



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

**REBECA SILVA DE ARAÚJO**

**ASPECTOS MORFOLÓGICOS DE PARASITOS DOS FILOS MYXOZOA E APICOMPLEXA EM *Thoracocharax stellatus* (KNER, 1858) (CHARACIFORMES: GASTEROPELECIDAE) CAPTURADOS EM IGARAPÉ NA MARGEM DIREITA DO RIO GUAMÁ, BELÉM, PARÁ**

**BELÉM – PARÁ**

**2016**

**REBECA SILVA DE ARAÚJO**

**ASPECTOS MORFOLÓGICOS DE PARASITOS DOS FILOS MYXOZOA E  
APICOMPLEXA EM *Thoracocharax stellatus* (KNER, 1858) (CHARACIFORMES:  
GASTEROPELECIDAE) CAPTURADOS EM IGARAPÉ NA MARGEM DIREITA  
DO RIO GUAMÁ, BELÉM, PARÁ**

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

Orientador: Dr. Edilson Rodrigues Matos

**BELÉM – PARÁ**

**2016**

---

Araújo, Rebeca Silva de

Aspectos morfológicos de parasitos dos filos Myxozoa e Apicomplexa em *Thoracocharax stellatus* (Kner, 1858) (Characiformes: Gasteropelecidae) capturados em igarapé na margem direita do Rio Guamá, Belém, Pará / Rebeca Silva de Araújo – Belém Pará, 2016.

70f.

Dissertação (Mestrado em Aquicultura e Recursos Aquáticos Tropicais) – Universidade Federal Rural da Amazônia, 2016.

Orientador: Edilson Rodrigues Matos

1. Peixe ornamental 2. Microparasito - características morfológicas 3. Água doce 4. Coccidiose I. Matos, Edilson Rodrigues, (orient.) II. Título.

CDD – 597.48

---

**REBECA SILVA DE ARAÚJO**

**ASPECTOS MORFOLÓGICOS DE PARASITOS DOS FILOS MYXOZOA E APICOMPLEXA EM *Thoracocharax stellatus* (KNER, 1858) (CHARACIFORMES: GASTEROPELECIDAE) CAPTURADOS EM IGARAPÉ NA MARGEM DIREITA DO RIO GUAMÁ, BELÉM, PARÁ**

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

Orientador: Prof. Dr. Edilson Rodrigues Matos

**Aprovado em 23 de fevereiro de 2016.**

BANCA EXAMINADORA

---

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

---

Prof. Dr. Igor Guerreiro Hamoy – 1º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

---

Prof. Dr. Moacir Cerqueira da Silva – 2º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

---

Prof. Dr. Fernando Araújo Abrunhosa – 3º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

## AGRADECIMENTOS

À Deus por permitir a realização desse projeto e o sonho que tinha em meu coração.

Aos meus pais, Zilda e Bolivar, pelo amor incondicional, compreensão e apoio em todas as minhas decisões.

Ao Fabrício Barros, por seu companheirismo, apoio e incentivo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Edilson Matos, por sua amizade, incentivo, paciência, compreensão e por seus conselhos nos momentos em que mais precisei.

À minha amiga, Ana Beatriz, por sua amizade, carinho, conselhos, apoio, incentivo e ajuda nos meus momentos difíceis. Obrigada!

À Patrícia Sacco, por sempre estar disposta a me ajudar com os procedimentos do laboratório.

À Marcia Sacco, minha colega de turma, por sua amizade e incentivo.

A turma da pescaria, Fabrício Barros, Ana Beatriz (Bia), Marysol (Sol), João (Juju), Jacqueline (Jack) e Edilson Matos (Prof.), muito obrigada por toda ajuda, dedicação, paciência e momentos de descontração.

À Michele e ao Neto, pelas sugestões e ajuda em todos os momentos que precisei.

Ao Sr. Augusto Jarthe Filho pela cessão da fotografia de *T. stellatus*.

A todos meus colegas do Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo (LPCA), por me deixarem fazer parte dessa família durante o tempo que estive na cidade de Belém-Pará.

A todos os funcionários, aos colegas de turma e professores da Pós-Graduação que direta ou indiretamente contribuíram para a minha experiência profissional e intelectual.

Ao programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Recursos Aquáticos Tropicais da Universidade Federal Rural da Amazônia, pela oportunidade de aprimorar meus conhecimentos.

A Capes, pelo auxílio financeiro.

Agradeço a todos que fazem parte da minha vida acadêmica, profissional e pessoal, que contribuíram direta ou indiretamente para realização desta conquista.

Com carinho, obrigada a todos!

## ***Dedico***

Aos meus pais, *Zilda e Bolívar*, pessoas incríveis que amo muito e me incentivam em todos os momentos da minha vida.

"Os que desprezam os pequenos acontecimentos  
nunca farão grandes descobertas. Pequenos  
momentos mudam grandes rotas. "

Augusto Cury

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>16</b>
<b>Figura 1</b> - Exemplar de <i>T. stellatus</i> em aquário no LPCA. ....	21
<b>Figura 2</b> - Desenhos esquemáticos de esporos de mixosporídios.....	24
<b>Figura 3</b> – Localização do ponto de coleta dos espécimes de <i>T.stellatus</i> (★).....	27
<b>Figura 4</b> – Exposição das brânquias e da cavidade celomática de <i>T. stellatus</i> .....	28
<b>CAPÍTULO I - COCCÍDIOSE EM <i>T. STELLATUS</i> .....</b>	<b>34</b>
<b>Figura 1-3</b> - Fotomicrografia de coccídios. 1 - Lâmina preparada com material fresco, mostrando oocistos esféricos agrupados. Barra = 30 µm. 2 - Esporos de coccídios maduros e isolados livres no líquido digestivo. Barra = 10 µm. 3 - Demonstração de obtenção das medidas dos oocistos e esporocistos de coccídios encontrados parasitando <i>T.stellatus</i> . Barra = 10 µm.....	38
<b>Figura 4 e 5</b> – Histologia do estômago de <i>T. stellatus</i> infectado por coccídios. 4 - Corte histológico longitudinal das fossetas do estômago (*), corado em ZN com a presença de esporos imaturos de coccídios. Barra = 40 µm. 5 - Corte histológico longitudinal da região da mucosa do estômago (*) de <i>T.stellatus</i> , corado em HE, mostrando plasmódios em desenvolvimento causando atrofia focal. Barra = 20 µm. ....	39
<b>Figura 6 e 7</b> – Fotomicrografia de cortes histológicos do estômago de <i>T. stellatus</i> . 6 - Corte corado em HE, contendo esporocistos imaturos (seta preta) e maduros (seta branca) de coccídios. Barra = 50 µm. 7 - Amplificação da imagem 6 mostrando necrose no epitélio com marcante infiltrado inflamatório constituído por heterofilos e linfócitos. Barra = 20 µm. ....	40
<b>CAPÍTULO II – <i>HENNEGUYA</i> SP. NA MUSCULATURA DE <i>T. STELLATUS</i> .....</b>	<b>46</b>
<b>Figura 1</b> – Lâmina preparada com material fresco mostrando esporos maduros de <i>Henneguya</i> sp., com cápsulas polares de tamanhos iguais e formato ovoide (seta branca) parasitando a musculatura de <i>T. stellatus</i> . Pode-se notar na região posterior (seta preta) duas projeções caudais independentes. Barra = 40 µm.....	50
<b>CAPÍTULO III- <i>MYXOBOLUS</i> SP. NA BRÂNQUIA DE <i>T. STELLATUS</i>.....</b>	<b>57</b>
<b>Figura 1 e 2</b> – Fotomicrografia de <i>Myxobolus</i> sp. 1 - Lâmina preparada com material a fresco mostrando cisto rompido liberando esporos maduros entre os filamentos branquiais de <i>T. stellatus</i> (seta). Barra = 200 µm. 2 - Esporos maduros de <i>Myxobolus</i> sp. (seta preta)	



apresentando cápsulas polares desiguais (seta branca) livres nas brânquias de *T. stellatus*.  
Barra = 20  $\mu\text{m}$ .....61

## LISTA DE TABELAS

<b>CAPÍTULO I - COCCÍDIOSE EM T. STELLATUS.....</b>	<b>34</b>
Tabela 1 - Medidas comparativas em $\mu\text{m}$ dos oocistos e esporocistos de algumas espécies do Filo Apicomplexa descritos.....	42
<b>CAPÍTULO II – HENNEGUYA SP. NA MUSCULATURA DE T. STELLATUS .....</b>	<b>46</b>
Tabela 1 - Comparação morfométrica ( $\mu\text{m}$ ) de esporos maduros do <i>Henneguya</i> sp. encontrado neste trabalho com outras espécies de <i>Henneguya</i> descritas.....	52
<b>CAPÍTULO III- MYXOBOLUS SP. NA BRÂNQUIA DE T. STELLATUS.....</b>	<b>57</b>
Tabela 1 - Comparação morfométrica ( $\mu\text{m}$ ) de esporos maduros de <i>Myxobolus</i> sp. encontrado neste trabalho com outras espécies de <i>Myxobolus</i> descritas no Brasil.....	64

## PREFÁCIL

Este trabalho está dividido em três capítulos, seguindo as Normas de Apresentação de Dissertação e Tese da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) de 2015, sugerida pelo Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Recursos Aquáticos Tropicais (PPG-AqRAT). O primeiro capítulo aborda a **“PRESENÇA DE COCCÍDIO NO TUBO DIGESTIVO DE *Thoracocharax stellatus* (KNER, 1858) (CHARACIFORMES) CAPTURADOS EM IGARAPÉ NA MARGEM DIREITA DO RIO GUAMÁ, BELÉM, PARÁ”** O segundo capítulo identificou a **“OCORRÊNCIA DE *Henneguya* sp. (MYXOZOA) NA MUSCULATURA DE *Thoracocharax stellatus* (KNER, 1858) (CHARACIFORMES: GASTEROPELECIDAE) CAPTURADOS EM IGARAPÉ NA MARGEM DIREITA DO RIO GUAMÁ, BELÉM, PARÁ”**. No terceiro capítulo foi registrada a **“PRESENÇA DE *Myxobolus* sp. (MYXOZOA) NAS BRÂNQUIAS DO *Thoracocharax stellatus* (KNER, 1858) (CHARACIFORMES) CAPTURADO EM IGARAPÉ NA MARGEM DIREITA DO RIO GUAMÁ, BELÉM, PARÁ”**. Os capítulos estão sendo formatados de acordo com normas de revistas indexadas, que posteriormente serão submetidos em forma de artigos.

## RESUMO

O comércio de peixes ornamentais é um importante setor na geração de renda e emprego no mundo. Cerca de 100 milhões de peixes ornamentais são comercializados anualmente e mais de 90% desse total são provenientes de águas continentais brasileiras. O Estado do Pará contribui com cerca de 30% do total de peixes comercializados e todos esses provenientes da atividade de extrativismo. *Thoracocharax stellatus* (Kner, 1858), conhecido popularmente como peixe borboleta prateada é encontrado em rios, lagos e igarapés das bacias dos rios Amazonas, Orinoco, Paraguai e Tocantins-Araguaia. Tem grande importância econômica por apresentar boa aceitação no mercado de aquarismo. Uma das principais dificuldades encontradas por criadores e exportadores se deve as parasitoses, que causam alterações na homeostase orgânica dos peixes, aumentando a taxa de mortalidade. Nas últimas décadas, tem aumentado consideravelmente a relevância dos estudos relacionados com parasitos e outros patógenos de organismos aquáticos, com um enfoque maior para as espécies com potencial para o cultivo e para a comercialização, face ao aumento significativo destas atividades no Brasil e no mundo. Descreve-se morfológicamente os microparasitos encontrados em *T. stellatus* a fim de gerar informações científicas. Foram realizadas coletas mensais, durante março de 2014 a fevereiro de 2015, totalizando 85 exemplares de *T. stellatus*. Os animais foram necropsiados e analisados em estereomicroscópio e microscopia de luz. Fragmentos de órgãos parasitados por Apicomplexa e/ou cistos de mixosporídios foram coletados e processados para microscopia de luz, eletrônica e biologia molecular para análises posteriores. Desta forma, este estudo relata as características morfológicas de mixosporídios e coccídios encontrados em *T. stellatus*, capturados em igarapé na margem direita do Rio Guamá, município de Belém, Pará, Brasil.

**Palavras-chave:** Peixe ornamental, Microparasito, Água doce, Coccidiose.

## ABSTRACT

The ornamental fish trade is an important sector in generating income and employment in the world. About 100 million ornamental fish are sold every year and over 90% of this total are from Brazilian freshwater. The Pará State accounts for about 30% of total ornamental fish marketed and all those from the extrativism. *Thoracocharax stellatus* (Kner, 1858), popularly known and called “peixe borboleta” are found in rivers, lakes and streams of the Amazonas, Orinoco, Paraguay and Tocantins-Araguaia basins. *T. stellatus* is great economic importance due to its good acceptance in the ornamental fish market. One of the main difficulties found by farmers and exporters should the parasites that cause alterations in the organic homeostasis of fish, increasing the death rate in captivity. In the last decades, it has considerably increased the relevance of the studies related to parasites and other pathogens of aquatic organisms, with a greater focus on species with potential for farming and marketing, given the significant increase of these activities in Brazil and around the world. Morphologically microparasites found in *T. stellatus* were described to generate scientific information. Monthly, samples were taken during march, 2014 to february, 2015, totaling 85 specimens of *T. stellatus*. The fish were sacrificed and analyzed in stereomicroscope and lighth microscopy. Fragments of infected organs with Apicomplexa and/or Mixosporideans cysts were collected and processed in light and electronic microscopy and molecular biology for further analysis. Therefore, this study reports the morphological characteristics of Mixosporideans found in *T. stellatus*, from the Guama river, Belém, Pará, Brazil.

**Keywords:** Ornamental fish, Microparasite, Freshwater, Coccidiosis.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>16</b>
<b>1.2 OBJETIVOS .....</b>	<b>18</b>
1.2.1 OBJETIVO GERAL .....	18
1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
<b>1.3 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>19</b>
1.3.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE O COMÉRCIO DE PEIXES ORNAMENTAIS.....	19
1.3.2 CONSIDERAÇÕES SOBRE A ESPÉCIE ESTUDADA .....	20
1.3.3 A IMPORTÂNCIA DO ESTUDO DE ICTIOPARASITOS.....	21
<b>1.4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>26</b>
1.4.1 COLETA DOS ESPÉCIMES E PESQUISA DE PARASITOS.....	26
1.4.2 PROCESSAMENTO DO MATERIAL BIOLÓGICO .....	28
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>29</b>
<b>CAPÍTULO I - COCCÍDIOSE EM <i>T. STELLATUS</i> .....</b>	<b>34</b>
<b>2. PRESENÇA DE COCCÍDIO NO TUBO DIGESTIVO DE <i>THORACOCHARAX STELLATUS</i> (KNER, 1858) (CHARACIFORMES) CAPTURADOS EM IGARAPÉ NA MARGEM DIREITA DO RIO GUAMÁ, BELÉM, PARÁ .....</b>	<b>34</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>34</b>
<b>PALAVRAS-CHAVE.....</b>	<b>34</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>35</b>
<b>KEYWORDS .....</b>	<b>35</b>
<b>2.1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>35</b>
<b>2.2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>36</b>
<b>2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>37</b>
<b>AGRADECIMENTOS .....</b>	<b>43</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>43</b>
<b>CAPÍTULO II – <i>HENNEGUYA</i> SP. NA MUSCULATURA DE <i>T. STELLATUS</i> .....</b>	<b>46</b>
<b>3. OCORRÊNCIA DE <i>HENNEGUYA</i> SP. (MYXOZOA) NA MUSCULATURA DE <i>THORACOCHARAX STELLATUS</i> (KNER, 1858) (CHARACIFORMES: GASTEROPELECIDAE) CAPTURADOS EM IGARAPÉ NA MARGEM DIREITA DO RIO GUAMÁ, BELÉM, PARÁ.....</b>	<b>46</b>

<b>RESUMO.....</b>	<b>46</b>
<b>PALAVRAS-CHAVE.....</b>	<b>46</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>46</b>
<b>KEYWORDS .....</b>	<b>47</b>
<b>3.1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>47</b>
<b>3.2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>48</b>
<b>3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>49</b>
<b>AGRADECIMENTOS .....</b>	<b>53</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>53</b>
<b>CAPÍTULO III- <i>MYXOBOLUS</i> SP. NA BRÂNQUIA DE <i>T. STELLATUS</i>.....</b>	<b>57</b>
<b>4. PRESENÇA DE <i>MYXOBOLUS</i> SP. (MYXOZOA) NAS BRÂNQUIAS DO <i>THORACOCHARAX STELLATUS</i> (KNER, 1858) (CHARACIFORMES) CAPTURADO EM IGARAPÉ NA MARGEM DIREITA DO RIO GUAMÁ, BELÉM, PARÁ.....</b>	<b>57</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>57</b>
<b>PALAVRAS-CHAVE.....</b>	<b>57</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>57</b>
<b>KEYWORDS .....</b>	<b>58</b>
<b>4.1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>58</b>
<b>4.2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>59</b>
<b>4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>60</b>
<b>AGRADECIMENTOS .....</b>	<b>64</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>64</b>
<b>5. CAPÍTULO V - CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>67</b>
<b>ANEXO A - FICHA DE COLHEITA DE CAMPO.....</b>	<b>68</b>
<b>ANEXO B - FICHA DE NECROPSIA.....</b>	<b>69</b>
<b>ANEXO C - FICHA DE PROCESSAMENTO PARA MICROSCOPIA DE LUZ .....</b>	<b>70</b>

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Os Characiformes constituem a ordem mais diversificada por apresentar uma grande quantidade de espécies de peixes com diferentes estruturas morfológicas. Caracterizam-se pelo corpo coberto por escamas ciclóides e nadadeiras pélvicas abdominais. Os membros dessa ordem possuem ampla distribuição geográfica na região neotropical e seus exemplares podem apresentar de pequeno a grande porte com diversas estratégias reprodutivas e alimentares (BAUMGARTNER, 2012).

