



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
MESTRADO EM AQUICULTURA E RECURSOS AQUÁTICOS TROPICAIS**

ELIDETH PACHECO MONTEIRO

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E FILOGENIA MOLECULAR DE
MICROPARASITOS EUCARIÓTICOS EM *Batrachoides surinamensis* (BLOCH E
SCHNEIDER, 1801) E *Menticirrhus americanus* (LINNAEUS, 1758) CAPTURADOS NO
ESTUÁRIO DO MUNICÍPIO DE VISEU, ESTADO DO PARÁ**

**BELÉM
2019**

ELIDETH PACHECO MONTEIRO

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E FILOGENIA MOLECULAR DE
MICROPARASITOS EUCARIÓTICOS EM *Batrachoides surinamensis* (BLOCH E
SCHNEIDER, 1801) E *Menticirrhus americanus* (LINNAEUS, 1758) CAPTURADOS NO
ESTUÁRIO DO MUNICÍPIO DE VISEU, ESTADO DO PARÁ**

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

Orientador: Prof. Dr. Edilson Rodrigues Matos
Co-orientador: Prof. Dr. Igor Guerreiro Hamoy

**BELÉM
2019**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural da Amazônia
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M772c Monteiro, Elideth Pacheco

Caracterização morfológica e filogenia molecular de microparasitos eucarióticos em batrachoides surinamensis (*bloch e schneider*, 1801) e menticirrhus americanus (*linnaeus*, 1758) capturados no Estuário do Município de Viseu, Estado do Pará / Elideth Pacheco Monteiro. - 2019.

87 f.

Dissertação (Mestrado) - PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E RECURSOS AQUÁTICOS TROPICAIS (PPGARAT), CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE BELÉM, UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA, BELÉM, 2019.

Orientação: Prof. Dr. Edilson Rodrigues Matos

1. Microparasitos Eucariotos. 2. Ictioparasitos - Estudo. 3. Filo Microsporídia. 4. Filo Cnidaria. 5. Mixosporídios. I. Matos, Edilson Rodrigues, *orient.* II. Título

CDD 579.4

ELIDETH PACHECO MONTEIRO

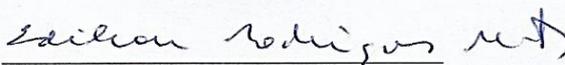
**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E FILOGENIA MOLECULAR DE
MICROPARASITOS EUCARIÓTICOS EM *Batrachoides surinamensis* (BLOCH E
SCHNEIDER, 1801) E *Menticirrhus americanus* (LINNAEUS, 1758) CAPTURADOS NO
ESTUÁRIO DO MUNICÍPIO DE VISEU, ESTADO DO PARÁ**

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

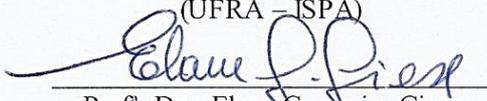
Data da Defesa

25/02/2019

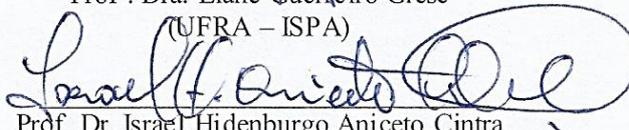
Banca Examinadora:



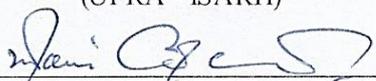
Prof. Dr. Edilson Rodrigues Matos
(UFRA - ISPA)



Prof.ª Dra. Elane Gueimiro Giese
(UFRA - ISPA)



Prof. Dr. Israel Hidenburgo Aniceto Cintra
(UFRA - ISARH)



Prof. Dr. Moacir Cerqueira da Silva
(UFRA - ISPA)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais João e Maristela por todo amor, todas as orações em meu nome, pelas palavras amorosas e por sempre acreditarem em mim. São meus melhores exemplos de Amor, Dedicção, Fé e Humildade.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da VIDA, por iluminar meu caminho concedendo - me coragem e sabedoria.

Aos meus irmãos Elizete, Edian, Elizângela, Luiz Félix e Cristiano pelo amor, conselhos, apoio e participação efetiva em todos os momentos de minha vida. Sei que foram meus maiores incentivadores para a realização desse sonho. Em especial a Eliana por acreditar em mim e me ajudar sempre que precisei.

Ao meu orientador, 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 Joyce Cardim, Patrícia Sacco, José Sindeaux, Diehgo Tuloza, Márcia Sacco e Michele Velasco por todos os momentos vividos juntos, os quais fundamentais para minha aprendizagem e muito contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

A Prof^a Patrícia Matos, pela acessibilidade, cordialidade e simpatia que me foi demonstrada sempre que precisei ir ao Laboratório de Pesquisa Edilson Matos (LPEM/UFPA).

Aos amigos do LPCA: Kelly, Lenize, Talyta e Carlos, Roger pela amizade, respeito e pelos valiosos momentos que compartilhamos juntos.

Aos meus amigos Deborah, Renata, Lorena, Barbara, Camila, Juliana, Caroline, Cláudia, Sávio, Mara, Thayane, e Alex, os quais fizeram que cada dia compartilhado fosse inesquecível. Em especial ao meu amigo Weverton John (amado) pela parceria, ajuda e apoio em todos os momentos da minha vida acadêmica e pessoal.

Ao Thiago Catuxo pela confecção do mapa.

Ao José Francisco (Kaká) por todo seu amor, pelo seu constante incentivo e ajuda nas coletas, pelo companheirismo e principalmente por sua compreensão em todos os momentos em que estive ausente por conta do trabalho diário.

A Gracialda Ferreira, Augusto Cesar e Flor Ferreira por todo carinho e confiança. Que Deus continue abençoando grandemente sua Família.

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

À Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA por tornar possível a realização desta pesquisa.

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

E a todos aqueles que colaboraram direta e indiretamente na realização da pesquisa.

“Essa vitória não é somente minha, mas de todos que viveram comigo os desafios de cada dia”.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Exemplar de pacamã, vista frontalmente..... 15
- Figura 2** - Mapa de distribuição geográfica de *B. surinamensis*. 16
- Figura 3** - Exemplar de pescadinha, em vista lateral..... 17
- Figura 4** - Mapa de distribuição geográfica de *M. americanus*..... 18
- Figura 5** - Demonstração das proporções (e os números) de espécies descritas no Myxozoa e outros clados nos cnidários..... 20
- Figura 6** - Desenhos esquemáticos de cinco esporos correspondentes a diferentes gêneros: A) *Henneguya*; B) *Myxobolus*; C) *Ceratomyxa*; D) *Kudoa*; E) *Chloromyxum*. 21
- Figura 7** - Desenho esquemático do ciclo de vida de mixosporídio: A) hospedeiro definitivo; B) actinospora; C) hospedeiro intermediário; D) mixosporo. 22
- Figura 8** - Desenho esquemático de esporo imaturo de Myxozoa (a), mostrando células valvogênicas (CV), células capsulogênicas (CC) e 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). . 23
- Figura 9** - Desenho esquemático demonstrando o ciclo de vida de 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). 24
- Figura 10** - Desenho esquemático do esporo de *Kudoa aequidens* em vista frontal..... 26
- Figura 11** - Desenho esquemático do esporo de *Ellipsomyxa gobioides* em vista frontal. 28
- Figura 12** - Desenho esquemático de um esporo de *Potasporea aequidens* mostrando: disco de ancoragem (DA), polaroplasto (Pp), filamento polar (FP), núcleo (N), parede do esporo (P), vacúolo (Va). 30
- Figura 13** - Representação esquemática do ciclo de vida de microsporídios: 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). 31
- Figura 14** - Mapa de localização geográfica do município de Viseu com destaque para o ponto de coleta (▲). 35

- Figura 15** - Aparelhos de pesca utilizados para captura dos exemplares: A) rede de emalhar; B) tarrafa; C) curral de pesca; D) anzol com linha de mão. 37
- Figura 16** - Biometria realizada nos exemplares de *B. surinamensis* e *M. americanus*: A) comprimento total (cm); B) peso total (g). 38
- Figura 17** - Necropsia de exemplar de *B. surinamensis* com observação da cavidade celomática. 38
- Figura 18** - Fotomicrografia de luz a fresco: A) Cistos esbranquiçados de *Microsporidium* sp. (seta), observados em estereomicroscópio, localizados na mucosa gástrica de *M. americanus* (Barra de escala: 500 μ m); B) Xenomas maduros irregulares observados em ML (*) (Barra de escala: 20 μ m); C) Numerosos esporos isolados de *Microsporidium* sp. (cabeça da seta) após ruptura dos cistos (Barra de escala: 5 μ m). 43
- Figura 19** - Fotomicrografia de luz: A) Infecção por xenomas de microsporídios em tecidos da mucosa gástrica (seta) em cortes histológicos corados pela HE (Barra de escala: 50 μ m). 46
- Figura 20** - Fotomicrografia de luz a fresco: A) plasmódios monospóricos (*), plasmódios arredondados apresentando esporos imaturos (seta) e esporos maduros (E) dispersos no líquido da vesícula biliar de *B. surinamensis* (Barra de escala: 10 μ m); B) plasmódio dispórico (cabeça da seta) de *Ellipsomyxa* sp. (Barra de escala: 10 μ m). 47
- Figura 21** - Fotomicrografia de luz a fresco: A) do espora maduro de *Ellipsomyxa* sp. dispersos no líquido da vesícula biliar com detalhe para os filamentos polares (FP) (Barra de escala: 10 μ m) (DIC). 48
- Figura 22** - Fotomicrografia de luz (histologia): A) seção semi-fina da vesícula biliar de *B. surinamensis* infectada pelo mixosporídio *Ellipsomyxa* sp. localizados no lúmen da vesícula biliar e aderidos ao epitélio deste órgão corado em ZN (Barra de escala: 10 μ m). 51
- Figura 23** - Fotomicrografia, a fresco, exibindo: A) Plasmódios irregulares (*) e plasmódio arredondado (cabeça da seta); espora maduro (E) de mixosporídios não identificados na bexiga urinária de *B. surinamensis* (Barra de escala: 10 μ m). B) esporos de myxozoário com destaque para as cápsulas polares (CP) (Barra de escala: 10 μ m) (DIC). 52
- Figura 24** - Fotomicrografia de seções histológicas apresentando: A) vários plasmódios irregulares (círculo) na luz da bexiga urinária (Barra de escala: 10 μ m); B) Esporos (seta) com destaque para as cápsulas polares (CP). Cortes histológicos corados pela técnica de ZN (Barra de escala: 5 μ m). 53
- Figura 25** - Fotomicrografia de luz: A) Cisto esbranquiçado (cabeça da seta) encontrado na musculatura de *B. surinamensis* (Barra de escala: 1000 μ m); B) Cisto (c) e numerosos esporos maduros (e) após ruptura cística (Barra de escala: 100 μ m); C) Esporos a frescos (e) de *K. viseuensis* n. sp. no formato pseudoquadrado (Barra de escala: 20 μ m); Inset: destaque para as cápsulas polares (CP) em vista lateral (L) e em vista apical (A) (Barra de escala: 10 μ m) (DIC). 54
- Figura 26** - Fotomicrografia de luz: A) corte histológico longitudinal da musculatura esquelética contendo cisto (*), ao longo do eixo da fibra muscular mostrando substituição pelo parasito; B) corte transversal mostrando cisto do microparasito ocupando porção central da fibra muscular (cabeça da seta) caracterizando a infecção individual; C) Infecção múltipla

com cistos dentro de uma única fibra muscular, separados um do outro e do tecido muscular por uma fina membrana conjuntiva (setas) (Barras de escala: 40 μ m).55

Figura 27 - Desenho esquemático de um esporo de *Kudoa viseuensis* n. sp. em vista apical (direita) e vista lateral (esquerda) (Barra de escala = 5 μ m).56

Figura 28 - Árvore filogenética gerada pela inferência bayesiana (BI), das sequências do gene rDNA parcial SSU alinhadas de *K. viseuensis* n. sp. e myxosporeans relacionados. Os números de acesso do GenBank são mostrados ao lado dos nomes das espécies. Os números nos nós são os valores de probabilidade posteriores calculados pela BI. A nova espécie é destacada em negrito. Msl - músculos; Sid - sistema digestivo; Sin - sistema nervoso.....58

LISTA DE SIGLAS

- CEUA - Comissão de Ética no Uso Animal
- CC - Células Capsulogênicas
- CE - Célula Esporogênica
- CP - Cápsula Polar
- CV - Células Valvogênicas
- DA - Disco de Ancoragem
- DIC - Contraste de interferência diferencial
- E - Esporoplasma
- FP - Filamento Polar
- HE - Hematoxilina e Eosina
- ICB - Instituto de Ciências Biológicas
- ISPA - Instituto da Saúde e Produção Animal
- LGA - Laboratório de Genética Aplicada
- LPCA - Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo
- LPEM - Laboratório de Pesquisa Edilson Matos
- MET - Microscopia Eletrônica de Transmissão
- MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura
- ML - Microscopia de Luz
- N - Núcleo
- P - Parede do Esporo
- Pp - Polaroplasto
- UFPA - Universidade Federal do Pará
- UFRA - Universidade Federal Rural da Amazônia
- Va - Vacúolo
- ZN - Ziehl Neelsen

RESUMO

Os ecossistemas costeiros amazônicos são considerados de importância biológica, dada a abundância de peixes nos estuários que detêm altos índices de riqueza e diversidade da ictiofauna. Os peixes nativos estão susceptíveis em adquirir várias infecções parasitárias por diversos tipos de microparasitos, visto que seu habitat facilita sua propagação e desenvolvimento. Entre os recursos deste ambiente estuarino que apresentam relevância na participação da produção pesqueira, destacaremos as espécies *Batrachoides surinamensis* e *Menticirrhus americanus*, aqui estudados com o objetivo de descrever as características morfológicas e moleculares de microparasitos eucariotos (microsporídios e mixosporídios), encontrados nestes peixes provenientes do município de Viseu / Pará. Os exemplares foram coletados bimestralmente, necropsiados e seus órgãos analisados em ML. Dos órgãos parasitados foram retirados fragmentos e/ou cistos, fixados e processados para microscopia de luz e biologia molecular. Para os estudos filogenéticos, a análise foi efetuada pelos métodos de inferência Bayesiana e distância genética (p). A partir das análises realizadas foram diagnosticados dois filos de microparasitos eucariotos, o Cnidaria e o Microsporidia. Os resultados reportam a estudos morfológicos e filogenéticos. Para *B. surinamensis* foi descrita espécie de microparasito de tecido muscular, *Kudoa viseuensis* n. sp. com prevalência parasitária de 86%; e também, ocorrência do gênero *Ellipsomyxa* na vesícula biliar e de um mixosporídio não identificado na bexiga urinária com prevalência de 56% e 48%, respectivamente. Para *M. americanus* observou-se a presença de xenomas na mucosa gástrica onde 20% dos hospedeiros analisados estavam parasitados por microsporídio. As infecções apresentadas por esses mixosporídios e microsporídios não haviam ainda sido descritas na literatura para essas espécies. São necessários estudos complementares mais detalhados em microscopia eletrônica de transmissão e de varredura, assim como de biologia molecular, para a confirmação das demais espécies parasitárias. Tendo em vista a diversidade e patogenicidade destes microparasitos da ictiofauna amazônica, afirmamos a necessidade de se intensificar o estudo para contribuir com o conhecimento do estado sanitário desses peixes frequentes na pesca artesanal no nordeste paraense.

Palavras-chave: Parasito. Peixe. Myxozoa. Microsporidia. Amazônia.

ABSTRAT

The amazonian coastal ecosystems are biologically important, once the abundance of fish in estuaries shows high rates of richness and diversity of ichthyofauna. Native fish are susceptible to acquiring various parasitic infections by various types of microparasites, since their habitat facilitates its propagation and development. Among the resources that have relevance in the fishery production in this environment, we highlight the species *Batrachoides surinamensis* and *Menticirrhus americanus*, studied here with the aim of describing the morphological and molecular characteristics of the eukaryotic microparasites (microsporids and myxosporidia) found in these fish from the municipality of Viseu / Pará. Every two months the specimens were collected, necropsied and their organs analyzed in ML. From the parasitized organs fragments and / or cysts were removed, fixed and processed for light microscopy and molecular biology. For phylogenetic studies, the analysis was performed by Bayesian inference and genetic distance (p) methods. Based on the analysis, two phyla of eukaryotic microparasites, Cnidaria and Microsporidia, were diagnosed. The results refer to morphological and phylogenetic studies. For *B. surinamensis*, a microparasite species of muscular tissue, *Kudoa viseuensis* n. sp. with parasitic prevalence of 86%; and also, occurrence of the genus *Ellipsomyxa* in the gallbladder and an unidentified urinary bladder myxosporidium with a prevalence of 56% and 48%, respectively. For *M. americanus* the presence of xenomas in the gastric mucosa was observed where 20% of the analyzed hosts were parasitized by microsporidium. The infections presented by these mixosporids and microsporids had not yet been described in the literature for these species. More detailed complementary studies are required in transmission and scanning electron microscopy, as well as in molecular biology, to confirm the other parasitic species. In view of the diversity and pathogenicity of these microparasites of the Amazonian ichthyofauna, we affirm the need to intensify the study to contribute to the knowledge of the sanitary status of these fishes in artisanal fishing in northeastern Pará.

Key words: Parasite. Fish. Myxozoa. Microsporidia. Amazon.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 <i>Batrachoides surinamensis</i>	15
2.2 <i>Menticirrhus americanus</i>	16
2.3 Estudo dos Ictioparasitos	18
2.4 Filo Cnidaria (Subfilo Myxozoa)	20
2.4.1 Gênero <i>Kudoa</i>	25
2.4.2 Gênero <i>Ellipsomyxa</i>	27
2.5 Filo Microsporidia	28
2.6 Importância do uso da microscopia eletrônica de transmissão, varredura e biologia molecular na determinação de microparasitos	32
3 OBJETIVOS	34
3.1 Objetivo Geral	34
3.2 Objetivos Específicos	34
4 MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1 Caracterização da área de estudo	35
4.2 Coleta dos dados: peixes e transporte	36
4.3 Dissecção dos espécimes e exame parasitológico	37
4.4 Processamento para histologia	39
4.5 Processamento para microscopia eletrônica (Transmissão e Varredura)	40
4.6 Processamento para biologia molecular	40
4.7 Análises das variáveis físico-químicas da água	41
4.8 Parâmetros estatísticos	42
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1 Descrição de Microsporídio na mucosa gástrica de <i>M. americanus</i>	43
5.2 Descrição de <i>Ellipsomyxa</i> sp. na vesícula biliar de <i>B. surinamensis</i>	47
5.3 Descrição de mixosporídio não identificado na bexiga urinária de <i>B. surinamensis</i> .	52
5.4 Caracterização morfológica e molecular de <i>Kudoa viseuensis</i> n. sp. no músculo de <i>B. surinamensis</i>	54
5.5 Análise dos parâmetros abióticos da água	60
6 CONCLUSÃO	62
REFERÊNCIAS	63
ANEXOS	81

1 INTRODUÇÃO

A atividade pesqueira é uma das ocupações mais antigas desenvolvidas pelo homem, visando a extração de organismo aquáticos do seu ambiente natural para fins de alimentação humana, ornamentação e aquicultura, entre outros. As pescarias obtiveram seu desenvolvimento a partir do século XIX, ainda no processo de revolução industrial por meio de algumas inovações tecnológicas, como o motor a vapor e o casco de aço, que possibilitaram maior autonomia a atividade (FONTELES FILHO, 2011; MONTEALEGRE-QUIJANO et al., 2011).

Na Amazônia a pesca desempenha um papel social relevante, uma vez que, torna-se fundamental nos meios de sustento das populações que habitam as margens dos rios e lagos da região, envolvendo milhares de pessoas tanto na pesca artesanal como na pesca industrial, influenciando diretamente no desenvolvimento econômico local (SANTOS, 2009). Segundo dados da FAO (2018) trabalharam na captura de peixes em torno de 40,3 milhões de pessoas no mundo.

A pesca representa o terceiro maior sistema produtor de alimentos do mundo com produção mundial total de captura de pescado em 2016 de 90,9 milhões de toneladas, e o aumento da demanda por proteína de origem animal vem estimulando o crescimento rápido da captura e da produção de peixe, visto que as pessoas estão procurando alimentos cada vez mais nutritivos que proporcionem benefícios à saúde humana. Assim, o consumo de pescado em 1961 era de 9 kg por habitante, passou para 20,2 kg em 2015 (BRUSCHI, 2001; FAO, 2018; IWASHITA; MACIEL, 2013).

Os ecossistemas costeiros amazônicos agregam a maior costa de manguezais contínuos do planeta, os quais são considerados de altíssima importância biológica (MMA, 2002). Conforme dados do ICMBio (2018), o Pará possui a segunda maior área de mangue, ocupando aproximadamente 390 mil hectares.

A abundância de peixes nos estuários da região norte do Brasil, é oriunda da complexidade estrutural da vegetação de mangue que proporciona refúgio, em especial para os peixes jovens, influenciando na disponibilidade de alimentos, acarretando desse modo, altos índices de riqueza e diversidade da ictiofauna (ROBERTSON; BLABER 1992; BARLETTA-BERGAN et al., 2002).

Rosa e Lima (2008) descreveram sobre a importância econômica dos peixes marinhos, principalmente por sua participação na produção pesqueira. Dentre estes recursos, destaca-se a espécie *Batrachoides surinamensis* (Bloch e Schneider, 1801) conhecida como pacamão,

que pertence a ordem Batrachoidiformes (ESPÍRITO-SANTO et al., 2005), e a espécie *Menticirrhus americanus* (Linnaeus, 1758), vulgarmente denominada de pescadinha, pertencente à ordem Perciformes; ambos recursos são bastantes consumidos e comercializados na microrregião Bragantina, na qual o município de Viseu está inserido (FONSECA; SOUZA, 2006; BRAGA et al., 2006; FREIRE et al., 2011).

Segundo Iwashita e Maciel (2013), os peixes podem ser fonte de doenças infecciosas ocasionadas por bactérias, fungos e parasitos, podendo ser transmitidas para os humanos. E com a globalização veio a popularização da culinária oriental, fundamentada na ingestão de peixes crus, na forma de sushi e sashimi, dentre outras variações, que acarretaram no aumento das ocorrências de ictiozoonoses.

Na natureza, os peixes convivem em equilíbrio com uma diversidade de agentes que podem causar doenças, no entanto, em uma situação “anormal” acarretam o rompimento deste equilíbrio, seja por conta de estresse oriundos do confinamento, transporte ou da alta densidade (piscicultura), ou mesmo, por poluição da água (excesso de matéria orgânica), variação de temperatura, pH, oxigênio dissolvido (OD), assim como também promovido pelo estado nutricional dos animais, sazonalidade e até mesmo, pela profundidade do habitat que favorece a predisposição às doenças infecciosas e com isso, gerar condições adequadas para os agentes etiológicos agirem (KUBITZA; KUBITZA, 1999; LUQUE et al., 2013). Geralmente os peixes mais jovens são mais susceptíveis as doenças, uma vez que sua capacidade de defesa é menor quando comparado aos adultos (IWASHITA; MACIEL, 2013).

Diante da grande variedade de agentes parasitários e patogênicos que ocorrem na ictiofauna, destaca-se espécies importantes dos filos Cnidaria e Microsporidia, encontrados parasitando peixes de valor comercial (MATOS et al., 2004; CASAL, 2009).

Os animais pertencentes ao Filo Cnidaria (Hatschek, 1888) são reconhecidos por sua importância ecológica e econômica global, com representantes em ambientes marinhos e dulcícolas (FIALA et al., 2015). De acordo com Okamura et al. (2015), um clado de cnidários divergiu na antiguidade para se tornar parasitos que hoje compõem o Subfilo não classificado Myxozoa. Os membros pertencentes a este grupo são endoparasitos, os quais podem ser histozóicos ou celozóicos, e que causam mixosporidiose, doença que atua em diversos tecidos e órgãos, como gônadas, rim, fígado, brânquias, intestino, pele e outros (LUQUE, 2004; AZEVEDO et al., 2009; CASAL, 2009).

Durante muitos anos o Filo Microsporidia (Balbiani, 1882) foi inserido no reino Protozoa, porém nas últimas décadas evidências genéticas e moleculares da sub-unidade de RNA polimerases II, apontam e fazem parte do Reino Fungi. Os microsporídios são

microrganismos parasitos eucariotos que possuem características celulares e moleculares singulares, apresentando grupos variados de hospedeiros, sendo estes animais invertebrados e vertebrados de variados habitats de diferentes áreas geográficas (CAVALIER-SMITH, 2004; CASAL, 2009).

