

ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

MOLECULAR ANALYSIS AND BIODIVERSITY OF METAZOAN PARASITES OF THE YELLOW TAIL LAMBARI, *ASTYANAX* AFF. *BIMACULATUS* (TELEOSTEI, CHARACIDAE), IN LOWER SAN FRANCISCO, NORTHEASTERN BRAZIL

ANÁLISE MOLECULAR E BIODIVERSIDADE DE METAZOÁRIOS PARASITAS DO LAMBARI-DE-RABO-AMARELO, *ASTYANAX* AFF. *BIMACULATUS* (TELEOSTEI; CHARACIDAE), NO BAIXO SÃO FRANCISCO, NORDESTE DO BRASIL

ANÁLISIS MOLECULAR Y DE BIODIVERSIDAD DE PARÁSITOS METAZOOS DE LAMBARI-DE-COLA-AMARILLO, *ASTYANAX* AFF. *BIMACULATUS* (TELEOSTEI, CHARACIDAE), EN BAJO SAN FRANCISCO, NORESTE DE BRASIL

Alessa Caroline Pedroza de Vasconcelos¹; Anna Carolina Mota Lopes¹; Joane Marília Santana dos Santos¹; Verônica de Lourdes Sierpe Jeraldo¹; Cláudia Moura de Melo² & Rubens Riscala Madi^{1*}

¹Programa de Mestrado em Saúde e Ambiente, Universidade Tiradentes, Aracaju, SE, Brasil.

¹Laboratório de Biologia Molecular, Instituto de Tecnologia e Pesquisa, Aracaju, SE, Brasil

Curso de Ciências Biológicas, Universidade Tiradentes, Aracaju, SE, Brasil.

¹Laboratório de Doenças Infecciosas e Parasitárias, Instituto de Tecnologia e Pesquisa, Aracaju, SE, Brasil.
¹Laboratório de Biologia Tropical, Instituto de Tecnologia e Pesquisa, Aracaju, SE, Brasil. rrmadi@gmail.com

Suggested citation: Vasconcelos, ACP, Lopes, ACM, Santos, JMS, Jeraldo VLS, Melo, CM & Madi, RR. 2013. Molecular analysis and biodiversity of metazoan parasites of the yellow tail lambari, *Astyanax* aff. *bimaculatus* (Teleostei, Characidae), in lower San Francisco, northeastern Brazil. Neotropical Helminthology, vol. 7, N^o1, jan-jun, pp. 41 - 49.

Abstract

The difficulty in identifying some species of Lambaris comes from very similar phenotypic feature that often result from hybridization. The parasites can be indicative of various aspects of the biology of their hosts, including phylogeny, because some groups of parasites may have host specificity. The objective was to evaluate the genetic diversity and parasitology of the fish *Astyanax* aff. *bimaculatus*. in ponds and streams adjacent to fish farms located in the Lower São Francisco, Sergipe, Brazil. The specimens were collected in the municipalities of Propriá and Neópolis and necropsied in the search for metazoan parasites. Sections of muscle tissue were taken for DNA extraction. The samples were subjected to PCR and electrophoresis with the products of the reactions. Subsequent cluster analysis was performed. A total of 102 fish were infected with *Lernaea cyprinacea* and *Dolops* sp. on the body surface, *Urocleidoides* sp. and metacercariae of Echinostomatidae in gills, *Prosthenhystera obesa* in the gallbladder, Diplostomidae type *Neascus* in the swim bladder and the nematodes *Procamallanus hilarii* and *Rabdochona* sp. in the gut. The genomic material of *Astyanax* aff. *bimaculatus* were evaluated with by origin: 34.3% from Propriá and 65.7% from Neopolis. Approximately 41% of the fish collected showed a homogeneous electrophoretic profile by using the primer CCCGTAGCAC. Among the specimens from Propriá, the genomic material presented electrophoretic profile with bands 800pb and >800pb. The last profile was more prevalent in hosts with Echinostomatidae in gills. Cluster analysis yielded a phylogenetic tree with two branches / groups, independent of the place of origin. However, it was homogeneous with respect to the expression of the character susceptibility / resistance to parasitic infection. These strategies can help in molecular taxonomic identification of *Astyanax* aff. *bimaculatus*, which is difficult because of the great similarity in external morphology.

Keywords: *Astyanax* aff. *bimaculatus* - Brazil - Genetic diversity - Ichthyoparasitology - Natural environment.