A esse grupo pertencem espécies de grande valor econômico para o Brasil, que são capturadas através da pesca comercial, esportiva e cultivada na aquicultura como piapara e piaus (Anostomidae), pacus, tambaquis, curimatás, dourados e matrinhãs (Characidae), traíras (Erythrinidae), entre outros (ABE, 2007).

Há ainda um enorme número de espécies, principalmente da família Characidae, incluindo as espécies de Gasteropelecidae, exportadas como peixes ornamentais, o que tem gerado importantes divisas para o país (CHAO et al., 2001). O comércio de peixes ornamentais apresentou grande crescimento nas últimas duas décadas, demonstrando que a indústria de aquarismo representa um importante setor na geração de renda e emprego no mundo (MONTEIRO-NETO et al., 2003).

A família Gasteropelecidae compreende um pequeno grupo de espécies de Characiformes encontrada desde o Panamá e em quase todos os países da América do Sul, com exceção do Chile (WEITZMAN; PALMER, 2003). Ainda segundo Weitzman e Palmer (2003), o gênero *Thoracocharax* apresenta duas espécies, *T. stellatus* amplamente distribuída pelas bacias do Orinoco, Amazônica e do Rio Paraguai e a espécie *Thoracocharax securis* (De Filippi, 1853) encontrada na bacia Amazônica.

Popularmente chamados de peixe borboleta, *Thoracocharax stellatus* (Kner, 1858), são considerados de pequeno porte (não ultrapassando 12 cm de comprimento total) e apresentam um grande desenvolvimento de suas nadadeiras e músculos peitorais. A região de inserção dos músculos das nadadeiras peitorais é modificada em uma grande e afilada quilha torácica, permitindo que esses peixes realizem saltos para fora d'água similares a um voo ativo quando em situações de perigo (HERCOS et al., 2009).

Os peixes convivem em equilíbrio com parasitismo e patógenos. Este equilíbrio pode ser rompido por distúrbios de ordem ambiental, como as alterações na qualidade da água, principalmente redução nos níveis de oxigênio dissolvido e aumento na concentração de



dióxido de carbono e substâncias tóxicas como amônia e nitrito (KUBITZA; KUBITZA, 2013).

Os peixes de água doce e marinha das diferentes áreas geográficas são hospedeiros de variadas formas de parasitismo, viroses, ricketzioses, micoplasma, protozooses e outras. Nos peixes, estes parasitos podem ser encontrados em diversos tecidos e órgãos como fígado, rins, brânquias, gônadas, intestino, estômago e pele (VIDEIRA, 2010).

Os parasitos desenvolvem-se em cistos ou plasmódios, de diferentes dimensões, repletos de esporos, que podem provocar lesões nos tecidos infectados dos hospedeiros causando redução da sua condição corporal (EIRAS, 1994; FEIST; LONGSHAW, 2006). O desenvolvimento do plasmódio pode ser histozóico (intracelular e/ou intercelularmente) ou celozóico (localizados nas cavidades dos órgãos, soltos ou aderidos ao epitélio) (LOM, 1987; EIRAS, 1994).

São seres pluricelulares e seus esporos, dependendo da espécie, possuem de uma a sete cápsulas polares, unidas pela linha de sutura e duas a sete valvas, sendo que no interior de cada cápsula polar existe um filamento espiralado com um determinado número de voltas. Esses números de voltas são uma das características para a sua classificação. Os esporos possuem esporoplasmas que são as células infectantes, de forma amebóide e situam-se no interior da cápsula. (EIRAS, 1994).

Os impactos causados por estes parasitos podem ser observados através da redução do tamanho do peixe por conta da diminuição da conversão alimentar, vulnerabilidade a predadores, problemas reprodutivos adquiridos pela inapetência causada por presença parasitária e conseqüente diminuição das populações de peixes (EIRAS, 2004).

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo geral:

- ✓ Identificar as espécies de microparasitos encontrados em *T. stellatus* oriundos de ambiente natural capturados em igarapé na margem direita do Rio Guamá, Belém, Pará.

### 1.2.2 Objetivos específicos:

- ✓ Identificar e caracterizar as espécies de mixosporídios encontrados infectando *T.stellatus* oriundos de ambiente natural;
- ✓ Realizar estudos morfológicos de coccídios encontrados em *T. stellatus*;
- ✓ Analisar a interação parasito-hospedeiro através de estudo histopatológico de coccídios identificados em *T. stellatus*.

## 1.3 REFERENCIAL TEÓRICO

### 1.3.1 Considerações sobre o comércio de peixes ornamentais

Mundialmente, o comércio de organismos aquáticos ornamentais envolve aproximadamente 1.530 espécies de peixes marinhos e de água doce, 102 espécies de corais e 293 espécies de invertebrados (LIVENGOOD; CHAPMAN, 2008). Mas, estes números de espécies de organismos aquáticos que são utilizados para fins ornamentais podem ser maiores, envolvendo cerca de 4.500 espécies de peixes de água doce, 1.450 espécies de peixes marinhos e 650 espécies de corais e outros invertebrados, respectivamente (MILLER-MORGAN, 2010).

O comércio de peixes ornamentais apresentou grande crescimento nas últimas duas décadas, passando de 7,2 bilhões de dólares em 1986 (ANDREWS, 1992) para 15 bilhões de dólares em 2005 (MOREAU; COOMES, 2007), demonstrando que a indústria de aquarismo representa um importante setor na geração de renda e emprego no mundo (MONTEIRO-NETO et al., 2003).

Em relação ao número de exemplares de peixes comercializados anualmente, Whittington e Chong (2007), mencionam que cerca de um bilhão de exemplares de peixes ornamentais, pertencentes a mais de 4.000 espécies de água doce e 1.400 espécies marinhas são comercializados globalmente. Deste total de exemplares comercializados, Olivier (2001) menciona que cerca de 90-96% deste volume podem ser representados pelos peixes de água doce e apenas 4-10% são representados pelos peixes marinhos. Porém, em um levantamento feito por Tissera (2010), no ano de 2007 o comércio de exemplares de peixes ornamentais no mundo foi representado por 52% de peixes de água doce e 42% de peixes marinhos.

Os principais países exportadores de peixes ornamentais criados em pisciculturas no mundo são Singapura, China, Hong Kong, Indonésia, Malásia, República Tcheca, Estados Unidos da América, Japão, Sri Lanka, Filipinas e Israel (LING; LIM, 2005), enquanto que os peixes provenientes de extrativismo são capturados principalmente em países da América do Sul, que contribuem com 6% do total de peixes ornamentais comercializados globalmente (PRANG, 2007).

No continente Sul-Americano, os maiores países exportadores são a Colômbia (46%), Peru (30%) e Brasil (23%) (PRANG, 2007). Traffic (2006) relata que aproximadamente 100 milhões de peixes, pertencentes a 400 espécies, são capturados em águas continentais da América do Sul todos os anos.

A pesca ornamental é uma atividade econômica de extrema relevância para a Amazônia (ANJOS et al., 2009). Esta atividade surgiu como uma alternativa econômica para as comunidades ribeirinhas que dependiam do extrativismo vegetal, da caça e da pesca para consumo. A atividade vem intensificando-se cada vez mais, tornando-se a principal fonte de renda e emprego em algumas áreas desta região para milhares de pessoas (PRANG, 2007).

Apesar de mundialmente os exemplares de peixes ornamentais comercializados serem oriundos principalmente de pisciculturas, no Brasil, a origem dos exemplares de peixes ornamentais é cerca de 95% de extrativismo e 5% de pisciculturas (VIDAL-JR, 2003).

A região brasileira que mais colabora com essa quantidade de peixes ornamentais produzidos em cativeiro é a Sudeste, sendo que os principais estados produtores são Minas Gerais, São Paulo e Rio de Janeiro (CARDOSO, 2011). IBAMA (2008) mostrou que os principais estados que contribuem com as exportações anuais de peixes ornamentais provenientes do extrativismo são os Estados do Amazonas (60%), Pará (32%) e os 8% restantes são representados por Rio de Janeiro, São Paulo, Goiás, Ceará, Pernambuco e Mato Grosso.

Embora não se tenha conhecimento do número preciso de espécies capturadas, o mercado de peixe ornamental amazônico ainda é considerado um dos mais diversos, em relação a outros grandes países exportadores como Colômbia e Peru (MOREAU; COOMES, 2007). O extrativismo de peixes ornamentais é mais intensificado no Rio Negro, região de Barcelos/AM e municípios vizinhos, bem como no Rio Xingu, região de Altamira/PA (PELICICE; AGOSTINHO, 2005).

### **1.3.2 Considerações sobre a espécie estudada**

A família Gasteropelecidae apresenta um grupo de peixes de pequeno porte, que inclui nove espécies pertencentes a três gêneros: *Carnegiella* Eigenmann 1909; *Gasteropelecus* Bloch, 1784 e *Thoracocharax* Fowler, 1906, sendo encontrados em quase todos os países da região neotropical, com exceção do Chile (SILVA et al., 2009). *T. stellatus* (Figura 1), é encontrado em rios, lagos e igarapés das bacias dos rios Amazonas, Orinoco, Paraguai e Tocantins-Araguaia. Possui hábito alimentar insetívoro, consumindo principalmente formigas, besouros e ninfas de efemerópteras (NETTO- FERREIRA et al., 2007).

**Figura 1** - Exemplar de *T. stellatus* em aquário no LPCA.



**Fonte:** LPCA, 2014.

Os gasteropelecídeos, apresentam um grande desenvolvimento dos ossos do cleitrum, coracóide e nadadeiras na região peitoral. São chamados popularmente no Brasil de peixes borboletas ou em outros países como “hatchetfish” devido a sua capacidade de impulso pela superfície da água, posicionando as nadadeiras peitorais para propulsar saltos para fora da água quando em situação de perigo ou para capturar pequenos insetos (WEITZMAN; PALMER, 2003; SILVA et al., 2009).

É importante economicamente, pois é uma das 725 espécies de peixes nativos e exóticos de águas continentais permitidos para exploração com finalidade ornamental ou de aquariofilia, segundo a instrução normativa interministerial brasileira n° 001 de 3 de janeiro de 2012 (MPA, 2012).

### **1.3.3 A importância do estudo de ictioparasitos**

Os peixes são o substrato vivo com o maior tempo de exposição e de adaptação para os organismos simbiotes, além de viverem em ambientes aquáticos que facilitam a transmissão e a dispersão dos parasitos (AHID et al., 2009), que possuem uma distribuição

mundial, afetando todas as espécies, tanto de águas tropicais como de águas polares, em qualquer que seja o hábitat do hospedeiro e o nicho ecológico. A atual distribuição geográfica dos parasitos é diferente de sua distribuição original, o que deriva diretamente da ação antrópica, pela disseminação artificial intra e intercontinental (EIRAS, 1994).

Em seu hábitat natural, os peixes possuem uma variedade de patógenos e geralmente não apresentam sinais clínicos de nenhuma parasitose. Normalmente, isso acontece, devido ao estado nutricional e fisiológico do peixe estar em equilíbrio com o ambiente, evitando a manifestação da doença. Quando ocorrem alterações ambientais, com reflexos nos mecanismos de defesa, imediatamente esses animais poderão apresentar sinais clínicos de certas enfermidades, já que passam a se tornar sujeitos à ação dos patógenos (PAVANELLI et al., 2002).

Os parasitos são as maiores causas de perdas econômicas em peixes, sendo de grande relevância na região neotropical, pelas características climáticas pertinentes à região, que propiciam sua rápida e constante propagação (THATCHER; BRITES-NETO, 1994).

Entre as protozooses que afetam peixes de água doce, destaca-se o Filo Myxozoa e Apicomplexa, que correspondem a um grupo de microrganismos que englobam algumas formas parasitárias e patogênicas que ocorrem principalmente em moluscos bivalves e peixes (MATOS et al., 2004).

O filo Myxozoa Bütschli, 1882 está dividido em duas classes: Malacosporea e Myxosporea. A classe Malacosporea inclui uma ordem, uma família e 4 espécies e a classe Myxosporea inclui 2 ordens, 12 famílias, agrupa aproximadamente 60 gêneros e mais de 2.000 espécies descritas, com ampla distribuição geográfica nos ambientes marinhos e de água doce (EIRAS et al., 2005; CASAL et al., 2006). Essas espécies são consideradas agentes patogênicos comumente encontrados em peixes, mas também são relatadas ocorrências em moluscos, anfíbios, répteis, pássaros e mamíferos (FEIST; LONGSHAW, 2006; CARRIERO et al., 2013).

O ciclo de vida da grande maioria dos mixosporídios ainda é desconhecido, porém para algumas espécies foram identificados os estágios em que os mixósporos se apresentam infectando os hospedeiros (BARTHLOMEW et al., 2008). Esses microparasitas, provavelmente necessitam de um hospedeiro intermediário (Anelídea) para completar seu ciclo de vida (ATKINSON; BARTHLOMEW, 2009). Dentre os membros dessa classe os gêneros mais comumente encontrados são o *Henneguya* e *Myxobolus*. Parasitos que possuem estágios vegetativos que podem ser celozóico, histozóico intercelular ou intracelular (VELASCO et al., 2012).

O gênero *Myxobolus* Bütschli, 1882, possui maior número de espécies com aproximadamente 785 espécies descritas, é um dos maiores grupos dos mixosporídios que parasitam um grande número de peixes de água marinha e doce (LOM; DYKOVÀ, 2006). 30 dessas espécies foram descritas parasitando peixes de água doce no continente sul-americano. Nos últimos anos, várias espécies de *Myxobolus* tem sido descrita utilizando técnicas de desenho diagramático, microscopia de luz, microscopia eletrônica (varredura e transmissão) e biologia molecular em diversas espécies de peixes que habitam ambientes marinhos, estuarinos e de águas interiores. Dentre os trabalhos descritos podemos citar: Casal et al. (2006); Azevedo et al. (2009); Azevedo et al. (2010); Azevedo et al. (2011); Velasco et al. (2012).

