



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
INSTITUTO SOCIOAMBIENTAL E DOS RECURSOS HÍDRICOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E RECURSOS
AQUÁTICOS TROPICAIS

DANIELLE LUCAS BASTOS

**ESTUDO MORFOLÓGICO DE MICROPARASITAS EUCARIOTOS
ENCONTRADOS EM AMURÉ *Eleotris aff. pisonis* E JACUNDÁ *Crenicichla saxatilis*
COLETADOS NO DISTRITO DE OUTEIRO, BELÉM, PARÁ, BRASIL.**

BELÉM
2018

DANIELLE LUCAS BASTOS

**ESTUDO MORFOLÓGICO DE MICROPARASITAS EUCARIOTOS
ENCONTRADOS EM AMURÉ *Eleotris aff. pisonis* E JACUNDÁ *Crenicichla saxatilis*
COLETADOS NO DISTRITO DE OUTEIRO, BELÉM, PARÁ, BRASIL.**

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: Morfologia / Parasitologia.

Orientador: Prof. Dr. Edilson Rodrigues Matos.

BELÉM
2018

DANIELLE LUCAS BASTOS

**ESTUDO MORFOLÓGICO DE MICROPARASITAS EUCARIOTOS
ENCONTRADOS EM AMURÉ *Eleotris aff. pisonis* E JACUNDÁ *Crenicichla saxatilis*
COLETADOS NO DISTRITO DE OUTEIRO, BELÉM, PARÁ, BRASIL.**

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: Morfologia / Parasitologia.

Data da defesa: 24/04/2018

Banca Examinadora:

	Orientador
<hr/>	
Prof. Dr. Edilson Rodrigues Matos – Presidente Universidade Federal Rural da Amazônia / Belém	
	Membro 1
<hr/>	
Prof. Dr. Igor Guerreiro Hamoy – PPG AqRAT Universidade Federal Rural da Amazônia / Belém / PA	
	Membro 2
<hr/>	
Prof. Dr. Moacir Cerqueira da Silva Universidade Federal Rural da Amazônia / Belém / PA	
	Membro 3
<hr/>	
Prof. Dr. Israel Hidenburgo Aniceto Cintra Universidade Federal Rural da Amazônia / Belém / PA	
	Membro 4
<hr/>	
Prof. Dr. Nuno Filipe Alves Correia de Melo Universidade Federal Rural da Amazônia / Belém / PA	

AGRADECIMENTOS

A Jeová Deus pelo dom da vida.

A minha família querida que sempre está ao meu lado me apoiando em todos os sentidos, especialmente minha mamãe tão amada que sempre acreditou em mim.

A Brown de Souza por ser meu marido, melhor amigo, grande amor e irmão na fé. Agradeço a Deus todos os dias por nossa união feliz.

A minha amada irmã Tati, que sempre acreditou em mim, me encorajando com elogios sinceros.

Aos meus familiares, vovó Angélica, tia Gessy, tios e primos, por serem presentes em minha vida me incentivando sempre a fazer o melhor.

Ao meu orientador Dr. Prof. Edilson Matos por me ensinar com palavras e ações o que significa ser dedicado, responsável e zeloso no âmbito profissional. Obrigada por ter se tornado para mim essa referência que com certeza contribuirá para o alcance de novas conquistas profissionais.

Weverton dos Santos, Elideth Pacheco, Joyce Oliveira, Diego Tuloza, José Sindeux Neto, a ajuda de vocês foi essencial para esse trabalho. Meu muito obrigada!

Ao pescador Cosme e sua família pela colaboração na coleta de material para o Mestrado.

A Flávia Rodrigues, minha companheira de mestrado, pela parceria.

A professora Jackeline Abrunhosa pelo companheirismo.

A técnica do laboratório Patrícia Sacco, pela paciência e disposição em colaborar no que fosse necessário.

A todos meus colegas que fazem parte do Laboratório Carlos Azevedo da Universidade Federal Rural da Amazônia, que me ajudaram direta e indiretamente na realização do meu trabalho, obrigada pela companhia, pelas conversas e boas risadas.

A Universidade Federal Rural da Amazônia, na oportunidade da realização da minha formação.

A Capes pela bolsa de mestrado que me auxiliou no desenvolvimento da dissertação.

A todos os meus professores pelos conhecimentos e experiências repassados.

A todos minha eterna gratidão!

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 01-** Vista lateral de exemplar de *Eleotris aff. pisonis*.
- Figura 02-** Vista lateral de exemplar de *Crenicichla saxatilis*.
- Figura 03-** Desenho semi-esquemático de *Henneguya torpedo*.
- Figura 04-** Esquema de esporo de *Myxobolus desaequalis*.
- Figura 05-** A - Desenho esquemático do esporo de *Kudoa aequidens*, em vista frontal. b1- Esporos de *Triangulamyxa amazonica* observados em DIC; b2- Esquema tridimensional da secção transversal demonstrando a morfologia interna e externa do esporo.
- Figura 06-** Desenho esquemático tridimensional do esporo do *Microsporidium brevirostris* (esquerda) e morfologia ultraestrutural em secção longitudinal (direita). DA – disco de ancoragem, N - núcleo, Po - polaroplasto, TP - tubo polar, V - vacúolo, P- parede do esporo.
- Figura 07-** Representação esquemática do ciclo de vida dos microsporídeos: 1 – secção longitudinal de um esporo; 2 – extrusão do tubo polar; 3 – contato da extremidade do tubo polar com a célula hospedeira e transmissão do núcleo do esporo; 4 – sucessivas fases do desenvolvimento do ciclo de vida e formação do vacúolo parasitóforo. (a – merontes; b,c – esporontes; d – esporoblastos; e – esporos).
- Figura 08-** Localização geográfica do Distrito de Outeiro, Belém, Pará.
- Figura 09-** A - Matapi confeccionado com garrafa Pet, armadilha de forma cilíndrica fechada por dois cones por onde entram os peixes e ficam presos. B – Rede de emalhar, estrutura de forma retangular, em fio monofilamento de náilon (poliamida), fica verticalmente na coluna d'água onde o peixe é emalhado.
- Figura 10-** A, B - Fotomicrografia de luz, observação a fresco de esporos pertencentes ao gênero de *Kudoa* em musculatura esquelética de *C. saxatilis*; C, D – Cistos de *Kudoa* sp. evidenciando as lesões (causadas na musculatura esquelética de *C. saxatilis*). A infecção leva a mioliquefação do tecido muscular. Cortes em Hematoxilina-Eosina. Bar. Esc.: 20µm.
- Figura 11-** A - Foto macroscópica de fígado apresentando cistos de *Calyptospora* (cabeça de seta). Bar. Esc.: 500 µm; B - Fotomicrografia de luz, observação a fresco de esporos pertencentes ao gênero de *Calyptospora* em fígado de *C. saxatilis* (seta). Bar. Esc.: 20 µm; C – Observação a fresco de oocistos de *Calyptospora*

(seta). Bar. Esc.: 5µm; D – Oocisto contendo quatro esporozoítos (ES). Bar. Esc.: 5 µm.

Figura 12- A – Oocisto na forma imatura na região pancreática (seta) (Coloração Tricômico de Gomori). Bar. Esc.: 20µm. B - Corte histológico de parênquima hepático de *C. saxatilis* evidenciando oocistos agrupados (seta) corados em Hematoxilina-Eosina. Bar. Esc.: 50µm.

Figura 13- Fotomicrografia de luz evidenciando esporos de *Ellipsomyxa* sp. (seta), parasitando vesícula biliar de *C. saxatilis*, em preparação a fresco. Bar. Esc.: 5µm.

Figura 14- A - Foto macroscópica de cisto esbranquiçado de *Microsporidium* sp. (seta) localizado no ovário (*) de *E. pisonis* (Barra de escala de 200µm). B - Observação a fresco de esporos de *Microsporidium* sp. (cabeça de seta) evidenciados após o rompimento do cisto encontrado na região externa do testículo (*) de *E. Pisonis*. Parede os esporos (Pa). Bar. Esc.: 10µm.

Figura 15- A – Corte de ovário contendo um xenoma (seta) (Coloração Tricômico de Gomori) Barra de Escala: 50µm; B – Barra de Escala: 5µm.

Figura 16- Fotomicrografia de luz: A. Líquido vesical com esporos de *Ellipsomyxa* sp. (Cabeça da seta), parasitando vesícula biliar, em preparação a fresco. Bar. Esc.: 20µm. B. Corte histológico de vesícula biliar, evidenciando presença de esporo de *Ellipsomyxa* no líquido vesical (cabeça de seta). Bar. Esc.: 20 µm.

RESUMO

A bacia Amazônica abriga a maior e mais diversa ictiofauna do mundo. Os peixes são uma importante fonte de proteína, mas estão sujeitos a uma grande variedade de enfermidades provocadas por parasitas intracelulares, que embora pouco estudados, afetam diretamente a sanidade e qualidade do animal. A prática de estudos que caracterizem a estrutura parasitológica de peixes é muito importante, a fim de verificar e determinar a dispersão de parasitos que causam desequilíbrio nos ecossistemas, e permitem uma identificação geral e específica, possibilitando conhecer mais os parasitos. O presente trabalho teve como objetivo descrever os aspectos morfológicos de microparasitas encontrados nos peixes, *Eleotris aff. pisonis* (Amuré) e *Crenicichla saxatilis* (Jacundá), oriundos do distrito de Outeiro/PA. Foram realizadas 5 coletas, totalizando 50 espécimes de cada. As amostras dos peixes foram analisadas no LPCA (Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo) da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA). Dos órgãos parasitados foram retirados fragmentos, fixados e processados para microscopia de luz. Na análise morfológica, foram observados microparasitas pertencentes a 03 grupos, Cnidaria (sub-Filo Myxozoa), Microsporidia e Apicomplexa.

Palavras-chave: Peixes, Parasitos, Myxozoa, Apicomplexa, Microsporidia

ABSTRACT

The Amazon basin is a location of largest and most diverse fish fauna of the world. Fishes are an important source of protein but are subject to a wide variety of diseases caused by intracellular parasites, that although little studied, affect directly sanity and quality of animal. The practice study of characterize structure parasitological on fish is the most important, in order to verify and determine the dispersion of parasites that cause imbalance in the ecosystems, and allow a general and specific identification, allowing to know even more of parasites. The present work aimed to describe the morphological aspects of microparasites in fish, *Eleotris aff. pisonis* (Amuré) and *Crenicichla saxatilis* (Jacundá), originating in district of Outeiro / PA. There were made 5 collections, totaling 50 specimens each. Fish samples were analyzed at the LPCA (Carlos Azevedo Research Laboratory) of University Federal Rural of Amazonia (UFRA). In organs parasitized were removed fragments, fixed and processed for light microscopy. In a morphological analysis were found microparasites belonging to 03 groups, Cnidaria (sub-Filo Myxozoa), Microsporidia and Apicomplexa.

Key words: Fish, Parasites, Myxozoa, Apicomplexa, Microsporidia

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	OBJETIVOS	10
2.1	Geral	10
2.2	Específicos	10
3	JUSTIFICATIVA	11
4	REVISÃO DE LITERATURA	12
4.1	Hospedeiros	12
4.1.1	<i>Eleotris aff. pisonis</i> Gmelin, 1789	12
4.1.1.1	Classificação sistemática do Amuré	13
4.1.2	<i>Crenicichla saxatilis</i> Linnaeus, 1758	15
4.1.2.1	Classificação sistemática do Jacundá	15
4.2	Microparasitos	16
4.2.1	Filo Cnidaria, subfilo Myxozoa Grassé,1970	17
4.2.2	Filo Microspora Balbiani,1882.....	20
4.2.3	Filo Apicomplexa Levine,1970	23
5	MATERIAL E MÉTODOS	24
5.1	Área de Estudo	24
5.2	Colheita e Transporte dos Espécimes	25
5.3	Dissecação dos Espécimes e Observação de Parasitos	26
5.4	Microscopia de luz (ML)	27
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
7	CONCLUSÃO	37
	REFERÊNCIAS	38
	ANEXO A	46
	ANEXO B	47
	ANEXO C	48

1 INTRODUÇÃO

Estimativas apontam que, no mundo, existam em torno de 56,6 milhões de pessoas envolvidas no setor primário da pesca e aquicultura e estima-se que essas atividades asseguram a subsistência de 10 a 12% da população do mundo (FAO, 2016). Globalmente, a pesca em pequena escala emprega 90% dos pescadores, assumindo grande importância quanto à segurança alimentar, à redução da pobreza e ao fornecimento de proteína de alta qualidade (FAO, 2016).

A América do Sul possui o maior número de espécies nativas, com cerca de 8.000 espécies, representando 24% das espécies descritas em todo o mundo (SCHAEFER, 1998). O Brasil possui a mais rica fauna de peixes de água doce do mundo, com aproximadamente 2578 espécies descritas e muitas outras espécies são desconhecidas (BUCKUP; MENEZES; GHAZZI, 2007) e, além disto, no país se encontra cerca de 12% da água doce disponível no planeta (BRASIL, 2013).

