



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

**MIXOSPORIDIOSE EM *Symphysodon aequifasciatus* PELLEGRIN, 1904,
(OSTEICHTHYES: CICHLIDAE) ORIUNDO DO MUNICÍPIO DE CAMETÁ/PA.**

JOSÉ MAURO VIANA SILVA

**Belém
2014**



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

JOSÉ MAURO VIANA SILVA

**MIXOSPORIDIOSE EM *Symphysodon aequifasciatus* PELLEGRIN, 1904,
(OSTEICHTHYES: CICHLIDAE) ORIUNDO DO MUNICÍPIO DE CAMETÁ/PA.**

Dissertação de mestrado apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Recursos Aquáticos Tropicais: área de concentração Aquicultura, como requisito para a obtenção do Título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Edilson Rodrigues Matos.

Co-orientador: Prof. Dr. Sérgio Carmona

**Belém
2014**



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

JOSÉ MAURO VIANA SILVA

**MIXOSPORIDIOSE EM *Symphysodon aequifasciatus* PELLEGRIN, 1904,
(OSTEICHTHYES: CICHLIDAE) ORIUNDO DO MUNICÍPIO DE CAMETÁ/PA.**

Dissertação de mestrado apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Recursos Aquáticos Tropicais: área de concentração Aquicultura, como requisito para a obtenção do Título de Mestre.

Aprovada em 20 de Fevereiro de 2014

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Edilson Rodrigues Matos - Presidente
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

Prof. Dra. Marly de Fátima Carvalho Melo 1º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

Prof. Dr. Maria de Lourdes Souza Santos 2º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

Prof. Dr. Nuno Filipe Melo 3º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

À minha filha Maysa Bianca,
amor da minha vida,
Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram e tornaram possível a consolidação do presente trabalho.

À minha esposa Leidiane Novaes, pelo apoio incondicional, pelo companheirismo e principalmente pelo amor, sem o qual de nada adiantaria viver.

Ao meu orientador Dr. Edilson Rodrigues Matos, pela atenção, pelas críticas, pelas sugestões e conselhos, muitas vezes assumindo um papel de pai. Agradeço pela amizade e pelo incentivo, sem o qual não seria possível chegar até aqui.

À equipe do Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo, em especial às doutorandas Michelle Velascos, Marcela Videira e Lilian Dias; aos mestrandos Joyce Cardin, José Neto, Siane Maria e Adriene e à técnica de laboratório Patrícia Saco, pelo apoio, companheirismo, amizade e solidariedade.

À minha mãe Maria Viana Silva e meus irmãos, em especial à minha irmã Marilene, a quem devo grande parte das minhas realizações.

À minha sogra Sonia Gomes e seu esposo Manoel Borges, pelo apoio que nos tem dado e por ter acreditado e depositado confiança em mim.

Aos amigos Ediano Sandes, Katarine Batista, Jairo Bastos, Flavia Teixeira e seu esposo Tiago Melo, pelo apoio, incentivo e companheirismo.

Aos meus tios Antodio Novaes, Lourdes Crus, João Assunção, Margarete Pinheiro e a todos os primos, pelo apoio e incentivo.

A todos os amigos e companheiros de classe, em especial: Amanda Cordovil, Maria sintia, Jamilly, Tiago, Cassio Flexa e Alberto.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Recursos Aquáticos Tropicais – PPGAqRAT/ UFRA.

Ao Augusto Jarthe Pereira Jr, pela cessão das fotos.

À CAPES pela concessão da bolsa.

Ao CNPq – Edital Universal 2011

À UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA-UFRA

SUMARIO

Pag

RESUMO	6
ABSTRACT	7
1 INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVOS	10
2.1 OBJETIVO GERAL	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICO	10
3 REFERENCIAL TEÓRICO	11
3.1 A FAUNA AQUÁTICA E AQUICULTURA	11
3.2 ICTIOPARASIToses	11
3.3 HOSPEDEIRO	12
3.4 MIXOSPORÍDIOS	13
3.4.1 Ciclo de vida	15
3.4.2 Classificação taxonômica	18
3.5 LOCAL DE ESTUDO	19
4 – METODOLOGIA	19
4.1 COLHEITA DOS ESPÉCIMES E ÁREA DE ESTUDO	19
4.2 ANÁLISE E PESQUISA DE PARASITOS	23
4.3 MICROSCOPIA DE LUZ	23
4.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA	24
4.5 BIOLOGIA MOLECULAR	25
4.6 ANÁLISE DOS DADOS	25
5 RESULTADOS	25
6 DISCUSSÃO	35
7 CONCLUSÕES	38
REFERENCIAS	39
ANEXOS	43

RESUMO

O presente trabalho é resultado do estudo sobre mixosporidioses utilizando espécimes de *Symphysodon aequifasciatus* selvagens, capturados nos rios Jaituba, Jabutiapéú e Pacajaí no município de Cametá/Pará/Brasil, no período de Maio/2012 a abril/2013. Foram capturados e analisados 60 animais a fim de encontrar possíveis focos dos parasitos. Após análise verificou-se que 100% dos animais apresentavam parasitismo por dois gêneros da classe Myxospora: *Kudoa* e *Ellipsomyxa*, parasitando a musculatura somática e a vesícula biliar, respectivamente. Os esporos de *Kudoa* spp. apresentavam-se em formações pseudocísticas alongadas, distribuídos de forma aleatória na musculatura somática, não sendo possível observação macroscópica dos cistos. A observação microscópica revelou também a presença de esporos de *Ellipsomyxa* spp. livres, disseminados de forma aleatória no líquido biliar e na parede do órgão. Os dados obtidos no presente trabalho representam o primeiro registro da ocorrência de mixosporídios no gênero *Symphysodon* no Brasil.

Palavras-chave: Myxozoa, Mixosporídios, Acará-disco, *Symphysodon*, *Kudoa*, *Ellipsomyxa*.

ABSTRACT

This work is the result of the study on mixosporidiosis using specimens of wild *Symphysodon aequifasciatus*, captured in Jaituba, Jabutiapéú Pacajaí and rivers in the municipality of Cametá/Pará/Brazil, between the abril/2013 May/2012. Were captured and analyzed 60 animals in order to find possible sources of parasites. After analysis it was found that 100 % of the animals showed parasitism by two genera of Myxospora class: *Kudoa* and *Ellipsomyxa* parasitizing the somatic musculature and gallbladder, respectively. Spores *Kudoa* spp. presented themselves in pseudocystic elongated formations, randomly distributed in the somatic musculature, it is not possible macroscopic observation of cysts. The microscopic observation also revealed the presence of spores *Ellipsomyxa* spp. free, scattered randomly in the liquid bile and the body wall. The data obtained in this study represent the first record of the occurrence of the genus *Symphysodon* mixosporidiosis in Brazil.

Keywords : Myxozoa, Mixosporidiosis, Acará-disco, *Symphysodon*, *Kudoa*, *Ellipsomyxa*.

1 INTRODUÇÃO

A região amazônica apresenta a mais diversificada ictiofauna de água doce do mundo constituindo um importante recurso natural, que tem papel fundamental no contexto social e econômico da região (SANTOS & FERREIRA, 1999).

As atividades de pesca e aquicultura no Brasil vêm despertando progressivo interesse para economia, sobretudo nas últimas décadas, buscando associar o aproveitamento sustentável dos recursos à preservação ambiental (BORGES, 2009; SOUSA et al., 2008).

De acordo com o relatório do Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA, 2011), a produção mundial de pescado (proveniente tanto da pesca extrativa quanto da aquicultura) atingiu aproximadamente 168 milhões de toneladas em 2010, incremento de aproximadamente 3% em relação a 2009. Neste cenário, o Brasil contribuiu com apenas 0,75% (1.264.765 t) da produção em 2010, ocupando o 19º lugar no ranking mundial. Em 2011, a produção nacional registrou incremento de aproximadamente 13,2% em relação a 2010, tendo a pesca extrativa marinha como a principal fonte de produção de pescado com 553.670,0 t (38,7%), seguida pela aquicultura continental com 544.490,0 t (38,0%), pesca extrativa continental com 249.600,2 t (17,4%) e aquicultura marinha com 84.214,3 t; (6%) do total de pescado produzido. Nota-se que a pesca registrou um incremento de 2,3%, enquanto a aquicultura registrou incremento de 31,1% em relação a 2010.

Além da produção de peixes para consumo humano, existe a produção para fins ornamentais, que movimenta considerável quantidade de recursos financeiros. Anualmente, milhões de peixes ornamentais de água doce são exportados da Amazônia brasileira para o comércio internacional, principalmente para os Estados Unidos e Europa, alguns deles, provenientes da pesca extrativista, chegam alcançar elevado valor de mercado, ao contrário de outros que já podem ser obtidas da Ásia (DIAS et al., 2009), onde se realiza reprodução artificial de muitas espécies ornamentais da Amazônia.

Os acarás-disco (gênero *Symphysodon*) são peixes ornamentais comumente encontrados em lagos e florestas alagadas das planícies inundadas da Amazônia, habitats caracterizados por uma variação sazonal extrema nas condições ambientais (CRAMPTON, 2008), entre as quais está a densidade de parasitos.

A ação parasitária de várias espécies de parasitos, em especial aquelas que causam severos danos em seus hospedeiros ou mesmo mortalidade, tem sido objeto de estudo, principalmente em peixes de interesse econômico (LOM & DYKOVÁ, 1992).

Os peixes silvestres apresentam-se parasitados por grande variedade de espécies de parasitos, sendo de alta relevância o estudo da fauna parasitária dos peixes de água doce, não só pelo aspecto econômico, mas por uma questão de saúde pública, uma vez que podem ser portadores de zoonoses (CAMPOS, 2006).

O presente estudo relata os primeiros achados de dois gêneros de mixosporídios em espécimes selvagens de acará-disco, advindos do município de Cametá/PA.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Estudar os membros do Filo *Myxozoa* parasitos de *S. aequifasciatus* do município de Cametá, Estado do Pará.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar estudo taxonômico de mixosporídios parasitos de *S. aequifasciatus*.
- Determinar a prevalência de parasitos nos espécimes analisados.
- Analisar a preferência parasitária em relação aos órgãos do hospedeiro.
- Identificar a ocorrência de multiparasitismo.
- Avaliar a relação parasito-hospedeiro
- Contribuir para um melhor conhecimento do estado sanitário dessa espécie.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 A FAUNA AQUÁTICA E AQUICULTURA

Os rios da Amazônia abrigam a maior e mais diversa ictiofauna do mundo, tendo mais de 1500 espécies contabilizadas (MONTAG et al., 2008). A ictiofauna está composta por espécies marinhas e de água doce, que representam um importante recurso, que vem sendo historicamente explorado pela pesca industrial, artesanal, de subsistência e ornamental, com significativa contribuição para a produção nacional de pescado.

Aquicultura é definida como o cultivo de organismos predominantemente aquáticos de interesse econômico. Atividade esta que tem uma longa história de desenvolvimento, tendo começado há 4000 anos na China (UEDA et al., 2013). A atividade tem apresentado crescimento significativo nos últimos anos, sendo considerada como forma mais viável para incremento da produção de pescado, diante da limitação dos estoques naturais.

A piscicultura ornamental contribui na esfera sócio-ambiental, servindo como excelente alternativa de renda para pequenos produtores rurais, que formam a base desta pirâmide produtiva, contribuindo também na redução do extrativismo de espécies nativas (CECARELLI et al., 2000).

3.2 ICTIOPARASIToses

Nos últimos anos tem crescido a relevância dos estudos de enfermidades de organismos aquáticos no Brasil. Isso se deve ao substancial crescimento do setor aquícola no País. Grande parte deste estudo está voltado para espécies de interesse econômico com potencial para cultivo (LUQUE, 2004). No Brasil, os primeiros artigos sobre parasitas de piscicultura ou aqueles com potencial para a criação de peixes começou na década de 1980 (UEDA et al., 2013).

No ambiente natural existe uma relação de interdependência entre organismos - habitat - parasitos, sendo o estado ictiosanitário fruto da interação destas três dimensões (LOM & NOBRE, 1984).

Segundo Pavanelli; Eiras; Takemoto (2002), na natureza, os organismos aquáticos carregam consigo uma carga de patógenos, sem sinais clínicos de doenças, evidenciando a existência de um equilíbrio natural. Vários fatores podem atuar, quebrando esse equilíbrio e provocando sérias modificações no ambiente. Quando, porém, ocorrem alterações ambientais,

com reflexos nos mecanismos de defesa dos peixes, imediatamente poderão levar esses animais a manifestarem sinais clínicos de certas enfermidades, já que passam a se tornar sujeitos à ação dos patógenos.