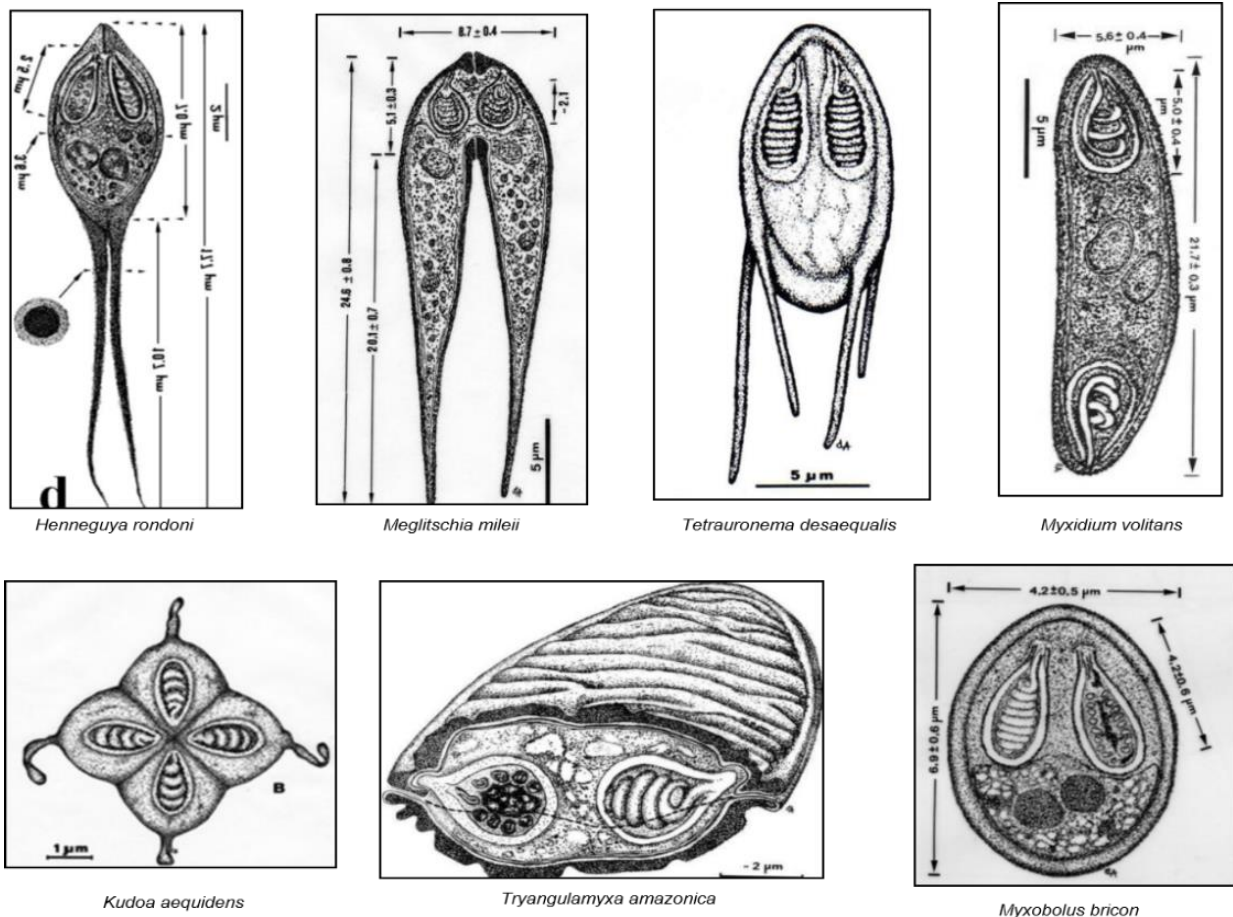
Esses microparasitos possuem estágio de vida vegetativo, sendo encontrados nas cavidades corpóreas, órgão vitais, tecidos intra e extracelulares (KENT et al., 2001), causando inflamações devido a formação de cistos, resultando em efeitos deletérios teciduais em seus hospedeiros, levando muitas vezes a morte (AZEVEDO et al., 2009; AZEVEDO et al., 2011).

São pertencentes à ordem Bivalvulida, apresentam duas cápsulas polares próximas uma da outra, posicionadas paralelamente a linha de sutura e próximas a região apical. Os esporos maduros apresentam formas elipsoidal, ovoide ou arredondada, suas capsulas polares podem ser de tamanhos iguais ou diferentes. São parasitos histozóico maioritariamente de peixes de água doce (CASAL et al., 2002).

No gênero *Henneguya*, descrito com cerca de 204 espécies conhecidas (LOM; DYKOVÀ, 2006), apenas 37 foram relatadas infectando peixes da América do Sul (AZEVEDO et al., 2009). São pertencentes à ordem Bivalvulida, apresentando em sua estrutura corpórea duas cápsulas polares e duas valvas posicionadas paralelamente a linha de sutura que se prolongam, dando origem a duas projeções caudais, seu corpo possui forma elipsóide. Parasitam principalmente peixes de água doce (KENT et al, 2001; LOM e DIKOVÁ, 1992; LOM e DIKOVÁ, 2006).

Nos hospedeiros intermediários, podem ser observados microscopicamente em forma de plasmódios contendo esporos alojados nos tecidos e órgãos dos hospedeiros. Os esporos maduros podem ser facilmente observados em microscópio de luz. Sua morfologia corporal diferencia-se de acordo com sua espécie (Figura 2), de ovoide a quadrangular (AZEVEDO et al., 2009).

**Figura 2** - Desenhos esquemáticos de esporos de mixosporídios.



**Fonte:** Casal et al., (2006); Azevedo et al., (2009); Azevedo et al., (2010); Azevedo et al., (2011); Velasco et al., (2012).

O filo Apicomplexa Levine, 1970 corresponde a um grande grupo heterogêneo de microrganismos, que engloba algumas formas parasitárias e patogênicas que ocorrem principalmente em moluscos bivalves e peixes. São parasitos intracelulares obrigatórios de importância médica e veterinária que causam doenças devido a destruição das células parasitadas (MATOS et al., 2004).

As alterações nas células dos hospedeiros acontecem por conta da multiplicação dos coccídios ou por conta da pressão causada pelo crescimento do parasito. Essas alterações irão depender da localização e do grau de destruição dos tecidos do hospedeiro (LIMA, 2004).

Estes parasitos têm vida intracelular, com todo o ciclo de vida ocorrendo nas células hospedeiras (AZEVEDO et al., 1995). E são encontrados parasitando tanto peixes de água doce quanto peixes marinhos (VELASCO et al., 2012; SZEKELY et al., 2013). Nos peixes e em moluscos, são encontrados parasitando diversos tecidos/órgãos, como brânquias, fígado,



estômago, gônadas e outros, sendo que nem todos os gêneros estão descritos como patogênicos (VIDEIRA, 2010).

A descrição e a ocorrência de coccídios em peixes dulcícolas na região amazônica é de grande importância para o estudo da sanidade. As espécies de peixes da bacia amazônica mais afetadas são *Crenicichla lepidota* (jacundá), *Serrasalmus* sp. (piranha) e *Colomesus psittacus* (baiacu), dentre outros, e as de moluscos bivalves são *Crassostrea rhyzophorae* (ostra do mangue), *Mytella falcata* (mexilhão), *M. guyanensis* (sururu) e *Anomalocardia brasiliana* (sernambi) (SILVA et al., 2007; VIDEIRA et al., 2008).

Parasitos do gênero *Calypsozona* parasitam, geralmente, fígado e estômago, eventualmente são encontrados nas gônadas, variando de dimensão, mas sempre apresentando a mesma morfologia (AZEVEDO et al., 1995).

Quanto à morfologia, os oocistos de coccídios são facilmente identificados por apresentarem vacúolos parasitóforos com quatro ou mais esporocistos e dois esporozoítos. Esporos maduros de coccídios podem ser encontrados livres no trato intestinal de seus hospedeiros ou aderidos aos tecidos/órgãos, quando em fase jovem (MATOS et al., 2004).

Através de lâminas histológicas podemos observar células iniciais do ciclo de vida ou a formação do vacúolo parasitóforo desses microrganismos, diferenciando-se e causando alterações nas células dos hospedeiros, quanto à sua forma os oocistos podem ser, arredondados, elipsóide ou ovoides (LIMA, 2004).

Segundo Lima (2004), os oocistos são estruturas resistentes e podem permanecer infectantes no meio ambiente por vários meses, durante esse tempo fora do hospedeiro, representa a fase mais vulnerável e susceptível às medidas de controle da coccidiose.

O conhecimento das associações parasitárias encontrados na natureza é fundamental, para a elaboração de estratégias de controle de infecções e aspectos ecológicos, da relação parasito-hospedeiro (SANTOS et al., 2006). Informações sobre a carga parasitária do filo Myxozoa e Apicomplexa são necessárias para conduzir posteriores trabalhos que envolvam o manejo da espécie em condições de cultivo principalmente quando se trata de espécies de interesse econômico.

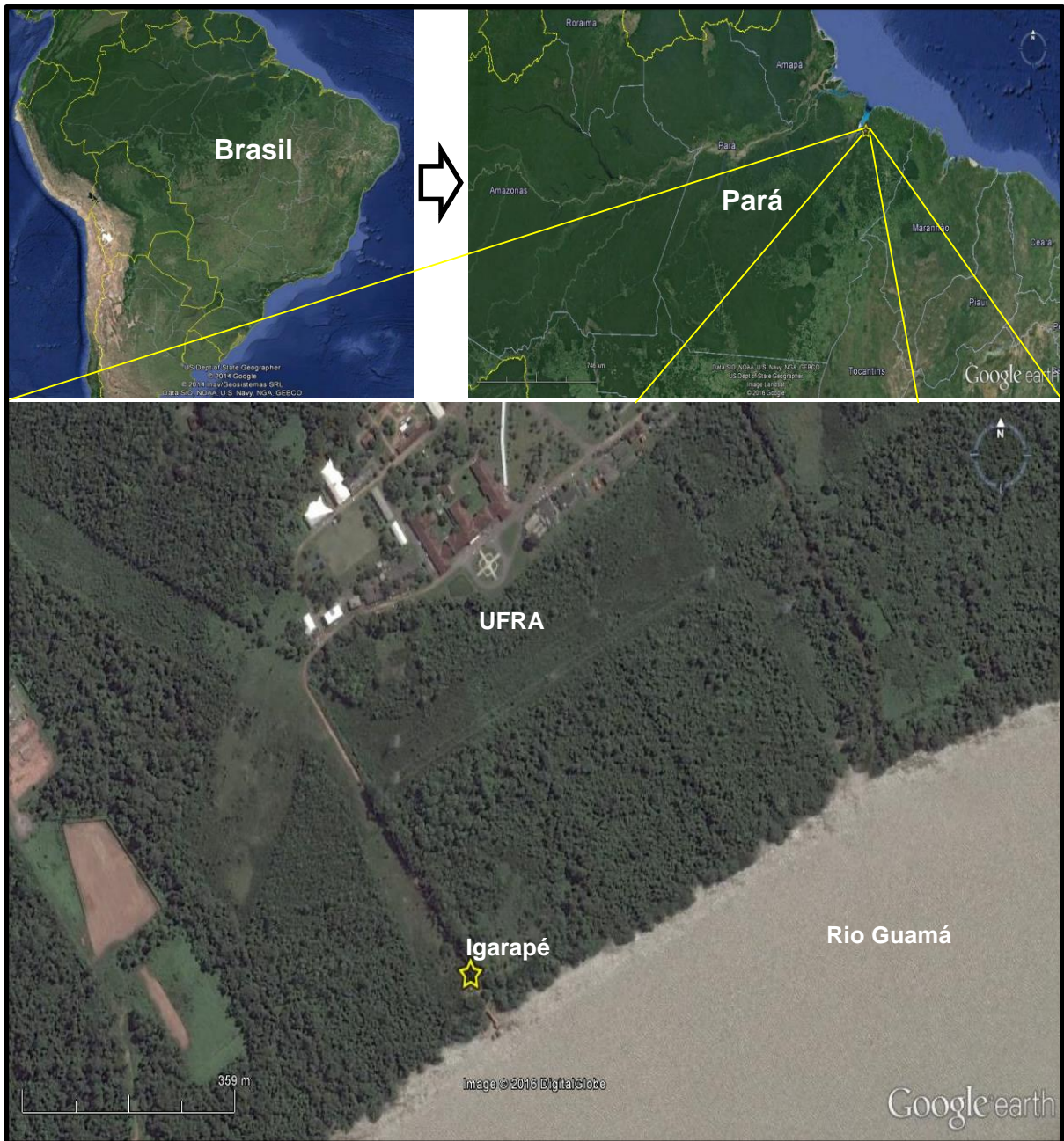
## 1.4 MATERIAL E MÉTODOS

### 1.4.1 Coleta dos espécimes e pesquisa de parasitos

Este projeto foi desenvolvido no Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo (LPCA), na Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) em Belém, Pará. Para o desenvolvimento desta pesquisa foram utilizados instalações e equipamentos da UFRA, Igarapé para coleta dos peixes, material de pesca, laboratório, micrótomo e microscópio de luz.

As coletas foram realizadas com auxílio de tarrafas e redes de emalhar em um igarapé, localizado a margem direita do rio Guamá, Belém, Pará, Brasil, nas coordenadas 01° 27' S / 48° 26' W (Figura 3), no período de março de 2014 a fevereiro de 2015, onde durante as coletas foram medidas algumas variáveis físico-químicas da água do igarapé (Anexo A). Foram capturados 85 exemplares de *T. stellatus*, jovens e adultos, sendo 46 fêmeas e 39 machos conforme a Licença Permanente para Coleta de Material Zoológico, Número: 27119-1, Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio.

**Figura 3** – Localização do ponto de coleta dos espécimes de *T.stellatus* (★).



**Fonte:** Google Earth, 2016.

Os peixes foram transportados vivos até o laboratório, onde foram anestesiados com Tricaína Metanolsulfonato (MS222, SIGMA) na concentração de 50 mg/L, para realização da biometria (Anexo B) e posteriormente foram eutanasiados por mielotomia neural, sendo observados externamente através de estereomicroscópio em busca de lesões ou cistos de parasitos e em seguida, foi realizada a necropsia, com exposição das brânquias e da cavidade visceral, com a finalidade de detectar cistos, parasitos ou alterações das características dos órgãos (Figura 4).

**Figura 4** – Exposição das brânquias e da cavidade celomática de *T. stellatus*.



A partir de regiões sugestivas de infecções foram colhidos com auxílio de pinça e tesoura pequenos fragmentos de órgãos, tais como, brânquias, estômago, intestino, vesícula biliar e músculo, que foram comprimidos entre lâmina e lamínula contendo uma gota de água, e examinados em microscópio de luz para confirmação de achados parasitológicos ou não.

#### **1.4.2 Processamento do material biológico**

Os cistos de microparasitos e/ou tecidos infectados com esporos maduros dos microparasitos foram coletados para microscopia de luz, microscopia eletrônica e biologia

molecular. Estas etapas foram realizadas de acordo com as técnicas padronizadas no LPCA / UFRA (Anexo C) para futuras análises.

Os procedimentos experimentais deste trabalho foram aprovados pelo Comitê de Ética (CEUA-UFRA 013/2014). Esta dissertação está dividida em três capítulos, a metodologia específica para cada um deles encontra-se discriminada nos mesmos.

## REFERÊNCIAS

ABE, K.T. Filogenia molecular de gasteropelecidae (Ostariophsi: characiformes) e estudo de suas relações com outros characiformes. (**Dissertação de mestrado, PPG-Biociências**), UEP, 2007.

AHID, S. M. M.; FILGUEIRA, K. D.; FONSECA, Z. A. A. S. SOTO-BLANCO, B.; OLIVEIRA, M. F. Ocorrência de parasitismo em *Mola mola* (linnaeus, 1758) por metazoários no litoral do Rio Grande do Norte, Brasil. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.3, n. 1, p. 43-47, 2009.

ANDREWS, C. The Ornamental fish trade and conservation. **Infofish International**, v.2, n. 92, p. 25-29, 1992.

ANJOS, H. D. B., SIQUEIRA, J. A., AMORIM, R. M. S. Exportação de Peixes Ornamentais do Estado do Amazonas, Bacia Amazônica, Brasil. **Bol Inst Pesca**, São Paulo, v. 35, n. 2, p. 259-274, 2009.

ATKINSON, S. D.; BARTHOLOMEW, J.L. Alternate spore stages of *Myxobolus gasterostei*, a myxosporean parasite of three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*) and oligochaetes (*Nais communis*). **Rev Parasitol**. Heidelberg, v. 104, p. 1173–1181, 2009.

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.; 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). **J Eukaryot Microbiol**, v.56, p. 589-593, 2009.

AZEVEDO, C.; CASAL, G.; MENDONÇA, I.; CARVALHO, E.; MATOS, P.; MATOS, E. Light and electron microscopy of *Myxobolus sciades* n. sp. (Myxozoa), a parasite of the gills of the Brazilian fish *Sciades herzbergii* (Block, 1794) (Teleostei). **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 101, p. 203–207, 2010.

AZEVEDO, C.; CASAL, G.; MARQUES, D.; SILVA, E.; MATOS, E. Ultrastructure of *Myxobolus brycon* n. sp. (Phylum Myxozoa), parasite of the piraputanga fish *Brycon hilarii* (Teleostei) from Pantanal (Brazil). **J Eukaryot Microbiol**, v. 58, n. 2, p. 88-93, 2011.

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. **Parasitol Int.** v. 38, p. 1199–1207, 2008.

BAUMGARTNER, G., PAVANELLI, C. S., BAUMGARTNER, D., BIFI, A. G., DEBONA, T., FRANA, V. A. Peixes do baixo rio Iguaçú. **SciELO.** p. 57-100, 2012.

CARDOSO, R. S. Caracterização da aquicultura ornamental na zona da mata mineira. (**Dissertação de Mestrado, PPG-Zootecnia**), UFMG, 56 p, 2011.

CARRIERO, M. M.; ADRIANO, E. A.; SILVA, M. R. M.; CECCARELLI, P. S.; MAIA, A. A. M. Molecular phylogeny of the *Myxobolus* and *Henneguya* genera with several new South American species. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 8, n. 9, p. 1-12, 2013.

