



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E RECURSOS  
AQUÁTICOS TROPICAIS**

**CAMILA MARIA BARBOSA PEREIRA**

**ASPECTOS MORFOLOGICO E MOLECULAR DE MICROPARASITOS  
EUCARIOTOS EM *Ageneiosus inermis* (LINNAEUS, 1766) (SILURIFORMES:  
AUCHENIPTERIDAE) E *Plagioscion auratus* (CASTELNAU, 1855) (PERCIFORMES:  
SCIAENIDAE) CAPTURADOS NA ILHA DE JUTUBA, PARÁ**

**BELÉM**

**2020**

**CAMILA MARIA BARBOSA PEREIRA**

**ASPECTOS MORFOLOGICO E MOLECULAR DE MICROPARASITOS  
EUCARIOTOS EM *Ageneiosus inermis* (LINNAEUS, 1766) (SILURIFORMES:  
AUCHENIPTERIDAE) E *Plagioscion auratus* (CASTELNAU, 1855) (PERCIFORMES:  
SCIAENIDAE) CAPTURADOS NA ILHA DE JUTUBA, PARÁ**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Aquicultura e Recursos Aquáticos Tropicais, para obtenção do Título de Mestre.

Área de concentração Ecologia Aquática

Orientador: Prof. Dr. Igor Guerreiro Hamoy.

Coorientador: Prof. Dr. Edilson Rodrigues Matos.

**BELÉM**

**2020**

**CAMILA MARIA BARBOSA PEREIRA**

**ASPECTOS MORFOLOGICO E MOLECULAR DE MICROPARASITOS  
EUCARIOTOS EM *Ageneiosus inermis* (LINNAEUS, 1766) (SILURIFORMES:  
AUCHENIPTERIDAE) E *Plagioscion auratus* (CASTELNAU, 1855) (PERCIFORMES:  
SCIAENIDAE) CAPTURADOS NA ILHA DE JUTUBA, PARÁ.**

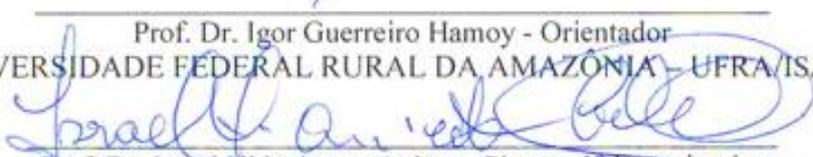
Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Recursos Aquáticos Tropicais (PPG-AqRAT) da Universidade Federal Rural da Amazônia como requisito para a obtenção do Título de Mestre. Área de Concentração: Ecologia Aquática

19.02.2020

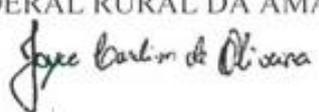
**Data da Aprovação**

**Banca Examinadora:**

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Igor Guerreiro Hamoy - Orientador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA/ISARH

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Israel Hidenburgo Aniceto Cintra - 1º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA/ISARH

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Moacir Cerqueira da Silva - 2º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA/ISPA

  
\_\_\_\_\_  
Dr.ª Joyce Cardim de Oliveira - 3º Examinador  
Eng.ª de Pesca

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus amados pais e meu filho é por eles  
essa conquista!

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por esta oportunidade em minha vida, sem ele eu nada seria.

A Universidade Federal Ruralda Amazônia – UFRA especificamente ao PPGAqRAT, pelo incentivo na realização de pesquisas, ofertando bolsas CAPES para auxílio no desenvolvimento do projeto, como o do presente estudo.

Ao meu orientador e coorientador, Prof. Dr. Igor Hamoy e Prof. Dr. Edilson Matos pela oportunidade e por acreditar no meu trabalho, abrindo as portas do LPCA para que eu pudesse executar cada tarefa necessária à realização dessa pesquisa, e principalmente por todo ensinamento e paciência.

A todos os professores do PPG-AqRAT pelos conhecimentos repassados.

Ao pescador seu Jorge e sua esposa por me ajudarem na coleta desse estudo sendo sempre gentis muito obrigada.

Aos meus queridos pais, Cícera Pereira e Higino Pereira por sempre me apoiar e me incentivar, sou muito grata.

As minhas irmãs Thiciane Pereira, Lana Pereira e Helouise Pereira por me ajudarem nos estudos.

Ao amor da minha vida meu amado filho Lucas Chagas que desde o dia do seu nascimento me motiva a ser cada vez melhor. Hoje sou o que sou por você, te amo meu príncipe.

Ao meu querido Igor Chagas que esteve ao meu lado me incentivando e sempre acreditou no meu potencial.

Aos meus amigos Gleice Pinheiro, Barbara Flávia, Geysel Noronha, Elideth Pacheco, Weverton Jhow. Em especial a minha querida amiga Lorena Brito, por ser confidente, parceira e amiga nos momentos da vida acadêmica e pessoal.

A Joelen Viana pela elaboração do mapa deste estudo.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo (LPCA), Deborah Camilla, Talyta Ferreira, Diehgo Tuloza, Joyce Cardim, José Ledamir (Neto) pelos momentos compartilhados. Agradecimento muito especial para Patrícia Saco (Pati).

A todos que contribuíram direta ou indiretamente meus sinceros agradecimentos. Essa conquista é nossa.

## RESUMO

A bacia amazônica abriga a maior e mais diversa ictiofauna do mundo, sendo o pescado importante fonte de alimento nessa região. Os peixes são os vertebrados que apresentam os maiores índices de infecção por parasitos, devido às peculiaridades do meio aquático facilitar a propagação, reprodução e ciclo de vida desse grupo. A presença de microparasitos pode ocasionar a diminuição da qualidade do pescado, podendo ser transmitida ao homem. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo caracterizar os microparasitos eucariotos nas espécies *Ageneiosus inermis* e *Plagioscion auratus* capturados na Ilha de Jutuba, Belém, Pará. Foram realizadas das espécies com auxílio de tarrafa e rede de emalhar em coletas bimestrais. Os peixes foram transportados vivos para o Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo – UFRA/Belém, anestesiados e necropsiados para análise de microparasitos (CEUA 13/2014). Pequenos fragmentos dos órgãos parasitados foram retirados, fixados e processados para microscopia de Luz (ML) e biologia Molecular (BM) para identificação e foi verificada a prevalência parasitária. A partir das análises foram identificados dois gêneros pertencentes ao filo Cnidaria (Subfilo Myxozoa), um pertencente ao filo Apicomplexa e um ao Filo Microsporídia. Na espécie *A. inermis* observou a presença de *Calyptospora* sp. no fígado com prevalência de 27%, apresentando alterações histopatológicas, *Ellipsomyxa* sp. na vesícula biliar parasitando 65% dos hospedeiros e Myxosporo não identificados na bexiga urinária com 86,7%. Em *P. auratus* foi observado no fígado microsporídeo com prevalência de 30%, apresentando alteração tecidual. O gênero *Kudoa* foi encontrado na musculatura esquelética nas duas espécies de hospedeiro desse estudo, com 40% para *A. inermis* e 35% para *P. auratus*. As infecções apresentadas por esses grupos de microparasitas não haviam ainda sido descritas na literatura para essas espécies. A diversidade de microparasitas encontradas neste estudo, evidencia a importância da intensificação do estudo de ictioparasitos na região amazônica.

**Palavra-chave:** Microsporídeo; Myxozoa; Apicomplexa.

## ABSTRACT

The Amazon basin is home to the largest and most diverse ichthyofauna in the world, with fish being an important source of food in this region. Fish are the vertebrates that have the highest rates of infection by parasites, due to the peculiarities of the aquatic environment to facilitate the propagation, reproduction and life cycle of this group. The presence of microparasites can cause a decrease in the quality of the fish and can be transmitted to humans. In view of this, the present study aimed to characterize eukaryotic microparasites in the species *Ageneiosus inermis* and *Plagioscion auratus* captured in the island of Jutuba, Belém, Pará. They were carried out with the help of a net and gillnet in bimonthly collections. The fish were transported alive to the Carlos Azevedo Research Laboratory - UFRA / Belém, anesthetized and necropsied for analysis of microparasites (CEUA 13/2014). Small fragments of Organs parasitized organs were removed, fixed and processed for Light microscopy (ML) and Molecular biology (BM) for identification and the parasite prevalence was verified. From the analyzes, two genera belonging to the phylum Cnidaria (Subphylum Myxozoa) were identified, one belonging to the phylum Apicomplexa and one to the Phylum Microsporídia. In the species *A. inermis* observed the presence of *Calyptospora* sp. in the liver with a prevalence of 27%, presenting histopathological alterations, *Ellipsomyxa* sp. in the gallbladder parasitizing 65% of the hosts and Myxosporo not identified in the urinary bladder with 86.7%. In *P. auratus*, microsporidium was observed in the liver with a prevalence of 30%, with tissue alteration. The genus *Kudoa* was found in skeletal musculature in the two host species in this study, with 40% for *A. inermis* and 35% for *P. auratus*. The infections presented by these groups of microparasites had not yet been described in the literature for these species. The diversity of microparasites found in this study, highlights the importance of intensifying the study of ichthyosparasites in the Amazon region.

**Key-word:** Microsporidium; Myxozoa; Apicomplexa.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Vista lateral da espécie *A. inermis*, capturado na ilha de Jutuba, Belém, Pará.....17
- Figura 2** – Vista lateral da espécie *P. auratus*, capturado na ilha de Jutuba, Belém, Pará.....19
- Figura 3** - Desenho esquemático da morfologia do grupo de oocisto de *Calyptospora* (a, b), oocisto contendo quatro esporocistos (c) e dois esporozoítos (d, e).....22
- Figura 4** - Esquema das fases do ciclo de vida de *Calyptospora spinosa*: 1. Zigoto,\* vacúolo parasitóforo, HC: célula hospedeira; 2. Formação de esporoblasto; 3. Esporoblastos jovens; 4. Esporoblasto maduro, envolvido pelo véu, esporocisto.....23
- Figura 5** - Desenhos esquemáticos de cinco esporos correspondentes a diferentes gêneros: A) *Henneguya*; B) *Myxobolus*; C) *Ceratomyxa*; D) *Kudoa*; E) *Chloromyxum*.....24
- Figura 6** - Desenho esquemático do ciclo de vida indireto dos mixosporídios: a) hospedeiro definitivo; b) actinosporo; c) hospedeiro intermediário; d) mixósporo.....25
- Figura 7** - Desenho esquemático de um esporo imaturo de Myxozoa (a), mostrando as células valvogênicas (CV), as células capsulogênicas (CC) e a célula esporogênica (CE). À direita, observam-se 3 tipos de esporos, característicos dos gêneros *Myxobolus* (b), *Henneguya* (c) e *Tetrauronema* (d), formados por 2 valvas (V), 2 cápsulas polar (CP) e o esporoplasma (E)...26
- Figura 8** - Desenho esquemático demonstrando o ciclo de vida de um myxosporídio, onde a fase em que a célula pericítica (pericito - a) começa a englobar a célula germinativa (b) (1). A célula germinativa por sua vez, fica completamente envolvida pelo pericito (2). A célula germinativa se dividirá sucessivamente em duas células (3) e em 4 células (4). E finalizando a divisão, o esporo (monoespórico - 5) vai ser constituído por 5 células diferenciadas em 2 valvogênicas (d), 2 células capsulogênicas (e) e uma célula binucleada – o esporoplasma (c). Estas células completam sua diferenciação e por fim originam o esporo (6) (a1-pericito; e1-cápsulas; c1-esporoplasma; d1-valvas).....27
- Figura 9** - Desenho esquemático do esporo de *Kudoa aequidens* em vista frontal e lateral. (Escala 1 µm).....29
- Figura 10** - Desenho esquemático de esporo de *Ellipsomyxa gobioides* em vista frontal. (Escala 5µm).....30

<b>Figura 11</b> - Desenho esquemático de um esporo de <i>Potaspora aequidens</i> mostrando: disco de ancoragem (DA), polaroplasto (Pp), filamento polar (FP), núcleo (N), parede do esporo (P), vacúolo (Va).....	32
<b>Figura 12</b> - Representação esquemática do ciclo de vida dos microsporídios: A - Extrusão do filamento polar e fusão com a célula hospedeira; B - Fase merogônia, onde ocorre a divisão dos merôntes até originar os esporontes; C - Fase esporogônia, onde os esporontes se diferenciam para originar os esporoblastos, e por seguinte, os esporos.....	33
<b>Figura 13</b> - Desenho esquemático dos diferentes gêneros de microsporídios: a) <i>Microsporidium brevis</i> , b) <i>Potaspora morhaphis</i> , c) <i>Kabatana rondoni</i> , d) <i>Potaspora aequidens</i> , e) Macro e micro esporo de <i>Pleistophora beebei</i> .....	34
<b>Figura 14</b> - Localização geográfica da área de coleta, na ilha de Jutuba, Belém, Pará.....	35
<b>Figura 15</b> - A) Exemplos em baldes com água do habitat após captura, com aeração artificial; B) Exemplar de <i>P. auratus</i> em aquário após chegar no Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo – LPCA.....	36
<b>Figura 16</b> - Fotomicrografias em Microscopia de Luz (DIC) de oocistos de <i>Calyptospora</i> sp. em <i>A. inermis</i> . A) Esporocistos maduros de <i>Calyptospora</i> sp. distribuídos no fígado; B) Esporocistos maduros de <i>Calyptospora</i> sp. isolados no fígado; C) Corpos melanomacrófagos, distribuídos pelo órgão, corados em HE; D) Oocistos maduros de <i>Calyptospora</i> sp. corados em HE. (Escala: 20 µm).....	40
<b>Figura 17</b> - Fotomicrografias de Luz (DIC) de <i>Kudoa</i> sp. em <i>A. inermis</i> . A) Observação a fresco de pseudocisto de <i>Kudoa</i> sp. nas fibras da musculatura estriada esquelética (*) (Escala: 50 µm); B) Esporos maduros de <i>Kudoa</i> sp. apresentando quatro capsulas polares (CP) (Escala: 10 µm). C e D) Corte transversal mostrando pseudocisto do <i>Kudoa</i> sp. ocupando porção central da fibra muscular (*) (Escala: 50µm).....	43
<b>Figura 18</b> - Fotomicrografias de luz (DIC) de <i>Ellipsomyxa</i> sp. em <i>A. inermis</i> : A) Esporo maduro de <i>Ellipsomyxa</i> sp. presente no líquido da vesícula biliar (Escala: 30 µm). B) Esporo maduro de <i>Ellipsomyxa</i> sp. evidenciando as cápsulas polares (CP) (Escala: 20 µm). C) Observação do filamento polar (Escala: 20 µm). D) Esporo de <i>Ellipsomyxa</i> sp. realizando o processo de extrusão do filamento polar (Escala: 20 µm).....	46

<b>Figura 19</b> - Corte histológico da vesícula biliar de <i>A. inermis</i> , pela técnica de coloração ZN. A) Esporos de <i>Ellipsomyxa</i> sp. (Escala: 50µm). B) Esporos de <i>Ellipsomyxa</i> sp. aderidos a parede da vesícula biliar (Escala: 30µm).....	47
<b>Figura 20</b> - Fotomicrografias de luz (DIC) de myxozoa não identificado. em <i>A. inermis</i> A) Plasmódios irregulares, esporo maduro de mixosporídios não identificados na bexiga urinária de <i>A. inermis</i> (Barra de escala: 10 µm). B) Esporos de myxozoário não identificado com destaque para as cápsulas polares (CP) (Barra de escala: 10 µm).....	49
<b>Figura 21</b> - Fotomicrografia de secções histológicas de esporos myxozoa não identificado em <i>A. inermis</i> apresentando esporos corados pela técnica de ZN (Barra de escala: 20 µm).....	50
<b>Figura 22</b> Fotomicrografias de Luz (DIC) de <i>Kudoa</i> sp. em <i>P. auratus</i> . A) Observação a fresco de pseudocisto de <i>Kudoa</i> sp. nas fibras da musculatura estriada esquelética (*) (Escala: 10 µm; B) Esporos maduros de <i>Kudoa</i> sp dispersos (Escala: 10 µm). C) Esporos maduros de <i>Kudoa</i> sp. apresentando quatros capsulas polares (CP) (Escala: 20 µm). D) Corte histológico transversal apresentando o <i>Kudoa</i> sp na fibra muscular corada na técnica ZN (*) (Escala: 50 µm).....	51
<b>Figura 23</b> - Fotomacrografia de luz de Microsporidio em <i>P. auratus</i> - A) Cistos esbranquiçados de Microsporidio observados no fígado de <i>P. auratus</i> (Barra de escala: 500µm). Fotomicrografia (DIC)- B) Cisto arredondado de Microsporidio apresentando parede espessa (Barra de escala: 50µm). C) Cisto rompido (Barra de escala: 50µm). D) Esporo elipsoidal com extremidades arredondadas, dispersos após o rompimento do microsporídio (Barra de escala: 10µm).....	54
<b>Figura 24</b> - Fotomicrografia de secções histológicas de cisto de microsporídio (*) em <i>P. auratus</i> corado pela técnica de coloração HE.( Barra de escala: 50 µm).....	55

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Microparasitos analisados nas espécies <i>A. inermis</i> e <i>P. auratus</i> e o órgão de infecção. capturados na ilha de Jutuba, Belém, Pará.....	39
<b>Tabela 2</b> - Medidas comparativas descritivas (média; dp - desvio padrão) de <i>Calyptospora</i> sp. e outras espécies do gênero.....	41
<b>Tabela 3</b> - Medidas comparativas descritivas (média; dp-desvio padrão; mínimo e máximo) de <i>Kudoa</i> sp. e outras espécies do gênero.....	44
<b>Tabela 4</b> - Medidas comparativas descritivas (média; dp - desvio padrão; mínimo e máximo) de <i>Ellipsomyxa</i> sp. e outras espécies do gênero. N – número de voltas do filamento polar.....	48
<b>Tabela 5</b> - Medidas comparativas descritivas (média; dp - desvio padrão; mínimo e máximo) de <i>Kudoa</i> sp. e outras espécies do gênero.....	53
<b>Tabela 6</b> - Medidas comparativas descritivas (média; dp - desvio padrão; mínimo e máximo) de Microsporídio e outras espécies do gênero.....	57

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais

CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

CP - Cápsula Polar

BM - Biologia Molecular

FAPESPA - Fundação Amazônica de Amparo a Pesquisa

HC - Célula hospedeira

HE - Hematoxilina e Eosina

LAPEM - Laboratório de Pesquisa Edilson Matos

LGA - Laboratório de Genética Aplicada

LPCA - Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo

ML - Microscopia de Luz

UFPA - Universidade Federal do Pará

UFRA - Universidade Federal Rural da Amazônia

PVE - Programa Pesquisador Visitante Especial

ZN - ZIEHL-NEELSEN

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>15</b>
2.1 Objetivo geral .....	15
2.2 Objetivos específicos .....	15
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>16</b>
3.1 <i>Ageneiosus inermis</i> Linnaeus, 1766 .....	16
3.2 <i>Plagioscion auratus</i> (Castelnau, 1855).....	18
3.3 Diversidade ictioparasitária .....	19
3.3.1 Filo Apicomplexa Levine, 1970 .....	21
3.3.2 Subfilo Myxozoa Grassé, 1970 .....	23
3.3.2.1 Gênero <i>Kudoa</i> Meglitch, 1947 .....	28
3.3.2.2 Gênero <i>Ellipsomyxa</i> KØIE, 2003 .....	29
3.3.3 Filo Microsporidia (Balbiani, 1882).....	30
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>35</b>
4.1 Área de Estudo.....	35
4.2 Coleta dos Hospedeiros .....	35
4.3 Procedimento em Laboratório.....	36
4.3.1 Microscopia de Luz .....	37
4.3.3 Biologia Molecular .....	37
4.4 Análise dos dados .....	38
4.5 Análise dos parâmetros da água.....	38
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>39</b>
5.1 Descrição de <i>Calyptospora</i> sp. no fígado de <i>A. inermis</i> .....	39
5.2 Descrição de <i>Kudoa</i> sp. na musculatura de <i>A. inermis</i> .....	40
5.3 Descrição de <i>Ellipsomyxa</i> sp. na vesícula biliar de <i>A. inermis</i> .....	43
5.4 Descrição de myxozoa não identificado na bexiga urinária de <i>A. inermis</i> .....	49
5.5 Descrição de <i>kudoa</i> sp. na musculatura em <i>P. auratus</i> .....	51
5.6 Descrição de Microsporidia no fígado de <i>P. auratus</i> .....	53
5.7 Análise dos parâmetros abióticos da água.....	58
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>59</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>60</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>70</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A pesca é uma atividade milenar de grande importância mundial nas comunidades envolvidas e para população em geral. Estima-se que em torno de 560 milhões de pessoas estão vinculadas direta ou indiretamente a atividade pesqueira (FAO, 2009; GASALLA; YKUTA, 2015). Sendo o terceiro maior sistema produtor de alimentos do mundo, com produção mundial de captura de pescado em 2016 de 90,6 milhões de toneladas (FAO, 2018).

No Brasil, a pesca apresenta elevada importância social e econômica ao longo de todo o território, por se tornar fonte de renda para milhões de famílias (GASALLA; YKUTA, 2015).

Na Região Amazônica, a população ribeirinha explora os mais diversos corpos d'água, como calha dos rios, igarapés, lagos e várzeas. O pescado é importante fonte de alimento, gerando renda e emprego para as famílias dessa região (FABRÉ; ALONSO, 1998; BARTHEM, 1999; BORCEM et al., 2011; DORIA et al., 2012; ZACARDI, 2015).

A bacia amazônica abriga a maior e mais diversa ictiofauna do mundo (MONTAG et al., 2008). Sua riqueza se deve, não apenas a sua grande área, mas também em decorrência da sua heterogeneidade ecológica e complexidade geomorfológica, ao qual determinam uma diversidade na comunidade de peixes (GOULDING et al., 2003; ISAAC, 2006). Dentre as espécies destacam-se o bagre *Ageneiosus inermis* (Linnaeus, 1766) pertencente à ordem Siluriformes e a pescada *Plagioscion auratus* (Castelnau, 1855) pertencente à ordem Perciformes, ambos são consumidos e comercializados na Amazônia (FERREIRA et al., 1998; SANTOS et al., 2006; MPA, 2011; BATISTA et al., 2012;).

Os peixes estão susceptíveis a diferentes enfermidades de origem bacteriana, micótica, virótica e parasitária (VÁZQUEZ-LÓPES et al., 2001; PRADO; CAPUANO, 2006). Sendo os vertebrados que apresentam os maiores índices de infecção por parasitos, devido às peculiaridades do meio aquático facilitar a propagação, reprodução e ciclo de vida desse grupo (MALTA, 1984; KEELING; FAST, 2002; MATOS, 2007).

A patogenicidade dos parasitos de peixes varia de uma espécie para outra, dependendo da intensidade, prevalência, órgãos afetados, especificidade do hospedeiro correspondente, presença de infecções concomitantes e das condições ambientais (ALVAREZ-PELLITERO; BARJA, 1988). Segundo Eiras (2004) a presença, prevalência e a intensidade da parasitose nos hospedeiros variam conforme a época do ano, pois, muitas vezes, o ciclo de vida dos parasitos é dependente de mudanças climáticas e sazonais na região.

A presença de parasitos ocasiona a diminuição da qualidade do pescado, reduzindo o potencial reprodutivo, podendo também ser transmitida ao homem (PAVANELLI et al., 2008).

Entre os ictioparasitos podemos destacar os filios Cnidaria (Hatschek, 1888), Microsporidia (Balbiani, 1882) e o filo Apicomplexa Levine, 1970, um grupo heterogêneo com potencial patogênico, denominado didaticamente de microparasitos (MALTA, 1984; BÉKÉSI, 1992; MARTINS et al., 1999; MATOS et al., 2001; LOM; TAKEMOTO et al., 2004; DYKOVÁ, 2006; AZEVEDO et al., 2009).

Os myxozoos pertencem ao filo Cnidaria infectam invertebrados e vertebrados marinhos e dulcícolas. Os membros desse grupo podem causar mixosporidiose, doença que atua em diversos tecidos e órgãos como, fígado, brânquias, musculatura, pele entre outros (LUQUE, 2004; AZEVEDO et al., 2009; CASAL, 2009; FIALA et al., 2015).

Pertencente ao reino Fungi, o filo microsporídia são microparasitos intracelulares obrigatórios, estão presentes em alguns grupos de invertebrados e em todas as cinco classes de vertebrados (AZEVEDO; MATOS, 2002; FRANZEN, 2004; DIDIER, 2005; KEELING; FAST, 2002; MAGALHÃES et al., 2006).

O filo Apicomplexa apresenta microparasitos intracelulares obrigatórios de importância médica e veterinária, com algumas formas patogênicas. Ocorrendo em diversos grupos, incluindo moluscos, bivalves e peixes (MATOS et al., 2004).

Nos últimos anos vêm aumentando o interesse nessa área de estudo, os quais são fundamentais para promover a saúde dos organismos que habitam os ecossistemas aquáticos e principalmente da população que se alimenta destes peixes (FONSECA et al., 2005). Sendo importante para conhecer a sua relação hospedeiro-ambiente-parasito e as possíveis alterações patológicas, podendo servir como bioindicadores e avaliador do potencial zoonótico (PAVANELLI et al., 2002; AZEVEDO; MATOS, 2003; LUQUE, 2004; LOPES, 2006).

Diante disso, este estudo visa contribuir para o conhecimento da fauna de microparasitos eucariotos nas espécies *Ageneiosus inermis* e *Plagioscion auratus* capturados na ilha de Jutuba, Belém, Pará.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Caracterização morfológica e molecular dos microparasitos eucariotos presentes em *A. inermis* e *P. auratus* capturados na ilha de Jutuba, Belém, Pará.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Realizar a identificação dos microparasitos encontrados nas espécies, por meio de técnicas morfológicas;
- Avaliar as possíveis alterações histopatológicas nos tecidos parasitados;
- Determinar a prevalência dos parasitos identificados;
- Realizar a caracterização molecular dos microparasitos.
- Analisar os parâmetros abióticos da água.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 *Ageneiosus inermis* (Linnaeus, 1766)

Os peixes da ordem Siluriformes são conhecidos como bagres e apresentam aproximadamente 40 famílias (FROESE; PAULY, 2019), 500 gêneros e mais de 3.000 espécies, podendo ser encontrados em diversos habitats aquáticos, com predominância em água doce (MARIGUELA, 2006; FERRARIS-JR, 2007; MURIEL-CUNHA, 2008).

Os Siluriformes apresentam características morfológicas bem distintas, nadadeiras dorsais, peitorais, ventrais, anais e caudais raiadas, nadadeira adiposa e barbilhões sensitivos presentes na mandíbula (FERREIRA et al., 1998; BRITSKI et al., 1999).

As espécies dessa ordem se diferem da maioria dos peixes de água doce por apresentarem o hábito predominantemente noturno, pois não são dependentes essencialmente da visão, mas sim de outros sistemas sensoriais elaborados, como os barbilhões táteis e quimiosensíveis ou órgãos olfativos desenvolvidos, sendo então considerados pré-adaptados à viverem no fundo de rios, cavernas e aquíferos (LUNDBERG; FRIEL, 2003).