A pesca na Amazônia se destaca em relação às demais regiões brasileiras, pela riqueza de espécies exploradas, a alta produtividade de pescado capturado e a dependência da população tradicional a esta atividade (BARTHEM E FABRÉ, 2004). O Pará é um dos estados que se destaca pela grande produção pesqueira, onde foi registrado um total de 153.3 mil toneladas desembarcadas no ano de 2011, representando 10,7% da produção nacional e 47% da produção de toda a região Norte (MPA, 2013).

Contudo, tanto em ambiente natural como em piscicultura, os peixes são hospedeiros de uma grande diversidade de organismos, os quais podem afetar o seu desenvolvimento (EIRAS et al., 2004; WOO, 2006).

O conhecimento sobre parasitos, independente da sua especificidade (ectoparasitas, endoparasitas ou parasitas celulares), em peixes, moluscos e crustáceos, interfere diretamente quanto à sanidade do produto. Os aspectos biológicos dos parasitos são relevantes informações para o entendimento e prevenção das formas de contaminação do pescado, e o efeito causado pela ação parasitária. Desta forma, foi julgado oportuno realizar um estudo morfológico para verificar as espécies de microparasitas eucariotos encontrados no *Eleotris aff. pisonis* e *Crenicichla saxatilis*, através da utilização da microscopia de luz.

A prática de estudos dos parasitos e sua ecologia fornecem informações importantes sobre os hospedeiros, além de verificar e determinar a dispersão de parasitos que causam desequilíbrio nos ecossistemas, e permitem uma identificação geral e específica, possibilitando estabelecer novos gêneros e espécies (AZEVEDO; MATOS, 2003a).

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Descrever os aspectos morfológicos de microparasitas encontrados em *Eleotris aff. pisonis* e *Crenicichla saxatilis* capturados no distrito de Outeiro/PA.

2.2 Específicos

- Identificar e classificar os parasitos encontrados, bem como descrever sua localização no hospedeiro.
- Descrever os órgãos do hospedeiro parasitados;
- Avaliar a prevalência de parasitismos nos espécimes estudados;
- Identificar a ocorrência de multiparasitismo.

3 JUSTIFICATIVA

Os peixes constituem grande parte da proteína animal, visto que possuem significativo valor nutricional como proteínas, vitaminas, minerais e lipídeos e por este motivo é um componente importante na dieta humana (MEIRELLES; DIONYSIO, 2010). No Brasil, o consumo de pescado vem crescendo gradualmente, passando de 6,5 kg/hab/ano em 2003 para 11,17 kg/hab/ano em 2011 (BRASIL, 2012).

Entretanto, a ação predatória e a poluição ambiental têm colaborado para a diminuição desse importante recurso. Entre os principais fatores causadores de mortalidade e patogenicidade em peixes destacam-se, a poluição ambiental, a decomposição da matéria orgânica e a infecção dos peixes por agentes patogênicos, sendo isto, promovido pelo recurso hídrico, podendo tornar estes animais os mais parasitados. Em ambiente natural, os sinais patogênicos em peixes capturados são menos evidentes, quando relacionadas com peixes de pisciculturas (PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2002).

Estudos realizados em várias regiões do mundo vêm mostrando que a ação dos parasitos ganha, há alguns anos, maior importância entre os agentes causadores de enfermidades em peixes de ambiente natural e de pisciculturas devido há um aumento considerável de espécies emergentes com ameaças significativas ao desenvolvimento principalmente de peixes. O conhecimento da fauna parasitária dos peixes de água doce é de grande interesse, não só pelo aspecto econômico, mas também pelo que representa para a saúde pública, uma vez que podem ser portadores de zoonoses (LOM; DYKOVÁ, 1992).

Nas últimas décadas os estudos sobre a diversidade parasitária de peixes vêm aumentando progressivamente, e, em função disso, tem havido um incremento do número das espécies conhecidas (EIRAS et al., 2010). Dentre os parasitos mais comuns em peixes, pode-se encontrar uma variedade de grupos de microorganismos unicelulares, que recentemente com o desenvolvimento de várias técnicas, em especial a biologia molecular, foram reclassificados, pois foi possível constatar que, muitas vezes, a morfologia ultraestrutural não tinha relação com os dados moleculares (MATOS et al., 2004).

No estado do Pará existem poucos estudos na área de microparasitos em peixes, sendo indispensáveis análises que identifiquem as doenças que acometem os hospedeiros, especialmente se utilizado o auxílio da microscopia para a identificação possibilitando o conhecimento de sua morfologia. Esta abordagem poderá possibilitar ainda, a identificação de espécies novas, assim como de outros gêneros de microparasitas em peixes.

4 REVISÃO DE LITERATURA

Parasitas são todos os seres que encontram em outros o seu nicho ecológico (FERREIRA, 1973, ARAÚJO et al., 2003, FERREIRA; ARAÚJO 2005, FERREIRA et al., 2011). Peixes, em ambiente natural ou sistemas de criação, são hospedeiros de várias espécies de parasitos, que podem causar importantes doenças. Porém, a infecção por um parasito não significa, necessariamente, o aparecimento de sinais e sintomas que caracterizam a doença parasitária. Para o hospedeiro, estas situações variam da indiferença quanto à presença do parasito, ao aparecimento de sinais e sintomas de doença, até a interação parasite hospedeiro tão específica que ambos são imprescindíveis à mútua sobrevivência (FERREIRA et. al. 2012).

4.1 Hospedeiros

A classificação sistemática dos hospedeiros está de acordo com exposto no site ITIS.GOV.

4.1.1 *Eleotris aff. pisonis* Gmelin, 1789

A família Eleotridae compreende cerca de 35 gêneros e 155 espécies que habitam áreas tropicais e subtropicais em todo o mundo (NELSON, 2006). É caracterizada por nadadeiras pélvicas separadas (não formando disco adesivo) e uma notória preferência por estuários, com algumas espécies que são exclusivamente de ambientes de água doce (NELSON, 2006). *E. Pisonis* é um eleotrídeo de pequeno porte que se distribui da Carolina do Sul (EUA) até Ubatuba, São Paulo, Brasil (MENEZES; FIGUEIREDO, 1985). Apesar da ampla distribuição, são poucas as informações na literatura sobre a biologia dessa espécie.

Embora não sejam importantes como peixes comerciais, os peixes pertencentes ao gênero *Eleotris* são um componente importante dentro do ecossistema, pois além de predadores são fonte de alimento para espécies de importância comercial e podem ser utilizados como isca pelos pescadores.

4.1.1.1 Classificação sistemática

Animalia
 Bilateria
 Deuterostomia
 Chordata
 Vertebrata
 Gnathostomata
 Osteichthyes
 Actinopterygii
 Neopterygii
 Teleostei
 Acanthopterygii
 Perciformes
 Gobioidei
 Eleotridae
 Eleotris Bloch e Schneider, 1801
 Eleotris aff. pisonis (Gmelin, 1789)

Figura 01: Vista lateral de exemplar de *Eleotris aff. pisonis*



Fonte: Arquivo do LPCA

4.1.2 *Crenicichla saxatilis* Linnaeus, 1758

A família Cichlidae detém mais de 406 espécies para os neotrópicos, sendo que destes mais de 291 habitam a América do Sul, possuindo representantes na bacia Amazônica, nas

Guianas, norte do Orinoco, sul do Pará e nos rios do leste do Brasil, além de possuir espécies bastante diversificadas (KULLANDER, 2003; LOWE-MCCONNELL, 1999; BRITZKE, 2012). Tal riqueza é apresentada no gênero *Crenicichla*, exclusivamente neotropical, que conta com 78 espécies (KULLANDER E LUCENA, 2006).

Dentro deste gênero se encontram os peixes popularmente conhecidos como jacundá. Os representantes do gênero *Crenicichla*, têm corpo alongado de forma cilíndrica, podem ser pequenos ou de médio porte (5 a 30 cm de comprimento) e geralmente tem manchas escuras na nadadeira caudal, as quais são denominadas ocelos. Assim, como característica da família Cichlidae, os representantes do gênero *Crenicichla*, possuem nadadeira dorsal alongada até próximo a nadadeira caudal. Além dos raios flexíveis e ramificados das nadadeiras, a dorsal, a pélvica e a anal, também apresentam espinhos. A dorsal varia de 7 a 25 espinhos, a pélvica com um único espinho e a anal geralmente tem 3 espinhos (REIS et al., 2003). A linha lateral é dividida em duas partes, anterior e posterior, como nos demais ciclídeos. Apresentam dimorfismo sexual, cuidado parental e são territorialistas (RAPPPY-DANIEL E MADOKA, 2009).

4.1.2.1 Classificação sistemática do Jacundá

Animalia
 Bilateria
 Deuterostomia
 Chordata
 Vertebrata
 Gnathostomata
 Osteichthyes
 Actinopterygii
 Neopterygii
 Teleostei
 Acanthopterygii
 Perciformes
 Labroidei
 Cichlidae
Crenicichla Heckel, 1840
Crenicichla saxatilis (Linnaeus, 1758)

Figura 02: Vista lateral de exemplar de *Crenicichla saxatilis*



Fonte: Arquivo do LPCA

4.2 Microparasitos eucariotos

Assim como ocorre em outros grupos de animais, os peixes são hospedeiros de uma diversidade de parasitos, podendo ser classificados em: microparasita, aquele de reduzidas dimensões, apenas visíveis ao microscópio e os macroparasitas, aqueles de grandes dimensões, visíveis à lupa ou olho nu (GRISI, 2007). A alta susceptibilidade pararitária dos peixes ocorre devido a facilidade de dispersão e desenvolvimento dos parasitos em ambientes aquáticos (MALTA, 1984).

No pescado de água doce e salgada, a presença de parasitos é relativamente frequente e possui consequências diversas relacionadas principalmente com aspectos econômicos e sanitários. Alguns parasitos provocam alta mortalidade nos peixes e podem também causar lesão tecidual aparente levando a perda econômica (FERRER, 2001).

A maioria dos parasitos é encontrada nas vísceras que são eliminadas durante o processamento industrial do pescado, porém algumas espécies de parasitos se alojam na musculatura, causando em alguns casos zoonoses que são adquiridas através do consumo inadequado da carne crua ou mal cozida (RODRÍGUEZ, 1998; LORENZO, 2000; UBEIRA et al., 2000).

As zoonoses parasitárias transmitidas por pescado cada vez mais vêm chamando a atenção de pesquisadores e autoridades sanitárias do mundo inteiro, por serem causas de problemas em saúde pública, a qual se infecta pelo consumo de pescado cru ou cozido insuficientemente (OKUMURA; PEREZ; SPINDOLA, 1999).

A ocorrência de patógenos, em geral, pode sofrer influência da sazonalidade. Após o inverno, ocorre o aumento da temperatura, favorecendo uma rápida propagação de alguns parasitos, que podem causar sérias infestações nos peixes com possível estresse causado pelas baixas temperaturas observadas no inverno (TAKEMOTO et al., 2004; PAVANELLI et al., 2008).

Muitas são as espécies de parasitos de peixes, mas em alguns casos pouco se sabe sobre o seu ciclo de vida, modo de infestação e muito menos como impedir as doenças ocasionadas por estes parasitos (MATOS et al., 2003). Quanto ao processo de transmissão, é mencionada na literatura que a via oral é a mais comum (LOM; DYKOVÁ, 1992), enquanto a auto-infestação pode também acontecer mais esporadicamente (MATOS; CORAL; AZEVEDO, 2003).

As principais espécies de microparasitas eucariotos que afetam o peixe comercial pertencem ao subfilo Myxozoa e filos Microspora e Apicomplexa, as quais pertencem aos reinos Animalia, Fungi e Protista, respectivamente. [refer](#)

4.2.1 Filo Cnidaria, subfilo Myxozoa Grassé, 1970

De acordo com dados morfológicos e filogenéticos alguns pesquisadores sugeriram uma afinidade entre cnidários e mixozoários e propuseram que fossem considerados um subfilo dentro de Cnidaria (FENG, et al., 2014; CHANG et al., 2015; FOOX, SIDDALL et al., 1995). Constitui um grupo heterogêneo com 64 gêneros dentro de 17 famílias (OKAMURA et al. 2015). Com cerca de 2.200 espécies descritas (LOM; DYKOVÁ, 2006), eles representam cerca de 18% da diversidade de espécies de cnidárias como são atualmente conhecidas (OKAMURA et al. 2015). Os mixosporídios são microparasitas comuns encontrados nos diversos órgãos dos peixes. A maioria deles é estenoxeno, atacando somente uma única espécie. Entretanto, uma espécie de peixe pode contrair dezenas de espécies de mixosporídios.

O subfilo Myxozoa abriga um grupo diverso de parasitos metazoários caracterizados por esporos multicelulares, com cápsulas polares distintas e um filamento polar extrudível utilizado na invasão do hospedeiro (CANNING; OKAMURA, 2004; LOM; DYKOVÁ,

2006). A classificação dos mixosporídeos em nível de espécie baseia-se nas dimensões dos esporos e das capsulas polares e em outros detalhes da estrutura dos mixosporídeos (LOM; ARTHUR, 1989), tais como o número de voltas do filamento polar, a presença de sulcos e estrias nas válvulas de esporos, presença ou ausência de um envelope mucoso, o número de esporoplasmas e seus núcleos.