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). **Dis Aquat Org**, 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. **J Parasitol**, v. 92, p. 817-821, 2006.

CHAO, N. L. Conservation and management of ornamental fish resources of the Rio Negro Basin, Amazonas-Projeto Piaba. Ed. N. L. Chao, P. Petry, G. Prang, L. Sonneschien, M. Tlusty. Manaus, Ed. **Universidade do Amazonas, Manaus**, p. 310, 2001.

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

EIRAS, J. C.; MALTA, J. C.; VARELA, A.; PAVANELLI, G. C. *Henneguya schizodon* n. sp. (Myxozoa, Myxobolidae), a parasite of the Amazonian teleost fish *Schizodon fasciatus* (Characiformes, Anostomidae). Parasite J.D.L Soci. Fran. **Parasitology**. v. 11, p. 169-73, 2004.

EIRAS, J. C.; MOLNÁR, K.; LU, Y. S. Synopsis of the species of *Myxobolus* Bütschli, 1882 (Myxozoa: Myxosporea: Myxobolidae). **Syst Parasitol**, Dordrecht, v. 61, n. 1, p. 1-46, 2005.

FEIST, S. W.; LONGSHAW, M. Phylum Myxozoa. In: Woo PTK, editor. Fish diseases and disorders: Protozoan and Metazoan infections. 2a ed. **UK: CAB International**, p. 230–296, 2006.

HERCOS, A. P.; QUEIROZ, H. L.; ALMEIDA, H. L. **Peixes ornamentais do Amanã**. IDSM. p. 70-74, Tefé-AM, 2009.

IBAMA. **Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Brasília: Relatório Técnico sobre o Diagnóstico geral das práticas de controle ligadas a exploração, captura, comercialização, exportação e uso de peixes para fins ornamentais e de aquarofilia**. Diretoria de uso sustentável da biodiversidade e florestas. n. 217, p. 2008.

KENT, M. L.; ANDREE, K. B.; BARTHOLOMEW.; J. L.; EL-MATBOULI, M.; DESSER, S. S. Recent advances in our knowledge of the Myxozoa. **J Eukaryot Microbiol**, Malden, v. 48, p. 395-413, 2001.

KUBITZA, Fernando; KUBITZA, Ludmilla M. M. **Principais parasitoses e doenças dos peixes cultivados**. 5. ed. Jundai: F. Kubitza, 2013.

LIMA, J. D. Coccidiose dos ruminantes domésticos. **Rev Bras Parasitol Vet**, Ouro Preto, MG, v. 13, 2004. Suplemento 1.

LING, K. H.; LIM, L. Y. The status of ornamental fish industry in Singapore. **Singapore J Pri Ind**, v. 32, p. 59-69, 2005.

LIVEGOOD, E. J.; CHAPMAN, F. A. The ornamental fish trade: An introduction with perspective for responsible aquarium fish ownership. University of Florida, **Institute of food and agricultural sciences**, p-1-8, 2008.

LOM, J. Myxosporea: a new look at longa t long - Known parasites of fish. **Parasitol Today**, v. 3, p. 327-332, 1987.

LOM J.; DYKOVÁ, I. Myxosporidia (Phylum Myxozoa). 7. Protozoan parasites of fishes. Developments in aquaculture and fisheries science. **Dev Aquat Fish Sci**. v. 26, p. 159-235, 1992.

LOM, J.; DYKOVÁ, I. Myxozoan genera: definition and notes on taxonomy, life-cycle terminology and pathogenic species. **Folia Parasitol**. v. 53, p. 1–36, 2006.

MATOS, E., CASAL, G.; MATOS, P.; CORRAL, L.; AZEVEDO, C. Microrganismos Parasitos de Animais Aquáticos da Amazônia. In: RANZANI-PAIVA, M.J.T., TAKEMOTO, R.M., LIZAMA, M.A.P. **Sanidade de organismos aquáticos**. Editora Varela, São Paulo, Brasil, p. 158-178, 2004.

MILLER-MORGAN, T. A brief overview of the ornamental fish industry and hobby. **In: Fundamentals of ornamental fish health**. Roberts, H.E. Ed. Blackwell Publishing, USA, p. 25-32, 2010.

MONTEIRO-NETO C.; CUNHA F. E. A.; NOTTINGHAM M. C.; ARAÚJO M. E.; ROSA I.L.; BARROS G. M. L. Analysis of the marine ornamentals trade at Ceará State, Northeast Brazil. **Biodivers Conserv**, v. 12, p. 1287–1295, 2003.

MOREAU, M. A.; COOMES, O. T. Aquarium fish exploitation in western Amazonia: conservation issues in Peru. **Environ Conserv**, v. 34, n. 1, p. 12-22, 2007.

MPA. Instrução normativa interministerial nº 1 de 3 de janeiro de 2012. Brasília, DF, p. 46, 2012.

NETTO-FERREIRA, A. L. et al. Feeding habits of *Thoracocharax stellatus* (Characiformes: Gasteropelecidae) in the upper Rio Tocantins, Brazil. **Neotrop Ichthyol**, v. 5, n. 1, p. 69-74, 2007.

OLIVIER, K. The ornamental fish market. **Globefish Research Programme, United Nations Food and Agriculture Organization, FAO**, Rome, v. 67, p. 1-92, 2001.

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

PELICICE, F. M.; AGOSTINHO, A. A. Perspectives on ornamental fisheries in the upper Parana River floodplain, Brazil. **Fish Res**, v.72, n.1, p.109-119, 2005.

PRANG, G. An industry analysis of the freshwater ornamental fishery with particular reference to the supply of Brazilian freshwater ornamentals to the market. **Uakari**, v. 3, n. 1, p. 7-51, 2007.

SANTOS, M. S.; GOMES, A. L.; CORREA, M. A. V.; VARELLA, A. M. B.; BELÉM-COSTA, A. Carga parasitária de nematoides coletados no estômago de *Arapaima gigas* (SCHINZ, 1822) em ambiente natural. In: Resumos do **I Simpósio da SBPC no Amazonas**. Manaus. p. 14, 2006.

SILVA, M. V. O; VIDEIRA, M. N.; PAIXÃO, K. C. G.; SILVA, D. T; MATOS, P.; MATOS, E. Visão atual de coccidioses em animais aquáticos da região Amazônica no estado do Pará. In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC. 59ª, Belém-Pa. **Anais**, 2007.

SILVA, E. L.; CENTROFANTE, L.; MIYAZAWA, C. S. Análise morfométrica em *Thoracocharax stellatus* (Kner, 1858) (Characiformes, Gasteropelecidae) proveniente de diferentes bacias hidrográficas Sul-americanas. **Biota Neotrop**, v. 9, n. 2, p. 71-76, 2009.

SZÉKELY, C.; BORKHANUDDIN, M. H.; SHAHAROM, F.; EMBONG, .M. S. A.; MOLNÁR, K. Description of *Goussia kuehae* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) infecting the Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch) (Perciformes: Latidae), cultured in Malaysian fish farms. **Syst Parasitol**, v. 86, n. 3, p. 293-299, 2013.

THATCHER, V. E.; BRITES-NETO, J. Diagnóstico, Prevenção e Tratamento das Enfermidades de Peixes Neotropicais de Água Doce. **Rev Bras Med Vet**, v. 16, n. 3, p. 111-128, 1994.

TISSERA, K. Global trade in ornamental fishes – 1998 to 2007. Paper presented at international aquashow 12-14 february, cochin, kerala, India. 2010.

TRAFFIC. Aspectos socioeconómicos y de manejo sostenible del comercio internacional de peces ornamentales de agua dulce en el Norte de Sudamérica – retos y perspectivas. Memorias Taller Internacional. TRAFFIC, WWF & INCODER. Bogotá, p. 40, 2006.

VELASCO, M.; MATOS, P.; SANCHES, O.; SÃO-CLEMENTE, S.C.; VIDEIRA, M.; SANTOS, P.; MATOS, E. Necrotizing myosistis associated with parasitismo by *Myxobolus* sp. (Myxozoa) in the palate of the violet goby, *Gobioides brpussonnetii* (Gobiidae), from Marajó Island, Brazil. **Aquaculture (Short communication)**, p. 129-131, 2012.

VIDEIRA, M. N.; GONÇALVES, K. S.; PAIXÃO, K. C. G.; MATOS, P.; MATOS, E. Estudo de coccídios parasitas em peixes de estuário da região Nordeste do estado do Pará. In:



III congresso brasileiro de oceanografia. **Anais do III Congresso Brasileiro de Oceanografia**, 2008.

VIDEIRA, M. N. Estudo Morfológico de Microparasitas em *Aequidens plagiozonatus* Kullander 1984 (Osteiththyes: Cichlidae). (**Dissertação de Mestrado, PPG-BAIP**), UFPA, p. 75, 2010.

VIDAL JR, M. V. Peixes ornamentais: reprodução em aquicultura. In: **Panorama da Aquicultura**, p. 22-27, 2003.

WEITZMAN, S. H.; PALMER, L. Family Gasteropelecidae. In: REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS-JR, C. **Checklist of the freshwater fishes of South and Central America**, p. 101-103, Porto Alegre, 2003.

WHITTINGTON, R. J.; CHONG, R. Global trade in ornamental fish from an Australian perspective: The case for revised import risk analysis and management strategies. **Prev vet med**, v. 81, p. 92-116, 2007.

## CAPÍTULO I - COCCÍDIOSE EM *T. stellatus*

### 2. PRESENÇA DE COCCÍDIO NO TUBO DIGESTIVO DE *Thoracocharax stellatus* (KNER, 1858) (CHARACIFORMES) CAPTURADOS EM IGARAPÉ NA MARGEM DIREITA DO RIO GUAMÁ, BELÉM, PARÁ

<sup>1</sup>Rebeca S Araújo; <sup>1</sup>Fabricio B de Sousa; <sup>1</sup>Ana Beatriz Mendes A Ramos; <sup>2</sup>Anny Marysol Souza Cavalcante; <sup>3</sup>Patricia F S dos Santos e <sup>4</sup>Edilson Matos.

<sup>1</sup>Mestranda(o) do PPGAqRAT – UFRA; <sup>2</sup>Aluna de graduação de Engenharia de Pesca – UFRA; <sup>3</sup>Faculdades Integradas Ipiranga - Belém; <sup>4</sup>Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo – UFRA

Autor para correspondência: Edilson Rodrigues Matos. E-mail: edilson.matos9@gmail.com

#### RESUMO

Nas últimas décadas, tem aumentado consideravelmente a relevância dos estudos relacionados à parasitos e outros patógenos de organismos aquáticos no Brasil e no mundo, com enfoque maior para as espécies com potencial para o cultivo e para a comercialização. *T. stellatus*, são peixes que habitam a superfície da água, possui hábito alimentar insetívoro, consumindo principalmente formigas, besouros e ninfas de efemerópteras e faz parte das 725 espécies de peixes nativos e exóticos de águas continentais permitidas para exploração com finalidade ornamental ou de aquariofilia, o que os caracterizam de importância econômica e de interesse para o presente estudo. Foram capturados com auxílio de tarrafas 48 peixes, jovens e adultos sendo 26 fêmeas e 22 machos, com o comprimento médio de  $4,2 \pm 0,8$  cm e peso médio de  $0,9 \pm 0,3$  g. Os peixes foram necropsiados e analisados através de estereomicroscópio e microscópio de luz. Fragmentos do tubo digestivo parasitados foram coletados e processados para microscopia de luz e exame histopatológico. Este estudo relata as características morfológicas de coccídio encontrado parasitando estômago e intestino de *T. stellatus*, provenientes de ambiente natural capturados em igarapé na margem direita do Rio Guamá, Belém, Pará, Brasil.

**Palavras-chave:** Apicomplexa, Peixe ornamental, Água doce, Microparasito.

## ABSTRACT

In recent decades, it has considerably increased the relevance of the studies related to parasites and other pathogens of aquatic organisms in Brazil and globally, with greater focus on species with potential for farming and marketing. *T. stellatus*, are fish that inhabit the water's surface, it has insectivore feeding habit, consuming mostly ants, beetles and ephemeroptera nymphs and part of the 725 species of native and exotic fish inland waters allowed for exploitation with ornamental purpose or aquarium, which characterize the economic importance and interest for the present study. They were captured with the help of cast net a total of 48 fish, young people and adults (26 females and 22 males) with an average length of  $4.2 \pm 0.8$  cm and weighing  $0.9 \pm 0.3$  g. The fish were sacrificed and analyzed in stereomicroscope and light microscope. Fragments infected gut was collected and processed for light microscopy and histopathology. This study reports the morphological characteristics of coccidia found in *T. stellatus*, from the Guama River, Belém, Pará, Brazil.

**Keywords:** Apicomplexa, Ornamental fish, Freshwater, Microparasite.

## 2.1 INTRODUÇÃO

A espécie *Thoracocharax stellatus* (Kner, 1858) pertence à família Gasteropelecidae que é representada por peixes de pequeno porte, sendo encontrados em quase todos os países da região neotropical, com exceção do Chile (SILVA; CENTOFANTE; MIYAZAWA, 2009).

Apresenta um grande desenvolvimento dos ossos do cleitrum e coracóide, e das nadadeiras na região peitoral, possibilitando realizar pequenos saltos para fora da água quando em situação de perigo ou para capturar alimentos (WEITZMAN; PALMER, 2003; SILVA; CENTOFANTE; MIYAZAWA, 2009), por estas características recebe o nome popular de peixe borboleta.

Possui hábito alimentar insetívoro, consumindo principalmente formigas, besouros e ninfas de efemerópteras (NETTO-FERREIRA et al., 2007). É muito importante economicamente, pois é uma das 725 espécies de peixes nativas permitidas para exploração com finalidade ornamental ou de aquariorfilia, segundo a instrução normativa interministerial brasileira n° 001 de 3 de janeiro de 2012 (MPA, 2012).

Os peixes são o substrato vivo com o maior tempo de exposição e de adaptação para os organismos simbiotes, além de viverem em ambientes aquáticos que facilitam a

transmissão e a dispersão dos parasitos (AHID et al., 2009). Os peixes convivem em equilíbrio com parasitismo e patógenos, mas este equilíbrio pode ser rompido por distúrbios de ordem ambiental, como alterações na qualidade da água, principalmente redução nos níveis de oxigênio dissolvido e aumento na concentração de substâncias tóxicas, como gás carbônico (CO<sub>2</sub>), amônia e nitrito (KUBITZA; KUBITZA, 2013).

Os peixes de água doce e marinha das diferentes áreas geográficas são hospedeiros de variadas formas de parasitismo, e entre as protozooses, destaca-se os coccídios que são parasitos intracelulares pertencentes ao Filo Apicomplexa (LEVINE, 1970). Este grupo de microrganismos apresentam algumas formas patogênicas que ocorrem em diversos grupos de animais, como em moluscos bivalves e peixes (MATOS et al., 2004). Nos peixes, esses parasitas são encontrados em diversos tecidos/órgãos, como fígado, rins, intestino, gônadas e estômago (VIDEIRA, 2010). A descrição e a ocorrência de coccídios em peixes dulcícolas na região amazônica é de grande importância para o estudo da sanidade.

## 2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Quarenta e oito exemplares de *T. stellatus*, jovens e adultos (26 fêmeas e 22 machos), foram capturados com auxílio de tarrafas durante março de 2014 a fevereiro de 2015, em um igarapé, localizado a margem direita do rio Guamá, Belém, Pará, Brasil (01°50'S e 47°00'W). Ao serem retirados de seu ambiente natural, os animais foram acondicionados em baldes plásticos com aeração artificial, contendo aproximadamente 20 L de água do igarapé e transportados vivos até o Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo (LPCA), na Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) em Belém, Pará, onde foram anestesiados, com Tricaína Metanolsulfonato (MS222, SIGMA) na concentração de 50 mg/L, para realização da biometria. Os exemplares foram eutanasiados por mielotomia neural e toda superfície corpórea foi observada com auxílio de estereomicroscópio para verificar a existência de lesões, cistos ou parasitos, conforme o especificado no parecer da CEUA-UFRA 013/2014. A necropsia foi realizada com exposição das brânquias e da cavidade visceral, com a finalidade de detectar cistos ou alterações das características dos órgãos. Em seguida foram realizadas incisões com tesoura para retirada de fragmentos de tecidos e órgãos infectados, coletados com pinças e comprimidos entre lâmina e lamínula para observação em microscópio de luz. Confirmado o parasitismo no estômago e no intestino foram colhidos fragmentos dos órgãos, recortados e fixados em solução de Davidson (formaldeído, ácido acético, etanol 95 %, e água destilada) para microscopia de luz, por 24 h para processamento em técnica de parafina.