No Brasil, essa ordem constitui cerca de 40% das espécies, sendo mais de 1.000 espécies, distribuídas em 11 famílias e mais de 200 gêneros. Dentre essas famílias, encontramos Auchenipteridae Bleeker, 1862, a qual é restrita à região Neotropical, distribuídas em duas subfamílias Centromochlinae Bleeker, 1862 e Auchenipterinae Bleeker, 1862 (PINNA, 1998; BUCKUP et al., 2007; ESCHMEYER; FONG, 2017). Esta última com 18 gêneros (VAN DER LAAN et al., 2014; FROESE; PAULY, 2019).

As espécies da subfamília Auchenipterinae são de pequeno a médio porte, caracterizam-se pelo corpo coberto apenas por pele, com região dorsal do corpo entre a cabeça e a origem da nadadeira dorsal coberta com placas ósseas suturadas entre si e com limites bem evidentes externamente, com escudo pré-dorsal fortemente unido ao crânio, nadadeira adiposa diminuta, dois ou três pares de barbilhões e abertura branquial pequena (FERRARIS-JR, 2003; GOULDING et al., 2003; BRITSKI et al., 2007).

O gênero *Ageneiosus* Lacepède, 1803, apresenta nove espécies (FRICKE et al., 2019). Sendo fonte de subsistência e proteínas para populações ribeirinhas, apresentando potencial econômico em desembarques pesqueiros (MPA, 2011; BATISTA et al., 2012).

A espécie *Ageneiosus inermis* (Linnaeus, 1766) é a mais amplamente distribuída nos rios da América do Sul (Argentina, Bolívia, Brasil, Colômbia, Equador, Guiana Francesa, Guiana, Paraguai, Suriname e Venezuela). Apesar de sua ampla distribuição não apresenta comportamento migrador comparado com outras espécies da sua família (SMITH, 1981; FERRARIS JR, 2003; SANTOS et al., 2006; RIBEIRO, 2011).

Conhecida popularmente como mandubé, figaldo, palmito, chegando a 2 kg, com o maior tamanho dentro do gênero, se caracteriza pela cabeça achatada, olhos em posição lateral, boca muito grande prognata com a maxilar superior um pouco maior do que a inferior (SANTOS et al., 2006) (Figura 1).

A dieta da espécie é composta por peixes, camarões e outros invertebrados. Apresentam acentuado dimorfismo sexual exibido por machos sexualmente maduros (HAHN et al., 2004; SANTOS et al., 2009; RIBEIRO, 2011).

De acordo com Froese e Pauly (2019), a espécie *A. inermis* apresenta a seguinte classificação zoológica:

Reino Animalia

Filo Chordata

Classe Actinopterygii

Ordem Siluriformes

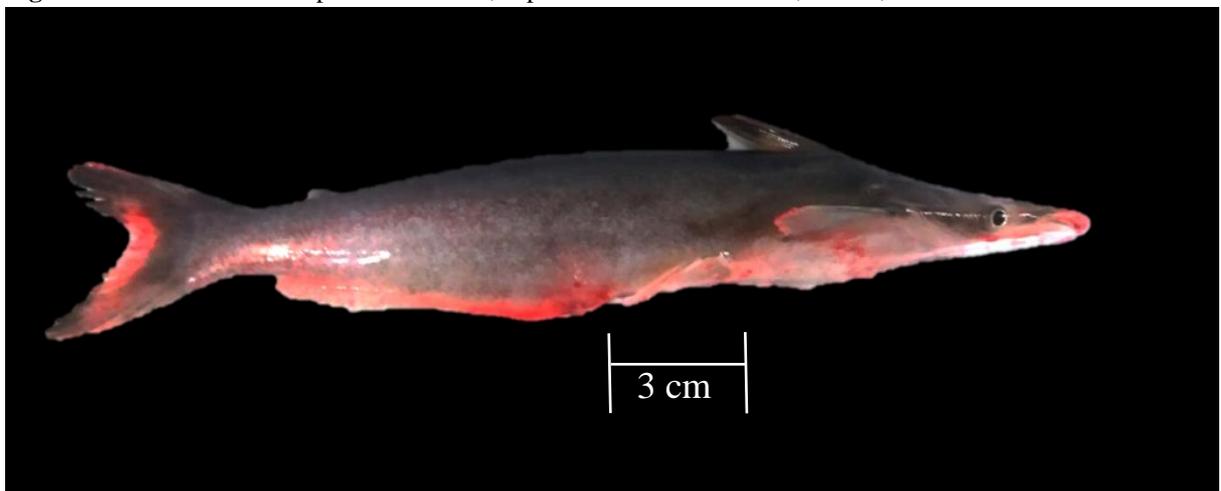
Família Auchenipteridae Bleeker, 1862

Subfamília Auchenipterinae Bleeker, 1862

Gênero *Ageneiosus* Lacepède, 1803

Espécie *Ageneiosus inermis* (Linnaeus, 1766)

**Figura 1** - Vista lateral da espécie *A. inermis*, capturado na ilha de Jutuba, Belém, Pará.



Fonte: LPCA, 2018.

### 3.2 *Plagioscion auratus* (Castelnau, 1855)

Sendo a mais diversificada da ordem dos vertebrados, os Perciformes apresentam mais de 20 subordens, em torno de 160 famílias, com cerca de 1.540 gêneros e 7.800 espécies. Os animais dessa ordem apresentam o corpo alongado, escamas grandes, com linha lateral que pode ou não ser interrompida, dependendo da espécie (BRUM; GALETTI JR., 1997; NELSON, 2006; CHICRALA, 2013).

Dentre estas famílias a Sciaenidae Cuvier, 1829, apresenta distribuição mundial, em torno de 70 gêneros e 280 espécies ao qual habitam diferentes habitats aquáticos (NELSON, 2006). Os peixes dessa família são caracterizados pela presença de dois espinhos na nadadeira anal, linha lateral contínua do opérculo ao final da nadadeira caudal, as escamas da linha lateral são maiores que aquelas do restante do corpo, nadadeira caudal romboidal com uma projeção mediana em forma de lança (ANNIBAL, 1981; CASSATI, 2001, 2003; SANTOS et al., 2006). Espécies desta família são denominadas, pescada, corvina, pescadinha, goete, entre outros, variando de acordo com a região (MENEZES; FIGUEIREDO, 1980; ROCHA et al., 1982).

Na América do Sul os gêneros de água doce são *Pachypops* Gill, 1861, *Pachyurus* Agassiz, 1831 e *Plagioscion* Gill, 1861, sendo este último podendo ser encontrado em ambientes estuarinos (CASATTI, 2005; NELSON, 2006).

O gênero *Plagioscion* apresenta peixes bentônicos e sedentários, com preferências por lagos e profundos canais de rios, com hábito crepúsculo e noturno. São carnívoros e se alimentam de peixes e camarões (SANTOS, 2006). Destacam-se pela sua carne branca e baixo teor de gordura (Rocha et al., 1982). Comparado a outros gêneros de cianídeos de água doce é o mais comum e importante recurso pesqueiro na bacia amazônica (FERREIRA et al., 1998).

A espécie *Plagioscion auratus* (Castelnau, 1855), conhecida popularmente como pescada preta sendo de médio porte, alcança mais de 30 cm de comprimento, apresenta coloração do corpo uniformemente escura arroxeada e olho pequeno contido mais de cinco vezes do comprimento da cabeça (FERREIRA et al., 1998; CASATTI, 2003; SANTOS, 2006) (Figura 2). Ocorrem no rio Orinoco, rios das Guianas e na bacia Amazônica (BOUJARD et al., 1997).

Apesar de não haver dados sobre sua produção na pesca, sabe-se que a mesma é explorada para fins comerciais nos mercados do baixo e médio Amazonas (FERREIRA et al., 1998; SANTOS et al., 2006).

Segundo Froese e Pauly (2019), a espécie *P. auratus* apresenta a seguinte classificação taxonômica:

Reino Animalia

Filo Chordata

Classe Actinopterygii

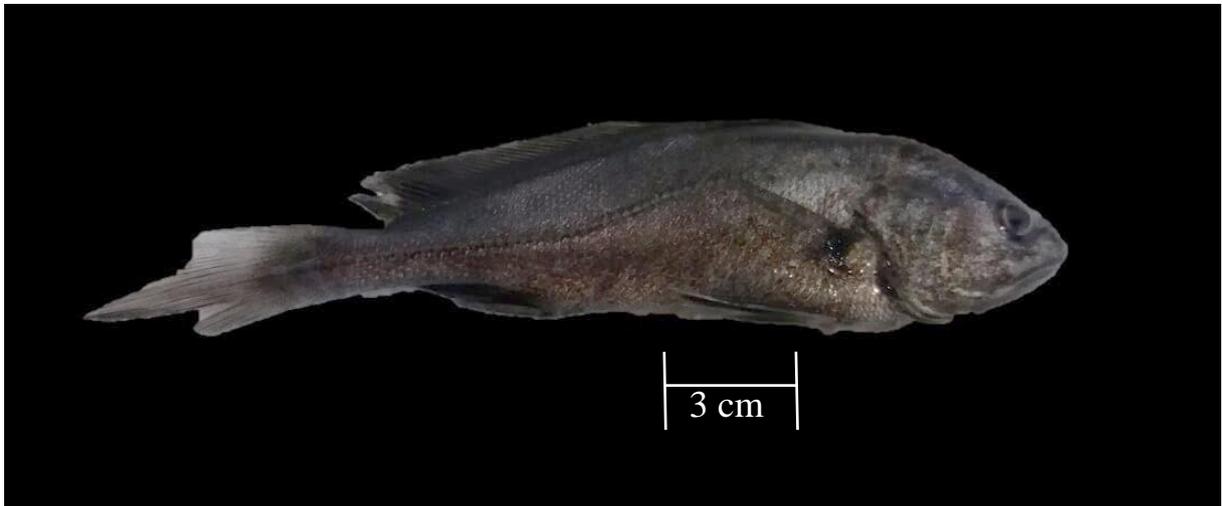
Ordem Perciformes

Família Sciaenidae Cuvier, 1829

Gênero *Plagioscion* Gill, 1861

Espécie *Plagioscion auratus* (Castelnau, 1855)

**Figura 2** - Vista lateral da espécie *P. auratus*, capturados na ilha de Jutuba, Belém, Pará.



Fonte: LPCA, 2018.

### 3.3 Diversidade ictioparasitária

Os parasitos de peixes apresentam uma distribuição mundial, afetando organismos de águas tropicais e polares (ALVARES-PELLITERO; BARJA, 1988). Sendo de grande relevância para região neotropical, em decorrência das características climáticas que propiciam sua rápida e constante propagação (THATCHER; NETO, 1994). As alterações climáticas sazonais fazem também com que o ciclo de vida dos parasitas, dependa da época do ano (EIRAS, 2004).

Sendo de ambiente natural ou de pisciculturas, os peixes podem ser hospedeiros de uma grande diversidade de organismos patógenos, ocasionando a perda da produtividade, do valor e da qualidade do pescado (EIRAS, et al., 2004; WOO, 2006; MILANIN, 2011).

Os parasitos podem viver na superfície ou dentro dos seus hospedeiros, sendo usualmente divididos em ectoparasitos e endoparasitos, além de apresentarem ou não especificidade parasitária (THATCHER, 1991; PAVANELLI et al., 2002; KUBITZA; KUBITZA, 2004).

A maioria dos organismos capazes de causar doenças em organismos aquáticos é oportunista, ou seja, normalmente habitam em sistemas aquáticos e convivem em equilíbrio com os peixes sem causar danos (PAVANELLI et al., 2008). Entretanto, estes organismos passam a agir de forma patogênica, caso ocorra o desequilíbrio na relação parasita-hospedeiro-ambiente, podendo resultar em mortalidade (STRADIOTTI JÚNIOR et al., 2013).

Na piscicultura o problema se agrava, em decorrência do confinamento e a intensificação do cultivo, comprometendo o estado de saúde dos peixes e aumentando os riscos de infecções (IWASHITA; MACIEL, 2013).

Os peixes podem se comportar como hospedeiro definitivo, quando são parasitados pelos organismos na fase adulta e reprodutiva; intermediário quando hospedam o parasito em fase larval ou assexuada e paratênico ou de transporte quando servem de refugio temporário ou veiculo para o parasito, nesse caso o parasito não se desenvolve. Os sinais clínicos mais observados são, hiporexia ou anorexia, emagrecimento progressivo, lesões na pele e modificações no comportamento apresentando natação errática, lenta, rodopio, saltos e respiração na superfície (IWASHITA; MACIEL, 2013).

A composição da fauna parasitária é influenciada por diversos fatores, como, alimentação, sexo do hospedeiro, parâmetros físico-químicos da água. Na piscicultura o manejo inadequado influencia na ocorrência de parasitos (PAVANELLI et al., 2002; MADI; UETA, 2012; IWASHITA; MACIEL, 2013). A presença de parasitos frequentemente ocasiona problemas econômicos e sanitários, podendo ocasionar lesão tecidual e alta mortalidade (FERRE, 2001). Devido às zoonoses transmitidas por pescado parasitado quando são consumidos crus ou inadequadamente cozido podendo ocorrer problemas de saúde publica (OKUMURA et al., 1999).

Estudos parasitológicos em peixes são importantes para conhecer: o impacto de sua ação, verificar bioindicadores de unidades populacionais, avaliar a ecologia do parasito, analisar o potencial zoonótico de algumas espécies, sendo fator limitante para a piscicultura (LUQUE, 2004).

Dentre os ictioparasitos, destacam-se os microparasitos pertencentes ao filo Microsporidia e Cnidaria e o Apicomplexa, as espécies pertencentes a estes grupos contribuem com grande parte dos microrganismos causadores de doenças em peixes (EIRAS, 1994; WOO, 2003; CAVALIER\_SMITH, 2004; LOM; DYKOVÁ, 2006).

### 3.3.1 Filo Apicomplexa Levine, 1970

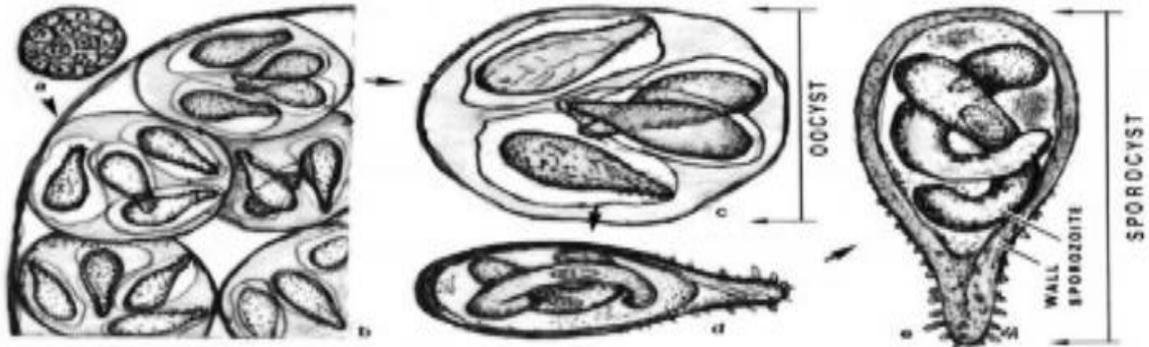
O filo Apicomplexa Levine, 1970, compreende os protozoários que são parasitas de uma grande variedade de organismos, incluindo moluscos, bivalves e peixes. Dentre os representantes desse subfilo, os coccídios, apresentam algumas espécies que potencialmente são patógenos aos peixes marinhos e de água doce (AZEVEDO et al., 1993; AZEVEDO et al., 1995; LANG-UNNASCH et al., 1998).

Na Amazônia, podemos destacar os coccídios da família Calyptosporidae Overstreet, Hawkins e Fournie, 1984 e as espécies do gênero *Calyptospora* Overstreet, Hawkins e Fournie, 1984. Nas espécies descritas o peixe é hospedeiro definitivo e parasitam principalmente a região hepática e o impacto das infecções por *Calyptospora* sp. em espécies de peixes é, em grande parte, desconhecida (WHIPPS et al., 2012). De acordo com Lom e Dyková (1992) infecções intensas no fígado aparecem como branco pálido e lesões pretas nos tecidos.

Atualmente são conhecidas quatro espécies de *Calyptospora*, encontrados em peixes de água doce *Calyptospora serrasalmi* Cheung, Nigrelli e Ruggieri, 1986 em *Serrasalmus niger*, *Calyptospora tucunarensis* Békési e Molnár, 1991 em *Cichla ocellaris*, *Calyptospora spinosa* Azevedo e Matos, 1993 em *Crenicichla lepidota*, *Calyptospora paranaidji* Silva et al., 2018 e em *Cichla piquiti* (CHEUNG et al., 1986; BÉKÉSI; MOLNÁR, 1991; AZEVEDO et al., 1993; SILVA et al., 2018)

Morfologicamente quando observado em microscopia de luz (ML), os oocistos de *Calyptospora* sp. formam vacúolos parasitóforos, com quatro esporocistos, cada um contendo em seu interior dois esporozoítos. Em muitos casos, são observadas células iniciais do ciclo de vida ou já formando vacúolos parasitóforos, quando se encontram em diferentes fases do ciclo de vida, variando a forma dos esporocistos, de arredondada a elipsoide (AZEVEDO et al., 1995) (Figura 3).

**Figura 3** – Desenho esquemático da morfologia do grupo de oocisto de *Calyptospora* (a, b), oocisto contendo quatro esporocistos (c) e dois esporozoítos (d, e).



Fonte: Casal et al. 2007.

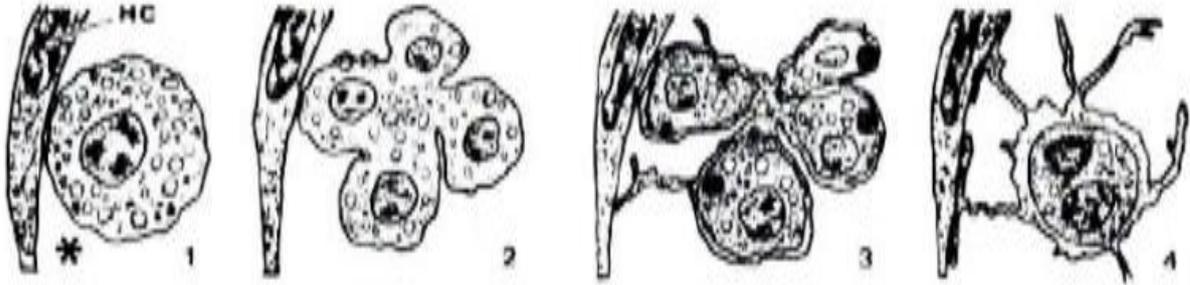
O ciclo de vida dos coccídios pode ser monóxeno utilizando apenas um hospedeiro ou heteróxico, ao qual o envolve um hospedeiro intermediário e um paratênico. Apresenta três fases: esporogonia (esporulação), esquizogonia (merogonia) e gametogonia. Algumas pesquisas mostram que as fases de merogonia e gametogonia ocorrem em diferentes espécies de camarão da família Palaemonidae e a esporogonia em peixes teleosteos (SOLANGI; OVERSTREET 1980; OVERSTREET; OGLE, 1981; OVERSTREET et al., 1984; FOURNIE et al., 1985; AZEVEDO et al., 1995).

No estudo realizado na Amazônia por Thatcher e Neto (2006) o camarão (*macrobrachium sp.*) estaria envolvido como hospedeiro intermediário na transmissão, quando o peixe ingere o camarão infectado.

O esporozoíto é a forma infectante do grupo Apicomplexa, transformando-se em esquizonte na célula hospedeira, que origina vários merozoítos (merogonia), cuja quantidade depende da espécie. Esta fase da reprodução assexuada é geralmente denominada esquizogonia ou merogonia, o que em alguns casos não será apropriada, uma vez, que podem formar dois merozoítos por cissiparidade. Estes irão originar os gametas, por diferenciação, que se fundem dando origem ao zigoto (gametogonia). O zigoto irá originar o oocisto que geralmente contém quatro esporozoítos (esporogonia) e a liberação do esporozoíto assegura a infecção de novos hospedeiros (EIRAS, 1994).

Em alguns casos, observa-se células iniciais do ciclo de vida ou formação dos vacúolos parasitóforos, quando se encontra diferentes fases do ciclo de vida, variando a forma dos esporocistos, de arredondada a elipsoide (Figura 4) (AZEVEDO et al., 1993, 1995).

**Figura 4** - Esquema das fases do ciclo de vida de *Calyptospora spinosa*: 1. Zigoto,\* vacúolo parasitóforo; HC: célula hospedeira; 2. Formação de esporoblasto; 3. Esporoblastos jovens; 4. Esporoblasto maduro, envolvido pelo véu, esporocisto.



**Fonte:** Azevedo et al. 1995.

### 3.3.2 Subfilo Myxozoa Grassé, 1970

Os myxozoários eram classificados como protozoários, devido ao tamanho e a forma dos esporos. Posteriormente sendo inseridos ao filo Cnidaria por meio de análise filogenética da sequência de 18s rDNA (LOM; DYKOVÁ, 1992; SMOTHERS et al., 1994; CASAL, 2009).

O subfilo Myxozoa é formado pelas classes Malacosporea Canning al., 2000 e Myxosporea Buetschli, 1881, possuindo mais de 2.300 espécies, sendo a maioria parasitos de peixes, tanto de ambiente natural como de sistemas de cultivo, com algumas espécies responsáveis por doenças que geram altas taxas de mortalidade em todo o mundo (KENT et al., 2001; LOM; DYKOVÁ, 2006, MORRIS, 2010).

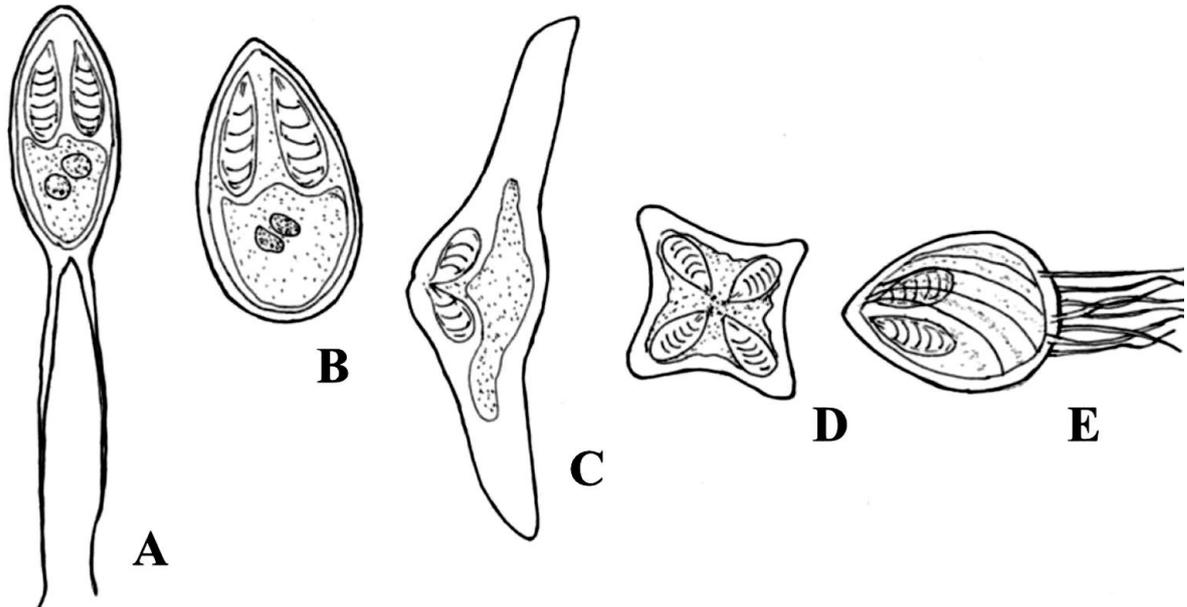
A classe Myxosporea está dividida em duas ordens, Bivalvulida Schulman, 1959, que possuem o esporo com duas valvas e uma a quatro cápsulas polares, e Multivalvulida Schulman, 1959, que possuem três a sete valvas e duas a sete cápsulas polares (TOPS et al., 2005; SILVA-JR, 2012).

Dentro da classe Myxosporea, os myxozoários compreendem aproximadamente 2.180 espécies e estão divididos em 62 gêneros, os quais são parasitos microscópicos formadores de esporos, podendo ser encontrados tanto em ambiente marinho quanto em água doce, podendo infectar répteis, anfíbios e principalmente peixes (LOM; DYKOVÁ, 2006; ATKINSON, 2011).

São endoparasitos podendo ser encontrados infectando vários tecidos, com alta especificidade tanto para os hospedeiros quanto para os órgãos que parasitam, desenvolvem-se em forma de cistos ou plasmódios, podendo ocasionar compressão dos tecidos de seus hospedeiros (EIRAS, 1994; BÉKÉSI et al., 2002; FEIST; LONGSHAW, 2006).

O corpo dos myxosporos maduros pode apresentar variadas formas, tais como: ovóide, elipsoide, piriforme, fusiforme, encurvada, arredondada, quadrangular, triangular de acordo com o gênero (Figura 5) (CASAL, 2009).

**Figura 5** - Desenhos esquemáticos de cinco esporos correspondentes a diferentes gêneros: A) *Henneguya*; B) *Myxobolus*; C) *Ceratomyxa*; D) *Kudoa*; E) *Chloromyxum*.



Fonte: CASAL, 2009.

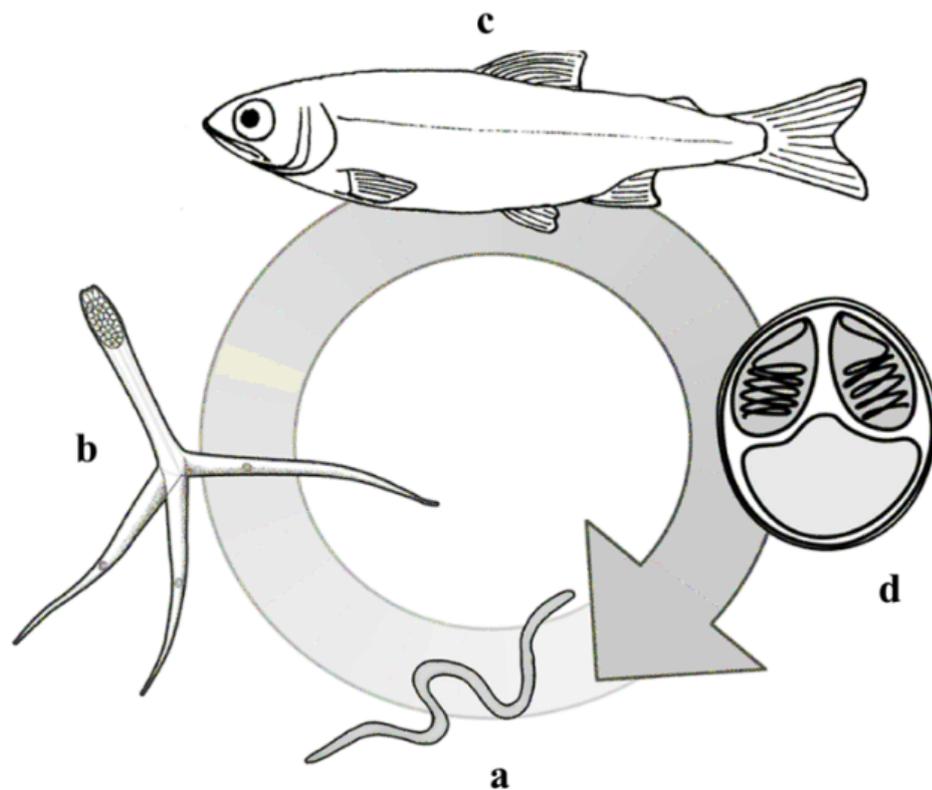
Os myxosporos são encontrados em todo mundo apresentando morfologia diversificada que podem ser vistas nas valvas, podendo se apresentar com ou sem apêndice, ou possuir eventualmente projeções simples ou elaboradas (MATOS et al., 2004; CASAL, 2009).