Tendo em vista que a ocorrência de parasitos no sistema de cultivo ou em meio natural, acarretam em implicações econômicas e na saúde humana, e que os estudos destes dois grupos de microparasitos em animais aquáticos são escassos, ressalta-se que é imprescindível o conhecimento dos agentes patogênicos (caracterização e a identificação), bem como seu tipo de resposta tecidual nos hospedeiros, além das características eventuais de surtos epizoóticos (doenças ocorridas ao mesmo tempo em vários indivíduos de uma mesma região geográfica), que por ventura possam surgir dos organismos patogênicos (VAZ, 2000; CASAL, 2009). Em função disto, verifica-se que nos últimos anos vêm aumentando o interesse nesse 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).

No município de Viseu, as espécies *B. surinamensis* e *M. americanus* assumem grande importância econômica, sendo bastante consumidas pela população ribeirinha. Se faz necessário, estudo de ocorrência dos filos Cnidaria e Microsporidia, sua prevalência e a relação parasito-hospedeiro, e então colaborar com o conhecimento do estado sanitário da fauna ictiológica de relevância na produção pesqueira.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Batrachoides surinamensis*

A espécie *B. surinamensis* (Figura 1) conhecida vulgarmente como pacamão, pacamum ou “peixe-sapo”, classificada com base em Bloch e Schneider, 1801, apresenta a seguinte classificação sistemática (ITIS, 2017):

Reino Animalia

Filo Chordata

Classe Actinopterygii

Infraclasse Teleostei

Ordem Batrachoidiformes

Família Batrachoididae

Gênero *Batrachoides* Lacepède, 1800

Espécie *Batrachoides surinamensis* (Bloch e Schneider, 1801)

Figura 1 - Exemplar de pacamão, vista frontalmente.



Fonte: LPCA, 2018.

Os indivíduos dessa espécie caracterizam-se por apresentarem cabeça deprimida com os olhos em posição dorsal, corpo achatado dorso ventralmente e escamas muito pequenas inseridas na pele; opérculo e sub-opérculo com a presença de dois espinhos; abertura branquiais grandes e sua mandíbula ligeiramente prognata, sendo a nadadeira caudal e peitoral arredondadas. A coloração varia de marrom na região dorsal tornando-se gradativamente mais claro na parte inferior (ESPÍRITO-SANTO et al., 2005).

O pacamão é encontrado no Atlântico Ocidental, de Honduras ao sudeste do Brasil, conforme imagem ilustrada de IUCN (2017) (Figura 2). Presente nos substratos lodosos rasos principalmente em regiões salobras, podendo entrar em ambientes dulcícolas (ESPÍRITO-SANTO et al., 2005; MELO et al., 2015).

Figura 2 - Mapa de distribuição geográfica de *B. surinamensis*.



Fonte: IUCN, 2017.

Esse peixe possui hábito carnívoro e passa a maior parte do dia enterrado na areia, e durante a noite sai para se alimentar (ESPÍRITO-SANTO et al., 2005; MELO et al., 2015).

A espécie *B. surinamensis* é comercializada no Pará, principalmente no nordeste paraense por conta da sua carne com textura macia, sendo bastante capturada na pesca com puçá de arrasto na zona estuarina da região, comercializada em feiras livres e no mercado municipal em Viseu e de Bragança, entre outros polos pesqueiros (FONSECA; SOUZA, 2006; BRAGA et al., 2006; FREIRE et al., 2011).

2.2 *Menticirrhus americanus*

A espécie *M. americanus* (Figura 3), conhecida no nordeste paraense como pescadinha, cara de rato, betara e papa-terra no sudeste do Brasil, foi descrita por Linnaeus em 1758, com a seguinte classificação taxonômica (ITIS, 2017):

Reino Animalia

Filo Chordata

Classe Actinopterygii

Infraclasse Teleostei

Ordem Perciformes

Família Sciaenidae

Gênero *Menticirrhus* Gill, 1861

Espécie *Menticirrhus americanus* (Linnaeus, 1758)

Figura 3 - Exemplar de pescadinha, em vista lateral.



Fonte: LPCA, 2018.

Esta espécie apresenta corpo alongado, focinho cônico, cabeça com olhos pequenos e presença de um barbilhão curto e rígido no queixo; sua coloração cinza-prateado, ventre claro, manchas escuras alongadas e oblíquas nem sempre nítidas; nadadeira peitoral e margem da calda escura (LESSA; NÓBREGA, 2000; ESPÍRITO-SANTO et al., 2005).

A família Sciaenidae é de grande importância comercial, principalmente na região norte do País e contém 70 gêneros e 270 espécies. Nesta família está inserido o gênero *Menticirrhus* com nove espécies, onde somente 2 são encontradas no Brasil: *M. littoralis* e *M. americanus* (CASTILLO, 1986; ESPÍRITO-SANTO et al., 2005; NELSON, 2006).

A espécie *M. americanus*, conforme a Figura 4 de IUCN (2017), ocorre desde Massachusetts (Estados Unidos) até Buenos Aires (Argentina), sendo encontrado sobre fundos de areia ou areno-lodosos, geralmente em águas costeiras de pouca profundidade e em regiões estuarinas. Esta espécie é carnívora e bentófaga, se alimentando de poliquetas, peixes e camarões (MENEZES; FIGUEIREDO, 1980; RONDINELI et al., 2007; HALUCH, 2011).

Figura 4 - Mapa de distribuição geográfica de *M. americanus*.



Fonte: IUCN, 2017.

A espécie *M. americanus* está entre os principais componentes da fauna acompanhante nas pescarias de arrasto direcionadas para o camarão na região bragantina, assim como em São Paulo e Santa Catarina (COELHO et al., 1986; CHAVES et al., 2003; ESPÍRITO-SANTO et al., 2005; FREITAS et al., 2011). Esta espécie é apreciada na prática da pesca esportiva e pelo sabor de sua carne (SMITH; WENNER, 1985; ROBINS et al., 1986; BRAUN; FONTOURA, 2004).

2.3 Estudo dos Ictioparasitos

Os peixes representam os vertebrados com os maiores índices de infecção por parasitos, visto que seu habitat aquático facilita a propagação, reprodução, e o ciclo de vida da maioria dos agentes patogênicos, pois admite-se que o pescado sob estresse é mais suscetível ao parasitismo e menos eficientes para sobreviver no ambiente natural (MALTA, 1984; EIRAS, 1994).

A fauna aquática está sujeita à ação prejudicial de vários tipos de microparasitoses que abrangem os mais variados ambientes e com ampla distribuição geográfica (CASAL, 2009). Nas pisciculturas o problema se agrava, uma vez que, o confinamento e a intensificação dos cultivos podem comprometer o estado de saúde dos peixes e aumentar o risco de infecções. Os fatores externos como variações no meio ambiente, estado nutricional dos peixes (avitaminose e desnutrição), estresse oriundo de práticas de manejo, afetam diretamente os mecanismos de defesa comprometendo o estado fisiológico dos peixes. A maneira encontrada

pelos peixes para reagir a esses desafios químicos, físicos e biológicos é desencadear mudanças fisiológicas na tentativa de compensar tais alterações. Esta reação do corpo é denominada, resposta ao estresse (IWASHITA; MACIEL, 2013).

Muitas das doenças podem permanecer assintomáticas por um grande tempo. Embora estas não sejam infecciosas, atuam como porta de entrada para infecções por outros agentes patogênicos, como bactérias, fungos, vírus, rickettsias, apicomplexas e outros parasitos (EIRAS, 1994; HURTREZ-BOUSSÉS et al., 2001; MARKELL et al., 2003; IWASHITA; MACIEL, 2013).

De acordo com Iwashita e Maciel (2013), os sinais clínicos mais comuns observados nos organismos parasitados são: hiporexia ou anorexia, emagrecimento progressivo e lesões na pele; no comportamento, é possível perceber natação lenta e errática, rodopio, saltos para fora da água e respiração na superfície aquática, como características que podem atuar como parâmetro para identificar um animal doente. Os prejuízos causados dependem do hospedeiro acometido, da espécie e quantidade de parasitos envolvidos, além do órgão parasitado.

Os parasitos também possuem uma relevância econômica que não consiste apenas em seu caráter letal, muitas vezes as parasitoses têm outras consequências importantes. O impacto socioeconômico, sanitário e ecológico destes parasitos pode ser verificado de forma direta ou indireta, através da redução do tamanho do animal com a diminuição da conversão alimentar, “castração” parasitária e consequente diminuição dos estoques pesqueiros, podendo influenciar na diminuição do valor do produto final para a comercialização (EIRAS, 1994; VIDEIRA, 2010).

Esta situação vem despertando o interesse de pesquisadores dada a grande relevância quando se trata de hospedeiros de interesse econômico como peixes, crustáceos e moluscos, os quais apresentam alto potencial para o cultivo e para a comercialização, frente ao aumento significativo destas atividades no Brasil e no mundo (LUQUE, 2004).

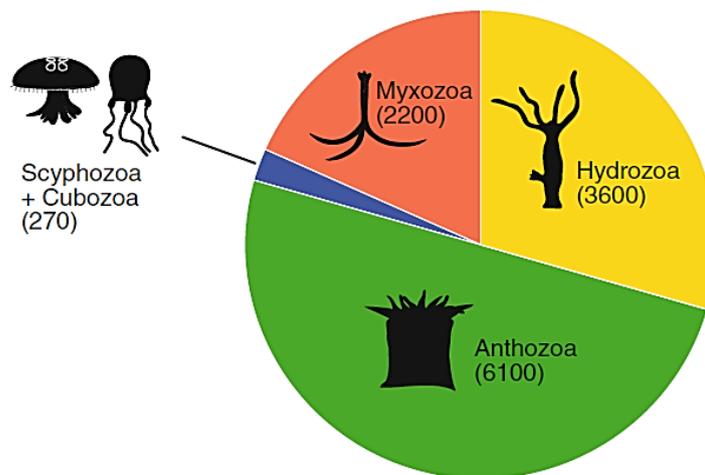
Segundo Luque (2004), estes organismos apresentam fauna parasitária própria que inclui numerosas espécies pertencentes a grande número de filos. As principais espécies de microparasitos que afetam os peixes de importância comercial pertencem aos filos Cnidaria (Subfilo Myxozoa) e Microsporidia as quais incluem aos reinos Animalia e Fungi, respectivamente, induzindo a mixosporidioses e microsporidioses.

2.4 Filo Cnidaria (Subfilo Myxozoa)

Os myxozoários foram observados pela primeira vez por Jurine em 1825, que encontrou cistos na musculatura da espécie *Coregonus fera*, no lago de Genebra (JURINE, 1825). Antigamente eram classificados como protozoários devido ao tamanho e a forma dos esporos. São organismos multicelulares que por meio da análise filogenética da sequência de rDNA de SSU foram inseridos ao filo Cnidaria (LOM; DYKOVÁ, 1992; SMOTHERS et al., 1994; CASAL, 2009).

Atualmente nesse subfilo existem 64 gêneros, 17 famílias e mais de 2.200 espécies descritas, representando cerca de 18% da diversidade das espécies cnidárias conhecidas como mostra a Figura 5 de Zhang (2011) (MATOS et al., 2004; LOM; DYKOVÁ, 2006; ZHANG, 2011; EIRAS; ADRIANO, 2013).

Figura 5 - Demonstração das proporções (e os números) de espécies descritas no Myxozoa e outros clados nos cnidários.



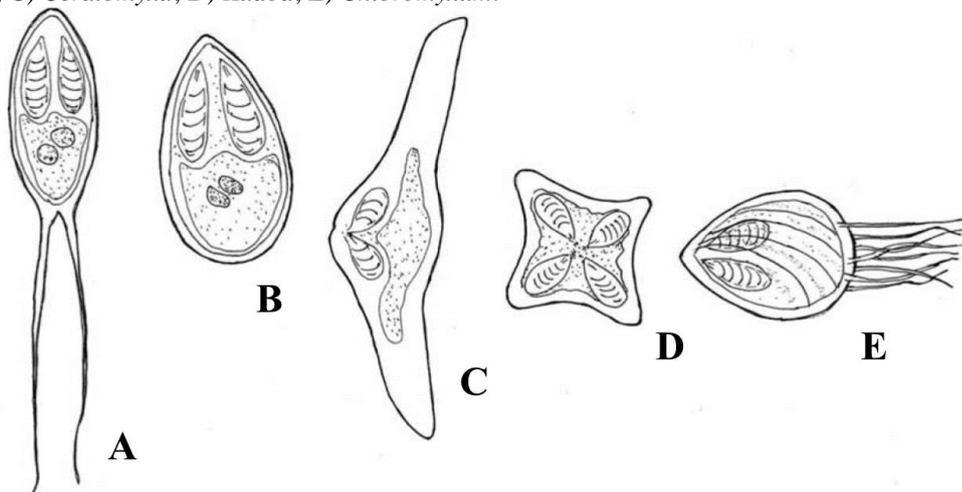
Fonte: Zhang, 2011.

Atualmente, o Subfilo Myxozoa divide-se em 2 classes, a Malacosporea com esporos de valvas sem rigidez que infectam os briozoários e os peixes, possuindo apenas uma ordem, a Malacovalvulida; e, Myxosporea, esporos de valvas rígidas que ocorrem principalmente em peixes, mas também em anelídeos. Sendo que esta última classe, é composta por duas ordens: Bivalvulida que se caracteriza por seus esporos apresentarem 2 valvas e geralmente com 2 cápsulas polares; e a ordem Multivalvulida com esporos compostos por mais de 2 valvas e mais de 2 cápsulas polares (KENT et al., 2001; LOM; DYKOVÁ, 2006; CASAL, 2009; FIALA et al., 2015).

O Myxozoa é um grupo economicamente importante de endoparasitos microscópicos. Seus estudos são de grande relevância, visto que estes microparasitos eucariotos são causadores de doenças que infectam peixes de ambientes marinhos e dulcícolas, e também encontrados como parasitos de anfíbios e répteis. Pesquisas têm confirmado a habilidade dos myxozoários de infectar também mamíferos e aves. Em humanos, as ocorrências são consideradas esporádicas, indicando tratar-se de presenças acidentais, em que os esporos encontrados nas fezes de pacientes provavelmente, foram oriundos da ingestão de peixes infectados (MCCLELLAND et al., 1997; BOREHAM et al., 1998; MONCADA et al., 2001; PRUNESCU et al., 2007; DYKOVÁ et al., 2007; BARTHOLOMEW et al., 2008; OKAMURA et al., 2015).

De acordo com Matos et al. (2004), este grupo é encontrado em todo o mundo apresentando morfologia diversificada as quais podem ser vistas nas valvas, podendo se apresentar com ou sem apêndice, ou possuir eventualmente projeções simples ou elaboradas como observado na figura 6 de Casal (2009). Na maioria das vezes, estes microparasitos se apresentam com uma ou várias cápsulas polares, cada uma com um filamento polar extrusivo. Estes parasitos podem ser celozóicos (em cavidades ou de órgãos do corpo como na bexiga urinária e na vesícula biliar), histozóico (com formação dentro das células e tecidos) ou ainda dentro de vasos sanguíneos (EL-MATBOULI et al., 1992; CASAL, 2009; EIRAS; ADRIANO, 2013).

Figura 6 - Desenhos esquemáticos de cinco esporos correspondentes a diferentes gêneros: A) *Henneguya*; B) *Myxobolus*; C) *Ceratomyxa*; D) *Kudoa*; E) *Chloromyxum*.



Fonte: Casal, 2009.

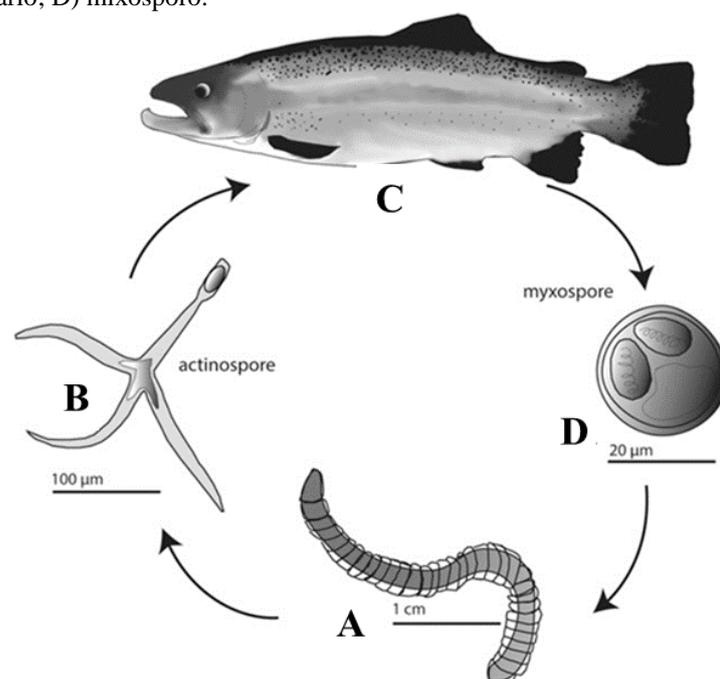
Só é possível para diagnosticar a presença desses microparasitos, através da detecção macroscópica ou microscópica de cistos alojados em vários órgãos e tecidos como brânquias,

pele, músculo, coração, rim, fígado, intestino, entre outros. Os esporos podem apresentar variadas formas como: arredondada, quadrangular, ovóide, elipsoide, piriforme, fusiforme, encurvada e triangular, onde seu comprimento ou espessura varia de acordo com o gênero. A maioria dos mixosporídios são estenoxeno, isto é, apresentam especificidade parasitária. Entretanto, trabalhos confirmam que uma espécie pode parasitar um grande número de hospedeiros, a exemplo, *K. thyrsites* que foi relatada em 18 famílias de peixes (KUBITZA; KUBITZA, 2000; BÉKÉSI et al., 2002; WHIPPS; KENT, 2006; CASAL, 2009; EIRAS; ADRIANO, 2013).

O ciclo de vida destes endoparasitos é indireto envolvendo um invertebrado (hospedeiro definitivo) geralmente oligoquetas para espécies de água doce e poliquetas para espécies marinhas onde se reproduzem sexuadamente, originando o agente infectivo dos peixes, denominado de actinosporo, e um vertebrado (hospedeiro intermediário), o peixe, onde ocorre a proliferação e diferenciação dos esporos multicelulares resistentes ao ambiente externo (mixosporos) que, por sua vez, infectam um anelídeo (LOM; DYKOVÁ, 2006; YOKOYAMA et al., 2012).

Békési et al. (2002), ressaltam que a infecção dos peixes pode acontecer não necessariamente via oral, mas também pela capacidade que os actinosporeos 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.

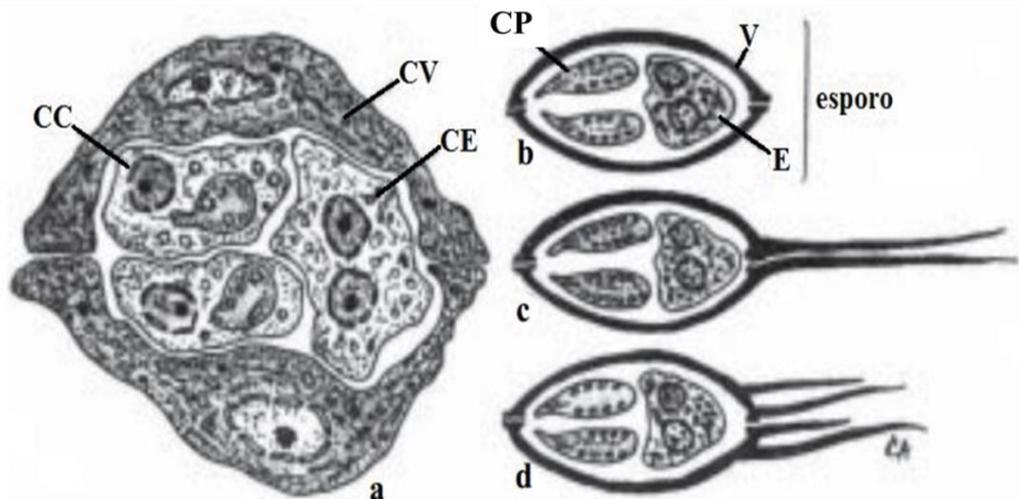
Figura 7 - Desenho esquemático do ciclo de vida de mixosporídio: A) hospedeiro definitivo; B) actinospora; C) hospedeiro intermediário; D) mixosporo.



Fonte: Adaptado de Chang et al., 2015.

Para Matos et al. (2001) é a fase esporal que melhor caracteriza o grupo, onde é possível verificar que os esporos são compostos de várias células que vão se organizar e formar o esporo geralmente com morfologia distinta. O esporo é formado por duas valvas, que formam entre elas uma cavidade onde se encontram, na maioria das vezes, duas cápsulas e uma célula binucleada, o esporoplasma. Estes podem apresentar variações de forma e de estrutura. Em Myxozoa, é nas valvas que ocorre a maior diferença morfológica, no entanto a verificação quanto ao tamanho das cápsulas polares, número de voltas dos tubos polares, entre outras características são utilizadas para a diferenciação de gêneros (Figura 8).

Figura 8 - Desenho esquemático de esporo imaturo de Myxozoa (a), mostrando células valvogênicas (CV), células capsulogênicas (CC) e célula esporogênica (CE). À direita, observam-se 3 tipos de esporos, característicos dos gêneros *Myxobolus* (b), *Henneguya* (c) e *Tetrauronea* (d), formados por 2 valvas (V), 2 cápsulas polar (CP) e o esporoplasma (E).



Fonte: Matos et al., 2001.

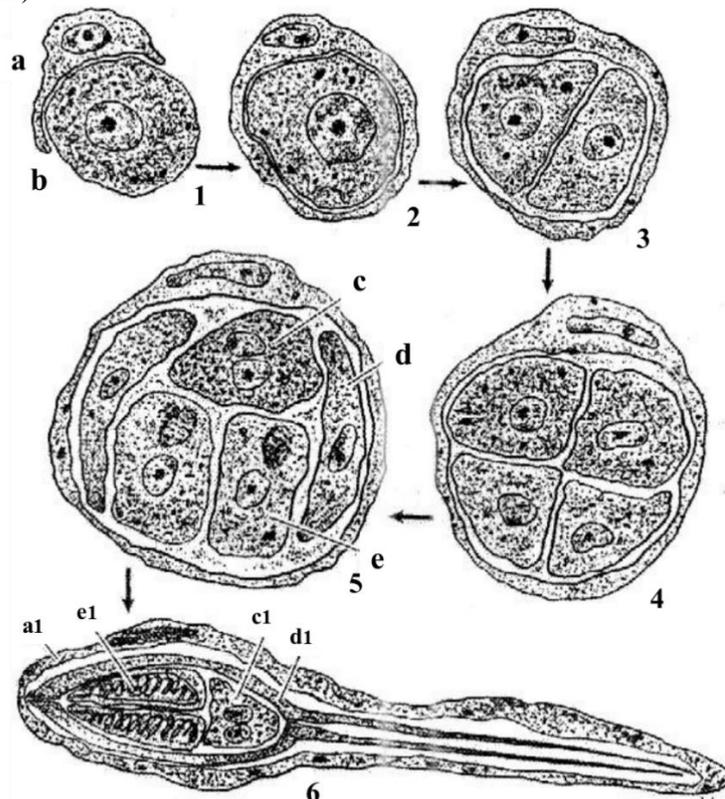
Na Amazônia, o ciclo de vida de Myxozoa tem sido bastante estudado por meio de variados tipos de microscopia (AZEVEDO et al., 1995; AZEVEDO; MATOS, 1996; CASAL et al., 2002; TAJDARI et al., 2005; CASAL et al., 2006; AZEVEDO et al., 2008). Segundo Matos et al. (2001), a esporogênese que ocorre no hospedeiro intermediário inicia com 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 (Figura 9).

O resultado desta divisão é a formação de dois grupos de cinco células. As células de cada grupo irão se diferenciar da seguinte maneira: as duas células valvogênicas se

diferenciam 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 esporoplasmossomas, assim como também partículas de β - glicogênio. Vale ressaltar que 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 de suma importância, 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 como no caso do gênero *Henneguya*, em prolongamentos caudais (MATOS et al., 2004).

Figura 9 - Desenho esquemático demonstrando o ciclo de vida de 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.

A maioria das infecções por myxozoários são inócuas (não são facilmente evidentes) e têm pouco impacto nos hospedeiros peixes. Entretanto, determinados myxozoários causam doenças graves com impactos econômicos nas pescarias e na aquicultura (SHULMAN, 1990; LOM; DYKOVÁ, 1992; DIAMANT et al., 1994; KENT et al., 1994; POTE et al., 2000; HALLETT; BARTHOLOMEW, 2011; OKAMURA et al., 2011; YOKOYAMA et al., 2012; OKAMURA et al., 2015).