Resumo

A dificuldade na identificação em algumas espécies de lambaris provém da grande semelhança fenotípica que apresentam muitas vezes aliada à hibridização. Os parasitas podem ser indicativos de vários aspectos da biologia de seus hospedeiros, incluindo a filogenia, pois alguns grupos parasitas podem apresentar especificidade de hospedeiro. Desta forma, objetivou-se avaliar a diversidade genética e parasitológica de peixes *Astyanax* aff. *bimaculatus*, em lagoas e riachos adjacentes à pisciculturas localizadas no baixo São Francisco, Sergipe, Brasil. Os espécimes foram coletados nos municípios de Propriá e Neópolis e submetidos à necropsia na busca por metazoários parasitas e secção dos tecidos musculares para extração de DNA. As amostras foram submetidas à PCR e eletroforese com os produtos das reações e posteriormente realizou-se análise de cluster. A avaliação parasitológica de 102 peixes revelou a presença de *Lernaea cyprinacea* e *Dolops* sp. (superfície do corpo), *Urocleidoides* sp. e metacercárias de Echinostomatidae nas brânquias, *Prosthenthystera obesa* na vesícula biliar, Diplostomidae tipo *Neascus* na bexiga natatória e os nematódeos *Procamallanus hilarii* e *Rabdochona* sp. no intestino. Avaliou-se material genômico de *Astyanax* aff. *bimaculatus* com a seguinte distribuição segundo a origem: 34,3% oriundos de Propriá e 65,7% de Neópolis. Aproximadamente 41% dos peixes coletados apresentaram perfil eletroforético homogêneo, ao utilizar-se o primer CCCGTAGCAC. Entre os espécimes oriundos de Propriá, o material genômico apresentou perfil eletroforético com bandas 800pb e >800pb, sendo o último padrão mais prevalente nos hospedeiros com Echinostomatidae nas brânquias. A análise de cluster originou uma árvore filogenética com dois ramos/grupos distintos, independentes do local de origem, entretanto homogênea com relação à expressão do caráter suscetibilidade/resistência à infecção parasitária. Estas estratégias moleculares podem auxiliar na identificação taxonômica de *Astyanax* aff. *bimaculatus*, que é difícil devido a grande semelhança na morfologia externa.

Palavras-chave: Ambiente natural - *Astyanax* aff. *bimaculatus* - Brasil - Diversidade genética - Ictioparasitologia.

Resumen

La dificultad en la identificación de algunas especies de lambaris provienen de las semejanzas fenotípicas muchas veces aliadas a la hibridación. Los parásitos pueden ser indicativos de varios aspectos de la biología de sus huéspedes, incluyendo filogenia, porque algunos grupos de parásitos pueden tener especificidad de hospedador. Así, el objetivo fue evaluar la diversidad genética y parasitológica del pez *Astyanax* aff. *bimaculatus* provenientes de estanques y arroyos adyacentes a las explotaciones piscícolas situadas en el Bajo São Francisco, Sergipe, Brasil. Las muestras fueron recolectadas en los municipios de Propriá y Neopolis y sometidas a autopsia para la búsqueda de parásitos metazoos y en sección de tejido muscular para la extracción de DNA. Las muestras fueron sometidas a PCR y posterior electroforesis con los productos de las reacciones, para realizar análisis de cluster. La evaluación parasitológica de 102 peces mostró la presencia de *Lernaea cyprinacea* y *Dolops* sp. en la superficie del cuerpo, *Urocleidoides* sp. y metacercarias de Echinostomatidae en las branquias, *Prosthenthystera obesa* en la vesícula biliar, Diplostomidae tipo *Neascus* en la vejiga natatoria y nemátodos *Procamallanus hilarii* y *Rabdochona* sp. en el intestino. La evaluación del material genómico de *Astyanax* aff. *bimaculatus* mostró la siguiente distribución por origen: 34,3% de Propriá y 65,7% de Neopolis. Aproximadamente el 41% de los peces recolectados mostró perfil electroforético homogénea mediante el uso del primer CCCGTAGCAC. Entre las muestras de Propriá, el material genómico presentó perfil electroforético con bandas 800pb y >800pb, siendo esta última más frecuente en los hospedadores con Echinostomatidae en las branquias. El análisis de cluster produjo un árbol filogenético con dos ramas / grupos distintos, independientemente del lugar de origen, no obstante homogéneas con respecto a la expresión del carácter susceptibilidad / resistencia a la infección parasitaria. Estas estrategias moleculares pueden ayudar en la identificación taxonómica de *Astyanax* aff. *bimaculatus*, que es difícil debido a la gran similitud en la morfología externa.

Palabras clave: Ambiente natural - *Astyanax* aff. *bimaculatus* - Brasil - Diversidad genética - Ictioparasitologia.