As espécies de mixosporídios são encontrados na maioria dos órgãos do corpo de seus hospedeiros, sendo mais comuns na bexiga natatória, vesícula biliar, musculatura e brânquias. Estes parasitos podem ser histozóicos (encontrados intracelularmente e intercelularmente), ou celozóicos (encontrados nas cavidades dos órgãos) (LOM, 1969). Segundo Salim e Desser (2000) as espécies de mixosporídios apresentam alto grau de tropismo (facilidade em se propagar e reproduzir), tanto para o hospedeiro, como para os tecidos infectados.

A maioria dos mixosporídeos são estenoxeno (especificidade parasitária). Todavia, há trabalhos que confirmam que uma espécie pode parasitar um grande número de hospedeiros (KUBITZA; KUBITZA, 2000; BÉKÉSI et al., 2002; CASAL, 2009; EIRAS; ADRIANO, 2013).

O ciclo de vida desse grupo é de forma indireta e apresenta duas fases, sendo a primeira no peixe (hospedeiro intermediário) e a segunda no anelídeo (hospedeiro definitivo), envolvendo neste ciclo um myxosporo, que é a fase mais conhecida sendo encontrados geralmente em peixes, e um actinosporo, cuja fase envolve um processo sexual, quase que exclusivamente nos anelídeos (Figura 6) (KENT et al., 2001; LOM; DIKOVÁ, 2002; LOM; DIKOVÁ, 2006).

**Figura 6** - Desenho esquemático do ciclo de vida indireto dos mixosporídios: a) Hospedeiro definitivo; b) actinosporo; c) Hospedeiro intermediário; d) Mixósporo.

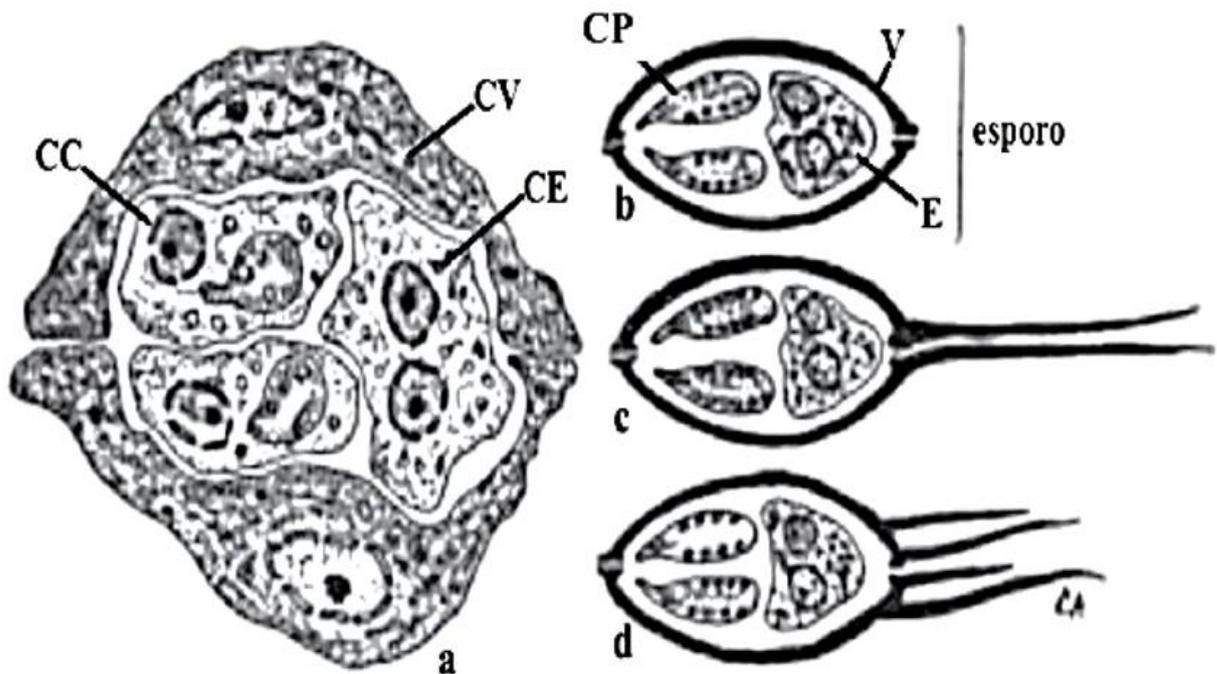


**Fonte:** Adaptado de Atkinson, 2006.

De acordo com Békési et al. (2002), a infestação dos peixes pode acontecer não necessariamente via oral, mas também pela capacidade que os actinosporos têm de serem ancorados pela expulsão de seus filamentos polares nas brânquias e na pele, possibilitando ao esporoplasma entrar no organismo dos peixes por via parenteral.

A fase esporal é que caracteriza o grupo, onde é possível verificar que os esporos são compostos de várias células. Embora morfologicamente diferentes, irão se organizar em esporo. Sendo constituído por duas valvas que formam entre elas uma cavidade onde se encontram geralmente duas cápsulas polares e uma célula binucleada, o esporoplasma. Este possui numerosas estruturas tipo vesículas, de matriz densa, conhecidas como esporoplasmosomas, ao qual, apresentam variações de forma e estrutura. A sua diferença morfológica nas valvas, tamanho das cápsulas polares, número de voltas dos filamentos polares, entre outras, são utilizadas para a diferenciação das espécies (Figura 7) (MATOS et al., 2001).

**Figura 7** - Desenho esquemático de um esporo imaturo de Myxozoa (a), mostrando as células valvogênicas (CV), as células capsulogênicas (CC) e a célula esporogênica (CE). À direita, observam-se 3 tipos de esporos, característicos dos gêneros *Myxobolus* (b), *Henneguya* (c) e *Tetraurionema* (d), formados por 2 valvas (V), 2 cápsulas polar (CP) e o esporoplasma (E).

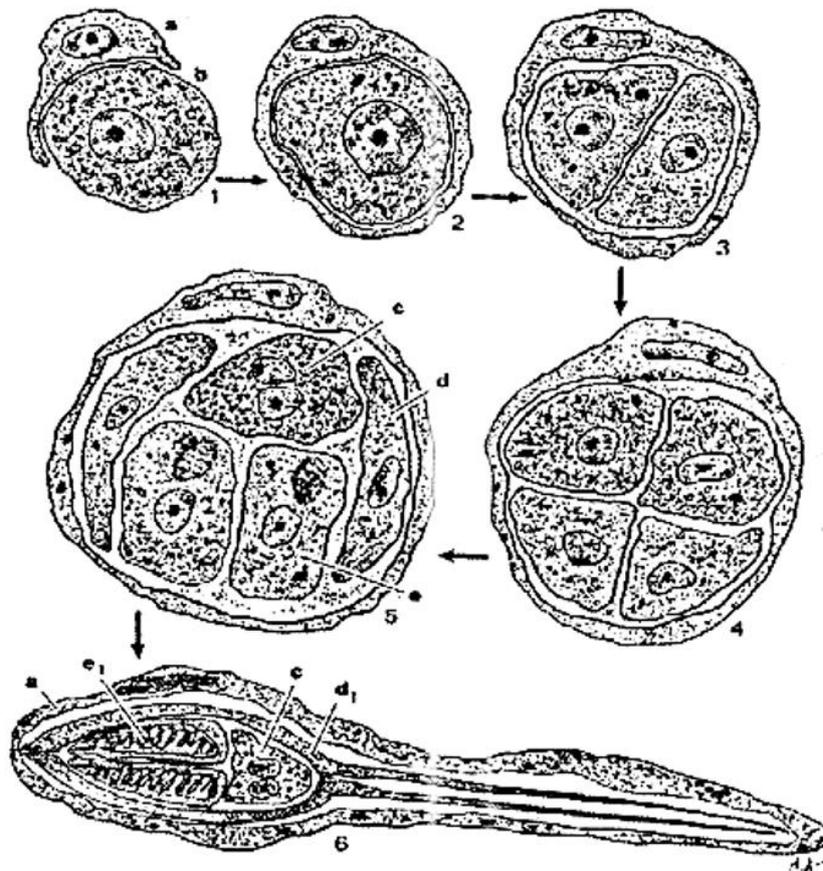


**Fonte:** Matos et al. 2001.

A esporogênese ocorre no hospedeiro intermediário e inicia o envolvimento de uma célula esporogônica, desenvolvida e protegida por uma célula, o pericito (fagócito). No pericito, a célula esporogênica divide-se, através de nucleocinese e citocineses, dando origem a células uninucleares, com exceção de uma célula na qual ocorrerá somente uma nucleocinese, originando uma célula binucleada, chamada célula esporoplasmática (MATOS et al., 2001).

O resultado desta divisão é a formação de dois grupos de cinco células. As duas células valvogênicas diferenciam-se englobando as outras três, formando desse modo um esporo. As três células que permanecem no interior, são duas células capsulogênicas, onde no citoplasma se diferenciam as cápsulas polares, apresentando no seu interior de cada uma delas, um filamento polar enrolado em hélice. A outra célula denominada esporoplasmática binucleada que se caracteriza por conter inúmeras vesículas eletrodensas designadas de esporoplasmosomas (Figura 8) (MATOS et al., 2001; MATOS et al., 2004).

**Figura 8** - Desenho esquemático demonstrando o ciclo de vida de um myxosporídio, onde a fase em que a célula pericítica (pericito - a) começa a englobar a célula germinativa (b) (1). A célula germinativa por sua vez, fica completamente envolvida pelo pericito (2). A célula germinativa se dividirá sucessivamente em duas células (3) e em 4 células (4). E finalizando a divisão, o esporo (monoespórico - 5) vai ser constituído por 5 células diferenciadas em 2 valvogênicas (d), 2 células capsulogênicas (e) e uma célula binucleada – o esporoplasma (c). Estas células completam sua diferenciação e por fim originam o esporo (6) (a1-pericito; e1-cápsulas; c1-esporoplasma; d1-valvas).



**Fonte:** Matos et al. 2001.

As cápsulas são estruturas específicas dos esporos dos mixosporídios, resultante das células capsulogênicas que se diferenciam durante o processo de maturação (MATOS et al., 2001; MATOS et al., 2004).

Em espécies diferentes é possível observar diferenças relacionadas à morfologia das cápsulas e do tubo polar, assim como a organização desse tubo polar. O filamento polar é uma estrutura importante, pois será responsável pela propagação da espécie, no período pós-maturação. No processo de formação do esporo verifica-se que cada uma das valvas desenvolve um complexo sistema microtubular, o qual irá se diferenciar, em algumas espécies (MATOS et al., 2004).

A maioria das infecções por myxozoários são inócuas (não são facilmente evidentes) e têm pouco impacto nos hospedeiros de peixes. No entanto, determinados myxozoários causam doenças graves com impactos econômicos nas pescarias e na aquicultura (LOM; DYKOVÁ, 1992; POTE et al., 2000; DIAMANT et al., 1994; KENT et al., 1994; HALLETT; BARTHOLOMEW, 2011; OKAMURA et al., 2011; YOKOYAMA et al., 2012; OKAMURA et al., 2015).

### 3.3.2.1 Gênero *Kudoa* Meglitsch, 1947

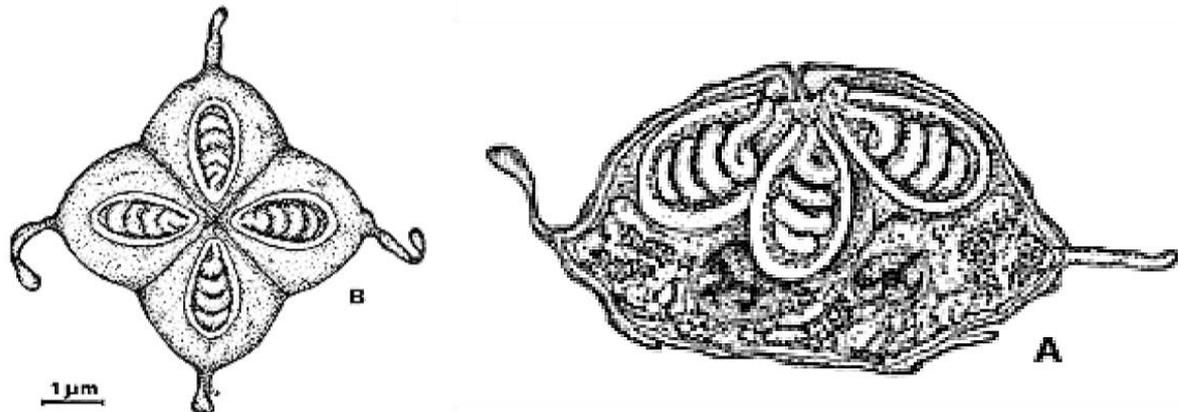
Pertencentes a família Kudoidae, o gênero *Kudoa* apresenta uma ampla distribuição geográfica, sendo encontrado infectando principalmente peixes marinhos (ADLERSTEIN; DORN, 1998; MORAN et al., 1999; KENT et al., 2001; YOKOYAMA et al., 2004; ANDRADA et al., 2005; KRISTMUNDSSON; FREEMAN, 2014; MANSOUR et al., 2014; MANSOUR et al., 2015).

Atualmente existem aproximadamente mais 100 espécies de *Kudoa* descritas, infectando principalmente a musculatura somática de peixes (BURGER et al. 2008; EIRAS et al., 2014; KRISTMUNDSSON; FREEMAN, 2014; MANSOUR et al., 2014; MANSOUR et al., 2015). Entretanto já foram relatados em gônada, tegumento, barbatana, cérebro, rim, , entre outros (MATSUKANE et al., 2010).

A infecção desse microparasito não causam sérios danos ao peixe, porém associados ao tecido muscular, podem induzir uma infecção generalizada chegando mesmo a inviabilizar a sua comercialização principalmente quando ocorre a presença de cistos macroscópicos (YOKOYAMA et al., 2004; ANDRADA et al., 2005; CASAL, 2009).

Os esporos desse gênero caracterizam-se por apresentar quatro ou mais valvas de simetria radial podendo ser de formato estrelada, quadrado, pseudoquadrado ou redondo quadrangular, além de apresentarem cápsulas polares (Figura 9) (WHIPPS et al., 2004; CASAL, 2009).

**Figura 9** - Desenho esquemático do esporo de *Kudoa aequidens* em vista frontal e lateral. (Escala 1  $\mu\text{m}$ ).



**Fonte:** Casal et al. 2008.

Na musculatura formam pseudocistos dentro ou entre as fibras musculares, com aparência de cordões brancos ou negros ao longo da musculatura e após a morte do hospedeiro ocasionam a mioliquefação da carne tornando-a inviável para o consumo, acarretando na diminuição da aceitação comercial do pescado ou chegando a inviabilizar a sua comercialização (LOM; DYKOVÁ, 1992; VAZ, 2000; WOO, 2006). No Japão, há relatos que após o consumo de peixe cru infectado por *Kudoa* ocasionou um surto de intoxicação (KAWAI et al., 2012).

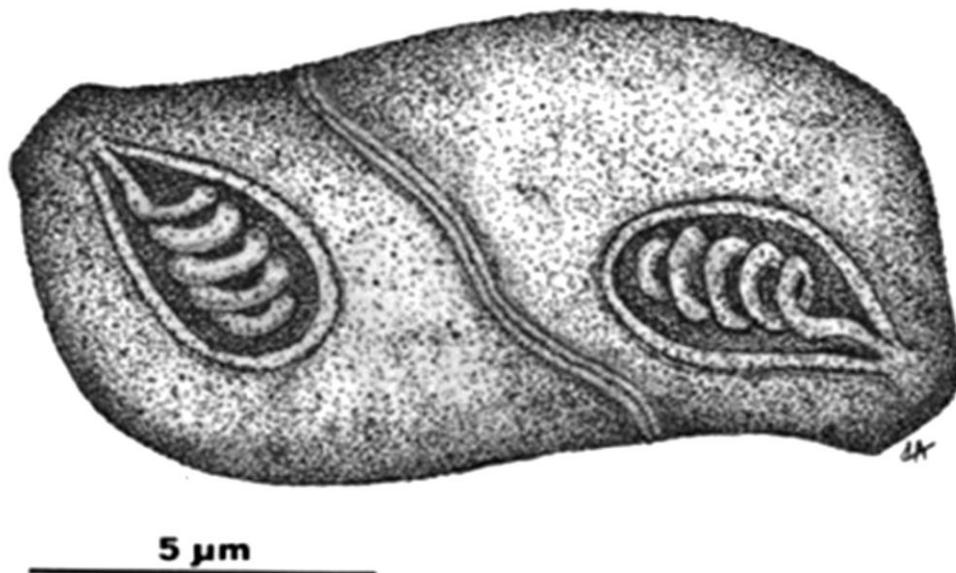
### 3.3.2.2 Gênero *Ellipsomyxa* KØIE, 2003

Pertencentes a ordem Bivalvulida e a família Ceratomyxidae, o gênero *Ellipsomyxa* apresenta um grupo muito pequeno infectando a vesícula biliar dos peixes (AZEVEDO et al., 2013).

Os membros deste gênero apresentam tropismo por vesículas biliares de peixe, como: *Ellipsomyxa gobii* (KØIE, 2003), *Ellipsomyxa syngnathi* (KØIE; KARLSBAKK, 2009) e *Ellipsomyxa mugilis* (KØIE; KARLSBAKK, 2009), *Ellipsomyxa gobioides* (AZEVEDO et al., 2013), *Ellipsomyxa adlardi* (WHIPPS; FONT, 2013), *Ellipsomyxa maniliensis*, *Ellipsomyxa apogoni*, *Ellipsomyxa nigropunctatis* e *Ellipsomyxa arothroni* (HEINIGER; ADLARD, 2014), *Ellipsomyxa kalthoumi* (THABET et al., 2016), *Ellipsomyxa amazonensis* (ZATTI et al., 2018) e *Ellipsomyxa arariensis* (SILVA et al., 2018).

Apresenta formato elipsoide alongados em direção perpendicular ao plano de transverso central direto linha sutural. Válvulas de paredes finas alongadas ou hemisféricas. Na vista apical ou polar, verifica-se a presença de duas cápsulas esféricas a piriformes de tamanho igual ocorrendo no eixo longitudinal, a alguma distância de linha sutural e extremidades opostas, onde essas cápsulas descarregam o filamento polar em lados opostos, a alguma distância, a partir da extremidade do esporo (Figura 10) (LOM; DYKOVÀ, 2006). O desenvolvimento dos seus esporos em plasmódios na vesícula biliar dos peixes pode ser classificado em monospóricos ou dispóricos (KOIE, 2003; AZEVEDO et al., 2013).

**Figura 10** - Desenho esquemático de esporo de *Ellipsomyxa gobioides* em vista frontal. (Escala 5µm).



Fonte: AZEVEDO et al. 2013.

### 3.3.3 Filo Microsporidia (Balbiani, 1882)

Pertencentes ao Reino Fungi os microsporídios são fungos verdadeiros por meio de análises filogenéticas (LEE et al., 2008). Apresentam em torno de 187 gêneros e aproximadamente 1.200 espécies (MAGALHÃES et al., 2006).

São parasitos eucariotos intracelulares obrigatórios, não apresentando estádios ativos fora das células hospedeiras, podendo ser encontrado parasitando em alguns grupos de invertebrados e em todas as cinco classes de vertebrados, incluindo seres humanos, sendo os peixes o principal hospedeiro (LOM; DYKOVA, 1992; SPRAGUE; BECNEL, 1998; AZEVEDO; MATOS, 2002; KEELING; FAST, 2002).

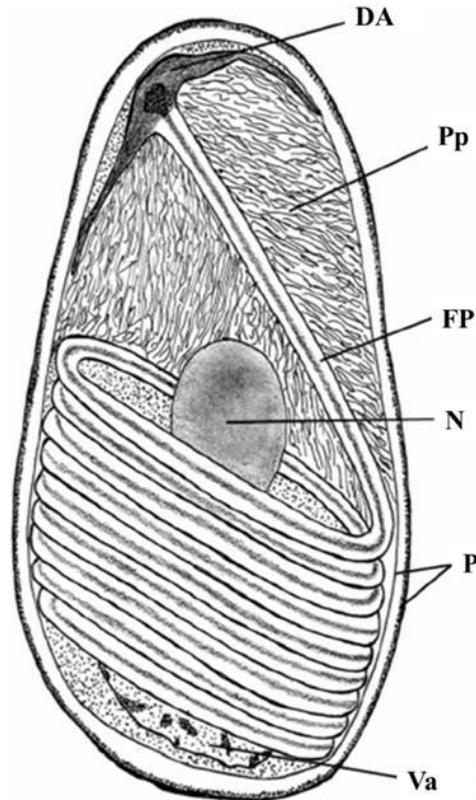
A presença no hospedeiro pode ocasionar infecções crônicas, diminuindo a condição corporal, sendo descrito aproximadamente 20 gêneros e mais de 156 espécies de microsporídios que infectam peixes, pertencentes à classe Osteichthyes (peixes ósseos) (MAGALHÃES et al., 2006; KEELING; FAST, 2002; LEWIS et al., 2006; MATOS, 2007; CASAL et al., 2009; STENTIFORD et al., 2013; VÁVRA; LUKES, 2013). Podendo ocorrer em hospedeiros de ambiente dulcícola, estuarino e marinho (STENTIFORD et al., 2013; VÁVRA; LUKES, 2013).

Os microsporídios possuem um complexo ciclo de vida, tendo como característica principal a produção de esporos resistentes, que são os responsáveis pela transmissão horizontal do microparasita. São encontrados no hospedeiro, em forma esporal livre, cistos na fase adulta, ou em estágios de desenvolvimento iniciais, em ambas as formas sendo liberados quando o hospedeiro vem a óbito (MATOS, 2007).

O esporo é unicelular com formato variável, podendo ser mais ou menos alongada (bastonete até redonda), porém a maioria é ovóide (KEELING; FAST, 2002). Apresenta dimensões que variam de 0,1 a 40  $\mu\text{m}$  de comprimento. Possuem um esporoplasma uni ou binucleado, contornado por uma parede de espessura variável composta por três camadas: o exósporo (camada exterior proteica densa e de composição proteica); endósporo (camada interna luzente e de composição quitinosa) e uma membrana plasmática que envolve o citoplasma, o núcleo (podendo apresentar até dois núcleos), um vacúolo posterior, as membranas do polaroplasto e o aparelho de extrusão (FRANZEN; MÜLLER, 1999; BIGLIARDI; SACCHI, 2001; MATOS et al., 2004).

Internamente nos esporos há o aparelho de extrusão constituído por quatro estruturas que determinam a polaridade do esporo, conhecidas pelo nome de disco de ancoragem (DA), polaroplasto (Pp), filamento polar (FP) e vacúolo (Va) (Figura 11) (VIDEIRA et al., 2015). A diagnose da espécie é permitida a partir do número de voltas do filamento polar, o seu arranjo espacial relativo e o ângulo de inclinação da hélice (KEELING; FAST, 2002).

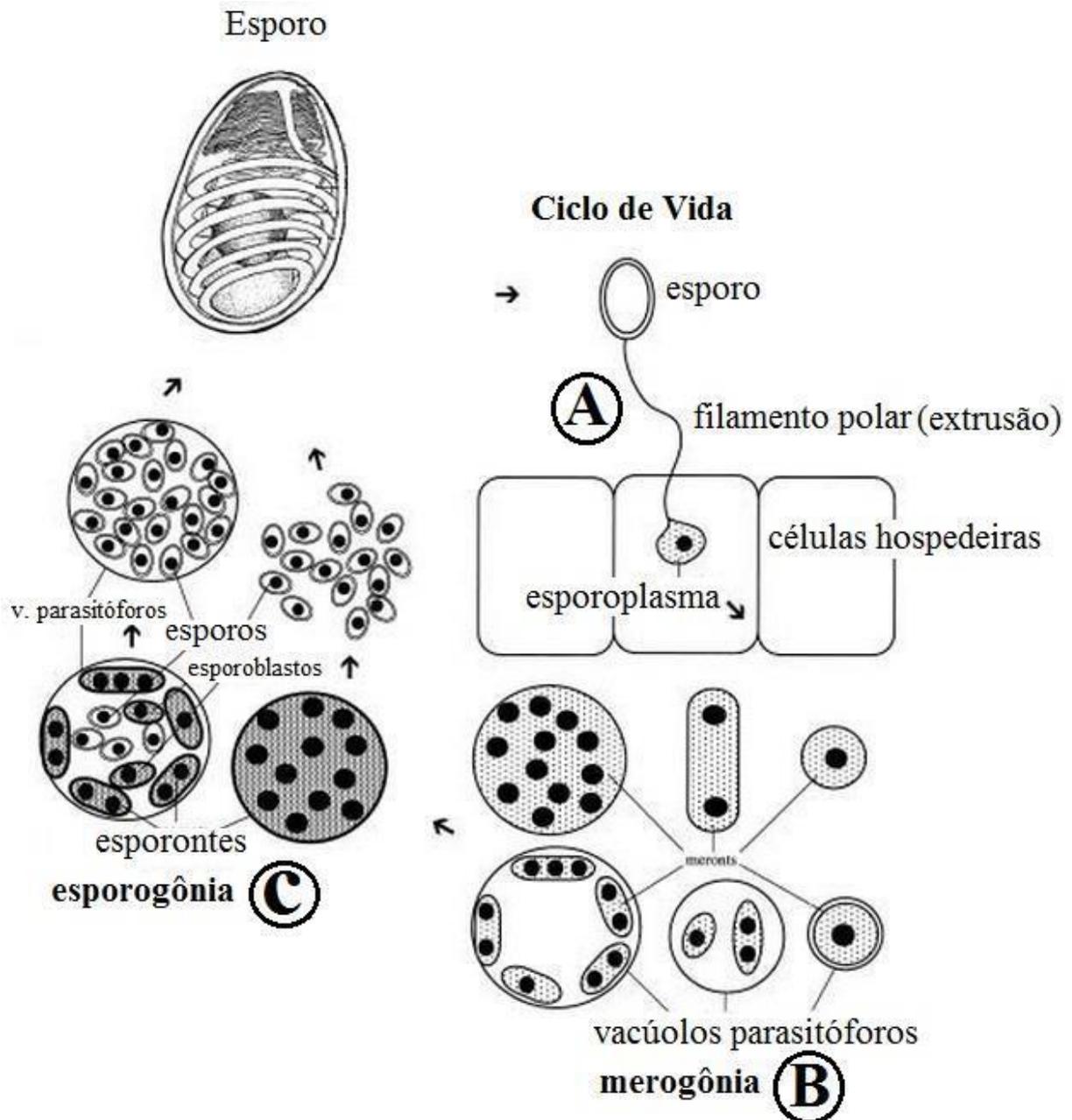
**Figura 11** - Desenho esquemático de um esporo de *Potaspora aequidens* mostrando: disco de ancoragem (DA), polaroplasto (Pp), filamento polar (FP), núcleo (N), parede do esporo (P), vacúolo (Va).