Realizada a microtomia com cortes de 5 $\mu$ m de espessura foram corados em Hematoxilina-Eosina (HE) e Ziehl-Neelsen (ZN) (LUNA, 1968). As lâminas coradas foram fotografadas em microscópio ZEISS Primo Star com câmera fotográfica Canon A610/A620 52 mm.

Para histopatologia foram idênticos os procedimentos de preparação de blocos, desidratação, coloração, microtomia e montagem dos cortes corados em lâminas de vidro, para observação posterior em microscópio de luz.

### 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

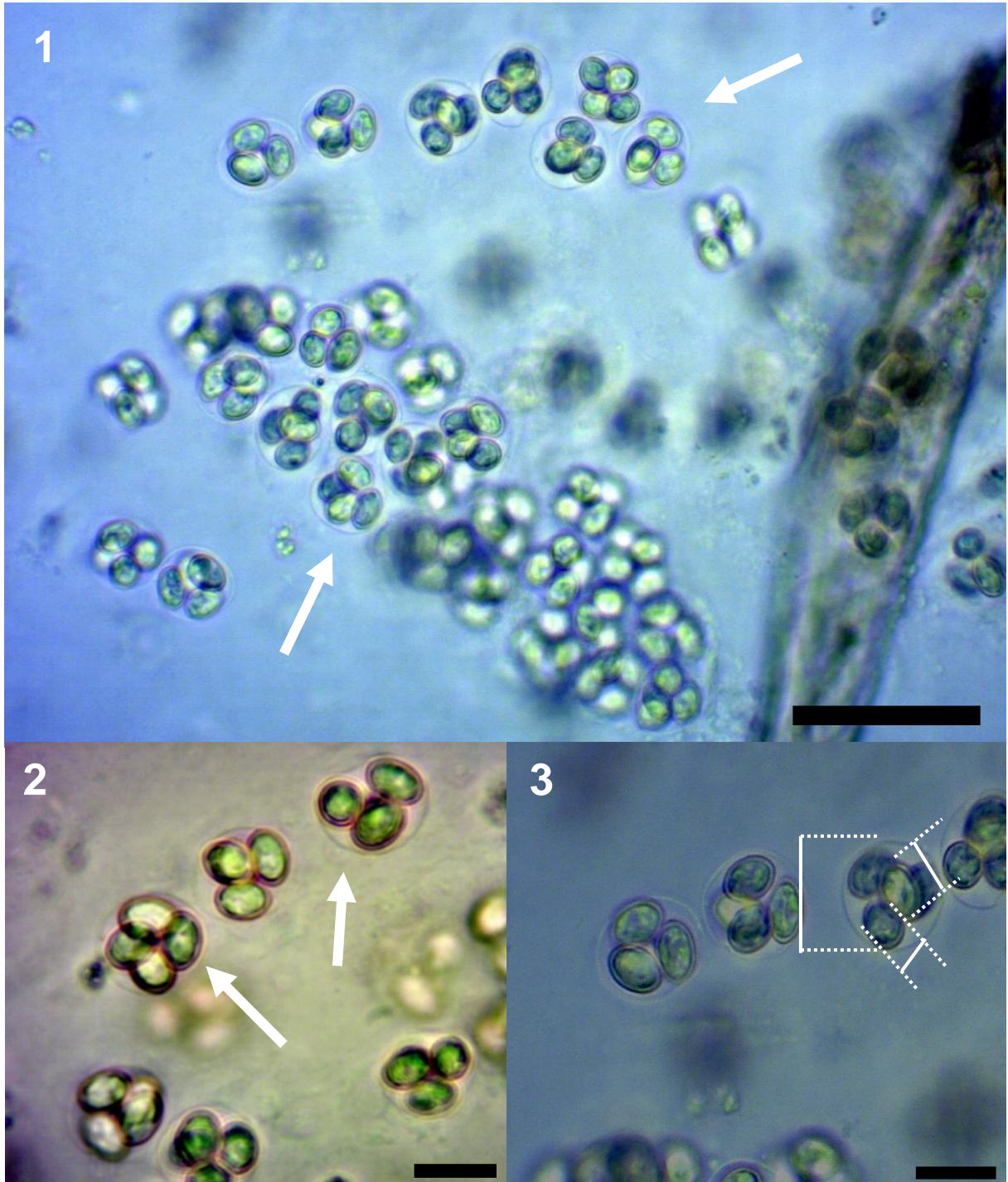
Dos quarenta e oito peixes examinados vinte e quatro (50%) apresentaram coccídios imaturos aderidos no estômago e coccídios maduros livres no intestino.

Os exemplares de *T. stellatus* mediram em média de 4,2  $\pm$  0,8 cm comprimento e pesaram em média de 0,9  $\pm$  0,3 g. Os exemplares de *T. stellatus* não apresentaram nenhuma correlação de comprimento, sexo ou estágio de maturação com o parasitismo causado por coccídios.

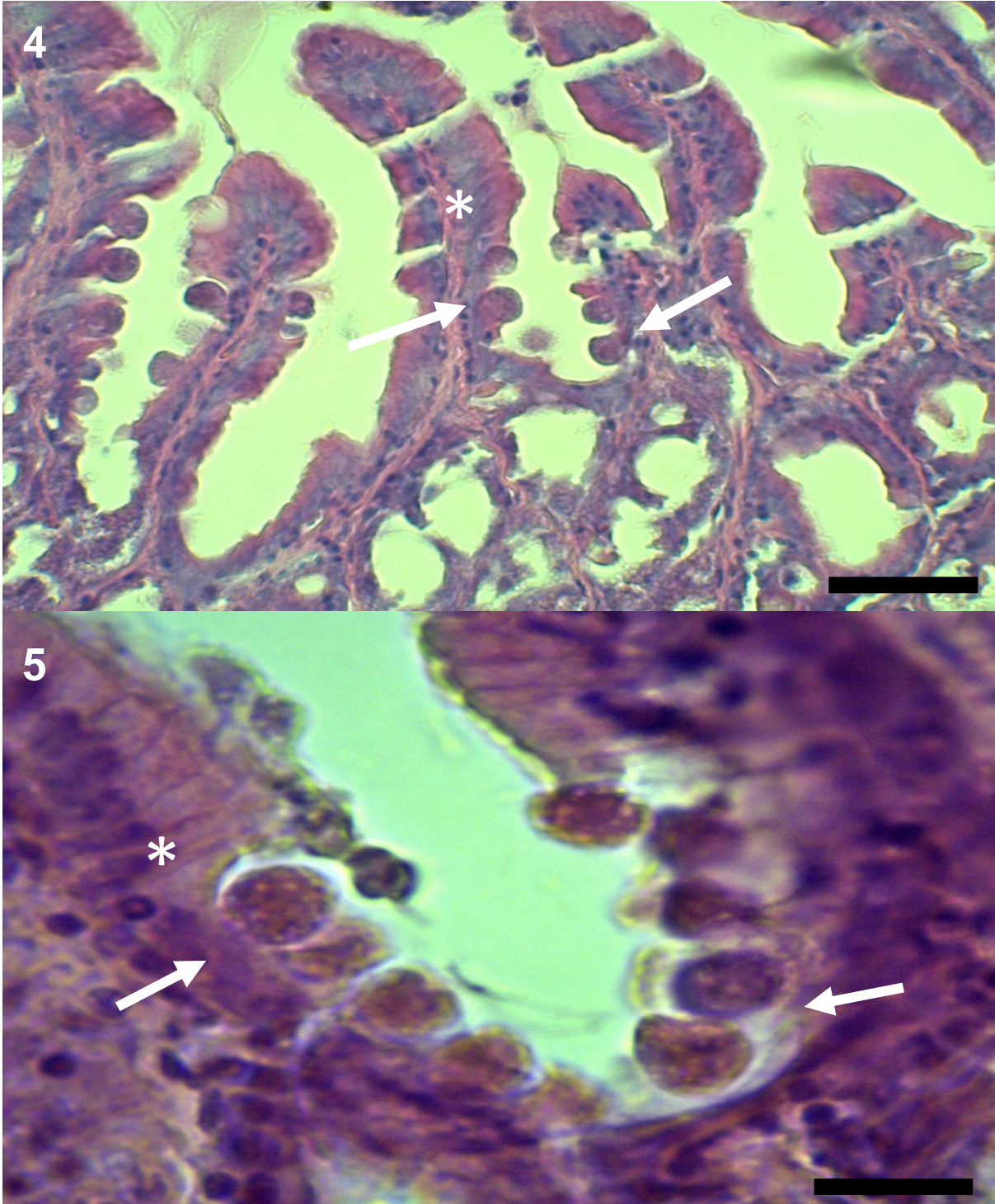
A primeira observação foi realizada a fresco em microscópio de luz, onde verificamos a presença de oocistos esféricos agrupados e isolados, apresentando vacúolos parasitóforos com quatro esporocistos, tendo no interior esporozoítos, livres no líquido digestivo do hospedeiro. Estes esporos maduros foram fotografados e medidos, apresentando diâmetro de 13,0  $\pm$  1,1  $\mu$ m, formato esférico e os esporocistos de formato ovoide, mediram 9,0  $\pm$  0,3  $\mu$ m de comprimento e 5,2  $\pm$  0,3  $\mu$ m de largura. (Figuras 1, 2 e 3).

Através da análise histológica, cortes corados em HE e ZN, foi possível identificar uma quantidade acentuada de oocistos imaturos infectando o estômago, os quais estão aderidos a mucosa e que o desenvolvimento dos plasmódios está causando a atrofia focal da mesma (Figura 4 e 5).

**Figura 1-3** - Fotomicrografia de coccídios. 1 – Lâmina preparada com material fresco, mostrando oocistos esféricos agrupados. Barra = 30  $\mu\text{m}$ . 2 - Esporos de coccídios maduros e isolados livres no líquido digestivo. Barra = 10  $\mu\text{m}$ . 3 - Demonstração de obtenção das medidas dos oocistos e esporocistos de coccídios encontrados parasitando *T.stellatus*. Barra = 10  $\mu\text{m}$ .

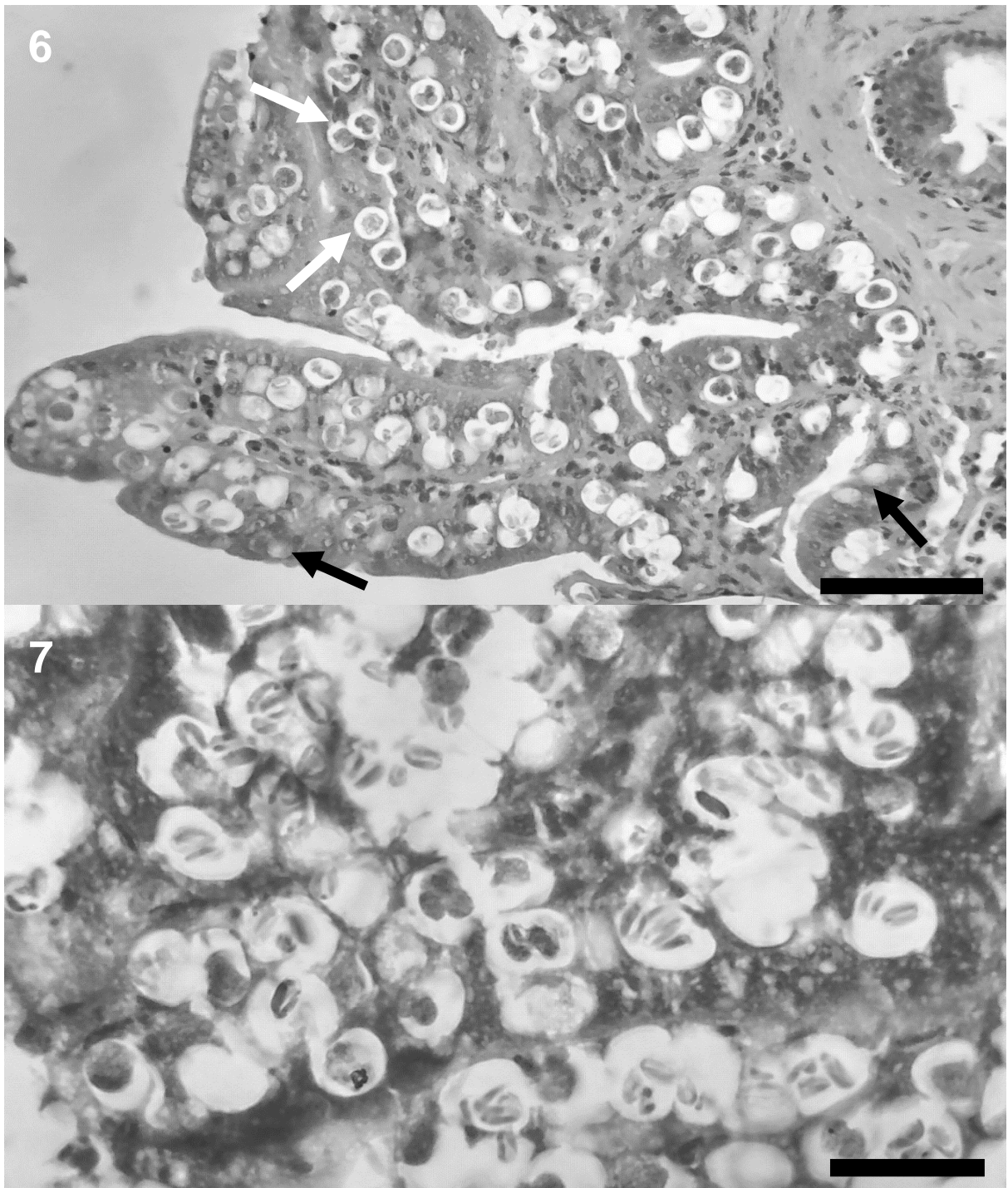


**Figura 4 e 5** – Histologia do estômago de *T. stellatus* infectado por coccídios. 4 - Corte histológico longitudinal das fossetas do estômago (\*), corado em ZN com a presença de esporos imaturos de coccídios. Barra = 40  $\mu$ m. 5 - Corte histológico longitudinal da região da mucosa do estômago (\*) de *T.stellatus*, corado em HE, mostrando plasmódios em desenvolvimento causando atrofia focal. Barra = 20  $\mu$ m.



Na análise histopatológica foi diagnosticada na região da mucosa, associada ao parasitismo, uma necrose do epitélio com marcante infiltrado inflamatório constituído por heterofilos e linfócitos. No laudo histopatológico foi diagnosticada “Gastrite” associada a Coccidiose (Figura 6 e 7).

**Figura 6 e 7** – Fotomicrografia de cortes histológicos do estômago de *T. stellatus*. 6 - Corte corado em HE, contendo esporocistos imaturos (seta preta) e maduros (seta branca) de coccídios. Barra = 50  $\mu$ m. 7 - Amplificação da imagem 6 mostrando necrose no epitélio com marcante infiltrado inflamatório constituído por heterofilos e linfócitos. Barra = 20  $\mu$ m.





Molnar et al. (2003), mencionam que os principais coccídios que ocorrem em muitas espécies de peixes no mundo são pertencentes aos gêneros *Calyptospora*, *Cryptosporidium*, *Crystallospora*, *Eimeria* e *Goussia*, sendo que as características mais relevantes para a distinção desses gêneros são as visualizações dos oocistos, esporocistos e esporozoítos (AZEVEDO, 2001; GONZALEZ-KOTHER; GONZALEZ, 2014). Lainson e Ribeiro (2006) registrou *Eimeria lepidosirenis* para piramboia *Lepidosiren paradoxa*, capturada próxima ao local de coleta dos *T. stellatus* examinados neste estudo.

Nos peixes, os coccídios do gênero *Goussia* parasitam principalmente o trato digestivo (DAVIES; BALL, 1993; GONZALEZ-KOTHER; GONZALEZ, 2014), entretanto, podem ser encontrados em outros órgãos, como o descrito por Álvarez-Pellitero e Gonzáles-Lanza (1985) que estudando uma espécie de peixe pertencente à família Cyprinidae, encontraram o coccídio do gênero *Goussia* na bexiga natatória, fígado e no ureter. Molnár e Ogawa (2000) estudando 11 espécies de peixes de água doce, encontraram coccídios do gênero *Goussia* na região intestinal e em túbulos renais. Dykova e Lom (2007), mencionam que os coccídios causam infecções dentro e fora do intestino em muitas espécies de peixes. No presente estudo, o coccídio encontrado no estômago de *T. stellatus* mostrou estar causando uma lesão nesse órgão, corroborando com as observações de Costa e MacKenzie (1994), que mostraram que a presença de alguns coccídios do gênero *Goussia* e *Eimeria*, causam sérias lesões em órgão e tecidos de diversas espécies de peixes.