Os mixosporídios são parasitos encontrados frequentemente em peixes marinhos e de água doce, podendo raramente serem encontrados parasitando répteis, anfíbios e briozoários (PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008). Podem ser parasitos histozóicos (intercelulares, intracelulares) e celozóicos (na cavidade dos órgãos, flutuando ou ligados a superfície epitelial interna dos mesmos) (LOM; DYKOVÁ, 2006), e seu ciclo biológico alterna entre hospedeiros vertebrados e invertebrados. O desenvolvimento ocorre em duas etapas, primeiro em um hospedeiro vertebrado (aves, anfíbios, peixes, répteis, etc.) que infecta em seguida um invertebrado (oligoquetos e poliquetas) onde desenvolvem actinosporos que depois infectam um vertebrado (KENT et al., 2001; BARTHOLOMEW et al., 2008).

Devido à grande diversidade dos mixosporídios encontrada neste grupo e ao grande potencial patogênico de algumas espécies, têm merecido destaque por parte de vários pesquisadores (MARTINS et al., 1997; MATOS et al., 2003; ADRIANO et al., 2006; MOLNÁR et al., 2006; FEIJÓ et al., 2008; EIRAS et al., 2009; AZEVEDO et al., 2011).

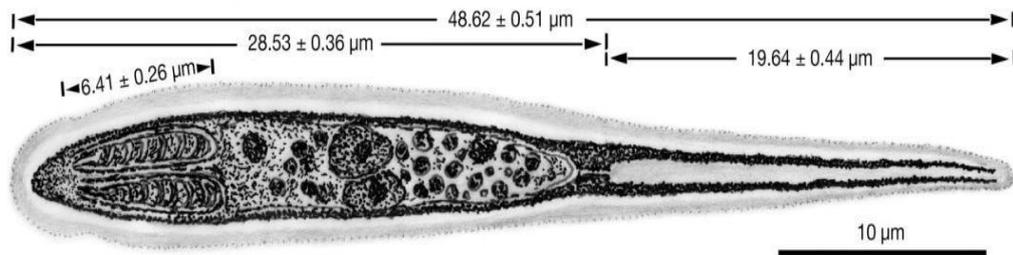
Os parasitos desenvolvem-se em cistos ou plasmódios, que podem provocar compressão do tecido hospedeiro. São pluricelulares e seus esporos (as formas resistentes), dependendo da espécie, podem apresentar de uma a sete cápsulas polares, cada uma contendo um filamento espiralado em seu interior (filamento polar). No interior dos esporos estão presentes um ou mais esporoplasmas, que possuem forma amebóide e são as células infectantes para o novo hospedeiro (EIRAS, 1994).

Até meados da década de 80, as espécies que contaminavam vertebrados eram agrupadas na classe Myxosporea e aquelas que infectavam invertebrados, na classe Actinosporea (EIRAS, 1994). Em 1984, por meio de pesquisas com *Myxobolus cerebralis*, e mais tarde confirmado para outras espécies, descobriu-se que estes parasitos alternavam entre o hospedeiro peixe (aquilo que se denominava classe Myxosporea) e um hospedeiro invertebrado (aquilo que se denominava classe Actinosporea), constituindo assim, formas distintas de um mesmo parasito em fases diferentes do ciclo de vida. Devido a nova circunstância a classe Actinosporea foi extinta e para facilitar a comunicação entre aqueles

que estudam mixosporídios convencionou-se usar os termos "estágio actinosporo", para as formas encontradas nos hospedeiros invertebrados e "estágio mixosporo", para as formas encontradas no hospedeiro vertebrado (KENT et al.,2001).

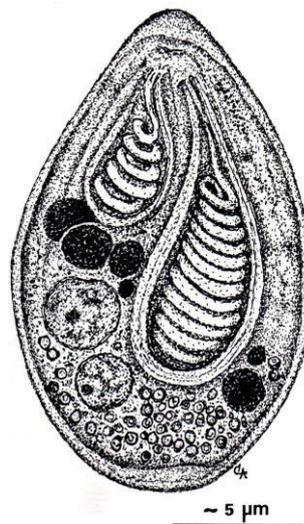
Os principais gêneros de mixosporídios causadores de doenças em peixes são *Henneguya* (Figura 03) e *Myxobolus* (Figura 04). A presença dos cistos destes parasitos pode causar hemorragias, lesões cutâneas, focos inflamatórios nas brânquias e superfície corporal, redução da eficiência respiratória e alterações comportamentais, dependendo do órgão parasitado (MARTINS et al., 2000; PAVANELLI; EIRAS; TAKEMOTO, 2008).

Figura 03- Desenho semi-esquemático *Henneguya torpedo*.



Fonte: Adaptado de Azevedo et al. (2011).

Figura 04- Esquema de esporo de *Myxobolus desaequalis*.

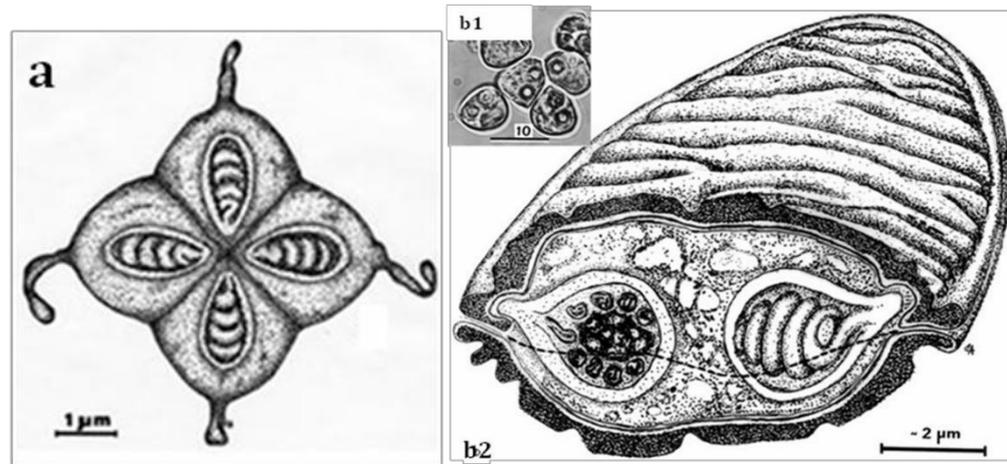


Fonte: Adaptado de Azevedo et al. (2002).

O gênero mais rico dos mixosporídios é o *Myxobolus* apresentando aproximadamente 905 espécies (LOM; DYKOVA, 2006; EIRAS et al., 2014). Seguido

pelo gênero *Henneguya* que possui perto de 204 espécies conhecidas (LOM; DYKOVA, 2006), dentre outros gêneros como, *Kudoa* (Figura 05 A) e *Triangulamyxa* (Figura 05 B) (AZEVEDO; CORAL; MATOS, 2005).

Figura 05- A -Desenho esquemático do esporo de *Kudoa aequidens*, em vista frontal. b1- Esporos de *Triangulamyxa amazonica* observados em DIC; b2- Esquema tridimensional da secção transversal demonstrando a morfologia interna e externa do esporo.



Fonte: Casal et al. (2008); Azevedo; Coral; Matos (2005).

4.2.2 Filo Microspora Balbiani, 1882

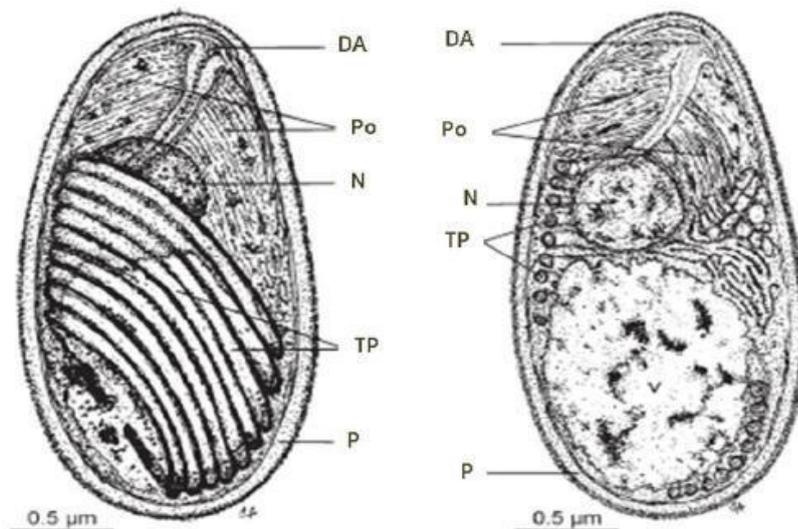
Os microsporídios são um grupo extremamente diversificado de organismos, compreendendo mais de 1.200 espécies que parasitam uma grande variedade de hospedeiros invertebrados e vertebrados (MATHIS et al., 2005). Embora classificados como protozoários (WASSON; PEPER, 2000; DIDIER et al., 2004) em alguns artigos, tendo por base análises bioquímicas e moleculares, pensa-se atualmente, que evoluíram dos fungos (MATHIS et al., 2000; DIDIER et al., 2000), de um ancestral dos zigomicetos (LEE et al., 2008).

O filo Microsporidio é constituído por microrganismos complexos e altamente especializados (DIDER et al, 2004; WASSON; PEPER, 2000). A taxonomia desses organismos foi baseada principalmente em seu ciclo de vida e nas características ultraestruturais, incluindo o tamanho, o desenvolvimento, a maturidade dos organismos, o arranjo nuclear, o número e alinhamento do espiral helicoidal do filamento polar, a localização intracelular de desenvolvimento e o modo de divisão nuclear e celular (CALI; TAKVORIAN, 1999; CANNING; VAVRA, 2000).

O Filo Microspora inclui microrganismos que apresentam características específicas de eucariotas (presença de núcleo) e dos procariotas (unidades ribossomais típicas) (MATOS et al., 2003). Podem parasitar diferentes grupos taxonômicos, principalmente os pertencentes ao Reino Animalia, inclusive humanos (BRASIL; BONFIM; MOURA, 1997) e insetos (MATOS; MENDOÇA; AZEVEDO, 2006). Os microsporídios são microrganismos unicelulares que desenvolvem o seu ciclo de vida intracelular. O seu nome provém do esporo pequeno e resistente com estruturas que caracterizam este grupo (CALI et al., 2011). Os esporos são células quiescentes (estáveis) de forma ovóide a elipsóide, com dimensões muito variadas. Os esporos aparecem mais frequentemente agrupados formando xenomas ou granulomas e, em alguns casos, podem aparecer sob formas isoladas entre as células do hospedeiro (MATOS et al., 2003).

Segundo Matos et al. (2004), o esporo é constituído por uma parede de espessura variável que contorna um esporoplasma uni ou binucleado. A maior parte dos esporos tem um vacúolo de volume apreciável localizado na porção posterior, sendo que na maior parte dos casos o tubo polar se enrola nesta porção, ficando entre o vacúolo e a parede do esporo. O núcleo se localiza na porção média do esporo, entre o polaroplasto e o vacúolo, sendo frequentemente rodeado por vários polirribossomas (Figura 06).

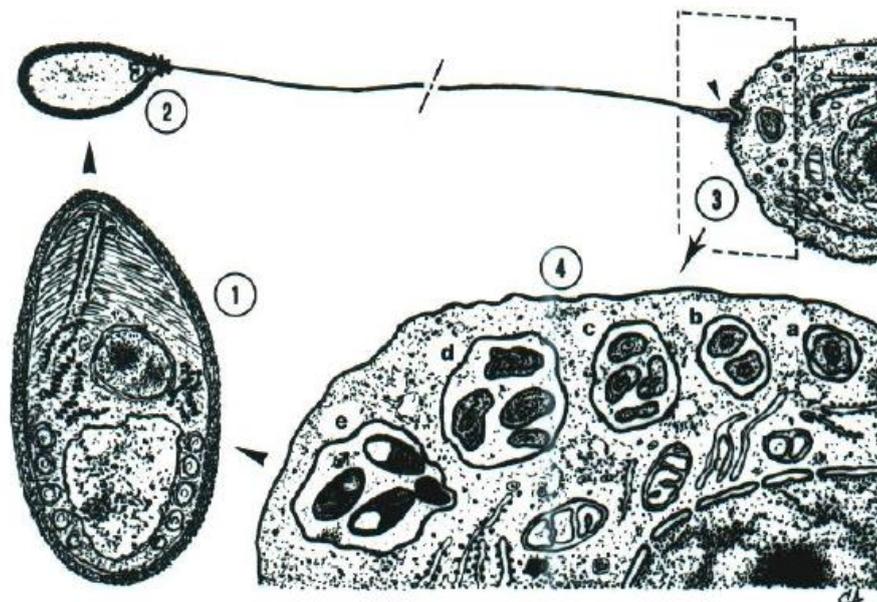
Figura 06- Desenho esquemático tridimensional do esporo do *Microsporidium brevisporis* (esquerda) e morfologia ultraestrutural em secção longitudinal (direita). DA – disco de ancoragem, N - núcleo, Po - polaroplasto, TP - tubo polar, V - vacúolo, P- parede do esporo.



Fonte: Adaptado de Matos; Azevedo (2004).