**Fonte:** Adaptado de Videira et al., 2015.

Os microsporídios apresentam modo de infecção considerado sofisticado, pois entram na célula sem serem reconhecido e se protegem das reações de defesa do hospedeiro (WEIDNER, 1972; KEOHANE; WEISS, 1999; CALI et al., 2002). Dentro do hospedeiro em condições favoráveis o tubo polar do microsporídio através da fina extremidade anterior do esporo, penetrando na nova célula hospedeira para inserir os esporoplasmas (Figura 12a), assim inicia-se a fase proliferativa do ciclo de vida, ocorrendo a merogonia (Figura 12b), etapa em que o parasito aumenta massivamente o seu número tornando-se merontes, que na esporogonia se desenvolvem em esporontes, se caracterizando pela aparência de um revestimento superficial denso, então dividem-se em esporoblastos que finalmente se desenvolverão para esporos maduros (Figura 12c), e assim, reiniciam o ciclo (CALI; TAKVORIAN, 1999; VÁVRA; LARSSON, 1999; BIGLIARDI; SACCHI, 2001; MAGALHÃES et al., 2006).

**Figura 12** - Representação esquemática do ciclo de vida dos microsporídios: A - Extrusão do filamento polar e fusão com a célula hospedeira; B - Fase merogônia, onde ocorre a divisão dos merôntes até originar os esporontes; C - Fase esporogônia, onde os esporontes se diferenciam para originar os esporoblastos, e por seguinte, os esporos.

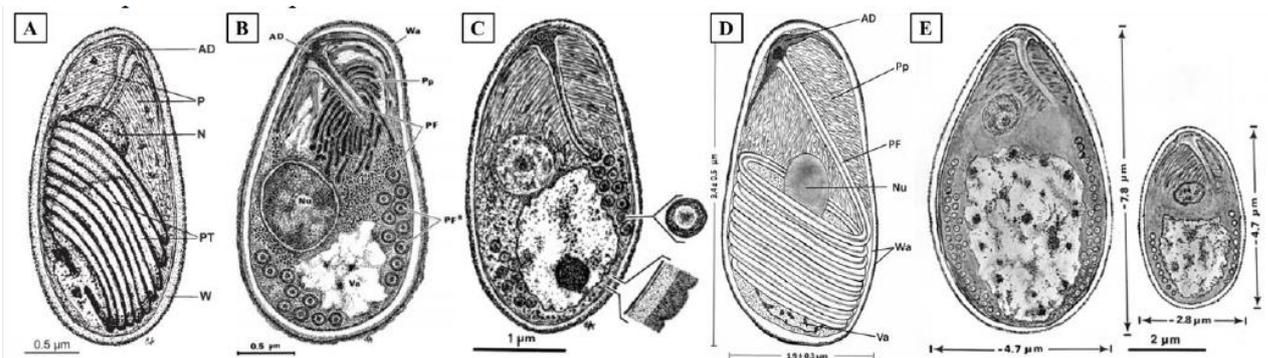


Fonte: FRANZEN E MÜLLER, 1999.

Os esporos precisam estar presentes no ambiente ao qual o hospedeiro vive, e podem ser transportados pelo vento, água e através de outros organismos. Sendo inseridos no hospedeiro de diversas maneiras, onde a forma mais comum é a ingestão via oral dos esporos denominada transmissão horizontal (FIGUEIREDO, 1997; BECNEL; ANDREADIS, 1999).

Na região Amazônica, foram descritas sete espécies de microsporídios parasitando peixes *Loma myrophis* infectando *Myrophis platyrhynchus* (AZEVEDO; MATOS, 2002), *Amazonspora hassar* parasitando *Hassar orestis* (AZEVEDO; MATOS, 2003), *Microsporidium brevirostris* encontrado em *Brachyhypopomus brevirostris* (MATOS; AZEVEDO, 2004), *Potaspota morhaphis* na espécie *Potamorhaphis guianensis* (CASAL et al., 2008b), *Loma psittaca* em *Colomesus psittacus* (CASAL et al., 2009), *Kabatana rondoni* infectando *Gymnorhamphichthys rondoni* (CASAL et al., 2010), *Potaspota aequidens* em *Aequidens plagiozonatus* (VIDEIRA et al., 2015) e *Pleistophora beebei* parasitando *Brachyhypopomus beebei* (CASAL et al., 2016) (Figura 13).

**Figura 13** - Desenho esquemático dos diferentes gêneros de microsporídios: a) *Microsporidium brevirostris*, b) *Potaspota morhaphis*, c) *Kabatana rondoni*, d) *Potaspota aequidens*, e) Macro e micro esporo de *Pleistophora beebei*.



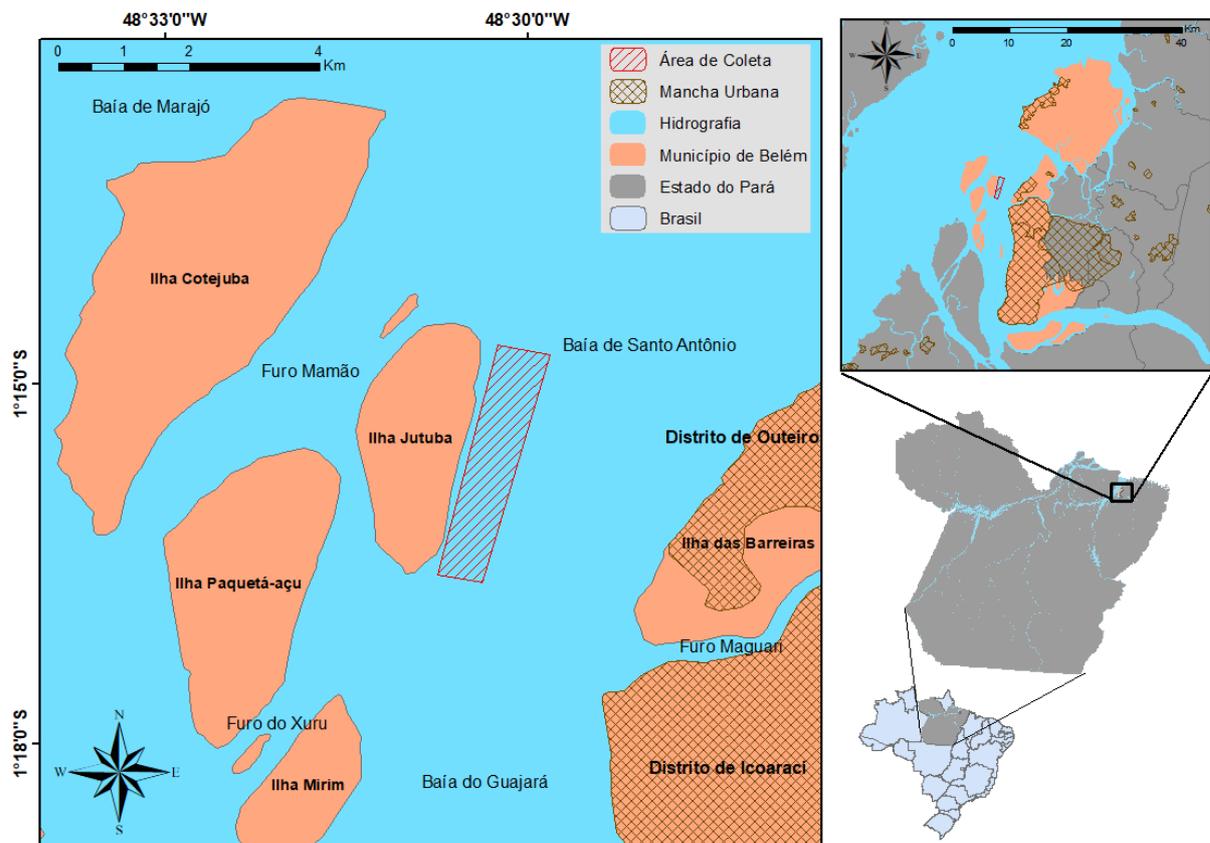
**Fonte:** A) MATOS; AZEVEDO, 2004; B) CASAL et al., 2008b; C) CASAL et al., 2010; D) VIDEIRA et al., 2015; E) CASAL et al., 2016.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Área de Estudo

A área do estudo compreende a margem leste da ilha de Jutuba (Figura 14) está localizada no Estado do Pará, em meio às baías de Santo Antônio e do Guajará. Localiza-se a uma distância de 22,3 km de Belém (Figura 14). A ilha é formada por um terreno de várzeas e terra firme, o acesso é exclusivamente por via fluvial. Distante a 35 minutos em uma viagem de barco, saindo do distrito de Icoaraci.

**Figura 14** – Localização geográfica da área de coleta, na Ilha de Jutuba, Pará.



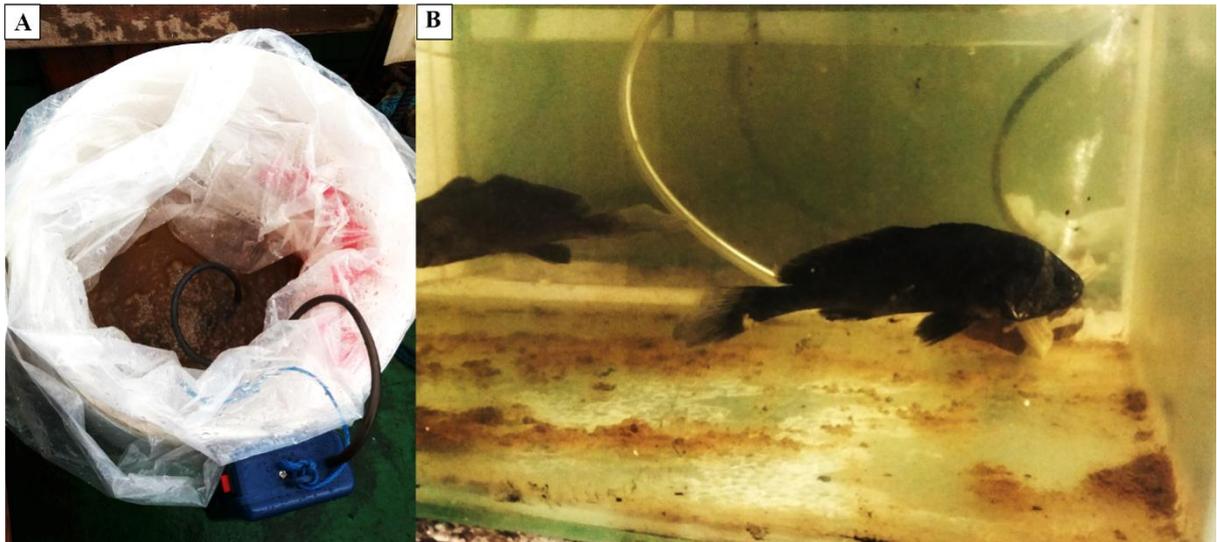
**Fonte:** Autora

### 4.2 Coleta dos Hospedeiros

Os peixes foram coletados bimestralmente, capturando em média de 5 exemplares por espécie com auxílio de apetrechos de pesca como tarrafa e rede de emalhar.

Após a captura, os peixes eram colocados em sacos plásticos dentro de baldes contendo água do ambiente e aeração artificial a pilha, em seguida transportados vivos até o Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo (LPCA) (Figura 15), localizado na Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), campus Belém.

**Figura 15** – A) Exemplos em baldes com água do habitat após captura, com aeração artificial; B) Exemplar de *P. auratus* em aquário após chegar no Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo – LPCA.



Fonte: LPCA (2018).

### 4.3 Procedimentos em Laboratório

Os exemplares foram anestesiados com Tricaína Metano sulfonato (MS222 SIGMA) na concentração de 50mg/L ou através de mielotomia neural, de acordo com CEUA - 013/2014 (Anexo 1).

Em seguida, é realizada a medição do comprimento total (CT) dos peixes, fazendo uso de paquímetro e o peso (P), utilizando balança analítica de precisão.

Analizados em estereomicroscópio, para verificação externa (presença de cistos). Posteriormente, iniciou a necropsia dos animais, para análise dos órgãos internos (brânquias, vesícula biliar, fígado, etc) (Anexo 2).

Após a observação de cistos, pequenos fragmentos de tecido ou órgão foram retirados, comprimidos entre lâmina e lamínula, e analisados em microscópio de luz. Confirmado a presença do microparasito, os órgãos e tecidos foram retirados e fixados para o processamento em microscopia de luz, para verificação de alguma alteração histopatológica e para biologia molecular.

#### 4.3.1 Microscopia de Luz

Para microscopia de luz, os tecidos ou órgão foram retirados e fixados em solução de Davidson (ácido acético, álcool 95%, formaldeído e água destilada), utilizando-se como base a proporção de nove partes de fixador para uma de material biológico (9:1), por 24 h, para inativar as enzimas, e conservar a estrutura celular.

Após a fixação, os fragmentos foram processados conforme o protocolo padronizado pelo LPCA (Anexo 3) passando por uma bateria de desidratação em concentrações de álcool crescente (70%, 80%, 90%, 100% I, 100% II e 100 III), diafanizados em xilol (I e II) e impregnação parafina líquida a 60° C.

Em seguida foi realizado a inclusão do material em blocos de parafina com o auxílio do aparelho Tissue Embedding Center Micron EC350, logo após, iniciou o processo de microtomia com corte a 5µm de espessura, utilizando micrótopo Rotary Microtome Micron HM315, os cortes foram colocados em banho-maria retiradas em lâminas de vidro sendo transferidos a estufa em 60°C para fixação por 24h.

As lâminas com os cortes foram coradas na técnica de rotina do laboratório com Hematoxilina e Eosina (HE), e conforme necessidade foi utilizada a técnica especial Ziehl-Neelsen (ZN) (LUNA, 1968). Após, foram fotografadas com câmera Zeiss AxiocAM Erc 5 acoplada em microscópio Zeiss Primo Star. Sendo utilizado software AxioVision LE para medir as dimensões dos esporos.

#### 4.3.2 Biologia Molecular

Fragmentos de tecidos foram retirados e conservados em álcool etílico 80% e mantidos a - 04°C. A extração do DNA total de cada amostra foi realizada com uso do Pure Link Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen®), seguindo as instruções do fabricante.

Após a extração, foram realizadas as amplificações dos DNA por PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), usando os primers específicos (inicial e final), com auxílio do termociclador Applied Biosystems SimpliAmp™, nas condições da amplificação de 95°C durante 01 min para desnaturação inicial, seguido por 35 ciclos de 95°C durante 15 seg (desnaturação), 55°C 36 durante 15 seg (anelamento) e 72°C por 30 seg (extensão), terminando com 72°C durante 7 min (elongação) e 4,0°C a ∞.

Os produtos da PCR foram corados em azul de bromofenol, passando por eletroforese em gel de agarose 1,5% em tampão TBE e analisados no aparelho de fotodocumentação L-Pix STi. Confirmada a amplificação, as amostras foram purificadas usando o GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit (GE Healthcare), de acordo com especificações do fabricante.

Os procedimentos da biologia molecular foram realizados no Laboratório de Genética Aplicada (LGA/UFRA).

Após purificação, as amostras foram encaminhadas para sequenciamento, que é feito no analisador automático de DNA ABI 3730 (Applied Biosystems™) utilizando o BigDye® v3.1 Cycle Sequencing Ready Reaction kit, conforme com as especificações do fabricante, e para confirmação das mutações observadas, cada amostra é sequenciada com ambos os iniciadores, direto e reverso. As sequências nucleotídicas obtidas foram editadas e alinhadas no programa BioEdit (HALL, 2007). As etapas dos sequenciamentos foram realizadas no ICB – UFPA ou por empresas prestadoras de serviços, seguindo ao alinhamento das sequências e confecção da árvore filogenética.

#### **4.4 Análise dos dados**

A prevalência dos microparasitos foi determinada pela relação  $P = \text{NTPP}/\text{NTPE} \times 100$ , onde NTPP é o número total de peixes parasitados e NTPE é o número total de peixes examinados.

#### **4.5 Análise dos Parâmetros da Água**

Durante o período de coleta foram realizadas medições das variáveis abióticas da água, temperatura, oxigênio, pH com auxílio de um sonda Hanna, e salinidade (salinometro), para verificar se há influencia dos parâmetros na ocorrência dos microparasitos no hospedeiro.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizadas 9 coletas, onde foram capturados 56 exemplares da espécie *A. inermis* e 48 da *P. auratus*. A espécie *A. inermis* apresentou comprimento médio de 23,3 cm (21,0 - 29,5) cm e peso médio de 80,2 g (51,0 g – 163,0 g). Para os exemplares de *P. auratus* o comprimento e peso médio foi de 24,6 cm (11,1 cm – 38,0 cm) e 180,1 g (12,0 g – 489,0 g).

Na análise parasitológica foram identificados microparasitos em diferentes órgãos das espécies (musculatura, fígado, vesícula biliar e bexiga urinaria) (Tabela 1).

**Tabela 1** – Microparasitos analisados nas espécies *A. inermis* e *P. auratus* e o órgão de infecção, capturados na ilha de Jutuba, Belém, Pará.

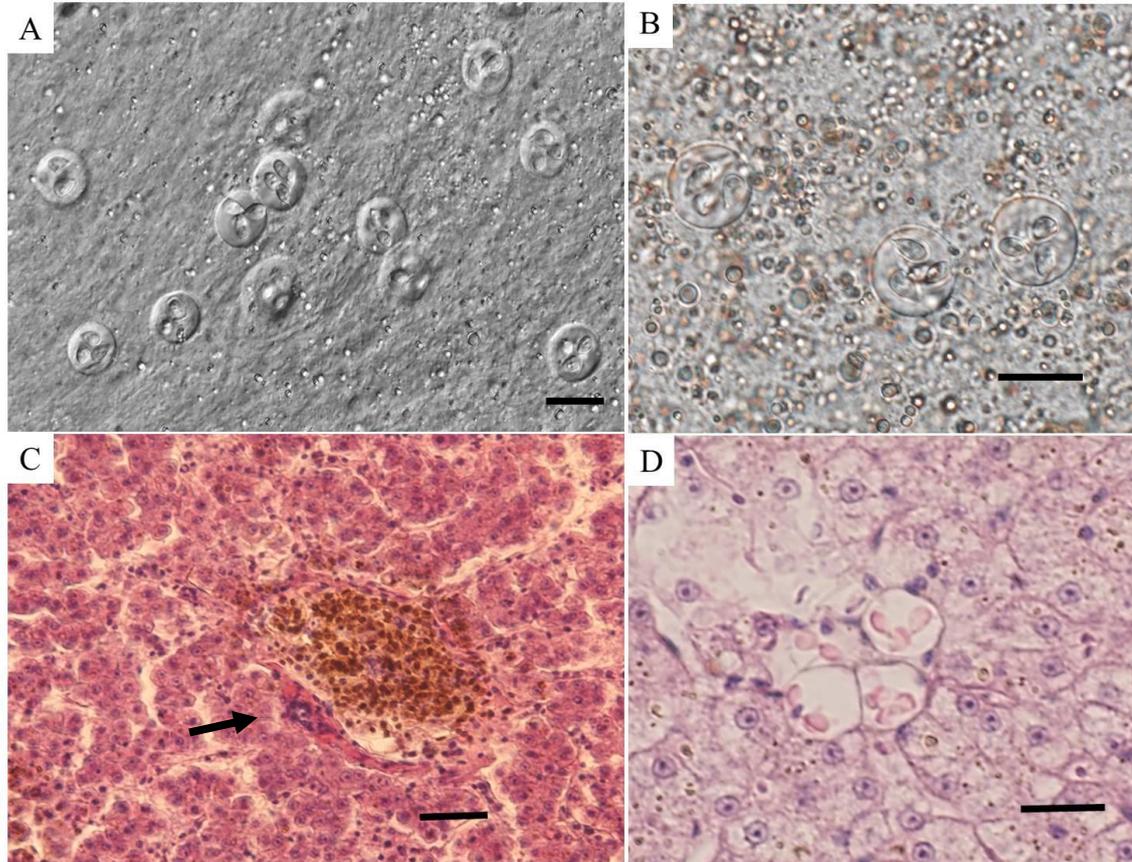
Hospedeiro	Gênero (parasito)	Tecido
<i>A. Inermis</i>	<i>Calyptospora</i>	Fígado
	<i>Ellypsomixa</i>	Vesícula biliar
	<i>Kudoa</i>	Musculatura
	Myxozoa	Bexiga urinaria
<i>P. auratus</i>	<i>Kudoa</i>	Musculatura
	Microsporídeo	Fígado

### 5.1 Descrição de *Calyptospora* sp. no fígado de *A. inermis*

Foram observados a fresco, oocistos de *Calyptospora* maduros distribuídos irregularmente, agrupados ou isolados no fígado, formando vacúolos parasitóforos com quatro esporocistos piriformes, cada um com dois esporozoítos, envolvidos individualmente por uma membrana, composto por um corpo elipsóide com extensão posterior (Figura 16A e B).

A análise histopatológica apresentou centros melanomacrófagos distribuídos pelo fígado, de cor escura variando de castanho a marrom (Figura 16 C). Análise histológica evidenciou oocistos agrupados no parênquima hepático, observado em HE (Figura 16 D).

**Figura 16** – Fotomicrografias em Microscopia de Luz (DIC) de oocistos de *Calyptospora* sp. em *A. inermis*. A) Esporocistos maduros de *Calyptospora* distribuídos no fígado; B) Esporocistos maduros de *Calyptospora* sp. isolados no fígado; C) Corpo melanomacrófago, distribuído pelo órgão, corados em HE; D) Oocistos maduros de *Calyptospora* sp. corados em HE (Escala: 20 µm).



Fonte: LPCA, 2019.

Os corpos melanomacrófágicos são constituídos por células cheias de grânulos pigmentares com coloração castanho escuro, sendo normalmente encontrados nos peixes (MANERA et al., 2000). Segundo Couillard e Hodson (1996) podem ser bioindicadores de poluição ou degradação ambiental. Para Agius e Roberts (2003) esses corpos são depósitos de patógenos resistentes dos esporos parasitos. No estudo realizado por Videira et al. (2013) os corpos são uma resposta do hospedeiro ao microparasita e seu excesso pode indicar uma reação inflamatória das células.

Azevedo et al. (1993) observaram na microscopia eletrônica de transmissão alterações no tecido, hipertrofia nuclear e destruição dos citoplasmas causados por *Calyptospora* sp.

As medidas observadas mostraram oocistos com diâmetro médio de  $18,5 \pm 0,4 \mu\text{m}$ , esporocistos com  $8,7 \pm 0,7 \mu\text{m}$  de comprimento e  $4,3 \pm 0,5 \mu\text{m}$  de largura (Tabela 2), com extensão posterior média de  $2,2 \pm 0,5 \mu\text{m}$  de comprimento. Os dados morfométricos foram semelhantes ao descrito por Bonar et al. (2006) para *Calyptospora* sp1 no *Arapaima gigas* em Manaus.

**Tabela 2** - Medidas comparativas descritivas (média; dp - desvio padrão) de *Calyptospora* sp. e outras espécies do gênero.

Espécie	Hospedeiro	Tecido infectado	Oocisto Diâmetro (µm)	Esporocisto (µm)		Localidade	Referência
				Comprimento	Largura		
<i>Calyptospora</i> sp	<i>Ageneiosus inermis</i>	Fígado	18,5±0,4	8,7±0,7	4,3±0,5	Brasil	Este estudo
<i>C. paranaidji</i> n. sp	<i>Cichla piquiti</i>	Fígado	22,1±1,5	9,7±0,5	4,6±0,6	Brasil	Silva et al. (2018)
<i>Calyptospora</i> sp1	<i>Arapaima gigas</i>	Fígado	19±4,2	9,0±1,4	4,0±0,4	Brasil	Bonar et al. (2006)
<i>Calyptospora</i> sp2	<i>Tetragonopterus chalceus</i>	Intestino	24,5	11,5	4,5	Brasil	Albuquerque e Brasil-Sato (2010)
<i>Calyptospora</i> sp3	<i>Brachyoplatystoma vaillantii</i>	Fígado	20,8	8,9	4,1	Brasil	Silva et al. (2012)
<i>Calyptospora</i> sp4	<i>Brachyoplatystoma rousseauxii</i>	Fígado	28,6	11,3	6,5	Brasil	Dias (2013)
<i>C. funduli</i>	<i>Fundulus</i> sp.	Fígado	25±1,5	10±1	6±1	USA	Duszynski et al. (1979)
<i>C. empristica</i>	<i>Fundulus notti</i>	Fígado	22±2,4	9±1,5	5,4±1,5	USA	Fournie et al. (1985)
<i>C. serrasalmi</i>	<i>Serrasalmus</i> spp.	Fígado	23,8±1,5	11±0,7	5,7±0,5	Brasil	Cheung et al. (1986)
<i>C. tucunarensis</i>	<i>Cichla ocellaris</i>	Fígado	24,3±2,1	8,3±1,3	3,7±1,1	Brasil	Békési and Molnár (1991)
<i>C. spinosa</i>	<i>Crenicichla lepidota</i>	Fígado	22,3±1,6	9,2±0,4	3,9±0,4	Brasil	Azevedo et al. (1993)
<i>C. serrasalmi</i>	<i>Serrasalmus striolatus</i>	Fígado	25,4±0,6	11,7±1	5,9±0,4	Brasil	Casal et al. (2007)

A prevalência de infecção foi de 27% sendo inferior aos estudos realizados por Azevedo et al. (1993) e Silva et al. (2012) que observaram ocorrência de 63% e 60% de *Calyptospora* sp. no fígado, provenientes do estado do Pará e superior ao encontrado por Albuquerque e Brasil-Sato (2010) com 6,35% observado no intestino de *Tetragonopterus chalceus* em Minas Gerais.

