO DE ORIGINALIDADE E DIREITOS AUTORAIS

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

Os direitos autorais pertencem exclusivamente aos autores. Os direitos de licenciamento utilizados pelo periódico é a licença Creative Commons Attribution 3.0 (CC BY 3.0): são permitidos o compartilhamento (cópia e distribuição do material em qualquer meio ou formato) e adaptação (*remix*, transformação e criação de material a partir do conteúdo assim licenciado para quaisquer fins, inclusive comerciais).

Recomenda-se a leitura [desse link](#) para maiores informações sobre o tema: fornecimento de créditos e referências de forma correta, entre outros detalhes cruciais para uso adequado do material licenciado.

## Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou à terceiros.