Em relação ao formato dos oocistos e dos esporocistos dos coccídios encontrado no presente estudo, podemos destacar que diferem dos coccídios pertencentes ao gênero *Calyptospora* encontrados na região amazônica, pois os oocistos de *Calyptospora* possuem o formato esféricos e/ou elíptico, com a presença de 4 esporocistos de formato piriforme (AZEVEDO et al., 1993; SILVA et al., 2012). Na Indonésia foi encontrado *Goussia bettae* com os oocistos esféricos, contendo 4 esporocistos com formato alongado e/ou elipsoidal e *G. trichogasteri* em peixes ornamentais, apresentando oocistos de formato esférico, e os 4 esporocistos, com formato elipsoidal (MOLNAR et al., 2003).

No coccídio do presente estudo, os vacúolos parasitóforos, apresentaram formato esférico com 4 esporocistos dispostos internamente possuindo formato ovoide, corroborando com os descritos por Lainson e Ribeiro (2006) em *E. lepidosirenis* encontrado na piramboia *L. paradoxa* capturada na região metropolitana de Belém, Pará.

Em relação ao sitio de infecção, os coccídios encontrados em *T. stellatus*, desenvolviam-se aderidos a mucosa do estômago e no intestino foram encontrados livres no líquido intestinal em forma de oocistos maduros, resultados semelhantes aos observados por Molnar

et al, (2003) em *Trichogaster pectoralis* e *Betta splendens* e Lainson; Ribeiro, (2006) em *Lepidosiren paradoxa*, que mencionaram terem encontrado coccídios maduros em todo o intestino e oocistos em desenvolvimento nas células e muco intestinais, diferente dos demais trabalhos de Azevedo et al. (1993); Bonnar et al. (2006); Albuquerque e Brasil-Sato (2010) e SILVA et al. (2012), onde todos os achados quanto ao sítio de infecção foram parasitando o fígado.

De acordo com Albuquerque e Brasil-Sato (2010) as medições dos oocistos e esporocistos são estruturas utilizadas para diferenciação de gêneros e espécies de coccídios que parasitam peixes. No presente trabalho os oocistos apresentaram maior semelhança aos gêneros *Eimeria* e *Goussia*.

**Tabela 1** - Medidas comparativas em  $\mu\text{m}$  dos oocistos e esporocistos de algumas espécies do Filo Apicomplexa descritos.

Parasito	Origem	Diâmetro do oocisto ( $\mu\text{m}$ )	Formato	Esporocisto		Sítio de infecção	Hospedeiro
				Comprimento ( $\mu\text{m}$ )	Largura ( $\mu\text{m}$ )		
Coccídeo*	Brasil	12,0-14,5	Redondos	8,7-9,4	4,9-5,6	Trato gastrointestinal	<i>T. stellatus</i>
<i>C. spinosa</i> (AZEVEDO et al., 1993)	Brasil	21,1-23,4	Elipsóides	8,9-9,5	3,6-4,1	Fígado	<i>C. lepidota</i>
<i>Calyptospora</i> sp. (BONNAR et al., 2006)	Brasil	16,0-22,0	Piriformes	8,0-10,0	4,5-5,0	Fígado	<i>A. gigas</i>
<i>Calyptospora</i> sp. (ALBUQUERQUE; BRASIL-SATO., 2010)	Brasil	24,5	-	11,5	4,5	Fígado e intestino	<i>T. guentheri</i>
<i>Calyptospora</i> sp. (SILVA et al., 2012)	Brasil	20,8	Piriformes	8,9	4,1	Fígado	<i>B. vaillantii</i>
<i>Goussia trichogasteri</i> (MOLNAR et al., 2003)	Malásia	21-22,5	Redondos	5,5-6,5	3,5-4,5	Intestino	<i>T. pectoralis</i>
<i>Goussia bettae</i> (MOLNAR et al., 2003)	Malásia	7,5-8,5	Esféricos	6,5-7	2,0-3,0	Intestino anterior	<i>B. splendens</i>
<i>Eimeria lepidosirenis</i> (LAINSON; RIBEIRO., 2006)	Brasil	28,1-33,3	Esféricos	14,5 -16,0	8,0-9,0	Intestino	<i>L. paradoxa</i>

Nota: (\*). Presente estudo.

## AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos à CAPES, CNPq, SISBIO/ICMBIO-IBAMA, FAPESPA e aos colegas estagiários do LPCA-UFRA/Belém, por toda ajuda na coleta do material em campo e análises no laboratório.

## REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, M. C.; BRASIL-SATO, M. C. First report of *Calyptospora* sp. (Apicomplexa, Calyptosporidae) in forage characid fish from the Três Marias Reservoir, São Francisco Basin, Brazil. **Eur J Protistol**, v. 46, p. 150-152, 2010.

ÁLVAREZ-PELLITERO, M, P.; GONZÁLES-LANZA, M. C. *Goussia poylepidis* n. sp. (Apicomplexa: Sporozoa: Coccidia) from *Chondrostoma polylepis* (Pisces: Cyprinidae) of the Duero Basin (NW Spain). **J Protozool**, n. 32, v. 4, p. 570-571, 1985.

AHID, S.M.M.; FILGUEIRA, K.D.; FONSECA, Z.A.A.S. SOTO-BLANCO, B.; OLIVEIRA, M.F. Ocorrência de parasitismo em *Mola mola* (Linnaeus, 1758) por metazoários no litoral do Rio Grande do Norte, Brasil. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 3, n. 1, p. 43-47, 2009.

AZEVEDO, C.; MATOS, P.; MATOS, E. Morphological data of *Calyptospora spinosa* n. p. (Apicomplexa, Calyptosporidae) parasite of the *Crenicichla lepidota* Heckel, 1980 (Teleostei) from Amazon River. **Eur J Protistol**, v. 29, p. 171-175, 1993.

AZEVEDO C. Fine structure of sporogonic stages of *Goussia clupearum* (Apicomplexa: Eimeriidae) in the liver of infected fish (*Belone belone* L.) using light and electron microscopy. **Rev Parasitol**, v. 87 p. 326–330, 2001.

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

COSTA, G.; MACKENZIE, K. Histopathology of *Goussia clupearum* (Protozoa: Apicomplexa: Coccidia) in some marine fish from Scottish waters. **Dis Aquat Org**, v. 18, p. 195-202, 1994.

DAVIES, P. J.; BALL, S. P. The biology of fish coccidia. **Advances Parasitology**, v. 32, p. 293-366, 1993.

DYKOVA, I.; LOM, J. Definition of coccidia. In: DYKOVA, I.; LOM, J. **Histopathology of Protistan and Myxozoan Infections in Fishes**. Academia, Praha, Czech Republic, p. 89-104, 2007.

GONZALE-KOTHER, P.; GONZALEZ, M. T. The first report of live coccidian *Goussia cruciata* in jack mackerel, *Trachurus murphyi*, from the South Pacific and its relationship with host variables. **Rev Parasitol**, v. 113, p. 3903-3907, 2014.

KUBITZA, Fernando; KUBITZA, Ludmilla M. M. **Principais parasitoses e doenças dos peixes cultivados**. 5. ed. Jundai: F. Kubitza, 2013.

LUNA, L.G. Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology. **Blakiston division**, New York, p. 258, 1968.

LAINSON, R.; RIBEIRO, L. *Eimeria lepidosirenis* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) of the South American lungfish *Lepidosiren paradoxa* (Osteichthyes: Dipnoi) from Amazonian Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 3, p. 327-329, 2006.

MATOS, E., CASAL, G.; MATOS, P.; CORRAL, L.; AZEVEDO, C. Microrganismos Parasitos de Animais Aquáticos da Amazônia. In: RANZANI-PAIVA, M.J.T., TAKEMOTO, R.M., LIZAMA, M.A.P. **Sanidade de organismos aquáticos**. Editora Varela, São Paulo, Brasil, 158-178p. 2004.

MOLNÁR, K.; OGAWA, K. A survey on coccidian infections of Lake Biwa fishes in Japan, with the description of four new species of *Goussia* Labbé, 1896 (Apicomplexa). **Syst Parasitol**, v. 47, p. 215-222, 2000.

MOLNÁR, K.; SHAHAROM, F.; SZÉKELY, C. A survey of coccidian infections of freshwater fishes of Peninsular Malaysia, with descriptions of three species of *Goussia* Labbé, 1896 (Apicomplexa: Eimeriidae). **Syst Parasitol**, v. 55, p. 11-18, 2003.

MPA. Instrução normativa interministerial nº 1 de 3 de janeiro de 2012. Brasília, DF, 46 p, 2012.

NETTO-FERREIRA, A. L. et al. Feeding habits of *Thoracocharax stellatus* (Characiformes: Gasteropelecidae) in the upper Rio Tocantins, Brazil. **Neotrop Ichthyol**, v. 5, n. 1, p. 69-74, 2007.

SILVA, E.L.; CENTROFANTE, L.; MIYAZAWA, C.S. Análise morfométrica em *Thoracocharax stellatus* (Kner, 1858) (Characiformes, Gasteropelecidae) proveniente de diferentes bacias hidrográficas Sul-americanas. **Biota Neotrop**, v. 9, n. 2, p. 71-76, 2009.

SILVA, M.C; SÃO-CLEMENTE, S.C.; PICANÇO-JR, J. A.; VELASCO, M.; MATOS, E. *Calyptospora* sp. in *Brachyplatystoma vaillantii* trapped at the Vigia, State of Pará, Brazil. **Rev Bras Parasitol Vet**, v. 21, n. 2, p. 176-178, 2012.

VIDEIRA, M.N. **Estudo Morfológico de Microparasitas em *Aequidens plagiozonatus* Kullander 1984 (Osteiththyes: Cichlidae)**. (Dissertação de Mestrado, PPG-BAIP), UFPA, 75 p, 2010.

WEITZMAN, S.H.; PALMER, L. Family Gasteropelecidae. In: REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS-JR, C. **Checklist of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre, p. 101-103, 2003.

## CAPÍTULO II – *Henneguya* sp. NA MUSCULATURA DE *T. stellatus*

### 3. OCORRÊNCIA DE *Henneguya* sp. (MYXOZOA) NA MUSCULATURA DE *Thoracocharax stellatus* (KNER, 1858) (CHARACIFORMES: GASTEROPELECIDAE) CAPTURADOS EM IGARAPÉ NA MARGEM DIREITA DO RIO GUAMÁ, BELÉM, PARÁ

<sup>1</sup>Rebeca S Araújo; <sup>1</sup>Fabricio B de Sousa; <sup>1</sup>Ana Beatriz Mendes A Ramos; <sup>2</sup>Anny Marisol Souza; <sup>3</sup>Patricia F S dos Santos e <sup>4</sup>Edilson Matos.

<sup>1</sup>Mestranda(o) do PPGAqRAT – UFRA; <sup>2</sup>Aluna de graduação de Engenharia de Pesca – UFRA; <sup>3</sup>Faculdades Integradas Ipiranga- Belém; <sup>4</sup>Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo – UFRA.

#### RESUMO

Estudos relacionados com parasitos e outros patógenos de organismos aquáticos, tem sido considerados de grande interesse no Brasil e no mundo com enfoque maior para as espécies de alto valor comercial e com potencial para aquicultura de consumo e aquariofilismo. A espécie *T. stellatus*, pertence à família Gasteropelecidae e a ordem Characiformes, são peixes que habitam a superfície da água, possuem hábitos alimentares insetívoros e faz parte das 725 espécies de peixes nativas permitidas para exploração com finalidade ornamental, o que os caracterizam de importância econômica e de interesse para o presente estudo. Foram capturados com auxílio de tarrafas em uma área adjacente do Rio Guamá, Belém, Pará, Brasil. Um total de 22 peixes, jovens e adultos (14 fêmeas e 8 machos), com o comprimento médio de  $4,2 \pm 0,8$  cm e peso médio de  $0,9 \pm 0,3$  g. No exame a fresco, foi observado esporos maduros de *Henneguya* sp. parasitando a musculatura esquelética de *T. stellatus*, como primeiro registro dessa ocorrência.

**Palavras-chave:** Myxosporea, Parasitos, Peixe ornamental, Água doce.

#### ABSTRACT

Studies related to parasites and other aquatic pathogens, has been considered of great interest in Brazil and in the world with greater focus on species of high commercial

value and potential for aquaculture consumption and aquariofilism. *T. stellatus*, belongs to Gasteropelecidae family and the Characiformes order, they are fishes that inhabit the water's surface, have insectivorous diet and is part of the 725 species of native fish allowed for exploitation with ornamental purpose, characterizing the economic importance and interest for the present study. They were caught with cast net aid in an adjacent area of the Guama River, Belém, Pará, Brazil. A total of 22 fishes, juveniles and adults (14 females and 8 males) with a mean total length of  $4.2 \pm 0.8$  cm and weight  $0,9 \pm 0.3$  g. In fresh examination, it was observed mature spore *Henneguya* sp. parasitizing the skeletal muscles of *T. stellatus*, as the first record of this occurrence.

**Keywords:** Myxosporea, Parasites, Ornamental fish, freshwater.

### 3.1 INTRODUÇÃO

A família Gasteropelecidae compreende um pequeno grupo de espécies de Characiformes encontrada no Panamá e em todos os países da América do Sul com exceção do Chile (WEITZMAN; PALMER, 2003). Popularmente chamados de peixe borboleta, por realizarem longos saltos fora da água, podem ser facilmente diferenciados dos outros Characiformes por apresentar a cabeça reduzida, serem de pequeno porte, não ultrapassando 12 cm de comprimento total e por apresentarem um grande desenvolvimento de suas nadadeiras e músculos peitorais (HERCOS et al., 2009).

Em seu hábitat natural, os peixes possuem uma variedade de patógenos e geralmente não apresentam sinais clínicos de nenhuma parasitose. Normalmente, isso acontece, devido ao estado nutricional e fisiológico do peixe estar em equilíbrio com o ambiente, evitando a manifestação da doença. Quando ocorrem alterações ambientais, com reflexos nos mecanismos de defesa, imediatamente esses animais poderão apresentar sinais clínicos de certas enfermidades, já que passam a se tornar sujeitos à ação dos patógenos (PAVANELLI et al., 2002).

O filo Myxozoa Bütschli, 1882 é formado pelas classes Malacosporea, com uma ordem e uma família e a classe Myxosporea que possui duas ordens e doze famílias (MOREIRA, 2014b), que agrupam aproximadamente 60 gêneros e mais de 2000 espécies descritas, com ampla distribuição geográfica nos ambientes marinhos e de água doce (CASAL et al., 2006).



Essas espécies são consideradas agentes patogênicos comumente encontradas em peixes, mas, são relatadas ocorrências em moluscos, anfíbios, répteis, pássaros e mamíferos (FEIST; LONGSHAW, 2006; CARRIERO et al., 2013). Esses microparasitas, provavelmente necessitam de um hospedeiro intermediário (Anelídea) para completar seu ciclo de vida (ATKINSON; BARTHOLOMEW, 2009).

O gênero *Henneguya* Thélohan, 1892, é um dos gêneros mais numerosos da família Myxobolidae, sendo descritas mais de 190 espécies (KHLIFA et al., 2012; YOKOYAMA et al., 2012) e com cerca de 40 espécies observadas em peixes na América do Sul (ADRIANO et al., 2012; MOREIRA, 2014b). Os membros desse gênero possuem características em comum que são o formato do corpo elipsoide, presença de duas cápsulas polares, projeções caudais e esporoplasmas em célula binucleada (LOM; DYKOVÁ, 2006).

Esses microparasitas possuem estágio de vida vegetativo, sendo encontrados nas cavidades corpóreas, órgão vitais, tecidos intra e extracelulares (KENT et al., 2001), causando inflamações devido a formação de cistos, resultando em efeitos deletérios teciduais em seus hospedeiros, levando muitas vezes a morte (AZEVEDO et al., 2009; AZEVEDO et al., 2011; MOREIRA, 2014b).

Nos últimos 10 anos, muitos trabalhos foram realizados no Brasil descrevendo a ocorrência de diferentes espécies de *Henneguya* spp. em peixes, com destaque para Matos et al. (2001); Eiras et al. (2004); Matos et al. (2005); Martins e Onaka (2006); Abdallah et al. (2007); Azevedo et al. (2008); Azevedo et al. (2009); Azevedo et al. (2010); Naldoni et al. (2011); Adriano et al. (2012) e Moreira (2014a). A maioria desses trabalhos foram realizados com espécies destinadas a alimentação humana, porém, com poucas ou escassas ocorrências e descrições em espécies de peixes ornamentais brasileiros.

Este trabalho reporta a primeira ocorrência de infecção na musculatura epiaxial causada por *Henneguya* sp. em *T. stellatus*, um peixe ornamental capturado em igarapés e exportado do estado do Pará, Brasil.