De acordo com Okamura et al. (2015) a presença de algumas espécies de mixosporídios são importantes, pois acarretam em perdas significativas de peixes cultivados, impactando a saúde dos peixes em fazendas e reduzindo a comercialização de peixes selvagens. A saúde humana pode ser desafiada pelos myxozoários quando peixe cru infectado são consumidos por indivíduos imunocomprometidos.

Um dos microparasitos patógenos mais estudados é o *Myxobolus cerebralis*, responsável por causar a “doença do rodopio” que infecta a cartilagem da cabeça e da coluna vertebral de salmonídeos, podendo acarretar na deformidade do hospedeiro e o levar muitas vezes a morte por infecções secundárias (NEHRING; WALKER, 1996; KENT et al., 2001). Outras espécies importantes são, por exemplo, *Henneguya ictaluri* que provoca doenças proliferativas das brânquias (POTE et al., 2000) e *Kudoa thyrssites* que causa a mioliquefação pos-mortem do hospedeiro (KENT et al., 1994).

Na Amazônia, já foram descritas centenas de espécies pertencentes a esse subfiló a exemplo, as do gênero *Myxobolus* como os descritos por Velasco et al. (2012) encontrados no palato da espécie *Gobioides broussonnetii* e por Matos et al. (2014) infectando o coração de *Pimelodus ornatus* ambas espécies de peixes oriundas da Ilha do Marajó. O gênero *Kudoa* foi observado por Casal et al. (2008) e por Oliveira et al. (2015) na musculatura de *Aequidens plagiozonatus* e *Plagioscion squamosissimus*, respectivamente. Espécies do gênero *Henneguya* foi encontrado por Velasco et al. (2016) em *Cichla temensis* e por Videira et al. (2015) parasitando *A. plagiozonatus*.

Tais patógenos vêm sendo pesquisados para análises de possíveis problemas causados nos hospedeiros, como no presente estudo, destacaremos os gêneros *Kudoa* e *Ellipsomyxa* que são agentes etiológicos de doenças em peixes.

2.4.1 Gênero *Kudoa*

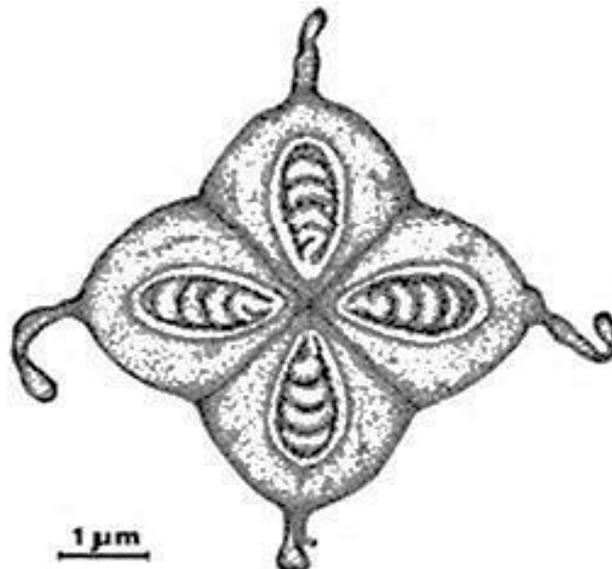
Os membros pertencentes ao gênero *Kudoa* (Meglitsch, 1947) são mixosporídios da ordem dos Multivalvulida, que fazem parte da família Kudoidae. Já foram descritas mais de

100 espécies de *Kudoa* os quais apresentam ampla distribuição geográfica, sendo encontrados infectando principalmente peixes que habitam água marinha ou salobra e raramente, em pescados da água doce como o *Kudoa orbicularis*, descrito por Azevedo et al. (2016) parasitando *Chaetobranchopsis orbicularis* em rios da Amazônia. Nos animais infectados pode ser visto em sua musculatura esquelética a presença de cistos/pseudocistos em forma de filamento ou não (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).

As parasitoses por estes mixosporídios na maioria das espécies causam pouco efeito sobre os seus hospedeiros, já outros agentes patogênicos podem acarretar graves problemas, principalmente quando associadas ao tecido muscular esquelético, uma vez que podem induzir uma generalizada liquefação do músculo infectado, provocando perdas no seu valor comercial, chegando 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 forma estrelada, quadrada ou redondo-quadrangular, além de apresentarem cápsulas polares (Figura 10) (WHIPPS et al., 2004; CASAL, 2009). De acordo com Eiras (1994), um pequeno número de espécies possui curtas projeções apicais e as cápsulas polares podem, em uma mesma espécie, serem de tamanhos sensivelmente iguais ou diferentes.

Figura 10 - Desenho esquemático do esporo de *Kudoa aequidens* em vista frontal.



Fonte: Adaptado de Casal et al., 2008.

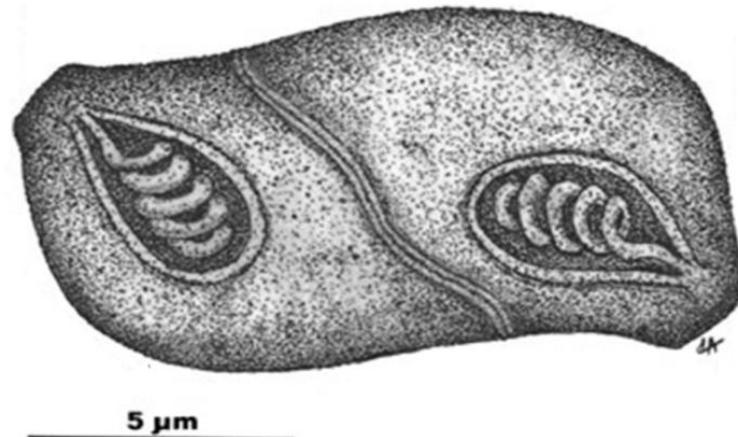
Estes microparasitos têm sido descritos no músculo esquelético dos peixes, no entanto já foi relatado em gônada, tegumento, barbatanas, cérebro, rim, peritônio, glomérulos e mesentério (MATSUKANE et al., 2010). Na Amazônia, Casal et al. (2008) e Santos (2017), verificaram a presença de *Kudoa* na musculatura sub-opercular de *Aequidens plagiozonatus*, e na musculatura esquelética de *Trachelyopterus galeatus* respectivamente ambas espécies provenientes do rio Peixe-Boi/PA.

2.4.2 Gênero *Ellipsomyxa*

As espécies do gênero *Ellipsomyxa* (KØIE, 2003) pertencem a ordem Bivalvulida, e estão inseridas na família Ceratomyxidae (FIALA et al., 2015). Os membros deste gênero representam um subgrupo pequeno contendo algumas espécies com 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).

Segundo Lom e Dyková (2006) os mixosporos deste gênero caracterizam-se por apresentarem formato elipsoide alongados em direção perpendicular ao plano transversal central a 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. O desenvolvimento dos seus esporos em plasmódios na vesícula biliar dos peixes pode ser classificado em monospóricos ou dispóricos (Figura 11) (KØIE, 2003; AZEVEDO et al., 2013).

Figura 11 - Desenho esquemático do esporo de *Ellipsomyxa gobioides* em vista frontal.



Fonte: Adaptado de Azevedo et al., 2013.

Na região amazônica os esporos deste gênero foram relatados na vesícula biliar de *Gobioides broussonnetii*, *Hoplias malabaricus* e *Trachelyopterus galeatus* descrito por Videira (2015), Santos (2016) e Santos (2017), respectivamente.

2.5 Filo Microsporidia

Durante muitos anos acreditava-se que este filo pertencia ao reino Protozoa, porém no final do século XX, com base em evidências genéticas e moleculares, bem como a presença de quitina e trehalose nos microsporídios e fungos, levaram a confirmação de serem fungos verdadeiros, descendentes de um ancestral zigomiceto apresentando componentes reguladores genéticos que poderiam funcionar na determinação do sexo e de sua reprodução sexual, quando então, sua posição taxonômica sofreu grandes transformações, sendo esses microrganismos considerados os mais primitivos seres eucariotas (CAVALIER-SMITH, 1993; LEE et al., 2008; CASAL, 2009).

O microsporídio é um grupo diversificado de organismos de reduzidas dimensões que apresentam uma grande variedade de hospedeiros, presentes na maioria dos filos de invertebrados e em todas as cinco classes de vertebrados (AZEVEDO; MATOS, 2002; CANNING et al., 2005; DIDIER, 2005). Nas últimas décadas houve maior interesse no estudo deste filo, quando este grupo se encontra associado como importante patógeno oportunista em indivíduos com vírus da imunodeficiência humana (HIV) (DESSPORTES et al., 1985; MATHIS, 2000; MATHIS et al., 2005), os quais podem ser causa primária de diarreias crônicas em pacientes com a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) (WASSON; PEPPER, 2000; DIDIER; WEISS, 2006; CASAL, 2009).

Segundo Stentiford et al. (2013) dos 187 gêneros de microsporídio descritos cerca de vinte gêneros infectam peixes, sendo que todos os vinte gêneros apresentam como hospedeiros os peixes da classe Osteichthys, podendo serem oriundos de ambientes marinhos, dulcícola ou salobra.

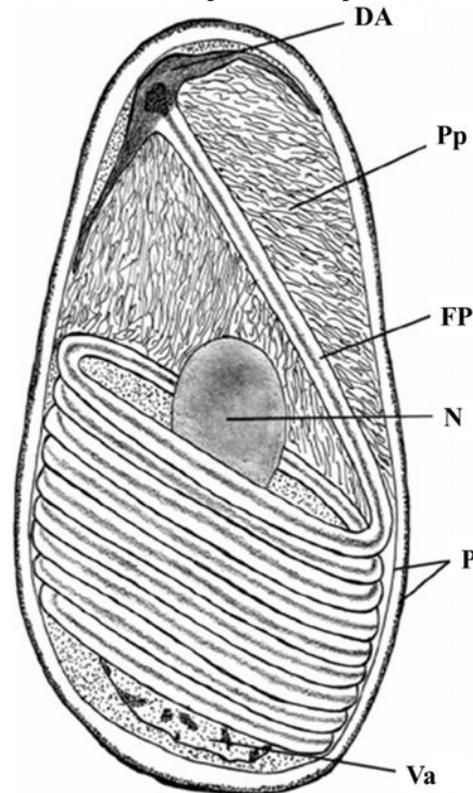
Em seus hospedeiros, os microsporídios podem ser localizados nos mais variados órgãos e/ou tecidos, como sistema nervoso, tubo digestivo, fígado, brânquias, gônadas, sistema tegumentar e outros (CANNING; NICHOLAS, 1980; CANNING; LOM, 1986; LOM; DYKOVÁ, 1992; LARSSON, 1999; LOM, 2002). De acordo com Matos et al. (2003a) os esporos geralmente aparecem agrupados formando xenomas ou granulomas e, em outras situações, podem aparecer sob formas isoladas entre as células do hospedeiro.

Os microsporídios da ictiofauna são patógenos estritamente intracelulares (LOM; DYKOVÁ, 1992; MATOS, 2007; FRANZEN, 2008). A característica mais diagnosticável de um microsporídio, é a sua célula infecciosa, o esporo, geralmente de formato variável podendo ser mais ou menos alongada (bastonete até redonda), porém a maioria é ovoide (FRANZEN; MÜLLER, 1999; KEELING; FAST, 2002; MATOS et al., 2004).

Segundo Wittner e Weiss (1999) o ciclo de vida nesse filo pode ser dividido em duas fases: extracelular e intracelular. A fase extracelular consiste em um esporo com uma parede rígida e espessa, que contorna um esporoplasma, uni ou binucleado, e um aparelho de extrusão que se constitui de um tubo contendo um filamento polar (FP), que é característico do filo. Este filamento polar pode ser ejetado esvaziando o esporo, transferindo o esporoplasma para a célula hospedeira (XU; WEISS, 2005). A maioria das espécies de microsporídios tem uma característica comum; produzem no ambiente esporos bastante resistentes responsáveis pela transmissão horizontal (MATOS, 2007).

De acordo com Videira et al. (2015) 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 12).

Figura 12 - 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.

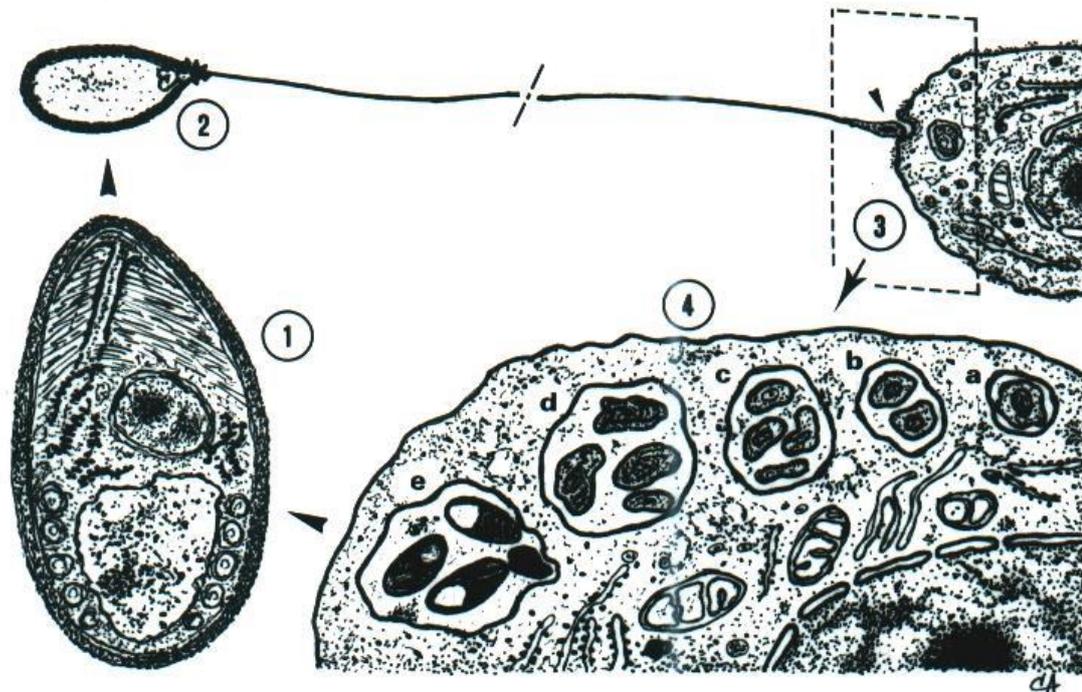
O vacúolo na maioria dos esporos é de volume variável na porção posterior, sendo que na maior parte dos casos, o FP se enrola nesta porção, ficando entre o vacúolo e a parede do esporo (P). Este FP reage positivamente na reação de detecção de polissacarídeos. O núcleo se localiza na porção média do esporo, entre o polaroplasto e o vacúolo, sendo frequentemente rodeado por vários polirribossomas (MATOS et al., 2004).

Lom e Dyková (1992) relatam que quando o esporo se encontra em condições favoráveis a sua “germinação”, seu FP se desenvagina e é projetado. Matos (2007) cita alguns fatores ambientais como radiação, luz solar, temperatura, umidade, pH, vento, água e substrato, que podem influenciar na “germinação” dos microsporídios.

O ciclo de vida desses microparasitos segundo Santos et al. (2010) envolve um estágio proliferativo denominado merogonia, seguido por esporogonia, tendo como resultado final a produção de esporos que serão eliminados pelos hospedeiros no ambiente. De acordo com Matos et al. (2003b) os merontes são células geralmente alongadas ou arredondadas, que se desenvolvem no interior de um vacúolo do citoplasma da célula hospedeira se dividindo várias vezes por divisão binária ou múltipla conforme a espécie, onde no final desta fase de divisão (merogonia), os merontes irão se diferenciar em esporontes. Posteriormente, ocorre

outra divisão chamada de esporogonia. Em seguida, os esporontes começam a espessar sua parede e no final desta fase, originarão os esporoblastos, que na maioria das vezes apresentam o formato ovóide. Após, os esporoblastos continuam a se diferenciar e espessar sua parede, originando desse modo os esporos maduros. Nesta última fase, acontece um aumento do retículo endoplasmático liso e rugoso, assim como o desenvolvimento dos dictiossomas (aparelho de Golgi) e numerosas vesículas e vacúolos (Figura 13) (Matos et al., 2004). A partir desse momento são diferenciados o tubo polar e o polaroplasto.

Figura 13 - Representação esquemática do ciclo de vida de microsporídios: 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 de Matos et al., 2003a.

Os esporos destes patógenos podem infectar qualquer célula do hospedeiro por meio da extrusão do filamento polar, e dependendo da espécie às reações celulares a tais infecções podem se diferenciar, visto que existem espécies que causam dilatações provocando uma hipertrofia na célula infectada, e constituindo assim os tecidos que reagem às infecções estruturais conhecidas por xenomas. Todavia em outras espécies podem não apresentar essas dilatações, logo não formam xenomas, no entanto seu conteúdo é substituído por esporos, devido a ação de um meio alcalino causando dessa forma infecções difusas nos órgãos afetados (EIRAS, 1994).

Para Matos (2007) existem várias vias de transmissão das microsporidioses. Uma delas é descrita por Lom (2008) onde relata que os esporos maduros podem ser liberados de seus hospedeiros pela ruptura da pele e brânquias, pelas fezes ou mesmo após a sua morte, sendo capazes de resistir às condições extremas no meio ambiente. Onde após a ingestão dos esporos, o esporoplasma é libertado do esporo, no intestino, infectando suas células epiteliais. Seu desenvolvimento ocorrerá no local de contato do esporo, ou em outros casos, em tecidos situados a longa distância do local de infecção. Na segunda situação, considera-se que sejam células transportadoras, conhecidas como células mesenquimatosas indiferenciadas, macrófagos e fluídos corporais que por vezes, possibilitam uma distribuição generalizada (CANNING; LOM, 1986; LOM; DYKOVÁ, 1992).

Na Amazônia, foram descritas sete espécies de microsporídios que parasitam 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), *Potaspora 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), *Potaspora aequidens* em *Aequidens plagiozonatus* (VIDEIRA et al., 2015) e *Pleistophora beebei* parasitando *Brachyhypopomus beebei* (CASAL et al., 2016).

2.6 Importância do uso da microscopia eletrônica de transmissão, varredura e biologia molecular na determinação de microparasitos

Antigamente o principal critério para a classificação e caracterização nos estudos dos microparasitos era baseado principalmente na morfologia dos esporos (FIALA et al., 2015).

No caso dos myxozoa, as descrições levavam em consideração o número e a configuração das válvulas e o número e disposição das cápsulas polares em relação ao plano sutural para caracterizar ordens e subordem (LOM; DYKOVÁ, 1992). Já a classificação em nível de espécie segundo Lom e Arthur (1989) baseava-se principalmente sobre as dimensões dos esporos e das cápsulas polares, além de detalhes minuciosos da estrutura dos esporos, como o número de voltas do filamento polar, presença ou ausência de apêndices caudais, presença de estrias em suas válvulas e o número de esporoplasmas e seus núcleos (YOKOYAMA et al., 2012).

De acordo com Casal (2009) a classificação de qualquer grupo de organismos não deveria ser baseada apenas nessas características, mas numa combinação de vários fatores, como: habitat, especificidade do hospedeiro, local de infecção, interação com as células hospedeiras e as características do ciclo de vida do parasito.

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) representa uma ferramenta adicional para o estudo deste grupo de organismos. A importância da MEV reside na sua capacidade de fornecer imagens tridimensionais com alta ampliação que permitem entender as relações espaciais entre as estruturas superficiais. Podendo ser usado para separar espécies que parecem morfologicamente idênticas quando examinadas somente ao microscópio de luz (HIRSCHMANN, 1983; GIBBONS, 1986; GONZÁLEZ et al., 2012; HAYAKAWA; MATSUOKA, 2016).

As técnicas de microscopia eletrônica de transmissão (TEM) fornecem uma valiosa contribuição para o exame ultraestrutural de qualquer tipo de objeto, mas em particular para espécimes de tamanho muito pequeno. A TEM produz imagem bidimensional que pode revelar maiores detalhes da célula analisada, bem como sobre a interação entre patógenos e suas células hospedeiras (por exemplo, quando usada em análise de microparasitos) (STADTLÄNDER, 2007).

Aliado a essas técnicas, é de grande relevância a análise de sequências moleculares e, conseqüentemente, as inferências filogenéticas tendo como base, dados de sequências de rDNA 18S e 28S que melhorou absurdamente o diagnóstico e facilitou o estabelecimento entre espécies para uma classificação mais precisa (CASAL, 2009; BURGER; ADLARD, 2010; HEINIGER et al., 2013).

Assim, os marcadores filogenéticos foram necessários para reconstruir a diversificação de myxozoários que provavelmente começaram centenas de milhões de anos atrás. Por meio desse estudo verificou-se inconsistência/discrepâncias entre classificações baseadas apenas em morfologias, e com isso gerou o estabelecimento e desaparecimento de vários gêneros, famílias e subordens de mixosporo (AVISE, 2004; COLLINS, 2009; BURGER; ADLARD, 2010; FIALA et al., 2015). A exemplo os próprios myxozoários que hoje são pertencem ao Filo Cnidaria com base nos estudos filogenômicos realizados (TAKEUCHI et al., 2015).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Identificar e descrever morfológica e filogeneticamente os microparasitos eucariotos (mixosporídios e microsporídios) presente nas espécies *Batrachoides surinamensis* e *Menticirrhus americanus* capturadas no estuário do Município de Viseu, Pará.

3.2 Objetivos Específicos

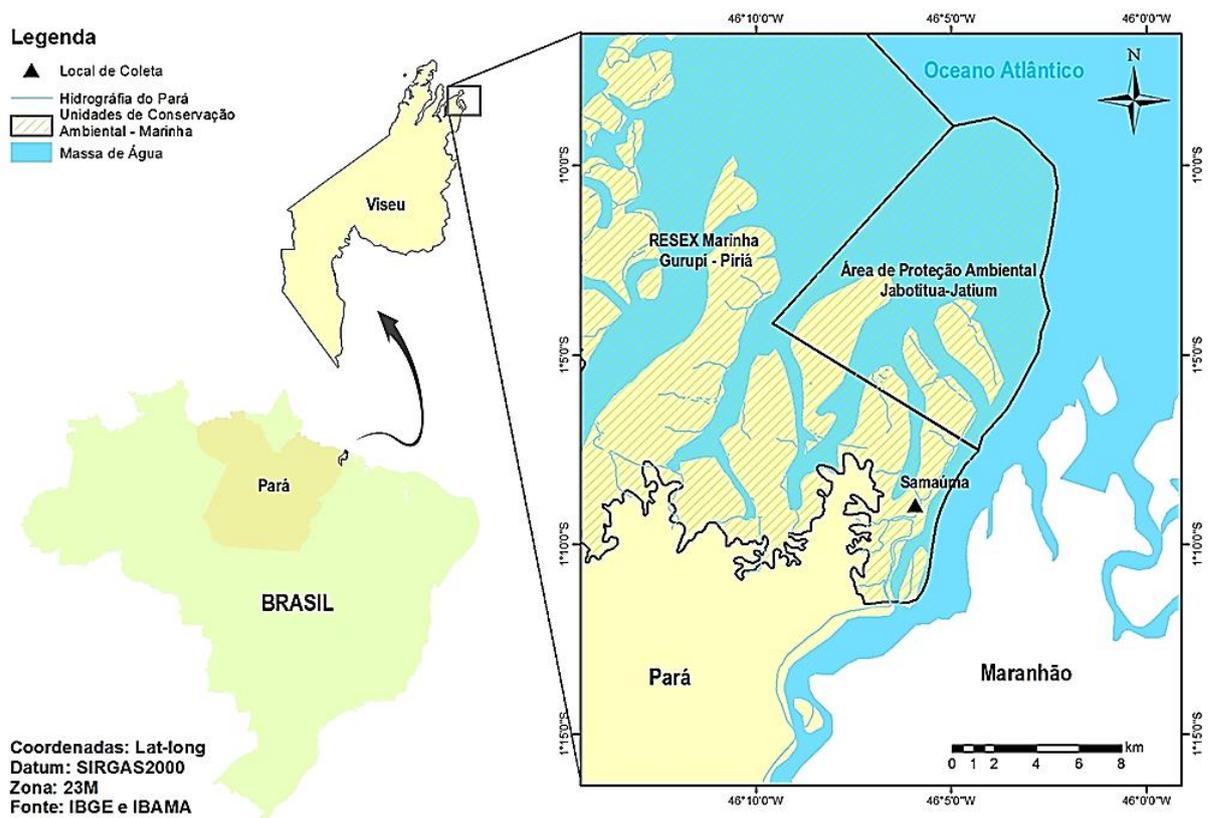
- Caracterizar as parasitoses por microsporídios e mixosporídios encontrados nas espécies hospedeiras.
- Analisar a localização dos microparasitos em relação aos vários órgãos dos hospedeiros.
- Verificar a prevalência de cada grupo de microparasitos nos espécimes analisados.
- Identificar a ocorrência de multiparasitismo.
- Verificar a influência da sazonalidade na prevalência parasitária.
- Realizar o estudo taxonômico (novo táxon: gêneros e espécies) de microsporídios e mixosporídios encontrados nos peixes através dos estudos morfológicos e moleculares.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Caracterização da área de estudo

O município de Viseu pertencente à mesorregião do Nordeste Paraense e a microrregião do Salgado, distando cerca de 385 km de Belém (Figura 14). Sua sede municipal fica a margem do rio Gurupí. A cidade possui limites à Leste como o município de Carutapera (divisa com o estado do Maranhão) e com o município de Cachoeira do Piriá, a oeste com o município de Bragança, a noroeste com o município de Augusto Correa, a Norte com o Oceano Atlântico e a sudeste com o município de Santa Luzia do Pará (ALMEIDA; COSTA, 1997).