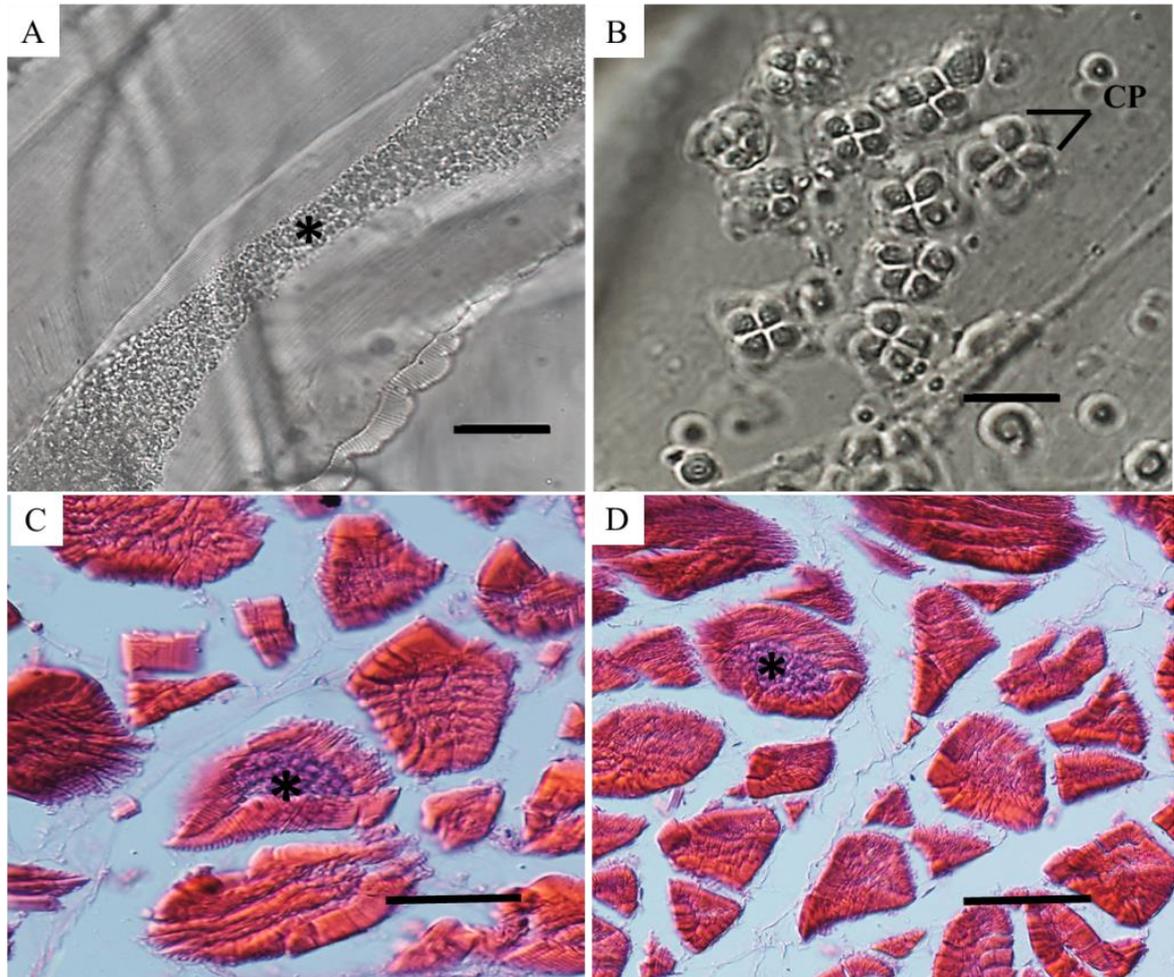
Os resultados deste estudo indicam que os corpos melanomacrofágicos estão relacionados na resposta do hospedeiro ao parasita. Este é o primeiro registro de *Calyptospora* sp. em *A. inermis* na ilha Jutuba.

## **5.2 Descrição de *Kudoa* sp. na musculatura de *A. inermis***

Na análise morfológica da musculatura estriada esquelética de *A. inermis*, foram observados a presença de pseudocistos na região hipo e epaxial dos exemplares analisados (Figura 17A), e quando rompidos, foram liberados esporos de mixosporídios apresentando formato pseudo-quadrado, com quatro cápsulas polares piriformes de tamanho igual, no seu interior (Figura 17B), características morfológicas do gênero *Kudoa*. Não foi possível observar o número de voltas do filamento polar. O exame histológico evidenciou que o parasita se desenvolveu intracelularmente nas miofibrilas, observadas em He, apresentando no corte histológico a formação cística dentro de uma única fibra muscular (Figura 17 C e D).

A prevalência parasitária foi de 40%, sendo inferiores as infecções observadas em outras espécies de *Kudoa* sp. como *K. viseuensis* em *Batrachoides surinamensis* com 86% (MONTEIRO et al., 2019), 85% de *K. orbicularis* em *Trachelyopterus galeatus* (SANTOS et al., 2019), 100% de *K. orbicularis* em *Chaetobranchopsis orbicularis* e 91% de *K. inortata* em *Cynoscion nebulosus* (DYKOVÁ et al., 2009).

**Figura 17** - Fotomicrografias de Luz (DIC) de *Kudoa* sp. em *A. inermis*. A) Observação a fresco de pseudocisto de *Kudoa* sp. nas fibras da musculatura estriada esquelética (\*) (Escala: 50  $\mu$ m); B) Esporos maduros de *Kudoa* sp. apresentando quatro cápsulas polares (CP) (Escala: 10  $\mu$ m). C e D) Corte transversal mostrando pseudocisto de *Kudoa* sp. ocupando porção central da fibra muscular (\*) (Escala: 50 $\mu$ m).



Fonte: LPCA, 2019.

Nos dados morfométricos os esporos apresentaram média de  $7,5 \pm 1,7 \mu\text{m}$  de comprimento e  $4,4 \pm 1,0 \mu\text{m}$  de largura, com capsula polar de  $3,0 \pm 0,8 \mu\text{m}$  de comprimento e  $2,4 \pm 0,6 \mu\text{m}$  de largura, na visão apical (Tabela 3). O comprimento do esporo foi semelhante ao *K. viseuensis* em *Batrachoides surinamensis* (Bloch & Schneider, 1801) no estudo realizado por Monteiro et al. (2019) na região amazônica. O comprimento e largura das cápsulas polares foram superiores aos estudos relatados para espécies deste gênero.

**Tabela 3** - Medidas comparativas descritivas (média; dp - desvio padrão; mínimo e máximo) de *Kudoa* sp. e outras espécies do gênero.

Espécie	Hospedeiro	Tecido infectado	Morfologia do esporo	Esporo (µm)		Capsula polar (µm)		Localidade	Referências
				Comprimento	Largura	Comprimento	Largura		
<i>Kudoa</i> sp	<i>Ageneiosus</i>	Músculo	Pseudo-quadrado	7,1±1,0	4,4±1,0	3, 0±0,8	2,4±0,6	Brasil	Presente estudo
				(6,2-8,0)	(3,8-6,3)	(2,1-3,4)	(1,8-2,6)		
<i>K. orbicularis</i>	<i>Trachelyopterus galeatus</i>	Músculo	Pseudo-quadrado	4,65 (4,04-5,54)	5,25 (4,78-5,98)	2,22 (2,05-2,32)	1,53 (1,56-1,74)	Brasil	Santos et al. (2019)
<i>K. viseuensis</i>	<i>Batrachoides surinamensis</i>	Músculo	Pseudo-quadrado	7,1±0,2 (6,9-7,4)	5,2±0,2 (5,1-5,4)	1,8±0,1 (1,6-2,0)	1,3±0,1 (1,1-1,5)	Brasil	Monteiro et al (2019)
<i>K. orbicularis</i>	<i>Chaetobranchopsis orbicularis</i>	Músculo	Pseudo-quadrado	4,4 – 4,8	5,0 – 5,6	1,4 – 2,0	1,2 – 1,6	Brasil	Sindeaux-Neto et al., (2017)
<i>K. pleurogrammi</i>	<i>Pleurogrammus monopterygius</i>	Músculo	Subquadrado	6,3 (5,6 – 8,8)	8,6 (8,2 – 9,1)	2,8 (2,7- 2,8)	1,6 (1,4 – 2,0)	USA	Kasai et al. (2016)
<i>K. orbicularis</i>	<i>Chaetobranchopsis orbicularis</i>	Músculo	Quadrado arredondado	4,3 (3,6–5,0)	5,1 (4,2–5,8)	2,1 (1,7–2,6)	1,3 (0,9–1,7)	Brasil	Azevedo et al. (2016)
<i>K. islandica</i>	<i>Cyclopterus lumpus</i>	Musculatura esquelética	Quadrado arredondado	4,8 (4,1–5,1)	7,4 (6,5–8,6)	1,7 (1,4–1,9)	1,5 (1,2–1,8)	Islândia	Kristmundsson e Freeman, (2014)
<i>K. inornata</i>	<i>Cynoscion nebulosus</i>	Musculatura esquelética	Quadrado arredondado	5,4 (5,3–5,5)	5,9 (5,8–6,0)	2,7	-	USA	Dyková et al. (2009)
<i>K. aequidens</i>	<i>Aequidens plagiozonatus</i>	Musculatura sub opercular	Quadrado ou pseudo-quadrado	3,2 (2,9–3,5)	6,8 (6,2–7,1)	2,2 (2,0–2,6)	1,2 (1,1–1,5)	Brasil	Casal et al. (2008)

Algumas espécies de kudoides podem ser agentes patogênicos importantes nas pescarias comerciais e na aquicultura, devido à sua patologia no hospedeiro como *Kudoa yasunagai* que infecta o cérebro, causando deformação na coluna vertebral; *Kudoa thyrsites* (WHIPPS; KENT, 2006) e *Kudoa lateolabracis* (YOKOYAMA et al., 2004), que provocam extensa necrose post-mortem induzindo a degradação do tecido; *Kudoa amamiensis* (BURGER et al., 2008) e *Kudoa islandica* (KRISTMUNDSSON; FREEMAN, 2014) são agentes responsáveis pela formação de cisto inespecífico em filés de peixe; e *Kudoa septempunctata* causador de intoxicação alimentar (KAWAI et al., 2012).

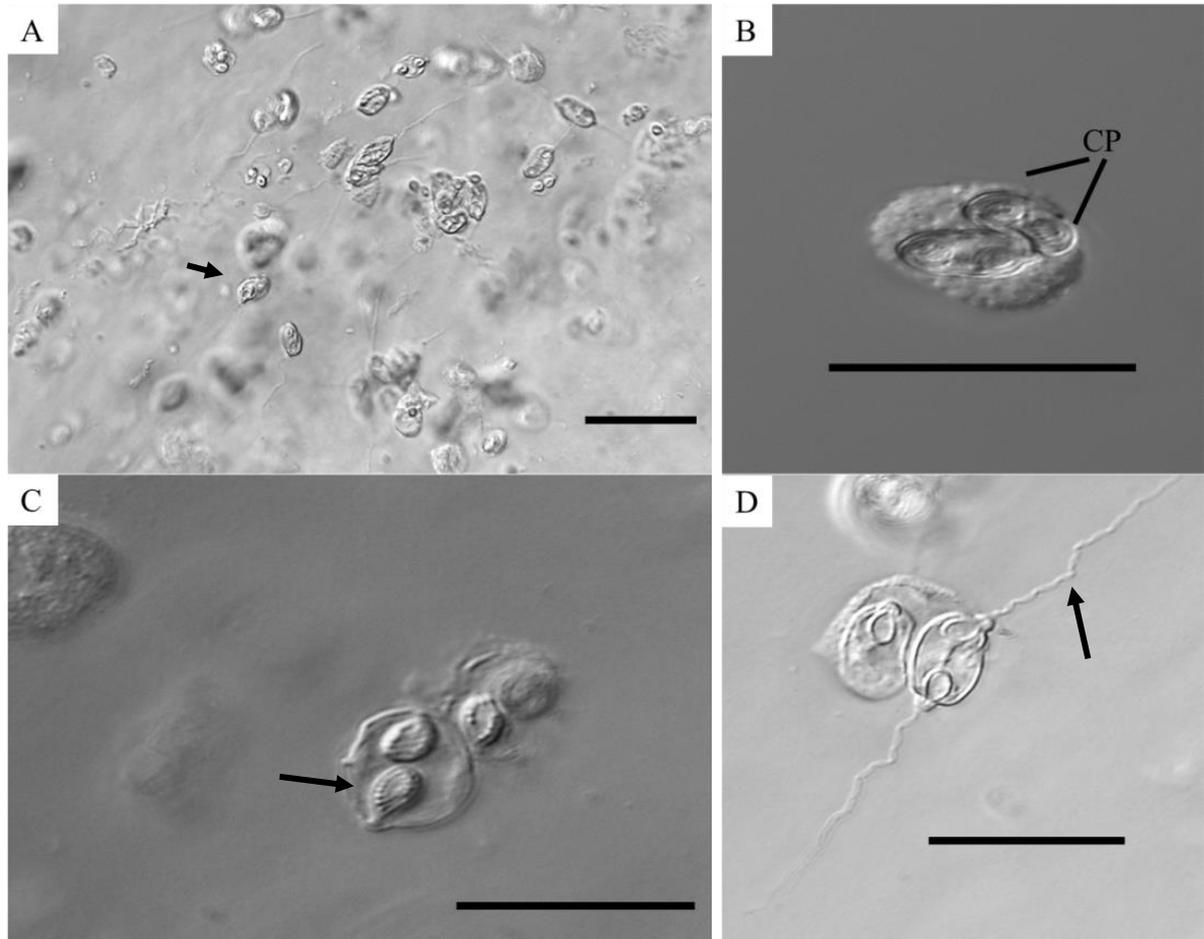
O estudo não evidenciou nenhum sinal de mioliquefação ou qualquer outra resposta referente à presença de *Kudoa* sp., semelhante ao estudo de Andrada et al. (2005) na musculatura de em *Trichiurus lepturus*, Shirakash et al. (2014) no tecido muscular de *Calotomus japonicus* e Santos et al. (2019) no músculo de em *Trachelyopterus galeatus*. Este é o primeiro relato do gênero para a espécie *A. inermis*.

### 5.3 Descrição de *Ellipsomyxa* sp. na vesícula biliar de *A. inermis*

Na vesícula biliar dos exemplares foi observado no líquido do órgão esporos do gênero *Ellipsomyxa* (Figura 18 A). Esporos maduros com formato ligeiramente alongados, com duas cápsulas polares esféricas de tamanhos iguais, em lados opostos (Figura 18 B). Apresentando filamento polar com 6 a 7 voltas (Figura 18 C). Foram observados esporos sem conteúdo celular, apresentando a extrusão do filamento polar (Figura 18 D).

A prevalência do microparasito foi de 65%, semelhante ao estudo realizado por Silva et al. (2018) que observaram 67% *E. arariensis* em *Pigocentrus natterer*. Resultado considerado elevado quando comparado ao *E. amazonensis* em *B. rousseauxii* com 23,5% e *E. gobioides* em *G. broussonnetii* com 45% (AZEVEDO et al., 2013). Porém, abaixo dos valores quando comparados ao *E. adlardi* em *Gobiosoma bosc* com 72,2% (WHIPPS; FONT, 2013) e *E. arariensis* em *P. ornatus* com 84% Silva et al. (2018).

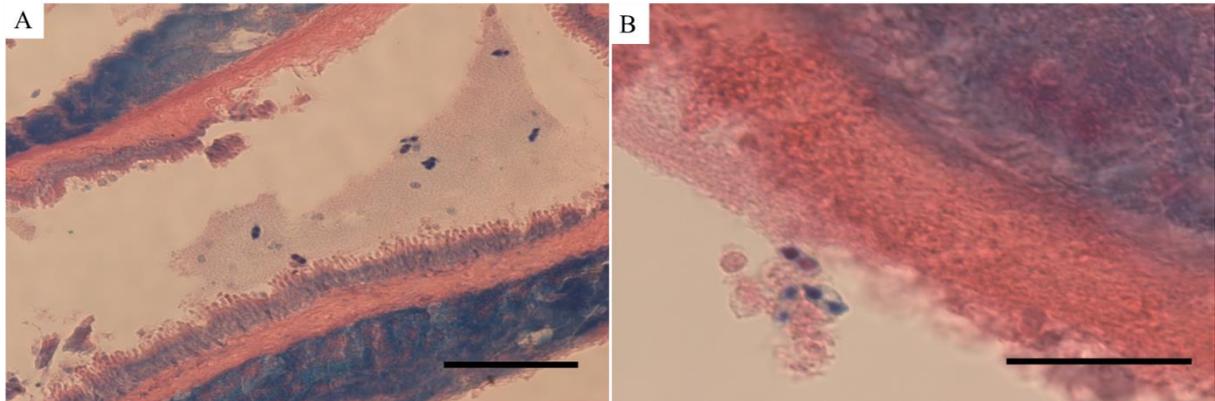
**Figura 18** - Fotomicrografias de luz (DIC) de *Ellipsomyxa* sp. em *A. inermis*: A) Esporo maduro de *Ellipsomyxa* sp. presente no líquido da vesícula biliar (Escala: 30  $\mu$ m). B) Esporo maduro de *Ellipsomyxa* sp. evidenciando as cápsulas polares (CP) (Escala: 20  $\mu$ m). C) Observação do filamento polar (Escala: 20  $\mu$ m). D) Esporo de *Ellipsomyxa* sp. realizando o processo de extrusão do filamento polar (Escala: 20  $\mu$ m).



Fonte: LPCA, 2019.

Por meio das técnicas histológicas, observou-se em ZN a presença do *Ellipsomyxa* sp. livres no líquido vesical com as cápsulas polares destacadas (Figura 19 A) e esporos aderidos a parede da vesícula biliar (Figura 19 B).

**Figura 19** – Corte histológico da vesícula biliar de *A. inermis*, pela técnica de coloração ZN. A) Esporos de *Ellipsomyxa* sp (Escala: 50µm). B) Esporos de *Ellipsomyxa* sp aderidos a parede da vesícula biliar (Escala: 30µm).



Fonte: LPCA, 2019.

Não foi observado nenhuma modificação na coloração da vesícula biliar do hospedeiro, diferindo dos estudos realizados por Morrison et al. (1996) e Thabet et al. (2016) que apresentaram alteração na cor da bile. Segundo Morrison et al., (1996) vários tipos de mixosporídeos podem ocasionar essa mudança, como também apresentar necrose celular no epitélio.

Os membros do gênero *Ellipsomyxa* sp. infectam tipicamente a vesícula biliar dos peixes (WHIPPS; FONT, 2013). A maioria dos hospedeiros são peixes marinhos diferindo deste estudo. Entretanto, Azevedo et al. (2013) no estudo de *E. gobioides* explica que se o hospedeiro dividir o seu ciclo de vida entre ambientes estuarinos e de água doce, a infecção do parasito no hospedeiro provavelmente ocorre na fase estuarina.

Os esporos de *Ellipsomyxa* sp. encontrados apresentaram média de  $13,1 \pm 1,0$  µm de comprimento e  $8,0 \pm 0,8$  µm de largura, as cápsulas polares possuíam  $4,9 \pm 0,3$  µm de comprimento e  $3,2 \pm 0,6$  µm de largura (Tabela 4).

Morfometricamente o *Ellipsomyxa* sp. se aproxima do comprimento do esporo de *E. amazonensis* em *Brachyplatystoma rousseauxii* (ZATTI et al., 2018), entretanto, o *E. amazonenses* apresenta comprimento das cápsulas polares menores e menos voltas no filamento polar, o que pode sugerir uma nova espécie do presente estudo, porém é necessário análise molecular para confirmação.

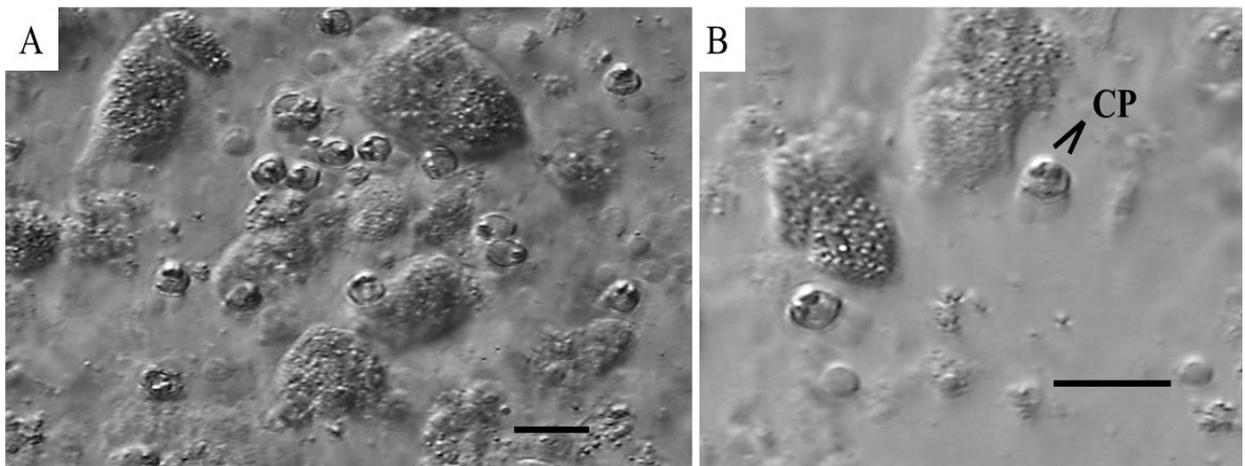
**Tabela 4** - Medidas comparativas descritivas (média; dp - desvio padrão; mínimo e máximo) de *Ellipsomyxa* sp. e outras espécies do gênero. N – Número de voltas do filamento polar.

Espécie	Hospedeiro	Morfologia do esporo	Esporo (µm)		Capsula polar (µm)		N	Localidade	Referências
			Comprimento	Largura	Comprimento	Largura			
<i>Ellipsomyxa</i> sp	<i>Ageneiosus inermis</i>	Elipsóide	13,1±1,0 (11,9-14,4)	8,0±0,8 (7,2-9,4)	4,9±0,3 (4,4-5,4)	3,2±0,6 (2,6-3,9)	6 a 7	Ilha de jutuba	Presente estudo
<i>Ellipsomyxa arariensis</i>	<i>Pigocentrus nattereri</i>	Elipsóide	12,6 (12,0–13,4)	7,3 (6,7–8,0)	3,5 (3,4–4,0)	2,6 (2,5–3,2)	5 a 6	Cachoeira do Arari	Silva et al., (2018)
<i>Ellipsomyxa amazonenses</i>	<i>Brachyplatystoma rousseauxii</i>	Elipsóide	12,80 (12,3–13,6)	7,6 (6,7–8,7)	3,8 (3,8–4,0)	3,1 (2,5–3,4)	2 a 3	Santarém	Zatti et al., (2018)
<i>Ellipsomyxa kalthoumi</i>	<i>Liza saliens</i>	Elipsóide	17,2 (13–21)	13,2 (10–15)	5,5 (5–6)	-	9	Tunisia	Thabet et al. (2016)
<i>Ellipsomyxa manilensis</i>	<i>Arothron manilensis</i>	Ovoide	15,2 (13,8–17,1)	11,8 (10,2–13,3)	5,6 (4,6–6,6)	4,5 (4,2–5,0)	3 a 4	Australia	Heiniger; Adlard (2014)
<i>Ellipsomyxa arothroni</i>	<i>Arothron hispidus</i>	Ovoide	14,5 (11,3–16,0)	12,2 (9,4–13,8)	5,5 (4,5–6,7)	4,2 (3,1–5,0)	5 a 6	Australia	Heiniger; Adlard (2014)
<i>Ellipsomyxa adlardi</i>	<i>Gobiosoma bosc</i>	Elipsóide	12,4 (11,3–14,4)	7,7 (7,1–8,8)	4,3 (3,9–4,9)	3,6 (3,3–4,1)	5 a 6	USA	Whipps; Font (2013)
<i>Ellipsomyxa gobii</i>	<i>Pomatoschistus micros</i>	Elipsóide	7,0 (6,6–7,5)	8,7 (8,0–9,0)	3,1 (3,0–3,2)	-	6 a 7	Denmark	Køie (2003)

#### 5.4 Descrição de myxozoa não identificado na bexiga urinária de *A. inermis*

Foram observados na bexiga urinária de *A. inermis* plasmódios polimórficos, com variados formatos e esporos maduros não identificados de myxozoa, no líquido da bexiga (Figura 20A). Os esporos apresentaram características arredondadas, sendo observado duas projeções na região posterior, uma em cada valva. Apresentavam em seu interior duas cápsulas polares, formato semelhante aos pertencentes ao filo Cnidaria. Conforme a descrição de Lom e Dyková (2006) (Figura 20B).

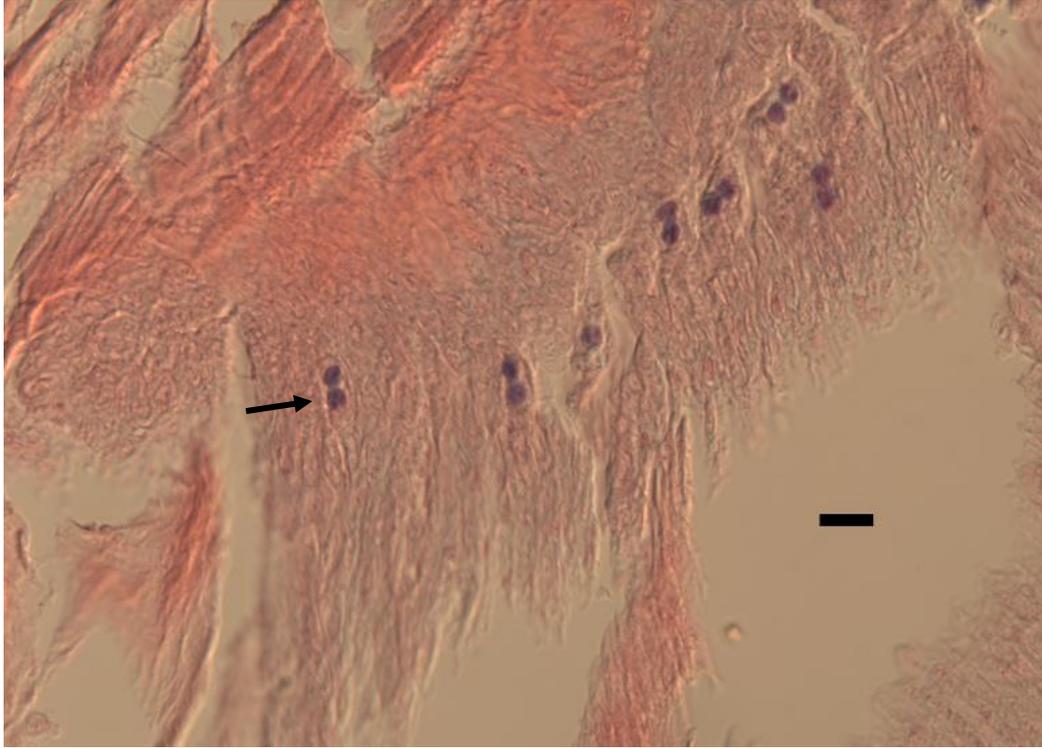
**Figura 20** - Fotomicrografias de luz (DIC) de myxozoa não identificado. em *A. inermis* A) Plasmódios irregulares, esporo maduro de mixosporídios não identificados na bexiga urinária de *A. inermis* (Barra de escala: 10  $\mu$ m). B) Esporos de myxozoário não identificado com destaque para as cápsulas polares (CP) (Barra de escala: 10  $\mu$ m).



Fonte: LPCA, 2019.

O corte histológico da bexiga urinária coradas pelas técnicas de Ziehl-Neelsen revelou plasmódios e esporos dispersos na parede da bexiga urinária (Figura 21).

**Figura 21** - Fotomicrografia de secções histológicas de esporos myxozoa não identificado em *A. inermis* apresentando esporos corados pela técnica de ZN (Barra de escala: 30  $\mu\text{m}$ ).



**Fonte:** LPCA, 2019.

O espora apresentou morfometria média de  $6,1 \pm 0,2$  ( $5,7-6,3$ )  $\mu\text{m}$  de comprimento e  $5,5 \pm 0,3$  ( $5,2-6,0$ )  $\mu\text{m}$  de largura. As paredes dos esporos eram compostas por duas válvulas simétricas. Dentro dos mixosporos estavam contidas duas cápsulas polares, iguais e sub esféricas com  $2,5 \pm 0,2$  ( $2,3-2,7$ )  $\mu\text{m}$  de comprimento e  $1,7 \pm 0,2$  ( $1,4-2,2$ )  $\mu\text{m}$  de largura, com prevalência de infecção de 86,7%.