Nos microsporídios o ciclo de vida envolve um estágio proliferativo de merogonia seguido por esporogonia, o qual resulta na produção de esporos que são eliminados pelos hospedeiros no ambiente (SANTOS et al., 2010). Os merontes (células geralmente arredondadas ou alongadas, que se desenvolvem no interior de um vacúolo do citoplasma da célula hospedeira) se dividem várias vezes por divisão binária ou múltipla (dependendo da espécie), sendo que no final desta fase de divisão (merogonia), os merontes se diferenciam em esporontes. A partir daí, ocorre outra divisão, a esporogonia. Então, os esporontes começam a espessar sua parede e no final desta fase, originarão os esporoblastos, que são geralmente ovóides. Posteriormente, os esporoblastos continuam a se diferenciar e espessar sua parede, originando assim os esporos maduros. Durante esta última fase, ocorre um aumento do retículo endoplasmático rugoso e liso, bem como o desenvolvimento dos dictiossomas (aparelho de Golgi) e numerosas vesículas e vacúolos. A partir daí são diferenciados o polaroplasto e o tubo polar. Estes esporos podem infectar qualquer célula do hospedeiro através da extrusão do tubo polar, e dependendo da espécie às reações celulares a tais infecções distingui-se, pois há espécies que provocam dilatações celulares causando uma hipertrofia na célula infectada, e constituindo com os tecidos que reagem às infecções (Figura 07) (MATOS; CORAL; AZEVEDO, 2003).

Figura 07 – Representação esquemática do ciclo de vida dos microsporídeos: 1 – secção longitudinal de um esporo; 2 – extrusão do tubo polar; 3 – contato da extremidade do tubo polar com a célula hospedeira e transmissão do núcleo do esporo; 4 – sucessivas fases do desenvolvimento do ciclo de vida e formação do vacúolo parasitóforo. (a – merontes; b,c – esporontes; d – esporoblastos; e – esporos).



Fonte: Adaptado Matos et al. (2003)

Estudos estão sendo desenvolvidos no Brasil, principalmente, na Amazônia, onde foram descritos inúmeras espécies parasitando peixes, tais como: *Loma myrophis* (AZEVEDO; MATOS, 2002), *Amazonspora hassar* (AZEVEDO; MATOS, 2003), *Microsporidium brevirostris* (MATOS; AZEVEDO, 2004), *Loma psittaca* (CASAL et al., 2009), *Kabatana rondoni* (CASAL et al., 2010), *Pleistophora beebei* (CASAL et al., 2016).

4.2.3 Filo Apicomplexa Levine, 1970

Constitui um grupo de microrganismos de vida intracelular, com todo o ciclo de vida ocorrendo nas células hospedeiras englobando algumas formas patogênicas e parasitárias que ocorrem principalmente em moluscos bivalves e peixes (MATOS et al. 2004).

O ciclo de vida em peixes pode abranger dois tipos fundamentais de hospedeiros, os monoxenos (realizam o ciclo em um único hospedeiro) e os heteroxenos (completam o seu ciclo evolutivo passando pelo menos em dois hospedeiros) (DAVES; BALL, 1993). Alguns dos estádios de desenvolvimento dos Apicomplexa são imóveis, sendo que o esporozoítio (forma infectante) pode ter movimentos mais ou menos pronunciados. Além desta característica geral a maioria das espécies formam esporos e/ou oocistos. A maior parte das espécies conhecidas tem distribuição geográfica mundial e são parasitas de inúmeras espécies de peixes marinhos e de água doce. Algumas parecem ter especificidade parasitária, enquanto que outras foram escritas para dezenas de hospedeiros de vários continentes (EIRAS, 1994).

Dentre os parasitos pertencentes a este filo encontrado na ictiofauna amazônica, destaca-se o gênero *Calyptospora* (Calyptosporidae) que pode ser facilmente observada em microscopia de luz, principalmente na fase de esporo, formando vacúolos parasitóforos com quatro esporocistos, cada um contendo em seu interior dois esporozoítios (AZEVEDO; MATOS; MATOS, 1993; 1995). O impacto das infecções por *Calyptospora* em espécies de peixes é grande parte, desconhecida (WHIPPS et al., 2012).

5 MATERIAL E MÉTODOS

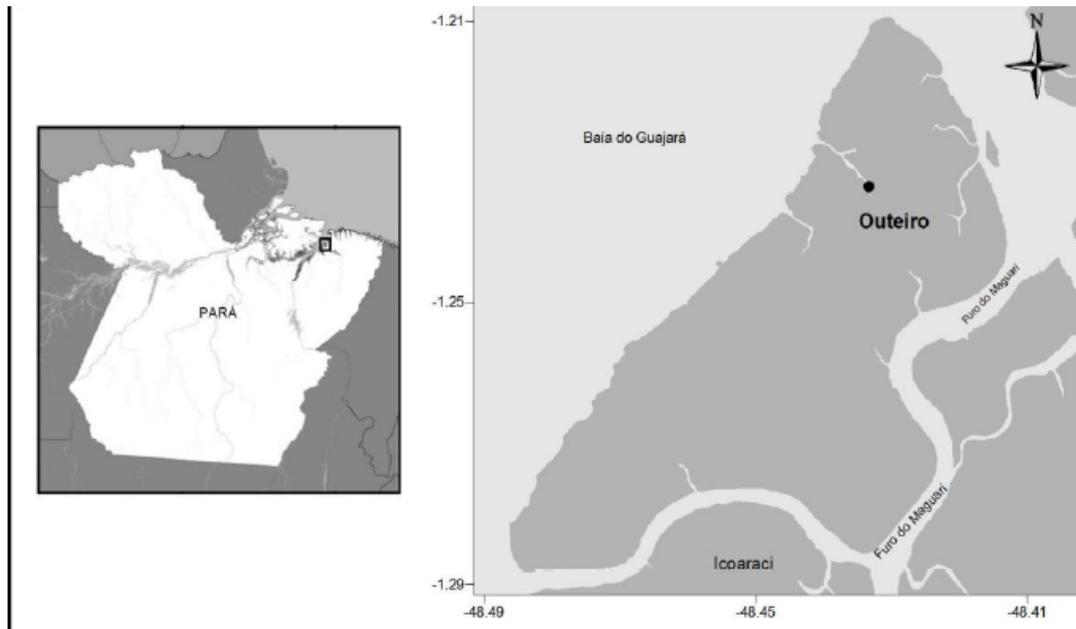
5.1 Área de Estudo

A localidade Caratateua, conhecida popularmente como Outeiro, é uma ilha do distrito de Belém, ligada ao continente por meio de ponte sobre o rio Maguari – a Ponte Enéas Pinheiro, distante 25 km do centro da capital (Figura 08). A ilha é banhada pela baía de Guajará, por águas doces, turvas, de características barrentas. É o balneário mais próximo de Belém, a 18 km da capital.

A Baía de Guajará é formada pelas confluências dos rios Guamá e Acará (PEREIRA, 2001). Faz parte do estuário Amazônico e prolonga-se até próximo à ilha de Mosqueiro, onde se limita com a baía do Marajó. Numerosas ilhas e canais compõem a baía dando destaque na sua margem esquerda para as Ilhas das Onças, Jararaca, Mirim, Paquetá-Açu e Jutuba. Na sua margem direita, localiza-se a cidade de Belém e mais ao Norte, separadas pelos furos do Maguary e das Marinhas, as ilhas de Outeiro e Mosqueiro, respectivamente (PINHEIRO, 1987).

O distrito possui uma área de 111.395 km², e administra o espaço físico de 26 ilhas, de um total de 42, situadas no centro leste: Ilha de Caratateua, Cotijuba, Combú, do Maracujá, Murutucum, de Paquetá-Açu, de Jutuba, Grande (longa), Urubuoca, Nova, Satélite, dos Patos, do Papagaio, da Mirim, Jararaca, Jararaquinha, Coroinha, de Tatuoca, do Fortim, do Cruzador, de Santa Cruz e mais cinco sem denominação ou habitantes.

Figura 08: Localização geográfica do Distrito de Outeiro, Belém, Pará.

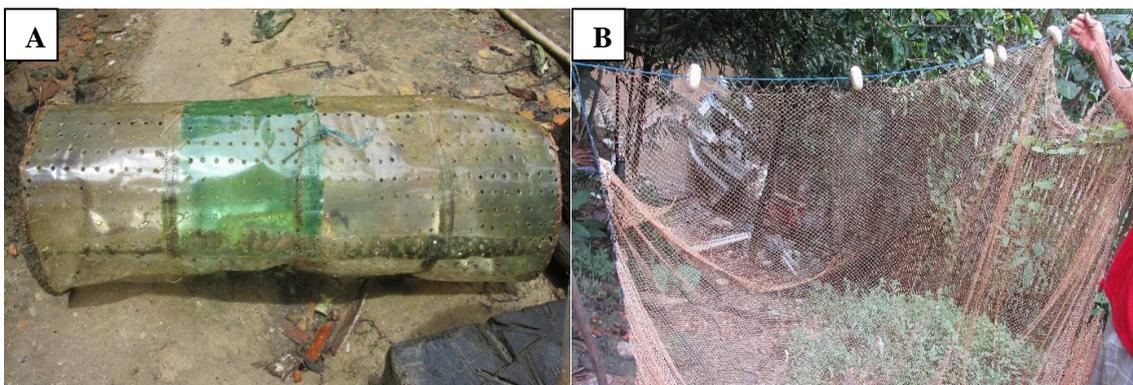


Fonte: Oliveira, 2014

5.2 Colheita e Transporte dos Espécimes

As espécies de peixes que foram analisadas neste trabalho foram *E. pisonis* e *C. saxatilis*. O material utilizado foi obtido em coletas realizadas no furo do rio Maguari no Distrito de Outeiro em 2016 e 2017. As coletas foram realizadas por pescadores com o auxílio de apetrechos de pesca, tais como, matapi e rede de emalhar (malhadeira) (Figura 09). Foram realizadas coletas bimestrais, sendo que em cada coleta foram capturados em média 10 indivíduos.

Figura 09: A - Matapi, armadilha de forma cilíndrica fechada por dois cones por onde entram os peixes e ficam presos. B - Rede de emalhar, estrutura de forma retangular, em fio monofilamento de náilon (poliamida), fica verticalmente na coluna d'água onde o peixe é emalhado.



Fonte: Arquivo LPCA

A coleta de material permitida ao LPCA foi fornecida pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio através do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO – Licença permanente para coleta de material zoológico. Número 27119-1.

Os peixes uma vez capturados eram acondicionados em sacos plásticos com aeração artificial, transportados vivos até o Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo (LPCA), na Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA - campus Belém), onde ficavam armazenados em aquários com água do próprio habitat, até que se transcorressem as análises microscópicas.

5.3 Dissecção dos Espécimes e Observação de Parasitos

Nos aquários os peixes foram anestesiados com Tricaína Metano sulfonato (MS222 SIGMA) na concentração de 50mg/L (CEUA 13/2013) e logo após, retirados dos aquários, evitando ao máximo o estresse dos animais. Em seguida, toda a sua superfície corpórea externa foi observada por meio de estereomicroscópio para pesquisa de parasitos.

Os animais foram necropsiados com auxílio de instrumentos de dissecção (bisturi, tesouras e pinças), sendo avaliadas as regiões brânquiais e ventral dos hospedeiros com exposição de seus órgãos internos, a fim de encontrar lesões como cistos e tumefações, sempre com o auxílio de estereomicroscópio Zeiss Stemi DCR. Todos os dados foram armazenados em uma ficha de coleta/necropsia (ANEXO A).

Os tecidos e órgãos que apresentaram possíveis focos de desenvolvimento de parasitos foram processados através da técnica para Microscopia de Luz (ML); foram retirados pequenos fragmentos e colocados entre lâmina e lamínula contendo uma gota de água, para realizar a observação em microscópio de luz Olympus CX41, distinguindo estádios de parasitoses com cistos de secreção glandular ou de células adiposas.

Confirmado o parasitismo, com auxílio de câmera fotográfica acoplada ao microscópio, utilizando o software AxioVision 5.1. micrografias dos esporos frescos foram adquiridas.

5.4 Microscopia de luz (ML)

Os fragmentos de tecido com parasitas foram colhidos e fixados em Davidson, na proporção de nove partes de fixador para uma de material biológico (9:1), por 24 horas, a fim de inativar as enzimas, conservando a estrutura celular mais próxima de como se apresenta *in vivo*, sem a ação autolítica.