Figura 14 - Mapa de localização geográfica do município de Viseu com destaque para o ponto de coleta (▲).



Fonte: Catuxo, 2019.

O acesso ao município é feito através de vias rodoviárias, sendo que a principal é a Rodovia Federal BR- 308, além de que outras vias terrestres de acesso podem ser utilizadas como a PA-102. Na via marítimo fluvial, o transporte de acesso à sede municipal se dá por meio dos rios Gurupi e Piriá, que permitem chegar ao porto de Viseu, proveniente de cidades paraenses vizinhas e do estado do Maranhão (QUARESMA, 1997; SANTOS, 2015).

De acordo com Quaresma (1997) Viseu caracteriza-se por apresentar o clima tropical quente e úmido, com temperatura e pluviosidade média anual de 26.8 °C e 2119 mm, respectivamente.

O município ocupa uma área territorial de aproximadamente 4.915,073 km² e uma população de 56.716 de habitantes, sendo 18.397 na zona urbana e 38.319 na zona rural (IBGE, 2017).

Em relação à cobertura vegetal da mata de Viseu é dominada pelo ecossistema de manguezal, com predomínio de vegetação tolerante à salinidade, decorrente da influência de águas marinhas (RÊGO; GAMA, 1997; SANTOS, 2015).

Quanto a sua bacia hidrográfica, destacam-se os rios Gurupi e Piriá, que desempenham um importante papel socioeconômico para o município, e servem para a navegação de embarcações de pequeno porte, área pesqueira, comércio e lazer (LIMA et al., 2001; SANTOS, 2015).

A economia de Viseu está baseada no setor primário, representada principalmente pela agricultura de subsistência, com destaque da lavoura de mandioca (*Manihot esculenta*). A atividade pesqueira também é bastante relevante na economia local, onde várias comunidades praianas como a praia do Sumaúma dependem diretamente da pesca artesanal como a principal fonte de renda das famílias que ali habitam (FURTADO, 1987; MANESCHY, 1994; SANTOS, 2015).

4.2 Coleta dos dados: peixes e transporte

Os espécimes de *B. surinamensis* e *M. americanus* analisados nesse estudo foram coletados na Praia do Sumaúma, localizada no município de Viseu/PA. Foram utilizados como apetrechos de pesca nas coletas: rede de emalhar, tarrafas, curral de pesca e anzol com linha de mão (Figura 15). As coletas foram bimestrais no período de 11 meses (fevereiro de 2017 a outubro de 2018) capturando-se em média 06 indivíduos de cada espécie.

Figura 15 - Apetrechos de pesca utilizados para captura dos exemplares: A) rede de emalhar; B) tarrafa; C) curral de pesca; D) anzol com linha de mão.



Fonte: LPCA, 2018.

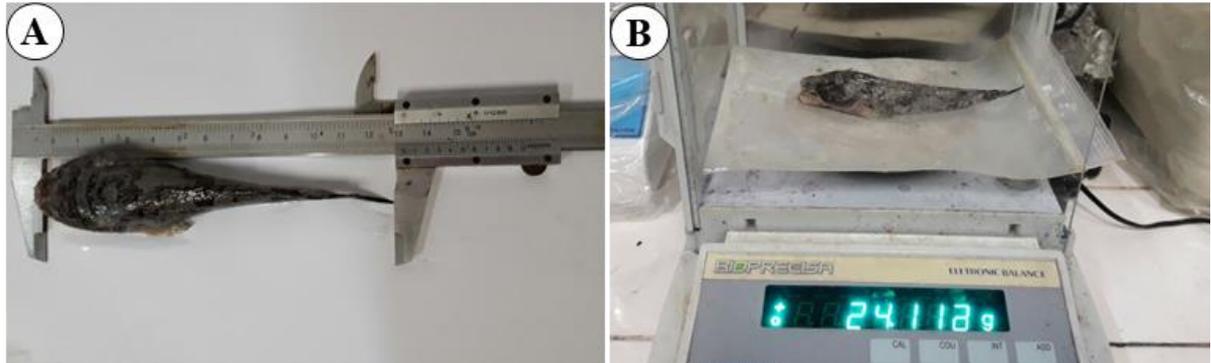
Após a captura dos exemplares, estes foram acondicionados em balde com sacos plásticos e aeração artificial necessária para o transporte dos animais vivos até o Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo (LPCA), do Instituto da Saúde e Produção Animal (ISPA) na Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA/Belém) e/ou ao Laboratório de Pesquisa Edilson Matos (LPEM), do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) na Universidade Federal do Pará (UFPA/ Belém), onde permaneceram em aquários, contendo água oriunda do próprio hábitat, até que se iniciassem as análises.

4.3 Dissecção dos espécimes e exame parasitológico

Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética no uso de Animais da Ufra (CEUA - UFRA 013/2014) (Anexo 1) e com autorização do Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis, IBAMA (SISBIO / Número de licença ICMBio 27119-1, código de autenticação: 51186731). Antes da necropsia, os peixes

foram mielotomizados (mielotomia neural) ou então nos aquários, foram anestesiados com Tricaína Metano sulfonato (MS-222 SIGMAS) na concentração de 50mg/L, conforme Azevedo et al. (2008), para posteriormente, serem retirados dos aquários, para análises. Todos os exemplares antes das análises foram medidos com auxílio de paquímetro e pesados em balança de precisão, sendo esses dados registrados em ficha de coleta (Anexo 2) (Figura 16).

Figura 16 - Biometria realizada nos exemplares de *B. surinamensis* e *M. americanus*: A) comprimento total (cm); B) peso total (g).



Fonte: LPCA, 2018.

Posteriormente os espécimes foram examinados com auxílio de instrumentos de dissecação e de estereomicroscópio Zeiss Stemi DCR para identificação de existência de lesões ou cistos de microparasitos pela superfície corpórea e brânquias, e em seguida foi realizado um corte, da abertura urogenital, longitudinalmente, em direção a cabeça de modo a possibilitar a visualização da cavidade celomática com órgãos internos (Figura 17). Segundo Iwashita e Maciel (2013) o diagnóstico da maioria dos endoparasitos pode ser realizado por meio da visualização dos espécimes nas cavidades e órgãos do hospedeiro, onde geralmente verifica-se a presença de cistos.

Figura 17 - Necropsia de exemplar de *B. surinamensis* com observação da cavidade celomática.



Fonte: LPCA, 2018.

Ao encontrar regiões com cistos ou anormalidades foram retirados pequenos fragmentos dos órgãos e/ou tecidos dos hospedeiros, comprimidos entre lâmina de vidro, cobertos com uma lamínula de vidro contendo uma gota de água, e analisados imediatamente para confirmação do parasitismo em microscópio de luz Olympus CX41.

Os plasmódios e esporos à frescos e as lâminas coradas foram fotografadas sob um microscópio de luz ZEISS PRIMO STAR acoplado com câmera fotográfica ZEISS AxioCam ERc 5s utilizando o software AxioVision 5.1, assim como também pelo microscópio equipado com imagem de contraste de interferência diferencial (DIC).

4.4 Processamento para histologia

Quando confirmada a ocorrência do parasitismo, os tecidos foram colhidos 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, com o intuito de inativar as enzimas, e desse modo conservar a estrutura celular.

Após a fixação, os fragmentos foram processados conforme o protocolo padronizado pelo LPCA (Anexo 3), passando por uma bateria de concentrações alcoólica crescente para desidratar o tecido, diafanizados em xilol com o intuito de fazer a retirada do álcool e então preparar o tecido para impregná-lo em parafina e assim incluí-lo no aparelho Tissue Embedding Center Micron EC350; depois foi realizada a microtomia utilizando o micrótomo Rotary Microtome Micron HM315, onde foram realizados cortes com 5 µm de espessura; colocado no banho-maria, e com o auxílio de uma pinça distendido os cortes, para evitar dobras do corte no tecido, e então “pescados” com uma lâmina de vidro. Essa lâmina de vidro com o tecido foi colocada em suporte de madeira na estufa 60 °C por um período de 24 h, para fixação do corte + tecido na lâmina de vidro.

Posteriormente os materiais foram corados na técnica de rotina do laboratório com Hematoxilina e Eosina (HE) para procurar evidências da ocorrência do parasito na célula do hospedeiro e conforme necessidade foram utilizadas técnicas especiais Ziehl-Neelsen (ZN) e para microsporídeo (LUNA, 1968) que cora diferencialmente as cápsulas polares dos esporos.

4.5 Processamento para microscopia eletrônica (Transmissão e Varredura)

Para realizar a análise em Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), são retirados pequenos fragmentos de tecidos parasitados, fixados em glutaraldeído 5%, a 0,2 M tampão cacodilato de sódio a pH 7,2 por 3 horas a 4°C. Posteriormente são lavados no mesmo tampão por 2-4 horas a 4°C, e pós-fixados em tetróxido de ósmio a 2% também por 2 horas.

Os fragmentos são desidratados em série crescentes de etanol e em óxido de propileno, embebidos e incluídos em Epon™, e então levados para estufa 60°C por 3 dias para polimerização. Estas etapas serão realizadas de acordo com as técnicas padronizadas no LPCA / UFRA (Anexo 4). As etapas de ultramicrotomia, contrastação (coloração com azul de toluidina nos cortes semifinos e contrastação com acetato de uranila e citrato de chumbo nos cortes ultrafinos) estão sendo realizadas na Seção de Microscopia Eletrônica do Instituto Evandro Chagas e/ou no Laboratório de Biologia Estrutural no Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, assim como na Universidade do Porto / Portugal, utilizando Convênio e Acordo Internacional entre referida Universidade e as Universidades Federal do Pará e a Universidade Federal Rural da Amazônia.

Para a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), foram fixados fragmentos de tecido e esporos isolados, em glutaraldeído 5% tamponados com cacodilato de sódio 0,2 M a pH 7,2 por 3 horas a 4°C. Posteriormente, são lavados no mesmo tampão por 2-4 horas a 4°C, e pós-fixados em tetróxido de ósmio a 2% no mesmo tampão por 2 horas na mesma temperatura, e após desidratados, em série crescente de etanol. Estas etapas estão sendo realizadas conforme padronização de técnicas no LPCA / UFRA e LPEM / UFPA (Anexo 5). É feita a secagem ao ponto crítico, em seguida metalizado com ouro ou platina. As análises são realizadas no microscópio eletrônico de varredura do Laboratório de Histologia e Embriologia Animal no Instituto da Saúde e Produção Animal (ISPA) na Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA/Belém).

4.6 Processamento para biologia molecular

Para a análise molecular, os fragmentos com tecidos parasitados ou esporos em cistos e/ou isolados, foram colhidos e fixados em álcool etílico 80%. O DNA total de cada amostra foi extraído com uso do mini kit PureLink® Genomic DNA (Invitrogen, EUA), de acordo com as instruções do fabricante e levadas para serem trabalhadas no Laboratório de Genética Aplicada (LGA/UFRA).

As análises moleculares tiveram como base nas sequências rDNA 18S, que foram amplificadas conforme Eszterbauer (2004) para mixosporídios.

A concentração do DNA das amostras foi calculada em espectrofotômetro Biodrop Duo (Biodrop). Foram realizadas as reações em cadeia da polimerase (PCRs) para obter o DNA ribossômico da pequena subunidade (SSU rDNA), fazendo inicialmente com o iniciador universal Eucariótico 18E (HILLIS; DIXON, 1991) e o iniciador reverso 18R (WHIPPS et al., 2003) e posteriormente foi realizada uma nested PCR com os primers Kudf/Kudr (WHIPPS et al., 2003b). As amplificações do fragmento por PCR (reação em cadeia da polimerase) realizaram-se com volume final de 25 µl.

A reação foi realizada em termociclador (Applied Biosystems Simple Amp™), conforme o protocolo para os primers 18E e 18R. Para verificar o tamanho e a qualidade do DNA extraído foram submetidos 3 µl da mistura de PCR em eletroforese em gel de agarose a 1% com Tris-borato-EDTA (TBE) 1X, corados com SYBR® Safe (Invitrogen, EUA) e visualizados sob luz azul. Os produtos de PCR foram purificados com DNA de PCR GFX™ e um kit de Purificação de Bandas de Gel (GE Healthcare, UK), seguindo as instruções do fabricante. Os produtos de PCR foram sequenciados separadamente para os primers 18E, Kudf e 18R. As reações de sequenciamento foram conduzidas com o kit Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystems, EUA), de acordo com as instruções do fabricante, em um ABI 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, EUA). As sequências nucleotídicas obtidas foram editadas e alinhadas fazendo uso do software BioEdit (HALL, 1999).

4.7 Análises das variáveis físico-químicas da água

Durante as coletas foram aferidas medições *in situ* das variáveis abióticas da água como a temperatura (com termômetro infravermelho), a concentração de oxigênio dissolvido (com oxímetro), o pH (phgametro) e a salinidade (salinômetro). Com o intuito de verificar se houve a influência da sazonalidade na ocorrência dos microparasitos sendo realizadas coletas durante os períodos chuvoso e de estiagem, registrados em uma ficha de coleta de campo (Anexo 6).

4.8 Parâmetros estatísticos

O programa Excel 2007 foi utilizado para realizar o cálculo das médias, mínimo, máximo e dos desvios padrão das medidas dos plasmódios e esporos a fresco com auxílio do microscópio de luz ZEISS PRIMO STAR, equipado com câmera ZEISS Axio Cam ERc 5s. Foram medidos cerca de 30 esporos de cada espécie, sendo as medições dos esporos dadas em micrômetros (μm).

Para o cálculo da prevalência parasitária, este foi determinado segundo Bush et al. (1997), de acordo com a fórmula a seguir: $P = \text{NTPP} / \text{NTPE} \times 100$, onde:

P = prevalência; **NTPP** = número total de peixes parasitados; **NTPE** = número total de peixes examinados.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

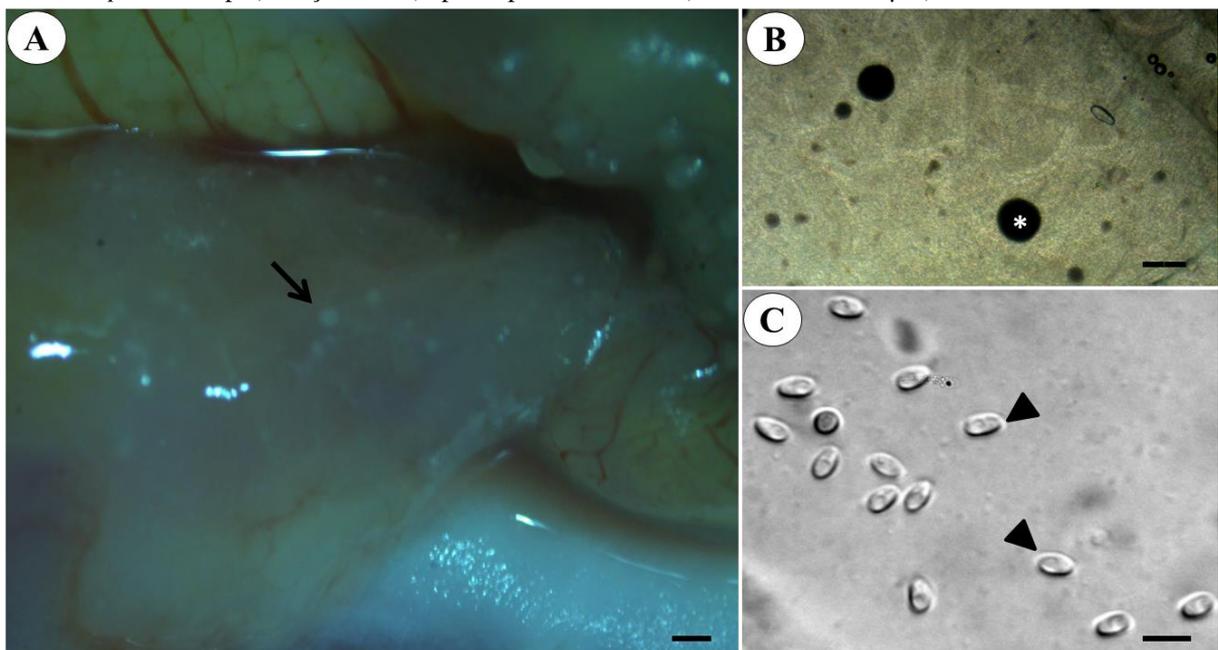
Durante a execução deste trabalho, foram realizadas 11 coletas, onde capturou-se 66 exemplares de *B. surinamensis* e 66 de *M. americanus*, totalizando 132 exemplares analisados.

Os espécimes analisados de *B. surinamensis* apresentaram comprimento médio de 10,8 cm (7,0 cm – 14,0 cm) e peso médio de 15,5 g (6,5 g - 31,5 g). Para os exemplares de *M. americanus* observou-se comprimento e peso médio de 13,8 cm (11,2 cm – 17,0 cm) e 16,8 g (7,3 g – 31,2 g), respectivamente.

5.1 Descrição de Microsporídio na mucosa gástrica de *M. americanus*

Pequenos fragmentos da mucosa gástrica de *M. americanus* foram colocados entre lâmina/lamínula com uma gota d'água, para observação com auxílio do microscópio de luz. Durante a observação verificou-se a presença de xenomas arredondados de coloração ligeiramente opaca (Figura 18A), revestido por uma parede espessa, e quando rompidos verificou-se inúmeros esporos de formato elipsoidal com extremidades arredondadas (Figura 18C) característica do filo Microsporidia como descrito por Matos et al. (2003a).

Figura 18 - Fotomicrografia de luz a fresco: A) Cistos esbranquiçados de *Microsporidium* sp. (seta), observados em estereomicroscópio, localizados na mucosa gástrica de *M. americanus* (Barra de escala: 500 μ m); B) Xenomas maduros irregulares observados em ML (*) (Barra de escala: 20 μ m); C) Numerosos esporos isolados de *Microsporidium* sp. (cabeça da seta) após ruptura dos cistos (Barra de escala: 5 μ m).



Fonte: LPCA, 2018.

Abdel-Baki et al. (2012) descreveram a presença de cistos de *Pleistophora dammami* perceptíveis a olho nu na parede do intestino de *Saurida undosquamis*. Silva (2011) também descreve xenomas de microsporídios na mucosa gástrica de *Brachyplatystoma vaillantii* capturados no município de Vigia de Nazaré no Estado do Pará. Pesquisas que corroboram no presente estudo com xenomas no mesmo órgão de infecção.

Os dados morfométricos dos esporos de formato elipsoidal de *Microsporidium* sp. apresentaram $4,30 \mu\text{m} \pm 0,24 \mu\text{m}$ de comprimento e $2,48 \mu\text{m} \pm 0,15 \mu\text{m}$ de largura (Tabela 1).

As comparações morfométricas demonstram que *Microsporidium* sp. se assemelha mais em relação a largura e comprimentos do esporo com *Kabatana rondoni* (CASAL et al., 2010), *Loma psittaca* (CASAL et al., 2009) e *Pleistophora beebei* (CASAL et al., 2016) ambos infectando o músculo esquelético da cavidade abdominal de *Gymnorhamphichthys rondoni*, *Colomesus psittacus* e *Brachyhypopomus beebei*, respectivamente. Entretanto, quando comparados com os esporos de *Amazonspora hassar* (AZEVEDO; MATOS, 2003) parasitando as brânquias de *Hassar orestis* e *Potasporea aequidens* (VIDEIRA et al., 2015) encontrado na região sub-opercular e nadadeiras de *Aequidens plagiozonatus*, suas medidas difere, por serem menores que *Microsporidium* sp. descrito na mucosa gástrica do presente hospedeiro. Vale ressaltar que todos esses microsporídios usados na tabela para comparação são provenientes de hospedeiros capturados na região amazônica.

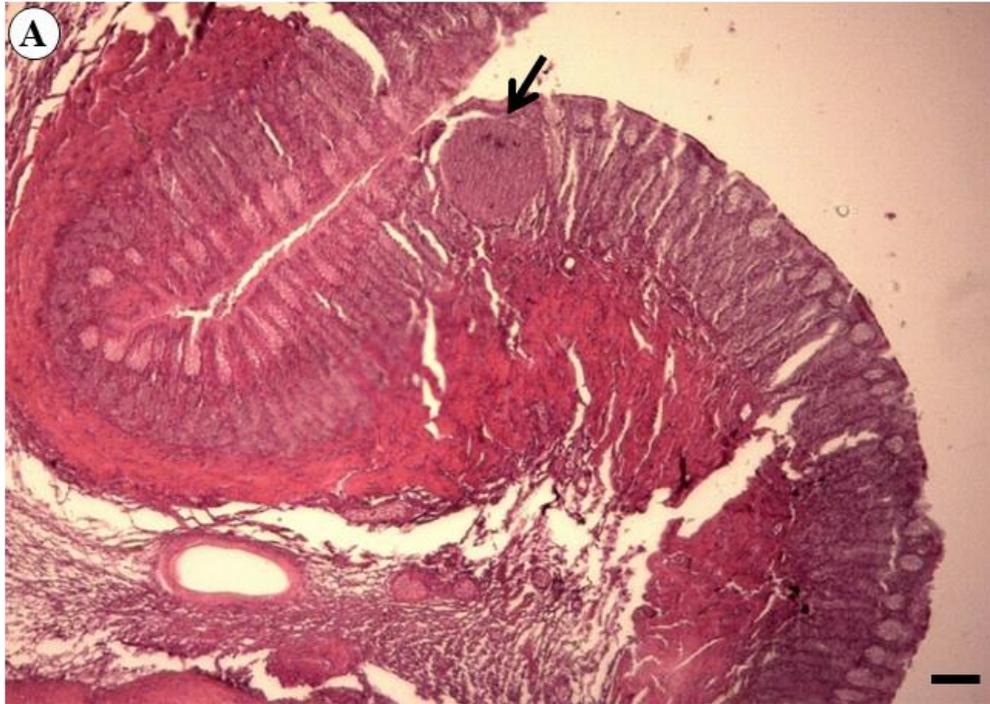
Segundo Stentiford et al. (2013) há uma diversidade de espécies de microsporídios que infectam uma variedade de animais, entre eles moluscos, crustáceos e peixes. O estudo de microsporídios que causam xenomas em peixes oferece uma visão sobre a patologia celular e é de interesse, visto que muitas dessas espécies são importantes agentes de doenças em peixes comerciais (LOM; DYKOVÁ, 2005).

A análise histológica em ML por meio de cortes semifinos corados pela técnica de HE revelou alterações estruturais na mucosa gástrica de *M. americanus* semelhantes a destruição da célula, decorrente provavelmente da presença dos esporos de *Microsporidium* sp. acarretando em autólise, e assim provocando a destruição das células hospedeiras (Figura 19).

Tabela 1 – Comparação das medições dos comprimentos e larguras dos esporos e seus formatos de trabalhos consultados da literatura em relação com os dados do presente estudo. Todas as espécies citadas são da região amazônica. As dimensões são dadas em micrômetros (μm) e expressas com a média e desvio padrão, seguido pelo intervalo de mínimo e máximo entre parênteses. LE: largura do esporo; CE: comprimento do esporo; e ND: não disponível.