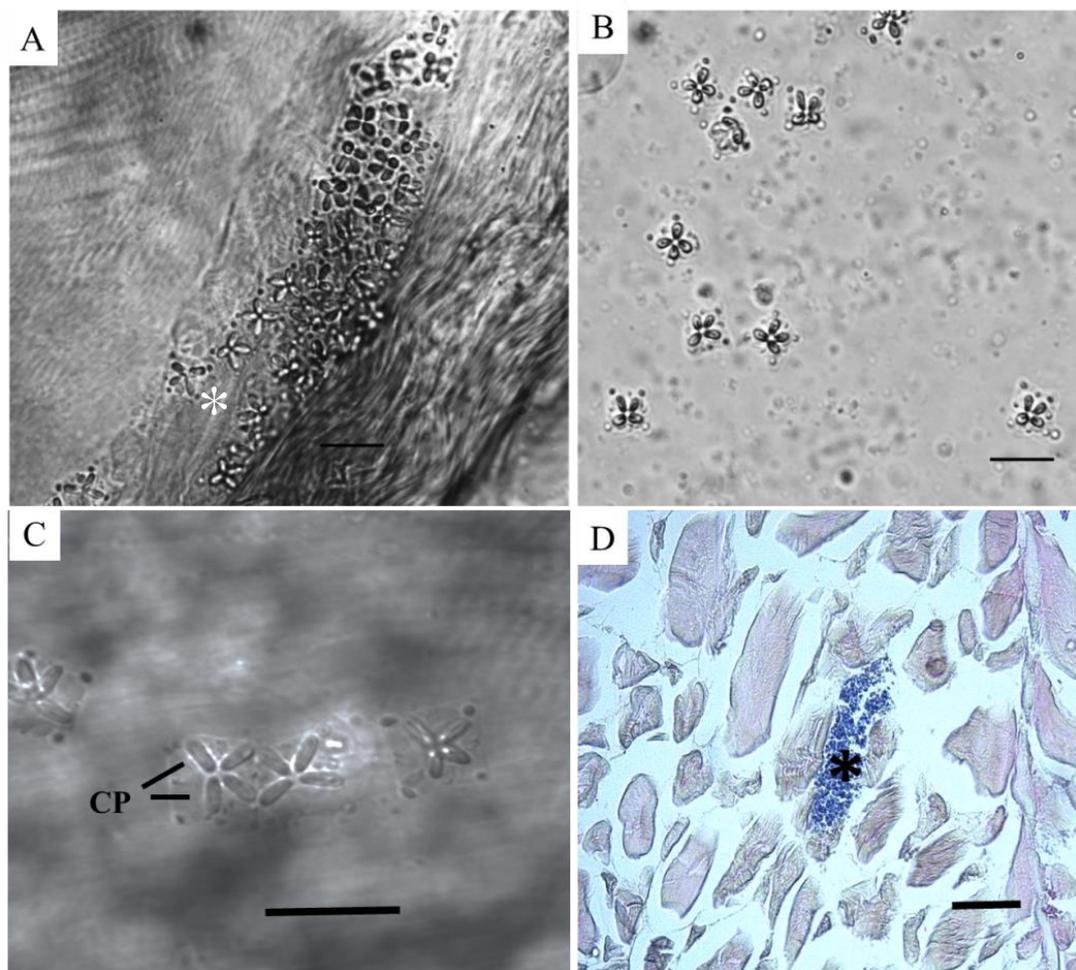
Os hospedeiros analisados não apresentaram sinais externos de infecção ou doença, nem mortalidade registrada. Apesar das características descritas do microparasita, não foi possível realizar a sua identificação como espécie ou gênero pela sua morfologia. Uma sequencia com pares de bases foi obtida para realização da identificação da espécie, ao qual está sendo realizado o artigo.

### 5.5 Descrição de *Kudoa* sp. na musculatura em *P. auratus*

Nos exemplares analisados foi observado mioliquefação da musculatura dos peixes, sendo identificada a presença de cistos localizados na musculatura estriada esquelética e quando comprimidos entre lâminas e lamínulas foram visualizados esporos de mixosporídios pertencentes ao gênero *Kudoa* sp. (Figura 22A e B). Em seguida foi observado o formato pseudoquadrado e suas quatro capsulas polares piriformes alongadas de tamanho igual (Figura 22C). O número de voltas do filamento polar não foi identificado.

No corte histológico o *Kudoa* sp. se apresentou entre a fibra muscular com a técnica ZN (Figura 22D).

**Figura 22** - Fotomicrografias de Luz (DIC) de *Kudoa* sp. em *P. auratus*. A) Observação a fresco de pseudocisto de *Kudoa* sp. nas fibras da musculatura estriada esquelética (\*) (Escala: 10  $\mu$ m); B) Esporos maduros de *Kudoa* sp dispersos (Escala: 10  $\mu$ m). C) Esporos maduros de *Kudoa* sp. apresentando quatro capsulas polares (CP) (Escala: 20  $\mu$ m). D) Corte histológico transversal apresentando o *Kudoa* sp na fibra muscular corada na técnica ZN (\*) (Escala: 50  $\mu$ m).



Fonte: LPCA, 2019.

A miolequefação do músculo torna-a inviável ao consumo, acarretando na diminuição da aceitação comercial do pescado (LOM; DYKOVÁ, 1992; VAZ, 2000; WOO, 2006).

Os exemplares apresentaram prevalência de 35%, considerado baixo comparado ao estudo de Oliveira et al. (2015) que observou 100% pro *Kudoa* sp. em *Plagioscion squamosissimus* na região amazônica, num exemplar do mesmo gênero deste estudo.

A morfometria dos esporos de *Kudoa* sp. na vista apical apresentou média de  $13,8 \pm 0,8$   $\mu\text{m}$  de comprimento e  $6,0 \pm 0,4$   $\mu\text{m}$  de largura. A capsula polar possui média de  $5,8 \pm 0,2$   $\mu\text{m}$  de comprimento e  $2,3 \pm 0,2$   $\mu\text{m}$  de largura (Tabela 6).

A largura do esporo se aproximou do *Kudoa* sp. quadrado ou pseudoquadrado em *P. squamosissimus* no estudo realizado por Oliveira et al. (2015), a largura da cápsula polar se aproximou do *K. lemniscati* em *Lutjanus lemniscatus* no estudo realizado por Miller e Adlard, (2012). O comprimento do esporo e da capsula polar apresentaram medidas superiores das espécies de *Kudoa* sp. descritas, o que pode indicar uma nova espécie, entretanto é necessário análise de biologia molecular para a confirmação.

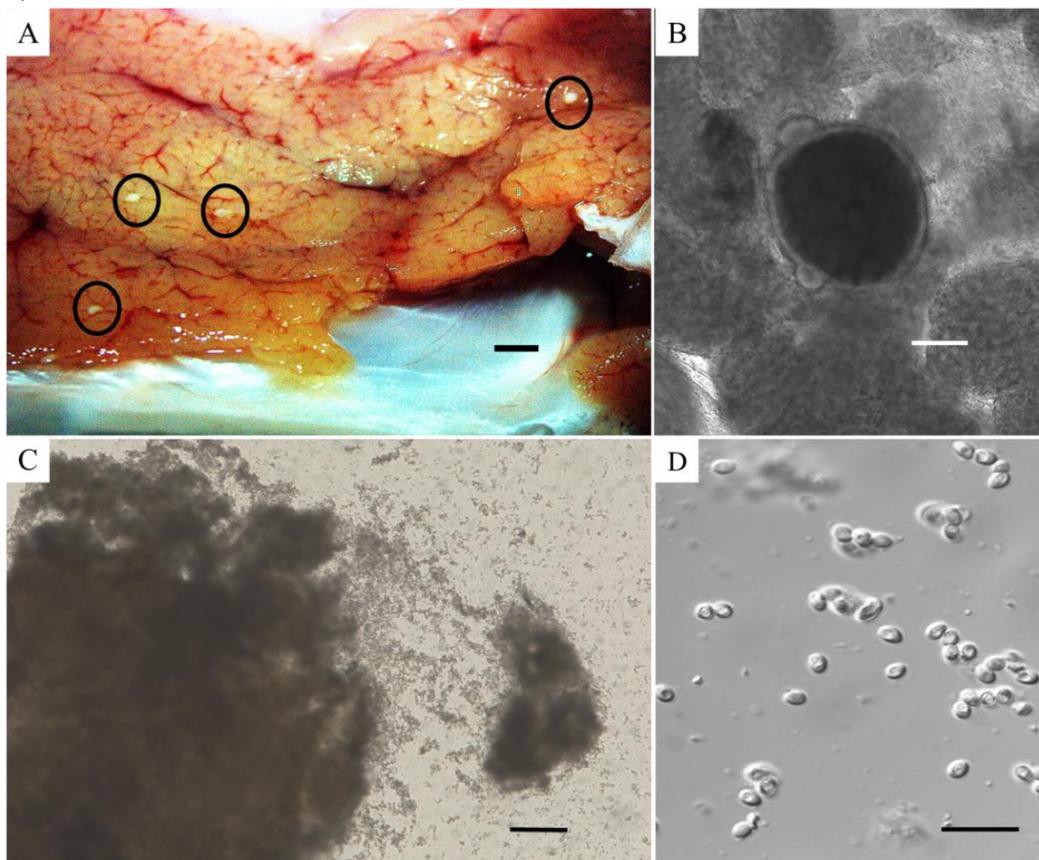
**Tabela 6** - Medidas comparativas descritivas (média; dp - desvio padrão; mínimo e máximo) de *Kudoa* sp. e outras espécies do gênero.

Espécie	Hospedeiro	Tecido infectado	Morfologia do esporo	Esporo (µm)		Capsula polar (µm)		Localidade	Referências
				Comprimento	Largura	Comprimento	Largura		
<i>Kudoa</i> sp	<i>Plagioscion auratus</i>	Músculo	Pseudoquadrado	13,8±0,8 (12,4-14,9)	6,0±0,4 (5,4-6,5)	5,8±0,2 (5,5-6,0)	2,3±0,2 (2,0-2,6)	Brasil	Presente estudo
<i>Kudoa</i> sp	<i>Plagioscion squamosissimus</i>	Músculo	Estrelado	9,70 ± 0,14 (9,6-9,85)	9,33 ± 0,25 (9,15-9,5)	3,63 ± 0,18 (3,5-3,75)	1,15 ± 0,14 (1,05-1,25)	Brasil	Oliveira et al. (2015)
<i>Kudoa</i> sp	<i>Plagioscion squamosissimus</i>	Músculo	Quadrado/ Pseudoquadrado	5.63±0.18 (5.6-5.85)	5.60±0.07 (5.40-5.60)	1.75±0.24 (1.4-2.00)	0.98±0.06 (0.90-1,1)	Brasil	Oliveira et al. (2015)
<i>K. thunni</i>	<i>Thunnus alalunga</i>	Músculo	Pseudoquadrado	6.5 (6.4–6.6)	9.5 (9.2–9.9)	2.5 (2.2–2.9)	2.1 (1.9–2.2)	Japão	Matsukane et al., (2011)
<i>K. viseuensis</i>	<i>Batrachoides surinamensis</i>	Músculo	Pseudoquadrado	7,1±0,2 (6,9-7,4)	5,2±0,2 (5,1-5,4)	1,8±0,1 (1,6-2,0)	1,3±0,1 (1,1-1,5)	Brasil	Monteiro et al (2019)
<i>K. lemniscati</i>	<i>Lutjanus lemniscatus</i>	Músculo	Pseudoquadrado	-	15.7±0.6 (14.1-16.6)	4.2±0.4 (3.7–5.1)	2.3±0.2 (1.9–2.6)	Austrália	Miller e Adlard, (2012)
<i>K. pleurogrammi</i>	<i>Pleurogrammus monopterygius</i>	Músculo	Subquadrado	6.3 (5.6 – 8.8)	8.6 (8.2 - 9.1)	2.8 (2.7- 2.8)	1.6 (1.4 – 2.0)	USA	Kasai et al. (2016)
<i>K. orbicularis</i>	<i>Chaetobranchopsis orbicularis</i>	Músculo	Quadrado arredondado	4.3 (3.6–5.0)	5.1 (4.2–5.8)	2.1 (1.7–2.6)	1.3 (0.9–1.7)	Brasil	Azevedo et al. (2016)
<i>K. ogawai</i>	<i>Hyperoglyphe japônica</i>	Musculatura esquelética	Pseudoquadrado	8.93 (8.3–9.6)	13.29 (12.0– 14.2)	2.45 (1.9–3.2)	2.48 (1.7–3.0)	Japão	Yokoyama et al., (2012)b
<i>K. islandica</i>	<i>Cyclopterus lumpus</i>	Musculatura esquelética	Quadrado arredondado	4.8 (4.1–5.1)	7.4 (6.5–8.6)	1.7 (1.4–1.9)	1.5 (1.2–1.8)	Islândia	Kristmundsson e Freeman (2014)

### 5.6 Descrição de Microsporidio no fígado de *P. auratus*

No fígado dos espécimes foram observadas alterações na coloração e xenomas de coloração esbranquiçada (Figura 23A), arredondados revestidos por uma parede espessa (Figura 23B) e quando comprimidos entre lâmina e lamínula liberaram inúmeros esporos (Figura 23C), de formato elipsoidal com as extremidades arredondadas (Figura 23D), identificados como pertencentes ao Filo Microsporidia. O filamento polar e o número de voltas não foram observados.

**Figura 23** – Fotomicrografia de luz de Microsporidio em *P. auratus* - A) Cistos esbranquiçados de Microsporidio observados no fígado de *P. auratus* (Barra de escala: 500 $\mu$ m). Fotomicrografia (DIC)- B) Cisto arredondado de Microsporidio apresentando parede espessa (Barra de escala: 50 $\mu$ m). C) Cisto rompido (Barra de escala: 50 $\mu$ m). D) Esporo elipsoidal com extremidades arredondadas, dispersos após o rompimento do microsporídeo (Barra de escala: 10 $\mu$ m).



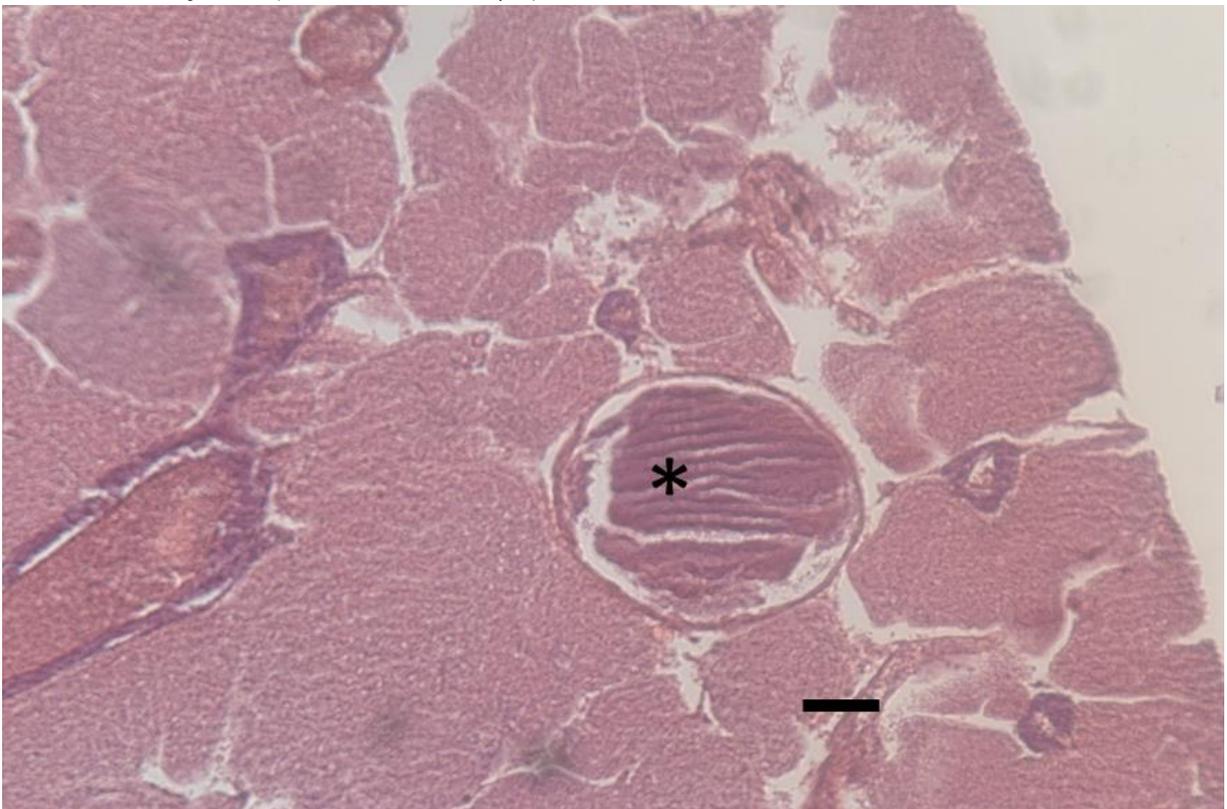
Fonte: LPCA, 2019.

Segundo Matos et al. (2003) as aglomerações dos esporos, pode indicar diferenciação em xenoma, que consiste em uma estrutura composta por uma célula hipertrófica cercada por uma parede espessa, constituída por varias camadas de colágeno.

O xenoma oferece condições de crescimento para o parasito, incluindo contra o sistema imunológico do hospedeiro (MATOS, 2007). O microsporídio pode causar doenças, denominadas microsporidioses, podendo ocasionar a morte do hospedeiro (CASAL, 2009).

Os cortes histológicos corados pelas técnicas HE revelou alterações estruturais no tecido, em decorrência dos esporos de Microsporídio (Figura 24). Segundo Matos (2007) os microsporídios estão geralmente no citoplasma das células de seus hospedeiros, ocasionando a destruição ou induzindo a hipertrofia no tecido afetado. O estudo não foram observados nenhuma doença ou sinal clinico no hospedeiro, entretanto ocorreu uma deformação no tecido.

**Figura 24** - Fotomicrografia de secções histológicas de cisto de microsporídio (\*) em *P. auratus* corado pela técnica de coloração HE.( Barra de escala: 50 µm).



Fonte: LPCA, 2019.

A prevalência encontrada para o microsporídio foi de 30%, semelhante ao estudo de Casal et al. (2009) em *Loma psittaca*. Prevalências superiores foram relatadas em outros estudos de microsporídio, como 36% para *Kabatana rondoni* (CASAL et al., 2010), 37,5% para *Amazonspora hassar* (AZEVEDO; MATOS, 2003a), 40,0% para *Potaspota morhaphis* (CASAL et al., 2008), 45% para *Microsporidium brevirostris* (MATOS; AZEVEDO, 2004), 60,0% de *Pleistophora beebei* (CASAL et al., 2016) e 66,6% para *Potaspota aequidens* (VIDEIRA et al., 2015).

Nos peixes os microsporídios podem se concentrar em diversos órgãos, como tubo digestivo, brânquias, fígado, entre outros (CANNING; NICHOLAS, 1980, CANNING; LOM, 1986; LOM; DYKOVÁ, 1992; LARSSON, 1999; LOM, 2002). Segundo Casal et al. (2010) a sua localização é uma característica que deve ser levada em consideração, pois geralmente mostram especificidade de tecido ou órgão, por exemplo, todas as espécies do gênero *Microgemma* infectam o fígado; de *Spraguea* as células ganglionares dos tecidos nervosos, de *Kabatana* as fibras musculares esqueléticas, de *Pleistophora* as musculaturas esqueléticas, e quase todos os de *Loma* infectam filamentos branquiais.

As medidas dos esporos de Microsporídios apresentaram média de  $3,0 \pm 0,2\mu\text{m}$  de comprimento e  $1,9 \pm 0,1\mu\text{m}$  de largura e formato elipsoide. Os dados morfométricos foram aproximados dos valores para o *Microsporidium brevirostris* no estudo realizado por Matos e Azevedo (2004), entretanto o órgão infectado foi a musculatura da cavidade abdominal (Tabela 6).

**Tabela 7** - Medidas comparativas descritivas (média; dp - desvio padrão; mínimo e máximo) de Microsporídeo e outras espécies do gênero.

Espécie	Hospedeiro	Tecido infectado	Esporo ( $\mu\text{m}$ )		Formato	Referencias
			Comprimento	Largura		
Microsporídeo	<i>Plagioscion auratus</i>	Fígado	3,0 $\pm$ 0,2 (2,8-3,3)	1,9 $\pm$ 0,1 (1,8-2,0)	Elipsoide	Presente estudo
<i>Pleistophora beebei</i>	<i>Brachyhypopomus beebei</i>	Músculo esquelético da cavidade abdominal	2,8 $\pm$ 0,4 (2,3–3,0)	4,7 $\pm$ 0,3 (4,4–5,0)	Levemente alongados	CASAL et al. (2016)
<i>Potaspora aequidens</i>	<i>Aequidens Plagiozonatus</i>	Região sub-opercular e nadadeiras	1,9 $\pm$ 0,3	3,4 $\pm$ 0,5	Elipsoide a piriforme	VIDEIRA et al. (2015)
<i>Microsporidium sp.</i>	<i>Brachyplatystoma vaillantii</i>	Mucosa gástrica	2,1	4,2	Elipsoide	(SILVA, 2011)
<i>Kabatana rondoni</i>	<i>Gymnorhamphichthys rondoni</i>	Músculo esquelético da cavidade abdominal	2,37 $\pm$ 0,42	4,25 $\pm$ 0,38	Elipsoide a piriforme	CASAL et al. (2010)
<i>Loma psittaca</i>	<i>Colomesus psittacus</i>	Mucosa intestinal	2,8 $\pm$ 0,4	4,2 $\pm$ 0,4	Ovoide	CASAL et al. (2009)
<i>Microsporidium brevirostris</i>	<i>Brachyhypopomus brevirostris</i>	Músculo da cavidade abdominal	2,95	1,68	Elipsoide	Matos; Azevedo, (2004)
<i>Amazonspora hassar</i>	<i>Hassar orestis</i>	Brânquiais	1,78 $\pm$ 0,18	2,69 $\pm$ 0,45	Elipsoide	AZEVEDO; MATOS, (2003)
<i>Loma myrophis</i>	<i>Myrophis platyrhynchus</i>	Mucosa intestinal	1,71 (1,59–1,81)	3,45 (3,22–3,70)	Elipsoide	AZEVEDO; MATOS, (2002)

## 5.7 Análise dos parâmetros abióticos da água

As variações abióticas da água apresentaram as seguintes médias: Temperatura de 30,2 °C, pH com 8,0, oxigênio dissolvido com 6,8 mg/l e salinidade de 0,1%. No presente estudo percebeu uma variação na fauna parasitária presente nos hospedeiros, conforme a sazonalidade decorrente do período seco e chuvoso amazônico (MARENGO; NOBRE, 1998). Verificou que a presença de *Kudoa* sp. em ambos os hospedeiros e do Myxozoa não identificado foram mais evidentes no período chuvoso (novembro a março), por sua vez os microsporídios e o *Calyptospora* foram predominantes no período seco (maio a setembro), enquanto que o *Ellipsomyxa* ocorreu em todo o período do estudo.

A composição da comunidade parasitária e a ocorrência de multiparasitismo podem estar relacionadas às variações físico-químicas da água (temperatura, salinidade, pH, oxigênio) com a espécie hospedeira de acordo com seu comportamento, migração, imunidade, entre outros fatores (TAVARES-DIAS et al., 2000; TAVARES-DIAS et al., 2001; AZEVEDO, 2004; TAKEMOTO et al., 2004). A temperatura, por exemplo, pode diminuir ou aumentar influenciando no desempenho do parasito e hospedeiro, como reprodução e sobrevivência (LAFFERTY; HOLT, 2003; GEHMAN et al., 2018).

Segundo Carvalho et al. (2010), modificações do ambiente aquático podem ser determinantes nas variações da composição da fauna parasitária, as quais podem estar sujeitas à influência de possíveis ciclos sazonais.

São necessários mais estudos e análises estatísticas aprofundadas dos parâmetros abióticos da água para verificação de sua relação com microparasito-hospedeiro-ambiente.

## 6 CONCLUSÃO

Nos hospedeiros estudados foram identificados dois gêneros pertencentes ao filo Cnidaria (Subfilo Myxozoa), um pertencente ao filo Apicomplexa e ao filo Microsporidia.

O multiparasitismo foi observado nas duas espécies de hospedeiro analisadas *A. inermis* e *P. auratus*.

Na espécie *A. inermis* foram encontrados *Calyptospora* sp. no fígado com alterações histopatológicas em decorrência ao parasitismo. *Kudoa* sp. na musculatura esquelética, *Ellipsomyxa* sp. na vesícula biliar e Myxozoa não identificado na bexiga urinaria, indicando uma nova espécie.

Na espécie *P. auratus* foram encontrados *Kudoa* sp. na musculatura esquelética apresentando miolequefação do musculo e esporos de Microsporídeo no fígado, com alterações estruturais nos tecidos.

As infecções apresentadas por essas espécies de mixosporídios, microsporídios e apicomplexa ainda não haviam sido descritas na literatura para as espécies *A. inermis* e *P. auratus*. Entretanto, necessitam de estudos mais detalhados, para a confirmação das espécies parasitárias, como a biologia molecular.

A sazonalidade evidenciou predominância de *Kudoa* sp. em ambos os hospedeiros e myxozoa não identificado no período chuvoso amazônico, enquanto que o *Calyptospora* sp. e microsporídeo predominância no período seco do estudo. Apenas o *Ellipsomyxa* sp. não apresentou alteração de sazonalidade sendo predominante ao longo de todo estudo. Não foi possível verificar a relação dos parâmetros físico-químicos com microparasito.

A grande variedade de microparasitas encontrados nas espécies de peixes alvos deste estudo evidencia a necessidade de se intensificar o estudo nas espécies *A. inermis* e *P. auratus* devido a diversidade e do potencial patogênico destes microparasitos.