INTRODUÇÃO

O Brasil possui a biota mais rica dentre os 17 países mais biodiversos do planeta e os peixes são os organismos vertebrados mais diversificados e os mais distintos geneticamente conhecidos (Brasil, 2013). No entanto mesmo sendo muito conhecidos, acredita-se que 30 a 40% de toda a ictiofauna Neotropical ainda não foi identificada até o momento (Gallio *et al.*, 2006).

Através da análise de estrutura populacional é permitida a interpretação de vários aspectos de vida das espécies, fornecendo subsídios ao dimensionamento dos estoques das comunidades e das eficientes medidas na administração e proteção dos recursos pesqueiros (Pinese *et al.*, 2007).

Os peixes do gênero *Astyanax* pertencentes ao grupo *bimaculatus*, conhecidos como lambari-de-rabo-amarelo são encontrados principalmente nas bacias Amazônicas e do São Francisco (Froese & Pauly, 2012). Caracterizam-se por apresentarem uma mancha preta horizontal e duas listras marrons na região umeral, além de uma mancha preta no pedúnculo caudal que se estende até aos raios medianos da nadadeira caudal de cor amarela (Garutti & Britski, 2000). Neste grupo estão incluídas cerca de vinte espécies todas apresentando o mesmo padrão de coloração e com pequenas variações de peso e comprimento (Peres *et al.*, 2012).

O gênero *Astyanax*, por apresentar hábito alimentar onívoro e por se localizar em posição intermediária na cadeia alimentar, pode servir como hospedeiro intermediário e definitivo de várias espécies de parasitas distribuídos em diversos grupos (Lizama *et al.*, 2008).

No baixo rio São Francisco inexitem publicações de levantamento dos parasitas dos peixes da região, sendo premente a identificação e o conhecimento da fauna parasitária piscícola, uma vez que muitas espécies nativas são utilizadas em pisciculturas locais. Atualmente os programas de aquicultura vêm se atentando às avaliações genéticas de peixes, pois possibilita o

conhecimento da estrutura populacional da cada espécie, e pode ser utilizado como estratégia para fins de repovoamento de estoques naturais e melhoramento de espécies de cultivo. Em função do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar a diversidade genética e parasitária em peixes *Astyanax* aff. *bimaculatus* coletados em corpos d'água adjacentes às pisciculturas de Sergipe, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Exemplares de *Astyanax* aff. *bimaculatus* foram coletados em lagoas e canais próximos e adjacentes às pisciculturas localizadas nos municípios de Propriá (10° 10' 17" S e 36° 52' 90" O) e Neópolis (10° 24' 26" S e 36° 34' 28" O), estado de Sergipe, Brasil, no período de agosto de 2011 à abril de 2012. Foram registrados os comprimentos total e padrão, assim como o peso dos peixes coletados e posteriormente submetidos à necropsia na busca por metazoários parasitas.

Amostras de tecidos musculares foram retiradas para extração de DNA com tampão de digestão (Tris-base 50mM, EDTA 100mM + SDS 0,5%/ pH 8,0), proteinase-K 20mg/mL (QIAGEN®) e mercaptoetanol. O DNA foi isolado em fenol/clorofórmio/álcool isoamílico (25:24:1). As condições para PCR foram as seguintes: 35 ciclos de desnaturação a 94°C, anelamento a 42,1°C e extensão a 72°C, com primers de 10 mers. Os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,5%.

Foram realizados cálculos de prevalência e de intensidade de infecção a partir das definições apresentadas por Bush *et al.* (1997). Procedeu-se a análise de cluster para a obtenção de agrupamentos filogenéticos (UPGMA - *Unweighted Pair-Group Method Using an Arithmetic Average*) e em seguida aplicado o teste de Tukey entre os grupos obtidos, utilizando-se as intensidades de infecção dos parasitas de mais alta prevalência e grande risco à saúde do animal. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o programa Statistica 7.0®, com intervalo de confiança igual a 5%.

RESULTADOS

Foram analisados 35 peixes do município de Propriá, sendo vinte três machos e doze fêmeas, com peso médio de 5,23g ($\pm 3,38$), comprimento total médio de 6,84cm ($\pm 0,99$) e comprimento padrão médio de 5,52cm ($\pm 0,79$). Para as coletas do município de Neópolis foram analisados 67 peixes, sendo trinta machos, trinta e cinco fêmeas e dois não identificados, com peso médio de 1,49g ($\pm 0,99$), comprimento total médio de 4,88cm ($\pm 0,80$) e comprimento padrão médio de 3,87cm ($\pm 0,69$).