Espécie/referência	Hospedeiro	Sitio de infecção	Esporo (μm)		Formato	Prevalência
			LE	CE		
Este estudo	<i>Menticirrhus americanus</i>	Mucosa gástrica	2,48 \pm 0,15 (2,70–2,33)	4,30 \pm 0,24 (4,62–4,02)	Elipsoide	20,0%
<i>Potaspora aequidens</i> (VIDEIRA et al., 2015)	<i>Aequidens plagiozonatus</i>	Região sub-opercular e nadadeiras	1,9 \pm 0,3 (ND)	3,4 \pm 0,5 (ND)	Elipsoide a piriforme	66,6 %
<i>Pleistophora beebei</i> (CASAL et al., 2016)	<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	60,0%
<i>Microsporidium sp.</i> (SILVA, 2011)	<i>Brachyplatystoma vaillantii</i>	Mucosa gástrica	2,1 (ND)	4,2 (ND)	Elipsoide	80,0%
<i>Kabatana rondoni</i> (CASAL et al., 2010)	<i>Gymnorhamphichthys rondoni</i>	Músculo esquelético da cavidade abdominal	2,37 \pm 0,42 (ND)	4,25 \pm 0,38 (ND)	Elipsoide a piriforme	36,0%
<i>Loma psittaca</i> (CASAL et al., 2009)	<i>Colomesus psittacus</i>	Mucosa intestinal	2,8 \pm 0,4 (ND)	4,2 \pm 0,4 (ND)	Ovoide	30,0%
<i>Amazonspora hassar</i> (AZEVEDO; MATOS, 2003)	<i>Hassar orestis</i>	Brânquiais	1,78 \pm 0,18 (ND)	2,69 \pm 0,45 (ND)	Elipsoide	37,5%
<i>Loma myrophis</i> (AZEVEDO; MATOS, 2002)	<i>Myrophis platyrhynchus</i>	Mucosa intestinal	1,71 (1,59–1,81)	3,45 (3,22–3,70)	Elipsoide	34,0%

Figura 19 - Fotomicrografia de luz: A) Infecção por xenomas de microsporídios em tecidos da mucosa gástrica (seta) em cortes histológicos corados pela HE (Barra de escala: 50 µm).



Fonte: LPCA, 2019.

De acordo com Lom e Dyková (2005) os xenomas produzidos a partir de alguns tipos de células-alvo apresentam uma mudança completa na organização da célula hospedeira e diferem, segundo o agente, em sua estrutura e nos prejuízos que estes podem causar ao seu hospedeiro. No trabalho de Silva (2011) bem como na presente pesquisa os xenomas encontravam-se distribuídos irregularmente na mucosa gástrica dos peixes analisados.

A taxa de prevalência encontrada foi de 20,0% considerada baixa quando comparada a outros microsporídios já descritos na Amazônia, como 80,0% de *Microsporidium* sp. encontrados por Silva (2011); 66,6% para *Potasporea aequidens* descrito por Videira et al. (2015); 60,0% de *Pleistophora beebei* (CASAL et al., 2016); 40,0% de *Potasporea morhaphis* por Casal et al. (2008b); 34,0% de *Loma myrophis* por Matos et al. (2003b), e 30,0% de *Loma psittaca* descrito por Casal et al. (2009).

Segundo) o xenoma oferece ótimas condições de crescimento para o parasito, incluindo proteção contra o sistema imunológico do hospedeiro. Entre os efeitos do parasitismo por microsporídios estão a castração parasitária e mudança de sexo (MATOS, 2007). Casal (2009) afirma que estes parasitos podem causar enormes malefícios e, em muitos casos, são a causa da morte dos seus hospedeiros.

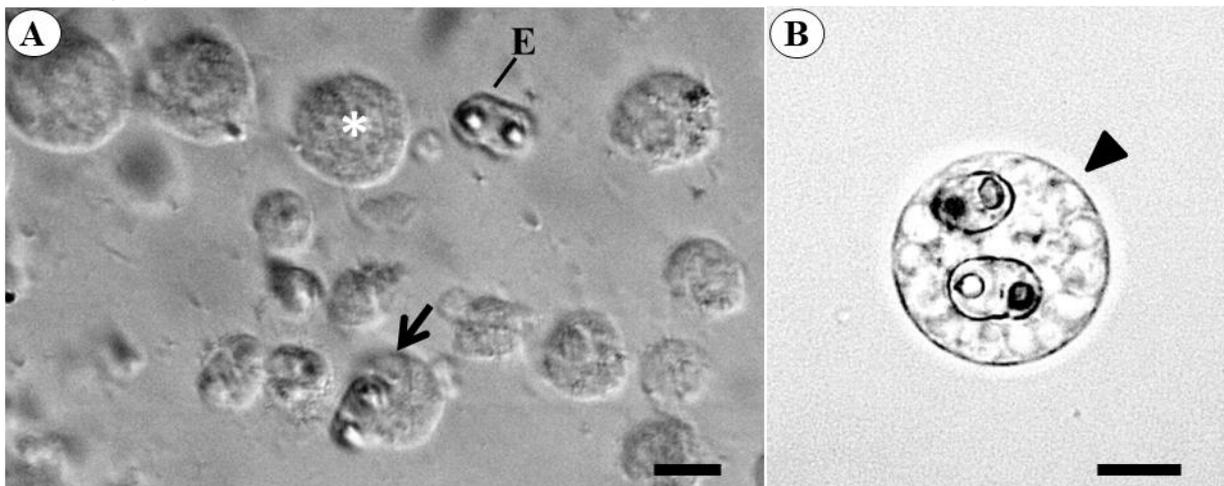
Para Matos (2007) os microsporídios de peixes estão geralmente no citoplasma das células de seus hospedeiros, provocando a destruição ou induzindo a hipertrofia da região onde o mesmo está instalado.

Conforme observado no estudo, embora a infecção por *Microsporidium* sp. tenha produzido efeitos histopatológicos, expressos como a desorganização de algumas estruturas na mucosa gástrica infectadas, porém esse órgão ainda sim foi preservado, com isso os efeitos patológicos desta infecção microsporidiana pode não representar uma ameaça à sobrevivência de *M. americanus*.

5.2 Descrição de *Ellipsomyxa* sp. na vesícula biliar de *B. surinamensis*

Vesículas biliares contendo vários plasmódios com formato arredondado, assim também esporos que flutuavam livremente na bÍlis e localizados entre as células epiteliais da parede da vesícula foram visualizados a fresco ao microscópio de luz; estes, ligeiramente alongados, elipsoides com duas cápsulas polares ovais ou piriformes de tamanhos iguais, em lados opostos, identificados como pertencentes ao gênero *Ellipsomyxa* conforme K ie (2003) (Figura 20). Na Amazônia esse gênero foi descrito por Sindeaux-Neto (2013) parasitando *Chaetobranchopsis orbicularis* e Santos (2016) em *Hoplias malabaricus*.

Figura 20 - Fotomicrografia de luz a fresco: A) plasmódios monospóricos (*), plasmódios arredondados apresentando esporos imaturos (seta) e esporos maduros (E) dispersos no líquido da vesícula biliar de *B. surinamensis* (Barra de escala: 10  m); B) plasm dio disp rico (cabeça da seta) de *Ellipsomyxa* sp. (Barra de escala: 10  m).



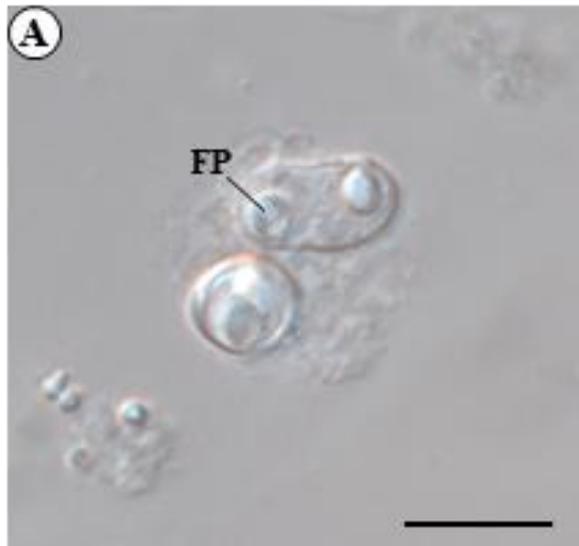
Fonte: LPCA, 2018.

Segundo Heiniger e Adlard (2014) os esporos maduros das espécies de *Ellipsomyxa* podem variar quanto a forma podendo ser elipsoidal a ovóide. No presente trabalho

observamos o desenvolvimento de plasmódios monospóricos e dispóricos, assim como nos achados de Azevedo et al. (2013) em *Gobioides broussonnetii* e *E. kalthoumi* (THABET et al., 2016). Diferente de Kjøie e Karlsbakk, (2009) que descreveram apenas plasmódios monospóricos em *Syngnathus typhle* e *Syngnathus rostellatus*, enquanto Silva et al. (2018) relatam que no seu trabalho os plasmódios encontrados eram somente dispóricos.

Os plasmódios eram irregulares exibindo tamanhos variáveis com $19,3 \mu\text{m} \pm 0,4 \mu\text{m}$ ($18,8 \mu\text{m} - 19,7 \mu\text{m}$). Os esporos maduros elipsoidais que ocorrem flutuando na bile mediram $12,3 \mu\text{m} \pm 0,4 \mu\text{m}$ ($12,0 \mu\text{m} - 12,7 \mu\text{m}$) de comprimento e $7,2 \mu\text{m} \pm 0,3 \mu\text{m}$ ($6,8 \mu\text{m} - 7,5 \mu\text{m}$) de largura. Possuíam válvulas lisas e finas alongadas na direção perpendicular ao plano da linha sutural que eram ligeiramente curvas. As duas cápsulas polares (PC) presentes no espora são piriformes e de tamanho igual, abrindo-se subterminal em direções opostas, com $3,5 \mu\text{m} \pm 0,1 \mu\text{m}$ ($3,3 \mu\text{m} - 3,7 \mu\text{m}$) de comprimento, e largura de $3,1 \mu\text{m} \pm 0,1 \mu\text{m}$ ($2,9 \mu\text{m} - 3,2 \mu\text{m}$), cada uma contendo um filamento polar enrolado com 4 a 5 voltas (Figura 21). A distância em vista apical entre as cápsulas polares foi de $4,0 \mu\text{m} \pm 0,1 \mu\text{m}$ ($3,9 \mu\text{m} - 4,2 \mu\text{m}$) (Tabela 2). O Esporoplasma e núcleos não foram distintos.

Figura 21 - Fotomicrografia de luz a fresco: A) do espora maduro de *Ellipsomyxa* sp. dispersos no líquido da vesícula biliar com detalhe para os filamentos polares (FP) (Barra de escala: $10 \mu\text{m}$) (DIC).



Fonte: LPCA, 2018

Tabela 2 - Comparação das dimensões do mixosporo de algumas espécies conhecidas de *Ellipsomyxa*. As dimensões são dadas em micrômetros e expressas com a média seguida pelo intervalo de mínimo e máximo entre parênteses. LE: largura do esporo; CE: comprimento do esporo; LC: largura das cápsulas polares; CC: comprimento das cápsulas polares; DPC: distância entre cápsulas polares; PDL: diâmetro do plasmódio; PFC: número de voltas dos filamentos polares; e ND: não disponível.

Espécie/Autor	Hospedeiro	Sítio de infecção	Esporo (μm)		Cápsula polar (μm)		DPC	PDL	PFC
			LE	CE	LC	CC			
Este estudo	<i>B. surinamensis</i>	Ves. Biliar	7,2 (6,8-7,5)	12,3 (12,0-12,7)	3,1 (2,9-3,2)	3,5 (3,3-3,7)	4,0 (3,9-4,2)	19,3 (18,8-19,7)	4 a 5
<i>E. amazonensis</i> (ZATTI et al., 2018)	<i>B. rousseauxii</i>	Ves. Biliar	7,6 (6,7-8,7)	12,8 (12,3-13,6)	3,1 (2,5-3,4)	3,8 (3,8-4,0)	ND	19,9 (16,2-28,8)	2 a 3
<i>E. arariensis</i> (SILVA et al., 2018)	<i>P. nattereri</i> <i>P. ornatus</i>	Ves. Biliar	7,3 (6,7-8,0)	12,6 (12,0-13,4)	2,6 (2,5-3,2)	3,5 (3,4-4,0)	ND	ND	5 a 6
<i>E. gobioides</i> (AZEVEDO et al., 2013)	<i>G. broussonnetii</i>	Ves. Biliar	7,2 (6,9-7,5)	6,8 (6,5-7,0)	2,5 (2,1-2,7)	4,6 (4,3-4,8)	3,5 (3,1-3,8)	<30	5 a 6
<i>E. adlardi</i> (WHIPPS; FONT, 2013)	<i>G. bosc</i>	Ves. Biliar	7,7 (7,1-8,8)	12,4 (11,3-14,4)	3,6 (3,3-4,1)	4,3 (3,9-4,9)	ND	ND	5 a 6
<i>E. syngnathi</i> (KØIE; KARLSBAKK, 2009)	<i>S. typhle</i> <i>S. rostellatus</i>	Ves. Biliar	8,1 (7,2-8,6)	6,8 (6,3-7,2)	2,9 (2,7-3,2)	3,6 (3,2-4,1)	1,9 (1,8-2,4)	11,8 (11,0-13,0)	5 a 6
<i>E. gobii</i> (KOIE, 2003)	<i>P. microps</i>	Ves. Biliar	8,7 (8,0-9,0)	6,8 (6,3-7,2)	3,1 (3,0-3,2)	3,1 (3,0-3,2)	2,7 (2,4-3,0)	19 (16,0-23,0)	6 a 7

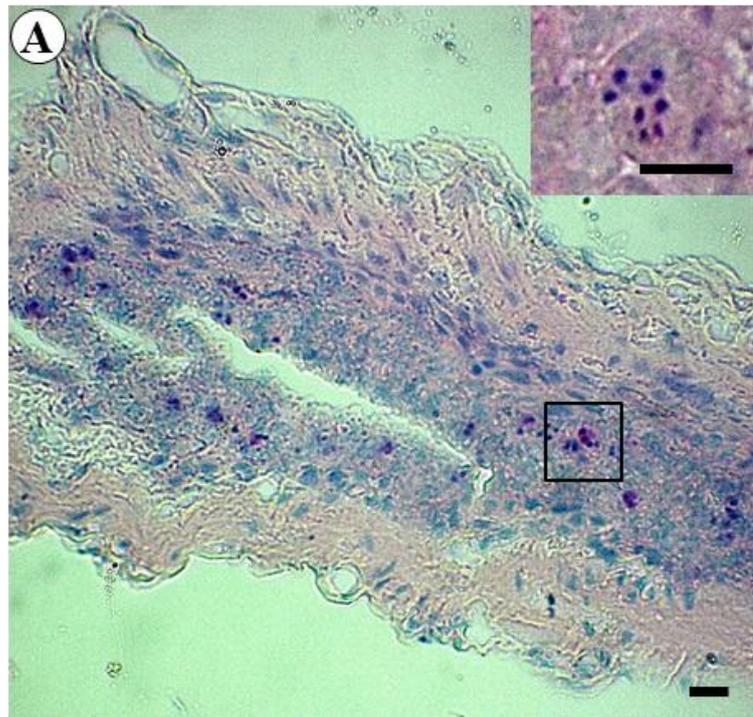
Morfometricamente *Ellipsomyxa* sp. assemelha ao *E. amazonensis* (ZATTI et al., 2018) e *E. arariensis* (SILVA et al., 2018), parasito de *Brachyplatystoma rousseauxii* e *Pimelodus ornatus* /*Pygocentrus nattereri*, respectivamente. Porém, *E. arariensis* apresenta a largura das cápsulas polares menores, e mais voltas dos filamentos polares. Da mesma forma a presente espécie revela ainda o dobro do comprimento dos esporos das espécies *E. gobioides* (AZEVEDO et al., 2013), *E. syngnathi* (KØIE; KARLSBAKK, 2009) e *E. gobii* (KOIE, 2003).

Em relação a distância entre cápsulas polares a espécie se mostrou superior ao comparar a *E. syngnathi* e *E. gobii* (KOIE, 2003; KØIE; KARLSBAKK, 2009). Quanto ao tamanho do diâmetro do plasmódio de *Ellipsomyxa* sp. (19,3 µm) encontrados na vesícula biliar do pacamã, este é parecido aos plasmódios de *E. amazonensis* (19,9 µm) e *E. gobii* (19,0 µm) (KOIE, 2003; ZATTI et al., 2018).

Whipps e Font (2013) relatam que os membros desse gênero tipicamente infectam vesículas biliares de peixes, confirmado o registrado na tabela acima. Para Zatti et al. (2018) a localidade da infecção é muito importante, uma vez que a maioria das espécies conhecidas de *Ellipsomyxa* foram relatadas anteriormente a partir de hospedeiros de peixes marinhos corroborando com o presente resultado. Porém, no estuário amazônico próximo da Ilha de Marajó, Pará foi descrito a espécie *E. gobioides*, ambiente este que recebe influência da água doce (AZEVEDO et al., 2013). No caso de *E. amazonensis* parasitando *B. rousseauxii* considerado de ambiente dulcícola, é explicado pois esse hospedeiro divide seu ciclo de vida entre ambientes estuarinos e de água doce, levando os autores a levantarem a hipótese mais provável que o parasito infecte seu hospedeiro durante sua fase estuarina de vida.

Os cortes histológicos revelaram plasmódios e esporos maduros desse microparasito próximos ao epitélio da vesícula biliar, além de livres dentro do fluido biliar. As técnicas histológicas possibilitaram observar em ZN a presença de esporos aderido a parede do órgão e livres no líquido vesical (Figura 22).

Figura 22 - Fotomicrografia de luz (histologia): A) seção semi-fina da vesícula biliar de *B. surinamensis* infectada pelo mixosporídio *Ellipsomyxa* sp. localizados no lúmen da vesícula biliar e aderidos ao epitélio deste órgão corado em ZN (Barra de escala: 10 µm).



Fonte: LPCA, 2019.

A infecção ocasionada por *Ellipsomyxa* sp. em *B. surinamensis* foi associada a coloração adquirida conforme a presença ou ausência do parasitismo, uma vez que em exemplares que apresentaram bile verde-acastanhada estavam parasitadas, enquanto nos peixes não infectados demonstravam bile verde claro, corroborando com os achados de Thabet et al. (2016) para a espécie *E. kalthoumi* em *Liza saliens*, bem como por Sitjá - Bobadilla e Alvarez-Pellitero (1993) para *E. mugilis* em *Mugil capito*. Segundo estes mesmos autores em hospedeiros com forte infecção, a bile foi totalmente substituída por uma substância amorfa espessa composta de estágios plasmóidais, e esporos maduros. Para Morrison et al. (1996) vários tipos de mixosporídeos podem acarretar em alterações na cor da bile e necrose da celular do epitélio da vesícula biliar infectada. Essas alterações morfológicas possivelmente ocorrem para otimizar a ingestão de nutrientes (SITJÁ-BOBADILLA; ALVAREZ-PELLITERO, 1993; CANNING et al., 1999). De acordo com Whipps e Font (2013) a mortalidade de um hospedeiro infectado pela maioria dos mixozoários não é altamente patogênica.

A prevalência do gênero encontrado foi de 56%, ou seja dos 66 exemplares analisados 37 estavam parasitados, resultado considerado alto quando comparado a 23,5% de *E. amazonensis* parasitando *B. rousseauxii* (ZATTI et al., 2018) e 45% de *E. gobioides* em *G.*

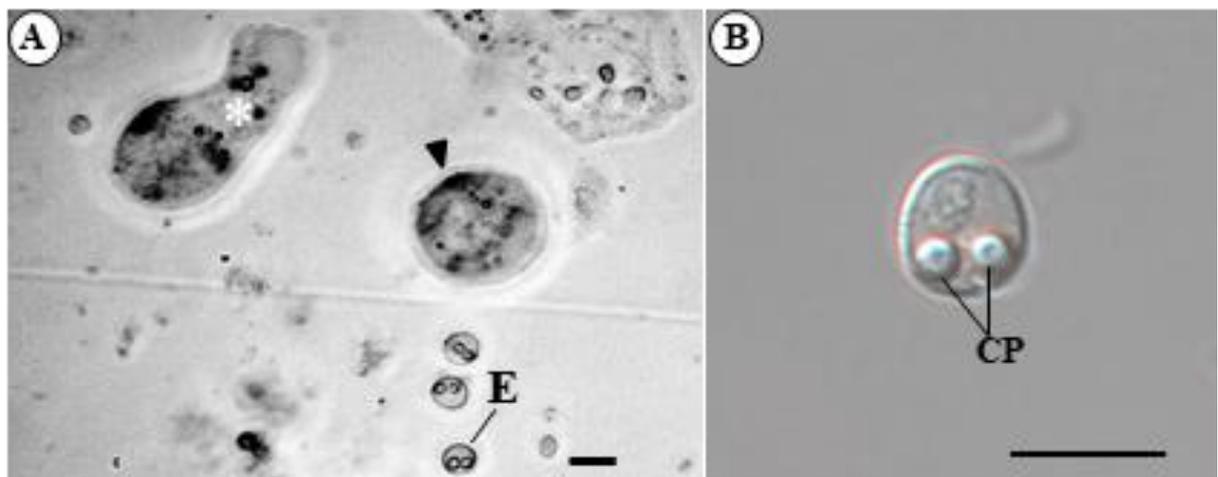
broussonnetii (AZEVEDO et al., 2013); no entanto, foram considerados valores inferiores quando comparados aos 72,2% de *E. adlardi* em *Gobiosoma bosc* (WHIPPS; FONT, 2013) e os 84% e 67% de prevalência em *E. arariensis* achados por Silva et al. (2018) em *P. ornatus* e *P. nattereri*, respectivamente.

Assim, os resultados confirmam, a presença de plasmódios e esporos associados com parasitismo pelo gênero *Ellipsomyxa* parasitando à vesícula biliar de *B. surinamensis*, peixe de ambiente marinho. Está é a primeira ocorrência do gênero *Ellipsomyxa* parasitando a espécie hospedeira em estudo.

5.3 Descrição de mixosporídio não identificado na bexiga urinária de *B. surinamensis*

Na bexiga urinária de *B. surinamensis*, após comprimir fragmentos desse órgão entre lâmina e lamínula de vidro com uma gota d'água, verificou-se a presença de mixosporídios, onde foram observados, tanto plasmódios quanto esporos maduros livres no líquido e na parede interna da bexiga. Os plasmódios eram altamente polimórficos, com dimensões variadas em formato redondo ou alongado (Figura 23A). Os esporos destes microparasitos eucariotos eram esféricos, ligeiramente achatados e apresentavam em seu interior duas cápsulas polares subesféricas com filamento polar enrolado, esporoplasma, vacúolo posterior e células valvogênicas com formato semelhante aos pertencentes ao filo Cnidaria conforme descrição de Lom e Dyková (2006) (Figura 23B).

Figura 23 - Fotomicrografia, a fresco, exibindo: A) Plasmódios irregulares (*) e plasmódio arredondado (cabeça da seta); esporo maduro (E) de mixosporídios não identificados na bexiga urinária de *B. surinamensis* (Barra de escala: 10 µm). B) esporos de myxozoário com destaque para as cápsulas polares (CP) (Barra de escala: 10 µm) (DIC).

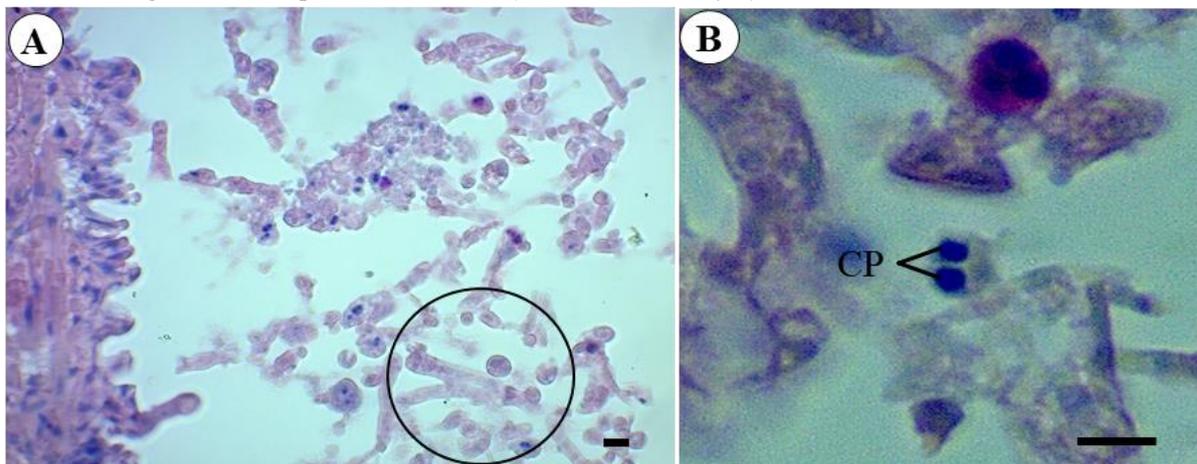


Fonte: LPCA, 2018.