## REFERÊNCIAS

- ADLERSTEIN, S. A.; DORN, M. W. The effect of *Kudoa paniformis* infection on the reproductive effort of female *Pacific hake*. **Canadian Journal of Zoology**, v. 76, n.12, p. 2285-2289. 1998.
- AGIUS, C.; ROBERTS, R.J. Melano-macrophage centres and their role in fish pathology. **Journal of Fish Diseases**, v.26, p.499-509, 2003.
- ALBUQUERQUE, M.C.; BRASIL -SATO, M. C. First report of *Calyptospora* sp. (Apicomplexa, Calyptosporidae) in forage characid fish from the Três Marias Reservoir, São Francisco Basin, Brazil. **European Journal of Protistology**. 46, 150 –152. 2010.
- ALVARES-PELLITERO, P.; BARJA, J. L. **Patologia em Acuicultura**. Madrid: Mundi Prensa Livros S. A, 1988, 550p.
- ANDRADA, C. D. G.; TORTELLY, R.; NOGUEIRA, P. P.; ANDRADE, C. L.; LIMA, F. C. Infecção por *Kudoa* Meglitsch, 1947 (Myxozoa: Multivalvulida) em musculatura esquelética de espada *Trichiurus lepturus* L. (Teleostei: Trichiuridae). **Parasitología Latinoamericana**, v. 60, p. 150-153. 2005.
- ANNIBAL, S.R.P. **Bioecologia e pesca das “pescadas” (*Plagioscion squamosissimus* Heckel, 1840 e *P. montei* Soares, 1978) no sistema “Lago do Rei”, Ilha do Careiro, Amazonas**. Manaus. 113f. Dissertação (Mestrado) - INPA/FUA, AM. 1981.
- ATKINSON, S. D. **Diversity, life cycles and population genetics of freshwater Myxozoa from the Pacific Northwest of North America**. 2011, 220 f. Thesis (PhD School of Chemistry e Molecular Bioscience). The University of Queensland, Australia, 2011.
- ATKINSON, S. Estágio de vida do patógeno: Myxospore; Actinosporo. Versão Março de 2006. Disponível em: <<https://fishpathogens.net/image/generic-lifecyclegif>>. Acesso em: 25 de Novembro de 2019.
- AZEVEDO, C.; MATOS, P.; MATOS, E. Morphological data of *Calyptospora spinosa* sp. (Apicomplexa, Calyptosporidae) Parasite of *Crenicichla lepidota* HECKEL, 1840 (Teleostei) from Amazon River. **European Journal of Protistology**, v.29, p. 171-175.1993.
- AZEVEDO C, MATOS P, MATOS E. Ultrastructural data on sporogony of the coccidian parasite *Calyptospora spinosa* from the liver of the Amazonian fish, *Crenicichla lepidota* Heckel. **Journal Fish Disease**, v.18, p. 475-479. 1995.
- AZEVEDO, C.; CORRAL, L.; MATOS, E. *Myxobolus desaequalis* n. sp. (Myxozoa, Myxosporea), Parasite of the Amazonian Freshwater Fish, *Apteronotus albifrons* (Teleostei, Apterontidae). **Journal of Eukaryotic Microbiology**, Rio de Janeiro, v. 49, n. 6, p. 485-488, 2002.
- AZEVEDO, C.; MATOS, E. Fine structure of a new species, *Loma myrophis* (Phylum Microsporidia) parasite of the Amazonian fish *Myrophis plathyrynchus* (Teleostei, Ophichthidae). **European Journal of Protistology**, v. 37, p. 445 - 452, 2002.
- AZEVEDO, C.; MATOS, E. Fine structure of *Henneguya pilosa* sp. n. (Myxozoa: Myxosporea), parasite of the Brazilian fish, *Serrasalmus altuvei* (Characidae). **Folia Parasitológica**, v. 50, p. 35-40, 2003.

AZEVEDO, C.; MATOS, E. *Amazonspora hassar* n. gen. and n. sp. (Phylum Microsporidia, Fam. Glugeidae), a parasite of the amazonian teleost *Hassar orestis* (Fam. Doradidae). **Journal of Parasitology**, v. 89, n. 2, p. 336-341. 2003b.

AZEVEDO, T. M. P. **Análise comparativa da parasitofauna e características hematológicas de *Oreochromis niloticus* mantido em sistema de cultivo integrado e intensivo no estado de Santa Catarina.** 2004. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2004.

AZEVEDO, C., CASAL, G., MATOS, P., FERREIRA, I., MATOS, E. Light and electron microscopy of the spore of *Myxobolus heckelii* n. sp. (Myxozoa), parasite from the Brazilian fish *Centromochlus heckelii* (Teleostei, Auchenipteridae). **Journal of Eukaryotic Microbiology**, 56, 589–593. 2009.

AZEVEDO, C.; VIDEIRA, M.; CASAL, G.; MATOS, P.; OLIVEIRA, E.; AL- QURAI SHY, S.; MATOS, E. Fine Structure of the Plasmodia and Myxospore of *Ellipsomyxa gobioides* n. sp. (Myxozoa) Found in the Gallbladder of *Gobioides broussonnetii* (Teleostei: Gobiidae) from the Lower Amazon River. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, Rio de Janeiro, n. 60. p. 490-496, 2013.

AZEVEDO, C.; ROCHA, S.; MATOS, E.; OLIVEIRA, E.; MATOS, P.; AL-QURAI SHY, S.; CASAL, G. Ultrastructural and Phylogenetic Description of *Kudoa orbicularis* n. sp. (Myxosporia: Multivalvulida): A Parasite Infecting the Muscle of the Fish *Chaetobranchopsis orbicularis* (Teleostei: Cichlidae) in the Amazon Region. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 63, n. 1, p. 27-36. 2016.

BARTHEM, R. B. A pesca comercial no médio Solimões e sua interação com a reserva de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá. In: QUEIROZ, H. L.; CRAMPTON, W. G. R. **Estratégias para manejo de recursos pesqueiros em Mamirauá.** Goiás: Brasília, 1999. p. 72-107.

BATISTA, V.S.; Isaac, V.J.; Fabr e, N.N.; Gonzalez, J.C.A.; Almeida, O.T.; Rivero, S.; Júnior, J.N.O.; Ruffino, M.L.; Silva, C.O.; Saint-Paul, U. 2012. **Peixes e pesca no Solimões Amazonas: uma avalia o integrada.** Brasília: Ibama/Pr V rzea. 276pp.

BECNEL, J. J.; ANDREADIS, T. G. Microsporidia in insects. In: WITTNER, M. **The microsporidia and microsporidiosis.** Washington, D.C: AMS Press, p. 1-6. 1999.

BÉKÉSI, L.; SZ KELY, C.; MOLNár, K. Atuais conhecimentos sobre Myxosporia (Myxozoa), parasitas de peixes. Um estágio alternative dos parasitas no Brasil. São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, n.5, p. 271-276, 2002.

BÉKÉSI, L. Evaluation on data of ichthyopathological analysis in the Brazilian northeast. **Journal of the Brazilian Association for the Advancement of Science**, v.44, n.8; p.400-403. 1992.

BÉKÉSI, L.; MOLNár, K. *Calyptospora tucunarensis* n. sp. (Apicomplexa: Sporozoa) from liver of tucunare *Cichla ocellaris* in Brazil. **Systematic Parasitology**, v. 18, p.127-132. 1991.

BIGLIARDI, E.; SACCHI, L. Cell biology and invasion of the microsporidia. **Microbes and Infection**, v. 3, P. 373-379. 2001.

- BONAR, C.J.; POYNTON, S.L.; SCHULMAN, F.Y. *et al.* Hepatic *Calyptospora* sp. (Apicomplexa) infection in a wild-born, aquarium-held clutch of juvenile arapaima *Arapaima gigas* (Osteoglossidae). **Diseases of Aquatic Organisms**, v.70, p.81-92, 2006.
- BORCEM, E. R.; FURTADO-JÚNIOR, I.; ALMEIDA, I. C.; PALHETA, M. K. S.; PINTO, I. A. A atividade pesqueira no município de Marapanim-Pará, Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 54, n. 3, p. 189- 201. 2011.
- BOUJARD, T.; PASCAL, M.; MEUNIER, F. J.; BAIL, L.E. P. Y. 1997. **Poissons de Guyane. Guide écologique de l'Approuague et de la réserve des Nouragues**. Institut National de la Recherche Agronomique. 219p.
- BRITSKI, A. H.; SILIMON. K. Z. S.; LOPES, B. S. **Peixes do Pantanal**: Manual de identificação. 2ª Edição. Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuária. Brasília, 2007. 227 p.
- BRITSKI, A. H.; SILIMON, K. Z. S.; LOPES, B. S. **Peixes do Pantanal**: Manual de identificação. Brasília: Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuária, 1999. 184 p.
- BRUM, M.J.I.; GALETTI JR., P.M. Teleostei group plan karyotype. **Journal Computational Biology**, Providence, v. 2, p. 91-102. 1997.
- BUCKUP, P. A., MENEZES, N. A.; GHAZZI, M. S. **Catálogo das Espécies de Peixes de Água Doce do Brasil**. Rio de Janeiro: Museu Nacional. (Série Livros; 23), 2007. 195 p.
- BURGER, M. A.; BARNES, A. C.; ADLARD, R. D. Wildlife as reservoirs for parasites infecting commercial species: host specificity and a redescription of *Kudoa amamiensis* from teleost fish in Australia. **Journal Fish Diseases**, v. 31, n. 11, p. 835-44. 2008.
- CALI A.; TAKVORIAN P. M. Developmental morphology and life cycles of the microsporidia. In: WITTNER, M; WEISS, L. M. **The Microsporidia and Microsporidiosis**. Washington, D.C.: AMS Press, 1999. p. 85-128.
- CALI A.; TAKVORIAN P. M.; WEISS, L. M. *Brachiola algerae* spore membrane systems, their activity during extrusion, and a new structural entity, the multilayered interlaced network, associated with the polar tube and the sporoplasm. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 49, p. 164–174. 2002.
- CANNING, E. U.; NICHOLAS, J. P. *Genus Pleistophora* (Phylum Microspora): Redescription of type species, *Pleistophora typicalis* Gunley, 1893 and ultrastructural characterization of the genus. **Journal Fish Diseases**, v. 3, p. 317-338. 1980.
- CANNING, E. U.; LOM, J. **The Microsporidia of Vertebrates**. London: Academic Press, 1986. 289 p.
- CARVALHO, A. R.; TAVARES, L. E. T.; LUQUE, J. L. Variação sazonal dos metazoários parasitos de *Geophagus brasiliensis* (Perciformes: Cichlidae) no rio Guandu, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 32, n. 2, p. 159-167. 2010.
- CASAL G, PADOVAN I, MATOS E, PADOVAN P, MATOS P, MAGALHÃES A. Redescricao morfológica e ultraestrutural de *Calyptospora serralmi* Cheung, Nigrelli & Ruggieri, 1986 (Apicomplexa: Calyptosporidae), parasita encontrado em duas novas espécies

hospedeiras do gênero *Serrasalmus*. *Brazilian Journal of Morphological Sciences*, v. 24, n.1, p.11-16, 2007.

CASAL, G.; MATOS, E.; MATOS, P.; AZEVEDO, C. Ultrastructural Description of a New Myxosporean Parasite *Kudoa aequidens* sp. n. (Myxozoa, Myxosporea), found in the Sub-Opercular Musculature of *Aequidens plagiozonatus* (Teleostei) from the Amazon River. *Acta Protozoologica*, v. 47, p. 135–141, 2008.

CASAL, G.; MATOS, E.; TELES-GRILLO, M. L.; AZEVEDO, C. A new microsporidian parasite, *Potasporea morhaphis* n. gen., n. sp. (Microsporidia) infecting the Teleostean fish, *Potamorhaphis guianensis* from the River Amazon. Morphological, ultrastructural and molecular characterization. *Parasitology*, v. 135, p. 1053–1064. 2008b.

CASAL, G. **Microsporidioses e Myxosporidioses da ictiofauna portuguesa e brasileira: caracterização ultraestrutural e filogenética** [Tese]. Portugal: Universidade do Porto, 2009.

CASAL, G.; MATOS, E.; TELES-GRILLO, M. L.; AZEVEDO, C. Morphological and genetical description of *Loma psittaca* sp. n. isolated from the Amazonian fish species *Colomesus psittacus*. *Parasitology Research*, v. 105, p. 1261-1271, 2009.

CASAL, G.; MATOS, E.; TELES-GRILLO, M. L.; AZEVEDO, C. Ultrastructural and molecular characterization of a new microsporidium parasite from the amazonian fish, *Gymnorhamphichthys rondoni* (Rhamphichthyidae). *Parasitology*, v. 96, n. 6, p.1155–1163. 2010.

CASAL, G.; MATOS, E.; ROCHA, S.; SINDEAUX-NETO, J.; AL-QURAI SHY, S.; AZEVEDO, C. Ultrastructure and Phylogeny of *Pleistophora beebei* sp. nov. (Microsporidia) Infecting the Amazonian Teleostean *Brachyhypopomus beebei* (fam. Hypopomidae). *Acta Protozoologica*, v. 55, p. 259–268. 2016.

CASATTI, L. Taxonomia dos peixes neotropicais do gênero *Pachyurus* Agassiz, 1831 (Teleostei, Perciformes, Sciaenidae) e descrição de duas novas espécies. Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS, *Série Zoologia*, v. 14, n. 2, p. 133-178, 2001.

CASATTI, L. Sciaenidae (Drums or croakers). In: R. E. REIS, S. O. KULLANDER AND C. J. FERRARIS, Jr. (eds.) **Checklist of the Freshwater Fishes of South and Central America**. EDIPUCRS, Porto Alegre, Brasil, 2003, p. 599-602.

CAVALIER-SMITH, T. Only six kingdoms of life. *Proceedings of the Royal Society London*, v. 271, 1251–1262. 2004.

CHEUNG, P.J.; NIGRELLI, R.F.; RUGGIERI, G.D. *Calyptospora serrasalmi* sp.nov. (Coccidia: Calyptosporidae) from liver of the Black piranha, *Serrasalmus niger* Schomburgk. *Journal of Aquatic Sciences*, v.4, p.54-57, 1986.

CHICRALA, P. C. M. S. **Catálogo de peixes comerciais do lago da Usina Hidrelétrica Luís Eduardo Magalhaes: Tocantins , Brasil**. Patrícia Costa Mochiaro Soares Chicrala ... [et al.]. – Brasília, DF : Embrapa, 2013. 120 p.

COUILLARD, C.M.; HODSON, P.V. Pigmented macrophage aggregates: a toxic response in fish exposed to bleached-kraft mill effluente. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.15, p.1844-1854, 1996.

- DIAMANT, A.; LOM, J.; DYKOVÁ, I. *Myxidium leei* n. sp., a pathogenic myxosporean of cultured sea bream *Sparus aurata*. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 20, n. 2, p. 137-141. 1994.
- DIAS, L. de N.S. **Fauna microparasitária de *Brachyplatystoma rousseauxii* e *Mugil curema* desembarcados desembarcados na amazônia oriental**. 142f. Tese (Doutorado). Universidade Federal do Pará. 2013.
- DIDIER, E. S. Microsporidiosis: An emerging and opportunistic infection in humans and animals. **Acta Tropica**, v. 94, p. 61-76. 2005
- DYKOVÁ, I.; BURON, I.; FIALA, I.; ROUMILLAT, W. A. *Kudoa inornata* sp. n. (Myxospora: Multivalvulida) from the skeletal muscles of *Cynoscion nebulosus* (Teleostei: Sciaenidae). **Folia Parasitologica**, v. 56, n. 2, p. 91-98. 2009.
- DORIA, C. R. C.; RUFFINO, M. L.; HIJAZI, N. C.; CRUZ, R. L. A pesca comercial do Rio Madeira no Estado de Rondônia, Amazônia Brasileira. **Acta Amazonica**, v. 42, n. 1, p. 29-40. 2012.
- DUSZYNSKI, D.W.; SOLANGI, M.A; OVERSTREET R.M.; A new and unusual eimerian (Protozoa: Eimeriidae) from the liver of the gulf killifish, *Fundulus grandis*. **Journal of Wildlife Diseases**, v.15, n. 552, 1979.
- EIRAS, J. C. **Elementos de Ictioparasitologia**. Porto: Fundação Eng. Antônio de Almeida, 1994. 339p.
- EIRAS, J. C. Aspectos gerais da patologia das parasitoses da peixes marinhos. In: RANZANI-PAIVA, M.J.T., TAKEMOTO, R.M., LIZAMA, M.A.P. In: **Sanidade de organismos aquáticos**. Editora Varela, São Paulo, Brasil, 2004. 143-156p.
- EIRAS, J. C.; PAVANELLI, G. C.; TAKEMOTO, R. M. *Henneguya paranensis* sp. n. (Myxozoa, Myxobolidae), a parasite of the teleost fish *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae) from the Paraná river, Brazil. Bulletin of The European Association of Fish Pathologists, **Aberdeen**, v. 24, n. 6, p. 308-311, 2004.
- EIRAS, J. C.; ADRIANO, E. A. Myxozoa. In: PAVANELLI, G. C; TAKEMOTO, R.M.; EIRAS, J. C. In: **Parasitologia de peixes de água doce do Brasil**. Maringá: Eduem, 2013.
- EIRAS J. C., SARAIVA A., CRUZ C. Synopsis of the species of *Kudoa* Meglitsch, 1947 (Myxozoa: Myxospora: Multivalvulida). **Systematic Parasitology**, v. 87, p.153–180. 2014.
- ESCHMEYER, W. N.; FONG, J. D. Species by family/subfamily. In: ESCHMEYER, W. N. (Ed.). **Catalog of fishes. California, California Academy of Sciences**. 2017. Online version. Disponível em: <<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>>. Acesso em: maio de 2018.
- FABRÉ, N. N.; ALONSO, J. C. 1998. Recursos Ícticos no Alto Amazonas: Sua Importância para as populações ribeirinhas. **Boletim Museu Paraense Emílio Goeldi**, sér. Zool, v.1, p. 19-55. Belém-PA
- FAO – FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION. **The state of world fisheries and aquaculture 2008**. Roma: FAO. 2009.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **The State of World Fisheries and Aquaculture - Meeting the sustainable development goals**. Rome. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. 2018.

FEIST, S. W.; LONGSHAW, M. Phylum Myxozoa. In: WOO, P. T. K. **Fish Diseases and Disorders**. Volume 1: Protozoan and Metazoan Infections, 2<sup>a</sup> Edition. UK: CAB International. 2006. 230-296 p.

FERRE, I. Anisakiosis y otras zoonosis parasitarias transmitidas por consume de pescado. **Aquatic**, v. 14, p. 1-21. 2001.

Ferreira M. F. PARASITOS COM POTENCIAL ZOONÓTICO EM PEIXES NO BRASIL – UMA REVISÃO. P. 29-35. In: STRADIOTTI JÚNIOR D.; DELPRETE S. E.; CÓSER A. C.; TAVARES C.F. **Zootecnia Itinerante**, 1 ES : CAUFES, 2013.p.92.

Ferreira, E. J. G.; ZUANON, J. A. S; SANTOS, G. M. **Peixes comerciais do Médio Amazonas**: região de Santarém, Pará. Brasília: Edições IBAMA. 1998, 211p.

FERRARIS Jr., C. J. Family Auchenipteridae. Pp. 470-487. In: Reis, R. E., S. O. Kullander & C. J. Ferraris Jr. (Eds.). **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre, Edipucrs, 729p. 2003.

FERRARIS JR, C. J. Checklist of catfishes, recent and fossil (Osteichthyes: Siluriformes), and catalogue of siluriforme primary types. **Zootaxa**, v.1418, p. 1-628, 2007.

FIALA, I.; BARTOŠOVÁ-SOJKOVÁ, P.; WHIPPS, C. M. Classification and Phylogenetics of Myxozoa. In: **Myxozoan Evolution, Ecology and Development**. Springer International Publishing. Switzerland, 2015.

FIGUEIREDO, E. T. L. **Entomopatogénios e bio-insecticidas. Provas de Aptidão Pedagógica e Capacidade Científica**. Universidade Técnica de Lisboa: Instituto Superior de Agronomia, 1997. 355p.

FONSECA, M. G.; ILÁRIO, R. J.; SILVA, R. J. Pesquisa de ecto e endoparasitos em peixes de tanques artificiais do município de Bebedouro, São Paulo. **Fafibe online**, v. 1, n. 1. 2005.

FOURNIE, J.W; HAWKINS, W.E, OVERSTREET, R .M. Calyptospora empristican. sp. (Eimeriorina Calyptosporidae) from the liver of the starhead topminnow, *Fundulus notti*. **Journal Protozoology**, v. 32, pp. 542-547. 1985.

FRANZEN C. Microsporidia: how can they invade other cells? **Trends in Parasitology**, v. 20, p. 275–279. 2004.

FRANZEN, C.; MÜLLER, A. Molecular Techniques for Detection, Species Differentiation, and Phylogenetic Analysis of Microsporidia. **Clinical Microbiology Review**, v. 12, p. 243-285, 1999.

FRICKE, R.; ESCHMEYER, W. N.; VAN DER LAAN, R. (eds). **Catalog of Fishes**: Genera, Species, References. Electronic version accessed dd mmm 2019, available online. at <http://researcharchive.calacademy.org/research/Ichthyology/catalog/fishcatmain.asp> [detas], 2019.

FROESE, R.; PAULY D. Editors. (2019). FishBase. *Plagioscion auratus* (Castelnau, 1855). Disponível em: < <http://marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=991166>>. Acesso em: 28 maio de 2019.

FROESE, R.; PAULY D. Editors. (2019). FishBase. *Ageneiosus inermis* (Linnaeus, 1766) . Disponível em: < <http://marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=991166>>. Acesso em: 28 maio de 2019.

GASALLA, M. A.; YKUTA, C. **Revelando a pesca de pequena escala**. Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico. São Paulo: LabPesq Impresso no Brasil Printed in Brazil, 2015. 15p.

GEHMAN, A. M.; HALL, R. J.; BYERSA, J. E. Host and parasite thermal ecology jointly determine the effect of climate warming on epidemic dynamics. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States America**, v. 115, n. 4, p. 744-749. 2018.

GOULDING, M.; BARTHEM, R.; FERREIRA, E. **The Smithsonian Atlas of the Amazon**. Washington DC: Smithsonian Institution Press.2003.

HAHN, N. S.; FUGI, R.; ANDRIAN, I. F. 2004. Trophic ecology of the fish assemblages. Pp. 247- 259. In: Thomaz, S. M., Agostinho, A. A.; Hahn, N. S. (Eds.). **The Upper Paraná River and its Floodplain: Physical aspects, Ecology and Conservation**. Backhuys Publishers, Leiden. 393pp

HALLETT, S. L.; BARTHOLOMEW, J. L. *Myxobolus cerebralis* and *Ceratomyxa shasta*. In: **Fish parasites: pathobiology and protection**. Woo, P. T. K, Buckmann, K. Wallingford: CABI International, 2011.

HEINIGER, H.; ADLARD, R. D. Relatedness of novel species of *Myxidium* Butschli, 1882, *Zschokkella* Auerbach, 1910 and *Ellipsomyxa* Køie, 2003 (Myxosporia: Bivalvulida) from the gall bladders of marine fishes (Teleostei) from Australian waters. **Systematic Parasitology**, v. 87, n.1, p. 47-72. 2014.

ISAAC, V. J. **Exploração e manejo dos recursos pesqueiros do litoral amazônico: um desafio para o futuro**. Brasil, 2006. Disponível em: <<http://cienciaecultura.bvs.br/pdf/cic/v58n3>. Acesso em: 27 maio de 2018.

IWASHITA, M. K. P; MACIEL, P. O. Princípios básicos de sanidade de peixes. In: **Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimento**. Brasília: Embrapa, 2013. p. 215-272. cap. 7

KASAI, A.; LI, Y.; MAFIE, E.; SATO, H. Morphological and molecular genetic characterization of two *Kudoa* spp., *K. musculoliquefaciens*, and *K. pleurogrammi* n. sp. (Myxosporia: Multivalvulida), causing myoliquefaction of commercial marine fish. **Parasitology Research**, v. 115, p. 1883-1892. 2016.

KAWAI, T.; SEKIZUKA, T.; YAHATA, Y; KURODA, M.; KUMEDA, Y.; IJIMA, Y.; KAMATA, Y.; SUGITA-KONISHI, Y.; OHNISHI, T. Identification of *Kudoa septempunctata* as the causative agent of novel food poisoning outbreaks in Japan by consumption of *Paralichthys olivaceus* in raw fish. **Clinical Infectious Diseases**, v. 54: p. 1046–1052. 2012.

KEELING, P. J.; FAST, N. M. Microsporidia: Biology and evolution of highly reduced intracellular parasites. **Annual Review of Microbiology**, v. 56, p. 93-116, 2002.

KENT, M. L., MARGOLIS, L.; WHITAKER, D. J.; HOSKINS, G. E.; MCDONALD, T. E. Review of Myxosporea of importance to salmonid fisheries and aquaculture in British Columbia. **Folia Parasitologica**, v. 41, p. 27-37. 1994.

KENT, M. L.; ANDREE, K. B.; BARTHOLOMEW, J. L.; EL-MATBOULI, M.; DESSER, S. S.; DEVLIN, R. H.; FEIST, S. W.; HEDRICK, R. P.; HOFFMANN, R. W.; KHATTRA, J.; HALLETT, S. L.; LESTER, R. J. G.; LONGSHAW, M.; PALENZEULA, O.; SIDDALL, M. E.; XIAO, C. Recent Advances in Our Knowledge of the Myxozoa. **Journal Eukaryotec. Microbiology**. vol. 48, no. 4, 2001.

KEOHANE E. M., WEISS L. M. The structure, function, and composition of the microsporidian polar tube. In: Wittner M.; Weiss, L. M. **The Microsporidia and Microsporidiosis**. Washington, D.C.: AMS Press, 1999. 196– 224p.

KØIE, M. *Ellipsomyxa gobii* gen. et sp. n. (Myxozoa: Ceratomyxidae) in the common goby *Pomatoschistus microps* (Teleostei: Gobiidae) from Denmark. **Folia Parasitologica**, v. 50, p. 269-271. 2003.

KØIE, M.; KARLSBAKK, E. *Ellipsomyxa syngnathi* sp. n. (Myxozoa, Myxosporea) in the pipefish *Syngnathus typhle* and *Syngnathus rostellatus* (Teleostei, Syngnathidae) from Denmark. **Parasitology Research**, v. 105, p. 1611-1616. 2009.

KRISTMUNDSSON, Á.; FREEMAN, M. A. Negative effects of *Kudoa islandica* n. sp. (Myxosporea: Kudoidae) on aquaculture and wild fisheries in Iceland. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wild life**, v. 3, p. 135-146. 2014.

KUBITZA, F.; KUBITZA, L. M. M. **Principais parasitoses e doenças dos peixes cultivados**. Jundiaí, São Paulo : COPYRIGHT. 4ª edição, 2004. 110p.

LANG-UNNASCH, N.; et al.. Plastids are widespread and ancient in parasites of the phylum Apicomplexa. **International Journal for Parasitology**, v. 28, p. 1743-1754.1998.

LAFFERTY, K. D.; HOLT, R. D. How should environmental stress affect the population dynamics of disease? **Ecology Letters**, v. 6, p. 654-664. 2003.

LARSSON, J. I. R. Identification of Microsporidia. **Acta Protozoologica**, v. 38, p. 161-197. 1999.

LEE, S.C.; CORRADI, N.; BYRNES, E.J.; TORRES-MARTINEZ, S.; DIETRICH, F.S.; KEELING, P.J.; HEITMAN, J. Microsporidia evolved from ancestral sexual Fungi. **Current Biology**, v. 18, p. 1675-1679. 2008.

LEWIS, L. C.; SUMERFORD, D. V.; BING, L. A.; GUNNARSON, R. D. Dynamics of *Nosema pyrausta* in natural populations of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*: A six-year study. **BioControl**, v. 51, p. 627-642, 2006.

LOM, J. Notes on the ultrastructure and sporoblast development in fish parasitizing myxosporidian of the genus *Sphareomyxa*. **Zeitschrift fur Zellforschung und mikroskopische Anatomie**, v. 97, p. 416-437. 1969.

LOM, J.; DYKOVÁ, I. Protozoan Parasites of Fishes. Development in Aquaculture and Fisheries Science. Amsterdam: **Elsevier**. v. 26, p. 315. 1992.