De acordo com a origem do hospedeiro, confinamento ou ambiente natural, as enfermidades poderão apresentar aspectos diferentes. Nesses ambientes, as condições são muito distintas, devido a fatores, tais como, altas densidades populacionais, tipo de alimentação, degradação da qualidade de água, manuseio nos exemplares e execução de tratamentos que provocam estresse nos hospedeiros (CAMPOS, 2006).

3.3 HOSPEDEIRO

O acará-disco é um ciclídeo endêmico da bacia amazônica, porém com poucas informações científicas sobre sua biologia e ecologia em seu habitat natural, apesar de sua importância no comércio internacional de aquarofilia (ROSSONI et al., 2010). Poucos dados quantitativos têm sido publicados sobre a ecologia e história de vida de espécimes selvagens, apesar de uma extensa literatura voltada para segmento de aquarofilia (CRAMPTON, 2008).

São peixes ornamentais comumente encontrados em lagos e florestas alagadas das planícies inundadas da Amazônia, habitats caracterizados por uma variação sazonal extrema na disponibilidade de alimento, abrigo e oxigênio dissolvido, e também pela densidade de predadores e parasitas. A maioria dos aspectos da biologia do gênero é influenciada por esta variabilidade de condições sazonais (CRAMPTON, 2008).

Vivem em habitats lênticos associados com os principais corpos de água (AMADO et al., 2011). Colônias de acará-disco abrigam-se em resíduos lenhosos (conhecidos localmente como 'galhadas'), emaranhados de galhos e raízes de árvores caídas ao longo das margens dos lagos, mas dispersam-se em florestas sazonalmente inundadas durante o período de cheias (CRAMPTON, 1999).

Em confinamento, o gênero geralmente atinge entre 3 e 5 anos de vida, ou excepcionalmente mais (SILVA & KOTLAR, 1980, apud CRAMPTON, 2008), mas os espécimes selvagens devem ter expectativa de vida mais curta (CRAMPTON, 2008).

Segundo Rossoni et al. (2010), o gênero *Symphysodon* apresenta comportamento reprodutivo complexo, o qual pode ser influenciado por parâmetros bióticos e por local e dinâmica ambiental regional. Os mesmos autores, em seus estudos, demonstram que *Symphysodon aequifasciatus* apresenta desova total, no início do período das chuvas, com a

capacidade peculiar de libertar vários lotes de ovos, tal como uma estratégia que potencialmente melhora o sucesso reprodutivo, tudo isso, associado ao cuidado biparental de suas ninhadas.

Quanto à classificação taxonômica, segundo Crampton (2008), o número de espécies do gênero é atualmente objeto de discussão. Já Amado et al. (2011), em seus estudos com testes da permutabilidade genética e ecológica, sugere a existência de cinco unidades evolutivas significativas para o gênero *Symphysodon* (*Symphysodon discus* (Heckel e abacaxi fenótipos), *S. aequifasciatus* (fenótipo marrom), *S. tarzoo* (fenótipo verde), *Symphysodon* sp. 1 (fenótipo azul) e *Symphysodon* sp. 2 (grupo Xingú).

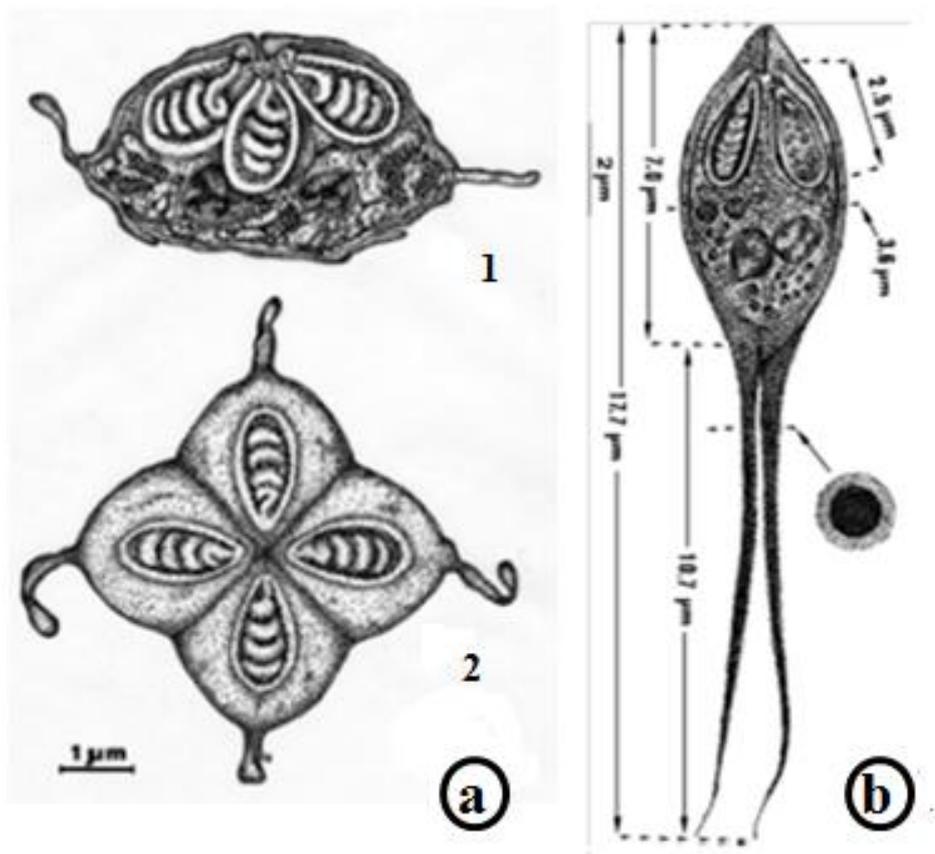
Em relação à sanidade do gênero *Symphysodon* em ambiente natural, existem poucos estudos relevantes sobre o assunto, por exemplo, Lopes et al. (2011), descreve *Dadayius puruensis* n.sp., uma nova espécie de *Dadayius* (Trematoda, Digenea), parasita de *Symphysodon aequifasciatus* coletados a partir do rio Purus, Estado do Amazonas, Brasil; Crampton (2008), em seus estudos sobre ecologia e história de vida do referido gênero, encontrou 69 de 492 espécimes de *S. haraldi* infestados com *Braga cichlae*, isópoda, ectoparasita, na câmara opercular, observou também, interferência do referido parasito na maturidade sexual da espécie em estudo. Mostrando já, a importância do conhecimento sobre parasitoses em peixe de alto valor comercial, na área de peixe ornamental, que vem agora sendo aprofundado com o conhecimento de microparasitas em referido hospedeiro *S. aequifasciatus*, no presente estudo.

3.4 MIXOSPORÍDIOS

São organismos formados por células eucarióticas que parasitam alternadamente seres invertebrados e vertebrados, caracterizando-se pela presença de esporos de forma e estrutura variada (CASAL, 2009). Os esporos são constituídos por uma ou mais valvas, podendo eventualmente possuir projeções simples ou elaboradas. Internamente, localizam-se uma ou várias células amebóides germinais infectivas (esporoplasma) e uma ou várias cápsulas polares, cada uma equipada com um filamento polar extrusível. Este filo divide-se em duas classes: **Malacosporea** (esporos de valvas sem rigidez que infectam os briozoários e os peixes) e **Myxosporea** (esporos de valvas rígidas que ocorrem em anelados e peixes) (LOM & DYKOVÁ, 2006).

A classe **Myxosporea** consta de aproximadamente 65 gêneros, como por exemplo, *Henneguya* Thélohan, 1892; *Triangulamyxa* Azevedo et al., 2005; *Kudoa* Meglitsch, 1947 e *Myxobolus* Bütschli, 1882 (LOM & DYKOVÁ, 2006). Os membros desses grupos são importantes patógenos de peixes de água doce e marinha, com ampla distribuição geográfica (CASAL, 2009), atuando em diversos tecidos e órgãos, como fígado, rim, brânquias, gônadas, intestino e pele (LUQUE, 2004). São classificados como Bivalvulida (esporos com 2 valvas e geralmente com 2 cápsulas polares) (Figura 1 a) ou Multivalvulida (esporos formados por mais de 2 valvas e por mais de 2 cápsulas polares) (Figura 1 b) (LOM & DYKOVÁ, 2006)

Figura 1 - Esquema de esporo de *Kudoa* sp., representante da ordem multivalvulida (a) ; esquema de esporo de *Henneguya rondoni*, representante da ordem bivalvulida (b).



Fonte: CASAL et al., 2008; AZEVEDO et al., 2008

O gênero *Kudoa* compreende os parasitos mixosporídios que apresentam quatro válvulas, sendo conhecidas, até a presente data, 46 espécies, todas parasitas de peixes (ANDRADA et al., 2005).

Este metazoário tem assumido uma importância considerável, tanto no domínio da aquicultura quanto da pesca, uma vez que afeta muitas espécies de peixes, resultando na formação de cistos macroscópicos na carga do músculo ou uma liquefação do músculo post-mortem, que reduzem o valor comercial dos produtos infectados (GAGLIO et al., 2010).

O gênero *Ellipsomyxa*, representa um pequeno subgrupo dentro da classe **Myxosporea**, contendo, até o presente momento, apenas três espécies, todas infectando a vesícula biliar dos peixes dos mares europeus. As espécies *Ellipsomyxa gobii* e *E. mugilis* fazem parte desse pequeno grupo de mixosporeos com ciclos de vida completamente conhecidos, tendo sua fase actinospora descrita através de microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e análise molecular (AZEVEDO et al., 2013).

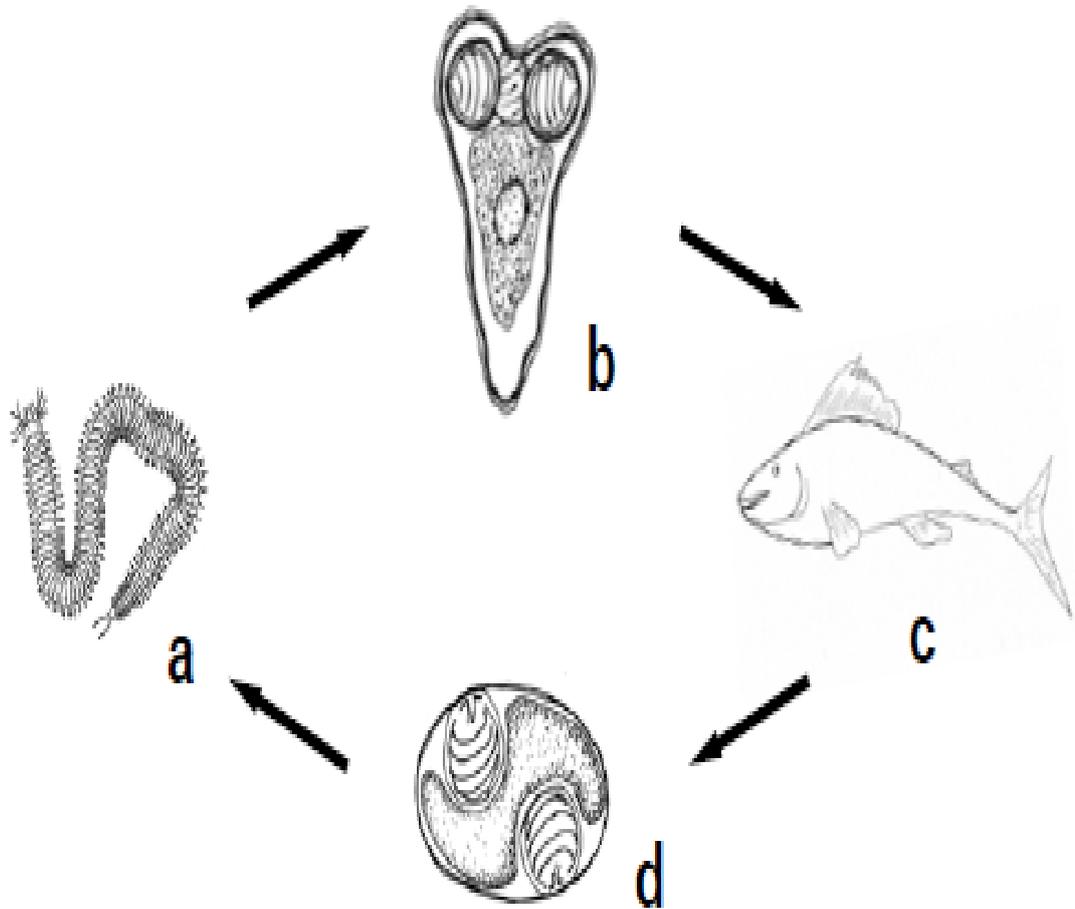
A presença de esporos de mixosporídios são facilmente observados em microscopia de luz e identificados pela sua morfologia (AZEVEDO et al., 2008). A maioria das infecções por eles são relativamente benignas, existindo algumas espécies patogênicas que podem causar mortalidade ou então infringir severos danos aos seus hospedeiros (CASAL, 2009).