As análises morfométricas dos mixosporos deste microparasito apresentaram $8,82 \mu\text{m} \pm 0,13 \mu\text{m}$ ($8,69 \mu\text{m} - 8,95 \mu\text{m}$) de comprimento e $8,26 \mu\text{m} \pm 0,09 \mu\text{m}$ ($8,26 \mu\text{m} - 8,36 \mu\text{m}$) de largura. As paredes dos esporos eram compostas por duas válvulas simétricas. Dentro dos mixosporos estavam contidas duas cápsulas polares subesféricas com $2,67 \mu\text{m} \pm 0,10 \mu\text{m}$ ($2,60 \mu\text{m} - 2,79 \mu\text{m}$) de comprimento e $2,67 \mu\text{m} \pm 0,05 \mu\text{m}$ ($2,62 \mu\text{m} - 2,71 \mu\text{m}$) de largura, apresentando orientação divergente com abertura para lados opostos da linha de sutura. Cada cápsula polar continha um filamento polar enrolado com 3 a 4 voltas em seu interior.

O exame das secções histológicas realizado revelou que tanto os plasmódios como os esporos estavam simultaneamente presentes no sistema excretor, dispersos na luz e parede da bexiga urinária (Figura 24). Observamos ainda variações de tamanho e forma de seus plasmódios.

Figura 24 - Fotomicrografia de secções histológicas apresentando: A) vários plasmódios irregulares (círculo) na luz da bexiga urinária (Barra de escala: $10 \mu\text{m}$); B) Esporos (seta) com destaque para as cápsulas polares (CP). Cortes histológicos corados pela técnica de ZN (Barra de escala: $5 \mu\text{m}$).



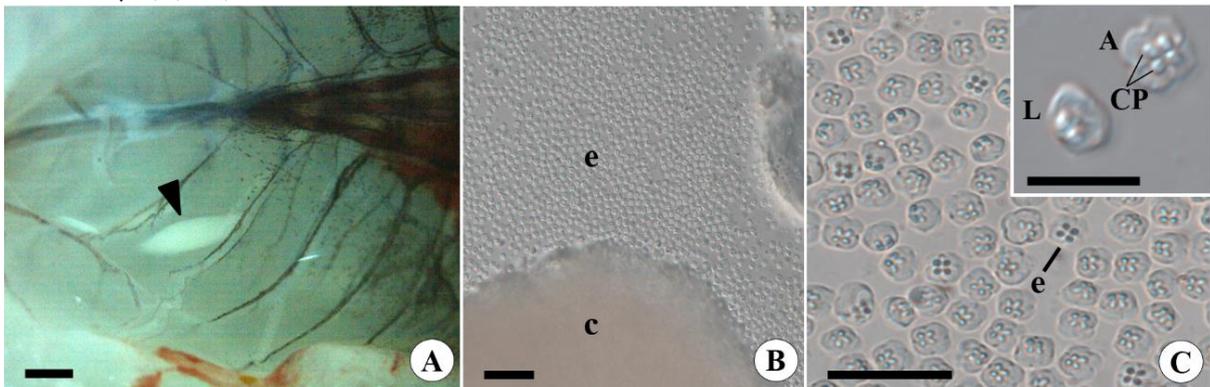
Fonte: LPCA, 2019.

O parasito apresentou desenvolvimento celozóico no sistema urinário dos peixes, com prevalência de infecção de 48%. Os exemplares coletados e analisados não apresentaram sinais externos de infecção ou doença, nem mortalidade registrada no estoque investigado. Pelo método utilizado não foi possível a identificação do gênero e espécie. Apesar das características do parasito, aqui descritas, não foram suficientes para dar suporte a identificação como uma nova espécie ou gênero, carecendo de uma identificação molecular e ultraestrutural. Assim, a bexiga urinária foi preparada para análises em microscopia eletrônica de transmissão, varredura e biologia molecular.

5.4 Caracterização morfológica e molecular de *Kudoa viseuensis* n. sp. no músculo de *B. surinamensis*

No tecido muscular esquelético do pacamão foram observados cistos de cor esbranquiçada em formato ovoide (Figura 25A), e quando comprimidos entre lâmina e lamínula, houve a liberação de vários esporos com quatro cápsulas polares de forma piriforme e simétricas, com borda periférica das válvulas ligeiramente arredondada e sem projeções (Figura 25B e 25C), semelhantes aos pertencentes ao gênero *Kudoa*. Não foi possível observar o número de voltas do filamento polar.

Figura 25 - Fotomicrografia de luz: A) Cisto esbranquiçado (cabeça da seta) encontrado na musculatura de *B. surinamensis* (Barra de escala: 1000 μ m); B) Cisto (c) e numerosos esporos maduros (e) após ruptura cística (Barra de escala: 100 μ m); C) Esporos a fresco (e) de *K. viseuensis* n. sp. no formato pseudoquadrado (Barra de escala: 20 μ m); Inset: destaque para as cápsulas polares (CP) em vista lateral (L) e em vista apical (A) (Barra de escala: 10 μ m) (DIC).



Fonte: LPCA, 2018.

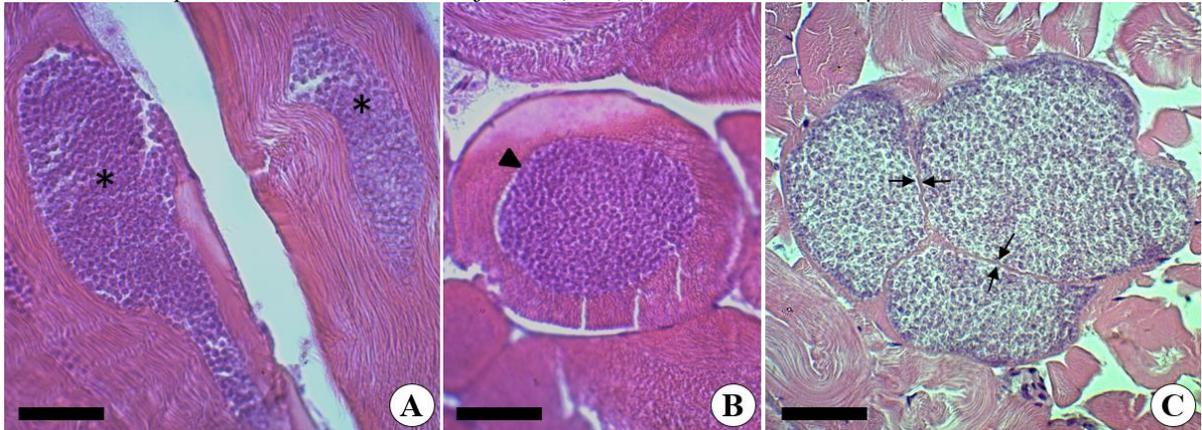
Sua infecção foi caracterizada pela formação de cisto na musculatura do hospedeiro (YOKOYAMA et al., 2012; KASAI et al., 2016; KASAI et al., 2017; SAKAI et al., 2018). Os membros pertencentes a este gênero, apresentam tropismo do local de infecção por tecido muscular, e assim como no presente trabalho, *K. viseuensis* esteve presente apenas na musculatura esquelética de *B. surinamensis*, onde nenhum outro órgão do peixe estava parasitado, resultado semelhante verificado na espécie de *Hyperoglyphe japonica* que apresentou *K. ogawai* apenas em seu tecido muscular (YOKOYAMA et al., 2012).

Em alguns casos, os cistos são relativamente fáceis de detectar como os de *K. trachuri* em *Trachurus japonicus* e *K. thunni* em *Thunnus alalunga* (MATSUKANE et al., 2011) que ocorreram na musculatura desses hospedeiros. Abdel-Ghaffar et al. (2016) também observou cistos macroscópicos de *Kudoa pagrusi* que infectavam fortemente as diferentes partes dos músculos cardíacos de *Pagrus pagrus*. Porém, na maioria, a infecção é subclínica e os cistos não são detectados a olho nu; assim, os peixes infectados são consumidos e os vários esporos

dentro da carne passam despercebidos (YOKOYAMA; ITOH, 2005; WHIPPS; KENT, 2006; SCHMIDT-POSTHAUS et al., 2012). Neste estudo, os cistos não eram visíveis no músculo esquelético de *B. surinamensis*; e sim observados somente quando os tecidos musculares foram comprimidos entre lâmina e lamínula sob um microscópio de luz, corroborando com as observações de Shirakashi et al. (2014), na espécie *Calotomus japonicus*.

As seções histológicas do tecido muscular mostraram que o parasito se desenvolveu intracelularmente nas miofibrilas (Figuras 26A), localizados centralmente e envolvidos por uma fina membrana que separava os esporos maduros do músculo hospedeiro. Verificou-se a presença de infecções individuais quando a formação cística era observada dentro de uma única fibra muscular (Figura 26B), ou, múltiplas, quando dois ou mais cistos, se desenvolviam dentro da mesma fibra (Figura 26C).

Figura 26 - Fotomicrografia de luz: A) corte histológico longitudinal da musculatura esquelética contendo cisto (*), ao longo do eixo da fibra muscular mostrando substituição pelo parasito; B) corte transversal mostrando cisto do microparasito ocupando porção central da fibra muscular (cabeça da seta) caracterizando a infecção individual; C) Infecção múltipla com cistos dentro de uma única fibra muscular, separados um do outro e do tecido muscular por uma fina membrana conjuntiva (setas) (Barras de escala: 40 µm).



Fonte: LPCA, 2019.

Na análise histológica verificou-se grande proporção da musculatura substituída por cistos de *Kudoa*, formando um anel em torno dele (MORAN et al., 1999b; KRISTMUNDSSON; FREEMAN, 2014). A presença de múltiplas infecções dentro de uma única fibra também foi descrita por Lom et al. (1983) e Moran et al. (1999c).

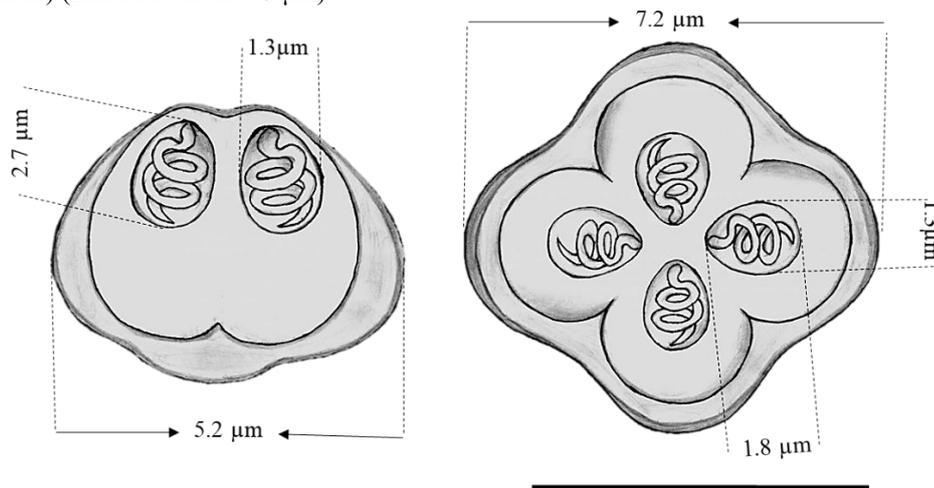
Os resultados demonstraram que, embora houvesse alterações patológicas localizadas, nenhum efeito na fisiologia ou comportamento do peixe foi detectada. A resposta do hospedeiro varia muito entre as espécies de *Kudoa*, incluindo infiltração substancial de células inflamatórias e formação de granuloma, ou em outras situações, sem nenhuma resposta do

hospedeiro observada (WHITAKER et al., 1996; CASAL et al., 2008; DYKOVÁ et al., 2009).

Algumas espécies de kudoides são agentes patogênicos importantes nas pescarias comerciais e na aquicultura, devido à sua patologia no hospedeiro como *Kudoa yasunagai* que infecta o cérebro, causador de 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* que é o agente causador de intoxicação alimentar (KAWAI et al., 2012). Essas patologias estão associadas a redução da comercialização do pescado na indústria da pesca (DAVIES et al., 1998; WHIPPS et al., 2003; HADFIELD, 2014).

Os dados morfométricos dos esporos de *K. viseuensis* apresentavam $7,15 \pm 0,20 \mu\text{m}$ de comprimento e $5,22 \pm 0,16 \mu\text{m}$ de largura (Figura 27). Na visão apical, as cápsulas polares mediam $1,81 \pm 0,15 \mu\text{m}$ de comprimento e $1,33 \pm 0,12 \mu\text{m}$ de largura. Quando observado lateralmente, verificou-se comprimento de $2,65 \pm 0,21 \mu\text{m}$ e largura de $1,26 \pm 0,12 \mu\text{m}$. A Tabela 3, apresenta as medições dos comprimento e largura dos esporos, de cápsulas polares de espécies de *Kudoa* e o formato dos esporos em comparação com os dados do presente estudo.

Figura 27 - Desenho esquemático de um esporo de *Kudoa viseuensis* n. sp. em vista apical (direita) e vista lateral (esquerda) (Barra de escala = $5 \mu\text{m}$).



Por meio das comparações morfológicas verificou-se que os esporos pseudoquadrados de *K. viseuensis* são claramente menores do que os de *K. pleurogrammi*, *K. paraquadricornis*, *K. quadricornis* e *K. alliaria* (WHIPPS; DIGGLES, 2006; BURGER; ADLARD, 2010; KASAI et al., 2016), embora outras espécies se enquadrem nas faixas morfométricas da

Tabela 3 - Medições de esporos para *K. viseuensis*, e espécies relacionadas com dimensões médias (μm), desvio padrão e intervalo entre parênteses relacionados com músculos infectados.

Espécie/autor	Hospedeiro	Esporo (μm)		Cápsulas (μm)				Forma do esporo
		Larg	Comp	Larg (L*)	Comp (L*)	Larg (A*)	Comp (A*)	
Este estudo	<i>Batrachoides surinamensis</i>	5,2 \pm 0,2 (5,1-5,4)	7,1 \pm 0,2 (6,9-7,4)	1,3 \pm 0,1 (1,1-1,4)	2,6 \pm 0,2 (2,4-2,9)	1,3 \pm 0,1 (1,1-1,5)	1,8 \pm 0,1 (1,6-2,0)	Pseudo-quadrado
<i>K. orbicularis</i> (AZEVEDO et al., 2016)	<i>Chaetobranchopsis orbicularis</i>	5,1 (4,2-5,8)	4,3 (3,6-5,0)	ND	2,1 (1,7-2,6)	1,3 (0,9-1,7)	ND	Quadrado arredondado
<i>K. pleurogrammi</i> (KASAI et al., 2016)	<i>Pleurogrammus monopterygius</i>	8,6 (8,2-9,1)	6,3 (5,6-6,8)	ND	2,8 (2,7-2,8)	1,6 (1,4-2,0)	ND	Subquadrado
<i>K. rayformis</i> (SHIN et al., 2016)	<i>Scomberomorus sierra</i>	5,0 \pm 0,3 (4,6-5,7)	5,4 \pm 0,2 (5,0-5,7)	1,7 \pm 0,2 (1,4-2,0)	2,3 \pm 0,2 (1,9-2,6)	1,9 \pm 0,2 (1,5-2,5)	1,9 \pm 0,3 (1,5-2,6)	Subquadrado
<i>K. islandica</i> (KRISTMUNDSSON; FREEMAN, 2014)	<i>Cyclopterus lumpus</i>	7,4 (6,5-8,6)	4,8 (4,1-5,1)	ND	1,7 (1,4-1,9)	1,5 (1,2-1,8)	ND	Pseudo-quadrado
<i>K. paraquadricornis</i> (BURGER; ADLARD, 2010)	<i>Caranx ignobilis</i>	7,8 \pm 0,2 (7,3-8,2)	8,0 \pm 0,2 (7,6-8,5)	1,6 \pm 0,1 (1,3-1,7)	4,2 \pm 0,2 (3,7-4,5)	1,7 \pm 0,1 (1,5-1,8)	1,9 \pm 0,1 (1,9-2,1)	Subquadrado
<i>K. quadricornis</i> (BURGER; ADLARD, 2010)	<i>Carangoides fulvoguttatus</i>	7,8 \pm 0,3 (7,2-8,3)	8,4 \pm 0,3 (7,9-9,0)	1,5 \pm 0,1 (1,4-1,8)	4,3 \pm 0,2 (3,8-4,6)	1,7 \pm 0,1 (1,5-1,8)	2,0 \pm 0,1 (1,9-2,2)	Subquadrado
<i>K. inornata</i> (DYKOVÁ et al., 2009)	<i>Cynoscion nebulosus</i>	5,9 (5,8-6,0)	5,4 (5,3-5,5)	ND	2,7	ND	ND	Pseudo-quadrado
<i>K. aliaria</i> (WHIPPS; DIGGLES, 2006)	<i>Macruronus magellanicus</i>	8,5 (7,8-9,2)	6,3 (5,8-6,9)	ND	2,6 (2,3-2,8)	1,6 (1,4-1,9)	ND	Pseudo-quadrado
<i>K. rosenbuschi</i> (ABOLLO et al., 2005)	<i>Merluccius hubbsi</i>	4,5 (4,2-4,8)	3,21 (2,8-3,6)	ND	ND	ND	ND	Pseudo-quadrado
<i>K. paniformis</i> (HERVIO et al., 1997)	<i>Merluccius Productus</i>	5,9 (5,0-6,5)	5,0 (4,5-6,0)	ND	2,0 (1,9-2,4)	1,6 (1,4-1,9)	ND	Pseudo-quadrado

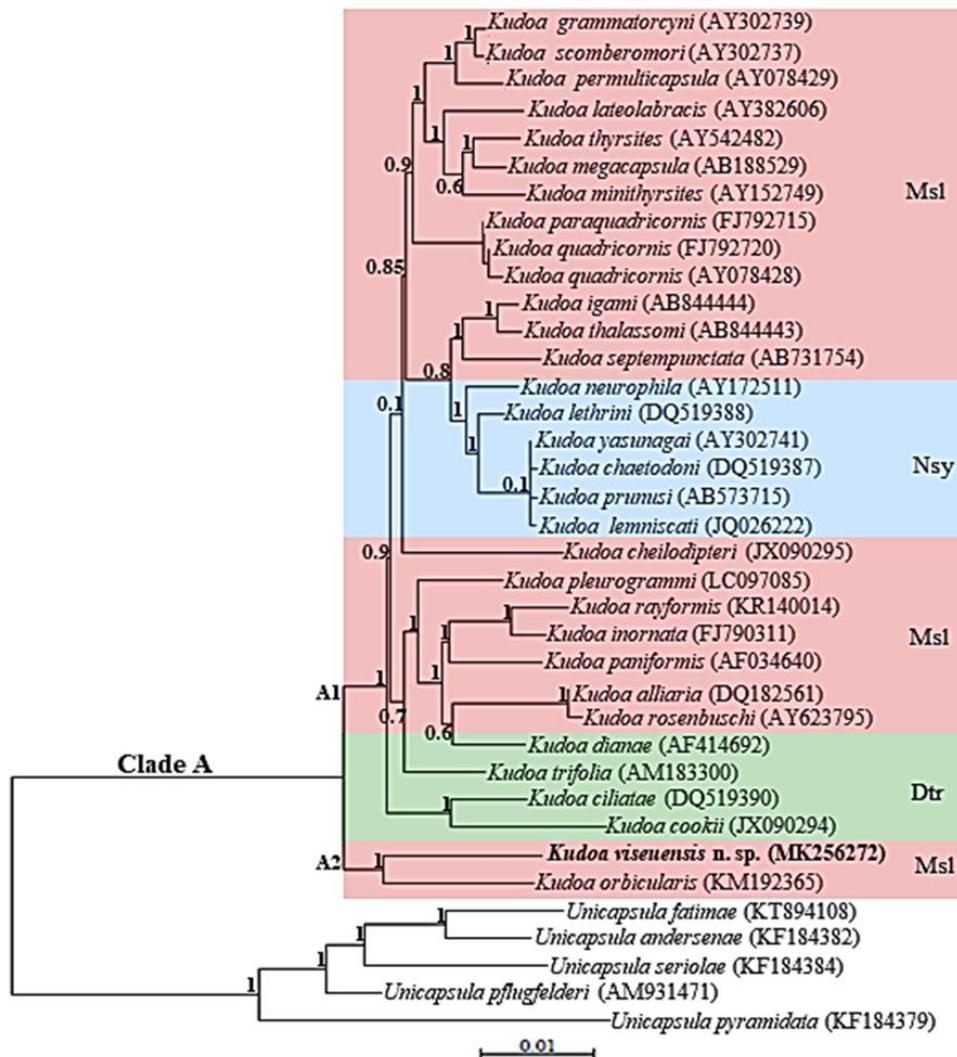
ND- Não disponível; L*-Lateral; A*- Apical.

espécie atual, apresentando características semelhantes como *K. orbicularis* e *K. rayformis* em relação a largura do esporo e da cápsula polar, diferindo das outras medidas esporais (AZEVEDO et al., 2016; SHIN et al., 2016). Quando comparado as dimensões dos esporos com *K. rosenbuschi* a presente espécie mostrou tamanho superior (ABOLLO et al., 2005).

A prevalência parasitária de 86% foi inferior as taxas de infecção observadas de 100% por *Kudoa* spp. em *Plagioscion squamosissimus* (OLIVEIRA et al., 2015) e 91% de *K. inornata* em *Cynoscion nebulosus* (DYKOVÁ et al., 2009).

Uma sequência parcial com 1400 pares de base (bps) referente ao gene SSU rDNA foi obtida a partir do sequenciamento dos esporos de *K. viseuensis* n. sp. encontrados na musculatura de *B. surinamensis*. Esta sequência foi depositada no Genbank com números de acesso MK256272 (Figura 28).

Figura 28 - Árvore filogenética gerada pela inferência bayesiana (BI), das sequências do gene rDNA parcial SSU alinhadas de *K. viseuensis* n. sp. e myxosporeans relacionados. Os números de acesso do GenBank são mostrados ao lado dos nomes das espécies. Os números nos nós são os valores de probabilidade posteriores calculados pela BI. A nova espécie é destacada em negrito. Msl - músculos; Sid - sistema digestivo; Sin - sistema nervoso.



A árvore filogenética gerada a partir da Inferência Baiesiana formou um grande clado, denominado A, composto por espécies do gênero *Kudoa*, este se subdividiu em dois cladogramas com elevado suporte nodal. (Posterior Probabilidade), denominados A1 e A2, onde a formação de ambos foi fortemente influenciada pelo tropismo tecidual dos parasitos, sendo que *K. viseuensis* n. sp. se agrupou no subclado A2. O clado A1 é composto por *Kudoa* spp., que parasitam a musculatura, cérebro e intestino de peixes. No clado A2, que é basal ao clado A1, se encontra *K. viseuensis* n. sp., que parasita a musculatura do peixe marinho *B. surinamensis*, se agrupou com a espécie *K. orbicularis* (AZEVEDO et al., 2016), um parasita da musculatura do peixe de água doce *Chaetobranchopsis orbicularis*. *K. orbicularis* se comportou como a espécie irmã de *K. viseuensis* n. sp., sendo que ambas as espécies, além de possuírem o mesmo sitio de infecção pertencem a mesma região geográfica.

O outgroup é composto por espécies do gênero *Unicapsula* Davis, 1924, um membro da ordem Multivalvulida Shulman, 1959, encontrados infectando musculatura dos seus hospedeiros.

No agrupamento de mixosporídios, o tropismo tecidual é bem evidenciado pelos kudoides (FIALA, 2006). Na árvore filogenética gerada pela inferência bayesiana (BI), das sequências do gene rDNA parcial SSU observamos o parentesco de espécies de *Kudoa* infectando a musculatura com aqueles que infectam o sistema nervoso como *Kudoa neurophila* (GROSSEL et al., 2005), *Kudoa yasunagai* (WHIPPS et al., 2004), *Kudoa prunusi* (MENG et al., 2011), *Kudoa lemniscati* (MILLER; ADLARD, 2012), *Kudoa chaetodoni* e *Kudoa lethrini* (BURGER et al., 2007); e no sistema digestivo temos *Kudoa trifolia* (HOLZER et al., 2006), *Kudoa ciliatae* (BURGER et al., 2007), *Kudoa cookii* (HEINIGER et al., 2013) e *Kudoa diana* (DYKOVÁ et al., 2002), sendo que os *Kudoa* spp. que infectam apenas os músculos esqueléticos, se distribuíam em diferentes cladogramas nos principais grupos de *Kudoa*.

Um novo alinhamento for the pairwise comparisons foi realizado somente com algumas espécies de *Kudoa* spp (Tabela 4). Para a mínima e máxima distância genética (p) entre as sequências obtidas em relação a espécie nova foram respectivamente de 3.9% para *K. orbicularis* (KM192365) e 4.9% para *K. rosenbuschi* (AY623795).