- LOM J., DYKOVÁ I. Ultrastructure of *Nucleospora secunda* n. sp. (Microsporidia), parasite of enterocytes of *Nothobranchius rubripinnis*. **European Journal of Protistology**, n. 38, p. 19-27, 2002.
- LOM, J.; DYKOVÁ, I. Myxozoan genera: Definition and notes on taxonomy, lifecycle terminology and pathogenic species. **Folia Parasitologica**, v. 53, p. 1-36, 2006.
- LOPES, L. P. C. **Composição e estrutura da comunidade parasitária associada às espécies do gênero *Pseudoplatystoma* (Bleeker, 1862) (Siluriformes: Pimelodidae) da Amazônia Central, Brasil**. 2006. 44 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Amazonas. Manaus 2006.
- LUNA L.G. **Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. 3<sup>a</sup>ed., New York: MacGraw-Hill Book Company, 1968.
- LUNDBERG, J. G.; FRIEL, J. P. Siluriformes. Catfishes. Version 20 January 2003 (under construction). In The Tree of Life Web Project. Disponível em: <<http://tolweb.org/http://tolweb.org/Siluriformes/15065/2003.01.20>>. Acesso em: 01 Nov. 2019.
- LUQUE, J.L. Parasitologia de peixes marinhos da América do Sul: estado atual e perspectivas. In: RANZANI-PAIVA, M.J.T., TAKEMOTO, R.M., LIZAMA, M.A.P. **Sanidade de organismos aquáticos**. São Paulo: Editora Varela. 2004, 199- 215p.
- MADI, R. R.; UETA, M. T. Parasitas de peixes como indicadores ambientais. In: SILVA-SOUZA, A. T., LIZAMA, M. A. P.; TAKEMOTO, R. M. **Patologia e sanidade de organismos aquáticos**. Maringá: Ed. Massoni, 2012. 33-58p.
- MAGALHÃES, N.; LOBO, M. L.; ANTUNES, F.; MATOS, O. Aves e Cães como Potencial Fonte de Infecção Zoonótica por Microsporídeos para o Homem. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 101, p. 69-75, 2006.
- MALTA, J. C. O. Os peixes de um lago de várzea da Amazônia Central (Lago Janauacá, Rio Solimões) e suas relações com os crustáceos ectoparasitas (Branchiura: Argulidae). **Acta Amazonica**, n.14 v.(3-4), p. 355-372, 1984.
- MANERA, M.; SERA, R.; ISANI, G.; CARPENÉA, E. Macrophage aggregates in gilthead sea bream fed copper, iron and zinc enriched diets. **Journal of Fish Biology**, v.57, p.457-465, 2000.
- MARIGUELA, T. C. **Análise filogenética da subfamília Callichthyinae (Teleostei: Siluriformes: Callichthyidae) com base em sequências de DNA nuclear e mitocondrial**. 2006. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2006.
- MARTINS, M. L.; et al.. Gill infection of *Leporinus macrocephalus* Garavello & Britski, 1998 (Osteichthyes: Anostomidae) by *Henneguya leporinicola* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae). Description, Histopathology and Treatment. **Revista Brasileira de Biologia**, v.59, n. 3, p. 527–534. 1999.

- MANSOUR, L.; HARRATH, A. H.; ABD-ELKADER, O. H.; ALWASEL, S.; ABDEL-BAKI, A. A. S.; AL OMAR, S.Y. Structural and molecular characterization of *Kudoa quraishii* n. sp. from the trunk muscle of the Indian mackerel *Rastrelliger kanagurta* (Perciformes, Scombridae) in Saudi Arabia coasts. **Parasitology Research**, v. 113, n. 4, p. 1361-1370. 2014.
- MANSOUR, L.; HARRATH, A. H.; ABDEL-BAKI, A. A. S.; AL-QURAIISHY, S. S.; AL OMAR, S.Y. *Kudoa saudiensis* sp. n. (Myxosporea: Multivalvulida) infecting oocytes of the Indian mackerel *Rastrelliger kanagurta* (Perciformes: Scombridae). **Folia Parasitologica**, v. 62, p. 1-10. 2015.
- MARENGO, F. G. NOBRE, J. A. Uma revisão geral sobre o clima da Amazônia. **Acta Amazonica**. vol.28, n.2, pp.101-126, 1998.
- MATOS, E.; CORRAL, L.; MATOS, P.; CASAL, G.; AZEVEDO, C. Incidência de parasitas do Phylum Myxozoa (Sub-reino Protozoa) em peixes da região amazônica, com especial destaque para o gênero *Henneguya*. **Rev. Ciênc. Agrár.** 36: 83 – 99, 2001.
- MATOS, E.; MATOS, P.; CASAL, G.; GIESE, E.; CORRAL, L.; AZEVEDO, C. Dados ultraestruturais de microsporídios (Phylum Microsporidia) da fauna ictiológica da Região Amazônica. **Revista de Ciências Agrárias**, Recife, n. 39. p. 95 - 108, 2003.
- MATOS, E., CASAL, G., MATOS, P., CORRAL, L., AZEVEDO, C. Microorganismos Parasitas de Animais Aquáticos da Amazônia. In: RANZANI-PAIVA, M. J. T., TAKEMOTO, R. M., LIZAMA, M. A. P. **Sanidades de Organismos Aquáticos**. São Paulo: Editora Varela, 2004. 158-178p.
- MATOS, E.; AZEVEDO, C. Ultrastructural description of *Microsporidium brevirostris* spp. n. parasite of the teleostean *Brachyhypopomus brevirostris* (Hypopomidae) from the Amazon river. **Acta Protozoology**, v. 43, p. 261 - 267, 2004.
- MATOS, E. R. **Caracterização de aspectos morfológicos e ultraestruturais do ciclo de vida de microsporídios encontrados em peixes da região amazônica**. Belém, 2007. 135f. Originalmente apresentada como Tese de Doutorado. Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará. 2007.
- MATSUKANE, Y.; SATO, H.; TANAKA, S.; KAMATA, Y.; SUGITA-KONISHI, Y. *Kudoa septempunctata* n. sp. (Myxosporea: Multivalvulida) from an aquacultured olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) imported from Korea. **Parasitology Research**, v. 107, p. 865-872. 2010.
- MENEZES, N.A.; FIGUEIREDO L. 1980. Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. IV. Teleostei (3). São Paulo, Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, 96p.
- MILANIN, T. **Taxonomia morfológica e molecular de Myxosporea parasito de *Brycon hilarii*, oriundo do pantanal matogrossense**. 2011. 51 f. Dissertação (Mestrado em Parasitologia) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.
- MILLER T. L., ADLARD R. D. Brain infecting kudoids of Australia's coral reefs, including a description of *Kudoa lemniscati* n. sp. (Myxosporea: Kudoidae) from *Lutjanus lemniscatus* (Perciformes: Lutjanidae) off Ningaloo Reef, Western Australia. **International Journal of Parasitology**, v. 61, n. 2, p.333-342, 2012.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA – MPA. 2011. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura: Brasil 2011**. IBAMA. Brasília. 60pp.

MORRIS, D. J. Cell formation by myxozoan species is not explained by dogma. **Proceedings Biological Sciences**, v. 177, p. 2565-2570, 2010.

MORAN, J.D.W.; WHITAKER, D.J.; KENT, M.L. A review of the myxosporean genus *Kudoa* Meglitsch, 1947, and its impact on the international aquaculture industry and commercial fisheries. **Aquaculture**, v. 172, p. 163-196. 1999.

MORRISON, C. M.; MARTELL, D. J.; LEGGIADRO, C.; O'NEIL, D. *Ceratomyxa drepanopsettae* in the gallbladder of Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*, from the northwest Atlantic Ocean. **Folia Parasitologica**, v. 43, p. 20-36. 1996.

MONTAG, L.F.A.I., FREITAS, T.M.S., WOSIACKI, W.B., BARTHEM, R.B. Os peixes da Floresta Nacional de Caxiuanã (municípios de Melgaço e Portel, Pará - Brasil) **Bol. Mus. Para. Emilio Goeldi Cienc. Nat.** 3 (1): 11-34, 2008.

MONTEIRO, E. P.; SILVA D. T.; SANCHES O.; MATOS E. Morphological and Molecular Characteristics of *Kudoa viseuensis* n. sp. (Myxosporea: Multivalvulida), Found in the Muscle of *Batrachoides surinamensis* (Teleostei: Batrachoididae) in the Brazilian Amazon Region. **Acta Protozoology**. V. 58. p. 7–16. 2019.

MURIEL-CUNHA, J. **Biodiversidade e sistemática molecular de Phreatobiidae (Ostariophysi, Siluriformes) – com uma proposta sobre sua posição filogenética em Siluriformes e uma discussão sobre evolução do hábito subterrâneo**. 2008. 144 f. Tese (Doutorado em Ciência/Biologia - Genética) – Universidade de São Paulo. São Paulo, 2008.

NELSON, J.S. **Fishes of the world**. NY, USA: John Wiley e Sons Inc. 4rd Edition. 2006, 601p

OKAMURA, B.; GRUHL, A.; BARTHOLOMEW, J. L. **Myxozoan Evolution, Ecology and Development**. Switzerland: Springer International Publishing, 2015. 441p

OKAMURA, B.; HARTIKAINEN, H.; SCHMIDT-POSTHAUS, H.; WAHLI, T. Proliferative kidney disease as an emerging disease: the importance of life cycle complexity and environmental change. **Freshwater Biology**, v. 56, p. 735-753. 2011.

OKUMURA, M. P. M.; PÉREZ, A. C. A.; ESPÍNDOLA FILHO, A. Principais zoonoses parasitárias transmitidas por pescado – revisão. **Revista de Educação Continuada do CRMV-SP**; São Paulo, v. 2, n. 2, p. 66-80, 1999.

OLIVEIRA, J. C.; VELASCO, M.; SANTOS, P. F. S.; SILVA, J. M. V.; SÃO CLEMENTE, S. C.; MATOS, E. *Kudoa* spp. (Myxozoa) infection in musculature of *Plagioscion squamosissimus* (Sciaenidae) in the Amazon region, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 2, p. 235-240. 2015.

OVERSTREET, R. M.; OGLE, J. T. Preliminary observations of the effect of *Eimeria funduli*(Protozoa: Eimeriidae) on the Gulf killifish *Fundulus grandis* and its potential impact on the killifish bait industry. **Gulf Research Reports**, v. 7, p. 87-88.1981

OVERSTREET, R.M.; HAWKINS, W.E.; FOURNIE, J.W. The coccidian genus *Calyptospora* n. g. and family *Calyptosporidae* n. fam. (Apicomplexa), with members infecting primarily fishes. **Journal Protozoology**. v. 31, p. 332-339. 1984.

PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M. **Doenças de peixes, diagnóstico, profilaxia e tratamento**. Maringá: Euem, 2002. 305 p.

PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. 3.ed. Maringá: Eduem, 311p. 2008.

PINNA, M. C. C. Phylogenetic relationships of Neotropical Siluriformes: historical overview and synthesis of hypothesis. In: MALABARBA, L. R.; REIS, R. E.; VARI, R. P.; LUCENA, Z. M. S.; LUCENA, C. A. S. eds. **Phylogeny and classification of Neotropical Fishes**, Edpurcs, Porto Alegre – Brasil, 1998. p.79-330.

POTE, L. M.; HANSON, L. A.; SHIVAJI, R. Small subunit ribosomal RNA sequences link the cause of proliferative gill disease in channel catfish to *Henneguya* n. sp. (Myxozoa: Myxosporia). **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 12, p. 230-240, 2000.

PRADO, S. P. T.; CAPUANO, D. M. Relato de nematóides da família Anisakidae em bacalhau comercializado em Ribeirão Preto, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 2006.

RIBEIRO F. R. V. **Sistemática do gênero Ageneiosus La Cépède (Siluriformes: Auchenipteridae)**. 2011, 355f. Tese (Doutor Ciências Biológicas), Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus. 2011.

ROCHA, Y. R.; AGUIAR, J. P. L.; MARINHO, H. A. ; SHRIMPTON, R. Aspectos nutritivos de alguns peixes da Amazônia. **Acta Amazônica**, v. 12, n. 4, p. 787-794, 1982.

ZATTI, S. A.; ATKINSON, S. D.; MAIA, A. A. M.; CORRÊA, L. L.; BARTHOLOMEW, J. L. ADRIANO, E. A. Novel *Myxobolus* and *Ellipsomyxa* species (Cnidaria: Myxozoa) parasiting *Brachyplatystoma rousseauxii* (Siluriformes: Pimelodidae) in the Amazon basin, Brazil. **Parasitology International**, v. 67, n. 5, p. 612-621, 2018.

SALIM, K. Y.; DESSER, S. S. Description and phylogenetic systematic of *Myxobolus* spp. From Cyprinids in Algonouin Park Ontario. **Journal Eukaryotic Microbiology**, v.47, p.309-318, 2000.

SANTOS, G. M.; FERREIRA, E. J. G.; ZUANON, J. A. S. **Peixes comerciais de Manaus**. Manaus: IBAMA/AM, ProVárzea. 144pp, 2006.

SANTOS, W. J. P.; SILVA, D. T.; SANTOS, P. F. S.; MATOS E. R.; HAMOY I. G. Nova ocorrência de *Kudoa orbicularis* parasitando peixe de água doce *Trachelyopterus galeatus* (Siluriformes: Auchenipteridae) na região Amazônica brasileira. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária** vol.28, n.3, pp.416-424. 2019.

SHIRAKASHI S, YAMANE K, ISHITANI H, YANAGIDA T, YOKOYAMA H. First report of *Kudoa* species in the somatic muscle of the Japanese parrotfish *Calotomus japonicus* (Scaridae) and a description of *Kudoa igami* n. sp. (Myxozoa: Multivalulida). **Parasitology Research**, v.113, p. 2515–2524, 2014.

SILVA, M. C. **Microsporidiose e coccidiose em peixes da espécie *Brachyplatystoma vaillantii* (Valenciennes, 1840) capturados na região costeira do município de Vigia de Nazaré, Estado do Pará**. 2011. 64 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Fluminense, Belém, 2011.

- SILVA, M. C. S. SÃO CLEMENTE S. C.; PICANÇO JÚNIOR J. A.; SILVA, M.V.O. MATOS E. *Calyptospora* sp. in *Brachyplatystoma vaillantii* trapped at the Vigia, State of Pará, Brazil. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v. 21, p. 176–178. 2012.
- SILVA, M. F.; SILVA, D. T.; GIESE, E. G.; HAMOY, I. G.; MATOS, E. R. Morphology and Phylogeny of *Calyptospora paranaidji* n. sp. (Eimeriorina: Calyptosporidae), an Apicomplexan Parasite of the Hepatic Tissue of *Cichla piquiti* Kullander & Ferreira, 2006, From a Reservoir in the Brazilian Amazon Region. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 66, n.4, p. 608-616, 2018.
- SILVA JUNIOR, A. C. S. Myxosporidiose em peixes de água doce. **Estação Científica (UNIFAP)**. Macapá. v. 2, n.2, p. 25-39, 2012.
- SILVA, D. T.; MATOS, P. S.; LIMA, A. M.; FURTADO, A. P.; HAMOY, I.; MATOS, E. R. *Ellipsomyxa arariensis* n. sp. (Myxozoa: Ceratomyxidae), a new myxozoan parasite of *Pygocentrus nattereri* Kner, 1858 (Teleostei: Characidae) and *Pimelodus ornatus* Kner, 1858 (Teleostei: Pimelodidae) from Marajó Island, in the Brazilian Amazon region. **Parasitology Research**, v. 117, n. 11, p. 3537-3545. 2018.
- SINDEAUXI-NETO, J. L., VELASCO, M.; SANTOS, P.; MATOS, P.; MATOS, E. Infecção por *Kudoa orbicularis* (Myxozoa: Multivalvulidae) na musculatura de *Chaetobranchopsis orbicularis* Steindachner, 1875, oriundo da Ilha de Marajó na região Amazônica do Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 6, p. 1601-1606. 2017.
- SMITH, N. J. H. **Man, Fishes, and the Amazon**. New York: Columbia University Press, 1981.
- SMOTHERS, J. F.; VON DOHLEN, C. D.; SMITH, L. H.; SPALL, R. D. Molecular evidence that the myxozoan protists are metazoans. **Science**, v. 265, n. 5179, p. 1719-1721. 1994.
- SOLANGI, M. A.; OVERSTREET, R. M. Biology and pathogenesis of the coccidium *Eimeria funduli* infecting killifishes. **Journal of Parasitology**, v. 66, p. 513-526. 1980.
- SPRAGUE V.; BECNEL J. J. Note on the Name-Author- Date combination for the taxon *Microsporidies Balbiani*, 1882, when ranked as a Phylum. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 71, p. 91-94, 1998.
- STENTIFORD, G. D.; FEIST, S. W.; STONE, D. M. BATEMAN, K. S.; DUNN, A. M. Microsporidia: diverse, dynamic, and emergent pathogens in aquatic systems. **Trends in Parasitology**, v. 29, n. 1, p. 567-578. 2013.
- TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. L. A. P.; GUIDELLI, G. M.; PAVANELLI, G. C. Parasitos de peixes de águas continentais. In: RANZANI-PAIVA, M. J. T.; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. DE L. A. P. **Sanidade de Organismos Aquáticos**, São Paulo: Livraria Varela, 2004. 179-197p.
- TAVARES-DIAS, M.; MARTINS, M. L.; MORAES, F. R.; KRONKA, S. N. Fator de condição e relação hepato e esplênossomática em teleósteos de água doce naturalmente parasitado. **Acta Scientiarum**, v. 22, n. 2, p. 533-537. 2000.
- TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R.; MARTINS, M. L.; KRONKA, R. N. Fauna parasitária de peixes oriundos de pesque-pague do município de Franca, São Paulo, Brasil. II Metazoários. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 18, p. 81-95. 2001.

THABET, A.; TLIG-ZOUARI, S.; OMAR S. Y. A.; MANSOUR, L. Molecular and morphological characterisation of two species of the genus *Ellipsomyxa* Køie, 2003 (Ceratomyxidae) from the gallbladder of *Liza saliens* (Risso) off Tunisian coasts of the Mediterranean. **Systematic Parasitology**, v. 93, n. 6, p. 601-611. 2016.

Thatcher, V.E. 1991. Amazon Fish Parasites. *Amazoniana*, 11(3/4):263-572

THATCHER, V.E.; NETO B. Diagnóstico, prevenção e tratamento das enfermidades de peixes neotropicais de água doce. **Revista Brasileira Medicina Veterinaria**, v. 16, n. 3, p. 111- 128, 1994.

THATCHER, V. E.; NETO, J. B. **Amazon Fish Parasites**. 2 ed. Sofia; Pensoft. 2006. 497p

TOPS, S.; CURRY, A.; OKAMURA, B. Diversity and systematics of the Malacosporea (Myxozoa). **Invertebrate Biology**, v.4 n.124, p. 285-295, 2005.

VAN DER LAAN, R., ESCHMEYER, W.N. & FRICKE., R. Family-group names of recent fishes. **Zootaxa Monograph** v. 3882, n. 2, p.1–230, 2014.

VÁVRA, J.; LARSSON, J. I. R. Structure of the Microsporidia. In: WITTNER, M.; WEISS, L. M. Washington, D. C. **The Microsporidia and microsporidiosis**. ASM Press, 1999, p. 7 - 84.

VÁVRA, J.; LUKEŠ, J. Microsporidia and “the art of living together”. **Advances in Parasitology**, v. 82, p. 253–319. 2013

VAZ, Â. F. C. **Parasitoses Provocadas por *Kudoa* (Myxosporea) e Larvas de Anisakidae em *Trachurus trachurus* em Portugal**. 2000. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aplicada) - Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto, 2000.

VÁZQUEZ-LÓPES, C.; ARMAS-SERRA, C.; RODRÍGUEZ-CAABEIRO, F. *Gymnorhynchus gigas*: taxonomia, morfologia, biología y aspectos sanitários. **Analecta Veterinaria**, n. 21, v. 2, p.38-49. 2001

VIDEIRA M.; Velasco M.; Tortelly R.; Menezes R. C.; São Clemente S. C; Matos E. An anatomopathological study of hepatic coccidiosis (*Calyptospora* sp.) in the Acará-pixuna, *Aequidens plagiozonatus* Kullander, 1984 from the Brazilian state of Pará. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v.65, n.1, p.91-94, 2013.

VIDEIRA, M.; CASAL, G.; ROCHA, S.; GONÇALVES, E.; AZEVEDO, C.; VELASCO, M.; MATOS, E. *Potaspora aequidens* n. sp. (Microsporidia, Tetramicridae), a parasite infecting the freshwater fish *Aequidens plagiozonatus* (Teleostei, Cichlidae) from Brazil. **Parasitology Research**, v. 114, n. 7, p. 2435-3442. 2015.

WHIPPS, C.M.; GROSSEL, G.; ADLARD, R.D.; YOKOYAMA, H.; BRYANT, M.S.; MUNDAY, B.L.; KENT, M.L. Phylogeny of the Multivalvulidae (Myxozoa: Myxosporea) based on comparative ribosomal DNA sequence analysis. **Journal of Parasitology**, v. 90, p. 618-622. 2004.

WHIPPS, C. M.; DIGGLES, B. K. *Kudoa alliaría* in flesh of Argentinian hoki *Macruronus magellanicus* (Gadiformes; Merlucciidae). **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 69, p. 259-263. 2006.

WHIPPS, C. M.; FOURNIE, J. W.; MORRISON, D. A.; AZEVEDO, C.; MATOS, E.; THEBO, P.; KENT, M. L. Phylogeny of fish-infecting Calyptospora species (Apicomplexa: Eimeriorina). **Parasitology Research**, v. 111, p. 1331-1342, 2012.

WHIPPS, C. M.; FONT, W. F. Interaction of two myxozoan parasites from naked goby *Gobiosoma bosc*, in Lake Pontchartrain, Louisiana. **Journal of Parasitology**, v. 99, p. 441-447. 2013.

WOO, P. T. K. Fish Diseases and Disorders. Viral, Bacterial and Fungal Infections. **UK: CAB International**, v. 03, p. 874, 2003.

WOO, P. T. K. Fish Diseases and Disorders. Protozoan and Metazoan Infections Second Edition. **UK: CAB International**. v.01, p. 791, 2006.

WEIDNER E. Ultrastructural study of microsporidian invasion into cells. **Zeitschrift für Parasitenkunde**, v. 40, p. 227–242. 1972.

YOKOYAMA, H.; WHIPPS, C. M.; KENT, M. L.; MIZUNO, K.; KAWAKAMI, H. *Kudoa thyrmites* from Japanese flounder and *Kudoa lateolabracis* n. sp. from Chinese sea bass: causative myxozoans of post-mortem myoliquefaction. **Fish Pathology**, v. 39, p. 79-85. 2004.

YOKOYAMA, H.; GRABNER, D.; SHIRAKASHI, S. Transmission Biology of the Myxozoa. In: **Health and Environment in Aquaculture**. Croatia: InTech, 2012. p. 3-42.

YOKOYAMA H, YANAGIDA T, SHIRAKASHI S. *Kudoa ogawai* n. sp. (Myxozoa: Multivalvulida) from the trunk muscle of Pacific barrelfish *Hyperoglyphe japonica* (Teleostei: Centrolophidae) in Japan. **Parasitology Research**, v. 110, n. 6, p. 2247-2254, 2012b.

ZACARDI, D. M. Aspectos sociais e técnicos da atividade pesqueira realizada no Rio Tracajatuba, Amapá, Brasil. **Acta of Fisheries and Aquatic Resource**, v. 3, n. 2, p. 31-48. 2015.

ZATTI, S. A.; ATKINSON, S. D.; MAIA, A. A. M.; CORRÊA, L. L.; BARTHOLOMEW, J. L. ADRIANO, E. A. Novel *Myxobolus* and *Ellipsomyxa* species (Cnidaria: Myxozoa) parasiting *Brachyplatystoma rousseauxii* (Siluriformes: Pimelodidae) in the Amazon basin, Brazil. **Parasitology International**, v. 67, n. 5, p. 612-621. 2018.

# **ANEXO**

## ANEXO 1 – Folha de aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFRA)



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

## ATESTADO

Protocolo 011/2014 (CEUA) – 23084.007833/2014-28 (UFRA)

Título do Projeto: Estudo de protozoários em hospedeiros aquáticos na Amazônia

Docente/Pesquisador Responsável: Prof. Dr. Edison Rodrigues Matos

Instituição: Instituto de Saúde e Produção Animal – ISPA / UFRA

## PARECER

O Comitê de Ética no Uso de Animais da UFRA, apreciou o protocolo acima e verificou que foram atendidas todas as exigências da Lei Federal 11.794/08 (Lei Anruca), sendo respeitados os Princípios Éticos da Experimentação Animal do CONCEA. Portanto, manifesta-se pela sua aprovação.

Parecer: **APROVADO**

Liberação para o início da pesquisa sendo obrigatório a entrega nesta CEUA do relatório semestral e de conclusão ao final da pesquisa. Comunicar por escrito, toda e qualquer modificação no projeto/plano de ensino.

Belém, 28 de maio de 2014.

  
Prof. Dra. Ana Silvia Sardenha Ribeiro  
Coordenadora CEUA/UFRA

## ANEXO 02 - Ficha para coleta de material laboratorial



<b>DATA:</b>
<b>ESPÉCIE:</b>
<b>LOCAL DE COLETA:</b>
<b>SEXO:</b>
<b>N° de REGISTRO:</b>

<b>PESO TOTAL:</b>
<b>PESO EVISCERADO:</b>
<b>COMPRIMENTO TOTAL:</b>
<b>COMPRIMENTO PADRÃO:</b>

**Análise da presença:**

**Observações:**

### ANEXO 3 - Ficha de processamento para Microscopia de Luz



#### PREPARAÇÃO DE MATERIAL PARA MICROSCOPIA DE LUZ

MATERIAL..... N°...../..... DATA...../...../.....

( ) NORMAL

( ) ESPECIAL

OBS: ANTES DE INICIAR A COLHEITA DO MATERIAL BIOLÓGICO PREPARAR TODO O INSTRUMENTAL E MATERIAL NECESSÁRIO E INDISPENSÁVEL AO TRABALHO

OBS: PREPARAÇÃO DE "BONECA DE GAZE" COM O MATERIAL PARA SER PROCESSADO

		INÍCIO	FIM	OBS
FIXAÇÃO : TEMPERATURA AMBIENTE				
FORMOL AQ 10% / DAVIDSON / AFA / OUTRO	HS	.....	.....	.....
LAVAGEM EM ÁGUA CORRENTE	HS	.....	.....	.....
DUPLA FIXAÇÃO	HS	.....	.....	.....
DESIDRATAÇÃO				
	ESPECIAL			
ALC 70 .....30'	30' .....1H	.....1H	.....	.....
ALC 90.....30' (*)	30' .....1H	.....1H	.....	.....
ALC ABS I .....30'	60' .....1H	.....1H	.....	.....
ALC ABS II .....30'	60' .....1H	.....1H	.....	.....
ALC ABS III.....30'	60' .....1H	.....2H	.....	.....
ALC XILOL	30' .....1H	.....1H	.....	.....
DIAFANIZAÇÃO (CLAREAMENTO)				
XILOL / BENZOL I	30'.....30'.....24H	.....	.....	.....
XILOL / BENZOL II				
IMPREGNAÇÃO EM ESTUFA A 60 °C				
BANHO DE PARAFINA I	30'.....30'.....24H	.....	.....	.....
BANHO DE PARAFINA II	30'.....60'.....24H	.....	.....	.....
BANHO DE PARAFINA III	30'(*).....60'.....24H	.....	.....	.....
INCLUSÃO EM PARAFINA : TEMPERATURA AMBIENTE				
INCLUSÃO				
TOTAL				

OBS: (\*) PODE DEIXAR A NOITE NO ALCOOL, MAS NUNCA NO XILOL OU BENZOL, EM TEMPERATURA AMBIENTE, SOMENTE EM CASOS ESPECIAIS.