A avaliação parasitária dos peixes foi positiva para *Lernaea cyprinacea* Linnaeus, 1758 (Copepoda) e *Dolops* sp. (Branchiura) na superfície do corpo, *Urocleidoides* sp. (Monogenea) nas brânquias, *Prosthynchostoma obesa* (Diesing, 1850) (Trematoda) na vesícula biliar, metacercárias de Echinostomatidae (Trematoda) nas brânquias e Diplostomidae tipo *Neascus* (Trematoda) na bexiga natatória e os

Nematoda *Procamallanus hilarii* Vaz & Pereira, 1934 e *Rabdochona* sp. no intestino. A distribuição da prevalência e da intensidade de infecção está exposta na tabela 1.

Avaliou-se material genômico dos peixes coletados com a seguinte distribuição segundo a origem: 34,3% oriundos de Propriá e 65,7% de Neópolis. Foram submetidos à extração de DNA genômico 91 amostras de tecido muscular dos peixes, sendo que destes, apenas 40% apresentaram integridade adequada.

Aproximadamente 41% dos *Astyanax* aff. *bimaculatus* coletados apresentaram perfil eletroforético homogêneo ao utilizar-se o primer CCCGTAGCAC (Fig. 1). Entre os espécimes oriundos de Propriá, o material genômico apresentou perfil eletroforético com bandas 800pb (n=11) e 800pb (n=4), sendo este último o padrão mais prevalente nos hospedeiros de Echinostomatidae nas brânquias. A análise de cluster originou uma árvore filogenética com

Tabela 1. Média da prevalência (P) e da intensidade de infecção (II) dos metazoários parasitas encontrados no *Astyanax* aff. *bimaculatus* da região do baixo São Francisco, municípios de Propriá e Neópolis, Sergipe, Brasil.

Órgão Parasitado	Propriá (n=35)		Neópolis (n=67)		
	P (%)	II	P (%)	II	
<i>Lernaea cyprinacea</i> . (Copepoda)	Tegumento	14,29	1,20	2,99	4,00
<i>Urocleidoides</i> sp. (Monogenea)	Brânquias	28,57	2,00	34,33	3,22
<i>Rabdochona</i> sp. (Nematoda)	Intestino	8,57	3,00	5,97	2,50
<i>Procamallanus hilarii</i> (Nematoda)	Intestino	20,00	7,00	11,94	1,13
Echinostomatidae (Trematoda)	Brânquias	57,14	47,65	74,63	19,98
Diplostomidae (Trematoda)	Bexiga natatória	-	-	2,99	9,00
<i>Prosthynchostoma obesa</i> (Trematoda)	Vesícula biliar	-	-	1,49	1,00
<i>Dolops</i> sp. (Branchiura)	Tegumento	-	-	1,49	1,00