Após a fixação, os fragmentos foram processados de acordo com as técnicas padronizadas pelo LPCA (ANEXO B), passando por uma bateria de concentrações alcoólica crescente, diafanização, inclusão (como auxílio do aparelho TISSUEEMBEDDING CENTERMICRON EC350), microtomia (micrótomo ROTARY MICROTOME MICRONHM 315) e coloração com Hematoxilina e Eosina e técnicas especiais (LUNA, 1968). A medida que as análises foram sendo realizadas, completava-se a planilha (ANEXO C).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

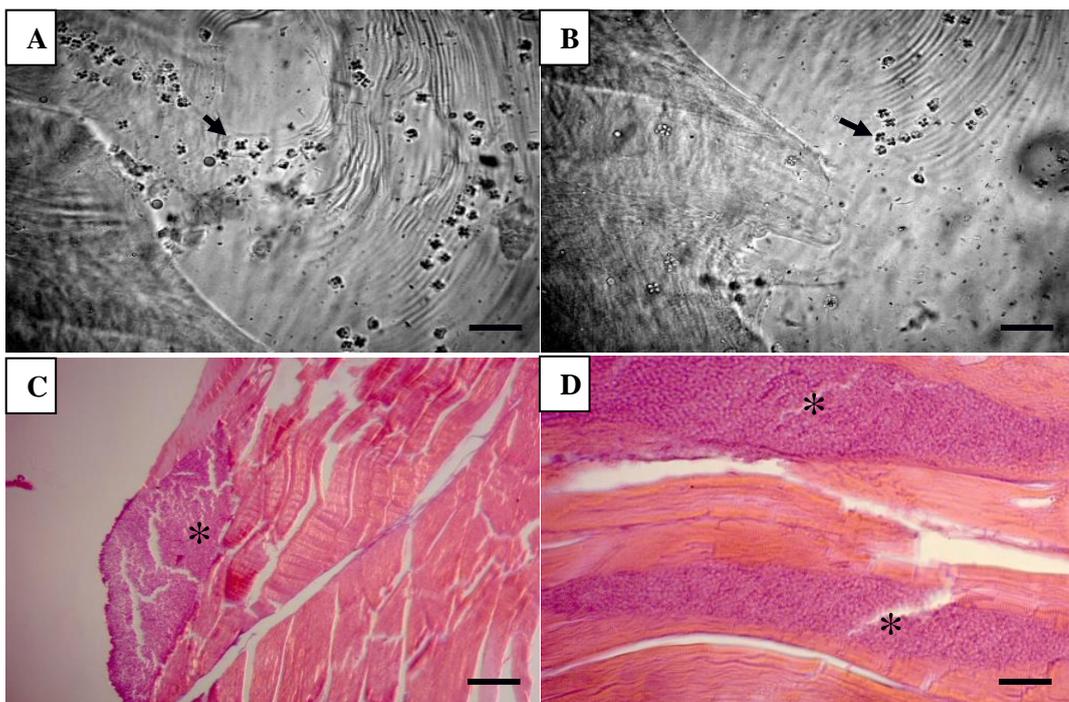
Na análise parasitológica foram encontrados os 3 filios, Cnidaria (sub-filo Myxozoa), Microsporidia e Apicomplexa.

6.1 Microparasitas eucariotos encontrados no *C. saxatilis*

Durante análise externa dos exemplares de *C. saxatilis* em lupa, não foram encontrados parasitos pertencentes aos filios objetos deste estudo. Mas, após análise interna, foram identificados parasitos pertencentes a dois filios, Filo Cnidaria subfilo Myxozoa, representado pelo gênero *Kudoa* e Filo Apicomplexa, representado pelo gênero *Calyptospora*.

Foram encontrados em 100% dos 50 exemplares analisados a presença de pseudocistos parasitários entremeados, dentro e entre as fibras musculares estriadas esqueléticas, onde observou-se esporos de formato pseudoquadrado e/ou estrelado, com quatro cápsulas polares, sendo identificados pela sua morfologia como pertencentes ao gênero *Kudoa* (Figura 10A, B). Este é o primeiro relato de *Kudoa* sp. no músculo em *C. saxatilis*, na Amazônia, Pará, Brasil.

Figura 10 – A, B - Fotomicrografia de luz, observação a fresco de esporos pertencentes ao gênero de *Kudoa* em musculatura esquelética de *C. saxatilis*; C, D – Cistos de *Kudoa* sp. evidenciando as lesões (causadas na musculatura esquelética de *C. saxatili*. A infecção leva a mioliquefação do tecido muscular. Cortes em Hematoxilina-Eosina. Bar. Esc.: 20µm.



Fonte: Arquivo LPCA

Os pseudocistos encontravam-se com formato alongado em vista longitudinal dentro das fibras musculares esqueléticas (Figura 10C, D) e os dados biométricos dos esporos de *Kudoa* spp. na vista apical com comprimento de 8,4 ($\pm 0,6$) μm e 7,2 ($\pm 0,6$) μm de largura, e em seu interior esporos maduros. A tabela 1 mostra os dados de medidas relativos ao comprimento e largura dos esporos e capsulas polares de algumas espécies de *Kudoa* comparados com os dados do presente estudo.

Tabela 1 – Medidas dos esporos de *Kudoa* sp. em μm detectados no músculo de *C. saxatilis* e outros *Kudoa* spp.

Referências	<i>Kudoa</i> spp.	Hospedeiro	Sítio de Infecção	Esporo (comprimento)	Esporo (largura)	Cápsula polar (comprimento)	Cápsula polar (largura)
Presente estudo	-	<i>Crenicichla saxatilis</i>	Musculatura	8,4 \pm 0,6 (7,37 - 9,74)	7,2 \pm 0,6 (6,66 - 8,31)	2,4 \pm 0,3 (2,07 - 3,06)	2,0 \pm 0,2 (1,83 - 2,14)
Joy (1972)	<i>Kudoa branchiata</i>	<i>Leiostomus xanthurus</i>	Brânquias	4,15 (3,88-4,85)	4,73 (4,36-4,85)	1,46	0,9
Paperna e Zwerner, (1974)	<i>Kudoa cerebralis</i>	<i>Morone saxatilis</i>	Cérebro	5,5 \pm 0,4 (4,8-5,8)	6,4 \pm 0,4 (5,8-7,2)	3,7 \pm 0,5 (2,6-4,7)	1,5 \pm 0,2 (1,0-1,8)
Kovaleva e Schulman (1979)	<i>Kudoa alliaria</i>	<i>Micromesistius australis</i>	Musculatura	7-8	8-9	2,4	1,8
Lom & Dycová, (1988)	<i>Kudoa luneta</i>	<i>Amoglossus laterna</i>	-	5,3	10	2,5	1,5
Dyková et al. (1994)	<i>Kudoa leiostomi</i>	<i>Leiostomus xanthurus</i>	Musculatura	6,8	9,1 (8,0-9,8)	3,3	1,7
Kalavati et al.(2000)	<i>Kudoa ramsayi</i>	<i>Patagonotothen ramsayi</i>	Musculatura	9,1 \pm 0,6 (8,0-10,4)	5,6 \pm 0,8 (4,8-8,0)	2,6 \pm 0,4 (2,0-3,6)	2,2 \pm 0,3 (1,6-3,2)
Blaylock et al. (2004)	<i>Kudoa hipoepicardialis</i>	<i>Nomeus gronovii</i>	Coração	6,5	10,1	2,8	0,97
Casal et.al, (2008)	<i>Kudoa aequidens</i>	<i>Aequidens plagiozonatus</i>	Musculatura	3,2 (2,9-3,5)	6,8 (6,2-7,1)	2,2 (2,0-2,6)	1,2 (1,1-1,5)
Mansour et al., (2013)	<i>Kudoa Azevedoil</i>	<i>Trachurus trachurus</i>	-	3,5 \pm 0,41	4,55 \pm 0,44 (4-5,2)	1,5 \pm 0,22 (1,5-2)	0,75 \pm 0,14 (0,5-1)
Azevedo et al.,(2016)	<i>Kudoa orbicularis</i>	<i>Chaetobranchopsis orbicularis</i>	Musculatura	4,3 (3,6-5,0)	5,1 (4,2-5,8)	2,1 (1,7-2,6)	1,3 (0,9-1,7)

As comparações entre os dados de medidas dos esporos do *Kudoa* sp. estudados e da maioria dos já descritos não apresentaram semelhanças no comprimento de esporo, apesar de algumas semelhanças relacionadas a localização do parasita dentro do hospedeiro. O *Kudoa alliaria* descrito por Kovaleva e Schulman (1979) foi o mais parecido com o mixosporídeo coletado e foi encontrado também, na musculatura infectando *Micromesistius australis* nas Ilhas Malvinas/Argentina.

O número de espécies descritas na América do Sul é muito pouco, apesar do grande número de potenciais hospedeiros nas costas do Atlântico e do Pacífico. No Brasil os estudos sobre *Kudoa* spp. são bem escassos, com poucos registros, entre eles: *Kudoa aequidens* em *Aequidens plagiozonatus* (CASAL et al., 2008), *Kudoa* sp. em *Mugil liza* (EIRAS et. al.,

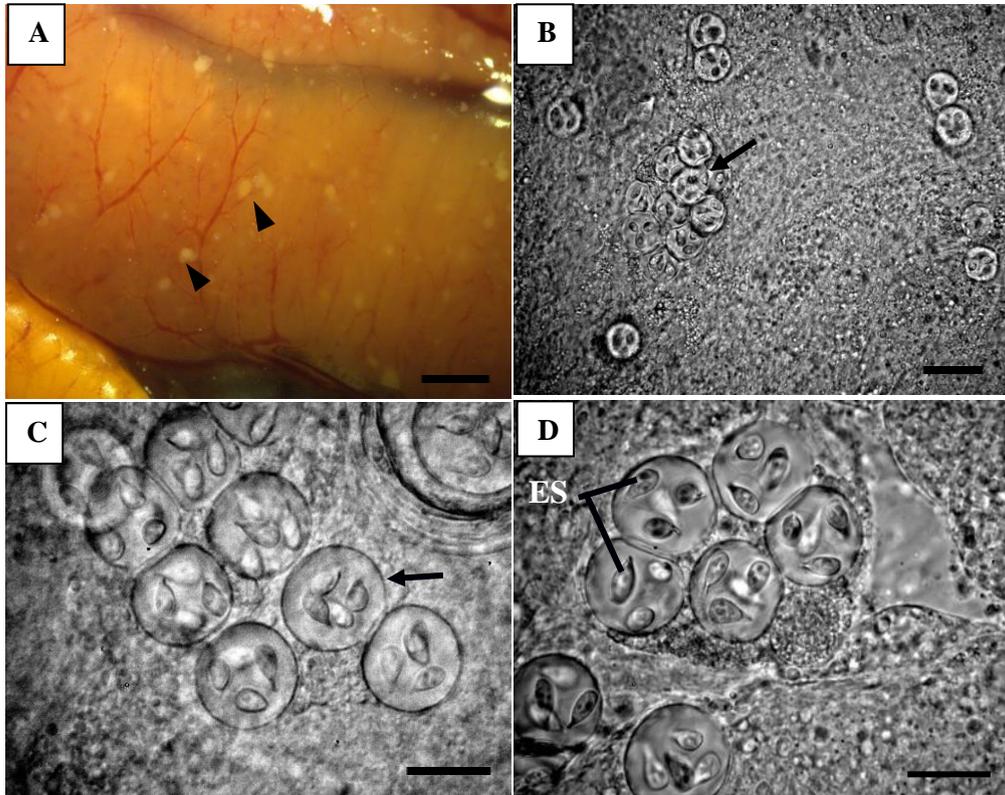
2014), *Kudoa orbicularis* em *Chaetobranchopsis orbicularis* (AZEVEDO et. al., 2016), *Kudoa* spp em *Lutjanis analis*, *Bagre marinus*, *Aspitor luniscutis* e *Lutjanus jocu* (EIRAS, et al., 2016), *Kudoa* spp. *Plagioscion squamosissimus* (OLIVEIRA, et al., 2015).

As infecções por *Kudoa* sp. causam mioliquefação post-mortem nos tecidos musculares no hospedeiro, tornando-o impróprio para o consumo, não devendo ser comercializado.

No fígado observou-se a presença do apicomplexa do gênero *Calyptospora* (Filo Apicomplexa, Classe Sporozoa, Ordem Eucoccidiida). A partir da necropsia dos exemplares, foi possível observar que o hepatopâncreas, apresentava regiões de coloração esbranquiçada, ocupando grandes áreas do órgão (Figura 11A); por meio da ML, foi confirmada que as lesões correspondiam a agregações parasitárias causadas por oocistos de coccídios. Além da forma em aglomerados, os oocistos apresentavam-se também isolados, distribuídos por todo o parênquima hepatopancreático.

Os oocistos foram identificados como pertencentes ao gênero *Calyptospora* por causa de sua morfologia característica, formando vacúolos parasitóforos com quatro esporocistos, de formato elipsoidal (Figura 11D), cada um com dois esporozoítos.

Figura 11- A - Foto macroscópica de fígado apresentando cistos de *Calyptospora* (cabeça de seta). Bar. Esc.: 500 μm ; B - Fotomicrografia de luz, observação a fresco de esporos pertencentes ao gênero de *Calyptospora* em fígado de *C. saxatilis* (seta). Bar. Esc.: 20 μm ; C – Observação a fresco de oocistos de *Calyptospora* (seta). Bar. Esc.: 5 μm ; D – Oocisto contendo quatro esporozoítos (ES). Bar. Esc.: 5 μm .



Fonte: Arquivo LPCA

Oocistos isolados foram observados na região hepatopancreática (Figura 12A). Os aspectos histológicos evidenciaram oocistos agrupados no parênquima hepático (Figura 12B). Os oocistos raramente provocaram resposta inflamatória no órgão, observando-se apenas leves compressões dos hepatócitos adjacentes à localização do parasito, cujos dados semelhantes foram descritos por Santiago et al. (2012).

A coccidiose hepatopancreática causada por *Calyptospora* sp. em *C. saxatilis* estava presente em todo período da coleta com prevalência de 90%.