Vários estudos têm sido realizados com mixosporídios. Campos, et al., (2011) observaram presença de cistos de mixosporídio da espécie *Henneguya piaractus*, com localização intralamelar em vários estágios de desenvolvimento, localizados em todas as regiões (basal, mediana ou distal) das lamelas, bem como dilatação e deformação das lamelas vizinhas causadas por cistos intraepiteliais; Azevedo, et al.(2009) descreveram, com base em estudos ultraestruturais, *Henneguya hemiodopsis* encontrado infectando brânquias de *Hemiodopsis microlepis*, coletado no rio Poty, perto da cidade de Terezina/PI, Brasil, com cistos esbranquiçados contendo esporos em diferentes estágios de desenvolvimento com estruturas diferentes das espécies já descritas.

3.4.1 Ciclo de vida

Os estudos já realizados sobre mixosporídios mostram que estes microrganismos apresentam ciclo de vida indireto (Figura 2), compreende duas fases: uma no peixe (hospedeiro intermediário), onde prolifera e diferenciam-se esporos multicelulares resistentes ao ambiente externo (mixosporos) que, por sua vez, infectam um anelídeo (hospedeiro definitivo), onde se reproduzem, sexuadamente, originando o agente infectante dos peixes, denominado de actinosporo (LOM & DYKOVÁ 2006).

Figura 2 - Desenho esquemático do ciclo de vida indireto dos mixosporídios: a) hospedeiro definitivo (gênero *Nereis*); b) actinosporo; c) hospedeiro intermediário; d) mixósporo.

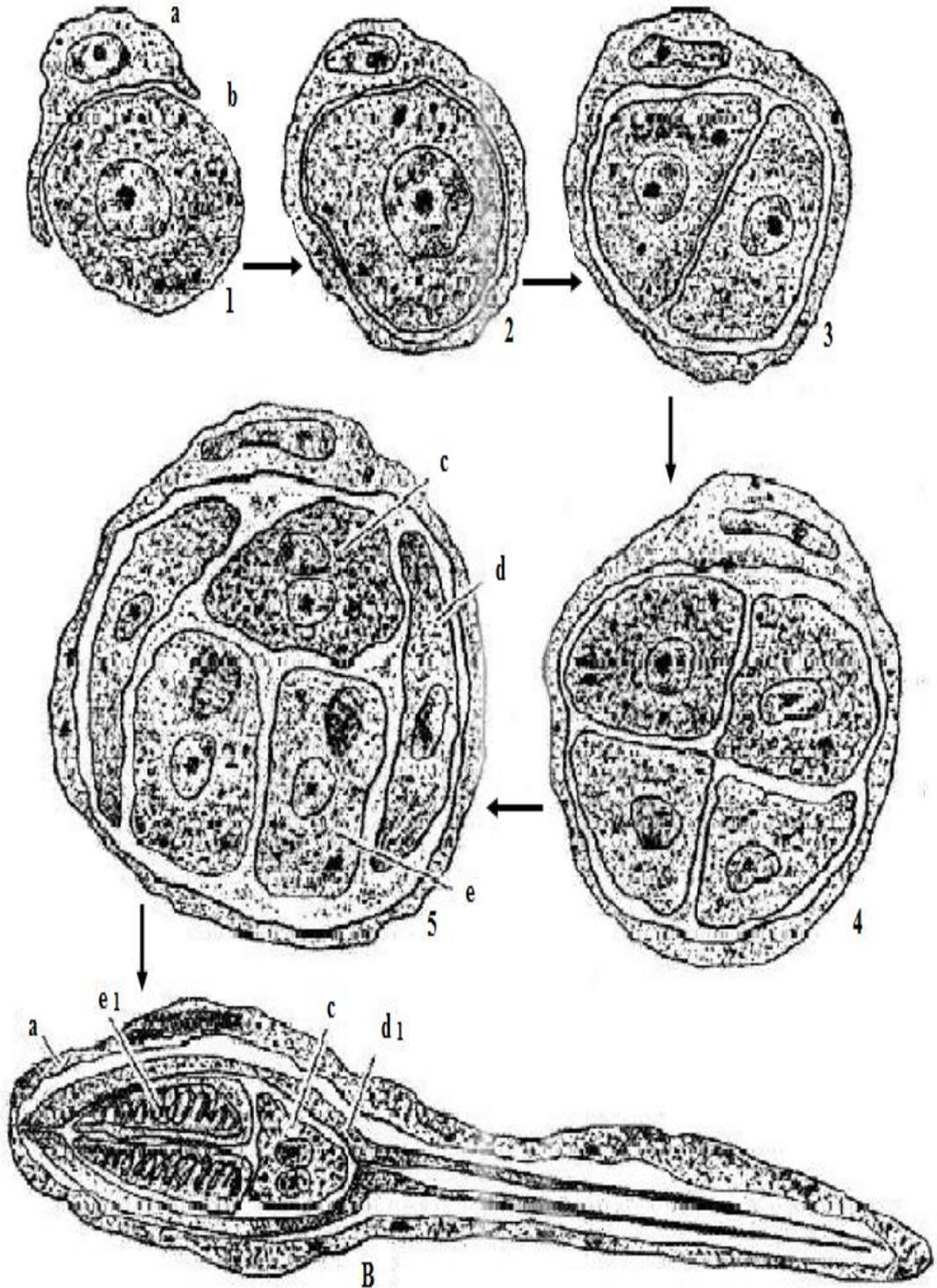


Fonte: CASAL, 2009

Devido a nova circunstância a classe Actinosporea foi extinta e para facilitar a comunicação entre aqueles que estudam mixosporídios convencionou-se usar os termos "estágio actinosporo", para as formas encontradas nos hospedeiros invertebrados e "estágio mixosporo", para as formas encontradas no hospedeiro vertebrado (KENT et al., 2001).

Segundo Lom & Dyková (2006), nos peixes, a esporogênese inicia-se com o envolvimento de uma célula esporogônica, envolvida e protegida por uma célula, o perícito (fagócito) (Figura 3). Dentro do perícito, a célula envolvida divide-se várias vezes, por meio de nucleocinese e citocineses, formando agregados de células uninucleares, exceto uma célula na qual ocorre apenas uma nucleocinese, originando-se, assim, uma célula binucleada, denominada de esporoplasmática.

Figura 3 - Esquema do ciclo de vida dos mixosporídios. Mostrando a fase em que a célula pericítica (pericito - a) começa a englobar a célula germinativa (b) (1). A célula germinativa fica completamente envolvida pelo pericito (2). A célula germinativa divide-se sucessivamente em duas células (3) e em 4 células (4). No final da divisão, o esporo (monoespórico - 5) é constituído por 5 células diferenciadas em 2 valvogênicas (d), 2 células capsulogênicas (e) e uma célula binucleada – o esporoplasma (c). Esporo (6).



Fonte: Matos et al. (2001).

3.4.2 Classificação taxonômica (*)

Filo Myxozoa

Classe Myxosporia

Ordem **Bivalvulida**

Subordem Sphaeromyxina

Família: **Sphaeromyxidae** - *Sphaeromyxa*

Subordem Variisporina

Família: **Myxidiidae** - *Myxidium*, *Enteromyxum*, *Zschokkella*, *Coccomyxa*,
Soricimyxa

Família: **Ortholineidae** - *Ortholinea*, *Neomyxobolus*, *Cardimyxobolus*, *Triangula*,
Triangulamya, *Kentmoseria*

Família: **Sinuolineidae** - *Sinuolinea*, *Myxodavisia*, *Myxoproteus*, *Bipteria*,
Paramyxoproteus, *Neobipteria*, *Schulmania*, *Noblea*

Família: **Fabesporidae** - *Fabespora*

Família: **Ceratomyxidae** - *Ceratomyxa*, *Leptotheca*, *Meglitschia*, *Ellipsomyxa*

Família: **Sphaerosporidae** - *Sphaerospora*, *Polysporoplasma*, *Hoferellus*, *Wardia*,
Palliatum, *Myxobilatum*

Família: **Chloromyxidae** - *Chloromyxum*, *Caudomyxum*, *Agarella*

Família: **Auerbachiiidae** - *Auerbachia*, *Globospora*

Família: **Alatosporidae** - *Alatospora*, *Pseudoalatospora*, *Renispora*

Família: **Parvicapsulidae** - *Parvicapsula*, *Neoparvicapsula*, *Gadimyxa*

Subordem Platysporina

Família: **Myxobolidae** - *Myxobolus*, *Spirosutura*, *Unicauda*, *Dicauda*,
Phlogospora, *Laterocaudata*, *Henneguya*, *Hennegoides*, *Tetrauronema*,
Thelohanellus, *Neothelohanellus*, *Neohenneguya*, *Trigonosporus*

Ordem **Multivalvulida**

Família: **Trilosporidae** - *Trilospora*, *Unicapsula*

Família: **Kudoidae** - *Kudoa*

Família: **Spinavaculidae** - *Octospina*

Trilosporoides (incertae sedis)

Classe Malacosporia

Ordem Malacovalvulida

Família: **Saccosporidae** - *Buddenbrockia* (sinónimo: *Tetracapsula*), *Tetracapsuloides*

(*) Classificação taxonômica do Filo *Myxozoa* com adaptações (CASAL, 2009).

3.5 LOCAL DE ESTUDO

O município de Cametá/PA ($02^{\circ}14'54''\text{S}$ $49^{\circ}49'12''\text{W}$) tem uma população de 120.896 habitantes (IBGE, 2010), sua sede está situada à margem esquerda do rio Tocantins. O município segue uma característica peculiar da Amazônia brasileira: a de possuir uma parcela considerável de sua população vivendo em palafitas nas margens dos rios. Esta população ribeirinha constitui-se de pequenos agricultores, pescadores artesanais e extrativistas, os quais sobrevivem do cultivo de mandioca, da pesca e da extração de açaí, tendo o pescado como o principal item da dieta alimentar.

4 METODOLOGIA

4.1 COLHEITA DOS ESPÉCIMES E ÁREA DE ESTUDO

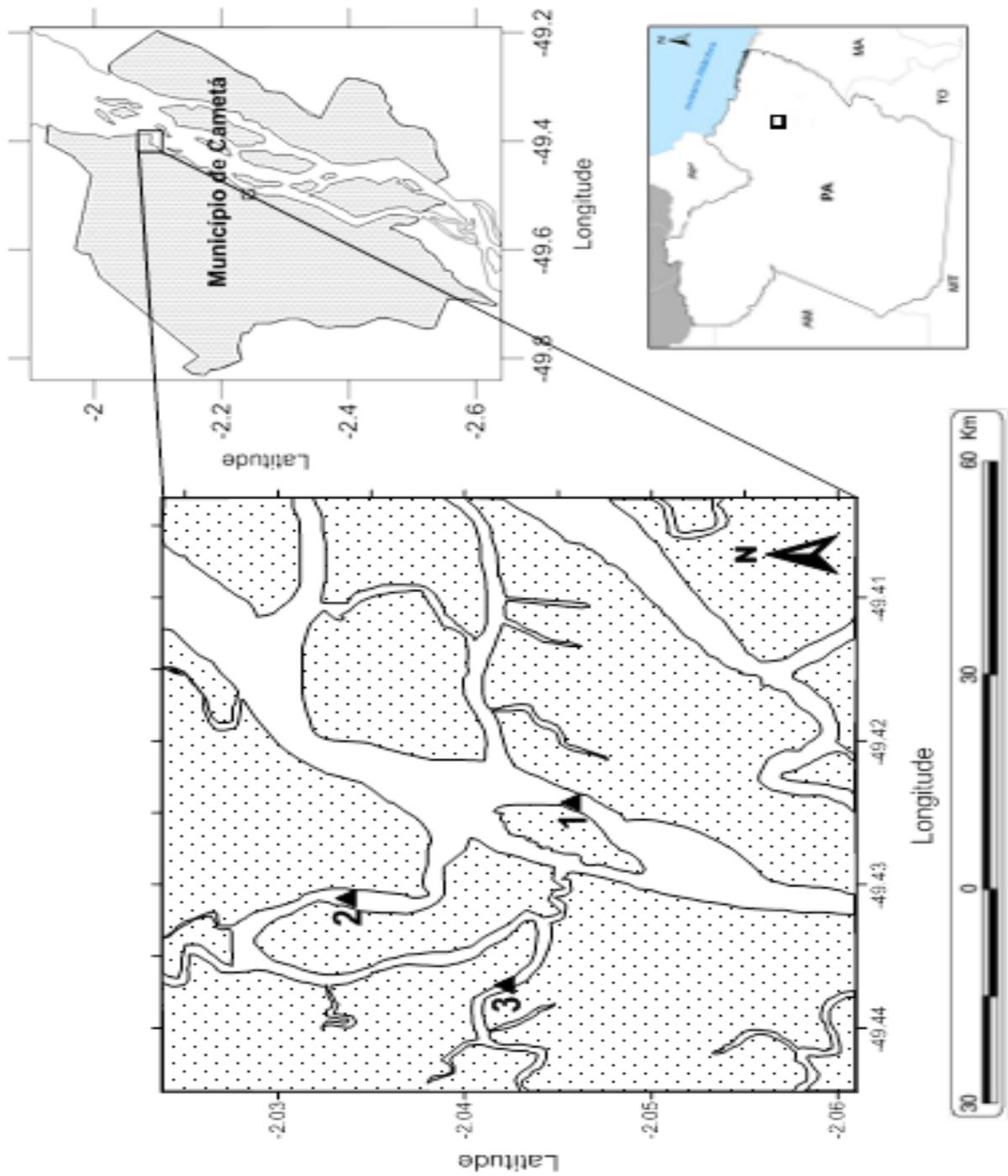
Para o presente estudo foram capturados 60 espécimes de *S. aequifasciatus* (Figura 4), nas áreas marginais dos rios Jaituba, Jabutiapepú e Pacajaí (Figura 5), sob as ramificações vivas de aturiá (*Drepanocarpus lunatus*), vegetação presente de forma não contínua nas margens dos rios da região, em áreas protegidas de correntes, com profundidade média de 1 (um) metro na maré baixa. Os exemplares foram capturados com redes tipo camaroeira, fazendo cercos sob as galhadas. Cada pescaria envolveu um número de 5 (cinco) a 6 (seis) pescadores locais e foi realizada na maré baixa, como ilustrada na Figura 6. Foram realizadas colheitas trimestrais no período compreendido entre maio/2012 a abril/2013. No momento de cada colheita foram aferidos e registrados em fichas apropriadas (ANEXO A) valores de temperatura, pH e salinidade da água, obtendo os seguintes valores médios: $28,5^{\circ}\text{C}$, pH 5.0 e salinidade 0 ‰.

Figura 4- Foto de espécime de cará-disco



Fonte: arquivo do autor

Figura 5 – Mapa da área de estudo, em destaque os pontos de colheita, rios Jaituba (1), Jabutiapepú (2) e Pacajaf (3).



Fonte: arquivo do autor

Figura 6 - Registro do momento da captura dos espécimes em ambiente natural.



Fonte: arquivo do autor

Após captura os animais foram acondicionados em baldes com sacos plásticos e aeração artificial e em seguida transportados vivos até uma casa de apoio na cidade de Cametá\PA, sendo posteriormente levados para o Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo (LPCA), na Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA/Belém), onde ficaram armazenados em aquários, com água do próprio ambiente de origem, até que se procedessem as análises.

4.2 ANÁLISE E PESQUISA DE PARASITOS

Os animais foram anestesiados (MS 222 - Sandoz Laboratories) conforme Azevedo et al., (2008) e em seguida retirados dos aquários, evitando ao máximo o estresse dos animais. Após a realização deste procedimento, foram aferidos os parâmetros biométricos, peso e comprimento total dos animais. Em seguida, tiveram toda a sua superfície corpórea externa examinada através de estereomicroscópio, para verificar a existência de ectoparasitas, lesões (presença de cistos) ou perda de revestimento (escamas e epiderme).

Foram realizadas as necropsias dos animais através de incisões com bisturi e tesoura de dissecação, na região ventral, de modo a expor suas vísceras para que cada órgão fosse cuidadosamente examinado com auxílio de instrumentos cirúrgicos, a fim de encontrar possíveis lesões, como cistos, tumefações e manchas leitosas, sempre com o auxílio de estereomicroscópio. Todos os dados foram registrados em uma ficha de colheita/necrópsia (ANEXO B).

Dos tecidos que apresentaram possíveis focos de desenvolvimento de parasitas foram retirados pequenos fragmentos com pinças e tesoura cirúrgica, colocados entre lâmina e lamínula contendo uma gota de água, para realizar a observação em microscópio de luz, diferenciando estágios de parasitoses com cistos de secreção glandular ou de células adiposas.

Nesta análise foram observados esporos livres ao microscópio, sendo fotografados e medidos, e as dimensões calculadas a partir das imagens digitalizadas resultantes, como descrito por Lom & Arthur (1989). As medições são apresentadas em micrômetros (μm), com uma média seguida entre parêntesis pelo intervalo (variação).

4.3 MICROSCOPIA DE LUZ

Para exame histológico, pequenos fragmentos de tecido contendo parasitas foram colhidos e fixados em Davidson (20 ml de formol, 30 ml de álcool 95%, 10 ml de ácido

acético e 30 ml água destilada), na proporção de nove partes de fixador para uma de material biológico (9:1), por 24 horas, a fim de inativar as enzimas, conservando a estrutura celular mais próxima de como se apresenta *in vivo*, sem a ação autolítica. Cortes histológicos, com 5 (cinco) μm de espessura, foram preparados e corados seguindo um protocolo padrão do LPCA / UFRA (ANEXO C). Após a fixação, os fragmentos foram processados passando por uma bateria de concentrações alcoólica crescente, em seguida foi realizada a diafanização, inclusão em parafina (TISSUE EMBEDDING CENTER MICRON EC350), microtomia (ROTARY MICROTOME MICRON HM315) e coloração (Hematoxilina-Eosina e Ziehl-Neelsen) (LUNA, 1968). Após coloração das lâminas, foram fotografadas com auxílio de microscópio óptico ZEISS PRIMO STAR com câmera ZEISS AXIO CAM ERC 5s. Pequenos fragmentos parasitados foram removidos e examinados utilizando a técnica de contraste de interferência diferencial (DIC).

4.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA

Para microscopia eletrônica de transmissão (TEM), pequenos fragmentos das regiões parasitadas foram fixados em glutaraldeído 3%, em 0,2 M de cacodilato de sódio tamponado (pH 7.2) por 3 h a 4°C. Em seguida, lavados no mesmo tampão por 2-4 h a 4°C, e pós-fixados em tetróxido de ósmio a 2%, tamponado, por 2 horas na mesma temperatura. Foram desidratados em série crescentes de etanol, passagem em óxido de propileno, embebidos e incluídos em Epon (ANEXO D). Cortes ultrafinos foram contrastados com acetato de uranila e citrato de chumbo, e observados em microscópio eletrônico de transmissão.

Para observação em microscopia eletrônica de varredura (MEV), esporos isolados ou pequenos fragmentos de tecidos parasitados foram fixados e processados, semelhantes a MET. No entanto, após o processo de desidratação, os materiais passaram pelo processo de secagem ao ponto crítico e foram metalizados com uma fina camada de ouro para visualização em microscópio eletrônico de varredura.

Referida tecnologia foi processada e armazenada para disponibilização de futuras observações com o material das parasitoses encontradas, a fim de que possamos divulgar com maiores detalhes, toda a morfologia dos esporos, ciclo de vida e danos que por ventura possam causar aos hospedeiros.

4.5 BIOLOGIA MOLECULAR

Para biologia molecular os fragmentos colhidos foram fixados em álcool a 80% estando em fase de análise. Referido material foi processado e armazenado para análises posteriores, na determinação principalmente de espécies novas.

4.6 ANÁLISE DOS DADOS

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

5 RESULTADOS

Foram analisados 60 espécimes durante o período de estudo, incluindo as classes de tamanhos distintos, com 9,8 (6,5 – 12,9) cm de comprimento padrão e 70,2 (20,9 – 160) g de peso.

Durante o período de observação em aquários, todos os peixes apresentaram comportamento normal, não sendo observadas alterações fisiológicas ou anatômicas associadas ao parasitismo, nem registro de mortalidade entre eles. Apesar de que, em alguns casos, foram observados animais rodopiando, e que invariavelmente, levavam a morte do hospedeiro. Foi examinado o sistema nervoso central destes animais em microscopia de luz, não sendo encontrada a presença de *Myxobolus*, característica principal da “doença do rodopio” em salmonídeos.

No exame da superfície corporal externa dos espécimes analisados não foram observados a existência de ectoparasitas, lesões ou perda de revestimento. Internamente os órgãos se apresentavam íntegros, com cores vivas e coloração característica de cada órgão.

Exame microscópico revelou que os animais apresentavam parasitismo por dois gêneros da classe Myxospora: *Kudoa* e *Ellipsomyxa*, parasitando a musculatura somática e a vesícula biliar, respectivamente.

Na musculatura, os esporos de *Kudoa* sp. apresentavam-se em formações pseudocísticas alongadas, medindo 255,8 (163,2-373,7) de comprimento e 33,3 (26,3-41,1) de largura, distribuídos de forma aleatória na musculatura somática, não sendo possível

observação macroscópica dos pseudocistos. Os pseudocistos se desenvolveram extra e intracelularmente na musculatura estriada esquelética do sistema tegumentar de *S. aequifasciatus*, dispersos ao longo das fibras musculares estriadas, inclusive na região cefálica.

Pseudocistos frescos liberam, com facilidade, grande quantidade de esporos quando pressionados entre lâmina / lamínula com uma gota d'água, durante a necropsia, observados em ML (Figura 7 A).

Preparações a fresco, observados em microscópio de luz, mostrou que os esporos apresentavam forma quadrada ou pseudoquadrada em vista apical, medindo 6,6 (6,5-6,8) de comprimento e 6,0 (5,8-6,2) de largura, sem ornamentações, com quatro capsulas polares iguais (Figuras 7B, 9A, B). Estas estavam dispostas lado a lado com o vértice convergindo para o polo apical dos esporos. As cápsulas polares mediram 2,25 (2,0-2,6) de comprimento e 1,4 (1,2-1,6) de largura, piriformes e internamente com um filamento polar enrolado em forma de espiral, em cada uma delas.

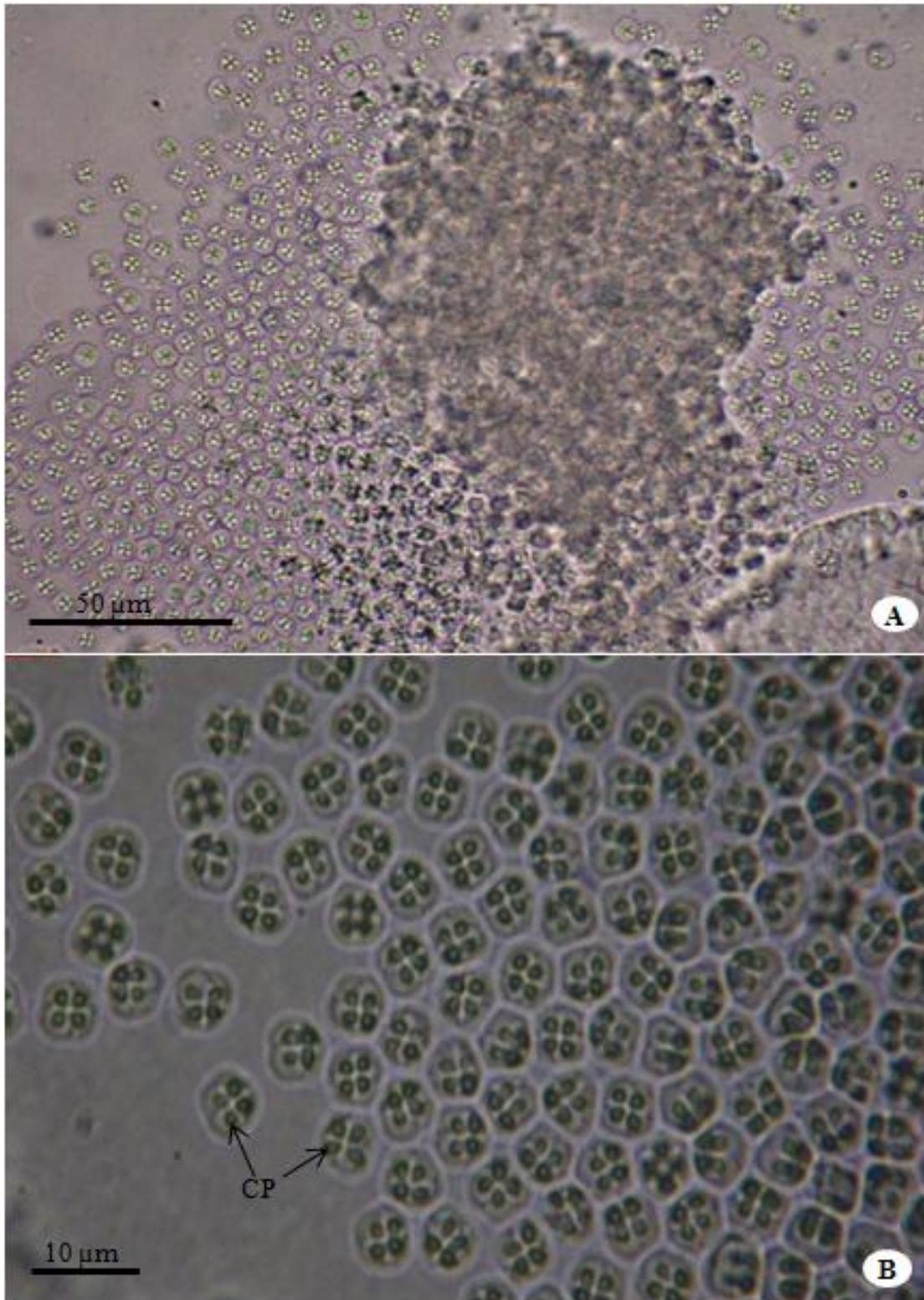
A intensidade da infecção por *Kudoa* sp. variou de animal para animal, com presença de pseudocistos, às vezes incontáveis, em pequenos fragmentos colhidos da área do sistema tegumentar, mais especificamente na musculatura estriada esquelética. A presença e intensidade das lesões pseudocísticas na musculatura de *S. fasciatus* são ilustrada na Figura 8 (A e B).

A prevalência da infecção por *Kudoa* sp. foi de 100% nos espécimes coletados nas três localidades, durante todo o período de estudo.

Sítio de desenvolvimento e patologia: estudo histológico revelou infecção difusa e acentuada das fibras por esporos de *Kudoa* sp. os quais se organizam na forma de pseudocistos, se desenvolvendo dentro das fibras musculares estriadas esqueléticas. As fibras musculares revelam que os metazoários se organizam em grandes cistos intracitoplasmáticos e intersticiais (Figura 10 A).

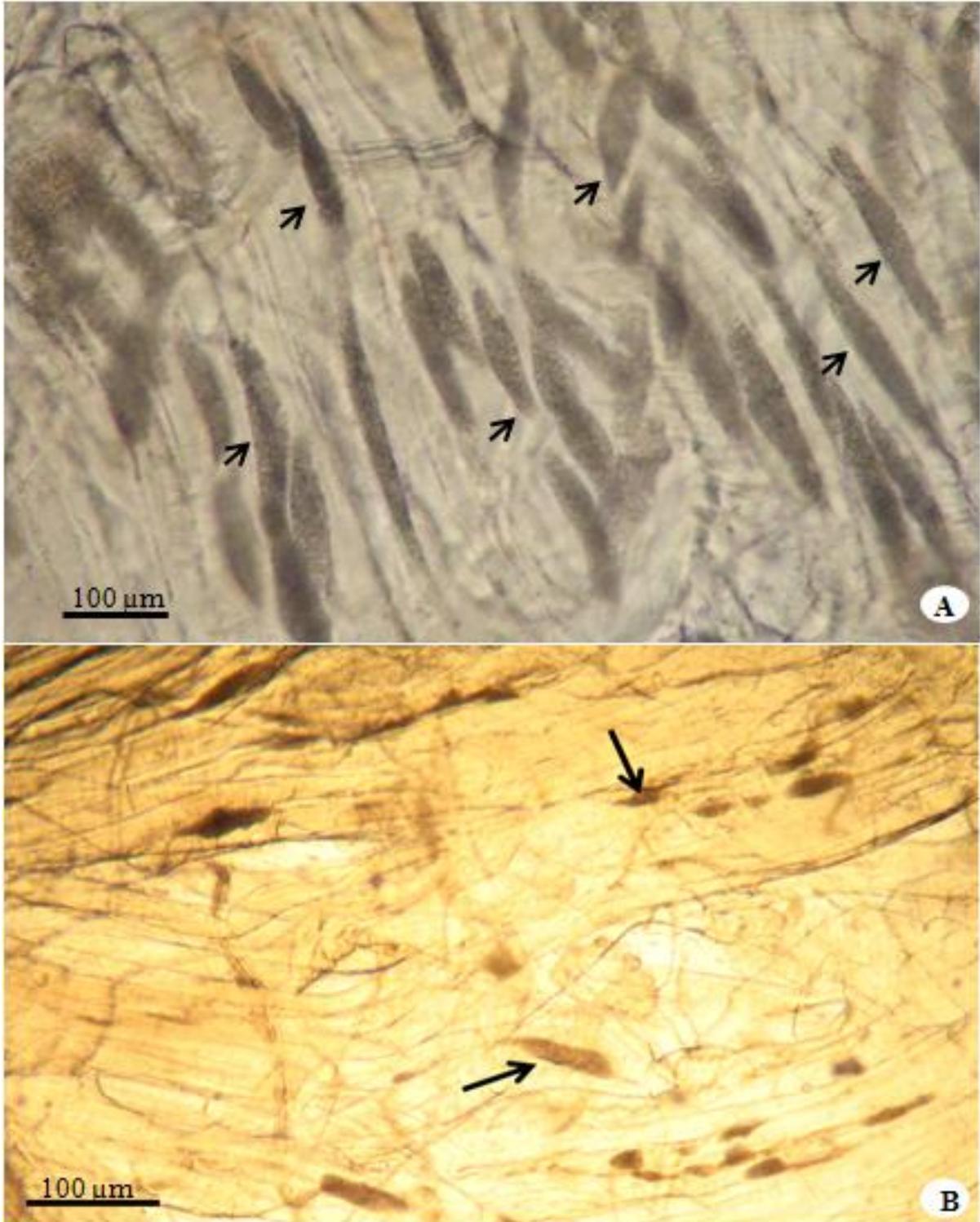
Vale ressaltar que algumas fibras musculares apresentam mais de um cisto parasitário por célula (Figura 10 B), sem evidências de reação inflamatória associada à infecção.

Figura 7 - Observação a fresco em microscopia de luz (ML) de nuvem de esporos liberados com a ruptura de pseudocisto (A) e esporos maduros de *Kudoa* sp. com destaque para as cápsulas polares (B).



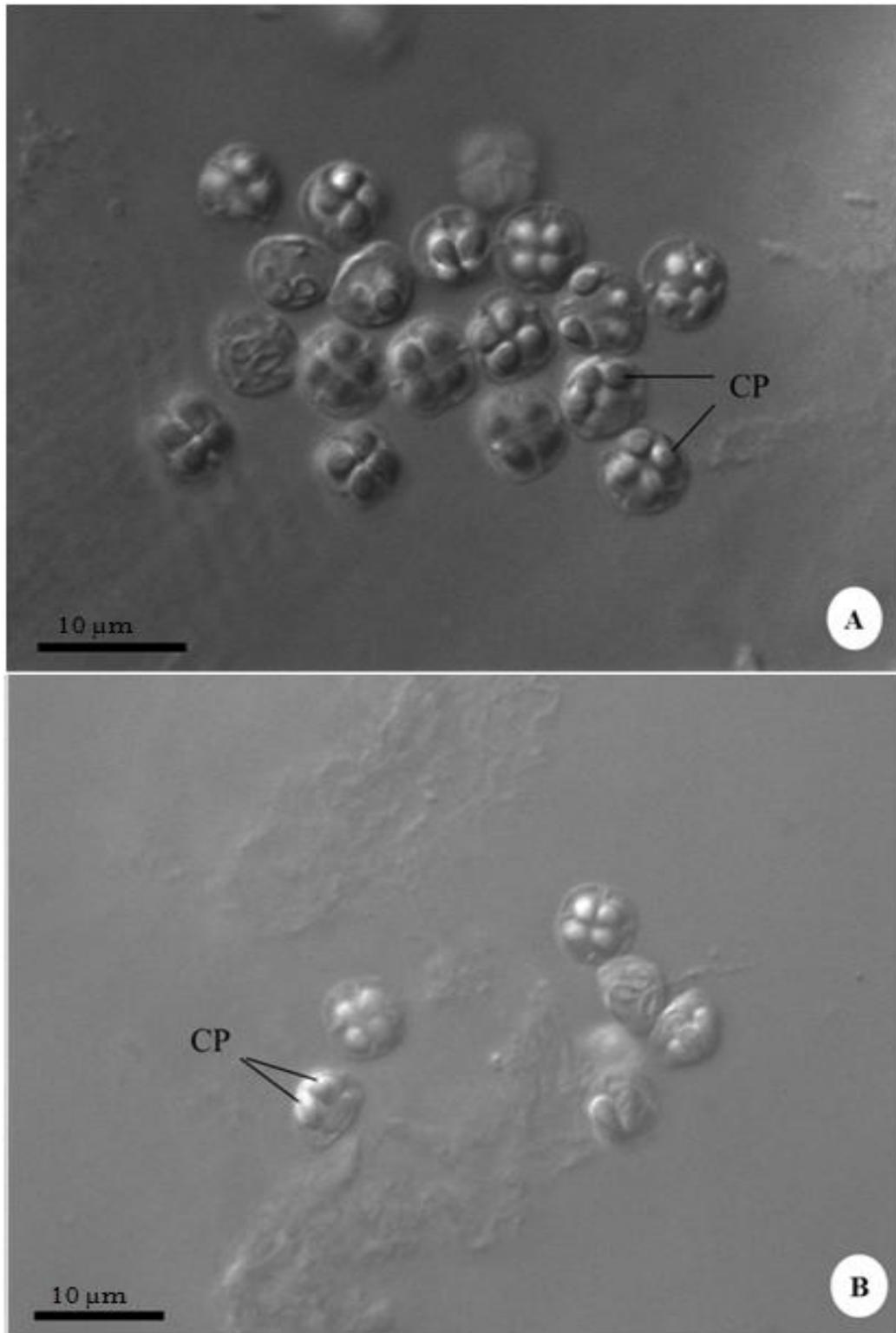
Fonte: arquivo do autor

Figura 8 - Observação a fresco em microscopia de luz (ML) de pseudocistos na musculatura (seta) A e B.



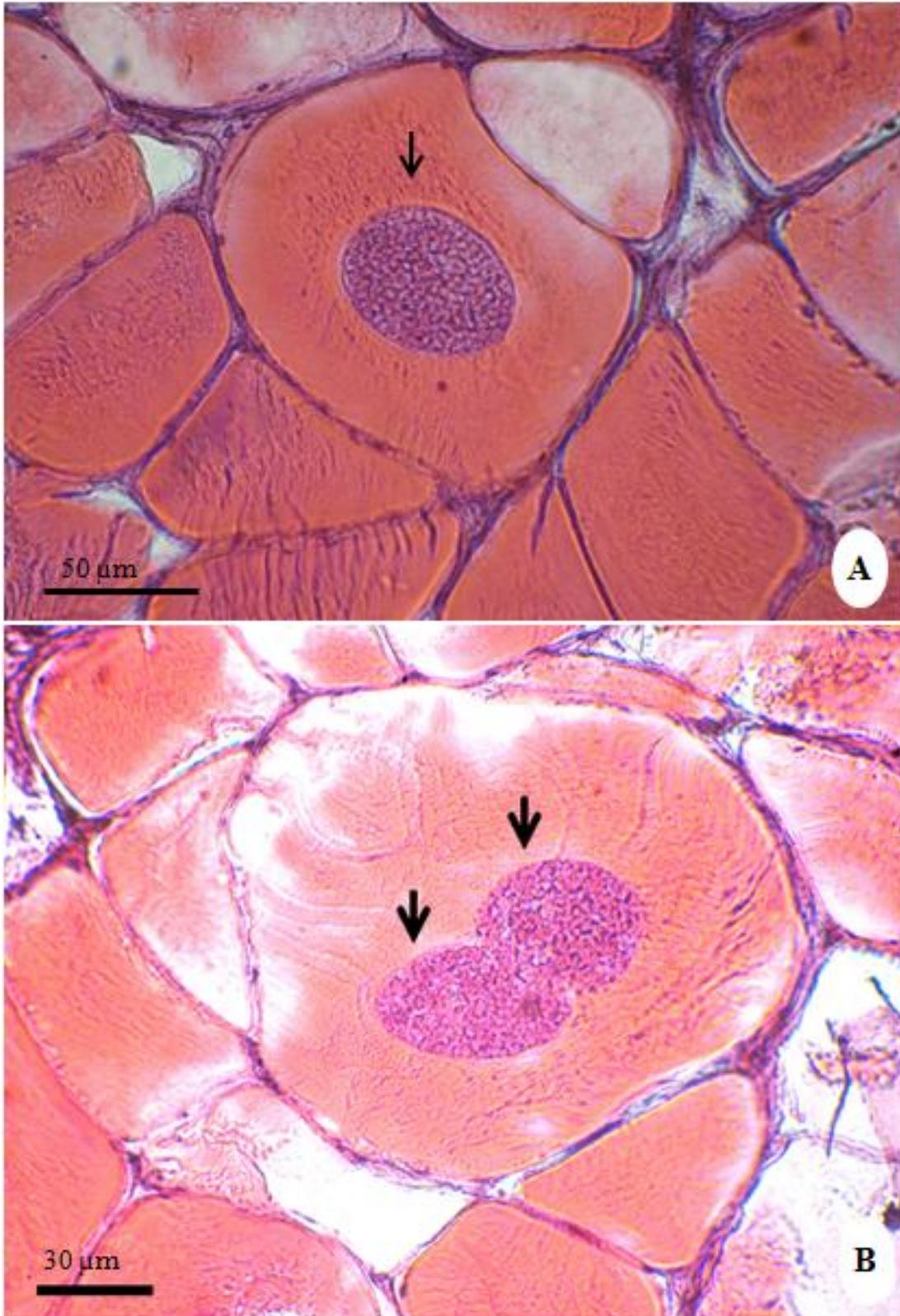
Fonte: arquivo do autor

Figura 9 – Observação em ML com uso de contraste de interferência diferencial (DIC): A) vista apical dos esporos de *Kudoa* sp. com destaque para as cápsulas polares; B) Vista lateral de esporos de *Kudoa* sp. com destaque para as cápsulas polares.



Fonte: arquivo do autor

Figura 10 – Observação em microscopia de luz (ML) de corte histológico da musculatura com a presença de um pseudocistos de *Kudoa* sp. na fibra muscular (seta) corados em HE (A) e presença dois pseudocistos de *Kudoa* sp na mesma célula (seta) (A).



Fonte: arquivo do autor

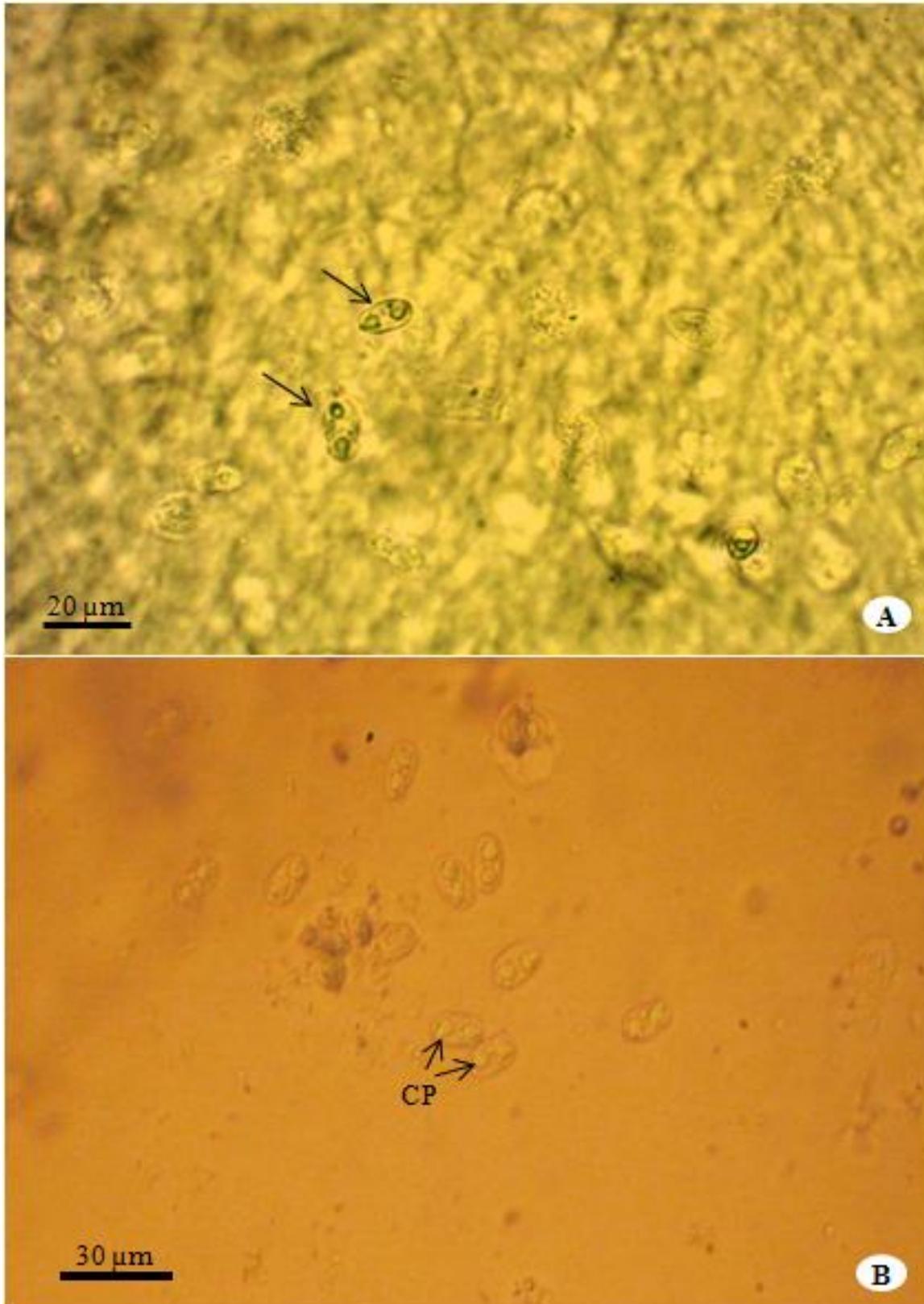
Na vesícula biliar observação microscópica revelou a presença de esporos livres, piriformes ou arredondados, na vesícula biliar, disseminados de forma aleatória no líquido biliar e na parede do órgão (Figura 11), medindo 13,0 (12,5-14,5) de comprimento e 8,25 (8,0-8,5) de largura, com duas válvulas finas lisas alongadas na direção perpendicular ao plano da linha central transversal de sutura reta, com duas cápsulas polares elipsoidais em lados opostos, cada uma medindo 4,3 (4,0-4,6) de comprimento e 3,4 (3,25-3,5) de largura (Figura 11 B).

Preparações a fresco revelaram também a presença de formas jovens, plasmódios (Figura 12 A), pouco individualizados e plasmódios di-espóricos (Figura 12 B).

O parasitismo por *Ellipsomyxa* sp. foi evidenciado após observação a fresco em microscopia de luz (ML) e confirmado através de corte histológico (Figura 13). A prevalência da infecção por *Ellipsomyxa* sp. foi de 100% nos espécimes coletados nas três localidades, durante todo o período de estudo.

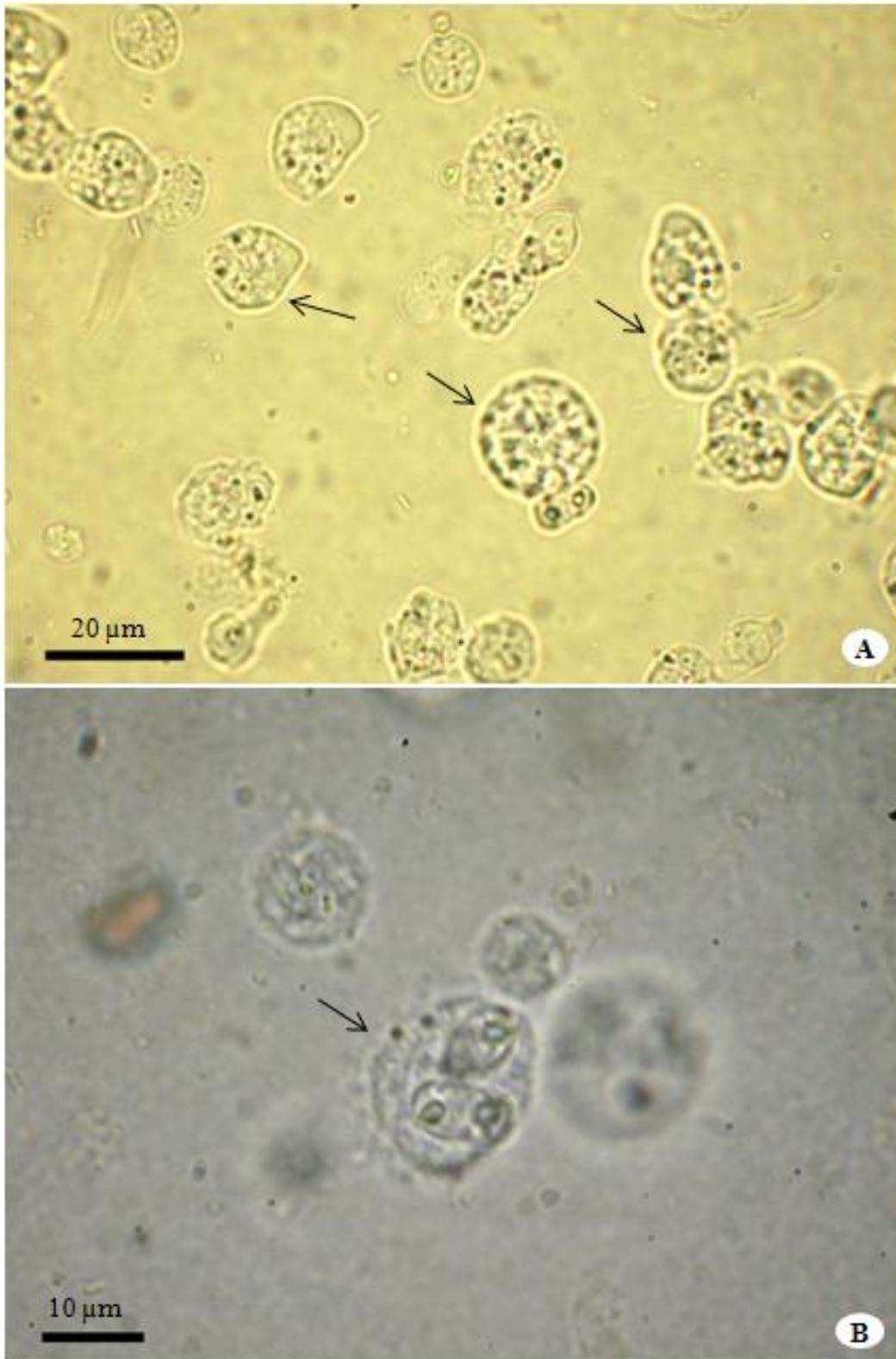
A presença e intensidade de infecção na vesícula biliar de *S. fasciatus* são ilustradas na Figura 11.

Figura 11 – Observação a fresco em ML de esporos de *Ellipsomysa* sp. presentes no líquido biliar.



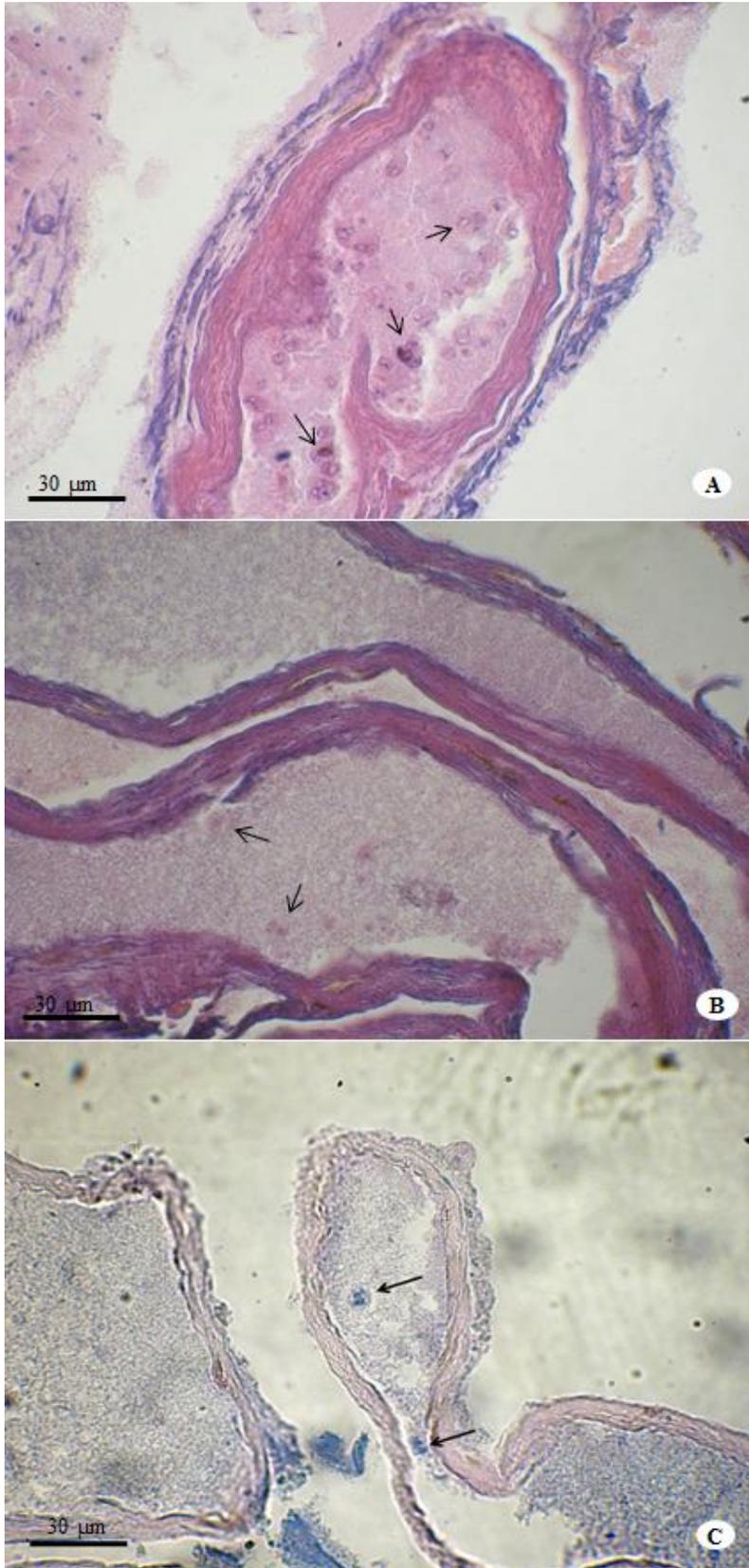
Fonte: arquivo do Autor.

Figura 12 – Observação a fresco em ML formas jovens de *Ellipsomysa* sp. presentes no líquido biliar (A) e plasmódios di-espóricos (B).



Fonte: arquivo do Autor.

Figura 13 - Observação em ML de corte histológico da vesícula biliar com esporos de *Ellipsomysa* sp. corados em H.E (A e B), e Ziehl-Neelsen (C).



Fonte: do Autor.

6 DISCUSSÃO

A infecção por *Kudoa* sp. ocorre predominantemente nos tecidos do músculo esquelético de peixes marinhos e de água doce. (VELASCO et al., 2002; MANSOUR et al., 2013) normalmente com presença de pontos esbranquiçados (VELASCO et al., 2002; ABDEL-GHAFFAR et al., 2009; MATSUKANE et al., 2011; HEINIGER & ADLARD, 2012; MANSOUR et al., 2013). No presente estudo foi diagnosticada a presença de pontos esbranquiçados. Entretanto, tais pontos só puderam ser observados microscopicamente devido suas dimensões.

Em relação ao sitio de infecção por *Kudoa* sp. do presente estudo, existe semelhança com as espécies descritas por Matsukane et al. (2011) e Akaishi et al. (2004), tendo, também, como sítios de infecção a musculatura do hospedeiro. Com relação às dimensões das formações císticas existem diferenças significativas (até 10 vezes menor), quando comparado com outras espécies (Tabela 1).

Tabela 1: Comparação das medidas (mm) dos cistos de *Kudoa* sp. com outras de espécies do gênero descritas na literatura.

Espécie	Hospedeiro	Sítio de infecção	Comprimento	Largura	Referência
<i>K. iwatai</i>	<i>Lateolabrax japonicus</i>	Musculatura	1.5 (1.4–1.7)	1.3 (1.1–1.6)	Matsukane et al. 2011
<i>K. iwatai</i>	<i>Acanthopagrus schlegelii</i>	Musculatura	1.3(1.0–1.7)	1.0 (0.6–1.3)	Matsukane et al. 2011
<i>K. trachuri</i>	<i>Trachurus japonicus</i>	Musculatura	1.6 (1.5–1.6)	0.9 (0.6–1.1)	Matsukane et al. 2011
<i>K. thunnis</i>	<i>Thunnus alalunga</i>	Musculatura	1.5 (1.3–2.0)	1.2 (1.1–1.4)	Matsukane et al. 2011
<i>K. funduli</i>	<i>Fundulus heteroclitus</i>	Musculatura	2,0	0,1	Akaishi et al. (2004)
<i>Kudoa</i> sp.	<i>S. aequifasciatus</i>	Musculatura	0,25 (0,16-0,37)	0,03 (0,02-0,04)	Presente estudo

Mensuração em milímetro com média e variação (entre parênteses)

Quanto a forma e estrutura interna, as características são semelhantes às descritas por Akaishi et al., 2004; Matsukane et al., 2011 e Mansour et al., 2013. No entanto, considerando as dimensões dos esporos e das cápsulas polares, no presente estudo por *Kudoa* sp., apresenta diferenças significativas quando comparada com as dimensões de *K. azevedoi*, *K. trachuri*, *K. funduli* parasitando outros hospedeiros, sugerindo que o atual parasito é uma nova espécie do gênero *Kudoa* (Tabela2), mas que deverá ser confirmada ou não, com a biologia molecular.

Tabela 2: Comparação das medidas (μm) dos esporos de *Kudoa* sp. com outras de espécies do gênero descritas na literatura.

Espécie	Hospedeiro	Sítio de infecção	Esporos			Capsula polar		Referência
			Comp.	Larg.	Espes.	Comp.	Larg.	
<i>K. azevedoi</i>	<i>Trachurus trachurus</i>	Ovário	3,5	4,55 (4-5,2)	3,8 (3,3-4,8)	1,5 (1,5-2)	0,75 (0,5-1).	Mansour et al., 2013
<i>K. trachuri</i>	<i>Trachurus japonicus</i>	Musculatura	6,1 (5,5-6,9)	7,9 (7,0-8,5)	5,8 (5,3-6,2)	2,9 (2,6-3,5)	2,0 (1,6-2,2).	Matsukane et al., 2011
<i>K. funduli</i>	<i>Fundulus heteroclitus</i>	Musculatura	5,2 (5,1-5,4)	7,0 (6,6-7,4)	4,8 (4,3-5)	1,9 (1,7-2,3)	1,6 (1,4-1,7)	Akaishi et al., (2004)
<i>Kudoa</i> sp.	<i>S. aequifasciatus</i>	Musculatura	6,6 (6,5-6,8)	6,0 (5,8-6,2)	6,5 (6,3-6,8)	2,25 (2,0-2,6)	1,4 (1,2-1,6)	Presente estudo

Mensuração em *micrômetro* com média e variação (entre parênteses)

A intensidade da infecção variou de algumas a várias centenas de cistos por peixe, resultados semelhantes aos encontrados por Akaishi et al. (2004).

Mansour et al. (2013), relata ocorrência de *K. azevedoi* infectando ovócitos de *Trachurus trachurus*, onde a espécie em questão demonstra especificidade, parasitando somente o ovário de *T. trachurus* não sendo encontrado em outros órgãos do hospedeiro ou nos indivíduos machos. No presente estudo não se observou especificidade intraespecífica, a prevalência foi de 100% durante todo o período de estudo e, apesar de haver variação na intensidade de infecção, esta não estava relacionada à classe de tamanho ou sexo, ocorrendo com a mesma intensidade nos espécimes machos e fêmeas de *S. aequifasciatus*.

Segundo Andrada et al. (2005), a maioria dos relatos da ocorrência do gênero *Kudoa* mostra alterações de natureza inflamatória, frequentemente associadas à parasitose, com ampla variação da resposta tecidual. Entretanto, em nossos estudos não foi observada reação de natureza inflamatória associada ao parasitismo. Resultados semelhantes foram obtidos por Andrada et al. (2005), onde foram observadas lesões causadas por *Kudoa* sp. nas fibras musculares somáticas do peixe espada (*Trichiurus lepturus*), capturado na praia de Itaipu, Niterói/RJ.

Atualmente não existe um método rápido para identificar e quantificar infecção por *Kudoa* sp.. Um método de contagem visual, em que visíveis pseudocistos brancos são contados, tem sido sugerido para a pescada do Pacífico (HENNING et al., 2013).

Em relação à espécie de *Ellipsomyxa* sp. encontrada, além dos esporos maduros, o presente estudo revelou a presença de formas jovens, plasmódios (Figura 9C,D), pouco individualizados e plasmódios di-espóricos (Figura 9D), divergindo dos resultados obtidos por Kjøie & Karlsbakk (2009), a partir de amostras de *Syngnathus typhle*, onde todos os plasmódios observados eram monospóricos.

A intensidade da infecção variou de alguns unidades a dezenas de esporos por peixe, resultados semelhantes aos encontrados por Azevedo et al. (2013).

Quanto ao sítio de infecção e características morfológicas dos esporos, os resultados obtidos no presente trabalho são semelhantes aos encontrados por (AZEVEDO et al., 2013; Kjøie & Karlsbakk, 2009). No entanto, considerando as dimensões dos esporos e das cápsulas polares no presente estudo, *Ellipsomyxa* sp. é bem diferente, pois na análise comparativa com as dimensões de esporos e de estruturas internas, de outras espécies hospedeiras, sugerem que o presente parasito é uma nova espécie do gênero *Ellipsomyxa* (Tabela 3), necessitando de comprovação pela biologia molecular.

Tabela 3: Comparação das medidas (μm) dos esporos de *Ellipsomyxa* spp. com outras de espécies do gênero descritas na literatura.

Espécie	Hospedeiro	Sítio de infecção	Esporos		Capsula polar		Referência
			Comp.	Larg.	Comp.	Larg.	
<i>Ellipsomyxa syngnathi</i> n. sp.	<i>Syngnathus typhle</i>	V. biliar	6,8 (6,3-7,2)	8,1 (7,2-8,6)	3,6 (3,2-4,1)	2,9 (2,7-3,2)	Kjøie & Karlsbakk (2009)
<i>Ellipsomyxa gobioides</i> n. sp.	<i>Gobioides broussonnetii</i>	V. biliar	6,8 (6,5-7,0)	7,2 (6,9-7,5)	4,6 (4,3-4,8)	2,5 (2,1-2,7)	Azevedo et al. (2013)
<i>Ellipsomyxa</i> sp	<i>S. aequifasciatus</i>	V. biliar	13,0 (12,5-14,5)	8,25 (8,0-8,5)	4,3 (4,0-4,6)	3,4 (3,2-3,5)	Presente estudo

Observações a fresco e estudo histopatológico não evidenciaram uma resposta, de qualquer natureza, do hospedeiro ao parasitismo por *Ellipsomyxa* sp., sendo necessário investigação mais detalhada para tentar elucidar. Quanto as análises ultraestruturais e moleculares, como descrito na metodologia, não foi possível a realização até o momento, ficando para posterior publicação dos resultados em produções futuras.

Como resultado da propagação de Mixosporídios no ambiente aquático, a ingestão de peixes parasitados é hoje comum, enquanto suas consequências imunológicas ainda são desconhecidas (VELASCO et al., 2002).

Segundo Campos (2006), o estudo da fauna parasitária dos peixes de água doce é de extrema relevância, não só pelo aspecto econômico, mas por uma questão de saúde pública, uma vez que podem ser portadores de zoonoses.

Existem relatos de mixosporidiose em humanos, geralmente a infecção possui causa acidental por ingestão de alimento contaminado (geralmente peixes). Há descrições de trabalhos relatando esporos em fezes de pacientes, que provavelmente ingeriram peixe contaminado com mixosporídios (McClelland, 1997; Boreham et al, 1998).

Recentemente, uma intoxicação alimentar relatada em uma população no Japão foi associado com o consumo de *Paralichthys olivaceus*, infectado com *Kudoa septempunctata*,

onde o parasita foi encontrado nas fezes de pacientes com doença gastrointestinal (KAWAI et al., 2012), demonstrando a patogenicidade de esporos de *K. septempunctata* na espécie humana comprovada pela análise da inoculação em animais de laboratório, que manifestaram estado diarreico, também nos animais inoculados.

7 CONCLUSÕES

É o primeiro registro de mixosporidiose em Acará-disco no Brasil.

A análise morfológica feita, tendo como base as estruturas observadas em ML, e à especificidade do parasito, sugere que a espécie de *Kudoa* sp. descrita deverá ser uma nova espécie após as análises ultra-estruturais e moleculares.

A análise morfológica feita, tendo como base as estruturas observadas em ML, e à especificidade do parasito, sugere que a espécie de *Ellipsomyxa* sp. descrita deverá ser uma nova espécie após as análises ultra-estruturais e moleculares.

AGÊNCIAS DE FOMENTO

Projeto financiado pelo Edital Universal CNPq n° 478269/2011-0 (2012-2013), coordenado pelo Prof. Dr. Edilson Rodrigues Matos, orientador.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-GHAFFAR, F.; BASHTAR, ABDEL-RAHMAN; MEHLHORN, H.; AL-RASHEID, K.; AL-OLAYAN, E.; ABDEL-BAKI, ABDEL-AZEEM; MORSY, K. Ultrastructure and host parasite relationships of *Kudoa pagrusi* (Myxozoa) infecting the heart muscles of sea bream *Pagrus pagrus* (L.) from the Red Sea. **Parasitol Res** (2009) 106:121- 129.
- AKAISHI, F.; EASY, R.; ST-JEAN, S.; COURTENAY, S.; RIBEIRO, C. A. DE O.; CONE, D. Supplemental diagnosis of *Kudoa funduli* (myxozoa) parasitizing *Fundulus heteroclitus* (cyprinodontidae) from Coastal Northeastern North America. **Journal of Parasitology**, 90(3):477-480. 2004.
- AMADO, M. VILLAR; FARIAS, IZENI P.; HRBEK, TOMAS. A Molecular Perspective on Systematics, Taxonomy and Classification Amazonian Discus Fishes of the Genus *Symphysodon*. **International Journal of Evolutionary Biology**, Volume 2011, Article ID 360654, 16 pages.
- ANDRADA, C. DEL G. DE; TORTELLY, R.; NOGUEIRA, P. P.; ANDRADE, C. L.; LIMA, F. C. DE. *Infecção por Kudoa Meglitsch, 1947 (Myxozoa:Multivalvulida) em musculatura esquelética de espada Trichiurus lepturus L. (Teleostei: Trichiuridae)*. **Parasitol Latinoam** 60: 150 - 153, 2005.
- AZEVEDO, C.; VIDEIRA, M.; CASAL, G.; MATOS, P.; OLIVEIRA, E.; AL-QURAIISHYF, 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**, 2013, 60, 490–496.
- AZEVEDO, C.; CASAL, G. MENDONÇA, I.; MATOS, E. Fine structure of *Henneguya hemiodopsis* sp. n. (Myxozoa), a parasite of the gills of the Brazilian teleostean fish *Hemiodopsis microlepes* (Hemiodontidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 104(7): 975-979, November 2009.
- 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). **J. Eukaryot. Microbiol**, 55(3), 2008 pp. 229–234.
- AZEVEDO, C.; CORRAL, L.; MATOS, E. Ultrastructure of *Triangulamyxa amazonica* n. gen. and n. sp. (Myxozoa, Myxosporea), a parasite of the Amazonian freshwater fish, *Sphoeroides testudineus* (Teleostei, Tetradontidae). **European Journal of Protistology** v.41. p.57–63. 2005.
- BORGES, J.C.L. Sustentabilidade econômica da atividade pesqueira em Santa Catarina. **Rev.Ciê. Hum**, Florianópolis, EDUFSC, Volume 43, Número 2, p. 401-414, Outubro de 2009.

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. **J. Clin. Microbiol.**, v. 36, p. 3728–3730, 1998.

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

CASAL, G.M.F. **Microsporidioses e Myxosporidioses da ictiofauna portuguesa e brasileira:** caracterização ultrastrutural e filogenética. (Dissertação de doutorado em Ciências Biomédicas). Universidade do Porto, Portugal, 2009.

CAMPOS, C. M. de; MORAES, J. R. E. de; MORAES, F. R. de Histopathology of gills of *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) and *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) infested by monogenean and myxosporea, caught in Aquidauana River, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, Jaboticabal, v. 20, n. 1, p. 67-70, jan.-mar. 2011.

CAMPOS, C. M. de. **Fauna parasitária e alterações teciduais em três espécies de peixes dos rios Aquidauana e Miranda, Pantanal sul Mato-Grossense.** (Doutorado em Aquicultura) – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal-SP, 2006. Disponível em: <<http://www.caunesp.unesp.br/>>. Acesso: 16 de maio de 2013.

CECCARELLI, PAULO S.; SENHORINI, JOSÉ A.; VOLPATO, GILSON, **Dicas em piscicultura: perguntas & respostas.** Botucatu: Santana gráfica editora, 2000. 247 p.

CRAMPTON, W. G. R. The impact of the ornamental fish trade on the discus *Symphysodon aequifasciatus*: a case study from the flood plain forests of Estação Ecológica Mamirauá. Pp. 29-44. In: Padoch, C., J. M. Ayres, M. Pinedo-Vasquez & A. Henderson (Eds.). **Várzea: Diversity, Conservation and Development of Amazonia's White water Floodplains.** New York, New York Botanical Garden Press, 1999.

CRAMPTON, William G. R. Ecology and life history of an Amazon floodplain cichlid: the discus fish *Symphysodon* (Perciformes: Cichlidae). **Neotropical Ichthyology**, 6(4):599-612, 2008.

DIAS, M. T.; BRITO, M. L. S.; LEMOS, J. R. G. Protozoários e metazoários parasitos do cardinal *Paracheirodon axelrodi* Schultz, 1956 (Characidae), peixe ornamental proveniente de exportador de Manaus, Estado do Amazonas, Brasil. **Acta Scientiarum.** Biological Sciences. Maringá, v. 31, n. 1, p. 23-28, 2009.

GAGLIO, G.; MARINO, F.; MONACO, S.; GIANNETTO, S. Lesioni muscolari da *Kudoa* sp. (Myxosporea: Multivalvulida) in un esemplare di pesce spada (*Xiphias gladius*) pescato nel Mediterraneo. **Large Animal Review** 2010; 16: 291-293

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Censo Demográfico do município de Cametá/PA 2010. Disponível em: <http://cidades.ibge.gov.br>. Acesso: 27/12/13.

KENT, M. L.; ANDREE, K. B.; BARTHOLOMEW, J. L.; EL-MATBOULI, M.; DESSER, S. S.; DEVLIN, R. H.; FEIST, S. W.; HEDRICK, R. P.; HOFFMANN, R. W.; KHATTRA,

J.; HALLETT, S. L.; LESTER, R. J.; LONGSHAW, M.; PALENZEULA, O.; SIDDALL, M. E.; XIAO, C. Recent advances in our knowledge of the Myxozoa. **Journal Eukaryotic Microbiology** v. 48. p. 395-413. 2001.

HEINIGER, H. & ADLARD R. D. Host specificity and local infection dynamics of *Kudoa leptacanthae* n. sp. (Multivalvulida: Kudoidae) from the pericardial cavity of two *Zoramia* spp. (Perciformes: Apogonidae) at Lizard Island lagoon, Queensland, Australia. **Parasitology International** v. 61, p. 697–706, 2012.

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

LUQUE, J.L. Biologia, epidemiologia e controle de parasitas de peixes. CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA & I SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RICKETISIOSES, 13º; **Anais.** Ouro Preto, MG, 2004.

LOM, J., AND J. ARTHUR. A guideline for the preparation of species descriptions in Myxosporea. **Journal of Fish Diseases**, v. 12: p. 151–156, 1989.

LOM, J.; NOBLE, E. R. Revised classification of the class Myxosporea Butschli, 1981. **Folia Parasitologica**, v. 31, n. 3, p. 193-205, 1984.

LOM, J. & DYKOVÁ, I. Myxozoan genera: definition and notes on taxonomy, life-cycle terminology and oathogenic species. **Folia Parasitol**, v. 43. p.1-36, 2006.

LOM, J.; DYKOVÁ, I. Mixosporidia (phylum Myxozoa). In: **Lom J. & Dyková I. (eds). Protozoan parasites of fishes. Developments in aquaculture and fisheries science.** v.26. Amsterdam: Elsevier, p.159-235, 1992.

LOPES, L. P. C.; KARLING, L. C.; TAKEMOTO, R. M.; ROSSONI, F.; FERREIRA, E. J. G.; PAVANELLI, G. C. A new species of *Dadayius* Fukui, 1929 (Digenea: Cladorchiidae), parasite of *Symphysodon aequifasciatus* Pellegrin, 1904 (Perciformes: Cichlidae) from the Purus River, Amazon, Brazil. **Parasitological Institute of SAS, Košice (HELMINTHOLOGIA)**, v. 48, n. 3: p. 200 – 202, 2011.

LUNA, L.G. **Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces.** Institute of Pathology. 3rded., New York, MacGraw-Hill Book Company, 1968.

MATSUKANE, Y.; SATO, HIROSHI; TANAKA SHUHEI; KAMATA, YOICHI; 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. **Parasitol Res** v.108, p.913–926, 2011.

MCCLELLAND R.S., MURPHY M.D., CONE D.K. Report of spores of *Henneguya salminicola* (Myxozoa) in human stool specimens: possible source of confusion with human sper-matozoa. **J. Clin. Microbiol.** V. 35, p. 2815–2818, 1997.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. [Estatística da Pesca e Aquicultura 2011](http://www.mpa.gov.br/). Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/>. Acesso: 27/12/13.

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

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

ROSSONI, F.; AMADIO, S.; FERREIRA, E.; ZUANON, J. Reproductive and population parameters of discus fish *Symphysodon aequifasciatus* Pellegrin, 1904 (Perciformes: Cichlidae) from Piagaçu-Purus Sustainable Development Reserve (RDS-PP), lower Purus River, Amazonas, Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 8, n. 2, p. 379-383, 2010.

SANTOS, G.M.; FERREIRA, E.J.G. Peixes da Bacia Amazônica. In: **Lowe-McConnell, R.H. Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais**. Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo, São Paulo. p.345-373. 1999.

SOUSA, R.G.C.; FREITAS, C.E.C.; WITKOSKI, A.C.; BRITO, M.A.S. Mudanças Sociais na Pesca Artesanal: Um Estudo a partir da Pressão Sobre o Estoque de Tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818) do Lago Grande de Manacapuru (AM). **IV Encontro Nacional da Anppas**. Brasília, 2008.

UEDA, B. H.; KARLING, L. C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C. Parasites of the freshwater fish trade in Brazil: science metric study. **Pesq. Vet. Bras.** V. 33, n. 7, p. 851-854, julho 2013.

VELASCO, G M. DE; RODERO, M.; ZAPATERO, L; CUÉLLAR, C. Humoral Immune Responses Induced by *Kudoa* sp. (Myxosporea: Multivalvulida) Antigens in BALB/c Mice. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 97 n. 8, p. 1091-1095, Dezembro, 2002.

WANG, PEI-CHI; HUANG, JU-PING; TSAI, MING-AN; CHENG, SHU-YUN; TSAI, SHIN-SHYONG; CHEN, SHI-DE; CHEN, SHIH-PING; CHIU, SHIH-HAU; LIAW, LI-LING; CHANG, LI-THE; CHEN, SHIH-CHU. Systemic infection of *Kudoa lutjanus* n. sp. (Myxozoa: Myxosporea) in red snapper *Lutjanus erythropterus* from Taiwan. **Dis Aquat Org** v. 67, p.115–124, 2005.

ANEXOS

ANEXO A. Ficha de colheita de campo.

**LABORATÓRIO DE PESQUISA CARLOS AZEVEDO**
RELATÓRIO DE COLHEITA DE CAMPO

COLETA Nº:

DATA DA COLELHEITA: / /

LOCAL:

COORDENADAS GEOGRÁFICAS:

APETRECHO DE PESCA UTILIZADO:

ESPÉCIE COLHIDA:

Nº DE EXEMPLARES:

TEMPERATURA DA ÁGUA:

PH:

SALINIDADE:

ANEXO B: Ficha de Pesquisa de parasitos

**COLHEITA DE MATERIAL**

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

ANEXO C: 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 D: Ficha de processamento para Microscopia Eletrônica de Transmissão

**PREPARAÇÃO DE MATERIAL PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA**

MATERIAL..... Nº...../..... 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					
ALC 50.....30'	30'	1H	1H
ALC 75.....30' (*)	30'	1H	1H
ALC 90.....30'	60'	1H	1H
ALC 95.....30'	60'	1H	1H
ALC ABS I.....30'	60'	1H	2H
ALC ABS II.....30'	60'	1H	2H
ALC ABS III.....30'	30'	1H	1H
OX PROP I.....15'	15'	2H	2H
OX PROP II.....15'	15'	2H	2H
OX PROP III.....15'	15'	1H	1H
IMPREGNAÇÃO					
OX PROP + EPON (A+B) (3:1)..... 30'.....30'.....24H
OX PROP + EPON (A+B) (2:1)..... 30'.....60'.....24H
OX PROP + EPON (A+B) (1:1)..... 30'(*).....60'.....24H
OX PROP + EPON (A+B) (1:2)..... 30'.....60'.....24H
OX PROP + EPON (A+B) (1:3)..... 30'.....60'.....24H
EPON TOTAL AMBIENTE 30'/60'.....120'.....12/24 H
EPON TOTAL ESTUFA 60°C 30'.....30'.....30'/60'
INCLUSÃO:					
ENCAPSULAR E MANTER EM ESTUFA A 60° C...3 DIAS
OBS: (*) PODE DEIXAR A NOITE A 4°C					