Tabela 4 - Distância genética (p) de algumas espécies de *Kudoa* spp. que infectam tecido muscular, mostrando os acessos do Genbank após o nome da espécie.

Espécies (número de acesso)	1	2	3	4	5	6	7
1 <i>K. viseuensis</i> n. sp. (MK256272)	-						
2 <i>K. orbicularis</i> (KM192365)	0.0360	-					
3 <i>K. pleurogrammi</i> (LC097085)	0.0360	0.0360	-				
4 <i>K. paraquadricornis</i> (FJ792715)	0.0360	0.0382	0.0211	-			
5 <i>K. quadricornis</i> (AY078428)	0.0382	0.0405	0.0234	0.0022	-		
6 <i>K. rayformis</i> (KR140014)	0.0420	0.0390	0.0271	0.0315	0.0338	-	
7 <i>K. inornata</i> (FJ790311)	0.0420	0.0427	0.0241	0.0278	0.0300	0.0116	-
8 <i>K. rosenbuschi</i> (AY623795)	0.0495	0.0480	0.0293	0.0352	0.0375	0.0352	0.0315

O resultado do presente estudo sustenta a teoria das relações biogeográficas, visto que a nova espécie exibe uma estreita relação com espécies morfologicamente semelhantes de *Kudoa*, sendo que ficou filogeneticamente mais próxima de *K. orbicularis* infectando o mesmo tecido dentro de seus hospedeiros, em um clado bem suportado, pois são pertencentes a mesma região geográfica, a Bacia Amazônica. Esta é a primeira espécie de Kudoidae com dados moleculares descrita em águas estuarinas brasileiras.

5.5 Análise dos parâmetros abióticos da água

Na análise das variáveis abióticas da água foram avaliadas as variações para os períodos mais chuvoso e menos chuvoso. Por meio das análises obteve-se as seguintes médias: temperatura de 26,5 °C, pH com 7,09; oxigênio dissolvido com 4,82 mg/L e a salinidade apresentou valores de 15,4. Verificou-se que a pluviosidade é a principal responsável por determina o teor de salinidade no estuário, corroborando com os trabalhos de Rosa Filho e Aviz (2013).

Os dados de prevalência parasitária foram avaliados com o intuito de identificar possíveis variações com relação a sazonalidade. Assim sendo, constatou-se que a prevalência dos mixosporídios em *B. surinamensis* foi significativa, pois a espécie *Kudoa viseuensis* n. sp. (Apêndice) na musculatura ocorreu em todo período de estudo, assim como *Ellipsomyxa* sp. que apareceu na vesícula biliar em quase todos os meses estudados com exceção das coletas realizadas nos meses de junho de 2017 e 2018. Já o mixosporídio não identificado infectando a bexiga urinária foram encontrados principalmente nos períodos secos, porém sua presença foi constatada nos meses de fevereiro de 2017 e 2018. Na espécie *M. americanus* houve a presença de xenomas de *Microsporidium* sp. apenas em períodos de estiagem referente aos

meses de agosto a outubro de 2017 e 2018. Desse modo observou-se que as taxas de infecção para determinados parasitos foram influenciadas pelos períodos chuvosos e os de estiagem.

Para Tavares-Dias et al. (2000) a ocorrência de multiparasitismo pode estar relacionado em maior ou menor grau aos efeitos dos fatores abióticos como a temperatura, o oxigênio dissolvido e a salinidade em conjunto com os fatores bióticos.

O desempenho do hospedeiro e do parasito em resposta aos gradientes ambientais podem ser um importante preditor geral de como os hospedeiros responderão fisiologicamente às mudanças ambientais (GEHMAN et al., 2018). Essas respostas podem influenciar profundamente a dinâmica populacional e as interações entre espécies de população hospedeira (LAINE, 2008; SCHOEBEL et al., 2011; DONEY et al., 2012). A quantificação da sensibilidade ao ambiente em características de hospedeiros e seus parasitos é particularmente importante pois pode alterar a disseminação e transmissão de doenças infecciosas, incluindo aquelas de preocupação de saúde pública (GEHMAN et al., 2018).

A temperatura, por exemplo, é conhecida por influenciar o desempenho do hospedeiro infectado por patógenos prejudicando o comportamento do hospedeiro de modo que alteram seu risco de exposição a patógenos (SMALL; COHEN, 2004; SAINO et al., 2007). Os regimes de temperatura no parasitismo podem diminuir ou aumentar, e ainda influenciar diferencialmente os processos de desempenho de parasitos e hospedeiros, como reprodução e a sobrevivência (LAFFERTY; HOLT, 2003; GEHMAN et al., 2018).

6 CONCLUSÃO

No levantamento parasitológico foram diagnosticados dois gêneros pertencentes ao Filo Cnidaria (Subfilo Myxozoa) e um pertencente ao Filo Microsporidia.

A presente investigação indicou multiparasitismo apenas em *B. surinamensis* onde foram encontrados os microparasitos como *Ellipsomyxa* sp. na vesícula biliar com 56% de prevalência, um mixosporídio não identificado infectando a bexiga urinária com prevalência de 48%, e caracterizou-se uma nova espécie pertencente ao gênero *Kudoa* (*Kudoa viseuensis* n. sp.) por meio de dados morfológicos e moleculares infectando a musculatura esquelética com prevalência parasitária de 86%.

Na espécie *M. americanus* houve a presença de esporos de *Microsporidium* sp. pertencentes ao filo Microsporidia com 20% de prevalência que acarretaram ao hospedeiro autólise e conseqüentemente destruição das células locais do revestimento gástrico.

As infecções apresentadas por essas espécies de mixosporídios e microsporídios ainda não haviam sido descritas na literatura para esses dois peixes alvos. Entretanto, carecem de estudos mais detalhados em microscopia eletrônica de transmissão e varredura, e de biologia molecular, para a confirmação das espécies parasitárias.

Assim, esses peixes estudados constituem um grupo de hospedeiros de grande importância para as pesquisas sobre microparasitos eucariotos nas regiões de estuário na Amazônia. Dessa forma os resultados deste trabalho contribuem para o conhecimento do estado sanitário de *B. surinamensis* e *M. americanus* frequentes nas pescarias artesanais realizadas no estuário do município de Viseu-Pará, e evidenciamos a necessidade de se intensificar o estudo da diversidade e do potencial patogênico destes parasitos da ictiofauna amazônica.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-GHAFFAR, F.; EL-TOUKHY, A.; AL-QURAIHY, S.; AL-RASHEID, K.; ABDEL-BAKI, A.; HEGAZY, A.; BASHTAR, A. R. Five new myxosporean species (Myxozoa: Myxosporea) infecting the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* in Bahr Shebin, Nile Tributary, Nile Delta, Egypt. **Parasitology Research**, v. 103, p. 1197-1205. 2008.
- ABDEL-GHAFFAR, F.; MORSY, K.; MEHLHORN, H.; BASHTAR, A. First report of *Kudoa* species (Myxozoa: Kudoidae) infecting the spotted coral grouper *Plectropomus maculatus* from the Red Sea. A light and ultrastructural study. **Parasitology Research**, v. 111, n. 4, p. 1579-1585. 2012.
- ABDEL-GHAFFAR, F.; ABDEL-GABER, R.; MAHER, S.; AL QURAIHY, S.; MEHLHORN, H. Morphological re-description and molecular characterization of *Kudoa pagrusi* (Myxosporea: Multivalvulida) infecting the heart muscles of the common sea bream fish *Pagrus pagrus* (Perciformes: Sparidae) from the Red Sea, Egypt. **Parasitology Research**, v. 15, n. 8, p. 3175-3184. 2016.
- ABOLLO, E.; NOVOA, B.; FIGUERAS, A. SSU rDNA analysis of *Kudoa rosenbuschi* (Myxosporea) from the Argentinean hake *Merluccius hubbsi*. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 64, p. 135-139. 2005.
- 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.
- ALMEIDA, H. G.; COSTA, E. J. S. **Situação do Espaço Municipal de Viseu**. Programa de Integração Mineral em Municípios da Amazônia. Belém: Primaz, 1997.
- 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.
- AVISE, J. C. **Molecular markers, natural history, and evolution**. 2. ed. Sunderland (Massachusetts): Sinauer Associates, 2004. 684 p.
- 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 of fish Diseases**, v.18, p. 475-79. 1995.
- AZEVEDO, C.; MATOS, E. *Henneguya malabarica* sp. nov. (Myxozoa, Myxobolidae) in the Amazonian *Hoplias malabaricus*. **Parasitology Research**, v. 82, p. 222-224. 1996.
- 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. *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. 2003.

AZEVEDO, C.; CASAL, G.; MATOS, P.; MATOS, E. A New Species of Myxozoa, *Henneguya rondoni* n. sp. (Myxozoa), from the Peripheral Nervous System of the Amazonian Fish, *Gymnorhamphichthys rondoni* (Teleostei). **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 55, n.3, p. 229-234. 2008.

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**, v. 56, p. 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**, v. 60, n. 5, 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. (Myxosporaea: 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.

BARLETTA-BERGAN, A.; BARLETTA, M.; SAINT-PAUL, U. Structure and Seasonal Dynamics of Larval Fish in the Caeté River Estuary in North Brazil. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 54, n. 2, p. 193-206. 2002.

BARTHOLOMEW, J. L.; ATKINSON, S. D.; HALLETT, S. L.; LOWENSTINE, L. J.; GARNER, M. M.; GARDINER, C. H.; RIDEOUT, B. A.; KEEL, M. K.; BROWN, J. D. Myxozoan parasitism in waterfowl. **International Journal for Parasitology**, v. 38, p. 1199-1207. 2008.

BÉKÉSI, L.; SZÉKELY, C; MOLNÁR, K. Atuais conhecimentos sobre Myxosporaea (Myxozoa), parasitas de peixes. Um estágio alternativo dos parasitas no Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, n. 5, p. 271-276. 2002.

BOREHAM, R. E.; HENDRICK, S.; O'DONOGHUE, P. J.; STENZEL, D. J. Incidental finding of *Myxobolus* spores (Protozoa, Myxozoa) in stool samples from patients with gastrointestinal symptoms. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, p. 3728-3730. 1998.

BRAGA, C. F.; ESPÍRITO-SANTO, R. V.; SILVA, B. B.; GIARRIZZO, T.; CASTRO, E. R. Considerações sobre a comercialização de pescado em Bragança – Pará. **Boletim Técnico-Científico do Cepnor**, v. 6, n. 1, p. 105-120. 2006.

BRAUN, A.; FONTOURA, N. Reproductive biology of *Menticirrhus littoralis* in southern Brazil (Actinopterygii: Perciformes: Sciaenidae). **Neotropical Ichthyology**, v. 2, n.1, p. 31-36. 2004.

BRUSCHI, F. L. F. **Rendimento, composição química e perfil de ácidos graxos de pescados e seus resíduos: uma comparação.** 2001. 65 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Oceanografia) - Universidade do Vale do Itajaí, 2001.

BURGER, M. A., CRIBB, T. H.; ADLARD, R. D. Patterns of relatedness in the Kudoidae with descriptions of *Kudoa chaetodoni* n. sp. and *K. lethrini* n. sp. (Myxosporea: Multivalvulida). **Parasitology**, v. 134, n. 5, p. 669-81. 2007.

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.

BURGER, M. A. A.; ADLARD, R. D. Four new species of *Kudoa* Meglitsch, 1947 (Myxosporea: Multivalvulida) from Australia with recommendations for species descriptions in the Kudoidae. **Parasitology**, v. 137, p. 793-814. 2010.

BUSH, A. O.; LAFFEHTY, K. D.; LOTZ, J. M.; SHOSTAK, A. W. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. **Journal of Parasitology**, v. 83, n. 4, p. 557-583. 1997.

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.

CANNING, E. U.; CURRY, A.; ANDERSON, C. L.; OKAMURA, B. Ultrastructure of *Myxidium trachinorum* sp. nov. from the gallbladder of the lesser weever fish *Echiichthys vipera*. **Parasitology research**, v. 85, p. 910-919. 1999.

CANNING, E. U.; FEIST, S. W.; LONGSHAW, M.; OKAMURA, B.; ANDERSON, C. L.; TSE, M. T.; CURRY, A. *Microgemma vivaresi* n. spp. (Microsporidia, Tetramicidae), infecting liver and skeletal muscle of sea scorpions, *Taurulus bubalis* (Euphrasen 1786) (Osteichthyes, Cottidae), an Inshore, littoral fish. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 52, p. 123-131, 2005.

CASAL, G. M. F. **Microsporidioses e Mixosporidioses da Ictiofauna Portuguesa e Brasileira: Caracterização Ultrastrutural e Filogenética.** Tese (Doutorado em Ciências Biomédicas) - Universidade do Porto, Portugal, 2009.

CASAL, G.; MATOS, E.; AZEVEDO, C. Ultrastructural data on the spore of *Myxobolus maculatus* n. sp. (phylum Myxozoa), parasite from the Amazonian fish *Metynnus maculatus* (Teleostei). **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 51, p. 107-112. 2002.

CASAL, G.; MATOS, E.; AZEVEDO, C. A new myxozoan parasite from the amazonian fish *Metynnus argenteus* (Teleostei, Characidae): light and electron microscope observations. **Journal Parasitology**, v. 92, n. 4, p. 817-821. 2006.

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-ocular musculature of *Aequidens plagiozonatus* (Teleostei) from the Amazon River. **Acta Protozoologica**, v. 47, p. 135-141. 2008.

CASAL, G.; MATOS, E.; TELES-GRILO, 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.; MATOS, E.; TELES-GRILO, 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, n. 5, p. 1261-1271. 2009.

CASAL, G.; MATOS, E.; TELES-GRILO, 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-QURAIHY, S.; AZEVEDO, C. Ultrastructure and Phylogeny of *Pleistophora beebei* sp. nov. (Microsporidia) Infecting the Amazonian Teleostean *Brachyhypopomus beebei* (fam. Hypopomidae). **Acta Protozoologica**, v. 55, n. 4, p. 259-268. 2016.

CASTILLO, V.R.A. **Estudo sobre a biologia e ciclo de vida de *Menticirrhus americanus* (Linnaeus, 1758) Ubatuba 23°30'S 25°5'S**. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Biológica Oceanográfica) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1986.

CAVALIER-SMITH, T. Kingdom Protozoa and Its 18 Phyla. **Microbiological Reviews**, v. 4, n. 57, p. 953-994. 1993.

CAVALIER-SMITH, T. Only six kingdoms of life. **Proceedings biological sciences**, v. 271, p. 1251-1262. 2004.

CHANG, E. S.; NEUHOF, MORAN.; RUBINSTEIN, N. D.; DIAMANT, A.; PHILIPPE, H.; HUCHON, D.; CARTWRIGHT, P. Genomic insights into the evolutionary origin of Myxozoa within Cnidaria. **Proceedings of the National Academy of Science**. v. 112, n. 48, p. 14912-14917. 2015.

CHAVES, P. T. C., COVA-GRANDO, G.; CALLUF, C. C. H. Demersal ichthyofauna in a continental shelf region on the south coast of Brazil exposed to shrimp trawl fisheries. **Acta Biológica Paranaense**, v. 32, p. 69-82. 2003.

COELHO, J. A. P., PUZZI, A., GRAÇA-LOPES, R., RODRIGUES, E. S.; PRETO-JR, O. Análise da rejeição de peixes na pesca artesanal dirigida ao camarão sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) no litoral do estado de São Paulo. **Boletim do Instituto de Pesca São Paulo**, v. 13, n. 2, p. 51-61. 1986.

COLLINS, A. G. Recent insights into cnidarian phylogeny. In: Lang, MA et al Proceedings of the smithsonian marine science symposium. **Smithsonian Contributions to the Marine Sciences**, v. 38, p. 139-149. 2009.

DESPORTES, I.; LE CHARPENTIER, Y.; GALIAN, A.; BERNARD, F.; COCHAND-PRIOLETT, B.; LAVERGNE, A.; RAVISSE, P.; MODIGLIANI, R. Occurrence of a new microsporidian *Enterocytozoon bienewisi* n. g., n. sp., in the enterocytes of a human patient with AIDS. **The Journal of Protozoology**, v. 32, p. 250-254. 1985.

DAVIES, A. J.; ANDREWS, T.; UPTON, N. P. D.; MATTHEWS, R. A. *Kudoa* as a contributory cause of muscle necrosis in gobies. **Bulletin of the European Association of Fish Pathologists**, v. 18, p. 62-66. 1998.

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.

DIDIER, E. S. Microsporidiosis: An emerging and opportunistic infection in humans and animals. **Acta Tropica**, v. 94, p. 61-76. 2005.

DIDIER, E.S.; WEISS, L. M. Microsporidiosis: current status. **Current Opinion in Infectious Diseases**, n. 19, p. 485-492. 2006.

DONEY, S. C.; RUCKELSHAUS, M.; DUFFY, J. E.; BARRY, J. P.; CHAN, F.; ENGLISH, C. A.; GALINDO, H. M.; GREBMEIER, J. M.; HOLLOWED, A. B.; KNOWLTON, N.; POLOVINA, J.; RABALAIS, N. N.; SYDEMAN, W. J.; TALLEY, L. D. Climate change impacts on marine ecosystems. **Annual Review of Marine Science**, v. 4, p.11-37. 2012.

DYKOVÁ, I.; FAJER AVILA, E. J.; FIALA, I. *Kudoa diana* sp. n. (Myxosporea: Multivalvulida), a new parasite of bullseye puffer, *Sphoeroides annulatus* (Tetraodontiformes: Tetraodontidae). **Folia Parasitologica** (Praha), v. 49, n. 1, p. 17-23. 2002.

DYKOVÁ, I.; TYML, T.; FIALA, I.; LOM, J. New data on *Soricimyxum fegati* (Myxozoa) including analysis of its phylogenetic position inferred from the SSU rRNA gene sequence. **Folia Parasitologica**, v. 54, p. 272-276. 2007.

DYKOVÁ, I.; BURON, I.; FIALA, I.; ROUMILLAT, W. A. *Kudoa inornata* sp. n. (Myxosporea: Multivalvulida) from the skeletal muscles of *Cynoscion nebulosus* (Teleostei: Sciaenidae). **Folia Parasitologica**, v. 56, n. 2, p. 91-98. 2009.

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

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.

EL-MATBOULI, M., FISCHER-SCHERL, T.; HOFFMANN, R.W. Present knowledge on the life cycle, taxonomy, pathology, and therapy of some Myxosporea spp. important for freshwater fish. **Annual Review of Fish Diseases**, v. 3, n. 2, p. 367-402. 1992.

ESPÍRITO-SANTO, R.V.; ISAAC, V.J.; SILVA, L.M.A.; MARTINELLI, J.M.; HIGUCHI, H.; PAUL, U.S. Peixes e camarões do litoral bragantino, Pará, Brasil. Belém: **Programa Madam, Manejo e Dinâmica de Áreas de Manguezais**, v.1, p. 1-268. 2005.

ESZTERBAUER, E. Genetic relationship among gill-infecting *Myxobolus* species (Myxosporidia) of cyprinids: molecular evidence of importance of tissue-specificity. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 58, p. 35-40. 2004.

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.

FIALA, I. The phylogeny of Myxosporidia (Myxozoa) based on small subunit ribosomal RNA gene analysis. **International Journal for Parasitology**, v. 36, p. 1521-1534. 2006.

FIALA, I.; BARTOŠOVÁ-SOJKOVÁ, P.; WHIPPS, C. M. Classification and Phylogenetics of Myxozoa. In: **Myxozoan Evolution, Ecology and Development**. Springer International Publishing. Switzerland, 2015. p. 85-110.

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.

FONSECA, A. F.; SOUZA, R. A. L. Caracterização ecológica de algumas espécies da fauna acompanhante do camarão capturado com puçá de arrasto na zona estuarina do Rio Taperaçu (Bragança-Pa-Brasil). **Boletim Técnico-Científico do Cepnor**, v. 6, n. 1, p. 33-47. 2006.

FONTELES FILHO, A. A. **Oceanografia, Biologia e Dinâmica Populacional de Recursos Pesqueiros**. 1. ed. Fortaleza: Expressão gráfica e Editora, 2011. 464 p.

FRANZEN, C. Microsporidia: A Review of 150 Years of Research. **The Open Parasitology Journal**, v. 2, p. 1-34. 2008.

FRANZEN, C.; MÜLLER, A. Molecular techniques for detection, species differentiation, and phylogenetic analysis of microsporidia. **Clinical Microbiology Review**, v. 12, p. 243-285. 1999.

FREITAS, M. O.; SPACH, H. L.; HOSTIM-SILVA, M. Variação espaço-temporal da assembléia de peixes demersais em uma área de pesca do camarão sete-barbas no sul do Brasil. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 6, n. 1, p. 44-54. 2011.

FREIRE, J. L.; SILVA, B. B.; SOUZA, A. S. Aspectos Econômicos e Higiênico-Sanitários da Comercialização do Pescado no Município de Bragança (PA). **Biota Amazônia**, v. 1, n. 2, p.17-28. 2011.

FURTADO, L. G. **Curralistas e redeiros de Marudá: pescadores do Litoral do Pará**. Belém: MPEG, 1987. 387 p.

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.

GIBBONS, L. **SEM Guide to the Morphology of Nematode Parasites of Vertebrates**. United Kingdom: Cab. International, 1986. 199 p.

GONZÁLEZ, C. E.; HAMANN, M. I.; SALGADO, C. **Study of Helminth Parasites of Amphibians by Scanning Electron Microscopy**. Scanning Electron Microscopy. Viacheslav Kazmiruk: IntechOpen, 2012.

GROSSEL, G.; HANDLINGER, J.; BATTAGLENE, S.; MUNDAY, B. Diagnostic polymerase chain reaction assay to detect *Kudoa neurophila* (Myxozoa: Multivalvulida) in a marine finfish hatchery. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 64, p. 141-149. 2005.

HADFIELD, C. A.; POYNTON, S. L.; CLAYTON, L. A.; ROMERO, J. L.; MONTALI, R. J. *Kudoa* sp. (Myxozoa: multivalvulida) in skeletal muscle of captive bullnose eagle rays, *Myliobatis freminvillei* (rajiformes: myliobatidae). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 45, n. 4, p. 896-905. 2014.

HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, v. 41, p. 95-98. 1999.

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.

HALUCH, C. F.; ABILHOA, V.; FREITAS, M. O.; CORRÊA, M.F.M.; HOSTIM-SILVA, M. Estrutura populacional e biologia reprodutiva de *Menticirrhus americanus* (Linnaeus, 1758) (Teleostei, Sciaenidae) na baía de Ubatuba- Enseada, Santa Catarina, Brasil. **Biotemas**, v. 24, p. 47-59. 2011.

HAYAKAWA, E. H.; MATSUOKA, H. Detailed methodology for high resolution scanning electron microscopy (SEM) of murine malaria parasitized-erythrocytes. **Parasitology International**, v. 65, p. 539-544. 2016.

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

HEINIGER, H.; CRIBB, T. H; ADLARD, R. D. Intra-specific variation of *Kudoa* spp. (Myxosporea: Multivalvulida) from apogonid fishes (Perciformes), including the description of two new species, *K. cheilodipteri* n. sp. and *K. cookii* n. sp., from Australian waters. **Systematic Parasitology**, v. 84, p. 193-215. 2013.

HERVIO, D. M. L.; KHATTRA, J. DEVLIN, R. H.; KENT, M. L.; SAKANARI, J.; YOKOYAMA, H. Taxonomy of *Kudoa* species (Myxosporea), using a small-subunit ribosomal DNA sequence. **Canadian Journal of Zoology**, v. 75, n. 12, p. 2112-2119. 1997.

HOLZER, A. S.; BLASCO-COSTA, I.; SARABEEV, V. L.; OVCHARENKO, M. O.; BALBUENA, J. A. *Kudoa trifolia* sp. n. - molecular phylogeny suggests a new spore morphology and unusual tissue location for a well-known genus. **Journal of Fish Diseases**, v. 29, n. 12, p.743-55. 2006.

HILLIS, D. M.; DIXON, M. T. Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. **The Quarterly Review of Biology**, v. 66, n.4, p. 411-453. 1991.

HIRSCHMANN, H. Scanning Electron Microscopy as a Tool in Nematode Taxonomy. In: STONE, A.; PLATT, H.; KHALIL, L. **Concepts in Nematode Systematics**. New York: Academic Press, 1983. p. 95-111.

HURTREZ-BOUSSÈS, S.; MEUNIER, C.; DURAND, P.; RENAUD, F. Dynamics of host–parasite interactions: the example of population biology of the liver fluke (*Fasciola hepatica*). **Microbes and Infection**, v. 3, p. 841-849. 2001.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Brasil/ Pará/ Viseu**. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pa/viseu/pesquisa/22/28120>>. Acesso em: 11 de out. 2017.