### **3.2 MATERIAL E MÉTODOS**

Vinte e dois espécimes, jovens e adultos (14 fêmeas e 8 machos), de *T. stellatus*, foram capturados durante outubro de 2014 e fevereiro de 2015, com auxílio de tarrafas

em um igarapé localizado a margem direita do rio Guamá (01° 27' S / 48° 26' W), Belém, Pará, Brasil. Posteriormente, os peixes foram transportados vivos para o Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo da Universidade Federal Rural da Amazônia e mantidos em aquário de 36 L, contendo água do rio, mantendo-se aeração constante e troca parcial da água, sempre que necessário, até que todos os animais fossem examinados, a temperatura da água foi mantida entre 23-30°C, para não diferenciar da temperatura ambiente do local de coleta. Antes dos procedimentos de avaliação macro e microscópica da presença de *Henneguya* sp., os peixes foram anestesiados com Tricaína Metanolsulfonato (MS222, SIGMA), na concentração de 50 mg L<sup>-1</sup>, pesados, medidos, sacrificados, sexados e necropsiados, conforme especificações contidas no parecer da CEUA-UFRA 013/2014.

Para verificar a existência de parasitos os exemplares foram observados com auxílio de estereomicroscópio. Em seguida fragmentos da musculatura epiaxial foram comprimidos entre lâmina e lamínula e observado em microscópio de luz. Confirmada a presença de esporos de *Henneguya* sp., foram retirados fragmentos (0.5 cm) da musculatura epiaxial e fixados em solução de Davidson (formalina, ácido acético glacial, álcool etílico 95 % e água destilada) e em glutaraldeído a 4% cacodilato de sódio, por 24 h para processamento em técnica de parafina. Para o registro a fresco, pequenos fragmentos foram colocados entre lâmina de vidro e lamínula contendo uma gota d'água e observados no microscópio trinocular ZEISS PRIMO STAR com câmera fotográfica Canon A610/A620 52 mm.

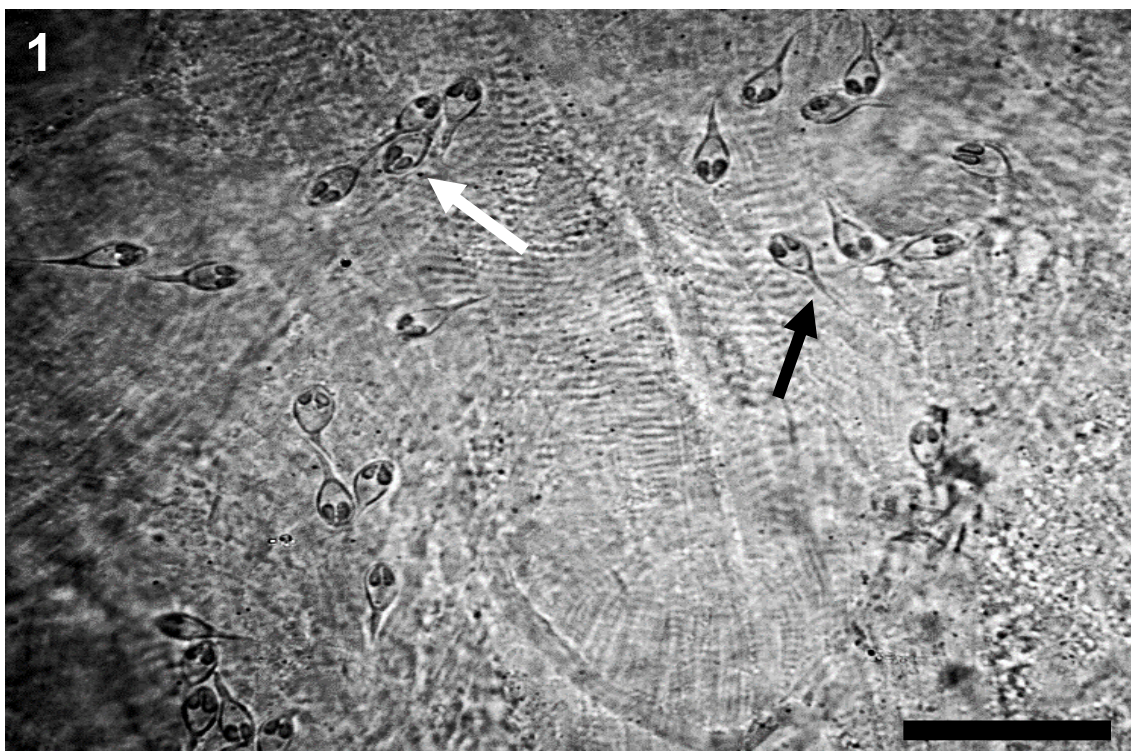
### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os exemplares de *T.stellatus* mediram em média de  $4,2 \pm 0,8$  cm de comprimento total e pesaram em média de  $0,9 \pm 0,3$  g. A amostragem foi heterogênea, quatro dos machos estavam parasitados e em estágio de maturação sexual, das quatorze fêmeas, seis estavam parasitadas e duas estavam no período de maturação sexual. Em 45% dos exemplares, jovens e adultos (10/22) de *T. Stellatus* observados a fresco em microscopia de luz foram encontrados esporos de forma ovoide, duas valvas lisas que se prolongam na região posterior em duas projeções caudais independentes, duas cápsulas polares de tamanhos iguais e formato ovoide, disseminados na musculatura epiaxial (Figura 1).

Não foi observado a formação de cistos e nenhum infiltrado inflamatório na musculatura dos exemplares infectados.

Os esporos maduros do parasito foram fotografados e medidos, apresentando  $25,9 \pm 0,5 \mu\text{m}$  de comprimento total,  $12,0 \pm 0,2 \mu\text{m}$  de comprimento do corpo,  $7,1 \pm 0,2 \mu\text{m}$  de largura e  $13,9 \pm 0,6 \mu\text{m}$  de comprimento caudal. As duas cápsulas polares de tamanhos iguais e formato oval mediram  $5,6 \pm 1,8 \mu\text{m}$  de comprimento e  $2,6 \pm 0,1 \mu\text{m}$  de largura (Figura 1 e Tabela 1).

**Figura 1** – Lâmina preparada com material fresco mostrando esporos maduros de *Henneguya* sp., com cápsulas polares de tamanhos iguais e formato ovoide (seta branca) parasitando a musculatura de *T. stellatus*. Pode-se notar na região posterior (seta preta) duas projeções caudais independentes. Barra =  $40 \mu\text{m}$ .



Na América do Sul, existem cerca de 27 espécies de *Henneguya* que foram encontradas infectando diversos órgãos e tecidos em diferentes espécies de peixes pertencentes a ordem Characiformes em ambientes naturais de água doce (EIRAS, 2002; EIRAS; ADRIANO, 2012). No presente estudo foi registrado uma espécie de *Henneguya* sp. parasitando a musculatura de *T. stellatus* pertence a ordem Characiformes oriundos de ambiente natural.

Os organismos pertencentes ao gênero *Henneguya* podem ser diferenciados morfologicamente dos demais mixosporídios por apresentarem valvas lisas que se

prolongam na região posterior em 2 projeções caudais independentes, onde em algumas espécies esse prolongamento caudal pode ser revestido por material hialino (AZEVEDO; MATOS, 1995; AZEVEDO; MATOS 2003). Entretanto, Matos et al. (2001), mencionam que o tamanho das cápsulas polares e o número de voltas dos tubos polares, podem ser utilizados como forma de diferenciação entre as espécies de mixosporídios. De acordo com as características morfológicas foi possível identificar o mixosporídio encontrado na musculatura epiaxial de *T. stellatus* como pertencente ao gênero *Henneguya*.

Estudos relatam que mixosporídios do gênero *Henneguya* podem causar processos infecciosos em peixes de ambientes naturais e/ou cativo, levando muitos desses animais a morte. Podemos destacar os danos em peixes causados por *Henneguya* como a doença da brânquia proliferativa em peixe-gato, causado por *H. exilis* (CURRENT; JANOBY 1977) e *H. ictaluri* (POTE et al., 2000), infecção no coração com cardiomiopatias degenerativas em *Pagrus major* causada por *H. pagri* (YOKOYAMA, 2005) e degeneração do filamento branquial em *P. corruscans* e *P. reticulatum*, causada por *H. eirasi* (NALDONI et al., 2011). Neste estudo, o *Henneguya* sp. encontrado em *T. stellatus*, não está causando danos a musculatura desse peixe, divergindo do relatado por Cellere (1998), que mencionou danos causados pela presença de *H. salmicola* na musculatura de peixes.

O gênero *Henneguya* pode ser encontrado em diversas espécies de peixes, com destaque para a ocorrência de *H. friderici* nos filamentos branquiais, estômago, rins e baço do piau *Leporinus friderici* (CASAL et al., 2003); *H. schizodon* nos rins do piau *Schizodon fasciatus* (EIRAS et al., 2004); *H. pellucida* na cavidade visceral e túnica externa da bexiga natatória do pacu *Piaractus mesopotamicus* (ADRIANO et al., 2005); *H. arapaima* no arco branquial e na vesícula biliar do pirarucu *Arapaima gigas* (FEIJÓ et al., 2008); *H. caudicula* nas brânquias do piau *L. lacustres* (EIRAS et al., 2008); *H. corruscans* nas brânquias do pintado *Pseudoplatystoma corruscans* (EIRAS et al., 2009) e *H. visivilis* nas nadadeiras do piau *L. obtusidens* (MOREIRA et al., 2014a). Neste trabalho, *Henneguya* sp. foi encontrado na musculatura epiaxial (acima da linha lateral) de *T. stellatus*, apresentando ocorrência de região diferente dos trabalhos citados.

Em relação as características morfométricas obtidas de *Henneguya* sp. do presente estudo, algumas características tiveram similaridade com as encontradas em *H.*

*corruscans* descrito no pintado *P. corruscans* por Eiras et al. (2009) e diferenciando-se dos demais trabalhos descritos por *H. friderici* do piau *Leporinus friderici* (CASAL et al., 2003); *H. schizodon* do piau *Schizodon fasciatus* (EIRAS et al., 2004); *H. pellucida* do pacu *Piaractus mesopotamicus* (ADRIANO et al., 2005); *H. arapaima* do pirarucu *Arapaima gigas* (FEIJÓ et al., 2008); *H. caudicula* do piau *L. lacustres* (EIRAS et al., 2008) e *H. visivilis* do piau *L. obtusidens* (MOREIRA et al., 2014a).

Estas similaridades referem-se às medidas de comprimento total do esporo (25-29  $\mu\text{m}$  para *H. corruscans* e  $25,9 \pm 0,5 \mu\text{m}$  para *Henneguya* sp.); comprimento do corpo do esporo (13-15  $\mu\text{m}$  para *H. corruscans* e  $12,0 \pm 0,2 \mu\text{m}$  para *Henneguya* sp.); comprimento da cauda (12-15  $\mu\text{m}$  para *H. corruscans* e  $13,9 \pm 0,6 \mu\text{m}$  para *Henneguya* sp.) e o comprimento do corpo do esporo (6,8  $\mu\text{m}$  para *H. corruscans* e  $5,6 \pm 1,3 \mu\text{m}$  para *Henneguya* sp.) (tabela 1)

Porém, o *H. corruscans* difere do *Henneguya* sp. (deste estudo) em características como largura do corpo do esporo (5  $\mu\text{m}$  para *H. corruscans* e  $5,6 \pm 0,2 \mu\text{m}$  para *Henneguya* sp.) e largura da capsula polar (2  $\mu\text{m}$  para *H. corruscans* e  $2,6 \pm 0,1 \mu\text{m}$  para *Henneguya* sp.). Outra característica que se diferenciou foi quanto ao sítio de infecção, onde *H. corruscans* foi encontrado parasitando as brânquias e o *Henneguya* sp. parasitando a musculatura epiaxial de *T. stellatus* (tabela 1).

No Brasil, não existem relatos de mixosporidioses em *T. stellatus*, sendo este o primeiro estudo com a espécie nesta região, contribuindo para a comunidade científica brasileira e mundial, através dos conhecimentos morfológicos destes parasitos, bem como sua distribuição geográfica.

**Tabela 1** - Comparação morfométrica ( $\mu\text{m}$ ) de esporos maduros do *Henneguya* sp. encontrado neste trabalho com outras espécies de *Henneguya* descritas.

<b>Parasito</b>	<b>CT</b>	<b>CCE</b>	<b>CC</b>	<b>LCE</b>	<b>CCP</b>	<b>LCP</b>	<b>Sítio de infecção</b>	<b>Hospedeiro</b>
<i>Henneguya</i> sp.*	25,9 $\pm$ 0,5	12,0 $\pm$ 0,2	13,9 $\pm$ 0,6	7,1 $\pm$ 0,2	5,6 $\pm$ 1,3	2,6 $\pm$ 0,1	Musculatura epiaxial	<i>T. stellatus</i>
<i>H. friderici</i> (CASAL et al., 2003)	33,8 (28,7-9,9)	10,4 (9,6-11,8)	23,3 (19,1-28,7)	5,7 (4,8-6,6)	4,9 (4,5-5,9)	2,1 (1,5-2,6)	Filamentos branquiais, estômago, rins e baço	<i>L. friderici</i>
<i>H. schizodon</i> (EIRAS et al., 2004)	28,9 (27-30)	13,1 (12-14)	16,3 (15-17)	3,3 (3-4)	5,4 (5-6)	1,3 (1-1,5)	Rins	<i>S. fasciatus</i>
<i>H. caldiculata</i> (EIRAS et al., 2008)	14,7 (14-16)	11,3 (11-12)	3,6 (3-4)	5,4 (5-6)	3,7 (3-4)	1,5	Brânquias	<i>L. lacustris</i>
<i>H. arapaima</i> (FEIJÓ et al., 2008)	51,6 $\pm$ 3,4	14,2 $\pm$ 0,8	38,3 $\pm$ 2,9	5,7 $\pm$ 0,5	6,5 $\pm$ 0,2	1,5 $\pm$ 0,1	Vesícula biliar e arcos branquiais	<i>A. gigas</i>
<i>H. corruscans</i> (EIRAS et al., 2009)	25,0-29,0	13-15	12-15	5,0	6,8	2,0	Brânquias	<i>P. corruscans</i>
<i>H. azevedoi</i> (BARASSA et al., 2011)	45,2 (45,5-47)	10,0 (9,9-10,2)	35,6 (34,9-36,5)	4,4 (4-5)	3,8 (3-4)	1,0	Brânquias	<i>L. obtusidens</i>
<i>H. visivilis</i> (MOREIRA et al., 2014a)	26,8 $\pm$ 1,1	10,8 $\pm$ 0,6	18 $\pm$ 1,2	3,0 $\pm$ 0,2	4,9 $\pm$ 0,3	1,4 $\pm$ 0,1	Nadadeiras	<i>L. obtusidens</i>

Nota: Comprimento total (CT), Comprimento do corpo do esporo (CCE), Comprimento da cauda (CC) Largura do corpo (LCE), Comprimento da capsula polar (CCP), Largura da capsula polar (LCP). Presente estudo (\*).

## AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos à CAPES, CNPq, SISBIO/ICMBIO-IBAMA, FAPESPA e aos colegas estagiários do LPCA-UFRA/Belém, por toda ajuda na coleta do material em campo e análises no laboratório.

## REFERÊNCIAS

ABDALLAH, V. D.; AZEVEDO, R. K.; LUQUE, J. L.; BOMFIM, T. C. B. Two new species of *Henneguya* Thélohan, 1892 (Myxozoa, Myxobolidae), parasitic on the gills of *Hoplosternum littorale* (Callichthyidae) and *Cyphocharax gilbert* (Curimatidae) from the Guandu River, State of Rio de Janeiro, Brazil. **Parasitol Latinoam**, v. 62, p. 35-41, 2007.

ADRIANO E. A.; ARANA, S.; CORDEIRO N. S. Histology, Ultrastructure and prevalence of *Henneguya piaractus* (Myxosporidia) infecting the gills of *Piaractus mesopotamicus* (Characidae) cultivated in Brazil. **Dis Aquat Org**, n. 64, p. 229-235, 2005.

ADRIANO E. A.; CARRIERO M. M.; MAIA A. A. M.; SILVA M. R. M.; NALDONI J.; CECCARELLI P. S.; ARANA S. Phylogenetic and host-parasite relationship analysis of *Henneguya multiplasmoidal* n. sp. infecting *Pseudoplatystoma* spp. in Brazilian Pantanal wetland. **Vet Parasitol**, v. 185, n. 4, p.110-120, 2012.

ATKINSON, S. D.; BARTHOLOMEW, J. L. Alternate spore stages of *Myxobilatus gasterostei*, a myxosporean parasite of three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*) and oligochaetes (*Nais communis*). **Parasitol Res**, 104, p. 1173-1181, 2009.