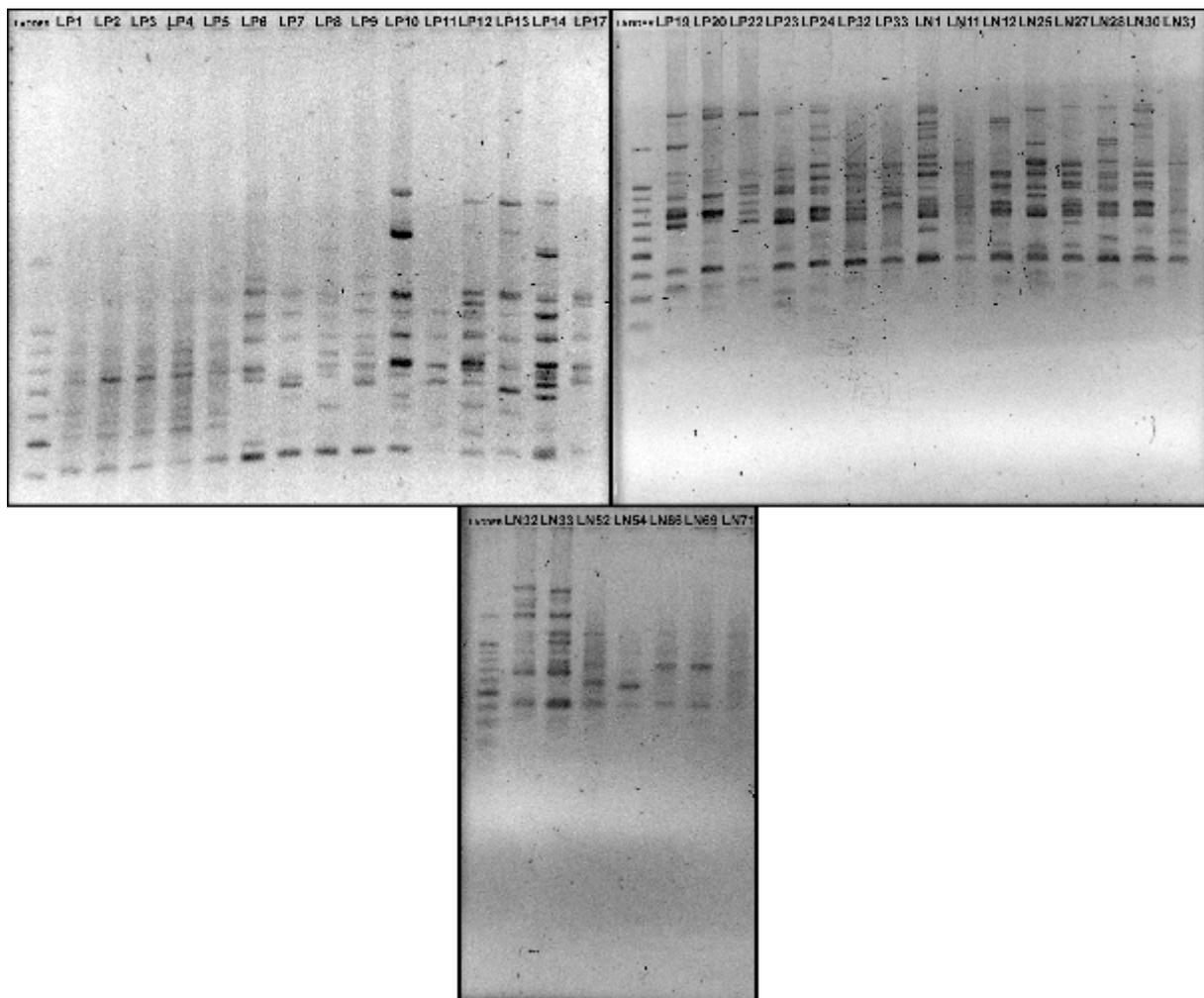


Figura 1. Perfil eletroforético das amostras de DNA de *Astyanax aff. bimaculatus* coletados nos municípios de Propriá e Neópolis, SE, submetidos à amplificação via PCR-RAPD, utilizando o iniciador OPR-4 (CCCGTAGCAC).

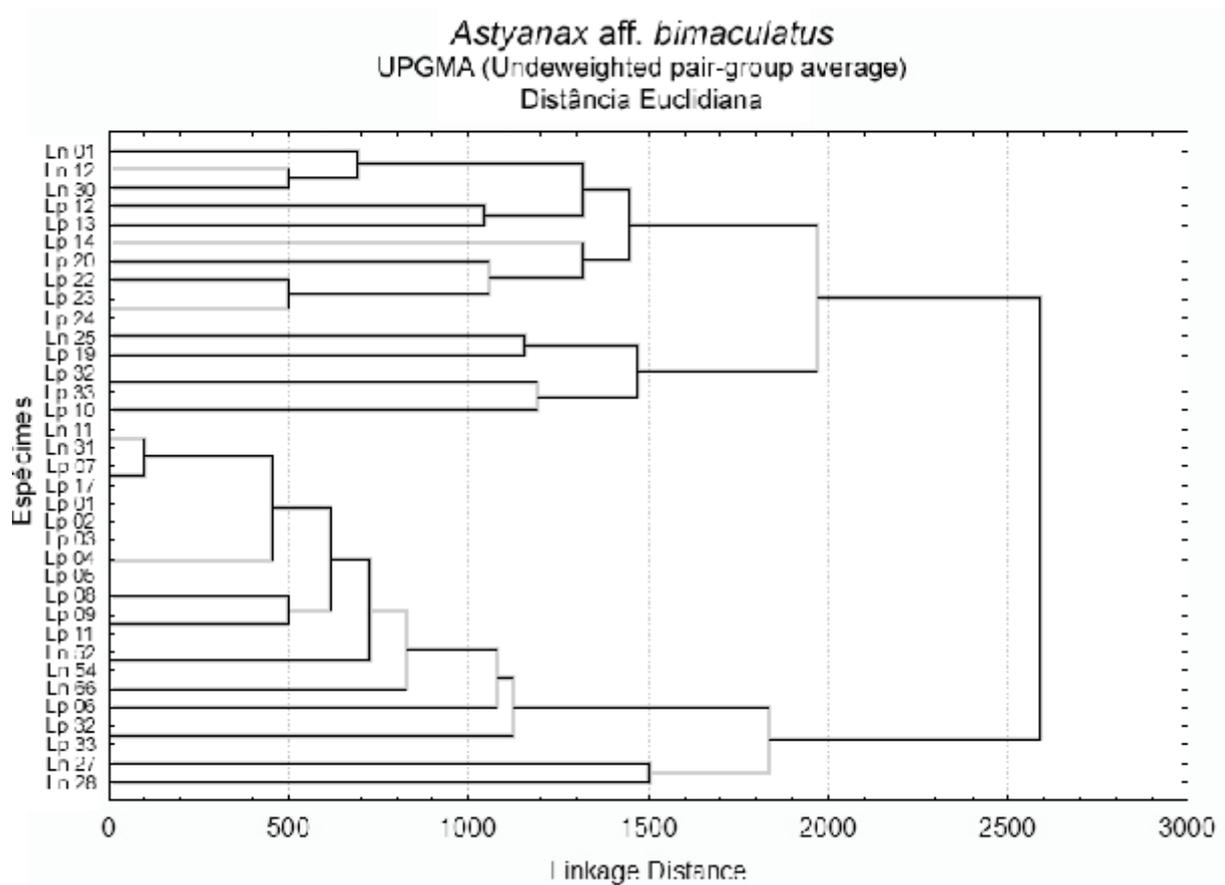


Figura 2. Árvore filogenética de *Astyanax* aff *bimaculatus* coletados nos municípios de Propriá e Neópolis, SE, com dois ramos/grupos distintos, independentes do local de origem.

dois grupos distintos (Fig. 2), independentes do local de origem, entretanto homogênea com relação à expressão do caráter suscetibilidade/resistência à infecção parasitária.

De acordo com as análises estatísticas, os grupos filogenéticos não apresentaram diferenças significativas entre as intensidade de infecção por *Urocleidoides* sp. ($p=0,26$), e por Echinostomatidae ($p=0,84$).

DISCUSSÃO

Os copépodos são os crustáceos mais comuns parasitando peixes, tendo *Lernaea* o gênero mais patogênico deste grupo. Os copépodes lemeídeos são encontrados parasitando tegumento, brânquias, olhos, nadadeiras e até mesmo dentro do aparelho bucal, junto ao palato e narinas dos peixes. Permanecem aderidos a estas regiões por órgãos de fixação, resultantes das adaptações morfológicas da região cefálica destes parasitos (Eiras, 1994). As lesões causadas pelo parasita provocam desde hemorragias nos peixes evoluindo a anêmicos (Noga, 1995) e alterações na contagem geral de leucócitos (Silva-Souza *et al.*, 2000). Nos casos das infecções por *L. cyprinacea* e por *Dolops* sp., ambos ectoparasitas que não apresentam especificidade de hospedeiros, os *Astyanax aff. bimaculatus* coletados podem estar atuando como disseminadores de parasitoses devido ao fácil acesso desses peixes aos tanques de criação que se encontram nas proximidades do seu habitat.

Os nematódeos são parasitas encontrados comumente em peixes de água doce. Infecções geradas por esses parasitas podem afetar o crescimento, comprometer a saúde e provocar a morte dos peixes parasitados, causando impacto na pesca esportiva, comercial e na aquicultura (Choudhury & Cole, 2008). *Procamallanus* é um dos nematódeos mais comuns encontrados em peixes de água doce no Brasil, não apresenta especificidade de hospedeiro e já foi descrita em várias espécies de peixes na maioria das bacias hidrográficas brasileiras (Eiras *et al.*, 2010).

As metacercárias, como são chamadas as formas larvais de trematódeos, são mais prejudiciais ao hospedeiro do que as formas adultas. Ao migrarem pelos tecidos com o propósito de alcançar o sítio de infecção, podem causar lesões e, ao se encistar, causam também alterações teciduais. As larvas provocam patogenias e debilitam os hospedeiros, tais características são ecologicamente importantes, pois um peixe debilitado é mais facilmente predado podendo o ciclo se completar no predador, hospedeiro definitivo (Pavanelli *et al.*, 2002).

Monogêneas apresentam ciclo de vida direto, podendo completar os estágios de desenvolvimento em um único hospedeiro. São encontrados principalmente nas brânquias podendo ser observados também na superfície do corpo, narinas e cavidades. Este grupo de parasitas possuem limitações na capacidade de dispersão migrando diretamente de um hospedeiro a outro, através da larva natante denominada oncomiracídio, sem a necessidade de um hospedeiro intermediário (Buchmann & Bresciani, 2006). Apresentam, geralmente, uma grande especificidade ao hospedeiro, desenvolvendo-se em uma única espécie ou em espécies próximas filogeneticamente (Poulin, 2002; Almeida & Cohen, 2011).

Entre as monogêneas, Llewellyn (1982) descreve dois tipos de especificidade: a filogenética, que ocorre em espécies relacionadas evolutivamente e parasitam hospedeiros também relacionados evolutivamente, e a ecológica, em que os parasitos relacionados ocorrem em hospedeiros não relacionados filogeneticamente, mas que cohabitam no mesmo local. Poulin (1992) afirma que espécies distintas de hospedeiros podem compartilhar parasitas, através de eventos de colonização, troca de hospedeiro, ou por herança de um ancestral comum. A dispersão de parasitas entre várias espécies de hospedeiros pode levar a um aumento da abundância das espécies parasitas entre os hospedeiros, suportando a hipótese da especificidade ecológica (Simková *et al.*, 2006).

Os grupos filogenéticos obtidos na análise de

cluster não exibiram diferenças entre as intensidades de infecção por *Urocleidoides* sp., demonstrando que esse parasita permeia entre os *Astyanax* estudados no baixo São Francisco, apresentando dessa maneira uma especificidade filogenética aos indivíduos pertencentes ao grupo *bimaculatus*.

Segundo Torres *et al.* (2004), para analisar as populações de *Astyanax* sp. provenientes das Furnas do Parque Estadual de Vila Velha, PR, foram empregados marcadores RAPD com a intenção de verificar níveis de variação e diferenciação genética entre as mesmas espécies inferindo assim possível isolamento geográfico e endemismo para a população. Kantek *et al.* (2008) utilizaram a técnica do bandejamento-C para análise populacional e variantes cromossômicas de várias espécies endêmicas de *Astyanax* coletadas no rio Iguaçu.

Pamponet *et al.* (2008) realizaram análises morfológicas, citogenéticas (cariótipo e Ag-RONs) e moleculares (RAPD e SPAR) em espécimes de *Astyanax aff. bimaculatus* coletados em três localidades diferentes nas bacias do rio das Contas e na bacia adjacente no Recôncavo Sul, localizadas na Bahia. Apesar de não apresentarem grandes variações morfológicas os autores diferenciaram três populações geneticamente distintas revelando frequências alélicas significativamente diferentes entre as localidades amostradas e índices significativos de estruturação populacional.

Estratégias moleculares podem auxiliar na identificação taxonômica de *Astyanax* do grupo *bimaculatus*, que é difícil devido a grande semelhança na morfologia externa entre as espécies deste gênero. O aprofundamento/ampliação de estudos sobre a variabilidade genética em populações de *Astyanax*, associado às características das infecções parasitárias presentes, auxiliará para um melhor conhecimento sobre a dinâmica da relação parasita-hospedeiro nestes animais.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Brasil (CNPq) pelas bolsas de estudo concedidas (ACPV, JMSS), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES/PROCAD NF 2009) pelo auxílio financeiro e à Camila Pereira de Almeida pelo auxílio em laboratório.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, CSS & Cohen, SC. 2011. *Diversidade de Monogenea (Platyelminthes) parasitos de Astyanax altiparanae do reservatório da Usina Hidrelétrica de Itaipu*. Revista Saúde & Ambiente, vol. 6, pp. 31-41.
- Brasil, Ministério do Meio Ambiente. 2013. *Biodiversidade Brasileira*. Consultado em janeiro de 2013, <www.mma.gov.br/biodiversidade/biodiversidade-brasileira>.
- Buchmann, K & Bresciani, J. 2006. *Monogenea (Phylum Platyhelminthes)*. In: Woo, PTK. *Fish diseases and disorders. Vol.1 Protozoan and Metazoan Infections*. 2nd Ed. CAB International. London.
- Bush, AO, Lafferty, KD, Lotz, JL & Shostak, AW. 1997. *Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited*. Journal of Parasitology, vol. 83, pp. 575-583.
- Choudhury, A & Cole, RA. 2008. *Nematoda*, In: Eiras, JC, Segner, H, Wahli, T & Kapoor, BG. (eds.) *Fish Diseases, Vol. 2*. Science Publishers, Enfield.
- Eiras, JC, Takemoto, RM & Pavanelli, GC. 2010. *Diversidade dos parasitos de peixes de água doce do Brasil*. Eduem, Maringá.
- Eiras, JC. 1994. *Elementos de ictioparasitologia*. Fundação Eng. Antônio de Almeida, Porto.
- Froese, R & Pauly, D. 2012. *FishBase. World Wide Web electronic publication*. Consultado em dezembro de 2012, <www.fishbase.org>.
- Gallio, M, Silva, AS & Monteiro, SG. 2007. *Parasitismo por Lernaea cyprinacea em Astyanax bimaculatus provenientes de um açude no município de Antonio Prado, Rio Grande do Sul*. Acta Scientiae Veterinariae, vol. 35, pp. 209-212.
- Garutti, V & Britski, HA. 2000. *Descrição de uma*