ICMBio–Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. **Atlas dos Manguezais do Brasil**. Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, 2018. 176 p.

ITIS - Integrated Taxonomic Information System. Disponível em: <<https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt#null>>. Acesso em: 26 de out. 2017.

IUCN - International Union for Conservation of Nature 2010. ***Batrachoides surinamensis***. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2016-3. Disponível em:<<http://www.iucnredlist.org/search>>. Acesso em: 14 de mar. 2017.

IUCN - International Union for Conservation of Nature 2015. ***Menticirrhus americanus***. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2017-2. Disponível em: <<http://maps.iucnredlist.org/map.html?id=195075>>. Acesso em: 30 de out. 2017.

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.

JURINE, L. L. Histoire des poissons du Lac Léman. **Société de Physique et d'histoire Naturelle de Genève**, v. 3, p. 133-235. 1825.

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

KASAI, A.; SETSUDA, A.; SATO, H. Morphological and genetic characterization of *Kudoa whippsi* (Myxosporaea: Multivalvulida) from *Cheilodactylus zonatus* in the western Pacific Ocean off Japan, and two new *Kudoa* spp. (*K. akihitoi* n. sp. and *K. empessmichikoe* n. sp.) from *Acanthogobius hasta* in the Sea of Ariake, Japan. **Parasitology Research**, v. 116, p. 647-659. 2017.

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.; ELMATBOULI, 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 of Eukaryotic Microbiology**, v. 48, n.4, p. 395-413. 2001.

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**. 3. ed. Jundiaí: Degaspari, 1999.

KUBITZA, F.; KUBITZA, L. M. M. Qualidade da água, sistemas de cultivo, planejamento da produção, manejo nutricional e alimentar e sanidade. **Panorama da Aquicultura**, v. 10, n. 60. 2000.

LAINE, L. Temperature-mediated patterns of local adaptation in a natural plant–pathogen metapopulation. **Ecology Letters**, v.11, n. 4, p. 327-337. 2008.

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.

LESSA, R.; NÓBREGA, M. F. **Guia de Identificação de Peixes Marinhos da Região Nordeste**. Recife: Programa REVIZEE / SCORE-NE, 2000. 138 p.

LIMA, O. A. A. et al. Estudo socioeconômico das áreas de terra firme e praias de Viseu-PA. In: _____. **IBAMA/CNPT**, v. 1, p. 73-229. 2001.

LOM, J. A catalogue of described genera and species of microsporidians parasitic in fish. **Systematic Parasitology**, v. 53, p. 81-99. 2002.

- LOM, J. Microsporidia. In: EIRAS, J.; SEGNER, H.; WAHLI, T.H.; KAPOOR, B.G. **Fish Diseases**. Science Publishers Phymouth, v. 1, p. 351-395. 2008.
- LOM, J., ARTHUR, J.R. A guideline for the preparation of species descriptions in Myxosporea. **Journal of Fish Diseases**, v. 12, n. 2, p. 151-156. 1989.
- 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. Microsporidian xenomas in fish seen in wider perspective. **Folia Parasitologica**, v. 52, p. 69-81. 2005.
- LOM, J.; DYKOVÁ, I. Myxozoan genera: definition and notes on taxonomy, life-cycle terminology and pathogenic species. **Folia Parasitologica**, v. 53, p. 1-36. 2006.
- LOM, J.; DYKOVÁ, I.; LHOTÁKOVÁ, S. *Kudoa lunata* n. sp. (Myxozoa, Myxosporea) and notes on the nature of muscular "cysts" of the genus *Kudoa*. **Archiv für Protistenkunde**, v. 127, n. 4, p. 387-397. 1983.
- LUNA, L. G. **Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. 3. ed. New York: MacGraw-Hill Book Company, 1968.
- LUQUE, J. L. Biologia, epidemiologia e controle de parasitos de peixes. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n. 1, p. 161-165. 2004.
- LUQUE, J. L.; LACERDA, A. C.; LIZAMA, M. A. P.; BELLAY, S.; TAKEMOTO, R. M. Aspectos ecológicos. In: **Parasitologia de peixes de água doce do Brasil**. Maringá: Eduem, 2013.
- 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**, v. 14, p. 355-372. 1984.
- MANESCHY, M. C. Uma presença discreta: a mulher na pesca. In:_____. D'INCÃO, M. A.; SILVEIRA, I. M. (Org.). **A Amazônia e a crise da modernidade**. Belém: MPEG, 1994. p. 251-258.
- 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-QURAI SHY, 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.
- MARKELL, E. K.; JOHN, D. T.; KROTOSKI, W. A. **Markell & Vogé's Parasitologia Médica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 476 p.

MATHIS, A. Microsporidia: emerging advances in understanding the basic biology of these unique organisms. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 7, p. 795-804. 2000.

MATHIS, A.; WEBER, R.; DEPLAZES, P. Zoonotic Potential of the Microsporidia. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 18, n. 3, p. 423-445. 2005.

MATOS, E. **Caracterização de aspectos morfológicos e ultra-estruturais do ciclo de vida de microsporídios encontrados em peixes da Região Amazônica**. 2007. 145 f. Tese (Doutorado em Neurociências e Biologia Celular) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2007.

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*. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, p. 83-99. 2001.

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

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**, v. 39, p. 95-108. 2003b.

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.; CASAL, G.; MATOS, P.; CORRAL, L.; AZEVEDO, C. 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, 2004. p. 158-178.

MATOS, E.; VIDEIRA, M.; VELASCO, M.; SANCHES, O.; SÃO CLEMENTE, S. C.; MATOS, P. Infection of the heart of *Pimelodus ornatus* (Teleostei, Pimelodidae), by *Myxobolus* sp. (Myxozoa, Myxobolidae). **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 23, n. 4, p. 543-546. 2014.

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.

MATSUKANE, Y.; SATO, H.; TANAKA, S.; KAMATA, Y.; SUGITA-KONISHI, Y. *Kudoa iwatai* and two novel *Kudoa* spp., *K. trachuri* n. sp. and *K. thunni* n. sp. (Myxosporea: Multivalvulida), from daily consumed marine fish in western Japan. **Parasitology Research**, v. 108, n. 4, p. 913-926. 2011.

MCCLELLAND, R.S.; MURPHY, D.M.; CONE, D.K. Report of spores of *Henneguya salminicola* (Myxozoa) in human stool specimens: possible source of confusion with human spermatozoa. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, n. 11, p. 2815-2818. 1997.

MELO, F. A. G.; DUTRA, E. A.; VIANA, J. Q.; ARAÚJO, T. M.; SOUZA, A. S. F.; MOURA, I. S. Projeto Pesca Solidária: guia de identificação dos peixes do estuário dos rios Timonha e Ubatuba. Parnaíba: **Sieart**, 2015. 100 p.

MENEZES, N. A.; FIGUEIREDO, J. L. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil**. IV. Teleostei. ed. 3. São Paulo: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, 1980. 96p.

MENG, F.; YOKOYAMA, H.; SHIRAKASHI, S.; GRABNER, D.; OGAWA, K.; ISHIMARU, K.; SAWADA, Y.; MURATA, O. *Kudoa prunusi* n. sp. (Myxozoa: Multivalvulida) from the brain of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* (Temminck & Schlegel, 1844) cultured in Japan. **Parasitology International**, v. 60, n.1, p. 90-6. 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. **Parasitology International**, v. 61, n. 2, p. 333-42. 2012.

MMA – Ministério do Meio Ambiente e NUPAUB/USP – **Núcleo de Pesquisas sobre Populações Humanas e Áreas Úmidas do Brasil**. Brasília/DF. 2002

MONCADA, L. I.; LÓPEZ, M. C.; MURCIA, M. I.; NICHOLLS, S.; LÉON, F.; GUÍO, O. L.; CORREDOR, A. *Myxobolus* sp., another opportunistic parasite in immunosuppressed patients? **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 5, p. 1938-1940. 2001.

MONTEALEGRE-QUIJANO, S.; BEM JR, R.; DOLCI, D.; DUMONT, L. F. Pesca e recursos pesqueiros. In: **Estudos oceanográficos: do instrumental ao prático**. Pelotas: Editora Textos, 2011.

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.

MORAN, J. D. W.; WHITAKER, D. J.; KENT, M. L. Natural and laboratory transmission of the marine myxosporean parasite *Kudoa thyrssites* (Gilchrist, 1924) to Atlantic salmon. **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 11, n. 2, p. 110-115. 1999b.

MORAN, J. D. W.; MARGOLIS, L.; WEBSTER, J. M.; KENT, M. L. Development of *Kudoa thyrssites* (Myxozoa: Myxosporea) in netpen-reared Atlantic salmon determined by light microscopy and a polymerase chain reaction. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 37, p. 185-193. 1999c.

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.

NELSON, J. S. **Fishes of the world**. 4. ed. New York, John Wiley & Sons, Inc, 2006. 601 p.

NEHRING, R. B.; WALKER, P. G. Whirling disease in the wild: The new reality in the intermountain West. **Fisheries**, v. 21, p. 28-30. 1996.

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.

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

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.

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: Myxosporea). **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 12, p. 230-240. 2000.

PRUNESCU, C. C.; PRUNESCU, P.; PUCEK, Z.; LOM, J. The first finding of myxosporean development from plasmodia to spores in terrestrial mammals: *Soricimyxum fegati* gen. et sp. n. (Myxozoa) from *Sorex araneus* (Soricomorpha). **Folia Parasitologica**, v. 54, p. 159-164. 2007.

QUARESMA, J. B. **Estudo e proposta para tratamento dos resíduos sólidos da cidade de Viseu**. Belém: Programa de Integração Mineral em Municípios da Amazônia – Primaz, 1997.

RÊGO, R. S.; GAMA, J. R. N. F. Solos, aptidão agrícola, cobertura vegetal e uso atual do Município de Viseu-PA. In: **Programa de Integração Mineral em Municípios da Amazônia/PRIMAZ: Área Nordeste do Pará**. Belém: CPRM, 1997. v. 3, p. 55.

ROBERTSON, A. I.; BLABER, S. J. M. Plankton, epibenthos and fish communities, p. 63-100. In: ROBERTSON, A.I.; ALONGI, D.M (Eds). **Tropical mangrove ecosystems**. Washinhton: Coastal and Estuarine Studies, 1992. v. 41, 236 p.

ROBINS, C.; RAY, G.; DOUGLASS, J. **A field guide to Atlantic coast fishes of North America**. Boston: Houghton Mifflin Company, 1986. 354 p.

RONDINELI, G. R.; BRAGA, F. M. S.; TUTUI, S. L. S.; BASTOS, G. C. C. Dieta de *Menticirrhus americanus* (Linnaeus, 1758) e *Cynoscion jamaicensis* (Vaillant & Bocourt, 1883) (Pisces, Sciaenidae) no sudeste do Brasil, Estado de São Paulo. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 33, n.2, p. 221-228. 2007.

ROSA, R. S.; LIMA, F. C. T. Os peixes brasileiros ameaçados de extinção. In: **Livro vermelho das espécies ameaçadas de extinção**. Brasília: MMA, 2008.

ROSA FILHO, J. S.; AVIZ, D. Macrobenthic communities of an Amazonian estuary (Guajará Bay, Brazil): temporal and spatial changes. In: CONLEY, D.C.; MASSELINK, G.; RUSSELL, P.E.; O'HARE, T.J. (Ed.). **Proceedings 12th International Coastal Symposium (Plymouth, England)**. Journal of Coastal Research, Special Issue, v. 65, p. 123-128. 2013.

SAINO, N.; RUBOLINI, D.; JONZÉN, N.; ERGON, T.; MONTEMAGGIORI, A.; STENSETH, N. C.; SPINA, F. Temperature and rainfall anomalies in Africa predict timing of

spring migration in trans-Saharan migratory birds. **Climate Research**, v. 35, n. 1, p. 123-134. 2007.

Sakai, H.; Kato, E.; Sakaguchi, S.; Setsuda, A.; Sato, H. Morphological and molecular genetic characterization of *Kudoa konishiae* n.sp.(Myxosporea:Multivalvulida) in the muscle of Japanese Spanish mackerel (*Scomberomorus niphonius*). **Parasitology Research**, v. 117, n. 3, p. 893-904. 2018.

SANTOS, C. Aquicultura e pesca: a mudança do modelo exploratório. In: **manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Amapá: Embrapa, 2009.

SANTOS, A. M. **Políticas públicas educacionais em áreas de resex marinha: caso Gurupi-Piriá/Viséu-Pa**. 2015. 168 f. Dissertação (Mestrado em Planejamento do Desenvolvimento) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2015.

SANTOS, M. N. S. **Fauna Microparasitária de Peixes *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) Capturados nos Municípios de Cachoeira do Arari e Salvaterra, Ilha de Marajó / Pa**. 2016. 65 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura e Recursos Aquáticos Tropicais) – Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2016.

SANTOS, W. J. P. **Estudo Morfológico de Microparasitos em *Trachelyopterus galeatus* (Linnaeus, 1766) (Siluriformes: Auchenipteridae)**. 2017. 50 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Pesca) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2017.

SANTOS, S. V.; LOURENÇO, E. D.; NAKHLE, M. C.; AMARAL, T. M.; CASTRO, J. M.; LESCANO, S. Z. Ocorrência de microsporídio em escolares da creche da organização não governamental núcleo Batuira de Guarulhos/SP. **Revista Saúde**, v. 4, p. 85. 2010.

SCHMIDT-POSTHAUS, H.; BETTGE, K.; FORSTER, U.; SEGNER, H.; WAHLI, T. Kidney pathology and parasite intensity in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* surviving proliferative kidney disease: time course and influence of temperature. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 97, n. 3, p. 207-218. 2012.

SCHOEBEL, C. N.; TELLENBACH, C. SPAAK, P.; WOLINSKA, J. Temperature effects on parasite prevalence in a natural hybrid complex. **Biology Letters**, v. 7, n. 1, p. 108-111. 2011.

SHIN, S. P.; SHIRAKASHI, S.; HAMANO, S.; KATO, K.; LASSO, L. T.; YOKOYAMA, H. Phylogenetic study of the genus *Kudoa* (Myxozoa: Multivalvulida) with a description of *Kudoa rayformis* sp. nov. from the trunk muscle of Pacific sierra *Scomberomorus sierra*. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 98, p. 337-345. 2016.

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: Multivalvulida). **Parasitology Research**, v. 113, n. 7, p. 2515-2524. 2014.

SHUL'MAN, S. S. **Myxosporidia of the USSR**. Rotterdam: Russian Translations Series, 1990.

- 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, 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.
- SINDEAUX NETO, J. L. **Aspectos morfológicos de mixosporidiose em *Chaetobranchopsis orbicularis* (Steindachner 1875), (Osteichthyes: Cichlidae) do município de Cachoeira do Arari, Marajó, Pará.** 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina veterinária) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2013.
- SITJÀ-BOBADILLA, A.; P. ALVAREZ-PELLITERO. *Zschokkella mugilis* n. sp. (Myxosporidia: Bivalvulida) from mullets (Teleostei: Mugilidae) of Mediterranean waters: Light and electron microscopic description. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 40, p. 755-764. 1993.
- SMALL, C.; COHEN, J. E. Continental physiography, climate, and the global distribution of human population. **Current Anthropology**, v. 45, n. 2, p. 269-277. 2004.
- SMITH, J. W.; WENNER, C. A. Biology of the southern kingfish in the South Atlantic Bight. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 114, n. 3, p. 356-366. 1985.
- SMOTHERS, J.F.; VON DOHLEN, C. D.; SMITH, L. H.; SPALL, R.D. Molecular evidence that the myxozoan protists are metazoans. **Science**, v. 26, p. 1719-1721. 1994.
- STADTLÄNDER, C. T. K.H. Scanning Electron Microscopy and Transmission Electron Microscopy of Mollicutes: Challenges and Opportunities. In: Méndez-Vilas, A.; Díaz, J. **Modern Research and Educational Topics in Microscopy**. Formatex, 2007.
- 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.
- TAJDARI, J.; MATOS, E.; MENDONÇA, I.; AZEVEDO, C. Ultrastructural Morphology of *Myxobolus testicularis* sp. n., parasite of the testis of *Hemiodopsis microlepis* (Teleostei: Hemiodontidae) from the NE of Brazil. **Acta protozoologica**, v. 44, n. 4, p. 377-384. 2005.
- TAKEUCHI, F.; SEKIZUKA, T.; OGASAWARA, Y.; YOKOYAMA, H.; KAMIKAWA, R.; INAGAKI, Y.; NOZAKI, T.; SUGITA-KONISHI, Y.; OHNISHI, T.; KURODA, M. The Mitochondrial Genomes of a Myxozoan Genus *Kudoa* Are Extremely Divergent in Metazoa. **PLoS One**, v. 10, n. 7, p. 1-18. 2015.
- TAVARES-DIAS, M.; MARTINS, M. L.; MORAES, F. R.; KRONKA, S. N. Fator de condição e relação hepato e esplenossomática em teleósteos de água doce naturalmente parasitado. **Acta Scientiarum**, v. 22, n. 2, p. 533-537. 2000.

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.

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.

VELASCO, M.; MATOS, P.; SANCHES, O.; SÃO CLEMENTE, S. C.; VIDEIRA, M.; SANTOS, P. F. S.; MATOS, E. Necrotizing myositis associated with parasitism by *Myxobolus* sp. (Myxozoa) in the palate of the violet goby, *Gobioides broussonnetii* (Gobiidae), from Marajó Island, Brazil. **Aquaculture**, v. 358-359, p. 129-131. 2012.

VELASCO, M.; VIDEIRA, M.; NASCIMENTO, L. C. S.; MATOS, P.; GONÇALVES, E. C.; MATOS, E. *Henneguya paraensis* n. sp. (Myxozoa; Myxosporea), a new gill parasite of the Amazonian fish *Cichla temensis* (Teleostei: Cichlidae): morphological and molecular aspects **Parasitology Research**, v. 115, n. 5, p. 1779-1787. 2016.

VIDEIRA, M. N. **Estudo Morfológico de Microparasitas em *Aequidens plagiozonatus* Kullander 1984 (Osteiththyes: Cichlidae)**. 2010. 63 f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2010.

VIDEIRA, M. N. **Aspectos Morfológicos, Histopatológicos e Moleculares de Microparasitas de *Aequidens plagiozonatus* Kullander, 1984 (Teleostei: Cichlidae) e de *Gobioides broussonnetii* Lacepède, 1800 (Teleostei: Gobiidae) Provenientes da Amazônia Paraense**. 2015. 103 f. Tese (Doutorado em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários do Instituto de Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2015.

VIDEIRA, M.; CASAL, G.; ROCHA, S.; GONÇALVES, E.; AZEVEDO, C.; VELASCO, M.; MATOS, E. *Potasporea 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.

VIDEIRA, M.; VELASCO, M.; AZEVEDO, R.; SILVA, R.; GONÇALVES, E. C.; MATOS, P.; MATOS, E. Morphological aspects of *Henneguya aequidens* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae) in *Aequidens plagiozonatus* Kullander, 1984 (Teleostei: Cichlidae) in the Amazon region, Brazil. **Parasitology Research**, v. 114, n. 3, p. 1159-1162. 2015.

WASSON, K.; PEPPER, R.L. Mammalian microsporidiosis. **Veterinary Pathology**, v. 37, n. 2, p. 113-128. 2000.

WHIPPS, C. M.; ADLARD, R. D.; BRYANT, M. S.; KENT, M. L. Two unusual myxozoans, *Kudoa quadricornis* n. sp. (Multivalvulida) from the muscle of goldspotted trevally (*Carangoides fulvoguttatus*) and *Kudoa permulticapsula* n. sp. (Multivalvulida) from the muscle of Spanish mackerel (*Scomberomorus commerson*) from the Great Barrier Reef, Australia. **Journal of Parasitology**, v. 89, n. 1, p. 168-173. 2003.

WHIPPS, C. M.; ADLARD, R. D.; BRYANT, M. S.; LESTER, R. J.; FINDLAY, V.; KENT, M. L. First Report of Three *Kudoa* species from Eastern Australia: *Kudoa thyrsites* from

Mahi mahi (*Coryphaena hippurus*), *Kudoa amamiensis* and *Kudoa minithyrsites* n. sp. from Sweeper (*Pempheris ypsilychnus*). **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 50, n. 3, p. 215-219. 2003b.

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 alliararia* in flesh of Argentinian hoki *Macruronus magellanicus* (Gadiformes; Merlucciidae). **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 69, p. 259-263. 2006.

WHIPPS, C. M.; KENT, M. L. Phylogeography of the cosmopolitan marine parasite *Kudoa thyrsites* (Myxozoa: Myxosporea). **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 53, p. 364-373. 2006.

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.

WHITAKER, D. J.; KENT, M. L.; SAKANARI, J. A. *Kudoa miniauriculata* n. sp. (Myxozoa, Myxosporea) from the musculature of bocaccio (*Sebastes paucispinis*) from California. **Journal of Parasitology**, v. 82, p. 312-315. 1996.

WITTNER, M.; WEISS, L. M. **The Microsporidia and Microsporidiosis**. Washington: ASM Press, 1999.

XU, Y.; WEISS, L. M. The microsporidian polar tube: a highly specialised invasion organelle. **International Journal of Parasitology**, v. 35, n. 9, p. 941-953. 2005.

YOKOYAMA, H.; ITOH, N. Two Multivalvulid Myxozoans Causing Postmortem Myoliquefaction: *Kudoa megacapsula* n. sp. from red barracuda (*Sphyrna pinguis*) and *Kudoa thyrsites* from splendid alfonso (*Beryx splendens*). **Journal of Parasitology**, v. 91, n. 5, p. 1132-1137. 2005.

YOKOYAMA, H.; WHIPPS, C. M.; KENT, M. L.; MIZUNO, K.; KAWAKAMI, H. *Kudoa thyrsites* 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 barrel fish *Hyperoglyphe japonica* (Teleostei: Centrolophidae) in Japan. **Parasitology Research**, v. 110, n. 6, p. 2247-2254. 2012.

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.

ZHANG, Z. Q. Animal biodiversity: an introduction to higher-level classification and taxonomic richness. **Zootaxa**, v. 3148, p. 7-12. 2011.

ANEXOS

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 013/2014 (CEUA) – 23084.007833/2014-28 (UFRA)****Título do Projeto: Ação microparasitária em hospedeiros aquáticos de interesse econômico na Amazônia.****Docente/Pesquisador Responsável: Prof. Dr. Edilson Rodrigues matos****Instituição: Instituto da 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 Arouca), sendo respeitados os Princípios Éticos da Experimentação Animal do CONCEA. Portanto, manifesta-se pela sua aprovação.

Parecer: APROVADO

Liberado 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 Sílvia Sardinha Ribeiro
Coordenadora CEUA/UFRA

ANEXO 2 – Ficha para coleta de material laboratorial



DATA:
ESPÉCIE:
LOCAL DE COLETA:
SEXO:
Nº de REGISTRO:

PESO TOTAL:
PESO EVISCERADO:
COMPRIMENTO TOTAL:
COMPRIMENTO PADRÃO:

ANÁLISE DA PRESENÇA DE PARASITAS:

OBSERVAÇÕES:

ANEXO 3 - 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 9030' (*)	30'1H1H
ALC ABS I30'	60'1H1H
ALC ABS II30'	60'1H1H
ALC ABS III30'	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 5 - Ficha de processamento para Microscopia Eletrônica de Varredura



PREPARAÇÃO DE MATERIAL PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA

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

- () NORMAL
- () MICROPARASITAS

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

			INÍCIO	FIM	OBS
FIXAÇÃO					
GLUTARALDEÍDO (T) 2/2,5/3,0/5,0	4°C...1/2/3 HS
LAVAGEM (T).....	4°C.....1/2 HS (*)
ÓSMIO (T) 1 / 1.5 / 2 / 2,5 %.....	4°C.....1/2 HS
DESIDRATAÇÃO					
MICROPARASITAS					
ALC 50.....30'	30'1H1H
ALC 75.....30' (*)	30'1H1H
ALC 90.....30'	60'1H1H
ALC 95.....30'	60'1H1H
ALC ABS I.....30'	60'1H2H
ALC ABS II.....30'	60'1H2H
ALC ABS III.....30'	30'1H1H

ANEXO 6 - Ficha de coleta de campo.

COLETA Nº:

DATA DA COLETA: / /

LOCAL:

COORDENADAS GEOGRÁFICAS:

APETRECHO DE PESCA UTILIZADO:

ESPÉCIE COLETADA:

Nº DE EXEMPLARES:

TEMPERATURA DA ÁGUA:

OXIGÊNIO DISSOLVIDO:

PH:

SALINIDADE: