



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PRO-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS NATURAIS DA AMAZÔNIA

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Probopyrus sp.*
(ISOPODA: BOPYRIDAE) E A INFESTAÇÃO DE
POPULAÇÕES CONTINENTAIS DE *Macrobrachium
amazonicum* (DECAPODA: PALAEMONIDAE) DA
AMAZÔNIA ORIENTAL**

ROSA ILANA DOS SANTOS PEREIRA

Santarém, Pará
Junho, 2018

ROSA ILANA DOS SANTOS PEREIRA

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Probopyrus sp.*
(ISOPODA: BOPYRIDAE) E A INFESTAÇÃO DE
POPULAÇÕES CONTINENTAIS DE *Macrobrachium
amazonicum* (DECAPODA: PALAEMONIDAE) DA
AMAZÔNIA ORIENTAL**

ORIENTADOR: PROF. DR. GABRIEL IKETANI COELHO

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Recursos Naturais da Amazônia, junto ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Recursos Naturais da Amazônia.

Área de concentração: Genética e Conservação da Biodiversidade.

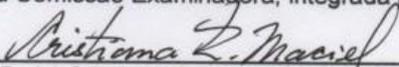
**Santarém, Pará
Junho, 2018**

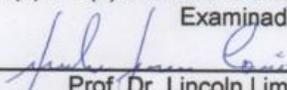
**“CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Probopyrus sp.*
(ISOPODA: BOPYRIDAE) E A INFESTAÇÃO DE
POPULAÇÕES CONTINENTAIS DE *Macrobrachium
amazonicum* (DECAPODA: PALAEMONIDAE) DA
AMAZÔNIA ORIENTAL”**

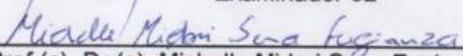
Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do Título de Mestre em Recursos Naturais da Amazônia, Área de concentração: Genética e Conservação da Biodiversidade. Aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Recursos Naturais da Amazônia, nível de mestrado, da Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, em
____/____/____.

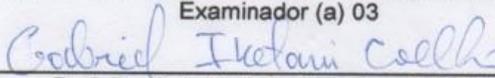
Prof. Dr. Troy Patrick Beldini (UFOPA)
Coordenador do PGRNA

Apresentada à Comissão Examinadora, integrada pelos Professores:


Prof (a). Dr (a) Cristiana Ramalho Maciel (UFPA Bragança)
Examinador (a) 01


Prof. Dr. Lincoln Lima Corrêa (UFOPA)
Examinador 02


Prof (a). Dr (a). Michelle Midori Sena Fugimura (UFOPA)
Examinador (a) 03


Prof. Dr. Gabriel Iketani Coelho (UFOPA)
Orientador

Santarém, Pará
Junho, 2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/UFOPA

- P436c Pereira, Rosa Ilana dos Santos
Caracterização molecular de *Probopyrus sp.* (Isopoda: Bopyridae) e a infestação de populações continentais de *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda: Palaemonidae) da Amazônia Oriental. / Rosa Ilana dos Santos Pereira. – Santarém, 2018.
47 p.: il.
Inclui bibliografias.
- Orientador: Gabriel Iketani Coelho
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação e Inovação Tecnológica, Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Recursos Naturais da Amazônia.
1. Parasitismo. 2. Populações continentais. 3. *Probopyrus*. I. Coelho, Gabriel Iketani, *orient.* II. Título.

CDD: 23 ed. 595.372

Bibliotecário - Documentalista: Renata Ferreira – CRB/2 1440

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos que contribuíram para a realização do mesmo do início ao fim, não medindo esforços para me concederem ajuda em todos os sentidos.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me concedido a graça de viver e também ter me permitido finalizar esta etapa tão importante na minha vida, sem Ele nada teria sido possível.

Aos meus pais Maria Raimunda e Ailton Vasconcelos que sempre torceram por mim e me ajudaram em oração, minha irmã Rayana e meus irmãos Ricardo, Rômulo e Rodolfo pela força e companheirismo em todo o tempo. Vocês são ótimos!

À toda minha família que acompanha meus estudos e me mostra a importância da união.

Ao Prof. Dr. Gabriel Iketani Coelho que me acompanha desde a graduação e que me concedeu esta oportunidade de avanço através do ingresso na pós-graduação, possibilitando meu aprimoramento profissional. Obrigada pela confiança, paciência e orientação ao longo de todos esses anos. Com certeza você foi um exemplo de competência para mim. Desejo-lhe tudo de melhor!

À Universidade Federal do Oeste do Pará - UFOPA, campus Santarém.

Ao programa de pós-graduação em Recursos Naturais da Amazônia (PPGRNA) pela oportunidade de realizar este trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil – (Código de Financiamento 001.) CAPES, pela concessão da bolsa de estudo, apoio este indispensável e essencial para a realização deste trabalho.

Aos meus colegas de laboratório: Ezequias, Laila, Ariane, Felipe, Cássia, Kamila e Danna por todo apoio nas atividades de processamento da amostragem e pelo companheirismo durante os trabalhos realizados.

Aos pescadores que me ajudaram bastante, permitindo várias idas às pescarias e pela disponibilidade em me ajudar a selecionar meu material de estudo, foram medrosas travessias de bajara pelo longo rio Amazonas, mas graças a Deus deu

tudo certo! Muito grata ao seu Ronaldo pela parceria e ao Edilson, carinhosamente chamado de Careca, por toda preocupação com minha pessoa.

A meus colegas de turma de mestrado pelas palavras de incentivo e apoio, em especial à minha amiga Katiane por todos os momentos de descontração e o meu amigo Cleiton pelo apoio e ajuda nos momentos desesperadores, e também ao Felipe pelas longas conversas apaziguadoras, ninguém consegue nada sozinho!

Às minhas amigas lindas que sempre desejam o meu bem, Beatriz Amorim, Denise Castro e Silmara Melo, obrigada meninas por não terem desistido de mim, obrigada por ouvirem minhas reclamações quando precisei e por emprestarem o ombro sempre que necessitei chorar, de todo meu coração, obrigada! Amo vocês!

À minha querida Ivana Veneza pela colaboração com meu trabalho, por ter sido tão solícita me hospedando em sua residência quando precisei viajar para Bragança para coletar algumas amostras, e principalmente, pela força e carinho, e não esquecendo de outros parceiros durante essa viagem, na pessoa da Professora Cristiana Maciel que reuniu vários exemplares do meu material de estudo, seres iluminados, muita grata por essas pessoas de tão bons corações capazes de ajudar ao próximo sem nem mesmo conhecer.

À professora de Biologia Thatiana Pereira pelo apoio durante o estágio em docência e os diversos momentos de conversas e incentivos. Sem dúvidas, fez diferença!

Enfim, a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Meu muitíssimo obrigada a cada um de vocês!!!

“Somos todos professores uns dos outros. Ninguém entra em nossas vidas sem uma razão. Se não for para ensinar, é para aprender conosco”

Anônimo

PEREIRA, Rosa. **Caracterização molecular de *Probopyrus sp.* (Isopoda: Bopyridae) e a infestação de populações continentais de *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda: Palaemonidae) da Amazônia Oriental.** 2018. 60 p. Dissertação de Mestrado em Recursos Naturais da Amazônia. Área de Concentração: Ciências Ambientais. Linha de Pesquisa: Genética e Conservação da Biodiversidade – Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais da Amazônia. Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, Santarém, 2018.

RESUMO

Este estudo teve como objetivo caracterizar aspectos moleculares de uma espécie isópoda Bopyrideo do gênero *Probopyrus* parasitando populações continentais de *Macrobrachium amazonicum*. Para isso, foi realizada a comparação com indivíduos de áreas continental (Santarém) e costeiras da Amazônia. Foram levantadas duas hipóteses para o registro de camarões parasitados na região: (1) podem ter sido introduzidos ou (2) são naturais da área. Foram realizadas análises moleculares com o gene da COI e o rDNA 18S. Como resultados evidenciou-se com este estudo, a presença de mais de duas espécies de parasitas, sugerindo assim que o parasita encontrado em Santarém não foi introduzido. Este trabalho é o pioneiro realizado em área Interior com enfoque no parasitismo, relacionando os aspectos da estrutura populacional do *M. amazonicum*. Com isso, este estudo se torna uma referência para outros que surgirão a respeito desta interação entre a espécie *M. amazonicum* e *Probopyrus sp.*, subsidiando aspectos comparativos com outros locais. Além disto, os dados moleculares analisados no presente estudo apontam a necessidade de uma revisão morfológica dentro de *Probopyrus* bem como uma ampliação dos estudos moleculares.

Palavras-chave: parasitismo, *Probopyrus*, *Macrobrachium amazonicum*, populações continentais.

PEREIRA, Rosa. **Molecular characterization of *Probopyrus* sp. (Isopoda: Bopyridae) and the infestation of continental populations of *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda: Palaemonidae) from the Eastern Amazon.** 2018. 60 p. Dissertação de Mestrado em Recursos Naturais da Amazônia. Área de Concentração: Ciências Ambientais. Linha de Pesquisa: Genética e Conservação da Biodiversidade – Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais da Amazônia. Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, Santarém, 2018.

ABSTRACT

This study aimed to verify the relationship of a Bopyrid isopoda species of the genus *Probopyrus* parasitizing continental populations of *Macrobrachium amazonicum*. For this, a comparison was made with individuals from the continental (Santarém) and coastal (Abaetetuba, Afuá, Augusto Corrêa and Breves) areas of the Amazon. Two hypotheses arise for the registration of parasitized prawns in the region: (1) they may have been introduced or (2) are natural from the area. Morphometric analyzes of prawns and parasites were performed, as well as molecular analyzes with the COI gene and rDNA 18S. It was evidenced with this study, the presence of more than two species of parasites, thus suggesting that the parasite found in Santarém was not introduced and, therefore, endemic from the region. This work is the pioneer carried out in the interior area with a focus on parasitism, relating aspects of the population structure of *M. amazonicum*. Thus, this study becomes a reference for others that will arise regarding this interaction between the species *M. amazonicum* and *Probopyrus* sp., subsidizing comparative aspects with other sites. In addition, the molecular data analyzed in the present study point out the necessity of a morphological revision within *Probopyrus* as well as an amplification of the molecular studies.

Keywords: parasitism, *Probopyrus*, *Macrobrachium amazonicum*, coastal populations.

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| Lista de tabelas ----- | x |
| Lista de Figuras ----- | xi |
| Lista de Símbolos ----- | xiii |
| | |
| 1. INTRODUÇÃO ----- | 1 |
| 1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS ----- | 1 |
| 1.1.1 SUBFILO CRUSTACEA ----- | 2 |
| 1.1.2 Gênero <i>Macrobrachium</i> ----- | 2 |
| 1.1.3 <i>Macrobrachium amazonicum</i> ----- | 3 |
| 1.1.4 Isópodes Bopyridae ----- | 6 |
| 1.2 OBJETIVOS ----- | 11 |
| 1.2.1 Objetivo Geral ----- | 11 |
| 1.2.2 Objetivos Específicos ----- | 11 |
| 1.3 BIBLIOGRAFIA ----- | 12 |
| 2. CAPÍTULO 1 ----- | 20 |
| Resumo ----- | 22 |
| Abstract ----- | 22 |
| 2.1 Introdução ----- | 23 |
| 2.2 Material e Métodos ----- | 25 |
| 2.3 Resultados ----- | 30 |
| 2.4 Discussão ----- | 36 |
| 2.5 Conclusão ----- | 41 |
| 2.6 Bibliografia Citada ----- | 42 |

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1: Resultado da pesquisa Blast para o alinhamento 18S.-----33

Tabela 2: Cálculo da distância genética média, distância p para parasitas.

Valores entre parênteses evidenciam a variação intraespecífica, entre os indivíduos da mesma localidade. -----35

Tabela 3: Cálculo da distância genética média, distância p para hospedeiros

(camarões). Valores entre parênteses evidenciam a variação intraespecífica, entre os indivíduos da mesma localidade. -----35

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

- Figura 1:** Superior, macho adulto de *M. amazonicum*. Inferior, fêmea ovígera (Foto: Marcello Villar Boock).-----3
- Figura 2:** Camarões parasitados coletados em Pixuna do Tapará, *M. amazonicum* – Rio Amazonas. Foto: Ilana Pereira. -----8
- Figura 3:** Padrão geral do ciclo de vida dos Bopyrideos parasitas (Dale e Anderson, 1982). -----9
- Figura 4.** Mapa de localização com demonstração dos pontos de coleta em regiões continentais e costeiras da Amazônia. -----26
- Figura 5:** Armadilha de pesca de camarões utilizada nas coletas acompanhadas em Santarém. Foto: Ilana Pereira. -----27
- Figura 6:** Comprimento médio, máximo e mínimo de fêmeas, machos e camarões parasitados (sexos agrupados) coletados entre junho e dezembro de 2017 na área de várzea de Pixuna do Tapará (Santarém-Pará). -----30
- Figura 7.** Distribuição do número de fêmeas parasitas com e sem ovos coletadas entre junho e dezembro de 2017 na área de várzea de Pixuna do Tapará (Santarém-Pará). -----31
- Figura 8.** Variação do comprimento total de camarões parasitados coletados nos municípios de Afuá, Abaetetuba, Augusto Corrêa e Breves, todos localizados no Estado do Pará. -----32
- Figura 9.** Variação do comprimento total de camarões parasitados (C.P) e sem parasitas (S.P) coletados no município de Abaetetuba. -----32
- Figura 10.** Árvore de agrupamento de vizinhos mostrando o relacionamento entre os haplótipos de 1 a 20 de amostras de parasitas. Os valores acima e abaixo dos clados representam a significância dos agrupamentos através de *bootstrap*. Significância inferior a 50 não são apresentadas. -----34
- Figura 11**
. Rede de Haplótipos feita com base nas sequências geradas do gene da COI de camarões, evidenciando a formação de 2 grupos: amostras continentais (Santarém) e amostras costeiras (Breves, Abaetetuba, Afuá e Augusto Corrêa). -----36

1. INTRODUÇÃO

1.1. Considerações Gerais

Sabe-se que todos os organismos que vivem em um ecossistema relacionam-se entre si direta ou indiretamente. Algumas relações trazem benefícios para ambos os organismos em questão, outras só beneficiam um dos seres envolvidos. Algumas interações ocorrem entre organismos da mesma espécie e outras entre organismos de espécies diferentes, classificando-se, respectivamente, em relação intraespecífica e interespecífica (Couto e Couto, 2015).

O parasitismo é uma dessas relações que não causa benefício a todos os envolvidos e ocorre entre organismos de espécies diferentes. É uma associação de dois indivíduos, onde o parasita retira seu alimento do corpo do seu hospedeiro. Normalmente provocando danos, mas sem causar morte imediata (Townsend *et al.*, 2010). Os parasitos vivem dentro de cavidades do corpo ou mesmo de células dos seus hospedeiros, a maioria dos parasitos é especializada em viver apenas em partes específicas do seu hospedeiro. Segundo Begon *et al.*, (2008), toda reação de um organismo à presença de outro depende da sua capacidade de reconhecer a diferença entre o que é “próprio” e o que “não é próprio”. Nos invertebrados, populações de células fagocíticas são responsáveis por grande parte da resposta de um hospedeiro aos invasores, mesmo que sejam partículas inanimadas. Sobre os efeitos dos parasitas, ainda de acordo com Begon *et al.*, (2008), a maioria das respostas dos hospedeiros envolve mudanças no crescimento e na forma dos mesmos.