Outros parasitos do gênero *Calyptospora* já foram descritos em outras espécies do gênero *Crenicichla* como o *C. spinosa* (Calyptosporidae) parasitando o fígado de *Crenicichla lepidota* (AZEVEDO et al., 1993; AZEVEDO et. al., 1995).

Os dados biométricos dos oocistos são similares aos decritos por Azevedo et. al (1993) em *Calyptospora spinosa*, Bonar et al. (2006) em *Calyptospora* sp. e Albuquerque e Brasil Sato em 2010 em *Calyptospora* sp.

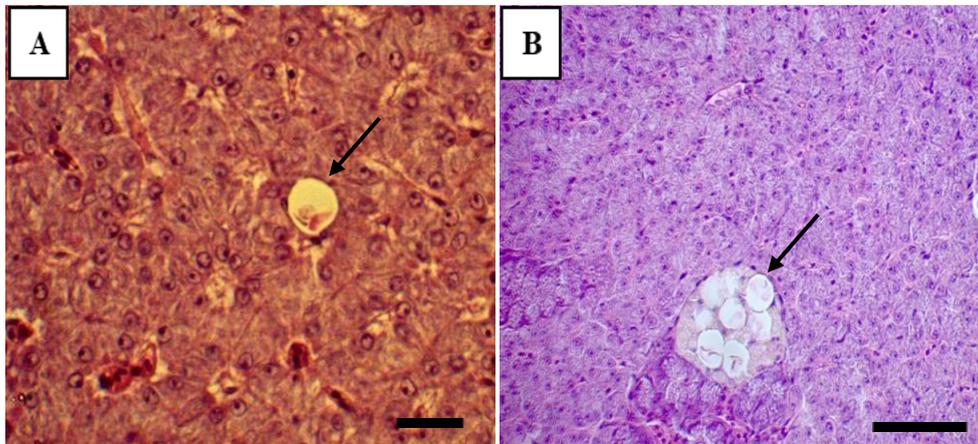
Na tabela 2 estão registrados os dados biométricos comparativos referentes as

dimensões dos oocistos, comprimento e largura dos esporocistos de espécies de *Calyptospora* descritas em alguns artigos científicos, e que foram comparados com o presente estudo.

Tabela 2 – Medidas comparativas dos oocistos e esporocistos das espécies do gênero de *Calyptospora* sp. em μm detectados no fígado de *C. saxatilis*

Referências	<i>Calyptospora</i> spp.	Hospedeiro	Diâmetro do oocisto	Esporocisto (comprimento)	Esporocisto (largura)
Presente estudo	-	<i>Crenicichla saxatilis</i>	$20 \pm 0,3$ (19,52 - 20,63)	$8,8 \pm 1,1$ (6,69 – 10,59)	$4,3 \pm 0,4$ (3,46 – 4,84)
Azevedo et al. 1993	<i>C. spinosa</i>	-	21,1-23,4	8,9-9,5	3,6-4,1
Albuquerque; Brasil-Sato, 2010	<i>Calyptospora</i> sp.		24,5	11,5	4,5
Bonar et al. 2006	<i>Calyptospora</i> sp.		16,0-22,0	8,0-10,0	4,5-5,0

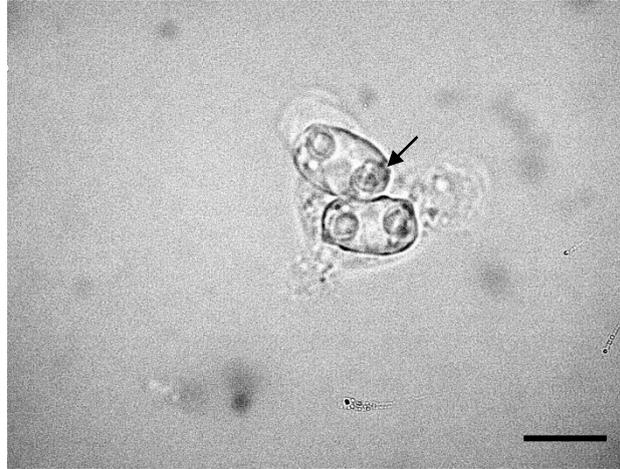
Figura 12 – A – Oocisto na forma imatura na região pancreática (seta) (Coloração Tricômico de Gomori). Bar. Esc.: 20 μm . B - Corte histológico de parênquima hepático de *C. saxatilis* evidenciando oocistos agrupados (seta) corados em Hematoxilina-Eosina. Bar. Esc.: 50 μm .



Fonte: Arquivo LPCA

Dos 50 exemplares examinados 15 apresentaram a presença de *Ellipsomyxa* sp. na vesícula biliar (15/50 – 30%), tanto na parede do órgão, quanto na luz da vesícula biliar, sendo observados esporos de formato alongado em direção perpendicular ao centro e duas cápsulas polares (CP) iguais, em lados e polos opostos, características morfológicas do gênero *Ellipsomyxa* (Figura 13).

Figura 13: Fotomicrografia de luz evidenciando esporos de *Ellipsomyxa* sp. (seta), parasitando vesícula bibliar de *C. saxatillis*, em preparação a fresco. Bar. Esc.: 5 μ m.



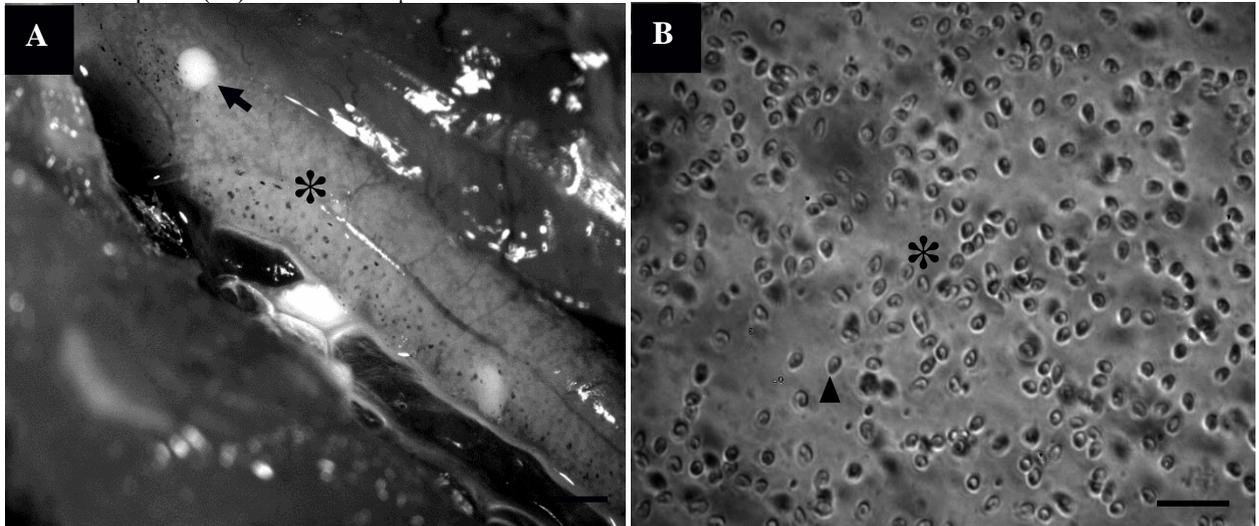
Fonte: Arquivo LPCA

Os esporos apresentaram os seguintes dados morfométricos: comprimento de 12,16 μ m, largura de 7,7 μ m, duas capsulas polares esféricas iguais de 3,1 μ m. Esses valores são maiores em comparação com as dimensões descritas Koie (2003) do *Ellipsomyxa gobii*.

6.2 Microparasitas encontrados no *E. aff pisonis*

Durante a análise dos órgãos internos do *E. pisonis* foram encontrados vários cistos ou xenomas arredondados de coloração esbranquiçada (Figura 14A), na região externa do ovário e do testículo, que ao se romperem quando comprimidos entre lâmina/lamínula e uma gota d'água, foram identificados esporos como pertencentes ao gênero *Microsporidium* (Filo Microspora, Classe Microsporea, Ordem Microsporida) (Figura 14B), caracterizados por possuírem parede espessa e esporos com formato piriforme, contendo no interior, um filamento polar enrolado helicoidalmente (não sendo possível observação do número de voltas), além do esporoplasma com imagem do vacúolo posterior. Os esporos de microsporídeos possuíam em média 3,1 μ m de comprimento e 2,2 μ m de largura (tabela 3).

Figura 14- A - Foto macroscópica de cisto esbranquiçado de *Microsporidium* sp. (seta) localizado no ovário (*) de *E. pisonis* (Barra de escala de 200µm). B - Observação a fresco de esporos de *Microsporidium* sp. (cabeça de seta) evidenciados após o rompimento do cisto encontrado na região externa do testículo (*) de *E. Pisonis*. Parede os esporos (Pa). Bar. Esc.: 10µm.



Fonte: Arquivo LPCA

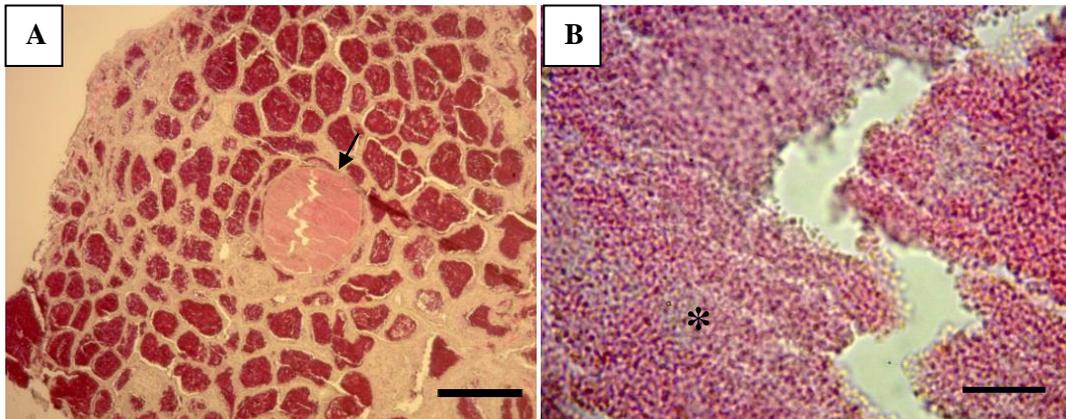
Tabela 3– Medidas dos esporos de *Microsporidium* sp. em µm encontrados na gônada de *Eleotris pisonis*

Espécie	Hospedeiro	Esporo (comprimento)	Esporo (largura)
<i>Eleotris pisonis</i>		3,1 ± 0,2 (2,92 – 3,71)	2,2 ± 0,1 (1,91– 2,47)

Estes esporos são semelhantes aos descritos por Azevedo e Matos (2002; 2003), Matos et al. (2003a, b), Lom e Nilsen (2003), Becnel e Andreadis (1999) Matos e Azevedo (2004). Videira et. al (2014) relataram alterações hepáticas associadas a presença de microsporídios da espécie *Gobioides grahamae*, capturados no município de Salvaterra na Ilha de Marajó, ressaltando que as condições de peixes saudáveis em ambiente natural podem ser afetadas negativamente por parasitas.

Algumas espécies de microsporídeos podem ser letais ao hospedeiro. De acordo com Matos (2007) a castração parasitária, gigantismo, mudança de sexo do hospedeiro são alguns dos efeitos do parasitismo de microsporídeos. A presença de microsporídeos nas gônadas de peixes pode causar impactos quanto a dinâmica da população dos hospedeiros, uma vez que a infecção parasitaria causa alteração nos órgãos sexuais, produzindo em alguns casos castração efetiva conforme estudado por Diamant, et. al (2014).

Figura 15: A – Corte de ovário contendo um xenoma (seta) (Coloração Tricômico de Gomori) Bar. Esc.: 50 μ m; B – Bar. Esc.: 5 μ m. **B**



Fonte: Arquivo LPCA

Na vesícula biliar foi registrado a presença de *Ellipsomyxa* sp. Os esporos apresentaram 12,5 μ m de comprimento e 7,2 μ m de largura e suas capsulas polares 2,8 μ m de comprimento e 2,6 μ m de largura (Tabela 04).

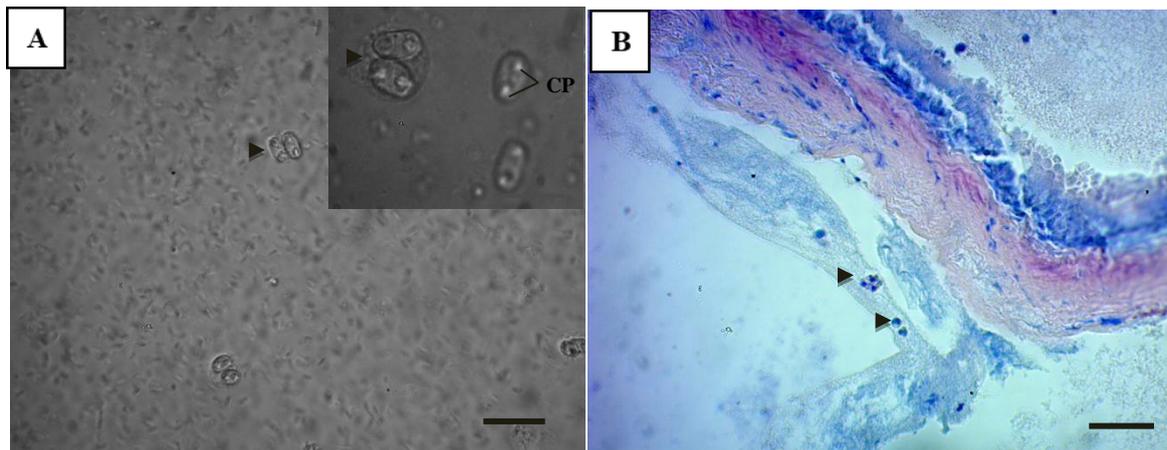
As dimensões mensurados de *Ellipsomyxa* sp. são menores que os abordados por Koie (2003), com excessão do tamanho do espora, que assinalou esporos com 7,0 μ m de comprimento, 8,7 μ m de largura e 3,1 μ m de comprimento e largura das cápsulas polares e Koie e Karlsbakk (2009) que registraram esporos de *Ellipsomyxa syngnathi* com 6,8 μ m de comprimento, 8,1 μ m de largura, 3,6 μ m de comprimento da capsula polar e 2,5 μ m de largura da cápsula polar.