- espécie nova de *Astyanax* (Teleostei: Characidae) da bacia do alto rio Paraná e considerações sobre as de espécies do gênero da bacia. Comunicação do Museu de Ciência e Tecnologia, vol. 13, pp. 65-88.
- Kantek, DLZ, Cipriano, RR, Noletto, RB, Fenocchio, AS, Artoni, RF & Cestari, MM. 2008. Population analysis of a chromosome polymorphism in *Astyanax* (Teleostei, Characiformes) species endemic to the Iguazu River. Genetics and Molecular Biology, vol. 31, pp. 239-242.
- Lizama, MAP, Takemoto, RM & Pavanelli, GC. 2008. Ecological aspects of metazoan parasites of *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski, 2000 (Characidae) of the upper Paraná river floodplain, Brazil. Boletim do Instituto de Pesca, vol. 34, pp. 527-533.
- Llewellyn, J. 1982. Host-specificity and corresponding evolution in Monogenean flatworms and vertebrates. Mémoires de Musée National d'Histoire Naturelle, Serie A Zoologie, vol. 123, pp. 289-293.
- Noga, EJ. 1995. *Fish disease*. Missouri: Mosby.
- Pamponet, VCC, Carneiro, PLS, Affonso, PRAM, Miranda, VS, Silva Júnior, JC, Oliveira, CG & Gaiotto, FA. 2008. A multi-approach analysis of the genetic diversity in populations of *Astyanax* aff. *bimaculatus* Linnaeus, 1758 (Teleostei: Characidae) from Northeastern Brazil. Neotropical Ichthyology, vol. 6, pp. 621-630.
- Pavanelli, GC, Eiras, JC & Takemoto, RM. 2002. *Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento*. Eduem, Maringá.
- Peres, W, Bertollo, L, Buckup, P, Blanco, D, Kantek, D & Moreira-Filho, O. 2012. Invasion, dispersion and hybridization of fish associated to river transposition: karyotypic evidence in *Astyanax* "bimaculatus group" (Characiformes: Characidae). Reviews in Fish Biology and Fisheries, vol. 22, pp.519-526.
- Pinese, OP, Rêgo, ACL & Pinese, JF. 2007. *Ictiofauna da região do Domo do Salitre I (Patrocínio, MG)*. VIII Congresso de Ecologia do Brasil, Caxambu, pp. 543.
- Poulin, R. 1992. Determinants of host-specificity in parasites of freshwater fishes. International Journal for Parasitology, vol. 22, pp. 753-758.
- Poulin, R. 2002. The evolution of monogenean diversity. International Journal for Parasitology, vol. 32, pp. 245-254.
- Silva-Souza, AT, Almeida, SC & Machado, PM. 2000. Effects of infestation by *Lernaea cyprinacea* Linnaeus, 1758 (Copepoda, Lernaeidae) on the leukocytes of *Schizodon intermedia* Garavella & Britski, 1990 (Osteichthyes, Anostomidae). Revista Brasileira de Biologia, vol. 60, pp. 217-220.
- Simková, A, Verneau, O, Gelnar, M & Morand, S. 2006. Specificity and specialization of congeneric monogeneans parasitizing cyprinid fish. Evolution, vol. 60, pp. 1023-1037.
- Torres, RA, Matoso, DA & Artoni, RF. 2004. *Genética de Peixes Neotropicals. II. Biologia Molecular de peixes Neotropicals*. Publicação UEPG Ciência Biologia Saúde, vol. 10, pp. 27-37.

Received December 2, 2012.
Accepted February 5, 2013.

Correspondence to author/ Autor para correspondencia:

Rubens Riscala Madi
Instituto de Tecnologia e Pesquisa, Aracaju, SE, Brasil.
Av. Murilo Dantas, 300 - Farolândia - Aracaju - Sergipe - CEP: 49032-490 - Brasil - Tel: +55 (79) 3218-2190.

E-mail / Correo electrónico:
rrmadi@gmail.com