Na busca de condições ideais de sobrevivência, em termos de melhor alimentação e condições de reprodução, o parasito invade os diferentes órgãos e tecidos do hospedeiro. Os limites são impostos pelas necessidades metabólicas do parasito, e pelas respostas fisiológicas do hospedeiro (Schaffer *et al.*, 1963). Os mecanismos de adaptação do parasito ao hospedeiro seguem, nas suas linhas gerais, as regras de adaptação ao meio ambiente, como condição de sobrevivência da espécie. No caso do parasitismo, haveria também a adaptação do hospedeiro ao parasito (Dubos, 1959). O conhecimento sobre quanta diferenciação há dentro da espécie, ou entre uma espécie e outra, é crucial para um entendimento da sua dinâmica e para o manejo da mesma. Seria uma população específica derivada principalmente da prole nascida localmente, ou de imigrantes de outra população distinguível? Onde exatamente

termina a distribuição de uma dada espécie e começa a de outra espécie intimamente relacionada? Em casos como este, ser capaz de determinar, em várias escalas, quem é mais intimamente relacionado a quem (e quem difere bastante de quem) pode ser essencial. (Townsend et al., 2010).

A capacidade para que isso seja feito depende da resolução com a qual se pode distinguir indivíduos uns dos outros e até mesmo determinar de onde vieram ou quem foram seus pais. No passado isso era difícil e frequentemente impossível: a confiança em marcadores visuais simples significava que todos os indivíduos de uma espécie geralmente pareciam similares, e mesmo membros de espécies intimamente relacionadas em geral podiam apenas ser distinguidas por taxonomistas experientes investigando junto ao microscópio os detalhes, por exemplo, da genitália masculina. Agora, porém, marcadores genéticos moleculares têm aumentado a resolução na qual podemos distinguir populações e mesmo indivíduos (Townsend *et al.*, 2010).

1.1.1 Subfilo Crustacea

Os Crustáceos Decápodes são popularmente conhecidos como: caranguejos, lagostas e camarões. O termo genérico camarão engloba um grande número de espécies distribuídas em duas subordens (Pleocyemata e Dendrobranchiata). Elas também são diferenciadas pelo cuidado com os ovos, onde os Pleocyemata incubam os ovos na região abdominal, enquanto os Dendrobranchiata liberam os ovos diretamente na água. Entre os Pleocyemata encontramos os carídeos (Infraordem Caridea), divididos em 31 famílias. Dentre estas, a Família Palaemonidae é a segunda maior em número de espécies, distribuídas principalmente nas regiões Oriental e Neotropical do planeta. Já entre os palaemonídeos, o gênero *Macrobrachium* se destaca pela sua diversidade e importância econômica (De Grave *et al.*, 2008).

1.1.2 Gênero *Macrobrachium*

Nas Américas, são registradas 57 espécies do gênero *Macrobrachium* (Anger, 2013), das quais 17 ocorrem no Brasil (Mantelatto *et al.*, 2008; Pileggi & Mantelatto, 2010, 2012). Na América do Sul, o gênero apresenta uma larga distribuição, principalmente nas bacias dos rios Orinoco, Amazonas e Paraguai. De acordo com Anger (2013), é provável que muitas outras espécies ainda não tenham sido identificadas, tornando muito maior o número real de espécies neotropicais de *Macrobrachium*. García-Pérez & Villamizar (2009) afirmam que novas descobertas

são possíveis, principalmente, em áreas de floresta tropical no interior da América do Sul, onde corpos d'água como riachos, córregos e lagoas são praticamente inexplorados.

Dentro do gênero, há muita variação no comprimento máximo, morfologia e exigências de habitat (Pileggi e Mantelatto, 2010). A maioria das espécies está descrita na obra de Holthuis (1952, 1980), que realizou uma ampla revisão de paleomonídeos da América.

1.1.3 *Macrobrachium amazonicum* – Biologia e Ecologia

O termo *Macrobrachium* vem do grego makros (longo, grande) e brakhion (braço); *amazonicum* significa originário da Amazônia. O *Macrobrachium amazonicum*, (figura 1) é uma espécie do subcontinente sul-americano com ampla distribuição, é a espécie nativa de camarão dulcícola que tem sido estudada, especialmente, devido à sua importância econômica na carcinicultura e pesca artesanal (Lucena-Frédou *et al.*, 2010; Moraes-Riodades e Valenti, 2001).



Figura 1. Superior, macho adulto de *M. amazonicum*. Inferior, fêmea ovígera (Foto: Marcello Villar Boock).

O camarão *M. amazonicum* apresenta grande variabilidade de morfologia e comportamento, podendo ser dividido em duas populações principais: costeira e continental. Dependendo da população, pode ser incluído tanto no grupo dos “Fantasmas” (camarões pequenos e pacíficos) quanto dos “Pitus” (camarões grandes e agressivos) (Guest & Durocher, 1979; Rodriguez, 1982).

A grande variabilidade de características biológicas dessa espécie também está ligada à diversidade dos habitats colonizados pelos camarões, os quais são encontrados em águas correntes dos grandes rios, lagos de várzea, planícies inundadas, açudes e represas (Junk e Nunes de Mello, 1987; Magalhães, 2000). *M. amazonicum* é a espécie nativa com maior ocorrência nas águas interiores da Amazônia (Odinetz-Collart, 1993). Apesar de ser endêmico da região Amazônica (Odinetz-Collart, 1991), também é encontrado nas bacias dos rios Paraná e São Francisco (Bialetzki *et al.*, 1997; Sampaio *et al.*, 2007), bem como em outras bacias da América do Sul (Kensley e Walker, 1982; Melo, 2003; Valencia e Campos, 2007) e Central (Vergamini *et al.*, 2011). Devido a esta ocorrência muito ampla, há muitas populações locais, que são provavelmente isoladas geneticamente. Além de ocorrerem diferenças morfológicas, fisiológicas e ecológicas intra-específicas, o que torna esta espécie um modelo interessante para estudos biológicos (Maciel e Valenti, 2009).

Diversos trabalhos mostraram diferenças nas populações de camarões, dentre eles podemos citar o estudo de Moraes-Riodades e Valenti (2004) que identificaram quatro morfotipos masculinos distintos entre os animais nascidos da mesma ninhada de ovos encontrada em lagoas de aquicultura, existindo diferenças na morfologia, cor e variação nos espinhos, bem como a proporção de cada articulação. Esses autores também demonstraram que os diferentes morfotipos masculinos são uma característica da espécie, mas o desenvolvimento ou falta de desenvolvimento da estrutura completa da população masculina pode ser dependente do local. As fêmeas são normalmente menores do que os machos e têm menos espinhos no segundo par de pereiópodos.

Segundo Vergamini *et al.*, (2011), populações estruturadas em três grupos distintos (espécimes de regiões interiores da Amazônia, regiões de interior do Paraná/Paraguai e regiões costeiras no norte e nordeste do Brasil), apresentaram significativa variabilidade intraespecífica, resultado, provavelmente, do isolamento geográfico entre elas, impedindo a dispersão e conectividade. Esse estudo apresenta limitações devido à natureza da análise baseada em dois marcadores moleculares mitocondriais (gene da subunidade ribossômica 16S e gene mitocondrial citocromo c oxidase subunidade I - COI), sendo as suas sequências utilizadas como identificadores de população e os códigos de barras de DNA úteis para identificar a

origem de espécimes utilizados em diferentes culturas de camarão de água doce ou de populações introduzidas de origem desconhecida. Iketani (2012) relata a presença de heteroplasmia e/ou pseudogenes em *M. amazonicum*, em seu trabalho avaliou sequências de COI quanto a presença de heteroplasmia e o desenvolvimento de outros marcadores que possam ser utilizados em análises filogeográficas e na identificação de espécies. Somado a isso, é interessante a afirmação de Vergamini et al., (2011), onde menciona que deve-se continuar os esforços para confirmar e refinar os resultados dessa pesquisa, especialmente em termos de novos genes (mitocondrial e nuclear) e marcadores moleculares mais variáveis (microsatélites).

O ciclo de vida do *M. amazonicum* em ambiente natural é composto de fases de ovo, larva, juvenil e adulto. A fêmea sofre uma muda pré-acasalamento e então o macho deposita um espermatóforo em sua região abdominal. Cerca de 20 horas após a muda pré-nupcial (Romero, 1982), a fêmea libera os ovos, que são então fertilizados e empurrados para os pleópodes. O desenvolvimento embrionário leva de 12 a 18 dias (Guest e Durocher, 1979, Gamba, 1984, Magalhães, 1985). Os ovos recém-liberados são de cor verde intenso e, em seguida, mudam para verde claro, amarelo escuro, amarelo claro e, finalmente, translúcidos, imediatamente, antes da eclosão (Rego et al., 2004).

As populações de *M. amazonicum* são caracterizadas por uma atividade reprodutiva contínua, podendo encontrar fêmeas em diferentes estágios de maturação gonadal em todos os meses do ano (Odinetz-Collart, 1993; Bialecki et al., 1997; Sampaio et al., 2007), porém intensificado nos períodos chuvosos (Odinetz-Collart, 1993; Silva et al., 2002; Silva et al., 2005; Bentes et al., 2011).

É importante salientar que, justamente por possuir uma distribuição bem extensa, essa espécie consegue tolerar uma ampla gama de variação quanto às condições físicas e químicas da água (Guest e Durocher, 1979, MacNamara et al., 1983; Moreira et al., 1986; Zanders e Rodrigues, 1992). Se desenvolve melhor entre 22 e 28°C e em um pH de 6,5 a 7,8. No entanto, em se tratando do padrão de reprodução, este pode variar de acordo com a temperatura, precipitação e características hidrológicas (Moraes-Riodades, 2005). Isso quer dizer que, o crescimento, os morfotipos masculinos, a reprodução e a razão sexual podem variar em diferentes populações e / ou podem também ser afetadas por fatores ambientais.

Como já mencionado, é evidente a existência de pelo menos dois grandes grupos populacionais de *M. amazonicum*: os que vivem em regiões costeiras, os quais habitam rios de estuário e dependem da água salobra para completar seu ciclo de vida e as populações continentais, que vivem em rios, lagos e outros corpos d'água sem contato com o litoral (Moraes – Valenti e Valenti, 2010). Baseado nisso, devem haver variações entre populações especialmente no que diz respeito às características ecológicas, comportamentais e de histórias de vida (Hayd e Anger, 2013), além das características fisiológicas e morfológicas, que se fazem necessárias para a adaptação nos diferentes habitats (água doce ou salobra), principalmente no que se refere à capacidade osmorregulatória nos diferentes estágios de vida desta espécie (Charmantier e Anger, 2011; Boudour-Bouchecker et al., 2013). As variações biológicas então, são constatadas pelo fato dessas populações habitarem diferentes regiões geográficas (Maciel e Valenti, 2009; Pantaleão et al., 2011; Vergamini et al., 2011).

Segundo alguns autores, dentro do gênero *Macrobrachium*, a espécie *M. amazonicum* é uma exceção notável, pois possui um desenvolvimento larval estendido em água doce (de 9 a 11 estágios) (Guest, 1979; Magalhães, 1985; Walsh, 1993). Aliás, para Anger (2013), o caso mais fantástico de invasões límnicas por espécies costeiras de *Macrobrachium* é o caso de *M. amazonicum*. Este autor também ressalta que tal caso de desenvolvimento estendido em ambiente límnic, tem sido interpretado como uma indicação recente de transição evolutiva de habitats costeiros para continentais. Zanders & Rodríguez (1992) mostraram que as larvas de *M. amazonicum* parecem ter mais sensibilidade aos parâmetros ambientais como temperatura e salinidade do que os adultos, o que também os levou a sugerir que esta espécie ainda está passando pela transição do ambiente salino para o de água doce.

1.1.4 Isópodes Bopyridae

A ordem Isopoda inclui as seguintes subordens: Phreatoicidea, Anthuridea, Microcerberidea, Flabellifera, Asellota, Calabozoidea, Valvifera, Epicaridea e Oniscidea. Dois deles incluem formas parasitas: as Flabellifera das famílias Gnathiidae e Cymothoidae infesta peixe, enquanto Epicarídeo parasita crustáceos. A subordem Epicaridea é dividida nas superfamílias Bopyroidea e Cryptoniscoidea. A primeira abrange três famílias, incluindo Bopyridae; o segundo é integrado por oito famílias (Martin e Davis, 2001). Os Bopyridae e Cymothoidea (parasitas de peixes)

teriam um mesmo ancestral comum. Desta espécie ancestral teria surgido uma linhagem de descendentes que se especializaram cada vez mais em sugar a hemolinfa dos crustáceos, dando origem aos atuais bopyrídeos (Dreyer e Wágele, 2001). A família Bopyridae inclui 10 subfamílias, com mais de 120 gêneros e cerca de 500 espécies parasitas de decápodes marinhos e de água doce (Torres Jordá, 2003).

Os bopyrídeos são dióicos. As larvas não são sexualmente diferenciadas, mas os adultos apresentam um dimorfismo acentuado. O macho se assemelha a um isópode da vida livre. A fêmea aumenta várias vezes em tamanho, seus apêndices larvares sofrem regressão ou desaparecem, e adquirem novas estruturas em mudas sucessivas. Os oostegitos formam um marsupium total ou parcialmente fechado. As fêmeas adultas sofrem transformações morfológicas muito diversas; em casos extremos, elas se tornam um mero saco cheio de ovos ou larvas, desprovido de segmentação e apêndices. Pelo contrário, os machos, como dito, retêm o aspecto típico de um isópode de vida livre (O'Brien e Van Wyk, 1985).

Os Isópodes Bopyridae do gênero *Probopyrus* são típicos ectoparasitas da câmara branquial de camarões paleomonídeos (Masunari *et al.*, 2000). Na costa mexicana do Pacífico, quatro espécies deste gênero foram relatadas: *P. pandalicola*; *P. bithynis*; *P. pacificensis* e *P. markhami* (Román-Contreras 2004). *P. pacificensis* tem uma distribuição registrada do Sul de Nayarit, Jalisco, Michoacan e Guerrero, México (Ocaña-Luna *et al.*, 2009). Guzmán e Román-Contreras (1983), mencionaram que a maior abundância do parasita ocorre em áreas com altos problemas de perturbação humana (poluição da água por efluentes).

Quando localizados na carapaça do cefalotórax do hospedeiro, os isópodes bopyridae manifestam um inchaço visível do exoesqueleto do hospedeiro na área de infestação (Figura 2).

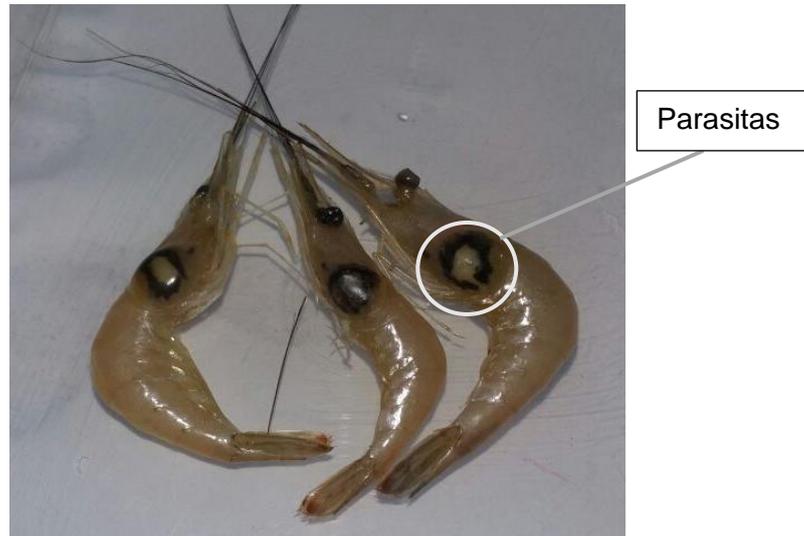


Figura 2. Camarões *M. amazonicum* parasitados coletados em Pixuna do Tapará– Rio Amazonas. Foto: Ilana Pereira

Os Bopyrideos têm o seguinte padrão geral: larvas de vida livre epicarídeo eclodem do marsupium fêmea, procuram um hospedeiro intermediário (um copépodo calanóide) e, quando ligado a ele, muda para larvas de microníscio e, logo depois, para o estágio cryptoniscus. Estes destacam-se do copépodo e começam a procurar o hospedeiro definitivo (um decápode). O primeiro criptonisco que se instala sobre o hospedeiro definitivo cresce e se transforma em uma fêmea, enquanto o segundo se transforma em um macho, que é sempre menor e vive entre a fêmea (Anderson e Dale, 1981; Dale e Anderson, 1982). O esquema a seguir ilustra o padrão geral para muitas espécies desse gênero (Figura 3).

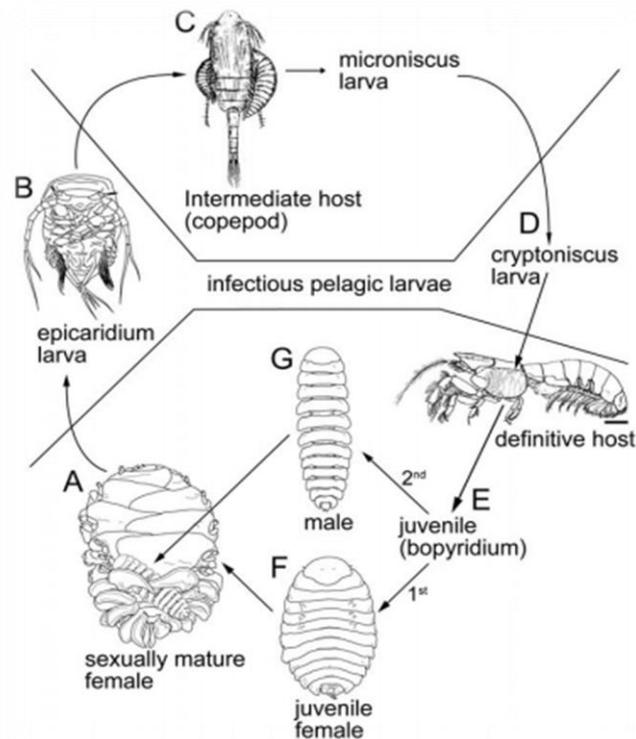


Figura 3. Padrão geral do ciclo de vida dos Bopyrideos (Dale e Anderson, 1982).

Os Bopyrídios apresentam uma especificidade marcada, embora não absoluta, por seus hospedeiros. Diferentes bopyrídios podem infestar o mesmo hospedeiro (Roccatagliata e Torres Jordá, 2002).

Em geral há apenas um macho por fêmea, raramente dois ou mais. Um caso extremo é o de uma fêmea de *Portunion maenadis* com 30 machos e 10 larvas cryptoniscus (Veillet, 1945). Na maioria desses casos, os machos bem numerosos são sexualmente imaturos, embora possam amadurecer e substituir o macho dominante se ele morrer (Beck, 1980). As fêmeas incubam seus ovos dentro do marsúpio e reproduzem muitas vezes, podem gerar entre 24 e 371.000 ovos, dependendo da espécie (Trilles, 1999). A reprodução se estende ao longo do ano em áreas quentes. No entanto, algumas espécies de clima temperado, como *lone thoracica*, *Probopyrus pandalicola* e *P. ringueleti*, podem interromper suas atividades reprodutivas durante o inverno (Reverberi e Pitotti, 1942; Beck, 1980, Schuldt e Damborenea, 1989).

Os Isópodes Epicaridea (famílias Entoniscidae e Bopyridae) e os cirripédios Rhizocephala produzem alterações comparáveis no crescimento, no metabolismo, nas características sexuais e no comportamento dos decápodes nos quais estão alojados (Torres Jordá, 2003).

Em linhas gerais, os isópodos da subordem Epicaridea ao parasitar os decápodos, deterioram a qualidade do camarão, pois são visíveis através da carapaça do hospedeiro, também provocam deformações na região branquiostegal (onde ficam alojados); retiram nutrientes do hospedeiro ao se alimentarem da hemolinfa e, causam injúrias e traumatismos aos tecidos ao perfurarem o integumento. Os principais efeitos do parasitismo nos decápodos são: redução do peso, do tamanho, castração nas fêmeas (interrupção da vitelogênese), alterações morfológicas nos caracteres sexuais dos machos e diminuição da taxa de oxigênio (Odinetz Collart, 1990; Bueno e Gastelú, 1998).

Com relação aos efeitos sobre as características sexuais, ou seja, em se tratando da castração parasitária, em um hospedeiro castrado, por exemplo, pelo menos parte da energia normalmente destinada à reprodução estaria disponível para o crescimento e reprodução do parasita. Citação. Além disso, o declínio da atividade reprodutora do hospedeiro iria aumentar a sobrevivência do parasita diminuindo os riscos e os gastos energéticos associados à maturação sexual, manutenção do território, competição por casais e cuidado com os jovens. Citação. Se o hospedeiro é capaz de viver mais tempo, o parasita tem maior probabilidade de atingir o tamanho mínimo reprodutivo e produzir um maior número de crias. A supressão da reprodução poderia acelerar a taxa de crescimento do hospedeiro e, em seguida, o parasita teria uma fonte de energia maior. Qualquer um destes efeitos por si só, conferiria vantagem adaptativa a um parasito castrador, em comparação com outros parasitas semelhantes, porém não castradores (Baudoin, 1975).

A castração parasitária é direta quando os parasitas vivem nos órgãos do hospedeiro ou alimentam-se dos mesmos. Este é o caso, por exemplo, de certos trematódeos que invadem órgãos internos de alguns moluscos. Um tipo mais complexo de castração resulta de uma ação à distância do parasita sobre as gônadas do hospedeiro. Este tipo de castração, de forma bem geral, é observado em crustáceos parasitados por Epicaridea e Rizocéfalo. Danos às gônadas é muitas vezes acompanhada por mudanças nas características sexuais secundárias (Reinhard, 1956).

Segundo Odinetz-Collart (1993), o desenvolvimento do parasita ocorre na câmara branquial em conjunto com o hospedeiro, causando deformidades na carapaça e caracteres externos da fêmea imatura e infertilidade. Maciel e Valenti

(2009) descreveram em seu trabalho de revisão, que camarões parasitados são muito encontrados em populações costeiras de *M. amazonicum*, mas até o presente momento não se tem registros de estudos demonstrando populações continentais com indícios de parasitas.

Considerar as associações que diferentes espécies estabelecem entre si traz esclarecimentos para o aparecimento de situações novas que podem estar relacionadas com a vantagem ou a desvantagem para uma ou para ambas as partes que estabelecem dadas relações. Este estudo, nesse sentido, esteve focado em verificar a ocorrência de uma espécie isópoda Bopyrideo do gênero *Probopyrus* parasitando populações continentais de *M. amazonicum*. Portanto, este é o primeiro registro de populações continentais de camarões infestadas por parasitas. Considerando a relativa proximidade entre as populações continentais e costeiras de *M. amazonicum* e o intenso movimento de embarcações oceânicas envolvidas no comércio internacional entre Belém-Pará e Manaus-Amazonas (Beasley *et al.*, 2003) é possível propor duas hipóteses para o registro de camarões parasitados na região:

Hipótese 1: não haviam camarões parasitados na região, isto quer dizer que, a ocorrência desses parasitas é fruto de introdução que pode ter ocorrido na fase larval e/ou camarões adultos parasitados, tenham vindo, possivelmente, via água de lastro;

Hipótese 2: sempre houve camarões parasitados nessa área do estudo, ou seja, sua ocorrência é natural.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

- Caracterização molecular do *Probopyrus sp.*, parasita do *Macrobrachium amazonicum*, em uma área do Rio Amazonas.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Determinar a preferência do parasita no local de fixação no corpo do hospedeiro definitivo (*M. amazonicum*);
- Fazer comparações moleculares entre indivíduos parasita/hospedeiro coletados de uma área continental e de uma área costeira;
- Determinar o caráter exótico ou não do parasita através de dados moleculares.

1.3 BIBLIOGRAFIA

- ANDERSON, G., DALE, W. E. 1981. *Probopyrus pandalicola* (Packrd) (Isopoda, Epicaridea): Morphology and development of larvae in culture. *Crustaceana* 41: 143-161.
- ANGER, K. The biology of decapod crustacean larvae. *Crustacean Issues* 14. A.A. Balkema, Lisse, Netherlands. 2001.
- ANGER, K. Neotropical *Macrobrachium* (Caridea: Palaemonidae): On the biology, origin, and radiation of freshwaterinvading shrimp. *Journal of Crustacean Biology*, vol. 33, no. 2, p. 151-183. 2013.
- BAUER, R.T. 2011. Amphidromy and migrations of freshwater shrimps. I. Costs, benefits, evolutionary origins, and an unusual case of amphidromy. In: A. Asakura (ed.). *New frontiers in crustacean biology, Proceedings of the TCS Summer Meeting, Tokyo, 20-24 September 2009*, Koninklijke Brill NV, Leiden, pp. 145-156.
- BAUDOIN, M. Host castration as a parasitic strategy. *Evolution* 29: 335-352. 1975.
- BEASLEY, C.R.; TAGLIARO, C.H.; FIGUEIREDO, W.B. The occurrence of the Asian clam *Corbicula fluminea* in the Lower Amazon Basin. *Acta Amazonica*, 33(2): 317-324. 2003.
- BECK JT, 1980. Larval and adult habitats of a branchial bopyrid *Probopyrus pandalicola* on one of its freshwater shrimp hosts *Palaemonetes paludosus*. *Crustaceana* 38 (3): 265-270.
- BEGON, M.; TOWNSED, C.R.; HARPER, J.L. *Ecologia De Indivíduos a Ecossistemas*. Artmed editora, 4ª edição. 2007
- BENTES, B. *Ecologia, pesca e dinâmica populacional do camarão-da-Amazônia - *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Decapoda: Palaemonidae) – capturado na região das ilhas de Belém-Pará-Brasil*. Tese de doutorado. Instituto de Ciências Biológicas – UFPA. 253p. 2011.
- BIALETZKI, A.; NAKATANI, K.; BAUMGARTNER, G. AND BOND-BUCKUP, G. 1997. Occurrence of *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Decapoda, Palaemonidae) in Leopoldo's Inlet (Ressaco do Leopoldo), upper Paraná river, Porto Rico, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 14(2):379-390.

BOUDOUR-BOUCHEKER, N., BOULO, V., LORIN-NEBEL, C., ELGUERO, C., GROUSSET, E., ANGER, K., CHARMANTIER-DAURES, M. & CHARMANTIER, G. 2013. Adaptation to freshwater in the palaemonid shrimp *Macrobrachium amazonicum*: comparative ontogeny of osmoregulatory organs. *Cell Tissue Res*, 353:87-98.

BUENO, S.L.S.; GASTELÚ, J.C. Doenças em camarões de água doce. In: Valente, W.C. (Ed.). *Carcinocultura de água doce*. IBAMA, FAPESP, Brasília. p.309-339. 1998.

CHARMANTIER, G. & ANGER, K. 2011. Ontogeny of osmoregulatory patterns in the South American shrimp *Macrobrachium amazonicum*: Loss of hypo-regulation in a land-locked population indicates phylogenetic separation from estuarine ancestors. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 396, 89-98.

COUTO, H. H. (UnB) E COUTO, E. K. N. N. (UFG). POR UMA ANÁLISE DO DISCURSO ECOLÓGICA. 2015. *Ecolinguística: Revista Brasileira de Ecologia e Linguagem*, v. 01, n. 01, p. 82-104.

DALE W.E. E ANDERSON G. 1982. Comparison of morphologies of *Probopyrus bithynis*, *P. floridensis*, and *P. pandalicola* larvae reared in culture (Isopoda, Epicaridea). *J. Crustac. Biol.* 2: 392–409.

DE GRAVE, S. & A. ANKER, 2008. *Leptathanas powelli* gen. nov., sp. nov, a new infaunal alpheid shrimp associated with upogebiid mudshrimps in Nigeria (Crustacea, Decapoda). *Zootaxa*, 1750: 43–52.

DREYER H Y WNGLE JW, 2001. Parasites of crustaceans (Isopoda: Bopyridae) evolved from fish parasites: molecular and morphological evidence. *Zoology* 103: 157-178.

DUBOS, R. — *Mirage of Health —Utopias, Progress and Biological Change* Anchor Books. New York, Doubleday Inc., 1959.

GAMBA AL. 1984. Different egg-associated and larval development characteristics of *Macrobrachium jelskii* and *Macrobrachium amazonicum* (Arthropoda: Crustacea) in a Venezuelan continental lagoon. *International Journal of Invertebrate Reproduction and Development* 7: 135-142.

- GARCÍA-PÉREZ, A. & VILLAMIZAR, J. *Macrobrachium santanderensis*, new species of freshwater prawn (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) from the northeastern Andes mountains of Colombia. *Zootaxa*: 61-68. 2009.
- GUEST, W. C.; DUROCHER, P. P. Palaemonid shrimp, *Macrobrachium amazonicum*: effects of salinity and temperature on survival. *The Progressive Fish-Culturist*, 41:14-18. 1979.
- GUZMÁN, A.M. E ROMÁN-CONTRERAS R. 1983. Parasitismo de *Probopyrus pandalicola* (Isopoda, Bopyridae) sobre el langostino *Macrobrachium tenellum* en la costa pacífica de Guerrero y Michoacán, México. In. Conferencia internacional sobre Recursos Marinos del Pacífico, Viña del Mar, Chile, pp. 345-357.
- HAYD, L. & ANGER, K. 2013. Reproductive and morphometric traits of *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda, Palaemonidae) from the Pantanal, Brazil, suggests initial speciation. *Revista de Biología Tropical*, 61(1), 39-57
- HOLTHUIS, L. B. 1952. A general revision of the Palaemonidae (Crustacea, Decapoda, Natantia) of the Americas. II. The subfamily Palaemoninae. **Occasional Paper of the Allan Hancock Foundation**, Los Angeles, v. 12, p.1-369.
- HOLTHUIS, L. B. 1980. *FAO Species Catalogue. Vol. 1 Shrimps and prawns of the world. An annotated catalogue of species of interest to fisheries. FAO Fish. Synop. 125(1):271p. Rome: FAO.*
- IKETANI, G. Desenvolvimento e Aplicação de Marcadores Moleculares Mitocondriais em Camarões de Água Doce do Gênero *Macrobrachium* (Decapoda: Palaemonidae). 2012. 140 (Doutorado). Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém.
- JUNK, W.J.; MELLO, N. 1987. Impactos ecológicos das represas hidroelétricas na Bacia Amazônica brasileira. *Tumb Geographic Stud.*, v.95, p. 375-87.
- KENSLEY, B.; WALKER, I. 1982. Palaemonid Shrimps from the Amazon Basin, Brazil (Crustacea: Decapoda: Natantia). *Smithsonian Contributions to Zoology*, 362:1-27.
- LATREILLE, P. A. *Genera Crustaceorum et Insectorum secundum Ordinem naturalem in Familias disposita, iconibus, exemplisque plurimus explicata. Vol. 1. Paris, Apud Amand Koenig Bibliopolam. 302 pp. 1806.*

- LUCENA-FREDOU, F.; ROSA, J. S.; SILVA, M.C.N & AZEVEDO E.F. 2010. Population dynamics of the River prawn, *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Decapoda, Palaemonidae) on Combu island (Amazon estuary). *Crustaceana* 83: 277-290.
- MACIEL CR, VALENTI WC. 2009. Biology, Fisheries, and Aquaculture of the Amazon River Prawn *Macrobrachium amazonicum*: A Review. *Nauplius*17: 61-79.
- MAGALHÃES C. 1985. Desenvolvimento larval obtido em laboratório de palemonídeos da região Amazônica. I. *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Crustacea, Decapoda). *Amazoniana* 9: 247-274.
- MAGALHÃES C. 2000. Diversity and abundance of decapod crustaceans in the Rio Negro Basin, Pantanal, Mato Grosso do Sul, Brazil. Pp. 56-62 in: Willink P, Chernoff B, Alonso LE, Montambault J, Lourival R, eds, A Biological Assessment of the Aquatic Ecosystems of the Pantanal, Mato Grosso do Sul, Brazil. Washington DC: Conservation International.
- MANTELATTO, F. L.; PILEGGI, L. G.; SUÁREZ, H. & MAGALHÃES, C. 2008. First record and extension of the known distribution of the inland prawn, *Macrobrachium aracamuni* Rodríguez, 1982 (Decapoda, Palaemonidae) in Brazil. *Crustaceana* 81(2):241-246.
- MARTIN, JW E DAVIS, GE. 2001. An updated classification of the recent Crustacea. National History Museum of Los Angeles Country, Science Series 39: 1-124
- MASUNARI, S.; CASTAGINI, A.S.; OLIVEIRA, E. 2000. The population structure of *Probopyrus floridensis* (isopoda, bopyridae), a parasite of *Macrobrachium potiuna* (decapoda, palaemonidae) from the perequê river, Paranaguá basin, southern brazil. Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Paraná, *Crustaceana* 73 (9): 1095-1108.
- MCNAMARA, J. C.; MOREIRA, G. S.; MOREIRA, P. S. 1983. The effect of salinity on respiratory metabolism, survival and moulting in the first zoea of *Macrobrachium amazonicum* (Heller) (Crustacea, Palaemonidae). *Hydrobiologia*, 101: 239-242.

- MELO, G.A.S. 2003. Família Palaemonidae. In MELO, GAS. (ed.) Manual de identificação dos Crustacea Decapoda de água doce do Brasil. São Paulo: Loyola, p. 317-398.
- MORAES-RIODADES P.M.C, VALENTI W.C. 2001. Freshwater prawn farming in Brazilian Amazonia shows potential for economic, social development. *Global Aquaculture Advocate* 4: 73-74.
- MORAES-RIODADES, P. M. C. Cultivo do camarão-da-amazônia. *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Crustácea, Decapoda, Palaemonidae) em diferentes densidades: fatores ambientais, biologia populacional e sustentabilidade econômica. Tese de Doutorado. Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, 117 p. 2005.
- MORAES-RIODADES, P. M. C. AND VALENTI, W. C. 2006. Effects of stocking density on population structure of Amazon river prawn *Macrobrachium amazonicum* raised in ponds. In: Abstracts of Aquaculture 2006, Firenze, p. 629. Baton Rouge, World Aquaculture Society.
- MORAES-VALENTI, P.M.C. & VALENTI, W.C. 2010. Culture of the Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum*. In: M.B. New, W.C. Valenti, J.H. Tidwell, L.R.D. Abramo & M.N. Kutty (eds.). *Freshwater prawns biology and farming*. Wiley- Blackwell, Oxford, pp. 485-501.
- MOREIRA, G. S.; MCNAMARA, J. C. AND MOREIRA, P. S. 1986. The effect of salinity on the upper thermal limits of survival and metamorphosis during larval development in *Macrobrachium amazonicum* (Heller) (Decapoda, Palaemonidae). *Crustaceana*, 50 (3): 231-238.
- ODINETZ-COLLART O. 1991. Stratégie de reproduction de *Macrobrachium amazonicum* en Amazonie Centrale (Decapoda, Caridea, Palaemonidae). *Crustaceana* 61: 253-270.
- O'BRIEN, J. Y. VAN WYK, P. 1985. Effects of crustacean parasitic castrators (epicaridean isopods and rhizocephalan barnacles) on growth of crustacean hosts. Pp. 191-218. En: *Factors in Adult Growth (Crustacean Issues 3; AM Wenner, Editor)*. Balkema, Rotterdam.

OCAÑA-LUNA, A. MARTÍNEZ-GUZMÁN, L.A. E SÁNCHEZ-RAMÍREZ, M. Nuevos registros del parásito *Probopyrus pacificensis* (Isopoda: Bopyridae) en el sur de Nayarit y norte de Jalisco, México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 80: 259-261. 2009.

ODINETZ-COLART, O. 1993. Ecología e potencial pesqueiro do camarão-canela, *Macrobrachium amazonicum*, na Bacia Amazônica. In: Ferreira, E. J.; Santos, G. M.; Leão, E. L. M. & Oliveira, L.A. (Eds.) *Bases Científicas para Estratégias de Preservação e desenvolvimento da Amazônia (2)*. INPA. 147-166 pp.

ODINETZ-COLLART O, MOREIRA LC. 1993. Potencial pesqueiro de *Macrobrachium amazonicum* na Amazônia Central (Ilha do Careiro): variação da abundância e do comprimento. *Amazoniana* 12: 399-413

ODINETZ-COLLART O, RABELO H. Variation in egg size of the fresh-water prawn *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda: Palaemonidae). *Journal of Crustacean Biology* 16: 684-688. 1996.

PANTALEÃO, J. A. F., HIROSE, G.L. & COSTA, R.C. 2011. Relative growth, morphological sexual maturity, and size of *Macrobrachium amazonicum* (Heller 1862) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) in a population with an entirely freshwater life cycle. *Invertebr. Reprod. Dev.*, 56(3): 180-190.

PILEGGI LG, MANTELATTO FL. 2010. Molecular phylogeny of the freshwater prawn genus *Macrobrachium* (Decapoda, Palaemonidae), with emphasis on the relationships among selected American species. *Invertebrate Systematics* 24: 194-208.

PILEGGI, L.A. & MANTELATTO, F.L. 2012. Taxonomic revision of doubtful Brazilian freshwater shrimp species of the genus *Macrobrachium* (Decapoda, Palaemonidae). *Iheringia, Sér. Zoologia*, 102(4): 426- 437.

RABALAIS, N. N. & GORE, R. H. 1985. Abbreviated development in Decapods. In: A. M. Wenner (ed.), *Larval growth*. Balkema, Rotterdam, pp. 67-126.

REGO, L. A. H.; VETORELLI, M.; MORAES-RIOADES, P. M. C. AND VALENTI, W. C. Seleção e manejo de fêmeas ovígeras para a larvicultura de *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862). In: *Abstracts of AquaCiência* Vitória, p. 393. Jaboticabal, Sociedade Brasileira de Aqüicultura e Biologia Aquática. 2004.

- REINHARD, E.G. Parasitological Reviews. Parasitic castration of Crustacea. Parasitology 5: 79-107. 1956.
- REVERBERI, G. E PITOTTI, M. 1942. Il ciclo biologico e la determinazione fenotipica del sesso di *lane thoracica* Montagu, Bopyridae parassita di *Callinassa laticauda* Otto. Pubblicazione della Stazione Zoologica di Napoli 19 (2): 11-184.
- ROCCATAGLIATA, D. E TORRES JORDÁ, M. 2002. Infestation of the fiddler crab *Uca uruguayensis* by *Leidyia distorta* (Isopoda, Bopyridae) from the Rio de la Plata estuary, Argentina. Journal of Crustacean Biology 22 (1): 69-82.
- RODRÍGUEZ, G. 1982. Fresh-water shrimps (Crustacea, Decapoda, Natantia) of the Orinoco basin and the Venezuelan Guayana. Journal of Crustacean Biology, 2: 378-391.
- ROMERO, M. E. 1982. Preliminary observations on potential of culture of *Macrobrachium amazonicum* in Venezuela. p. 411-416. In: M. B. New (ed.) Giant Prawn Farming. Amsterdam, Elsevier.
- SAMPAIO, C. M. S.; SILVA, R. R.; SANTOS, J. A. AND SALES, S. P. 2007. Reproductive cycle of *Macrobrachium amazonicum* females (Crustacea, Palaemonidae). Brazilian Journal of Biology, 67(3): 551-559.
- SCHAFFER, J., BEAMER, P. R., TREXLER, P. C., BREIDENBAH, G. & WALCHER, D. N. 1963.— Response of Germ-Free animals to experimental virus monocontamination. I — Observation on Coxsackie B virus. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 112: 561-564.
- SCHULDT M Y DAMBORENEA MC, 1989. Infección de *Palaemonetes argentinus* (Crustacea, Palaemonidae) con *Probopyrus* cf. *oviformis* (Crustacea, Bopyridae) en el canal Villa Elisa (selva marginal de Punta Lara, Provincia de Buenos Aires, Argentina). I. Estructura poblacional del consorcio, interacción y fluctuación. Biota (Osorno, Chile) S: 21-53.
- SILVA, K. C. A.; CINTRA, I. H. A.; MUNIZ, A. P. M. 2005. Aspectos bioecológicos de *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) a jusante do reservatório da hidrelétrica de Tucuruí, Pará. Boletim Técnico-Científico do Cepnor, 5(1): 55-71

- SILVA, K. C. A.; SOUZA, R. A. L. AND CINTRA I. H. A. 2002. Espécies de camarões capturadas em áreas estuarinas no município de Vigia, Pará, Brasil. Boletim Técnico-Científico do Cepnor, 2(1): 81–96.
- TORRES JORDÁ, MARTÍN. "Estudio de la relación entre el parásito *Leidyia distorta* (isopoda: bopyridae) y su hospedador *Uca uruguayensis* (brachyura: ocyropodidae), y descripción de los estadíos larvales de *L. distorta*". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2003.
- TOWNSEND, C.R.; BEGON, M.; HARPER, J.L. Fundamentos em ecologia 3ª edição. Artmed editora. 2010.
- TRILLES, J.P. 1999. Ordre des Isopodes Sous-Ordre des Épicarides (Epicaridea Latreille, 1825). Pp. 279-352. En: Traité de Zoologie (PP Grassé), Tome VII, Crustacés Péracarides, fascicule 3A (J Forest, Editor). Mémoires de l'Institut Oceanographique, Monaco No 19.
- VALENCIA DM, CAMPOS MR. 2007. Freshwater prawns of the genus *Macrobrachium* Bate, 1968 (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) of Colombia. Zootaxa 1456; 1-44.
- VALENTI, W.C. Comportamento reprodutivo de camarões de água doce. In: Encontro Anual de Etologia, 5., Jaboticabal. p.195-202. 1987.
- VEILLET A, 1945. Recherches sur le parasitisme des Crabes et des Galathées par les Rhizocéphales et les Épicarides. Annales de l'Institut Océanographique, Paris 22 (4): 193-34].
- VERGAMINI, F. G.; PILEGGI, L.G.; MANTELATTO, F. L. 2011. Genetic variability of the Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda, Caridea, Palaemonidae) Contributions to Zoology, 80 (1): 67-83.
- ZANDRES, I. P. AND RODRÍGUEZ, J. M. 1992. Effects of temperature and salinity stress on osmoionic regulation in adults and on oxygen consumption in larvae and adults of *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda, Palaemonidae). Comparative Biochemistry and Physiology, 3:505–509.
- WALSH, C. J. 1993. Larval development of *Paratya australiensis* Kemp, 1917 (Decapoda: Caridea: Atyidae), reared in the laboratory, with comparisons of fecundity and egg and larval size between estuarine and riverine environments. Journal of Crustacean Biology 13: 456 – 48.

CAPÍTULO I

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Probopyrus sp.*
(ISOPODA: BOPYRIDAE) E A INFESTAÇÃO DE
POPULAÇÕES CONTINENTAIS DE *Macrobrachium
amazonicum* (DECAPODA: PALAEMONIDAE) DA
AMAZÔNIA ORIENTAL**

ROSA ILANA DOS SANTOS PEREIRA

GABRIEL IKETANI

OBSERVAÇÃO

A fim de tornar a leitura mais fácil, todas as figuras e tabelas foram inseridas ao longo do texto, o mais próximo possível de sua citação.

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Probopyrus* sp. (ISOPODA: BOPYRIDAE) E A INFESTAÇÃO DE POPULAÇÕES CONTINENTAIS DE *Macrobrachium amazonicum* (DÉCAPODA: PALAEMONIDAE) DA AMAZÔNIA ORIENTAL

Pereira, Rosa Ilana*; Iketani, Gabriel

Mestranda em Ciências Ambientais (PPGRNA) na Universidade Federal do Oeste do Pará – campus Santarém. E-mail: ilanna26.sp@gmail.com

RESUMO: Os crustáceos parasitários são numerosos e têm distribuição mundial em águas doces e salgadas. Há alguns registros de espécimes de *Macrobrachium amazonicum* que são infestados por parasitas. Nesse sentido, objetivou-se, neste estudo, determinar o caráter exótico ou não de uma espécie de parasita do gênero *Probopyrus* de uma área continental do Rio Amazonas (Santarém-Pará) associada ao *M. amazonicum*, através do uso de métodos moleculares. Para isso, além das coletas realizadas durante sete meses em Santarém, também foi realizada uma coleta em áreas costeiras da Amazônia. A metodologia empregada esteve concentrada em análises moleculares do material coletado. Com os resultados, observou-se que apesar da similaridade morfológica aparente dos parasitas, possivelmente, tratam-se de duas espécies diferentes de *Probopyrus*. Isto é, o parasita do *M. amazonicum* de Santarém é uma espécie endêmica. Este trabalho é pioneiro no estudo de aspectos ecológicos de *M. amazonicum* infestado por parasita em área continental da Amazônia, além disso os resultados apontam a necessidade de revisão da taxonomia, da morfologia e a ampliação dos estudos moleculares dos parasitas do gênero *Probopyrus*.

Palavras-chave: Bopyridae, endemismo, *Macrobrachium amazonicum*, área continental.

ABSTRACT: Abstract: Parasitic crustaceans are numerous and are distributed worldwide in fresh and salt water. There are some records of specimens of *Macrobrachium amazonicum* that are infested by such parasites. In this regard, the objective of this study was to determine the exotic character or not of a parasitic species of the genus *Probopyrus* from a continental area of the Amazon River (Santarém-Pará) associated with *M. amazonicum*. For this, in addition to the collections carried out during seven months in Santarém, a collection was also carried out in coastal areas of the Amazon for the purpose of comparing both parasites and prawns. The methodology used was focused in molecular analyzes of the material collected. With the results, it was observed that despite the apparent morphological similarity of the parasites, possibly, they are different species of *Probopyrus*. That is, the parasite of *M. amazonicum* from Santarém is a endemic specie. In addition, it has been observed that parasitized prawns have the total length less than parasitic free prawns. This work is a pioneer in the study of the ecological aspects of *M. amazonicum* infested by parasites in the continental Amazonian area. As well as, the results point

out the need to review the taxonomy, morphological and enlarge the molecular studies of parasites of the genus *Probopyrus*.

Keywords: Bopyridae, endemism, *Macrobrachium amazonicum*, continental area.

2.1 INTRODUÇÃO

Os camarões de água doce do gênero *Macrobrachium*, Bate, 1868, pertencem à Família Palaemonidae, considerada atualmente a maior família da Ordem Decapoda (Magalhães, 2000). Os representantes desse gênero são importantes componentes de ecossistemas de água doce e estuarinos, com ampla distribuição geográfica nas áreas tropicais e subtropicais do mundo (Pereira et al., 2002; Short, 2004). Segundo Magalhães (2000), essas espécies apresentam particularidades adaptativas quanto aos seus aspectos morfológicos, fisiológicos e de padrões comportamentais que podem torná-los objetos de muitos estudos. Dentro do gênero *Macrobrachium*, a espécie *Macrobrachium amazonicum* destaca-se pois é um importante crustáceo para a região sul-americana, seja pelo valor econômico, social ou biológico que a mesma possui (Junk e Nunes de Mello, 1987; Magalhães, 2000; Hayd e Anger, 2013).

Sabe-se da existência de pelo menos dois tipos diferentes de populações de *M. amazonicum*: aquelas que vivem em regiões costeiras, as quais habitam rios de estuário e dependem da água salobra para completar seu ciclo de vida e as populações continentais, que vivem em rios, lagos e outros corpos d'água, sem contato com o litoral (Moraes-Valenti & Valenti, 2010).

Com os avanços metodológicos em biologia molecular, a obtenção de dados moleculares vem se tornando mais uma importante ferramenta na busca de resolução das relações filogenéticas complexas, em que apenas o uso de dados morfológicos não é suficiente. Além disso, tais metodologias podem ser bastante úteis para delinear efetivamente limites entre linhagens e/ou espécies, assim como no estudo de relações intra e interespecífica (Meyer, 1997; Liu et al. 2007, Baker et al., 2008).

O gene mitocondrial da citocromo oxidase C subunidade I (COI) vem sendo alvo de estudos populacionais de variabilidade genética e de relações filogenéticas por apresentar regiões variáveis suficientes para análises de grupos taxonomicamente relacionados pela sua universalidade e importância evolutiva (Simon et al., 1994; Ayala et al., 1996; Dobler; Muller, 2000; Nelson, 2006).

A infestação de crustáceos decápodes por parasitos isópodos da família Bopyridae, provoca, frequentemente, uma alteração na reprodução, seja na castração e/ou na modificação dos caracteres sexuais secundários do hospedeiro (Odinetz, 1994). Odinetz (1990), sugere que ocorrem interações estáveis entre *M. amazonicum* e *Probopyrus bithynis* coletados no Baixo Tocantins, Pará.

Considerando a relativa proximidade entre as populações continentais e costeiras de *M. amazonicum* e o intenso movimento de embarcações oceânicas envolvidas no comercio internacional entre Belém-Pará e Manaus-Amazonas (Beasley et al., 2003) é possível propor duas hipóteses para o registro de camarões parasitados na região:

Hipótese 1: não haviam camarões parasitados na região, isto quer dizer que, a ocorrência desses parasitas é fruto de introdução que pode ter ocorrido na fase larval e/ou camarões adultos parasitados, tenham vindo, possivelmente, via água de lastro;

Hipótese 2: sempre houve camarões parasitados nessa área do estudo, ou seja, sua ocorrência é natural.

Estudos relacionados a espécies de águas continentais são escassos, o maior foco está em organismos grandes e atraentes como os peixes (Agostinho et al., 2005). Porém, de acordo com Magalhães (1999), as águas interiores brasileiras possuem uma riqueza extraordinária de alguns grupos, como os decápodes dulcícolas, por exemplo, os quais representam 10% do total existente no mundo. De acordo com Maciel & Valenti (2009), pesquisas referentes à *M. amazonicum* se tornam necessárias e de grande importância para o entendimento da dinâmica das populações e da ecologia geral dessa espécie.

Neste aspecto, este trabalho contribui para um maior conhecimento sobre a biologia e dinâmica da relação parasita/hospedeiro de *Probopyrus sp.* e *M. amazonicum*, respectivamente, além de esclarecer e determinar através do uso de métodos moleculares o caráter exótico ou não desse parasita na região de Santarém-Pará. Este trabalho é pioneiro no estudo de aspectos ecológicos de *M. amazonicum* infestado por parasita em área continental, visto que não há registro publicado relacionado à biologia desta espécie no âmbito parasitário, apenas em áreas costeiras, o que torna o conhecimento sobre essas espécies no estado interessante e abre caminhos para novos estudos de fins avaliativos e comparativos relacionando esta associação com espécies de outras regiões. Assim, este estudo, esteve focado

em verificar a relação de uma espécie isópoda Bopyrideo do gênero *Probopyrus* parasitando populações continentais de *M. amazonicum*.

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização da área de estudo

O rio Amazonas é o maior rio em volume de água do mundo, depende, quase que exclusivamente, do regime das chuvas para o enchimento de sua bacia hidrográfica. Possui suas águas barrentas, com elevada concentração de sedimentos suspensos (Santos e Ribeiro, 1988).

As coletas na área continental da Amazônia foram realizadas na margem esquerda do Rio Amazonas no município de Santarém-Pará, numa área de várzea chamada Pixuna do Tapará (S 02°24.978' W 054°33.838'). A escolha dessa localidade foi baseada em relatos de pescadores que pescam nesta área e na proximidade da mesma. Segundo eles, essa região tem apresentado um número considerável de camarões infestados por parasitas.

Já na área costeira da Amazônia, camarões parasitados e não parasitados foram coletados em: Abaetetuba, Afuá, Augusto Corrêa, Bragança e Breves (todos no estado do Pará) (Figura 4). A Zona Costeira Amazônica brasileira representa cerca de 35% da costa do País, estendendo-se por mais de 2.500 km, desde a foz do Rio Oiapoque, no Amapá, até a Baía de São Marcus, no Maranhão (Isaac & Barthem, 1995). Toda a linha costeira do Norte do Brasil é dominada por macromarés e apresenta feições geomorfológicas características, com extensos depósitos de planície de maré, estuários, manguezais, baixios, pântanos salinos, dunas, praias e leques de lavagens associados (Souza Filho & El-Robrini, 1996).

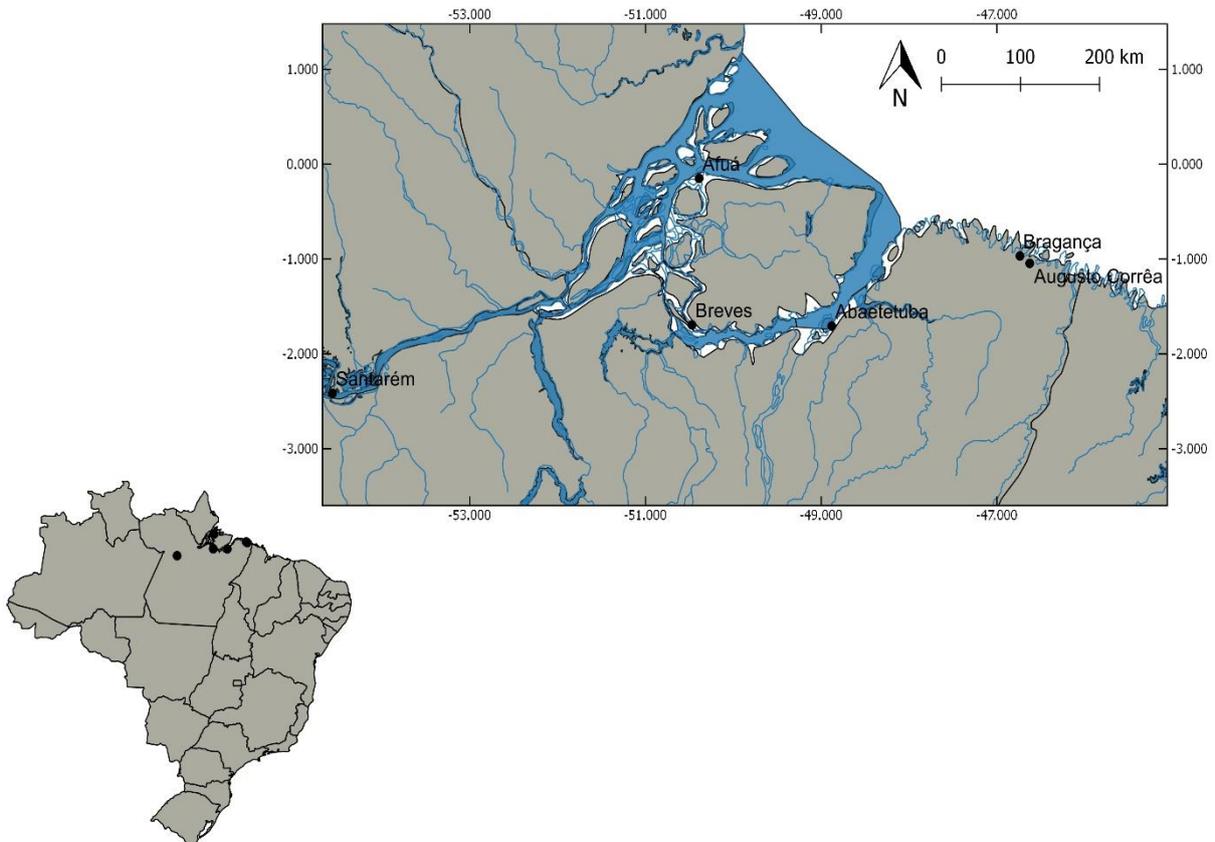


Figura 4. Mapa de localização com demonstração dos pontos de coleta de camarões com e sem parasitas em regiões continentais e costeiras da Amazônia. Este foi feito com o Programa ...

Amostragem

Para a coleta dos camarões utilizou-se o covo (Figura 5), uma armadilha semifixa revestida por uma tela de arame ou nylon e de armação de madeira ou ferro, e que possui uma abertura ou sanga na parte lateral formando uma armação retangular e fechada em cada extremidade, tendo espaço apenas para a entrada dos camarões, colocado a favor da correnteza (Castro e Silva; Cavalcante, 1994). Porém, os pescadores a chamam de matapi ou camaroeira, apesar de serem armadilhas bem diferentes uma da outra. Essa armadilha pode ser iscada no seu interior para atrair crustáceos ou peixes. No entanto, eles não utilizam nenhuma isca para capturar os camarões. As dimensões da armadilha de pesca utilizada são: 1 metro e meio de largura por 2 metros de altura.



Figura 5. Armadilha de pesca de camarões utilizada nas coletas acompanhadas em Santarém. Foto: Ilana Pereira

A pesca realizada pelos pescadores artesanais, no período em que foi realizado este estudo, na área continental, mais precisamente em Santarém-Pará, era feita regularmente, ocorrendo em dias alternados. A coleta experimental condizente a este estudo foi realizada mensalmente, em geral, no final de cada mês. Compreendeu de junho a dezembro de 2017.

Do momento da coleta

Como o interesse do trabalho eram os camarões parasitados, fazia-se uma busca exaustiva de todos os indivíduos com presença de infestação em um covão, nessa área havia dois covões submersos nas águas do Amazonas, ambos de posse dos pescadores. Os camarões parasitados foram acondicionados em sacos individuais para evitar qualquer risco de perda do parasita. Também foi coletado uma subamostragem aleatória de 500 g de camarões, destes foram separados de forma aleatória 100 exemplares para algumas análises morfométricas.

Análises Morfológicas

Parasita

Foi observado onde o parasita estava instalado: na câmara branquial infestada (direita ou esquerda) ou outra parte do corpo. O parasita foi retirado do seu hospedeiro e conservado em microtubos com etanol. O comprimento total do parasita fêmea foi medido sob uma lupa com ocular milimetrada. Foi realizada também a observação da presença de ovos (Adaptado de Masunari et al., 2000).

Hospedeiro

As medidas do comprimento do cefalotórax, carapaça, abdômen e telson foram determinadas com uso de paquímetro digital (precisão 0,01 mm), a soma dessas medidas corresponde ao comprimento total do animal. O sexo foi determinado com o uso de uma lupa, com verificação da presença do apêndice masculino ou não, além disso foi realizada a pesagem de cada exemplar por meio de uma balança digital (precisão 0,2 gramas), sendo retirado o excesso de umidade de cada um dos indivíduos com papel absorvente antes de ser colocado na balança.

Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa R v.3.5 (R Core Team, 2018).

Análises Moleculares

Extração de DNA e Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Após a triagem morfológica do material coletado, parte dele foi utilizado na obtenção do DNA genômico total, que foi obtido do tecido muscular abdominal, no caso dos camarões. Também foi extraído o DNA dos machos do parasita *Probopyrus sp* usando o Kit Qiagen - QIAamp DNA Investigator Kit (50), de acordo com as instruções do fabricante. Os critérios para obtenção dos dados moleculares foram:

- Escolha aleatória de 20 camarões parasitados e 6 não parasitados;
- 10 parasitas da área de estudo;
- 28 camarões parasitados coletados na região costeira do Pará (Augusto Corrêa, Abaetetuba, Breves e Afuá) e 20 não parasitados de Abaetetuba.

A partir do DNA extraído, foram isolados e amplificados, através de reação em cadeia da polimerase (PCR) com os *primers* A e F (Palumbi e Benzie, 1991) para o hospedeiro e com os *primers* HCO2198 e LCO1490 (Folmer et al., 1994) para parasitas, ambos os primers amplificam regiões diferentes do gene da Citocromo Oxidase C subunidade I (COI).

A tentativa da identificação a nível molecular do parasita foi realizada com o gene rDNA 18S com *primers* de Wowor et al., (2009). Mesmo tratando-se de uma região altamente conservada, esse gene é o que conta com maior representatividade dentro da família Bopyridae no Genbank. Por essa razão foram incluídas neste procedimento algumas amostras de parasitas escolhidas aleatoriamente de todas as localidades amostradas.

Como critério de avaliação da qualidade do DNA extraído e do produto amplificado após obtenção da PCR, foi realizada eletroforese em gel de agarose 1% com aplicação do GelRed para corar o DNA. De todo o material, as bandas foram visualizadas e aquelas com melhor resolução foram sequenciadas a fim de se obter as sequências específicas de cada indivíduo coletado.

Reação de PCR para o sequenciamento

A reação de sequenciamento dessas amostras foi realizada no sequenciador automático ABI 3500 (Applied Biosystems) usando o kit Big Dye 3.1 (Applied Biosystems) seguindo as instruções do fabricante. As reações de sequenciamento foram realizadas em ambas as direções com os mesmos *primers* utilizados nas reações de PCR.

Análises das sequências

As sequências então obtidas foram alinhadas no programa CodonCode Aligner v7.1.2 (CodonCode Corporation) para visualização e edição, quando necessário. Foram alinhados três bancos, um para o hospedeiro e dois para o parasita (COI e 18S).

A partir dos três bancos de dados o número de haplótipos (sequências únicas) foi obtido no programa DNAsp v5.10.1 (Librado e Rozas, 2009). Para o banco do hospedeiro foi construída uma rede de haplótipos no programa PopART (Leigh e

Bryant, 2015) pelo método de Median Joining Networks (Bandelt *et al.*, 1999). Para o banco dos parasitas foi construída uma árvore de agrupamento de vizinhos no programa MEGA v7.0 (Kumar *et al.*, 2016). Ainda no MEGA também foram obtidos os valores de distância genética média (distância p) entre as populações analisadas. O banco de 18S foi submetido à pesquisa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (MegaBLAST) e os retornos obtidos foram considerados válidos com índice de similaridade igual ou superior a 98% e de maiores scores e *e-value* próximo ou igual a zero.

2.3 RESULTADOS

Estrutura da população de Santarém

Em Santarém foram analisados 761 camarões ao longo dos sete meses, destes, 385 fêmeas, 315 machos e 61 estavam infestados por parasitas. Camarões parasitados foram coletados em todos os meses de coleta: dez em junho, julho, setembro, outubro e novembro; quatro em agosto e sete exemplares em dezembro.

As fêmeas apresentaram um comprimento total médio ($63,35 \pm 11,05$ mm) superior ao observado nos machos ($56,96 \pm 9,53$ mm), já os camarões parasitados (sexos agrupados) apresentaram um comprimento total médio de $50,23 \pm 3,84$ mm (Figura 6).

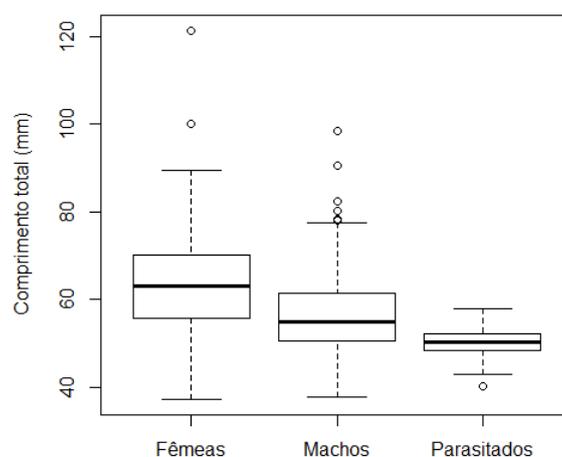


Figura 6. Comprimento médio, máximo e mínimo de fêmeas, machos e camarões parasitados (sexos agrupados) coletados entre junho e dezembro de 2017 na área de várzea de Pixuna do Tapará (Santarém-Pará)

Os parasitas foram encontrados na sua grande maioria nas fêmeas (54) e em número menor nos machos (7). Dos 61 parasitas coletados em Santarém, 42 (68,85%) carregavam ovos em seu marsupium e distribuíram-se em praticamente todos os meses de coleta, fêmeas só não foram encontradas incubando ovos no mês de agosto (Figura 7).

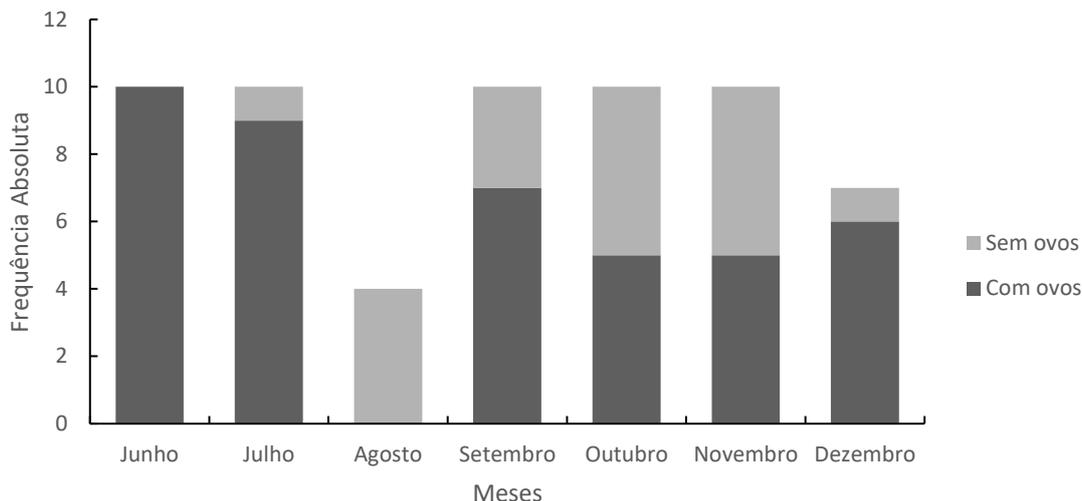


Figura 7. Distribuição do número de fêmeas (isópodas) parasitas com e sem ovos coletadas entre junho e dezembro de 2017 na área de várzea de Pixuna do Tapará (Santarém-Pará).

Estrutura das populações costeiras

Na área costeira da Amazônia (cujo o foco da amostragem concentrou-se principalmente em camarões parasitados), nas regiões do estado do Pará: Abaetetuba, Afuá, Augusto Corrêa e Breves, analisou-se 121 camarões, destes exemplares, 101 eram camarões parasitados. A figura 8 apresenta a variação do comprimento total dos camarões parasitados de acordo com os locais de coleta. Na área costeira, camarões não parasitados foram coletados apenas em Abaetetuba, nessa localidade o comprimento total médio dos camarões não parasitados (sexos agrupados) foi de $70,13 \pm 5,71$ mm e significativamente maior aos camarões parasitados ($61,42 \pm 8,72$ mm) coletados na mesma localidade ($U=135$, $p<0,01$) (Figura 9). De todas as localidades da costa amazônica amostradas neste estudo, apenas em Augusto Corrêa foi encontrado um macho entre os camarões parasitados.

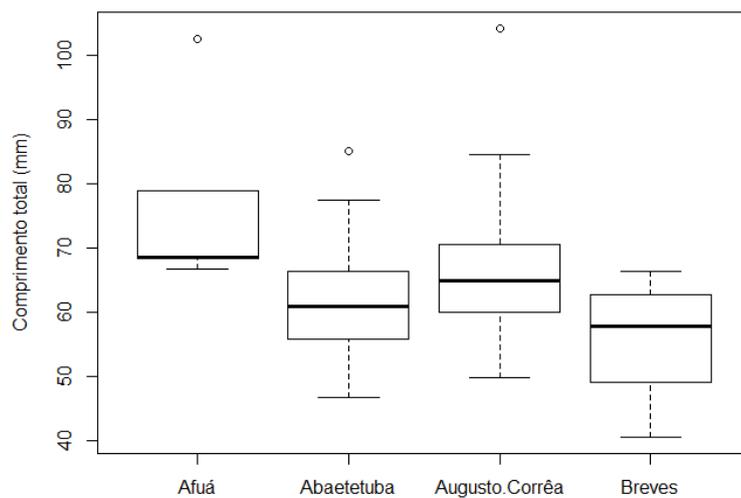


Figura 8. Variação do comprimento total de camarões parasitados coletados nos municípios de Afuá, Abaetetuba, Augusto Corrêa e Breves, todos localizados no Estado do Pará.

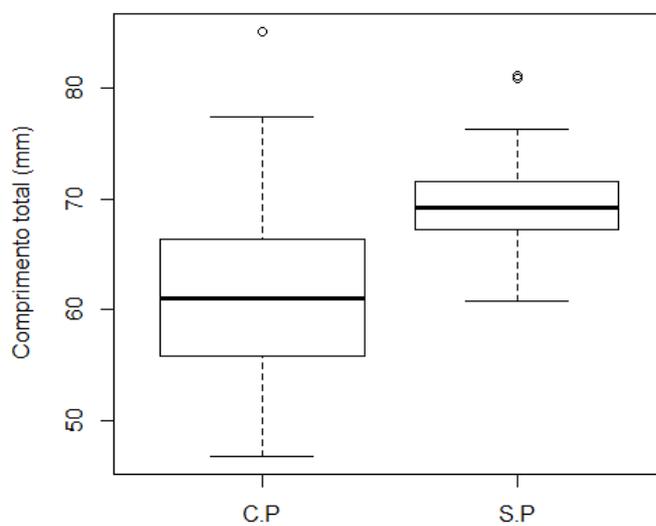


Figura 9. Variação do comprimento total de camarões parasitados (C.P) e sem parasitas (S.P) coletados no município de Abaetetuba.

Análises dos parasitas

Não houve preferência parasitária para a câmara branquial esquerda ou direita relacionando toda a amostragem de camarões parasitados (direita 83, esquerda 79).

Análises Moleculares

Foi obtido um alinhamento para o gene 18S com 975 pares de bases (pb) de 10 indivíduos (quatro de Santarém, dois de Abaetetuba, dois de Augusto Corrêa, um de Afuá e mais um de Breves). Todas essas sequências foram 100% idênticas. A pesquisa BLAST demonstrou que o parasita encontrado em ambas as regiões, costeira e continental, pertence ao gênero *Probopyrus* (Tabela 1).

Tabela 1. Resultado da pesquisa Blast para o alinhamento de 18S.

| PESQUISA BLAST 18S | | | | | | |
|--|---------------------|--------------|----------------|-------------------|----------------|----------------------------|
| Espécie sugerida | ID sequencia | Score | E-value | Identities | Gaps | Referência |
| <i>Probopyrus pacificiensis</i> | AF255683 | 1786 | 0.0 | 973/976 (99%) | 1/976 (0%) | Dreyer e Wägele (2001) |
| <i>Probopyrus pandalicola</i> | EU848422 | 1696 | 0.0 | 965/985 (98%) | 13/985 (1%) | Cho (2012) |
| <i>Probopyrus buitendijki</i> | KF765767 | 1681 | 0.0 | 961/984 (98%) | 9/984 (0%) | Boyko <i>et al.</i> (2013) |

Análise da COI

Foi obtido para o gene COI, um banco de dados com 28 sequências dos parasitas de todas as localidades, alinhadas com 608 pares de base (pb). A quantidade de sequência separada por localidade foi: Santarém (8), Abaetetuba (4), Afuá (2), Augusto Corrêa (10) e Breves (4). Estas sequências foram agrupadas e identificadas em vinte haplótipos, considerando todas as populações analisadas, os haplótipos de 1 – 5 correspondem indivíduos de

Santarém, os haplótipos de 6 – 20 correspondem à amostragem de todas as localidades costeiras.

A análise desse banco de dados mostrou a separação das sequências em dois grupos: um grupo incluindo todas as amostras de Santarém e o outro grupo incluindo as demais localidades (Figura 10).

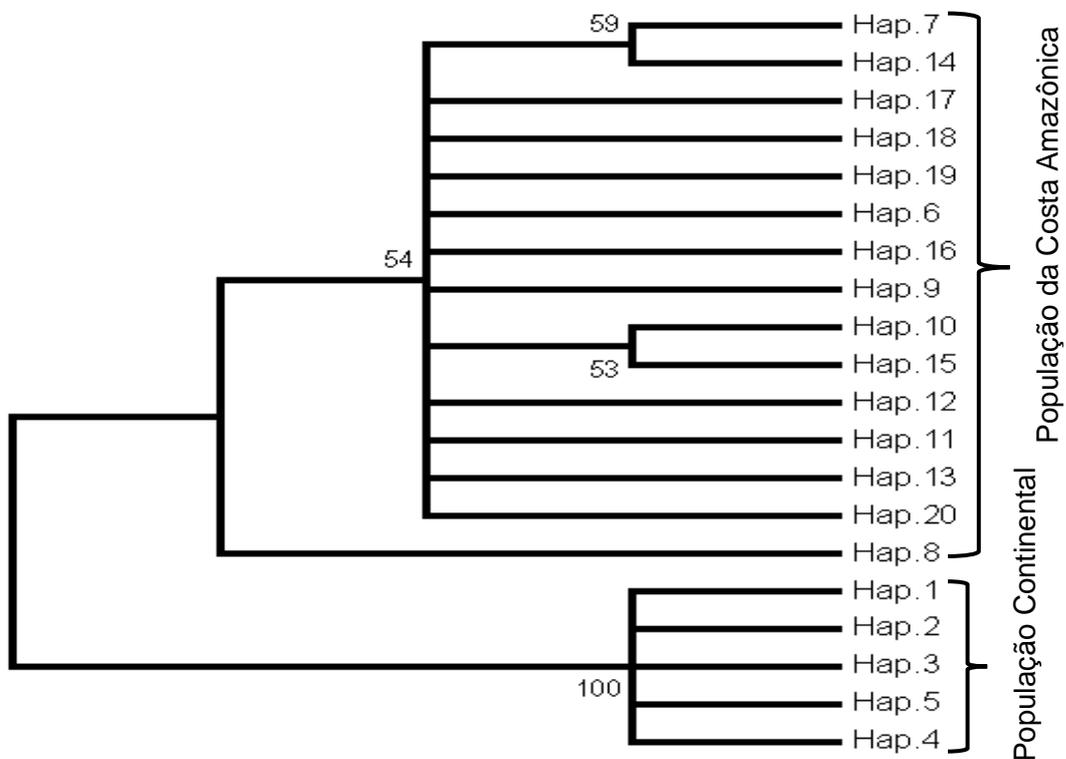


Figura 10. Árvore de agrupamento de vizinhos mostrando o relacionamento entre os haplótipos de 1 a 20 de amostras de parasitas do gene da COI. Os valores acima e abaixo dos cladogramas representam a significância dos agrupamentos através de *bootstrap*. Significância inferior a 50 não são apresentadas.

Este resultado foi corroborado pela análise de distância genética, a distância genética mostrou que as sequências de Santarém são em torno de 16% diferentes das demais localidades (Tabela 2). Comparando os hospedeiros, também nas diferentes localidades, vemos uma diminuição na distância genética, isto é, a diferenciação entre os camarões dessas áreas é menor, pois as sequências de Santarém são aproximadamente 3% diferentes das outras áreas (Tabela 3).

Tabela 2. Cálculo da distância genética média, distância p (em %) para parasitas do gene COI. Valores entre parênteses evidenciam a variação intraespecífica, entre os indivíduos da mesma localidade.

| | Santarém | Afuá | Abaetetuba | Breves | Augusto Corrêa |
|----------------|----------|-------|------------|--------|----------------|
| Santarém | (0,2) | | | | |
| Afuá | 16,2 | (0,5) | | | |
| Abaetetuba | 16,1 | 0,7 | (1,0) | | |
| Breves | 16,1 | 0,4 | 0,7 | (0,4) | |
| Augusto Corrêa | 16,2 | 0,5 | 0,8 | 0,6 | (0,6) |

Tabela 3. Cálculo da distância genética média, distância (em %) p para hospedeiros (camarões) do gene COI. Valores entre parênteses evidenciam a variação intraespecífica, entre os indivíduos da mesma localidade.

| | Santarém | Breves | Abaetetuba | Afuá | Augusto Corrêa |
|----------------|----------|--------|------------|-------|----------------|
| Santarém | (0,1) | | | | |
| Breves | 3,2 | (0,3) | | | |
| Abaetetuba | 3,3 | 0,2 | (0,2) | | |
| Afuá | 3,2 | 0,1 | 0,1 | (0,0) | |
| Augusto Corrêa | 3,1 | 0,3 | 0,3 | 0,2 | (0,3) |

Este resultado, então, sugere que a existência de duas espécies de parasita, uma espécie que ocorre e infesta populações costeiras e outra espécie que está parasitando a população continental (Santarém). Este dado elimina a hipótese de que o parasita da área continental é fruto de introdução. As análises dos hospedeiros reforçam tal resultado já que há uma separação entre população continental e costeira evidenciada na rede de haplótipos, onde os haplótipos de 1 – 4 comportam os camarões de Santarém e os haplótipos de 5 – 10 reúnem exemplares das áreas costeiras (Figura 11).

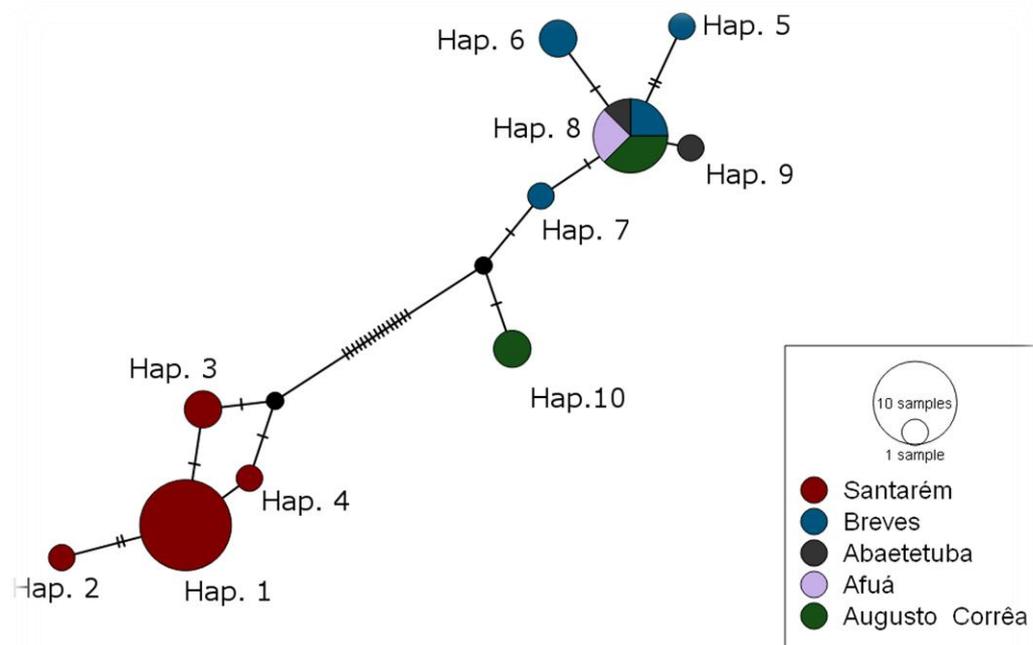


Figura 11. Rede de haplótipos feita com base nas sequências geradas de COI de camarões, evidenciando a formação de 2 grupos: amostras continentais (Santarém) e amostras costeiras (Breves, Abaetetuba, Afuá e Augusto Corrêa).

2.4 DISCUSSÃO

O presente trabalho reporta pela primeira vez a infestação de uma população continental de *Macrobrachium amazonicum* por um parasita do gênero *Probopyrus*. Além disto, as análises moleculares mostraram que as populações costeiras e continental de *M. amazonicum* são parasitadas por espécies diferentes de parasita.

Parasitas do gênero *Probopyrus* têm uma relação bem estabelecida, afetando diversos representantes da família Palaemonidae, principalmente, do gênero *Macrobrachium* (Markham, 1985; Saito et al., 2010). Para *M. amazonicum* os registros de infestação por *Probopyrus bithynis* eram restritos a costa Amazônica em regiões próximas a hidroelétrica de Tucuruí no rio Tocantins (distante cerca de 300 km do Oceano Atlântico) (Odinetz-Collart, 1988, 1990). Recentemente, Leite et al., (2017) também relataram a infestação de *P. bithynis* em camarões coletados na comunidade de Igarapé Novo, município de Itaubal, Amapá (outra região da costa Amazônica).

De acordo com Corrêa et al., (2018) o parasitismo de *P. bithynis* em *M. amazonicum* leva a uma resposta inflamatória crônica nas brânquias do camarão e tais alterações podem levar a mudanças fisiológicas que podem prejudicar seu desempenho respiratório. Esse pode ser o motivo dos camarões parasitados coletados tanto na região continental (Santarém) quanto costeira (Abaetetuba) da Amazônia serem significativamente menores do que os camarões não parasitados coletados nas mesmas localidades. Lester (2005) afirma que o parasitismo reduz a capacidade dos organismos em obter os nutrientes necessários para o desenvolvimento ideal, isto é, o organismo parasitário pode causar uma diminuição no crescimento do hospedeiro.

No presente trabalho, a presença do parasita foi significativamente maior em camarões fêmeas do que em machos (162 fêmeas e 8 machos), considerando todas as localidades amostrais. Além disto, nenhuma das fêmeas parasitadas foi encontrada incubando ovos. Isso é comparável ao mencionado por Vargas-Ceballos et al., (2016). Uma possível causa disso é porque os isópodos são parasitas castradores (inibindo o desenvolvimento gonadal) como observado anteriormente por alguns autores como: O'Brien & Van Wyk (1985) e Conner & Bauer (2010). Este último relata em seu estudo que o parasita *Probopyrus pandalicola* interrompe a maturação gonadal e a desova em fêmeas de *Macrobrachium ohione*, sua investigação é voltada à aparente infecção parasitária de camarões adultos. Masunari et al., (2000), ao avaliar a estrutura de *P. floridensis* parasitando *M. potiuna* encontraram apenas dois camarões ovígeros entre os 590 indivíduos amostrados. Portanto, a baixa fertilidade de *Macrobrachium potiuna* provavelmente estava relacionada à alta incidência de *P. oridensis*.

Os epicarídeos provocam modificações notáveis nos hospedeiros parasitados. Podem originar a castração das gônadas com a consequente alteração das características sexuais secundárias. Vários trabalhos já descreveram que os parasitas que habitam a câmara branquial do hospedeiro afetam negativamente seu sucesso reprodutivo (Murillo, 2016). Porém, esses parasitas não matam seus hospedeiros como uma exigência para o desenvolvimento, mas dependem deles para nutrição e como hábitat (Anderson e May, 1978). O parasita também interfere nas habilidades de alimentação do hospedeiro. A energia e os nutrientes que o hospedeiro, geralmente, direciona para a reprodução e crescimento são aparentemente desviados para o crescimento e reprodução do parasita (Conner e Bauer, 2010).

Com relação ao parasita, como discutimos infestações por *P. bithynis* já foram relatadas na região costeira (Odinetz-Collart, 1988; 1990; Leite et al., 2017). Odinetz-Collart (1988) observou camarões parasitados apenas a jusante da hidrelétrica de Tucuruí e nenhum parasita no lago da represa, da mesma forma a mesma autora afirma que nenhum camarão parasitado foi coletado na região de Manaus (Amazônia Central) ou no rio Ucayali no Peru (Odinetz-Collart, 1990). Ainda segundo Odinetz-Collart, (1990) os parasitas bopirídeos são limitados pelo copépodo de água salobra que serve como hospedeiro intermediário. Entretanto, os resultados do presente estudo mostram que a história evolutiva da relação entre o parasita *Probopyrus* e seu hospedeiro definitivo na região (o *M. amazonicum*), possivelmente, têm outros atores envolvidos. As análises moleculares a partir das sequências de COI mostraram a clara separação dos parasitas coletados em Santarém dos obtidos na região costeira (Afuá, Abaetetuba, Augusto Corrêa e Breves) (figura 08). Soma-se a isto os elevados valores de distância genética média (16,2%) obtidos quando comparadas as sequências de COI de Santarém com todas as demais, o que sugere que temos duas espécies diferentes parasitando *M. amazonicum*. Apesar de relativamente elevados, esses valores são tratados em nível interespecífico já que as comparações com o rDNA 18S (uma região com uma taxa de mutação muitíssimo menor) mostraram que todas as sequências obtidas para este gene são idênticas independentemente do local amostrado (se continental ou costeiro da Amazônia).

A hipótese inicial do presente estudo para explicar a ocorrência de camarões parasitados na região continental da Amazônia (Santarém) era de que ou o parasita, ou o hospedeiro ou ambos foram introduzidos na região através de água de lastro. Dessa forma, as análises moleculares foram empregadas com o objetivo de avaliar tais hipóteses. As sequências dos camarões parasitados e não parasitados mostraram-se muito similares dentro dos respectivos locais amostrados (figura 09). Considerando tais locais, foi possível separá-los em dois grupos: continental (Santarém) e costeiro (Abaetetuba, Augusto Corrêa, Afuá e Breves). Tais grupos já foram observados anteriormente por Bastos (2002) e Vergamini et al., (2011) e da mesma forma que estes autores, também verificamos que não há fluxo gênico entre essas populações. Portanto, nenhum camarão foi introduzido em Santarém.

Poucos estudos moleculares já foram realizados com parasitas da família Bopyridae, há apenas os trabalhos de Dreyer e Wägele (2001) e Boyko et al., (2013) que utilizaram o rDNA 18S para avaliar, respectivamente, as relações filogenéticas da família Bopyridae e das superfamílias Bopyroidea e Cryptoniscoidea. Para o gênero *Probopyrus* temos apenas as sequências rDNA 18S de *P. pacifiensis* (Dreyer e Wägele, 2001), de *P. buitendijki* (Boyko et al., 2013) e de *P. pandalicola* (Cho, 2012) depositadas no *Genbank*. As sequências de rDNA 18S obtidas no presente estudo mostraram que para este marcador todos os indivíduos analisados são idênticos. Este resultado tem implicações relevantes na taxonomia de *Probopyrus*.

Markham (1985) comenta que baseado apenas no estudo de parasitas adultos, *P. bithynis* é na verdade sinonímia de *Probopyrus pandalicola*. Mesmo com a descrição das fases larvais realizada por Dale e Anderson (1982) apontar diferenças entre as duas espécies. Sobre o trabalho de Dale e Anderson (1982), Markham (1985) comenta “Se elas são distinguíveis apenas quando larvas, contudo, a separação em diferentes espécies (ou subespécies ou o que for) permanece impossível ou de pouco valor prático para qualquer um trabalhando apenas com adultos”. Por outro lado, Roman-Contreras (1993) finaliza seu trabalho concordando com Dale e Anderson (1982), ao considerar *P. bithynis* uma espécie válida. Mas, de acordo com o banco de dados mundial de crustáceos isopodas marinhos, de água doce e terrestres *P. bithynis* ainda é

considerado sinonímia de *P. pandalicola* (Boyko et al., 2008). Analisando desta forma, as infestações de *P. bithynis* já registradas para as populações costeiras de *M. amazonicum* (Odinetz-Collart, 1988; 1990; Leite et al., 2017) são na verdade de *P. pandalicola*. Entretanto, a pesquisa Blast realizada no presente estudo com sequências de rDNA 18S mostrou que existem 20 diferenças (13 destas são eventos de inserção/deleção, os *indels*) entre os parasitas coletados na região e a sequência de *P. pandalicola* depositada no Genbank. Assim, ou a sequência depositada foi erroneamente identificada como *P. pandalicola* ou tal sinonímia entre as duas espécies precisa ser revista.

Mas, o cenário é ainda mais complexo, já que a pesquisa Blast também mostrou que os parasitas da região têm sequências muito próximas a de *P. pacificensis* (apenas três diferenças com um indel). Portanto, um dos parasitas que ocorre na região pode ser *P. pacificensis*. Entretanto, mesmo Odinetz-Collart (1988; 1990) e Leite et al. (2017) não tendo comentado como realizaram a identificação de *P. bithynis*, se considerarmos essas identificações corretas, isto pode sugerir que *P. bithynis* e *P. pacificensis* são, na verdade, a mesma espécie. Neste caso, seguindo as regras de nomenclatura zoológica, *P. bithynis* se tornaria o nome válido e *P. pacificensis* uma sinonímia, já que a primeira foi descrita primeiro por Richardson 1904 e a segunda descrita por Román-Contreras 1993.

Para COI, as sequências obtidas pelo presente estudos são as primeiras relacionadas ao gênero *Probopyrus*. Os 20 haplótipos observados para COI separam-se claramente em dois grupos (figura 08) divergentes em até 16,2% (ver tabela 05) sugerindo que há duas espécies diferentes, uma infestando a população continental (Santarém) e outra infestando as populações costeiras (Afuá, Abaetetuba, Breves e Augusto Corrêa) de *M. amazonicum*. Outros representantes da família Bopyridae que já foram sequenciados para COI são: *Bopyroides hippolytes* (Costa et al., 2007), *Orthione griffenis* (Hong et al., 2015) e *Athelges paguri* (Raupach et al., 2015). Recentemente, *Gyge ovalis* teve seu genoma mitocondrial apresentado por Yu et al., (2018).

2.5 CONCLUSÃO

Conforme os resultados gerados, pode-se dizer que o parasita coletado em Santarém-Pará não foi introduzido já que não é da mesma espécie de parasita das áreas da costa amazônica, ou seja, o *Probopyrus sp.* de Santarém é uma espécie endêmica da região. Além disso, confirmou-se mais uma vez que não há fluxo gênico entre as populações continentais e costeiras de *Macrobrachium amazonicum*, o que reforça o endemismo do parasita da região continental.

Merece destaque o fato da grande maioria das referências existentes a respeito da espécie *M. amazonicum* infestada por *Probopyrus* estudada, ser de ambientes costeiros. Com isso, este é um incentivo para mais pesquisas serem realizadas nas águas continentais da área de ocorrência da espécie, o que enriquecerá a compreensão sobre a biologia de *M. amazonicum* parasitado e quais os efeitos deste parasitismo na população de camarão.

Este trabalho é o pioneiro realizado em área Interior com enfoque no parasitismo, relacionando os aspectos da estrutura populacional do *M. amazonicum*, essencial para a compreensão da história de vida e do comportamento da espécie no local de sua ocorrência. Com isso, este estudo se torna uma referência para outros que surgirão a respeito desta interação entre a espécie *M. amazonicum* e *Probopyrus sp.*, subsidiando aspectos comparativos com outros locais. Além disto, os dados moleculares analisados no presente estudo apontam a necessidade de uma revisão morfológica dentro de *Probopyrus* bem como uma ampliação dos estudos moleculares aumentando, talvez, o número de espécies do gênero sequenciadas para COI.

2.6 BIBLIOGRAFIA CITADA

Agostinho, A.A., Thomaz, S.M. & Gomes, L.C. 2005. Conservação da biodiversidade em águas continentais do Brasil. *Megadiversidade* 1(1): 70-78.

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.

Ayala, F. J.; Wetterer, J. K.; Longino, J. T.; Hartl, D. 1996. L.Molecular phylogeny of Azteca ants (Hymenoptera, Formicidae) and the colonization of Cecropia trees. *Molecular Phylogenetics Evolution*, v. 5, p. 423-428.

Bandelt, H-J; Forster, P, Röhl, A.1990. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol Biol Evol* 16:37-48.

Bastos, S. N. 2002. Caracterização molecular e biologia reprodutiva de *Macrobrachium amazonicum* (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). Dissertação de Mestrado. Bragança, Universidade Federal do Pará, 71 p.

Baker, N.; DE Bruyn M.; Mather, P. B. 2008. Patterns of molecular diversity in wild stocks of the redclaw crayfish (*Cherax quadricarinatus*) from northern Australia and Papua New Guinea: impacts of Plio-Pleistocene landscape evolution. *Freshwater Biology*, v. 53, p. 1592- 1605.

Beasley, C.R.; Tagliaro, C.H.; Figueiredo, W.B. 2003. The occurrence of the Asian clam *Corbicula fluminea* in the Lower Amazon Basin. *Acta Amazonica*, 33(2): 317-324.

Boyko, C.B; Bruce, N.L.; Hadfield, K.A.; Merrin, K.L.; Ota, Y.; Poore, G.C.B.; Taiti, S.; Schotte, M. & Wilson, G.D.F. (Eds) (2008 onwards). World Marine, Freshwater and Terrestrial Isopod Crustaceans database. *Gyge ovalis* (Shiino, 1939). Accessed through: World Register of Marine Species at: <http://marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=255243> on 2018-05-12

Boyko, C. B.; Moss, J.; Williams, J & Shields, J.D. 2013. A molecular phylogeny of Bopyroidea and Cryptoniscoidea (Crustacea: Isopoda). Publisher: Taylor & Francis Systematics and Biodiversity, 11(4): 495–506

Castro E Silva, S. M. M.; Cavalcante, P. P. L. Perfil do setor lagosteiro Nacional. Brasília: IBAMA, 1994. 80p. Coleção Meio Ambiente (Série Estudos Pesca,12.).

Cho, S.-M. 2012. Development of a Denaturing High-Performance Liquid Chromatography (DHPLC) Assay to Detect Parasite Infection in Grass Shrimp *Palaemonetes pugio*. *Fisheries and Aquatic Science*. 15(2), 107-115.

Conner, S. L.; Bauer, R. T. 2010. Infection of adult migratory river shrimps, *Macrobrachium ohione*, by the branchial bopyrid isopod *Probopyrus pandalicola*. USA. *Invertebrate Biology* 129(4): 344–352.

Corrêa, L.L.; Sousa, E. M. O.; Silva, L.V.F.; Adriano, A.E.; Oliveira, M.S.B.; Tavares-Dias, M. 2018. Histopathological alterations in the gills of *Macrobrachium amazonicum* (Palaemonidae), a freshwater shrimp parasitized by *Probopyrus bithynis* (Bopyridae) in the Amazon River, Brazil. Trabalho aceito para publicação.

Costa F. O., DeWaard J. R., Boutillier J., Ratnasingham S., Dooh R. T., Hajibabaei M. and Hebert, P. D. N. 2007. Biological identifications through DNA barcodes: the case of the Crustacea. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 64: 272–295.

Dale W.E. E Anderson G. 1982. Comparison of morphologies of *Probopyrus bithynis*, *P. floridensis*, and *P. pandalicola* larvae reared in culture (Isopoda, Epicaridea). *J. Crustac. Biol.* 2: 392–409.

Dobler, S.; Muller, K. Resolving phylogeny at the family level by mitochondrial cytochrome oxidase sequence: phylogeny of carrion beetles (Coleoptera, Silphidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 15, p. 309-402, 2000.

Dreyer H y Wngle JW, 2001. Parasites of crustaceans (Isopoda: Bopyridae) evolved from fish parasites: molecular and morphological evidence. *Zoology* 103: 157-178.

Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., and Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3(5): 294-299 Hayd, L. & Anger, K. 2013. Reproductive and morphometric traits of *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda, Palaemonidae) from the Pantanal, Brazil, suggests initial speciation. *Revista de Biologia Tropical*, 61(1), 39-57.

Hayd, L. & Anger, K. 2013. Reproductive and morphometric traits of *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda, Palaemonidae) from the Pantanal, Brazil, suggests initial speciation. *Revista de Biologia Tropical*, 61(1), 39-57

Holthuis, L. B. 1952. A general revision of the Palaemonidae (Crustacea, Decapoda, Natantia) of the Americas. II. The subfamily Palaemoninae. Occasional Paper of the Allan Hancock Foundation, Los Angeles, v. 12, p.1-369.

Hong, J.-S.; Lee, C. 1, and Min, G. 2015. Occurrence of orthione griffenis markham, 2004 (isopoda: bopyridae), parasite of the mud shrimp upogebia major (de haan, 1841) in south korean waters, and its implications with respect to marine bioinvasion. *Journal of Crustacean Biology*, 35(5), 605-615.

Isaac, V.J. & Barthem, R.B. 1995. Os Recursos pesqueiros da Amazônia brasileira. Belém, PR-MCT/CNPq/Museu Paraense Emílio Goeldi.

Jithendran, K.P., Natarajan, M. and Azad, I.S. 2008. Crustacean parasites and their management in brackishwater finfish culture. *Marine Finfish Aquaculture Network. Aquaculture Asia Magazine* 47-50.

- Junk, W.J.; Mello, N. 1987. Impactos ecológicos das represas hidroelétricas na Bacia Amazônica brasileira. *Tumb Geographic Stud.* v.95, p. 375-87.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K. 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol.*33:1870 –1874.
- Liu SQ, Wen L, Xia M, Jiang N (2008). Determination of the active ingredient produced in the artificial cultivated *Cordyceps sobolifera*. *J. Anhui Agric. Sci.*, 36:429, 467.
- Leite, W. S.; Oliveira, M. S. B.; Brasiliense, A. R. P.; Ferreira, D. O.; Tavares-Dias, M. *Probopyrus bithynis* (Crustacea: Probopyridae) in *Macrobrachium amazonicum* (Crustacea: Palaemonidae) from the lower Amazon River (Brazil). In: XXV Congresso Brasileiro de Parasitologia, 2017, Buzius, RJ. XXV Congresso Brasileiro de Parasitologia. Buzius, RJ: Sociedade Brasileira de Parasitologia, 2017.
- Leigh J, Bryant D. (2015) POPART: full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution* 6: 1110–6. doi: 10.1111/2041-210X.12410.
- Lester, R.J.G. 2005. Crustacean parasites. Pp. 138-144. In: Klause Rodhe, (ed.) *Marine Parasitology*, CSIRO Publishing, Australia, 559p.
- Librado, P. and Rozas, J. (2009). DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25: 1451-1452.
- LIU, M. Y.; CAI, Y. X.; TZENG, C. S. 2007. Molecular systematics of the freshwater prawn genus *Macrobrachium* Bate, 1868 (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) inferred from mtDNA sequences, with emphasis on East Asian species. *Zoological Studies*, v. 46, p. 272-289.
- Maciel CR, Valenti WC. 2009. Biology, Fisheries, and Aquaculture of the Amazon River Prawn *Macrobrachium amazonicum*: A Review. *Nauplius*17: 61-79.
- Magalhães, C. 1999. Família Trichodactylidae (caranguejos braquiúros da água doce), p. 486-490. In: L. BUCKUP & G. BONDBUCKUP (Ed.). *Os Crustáceos do Rio Grande do Sul*. Porto Alegre, UFRGS, VI+496p.
- Magalhães C. 2000. Diversity and abundance of decapod crustaceans in the Rio Negro Basin, Pantanal, Mato Grosso do Sul, Brazil. Pp. 56-62 in: Willink P, Chernoff B, Alonso LE, Montambault J, Lourival R, eds, *A Biological Assessment of the Aquatic Ecosystems of the Pantanal, Mato Grosso do Sul, Brazil*. Washington DC: Conservation International.
- Markham, J.C. 1985. A review of the bopyrid isopods infesting shrimps in the northwestern Atlantic Ocean, with special reference to those collected during the Hourglass Cruises in the Gulf of Mexico. *Memoirs of the Hourglass Cruises*, 7(3): 1-156.
- Masunari, S.; Castagini, A.S.; Oliveira, E. 2000. The population structure of *Probopyrus floridensis* (isopoda, bopyridae), a parasite of *Macrobrachium*

potiuna (decapoda, palaemonidae) from the perequê river, Paranaguá basin, southern brazil. Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Paraná, Crustaceana 73 (9): 1095-110 8.

Melo, G.A.S. 2003. Família Palaemonidae. In MELO, GAS. (ed.) Manual de identificação dos Crustacea Decapoda de água doce do Brasil. São Paulo: Loyola, p. 317-398.

Meyer, D.; Amorin, D. S. 1997. Análises filogenéticas de sequências de DNA. Elementos básicos de sitemática filogenética. Ribeirão Preto: Holos e Sociedade Brasileira de Entomologia, p. 187-212.

Moraes-Valenti, P.M.C. & Valenti, W.C. 2010. Culture of the Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum*. In: M.B. New, W.C. Valenti, J.H. Tidwell, L.R.D. Abramo & M.N. Kutty (eds.). Freshwater prawns biology and farming. Wiley-Blackwell, Oxford, pp. 485-501.

Murillo, J. M. S. 2016. Sobre el parasitismo de isópodos en langostinos. Revista del colégio oficial de veterinarios de Badajoz.

Nelson, D. L.; COX, M. M. Lehninger: principios de bioquímica. 4ª ed. São Paulo: Sarvier, p. 1202, 2006.

O'Brien, J. Y. Van Wyk, P. 1985. Effects of crustacean parasitic castrators (epicaridean, isopods and rhizocephalan barnacles) on growth of crustacean hosts. Pp. 191-218. En: Factors in Adult Growth (Crustacean Issues 3; AM Wenner, Editor). Balkema, Rotterdam.

Odinetz-Collart, O. 1988. Aspectos ecológicos do camarão *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) no Baixo Tocantins (PA-Brasil). Memoria Sociedad de Ciencias Naturales La Salle, 48(Supl.):341-353.

Odinetz-Collart, O. 1990. Interactions entre le parasite *Probopyrus bithynis* (Isopoda, Bopyridae) et l'un de ses hôtes, la crevette *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda, Palaemonidae). Crustaceana, 58(3):258-269.

Odinetz-Collart, O. and Magalhães, C. 1994. Ecological Constraints and Life History Strategies of Palaemonid Prawns in Amazonia. Verhandlungen Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie, 25:2460-2467.

Oliveira, E. and Masunari, S. 1998. Population relationships between the parasite *Aporobopyrus curtatus* (Richardson, 1904) (Isopoda: Bopyridae) and one of its porcelain crab hosts *Petrolisthes armatus* (Gibbes, 1850) (Decapoda: Porcellanidae) from Farol Island, southern Brazil. Journal of Natural History, 32(10-11): 1707-1717

Palumbi, S. R.; Benzie, J. 1991. Large mitochondrial DNA differences between morphologically similar penaeid shrimp. Molecular Marine Biology and Biotechnology, p. 27-34

Pereira, G.; Stefano, H.; Staton J.; Farrell, B. Phylogenetic relationships in some species of the genus *Macrobrachium* based on nucleotide sequences of the mitochondrial gene cytochrome oxidase. 2002. Modern Approaches to the Study of Crustacea, New York, Kluwer Academics/Plenum Publishers, p. 319-322.

Santos, U. M. E Ribeiro, M. N. R. 1988. A hidroquímica do rio solimões – amazonas. Acta amazonica.

Simon, C. et al. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequence and compilation of conserved polymerase chain reaction “primers”. 1994. Annals of the Entomological Society of America, v. 87, p. 651-701.

Short, J. W. A revision of Australian river prawns, *Macrobrachium* (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae). Hydrobiologia, v. 525, p. 1-100, 2004.

Souza Filho, P.W.M. & El-Robrini, M. 1996. Morfologia, processos de sedimentação e litofácies dos ambientes morfosedimentares da Planície Costeira Bragantina - Nordeste do Pará (Brasil). Geonomos 4: 1-16.

R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org>.

Richardson, H. (1904) Contributions to the Natural History of the Isopoda. Proceedings of the United States National Museum 27: 1-89.

Román-Contreras, R. 1993. *Probopyrus pacificensis*, a new parasite species (Isopoda: Bopyridae) of *Macrobrachium tenellum* (Smith, 1871) (Decapoda: Palaemonidae) of the Pacific coast of Mexico. Proceedings of the Biological Society of Washington, 106, 689-697.

Vergamini, F. G.; Pileggi, L.G.; Mantelatto, F. L. 2011. Genetic variability of the Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda, Caridea, Palaemonidae) Contributions to Zoology, 80 (1): 67-83.

Wowor, D.; Muthu, V.; Meier, R.; Balke, M.; Cai, Y. & Ng, P. K. L. 2009. Evolution of life history traits in Asian freshwater prawns of the genus *Macrobrachium* (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) based on multilocus molecular phylogenetic analysis. Molecular Phylogenetics & Evolution 52:340-350.

Yu, J.; An, J.; Li, Y and Boyko, C.B. 2018. The first complete mitochondrial genome of a parasitic isopod supports Epicaridea Latreille, 1825 as a suborder and reveals the less conservative genome of isopods. Springer Science-Business Media B.V., part of Springer Nature.