Uma nova espécie encontrada por Azevedo et al. (2013) apresentou espora com comprimento do espora de 6,8 μ m e largura de 7,2 μ m, suas cápsulas polares medindo 2,5 μ m de largura e 4,6 μ m de comprimento, valores menores ao encontrado neste estudo, com excessão do comprimento da cápsula polar.

Tabela 04– Medidas dos esporos de *Ellipsomyxa* sp. em μm observados na vesícula biliar de *Eleotris aff. pisonis*

Referências	<i>Ellipsomyxa</i> spp.	Hospedeiro	Esporo (comprimento)	Esporo (largura)	Cápsula polar (comprimento)	Cápsula polar (largura)
Presente estudo	<i>Ellipsomyxa</i> sp.	<i>Eleotris pisonis</i> aff.	$12,5 \pm 1,1$ (10,63 – 13,73)	$7,2 \pm 0,9$ (5,87 – 8,47)	$2,8 \pm 0,2$ (2,42 – 3,29)	$2,6 \pm 0,2$ (2,16 – 3,02)
Køie (2003)	<i>Ellipsomyxa gobbi</i>	<i>Pomatoschistus microps</i>	7,0	8,7	3,1	-
Køie and Karlsbakk (2009)	<i>Ellipsomyxa syngnathi</i>	<i>Syngnatus typhle</i> and <i>Syngnathus rostellatus</i>	6,8	8,1	3,6	2,9
Gunter e Adlard (2010)	<i>Ellipsomyxa fusiformes</i>	<i>Sphyrna zygaena</i>	16	9	4,5	
Whipps e Font (2013)	<i>Ellipsomyxa adlardi</i>	<i>Gobiosoma bosc</i>	$12,4 \pm 0,18$ (11,3-14,4)	$7,7 \pm 0,1$ (7,1-8,8)	$4,3 \pm 0,06$ (3,9-4,9)	$3,6 \pm 0,03$ (3,3-4,1)
Azevedo et. al., (2013)	<i>Ellipsomyxa gobioides</i>	<i>Gobioides broussonnetii</i>	$6,8 \pm 0,2$ (6,5-7,0)	$6,8 \pm 0,2$ (6,5-7,0)	$4,6 \pm 0,3$ (4,3-4,8)	$2,5 \pm 0,3$ (2,1-2,7)

Figura 16: Fotomicrografia de luz: **A.** Líquido vesical com esporos de *Ellipsomyxa* sp. (Cabeça da seta), parasitando vesícula biliar, em preparação a fresco. Bar. Esc.: 20 μm . **B.** Corte histológico de vesícula biliar, evidenciando presença de esporo de *Ellipsomyxa* no líquido vesical (cabeça de seta). Bar. Esc.: 20 μm .



7. CONCLUSÃO

Os resultados permitiram as seguintes conclusões:

1. As duas espécies de peixes estavam parasitas por microparasitas eucariotos, sendo *Myxospora* o de maior ocorrência;
2. O maior índice de parasitismo em *C. saxatilis* foi de *Kudoa* sp. e *Calyptospora* sp. e em *E. pisonis* foi de *Microsporidium* sp.;
3. O parasitismo por *Ellipsomyxa* sp. foi comum nas duas espécies;
4. Foi constatado multiparasitismo nas espécies de peixes analisadas.

REFERÊNCIAS

- ADRIANO, E. A.; ARANA, S.; CORDEIRO, N. S. Histopathology and ultrastructure of *Myxobolus cuneus* n. sp. infecting the connective tissue of *Piaractus mesopotamicus* (Pisces: Characidae) cultivated in Brazil. **Parasite**. v. 13, p. 42-137, 2006.
- 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. Brasil. **European Journal of Protistology**, v. 46, p.150-152. 2010.
- ARAÚJO A, JANSEN AM, BOUCHET F, REINHARD K, FERREIRA LF. Parasitism, the diversity of life, and paleoparasitology. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **98** (suppl.1): 5-11, 2003.
- AZEVEDO, C.; MATOS, P.; MATOS, E. Morphological Data of *Calyptospora spinose* n. sp. (Apicomplexa, Calyptosporidae) Parasite of *Crenicichla lepidota* HEÖKEL, 1840 (Teleostei) from Amazon River. **European Journal of Protistology**. v. 29, p. 171-175, mai 1993.
- AZEVEDO, C.; MATOS, P.; MATOS, E. Ultrastructural data on sporogony of the coccidian parasite *Calyptospora spinose* from the liver of the Amazonian fish, *Crenicichla lepidota* Heckel. **Journal of fish Diseases**, v.18, p.475-79. 1995.
- 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.
- _____.Fine structure of *Henneguya pilosa* sp. n. (Myxozoa: Myxosporea), parasite of the Brazilian fish, *Serrasalmus altuvei* (Characidae). **Folia Parasitológica**, v. 50, p. 35-40, 2003a.
- _____.Amazon sporahassar n. gen. and n. sp. (Phylum Microsporida, fam. Glugeidae), a parasite of the Amazonian fish, Hassar orestis (Fam. Doradidae). **Journal of Parasitology**, v. 89, p. 336-341, 2003b.
- AZEVEDO, C.; CORRAL, L.; MATOS, E. Ultrastructure of *Triangulamyxa amazonica* n. gen. and n. sp. (Myxozoa, Myxosporea), a parasite of the Amazonian freshwater fish, *Sphoeroides testudineus* (Teleostei, Tetodontidae). **European Journal of Protistology**, v. 41, p. 57–63, 2005.
- AZEVEDO, C.; et al. *Henneguya torpedo* sp.nov.(Myxozoa), a parasite from the nervous system of the Amazonian teleost *Brachyhyppopomus pinnicaudatus* (Hypopomidae). **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 93, p. 235–242, 2011.
- AZEVEDO, C., et al. 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**, 60.5: 490-496. 2013.
- AZEVEDO, C., et al. Ultrastructural and phylogenetic description of *Kudoa orbicularis* n. sp. (Myxosporea: Multivalvulida): a parasite infecting the muscle of the fish *Chaetobranchopsis*

orbicularis (Teleostei: Cichlidae) in the Amazon Region. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, 63(1), 27-36. 2016.

BARTHEM, R. B.; FABRÉ, N.. Biologia e diversidade dos recursos pesqueiros na Amazônia. In: RUFFINO, Mauro Luís (Ed.). **A pesca e os recursos pesqueiros na Amazônia brasileira**. Brasília: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, 2004. p. 17-62.

BARTHOLOMEW, J. L. et al. Myxozoan parasitismo in waterfowl. **International Journal for Parasitology**, v. 38, n. 10, 2008.

BECNEL, J. J.; ANDREADIS, T. G. Microsporidia in Insects, **Microsporidia**, (521-570), 2014.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. (2013). **Boletim estatístico de pesca e aquicultura do Brasil 2011**. Brasília: República Federativa do Brasil.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Portaria nº368 de 10 de setembro de 1997**. Aprova Regulamento Técnico sobre as condições Higiênico – Sanitária e de Boas Práticas de Fabricação para estabelecimentos Elaboradores/Industrializadores de alimentos. Brasília (DF), 1997.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura 2012**, Poder Executivo, Brasília, DF, fev. de 2012.

BRITZKE, R. et al. Filogenia do gênero *Apistogramma* (Perciformes Cichlidae) baseado em sequência do genes 16S RRNA. In: **Jornal of Basic & Applied Genetics**. Suppl. Vol XXIII (1). 2012.

BONAR, C.; POYNTON, S.; SCHULMAN, I.; RIETCHEK R.; GARNER, M. Hepatic Calyptospora sp. (Apicomplexa) infection in a wild-born, aquarium-held clutch of juvenile arapaima *Arapaima gigas* (Osteoglossidae). **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 70, n. 1-2, p. 81-92, 2006.

BUCKUP, P.A; MENEZES, N.A; GHAZZI, M.S (ed.). **Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil**. Rio de Janeiro: Museu Nacional, p. 195, 2007.

CALI A, TAKVORIAN P. Developmental morphology and life cycles of the microsporidia. In: Wittner, M., Weiss, L. (Eds.), **The Microsporidia and Microsporidiosis**. **American Society of Microbiology**, Washington, DC.1999; 85– 128.

CANNING, E. U., VAVRA, J. Phylum Microsporidia. In: Lee, JJ, Leedale, GF., Bradbury, P. eds.), **The Illustrated Guide to the Protozoa**. 2nd ed. Society of Protozoologists, Lawrence, KS, USA. 39–126. 2000.

CANNING, E. U., OKAMURA, B. Biodiversity and evolution of the Myxozoa. **Advances in Parasitology**, (56) 43–131. 2004.

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 plaggiozonatus* (Teleostei) from the Amazon River. **Acta Protozoologica**, v. 47, p. 135–141, 2008.

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.

. Ultrastructural and molecular characterization of a new *microsporidium* parasite from the Amazonian fish, *Gymnorhamphichthys rondoni* (Rhamphichthyidae). **Journal of Parasitology**, v. 96, n. 6, p. 1155-63, dez. 2010.

Casal, G. et al. Ultrastructure and Phylogeny of *Pleistophora beebei* sp. nov. (Microsporidia) Infecting the Amazonian Teleostean *Brachyhypopomus beebei* (fam. Hypopomidae). **Acta Protozoologica** 55, 259–268. 2016.

CHANG, E. S., et al. Genomic insights into the evolutionary origin of Myxozoa within Cnidaria. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, (112) 14912–14917. 2015.

DAVES A. J.; BALL, S. J. The biology of fish Coccidia. **Adv Parasitology**, v. 32, p. 293-366, 1993.

DIAMANT, Arik et al. Biology of a new xenoma-forming gonadotropic microsporidium in the invasive blotchfin dragonet *Callionymus filamentosus*. **Diseases of aquatic organisms**, v. 109, n. 1, p. 35-54, 2014.

DIDIER, E.S.; DIDIER, P.J.; SNOWDEN, K.F. et al. Microsporidiosis in mammals. **Microbes Infect.**, v.2, p.709-720, 2000.

DIDIER, E.S. et al. Epidemiology of microsporidiosis: sources and modes of transmission. **Veterinary Parasitology**, v.126, p.145-166, 2004.

EIRAS, J. C.; PAVANELLI, G. C.; TAKEMOTO, R. M. *Henneguya Paranaensis* sp. n. (Myxozoa, Myxobolidae), a parasite of the teleost fish *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae) from the Paraná river, Brazil. **Bulletin - European Association of Fish Pathologists.**, v. 34, p. 308-311, 2004.

EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C. *Henneguya corruscans* n. sp. (Myxozoa, Myxosporidia, Myxobolidae), a parasite of *Pseudoplatysoma corruscans* (Osteichthyes, Pimelodidae) from the Paraná River, Brazil: A morphological and morphometric study. **Veterinary Parasitology**, v. 159, p. 154-158, 2009.

EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C. **Diversidade dos parasitos de peixes de água doce do Brasil**. Maringá, Editora Clivetec, 333p. 2010.

EIRAS, J. C., SARAIVA, A., & CRUZ, C. Synopsis of the species of *Kudoa* Meglitsch, 1947 (Myxozoa: Myxosporidia: Multivalvulida). **Systematic Parasitology**, 87(2), 153-180. 2014.

EIRAS, J. C. **Elementos de Ictioparasitologia**. Porto: Fundação Engenheiro Antonio de Almeida. 1994. 339 p.

EIRAS, J. C.; ZHANG, J.; MOLNÁR, K. Synopsis of the species of *Myxobolus* Butchli, 1882 (Myxozoa: Myxosporidia, Myxobolidae) described between 2005 and 2013. **Syst Parasitol**, Dordrecht, v. 88. n. 1. 2014.

EIRAS, J. C., et al. *Kudoa* spp. (Myxozoa, Multivalvulida) parasitizing fish caught in Aracaju, Sergipe, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** 25.4 (2016): 429-434

FAO. **El estado mundial de la pesca y la acuicultura**. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos, Roma, Itália, 2016. 224 pp. 2016.

FEIJÓ, M. M.; ARANA, S.; CECCARELLI, P. S.; ADRIANO, E. A. Light and scanning and histology of infected sites in pirarucu (*Arapaima gigas*: Pisces: Arapaimidae) from the Araguaia River, Brasil. **Veterinary Parasitology**, v. 157, p. 59-64, 2008.

FENG, J.-M., et al. New phylogenomic and comparative analyses provide corroborating evidence that Myxozoa is Cnidaria. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, (81) 10–18. 2014.

FERREIRA LF. O fenômeno parasitismo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 4: 261-277, 1973.

FERREIRA, L. F., CHIEFFI, P. P., & ARAUJO, A. Parasitismo não é doença parasitária. **Norte Ciência**, 3(1), 200-221, 2012.

FERREIRA LF, ARAUJO A Parasitismo, Doença Parasitária e Paleoparasitologia In: COURA JR, **Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias**. 1 ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 7-18, 2005.

FERREIRA LF, REINHARD K, ARAUJO A 2011. **Fundamentos da Paleoparasitologia**. Rio de Janeiro, Editora Fiocruz, 484pp.

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

FOOX, J., SIDDALL, M. E. The road to cnidaria: history of phylogeny of the myxozoa. **Journal of Parasitology**, (3) 269–274. 2015.

GRISI, B. M. **Glossário de ecologia e ciências ambientais**. João Pessoa: UFPB. 2007.

KENT, M. L. et al. Recent advances in our knowledge of the Myxozoa. **Journal Eukaryotic Microbiology** v. 48. p. 395-413.2001.

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

KOIE, M. & KARLSBAKK, E. 2009. *Ellipsomyxa syngnathi* sp. n. (Myxozoa, Myxosporidia) in the pipefish *Syngnathus typhle* and *S. rostellatus* (Teleostei, Syngnathidae) from Denmark. **Parasitol. Res.**, 105:1611–1616.

KOVALEVA, AA, SHULMAN, SS & YAKOVLEV, VN. Myxosporidia of the genus *Kudoa* (Myxosporidia, Multivalvulida) from the basin of the Atlantic Ocean. **Trudy Zoologicheskogo Instituta Akademii Nauk USSR**, vol. 89, pp. 42–64. 1979.

KULLANDER, S.O. **Check list of the freshwater fishes of South and Central América**. Porto Alegre: EDIPUCRS 742p. 2003.

KULLANDER, S.O.; LUCENA, C.A.S. A review of the species of *Crenicichla* (Teleostei: Cichlidae) from the Atlantic coastal rivers of southeastern Brazil from Bahia to Rio Grande do Sul States, with descriptions of three new species. **Sociedade Brasileira de Ictiologia**, 2006, (2): 127-146.

LEE, Soo Chan et al. Microsporidia evolved from ancestral sexual fungi. **Current Biology**, v. 18, n. 21, p. 1675-1679, 2008.

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

_____. Myxozoan genera: Definition and notes on taxonomy, lifecycle terminology and pathogenic species. **Folia Parasitologica**, v. 53, p. 1-36, 2006.

LOM, J. AND F. NILSEN. Fish microsporidia: Fine structure and phylogeny. **International Journal for Parasitology** 33:107–127. 2003.

LOM, J. ARTHUR, J. R. A guideline for the preparation of species descriptions in Myxosporidia. **Journal of Fish Diseases**, v. 12, n.2, 1989.

LORENZO, S. **Anisakis y alergia**: Tesis doctoral. Imprenta Universitaria, Santiago de Compostela, Ubeira, F. M., p. 182, 2000.

LOWE-MCCONNELL, R.H. Peixes da Bacia Amazônica. In: **Estudos Ecológicos de Comunidades de Peixes Tropicais**. São Paulo: EDUSP, 534p. 1999.

MALTA, J.C.O. Os peixes de um lago de várzea da Amazônia Central (Lago Janauaca, Rio Solimões) e suas relações com os crustáceos ectoparasitas (Branchiura: Argulidae). **Acta Amazônica**. 14: 355-72. 1984.

MATHIS, A. Microsporidia: emerging advances in understanding the basic biology of these unique organisms. **International Journal for Parasitology** 30, 2000.

MATHIS A, WEBER R, DEPLASEZ P. Zoonotic potential of the microsporidia. **Clinical Microbiology Reviews**. 2005; 18: 423–445.

MARTINS, M. L.; et al. Pathology and behavioural effects associated with *Henneguya* sp. (Myxozoa: Myxobolidae) infections of captive pacu *Piaractus mesopotamicus* in Brazil. **Journal World Aquaculture Society**. v. 28, p. 297-300, 1997.

MARTINS, M.L. et al. Parasitic infections in cultivated Brazilian freshwater fishes. A survey of diagnosed cases. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.9, n.1, p. 23-28, 2000.

MARTINS, M. L.; ONAKA, E. M. *Henneguya garavelli* n. sp. and *Myxobolus peculiaris* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae) in the gills of *Cyphocharax nagelli* (Osteichthyes: Curimatidae) from Rio do Peixe Reservoir, São José do RioPardo, São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 137, p. 253–261, 2006.

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.

MATOS, E.; CORRAL, L.; AZEVEDO, C. Ultrastructural details of the xenoma of *Loma myrophis* (phylum Microsporidia), and extrusion of the polar tube during auto infection. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 54, p. 203-207, 2003.

MATOS, E.; MATOS, P.; CORRAL, L.; AZEVEDO, C. A morfologia ultra-estrutural de microrganismos parasitas que causam microsporidioses e mixosporidioses em peixes tropicais brasileiros. **Boletim Técnico do CEPTA**, Pirassununga. v. 16, p. 27-40, 2003.

MATOS, E.; AZEVEDO, C. Ultrastructural Description of *Microsporidium brevirostris* sp. n., Parasite of the Teleostea na *Brachyhypopomus brevirostris* (Hypopomidae) from the Amazon River. **Acta Protozoologica**. v. 43, p. 261 – 267,2004.

MATOS, E., et al. Microrganismos Parasitos de Animais Aquaticos da Amazonia. In: RANZANI-PAIVA, M. J. T., TAKEMOTO, R. M., LIZAMA, M. A. P. **Sanidade de organismos aquáticos**. São Paulo: Varela. Brasil, p. 158-178,2004.

MATOS, E.; MENDONÇA, I.; AZEVEDO, C. *Vavraia lutzomyiae* n. sp. (Phylum Microspora) infecting the sand fly *Lutzomyia longipalpis* (Psychodidae, Phlebotominae), a vector of human visceral leishmaniasis. **European Journal of Protistology**, v. 42, p. 21–28. 2006.

MEIRELLES, F.V.P.; DIONYSIO, R.B. **Alimentos: Fontes de substâncias essenciais**. 2010. Disponível em: http://web.ccead.pucRio.br/condigital/mvsl/Sala%20de%20Leitura/conteudos/SL_alimentos.pdf Acesso em: 03/02/2018

MENEZES, N. A. E FIGUEIREDO, J. L. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil**, vol V, Teleostei (4). Museu de Zoologia da USP, São Paulo, 105 p. 1985.

MOLNÁR, K.; MARTON, S.; ESZTERBAUER, E.; SCZÉKELY, C. Comparative morphological and molecular studies on *Myxobolus* spp. Infecting chub from the River Danube, Hungary, and description of *M. muellericus* sp. n. **Diseases of Aquatic Organisms**. v. 73, p. 49-61, 2006.

MPA – Ministério da Pesca e Aquicultura. Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura de 2011. Brasília. 2013. 60 p. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/> Acesso em: 10 ago. 2017.

Nelson, J.S. 2006. **Fishes of the World**. 4rd ed.. New York: John Wiley & Sons. 622 p.

OKAMURA, B., & GRUHL, A. Myxozoan Affinities and Route to Endoparasitism. In: B. Okamura, Gruhl, A. & Bartholomew, J. L. (Eds.), **Myxozoan Evolution, Ecology and Development**. Springer, pp. 23–44. 2015.

OKAMURA, B., GRUHL, A., & BARTHOLOMEW, J. L. An Introduction to Myxozoan Evolution, Ecology and Development. In: B. Okamura, Gruhl, A. & Bartholomew, J. L. (Eds.), **Myxozoan Evolution, Ecology and Development**. Springer, pp. 1–20. 2015.

OKUMURA, M. P. M.; PEREZ, A. C. A.; SPINDOLA, A. F. Principais zoonoses parasitárias transmitidas por pescado: revisão. **Revista Educação Continuada-CRMV-SP**, v. 2, n. 2, p. 66-80, 1999.

OLIVEIRA, J. C. et al. *Kudoa* spp. (Myxozoa) infection in musculature of *Plagioscion squamosissimus* (Sciaenidae) in the Amazon region, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 24(2), 235-240. 2015.

PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. 2. ed., Maringá: Eduem, 2002.

_____. 3.ed., Maringá: Eduem, 2008.

PEREIRA, K. R. B. **Caracterização geoquímica de sedimentos de fundo da orla de Belém – Pará. 2001**. 91 f. Dissertação (Mestrado em geologia e Geoquímica) - Centro de Geociências, Universidade Federal do Pará. Belém, 2001.

PINHEIRO, Roberto Vizeu Lima. Estudo Hidrodinâmico Sedimentológico do Estuário Guajará – Belém (PA). 1987. 176 f. Dissertação (Mestrado em Geologia e geoquímica) - Centro de Geociências, Universidade Federal do Pará. Belém, 1987.

RAPPY-DANIEL, L. H.; MADOKA, P.. **Diagnose e Distribuição Geográfica das Espécies do Gênero *Crenicichla* Heckel 1840 da Coleção de Peixes do Inpa**. 2009.

REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS-JR., C. J. (Orgs.). **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre: EDIPUCRS, p. 343-377, 2003.

RODRÍGUEZ, M. Parásitos de importância en la salud pública. **Curso taller: Diagnóstico y control de enfermedades em peces de cultivo**. Centro de Investigaciones Pesqueras. Ciudad de la Habana. Cuba. p. 345, 1998.

SANTIAGO, H., J. L. et al. Morphology and histopathology of *Calyptospora* sp. (Apicomplexa: Calyptosporidae) in speckled peacock bass, *Cichla temensis* Humboldt, 1821 (Perciformes: Cichlidae), from the Marajó-Açu River, Marajó Island, Brazil. **Parasitology Research**, 110(6): 2569-72. 2012.

SANTOS, S. V.; et al. Ocorrência de microsporidio em escolares da creche da organização não governamental núcleo Baturá de Guarulhos/SP. **Revista Saúde**. v. 4. p. 85, 2010.

SCHAEFER, S.A. **Conflict and resolution: impact of new taxa on phylogenetic studies of the neotropical cascudinhos (Siluroidei: Loricariidae)**. In Phylogeny and Classification of

Neotropical Fishes (L.R. Malabarba, R.E. Reis, R.P. Vari, Z.M.S. Lucena & C.A.S. Lucena, eds.). EDIPUCRS, Porto Alegre, 1998. p. 375-400.

TAKEMOTO, R. M.; et al. Parasitos de peixes de águas continentais. In.: Ranzani-Paiva, M.J.T.; Takemoto, R.M.; Lizama, M. de los A.P. (orgs.). **Sanidade de organismos aquáticos**. São Paulo: Varela, p. 179-198, 2004.

VIDEIRA, Marcela et al. Hepatic steatosis associated with microsporidiosis in teleost fishes from Marajó Island, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 3, p. 1347-1350, 2014.

UBEIRA, F. M.; VALIÑAS, B.; LORENZO, S.; IGLESIAS, R.; FIGUEIRAS, A.; GARCÍA-VILLAESCUSA, R. Anisakuíosis y alergia. Un estudio epidemiológico en la comunidad Autónoma Gallega. Documentos Técnicos de Salud Pública. Consellería de Sanidade e Servizos Sociais. **Xunta de Galicia**, Serie B, n. 24, p. 102, 2000.

WASSON, K.; PEPPER, R.L. Mammalian microsporidiosis. **Veterinary Pathology**, v.37, p.113-128, 2000.

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. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-012-2969-8>

WOO, P. T. K. **Fish Diseases and Disorders: Protozoan and Metazoan Infections**. 2. ed. UK: CAB International. v. 1, p. 791. 2006.

ANEXO A - Ficha de necropsia



COLHEITA DE MATERIAL

Nome popular:		
Nome científico:		
Local de coleta:		
Data de coleta: / /		
Peso:		
Comprimento total:		
Comprimento padrão:		
Sexo / estágio de Maturação: /		
Órgão	Parasita	N ^o
Observações: _____		

ANEXO B - Ficha de processamento para Microscopia de Luz



PREPARAÇÃO DE MATERIAL PARA MICROSCOPIA DE LUZ

MATERIAL..... Nº...../..... 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 7030'	30'1H1H
ALC 90.....30' (*)	30'1H1H
ALC ABS I30'	60'1H1H
ALC ABS II30'	60'1H1H
ALC ABS III.....30'	60'1H2H
ALC XILOL	30'1H1H
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.

ANEXO C

ALUNO																	
Peixe	Órgão	Parasito	ML			DIC		TEM		SEM		BM		Nome científico	Localidade	Artigos	
			F	H	M	F	M	F	Bl	F	M	M	S			P	Ma

Legenda da tabela: F = foto, H = histologia, M = material de reserva, Bl = número de blocos de reserva, S = sequência, P = publicado, Ma = manuscrito.