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. *Amazonospora Hassar* n. gen. And n. sp. (Phylum Microsporidia, Fam. Glugeidae), a parasite of the amazonian teleost *Hassar orestis* (Fam. Doradidae). **J Parasitol**, n. 89, v. 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). **J Eukaryot Microbiol**, v. 55(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). **J Eukaryot Microbiol**, v. 56, p. 589-593, 2009.

AZEVEDO, C.; CASAL, G.; MENDONÇA, I.; CARVALHO, E.; MATOS, P. and MATOS, E. Light and electron microscopy of *Myxobolus sciades* n. sp. (Myxozoa), a parasite of the

gills of the Brazilian fish *Sciades herzbergii* (Block, 1794) (Teleostei). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 101, p. 203-207, 2010.

AZEVEDO, C.; CASAL, G.; MARQUES, D.; SILVA, E.; MATOS, E. Ultrastructure of *Myxobolus brycon* n. sp. (Phylum Myxozoa), parasite of the piraputanga fish *Brycon hilarii* (Teleostei) from Pantanal (Brazil). **J Eukaryot Microbiol**, v. 58, n. 2, p. 88-93, 2011.

BARASSA, B.; ADRIANO, E. A.; CORDEIRO, N. S.; ARANA, S.; CECCARELLI, P. S. Morphology and host-parasite interaction of *Henneguya azevedoi* n. sp., parasite of gills of *Leporinus obtusidens* from Mogi-Guaçu, River, Brazil. **Parasitol Res**, 2011.

CARRIERO, M. M.; ADRIANO, E. A.; SILVA, M. R. M.; CECCARELLI, P. S.; MAIA, A. A. M. Molecular phylogeny of the *Myxobolus* and *Henneguya* genera with several new asouth American species. **Plos one**, v. 8, n. 9, p. 1-12, 2013.

CASAL, G.; MATOS, E.; AZEVEDO, C. Light and electron microscopic study of the myxosporean, *Henneguya friderici* n. sp. from the Amazonian teleostean fish, *Leporinus friderici*. **Parasitology**, n. 126, p. 313-319, 2003.

CASAL, G.; MATOS, E.; AZEVEDO, C. A new myxozoan parasite from the Amazonian fish *Metynnis argenteus* (Teleostei: Characidae): light and electron microscope observations. **J Parasitol**, n. 92, p. 817-821, 2006.

CELLERE, E. F. Mixosporídeos de Peixes do Rio Piracicaba, Município de Piracicaba, SP. (**Dissertação de Mestrado**), UNICAMP, p. 142, 1998.

CURRENT, W. L.; JANOVY, J. Sporogenesis in *Henneguya exilis* infecting the channel catfish: an ultrastructural study. **Protistologica**, v.13, p. 157-167, 1977.

EIRAS, J. C.; Synopsis of the species of the genus *Henneguya* Thelohan, 1892 (Myxozoa: Myxosporea: Myxobolidae). **Syst Parasitol**, v. 52, p. 43-54, 2002.

EIRAS, J. C. Aspectos gerais da patologia das parasitoses de peixes marinhos. In: RANZANI-PAIVA, M.J.T., TAKEMOTO, R.M., LIZAMA, M.A.P. In: **Sanidade de organismos aquáticos**. Editora Varela, São Paulo, Brasil, p. 143-156, 2004.

EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C. *Henneguya caudicula* n. sp. (Myxozoa, Myxobolidae) a parasite of *Leporinus lacustis* (Osteichthyes, Anostomidae) from the high Paraná River, Brazil, with a revision of *Henneguya* spp. Infecting South American fish. **Acta Protozool**, n. 47, p. 149-154, 2008.

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

EIRAS, J. C.; ADRIANO, E. A. Checklist of the species of the genus *Henneguya* Thelohan, 1892 (Myxozoa, Myxosporea, Myxobolidae) described between 2002 and 2012. **Syst Parasitol**, v.83, p. 95-104, 2012.



FEIJO, M. M.; ARANA, S.; CECCARELLI, P. S.; ADRIANO, E. A. Light and scanning electron microscopy of *Henneguya arapaima* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae) and histology of infected sites in pirarucu (*Arapaima gigas*: Pisces: Arapaimidae) from the Araguaia River, Brazil. **Vet Parasitol**, n. 157, p. 59-64, 2008.

FEIST, S. W.; LONGSHAW, M. Phylum Myxozoa. In: Woo PTK, editor. **Fish diseases and disorders: Protozoan and Metazoan infections**. 2a ed. UK: CAB International. p. 230–296, 2006.

HERCOS, A. P.; QUEIROZ, H. L.; ALMEIDA, H. L. **Peixes ornamentais do Amanã**. IDSM. p. 70-74, Tefé-AM, 2009.

KENT, M. L.; ANDREE, K. B.; BARTHOLOMEW, J. L.; EL-MATBOULI, M.; DESSER, S. S. Recent advances in our knowledge of the Myxozoa. **J Eukaryot Microbiol**, v. 48, p. 395–413, 2001.

KHLIFA, S.; MILLER, T. L.; ADLARD, R. D.; FAYER, N.; SASAL, P. *Henneguya mauritaniensis* n. sp. (Myxozoa) from the arterial bulb of *Pagrus caeruleostictus* (Valenciennes, 1830) off Mauritania. **Res Parasitol**, v. 111, p. 1287-1294. 2012.

LOM, J.; DYKOVÁ, I. Myxozoan genera: definition and notes on taxonomy, life-cycle terminology and pathogenic species. **Folia Parasitol**, v. 53, p. 1–36, 2006.

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

MATOS, E.; CORRAL, L.; MATOS, P.; CASAL, G.; AZEVEDO, C. Incidência de parasitas do Phylum Myxozoa (Sub-reino Protozoa) em peixes da região amazônica, com especial destaque para o gênero *Henneguya*. **Rev Cien Agrar**, Belém-PA, v. 36, p.83 - 99, 2001.

MATOS, E.; TAJDARI, J.; AZEVEDO, C. Ultrastructural studies of *Henneguya rhamdia* n. sp. (Myxozoa) a parasite from the Amazon teleost fish *Rhamdia quelen* (Pimelodidae). **J Eukaryot Microbiol**, v. 52, p. 532-537, 2005.

MOREIRA, G. S. A.; ADRIANO, E. A.; SILVA, M. R. M.; CECCARELLI, P. S.; MAIA, A. A. M. Morphology and 18S rDNA sequencing identifies *Henneguya visibilis* n. sp., a parasite of *Leporinus obtusidens* from Mogi Guaçu River, Brazil. **Res Parasitol**, n. 113, v. 1, p. 81–90, 2014a.

MOREIRA, G. S. A.; ADRIANO, E. A.; SILVA, M. R. M.; CECCARELLI, P. S.; MAIA, A. A. M. The morphological and molecular characterization of *Henneguya rotunda* n. sp., a parasite of the gill arch and fins of *Salminus brasiliensis* from the Mogi Guaçu River, Brazil. **Res Parasitol**, n. 113, v. 5, p. 1703–1711, 2014b.

NALDONI, J.; ARANA, S.; MAIA, A. A. M.; SILVA, M. R. M.; CARRIERO, M. M.; CECCARELLI, P. S.; TAVARES, L. E. R.; ADRIANO, E. A. Host parasite environment relationship, morphology and molecular analyses of *henneguya eirasi* n. sp. Parasite of two

wild *Pseudoplatystoma* spp. In Pantanal Wetland, Brazil. **Vet Parasitol**, v. 177, p. 247-255, 2011.

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

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). **J Aquat Anim Health**, v.12, 230-240, 2000.

WEITZMAN, S. H.; PALMER, L. Family Gasteropelecidae. In: REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS-JR, C. **Checklist of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre, p. 101-103, 2003.

YOKOYAMA, H.; ITOH, N.; TANAKA, S. *Henneguya pagri* n. sp. (Myxozoa: Myxosporea) causing cardiac henneguyosis in red sea bream, *Pagrus major* (Temnick & Schlegel). **J Fish Dis**, v. 28, p. 479-487, 2005.

YOKOYAMA, H.; URAWA, S.; GRABNER, D.; SHIRAKASHI, S. *Henneguya cartilaginis* n. sp. (Myxozoa: Myxosporea) in the head cartilage of masu salmon *Oncorhynchus masou masou* **Parasitol Int**, v.61, p. 594-598, 2012.

### CAPÍTULO III- *Myxobolus* sp. NA BRÂNQUIA DE *T. stellatus*

#### 4. PRESENÇA DE *Myxobolus* sp. (MYXOZOA) NAS BRÂNQUIAS DO *Thoracocharax stellatus* (KNER, 1858) (CHARACIFORMES) CAPTURADO EM IGARAPÉ NA MARGEM DIREITA DO RIO GUAMÁ, BELÉM, PARÁ

<sup>1</sup>Rebeca S Araújo; <sup>1</sup>Fabricio B de Sousa; <sup>1</sup>Ana Beatriz Mendes A Ramos; <sup>2</sup>Anny Marysol Souza Cavalcante; <sup>3</sup>José Ledamir Sindeaux Neto e <sup>4</sup>Edilson Matos.

<sup>1</sup>Mestranda(o) do PPGAqRAT – UFRA; <sup>2</sup>Aluna de graduação de Engenharia de Pesca – UFRA; <sup>3</sup>Faculdades Integradas Ipiranga- Belém; <sup>4</sup>Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo – UFRA.

#### RESUMO

A espécie *T. stellatus*, pertence à família Gasteropelecidae está representada por peixes de pequeno porte. Apresenta um grande desenvolvimento dos ossos, cleitrum e coracóide e das nadadeiras na região peitoral. Por esta característica recebe o nome popular de peixe borboleta. Possui hábito alimentar insetívoro, consumindo principalmente formigas, besouros e ninfas de efemerópteras. É importante economicamente, pois é uma das 725 espécies de peixes nativas permitidas para exploração com finalidade ornamental. Foram capturados com auxílio de tarrafas em uma área adjacente do Rio Guamá, um total de 15 exemplares de *T. stellatus*, jovens e adultos (6 fêmeas e 9 machos), com o comprimento médio de  $4,2 \pm 0,8$  cm e peso médio de  $0,9 \pm 0,3$  g. Fragmentos de brânquias foram coletados e analisados a fresco em microscopia de luz, onde foram observados a presença de cistos repletos de esporos de *Myxobolus* sp. com capsulas polares desiguais. Este estudo relata como primeiro registro as características morfológicas de *Myxobolus* sp. encontrado em *T. stellatus*, provenientes do Rio Guamá, município de Belém, Pará.

**Palavras-chave:** Água doce, Peixe ornamental, Microparasitos.

#### ABSTRACT

*T. stellatus* belongs to Gasteropelecidae family is represented by small fish. It features a large bone development, cleitrum and coracoid, and fins in the pectoral region. For this feature receives the popular name of butterfly fish. I have insectivore feeding habit, consuming mostly ants, beetles and ephemeroptera nymphs. It is economically important as it is one of 725 species of native fish allowed for exploitation with ornamental purpose. They were

caught with cast nets aid in an adjacent area of the Guama river. A total of 15 specimens of *T. stellatus*, juveniles and adults (6 females and 9 males) with an average length of  $4.2 \pm 0.8$  cm and weight average of  $0.9 \pm 0.3$  g. Gills fragments were collected and analyzed in a fresh light microscopy, where were observed the presence of cysts full of *Myxobolus* sp. spores with unequal polar capsules. This study reports the first record as the morphologic characteristics of *Myxobolus* sp. found in *T. stellatus*, from the Guama river, Belém, Pará.

**Keywords:** Freshwater, Ornamental fish, Microparasites.

#### 4.1 INTRODUÇÃO

A família Gasteropelecidae apresenta um grupo de peixes de pequeno porte alcançando cerca de 12 cm, que inclui nove espécies distribuídas em três gêneros: *Carnegiella* Eigenmann 1909; *Gasteropelecus* Bloch, 1784 e *Thoracocharax* Fowler, 1906, sendo encontrados em quase todos os países da região neotropical, com exceção do Chile (SILVA; CENTOFANTE; MIYAZAWA, 2009).

*T. stellatus*, é encontrado em rios, lagos e igarapés das bacias dos rios Amazonas, Orinoco, Paraguay e Tocantins-Araguaia. Possui hábito alimentar insetívoro, consumindo principalmente formigas, besouros e ninfas de efemerópteras (NETTO-FERREIRA et al., 2007). Apresenta um grande desenvolvimento dos ossos do cleitrum, coracóide e nadadeiras na região peitoral, possibilitando realizar pequenos saltos para fora da água quando em situação de perigo ou para captura de alimentos. Devido a este comportamento, recebe o nome popular de peixe borboleta (WEITZMAN; PALMER, 2003; SILVA et al., 2009).

É importante economicamente, pois é uma das 725 espécies de peixes nativas permitidas para exploração com finalidade ornamental ou de aquariofilia, segundo a instrução normativa interministerial brasileira n° 001 de 3 de janeiro de 2012 (MPA, 2012).

O filo Myxozoa Bütschli, 1882 agrupa aproximadamente 60 gêneros e mais de 2000 espécies descritas, com ampla distribuição geográfica nos ambientes marinhos e de água doce (CASAL et al., 2006; LOM; DYKOVÀ, 2006). Essas espécies são consideradas agentes patogênicos comumente encontradas em peixes, mas, são relatadas ocorrências em moluscos, anfíbios, répteis, pássaros e mamíferos (FEIST; LONGSHAW, 2006; CARRIERO et al., 2013). Esses microparasitas, provavelmente necessitam de um hospedeiro intermediário (Anelídea) para completar seu ciclo de vida (ATKINSON; BARTHOLOMEW, 2009).

O gênero *Myxobolus* Bütschli, 1882, com cerca de 785 espécies descritas, é um dos maiores grupos dos myxosporídeos que parasitam um grande número de peixes de água marinha e doce (LOM; DYKOVÀ, 2006). Esses microparasitas possuem estágio de vida vegetativo, sendo encontrados nas cavidades corpóreas, órgão vitais, tecidos intra e extracelulares (KENT et al., 2001), causando inflamações devido a formação de cistos, resultando em efeitos deletérios teciduais em seus hospedeiros, levando muitas vezes a morte (AZEVEDO et al., 2009; AZEVEDO et al., 2011).

Nos últimos anos, várias espécies de *Myxobolus* tem sido descrita em diversas espécies de peixes que habitam ambientes marinhos, estuarinos e de águas interiores com destaque para Eiras et al. (2005); Tajdari et al. (2005); Casal et al. (2006); Eiras et al. (2007); Azevedo et al. (2010); Milanin et al. (2010); Azevedo et al. (2011); Maciel et al. (2011); Velasco et al. (2012) e Carriero et al. (2013), utilizando técnicas de desenho diagramático, microscopia de luz, eletrônica e biologia molecular.

Este trabalho reporta a primeira ocorrência de infecção causado por *Myxobolus* sp. nas brânquias de *T. Stellatus*, um peixe ornamental capturado em igarapés do estado do Pará, Brasil e exportado para o mercado mundial de aquarofilia.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram capturados 15 espécimes de *T. Stellatus*, jovens e adultos, sendo 6 fêmeas e 9 machos, com o comprimento médio de  $4,2 \pm 0,8$  cm e peso médio de  $0,9 \pm 0,3$  g, durante setembro de 2014 a janeiro de 2015, em um igarapé localizado a margem direita do rio Guamá ( $01^{\circ} 27' S / 48^{\circ} 26' W$ ), Belém, Pará, Brasil. Os peixes foram capturados com auxílio de tarrafas e ao serem retirados de seu ambiente natural, imediatamente os animais foram acondicionados em baldes plásticos com aeração artificial, contendo aproximadamente 20 L de água do igarapé. Desta forma os peixes foram transportados vivos para o Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo da Universidade Federal Rural da Amazônia.

No laboratório os peixes foram mantidos em aquário de 36 L com água do igarapé, até que todos fossem examinados. Antes dos procedimentos de avaliação macro e microscópica da presença de *Myxobolus* sp., os peixes foram anestesiados com Tricaína Metanolsulfonato (MS222, SIGMA), na concentração de 50 mg/L, pesados, medidos, eutanasiados, sexados e necropsiados, conforme o parecer do CEUA-UFRA 013/2014.

Para verificar a existência de parasitos os exemplares foram observados com auxílio de estereomicroscópio. Em seguida fragmentos dos filamentos branquiais foram comprimidos

entre lâmina e lamínula e observado em microscópio de luz. Confirmada a presença de cistos e esporos de *Myxobolus* sp., foram retirados os arcos branquiais e fixados em solução de Davidson (formalina, ácido acético glacial, álcool etílico 95 % e água destilada) e em glutaraldeído a 4 % cacodilato de sódio, por 24 h para processamento futuro em técnica de parafina e microscopia eletrônica respectivamente. Para observação e documentação a fresco foi usando microscópio trinocular ZEISS PRIMO STAR com câmera fotográfica Canon A610/A620 52 mm.

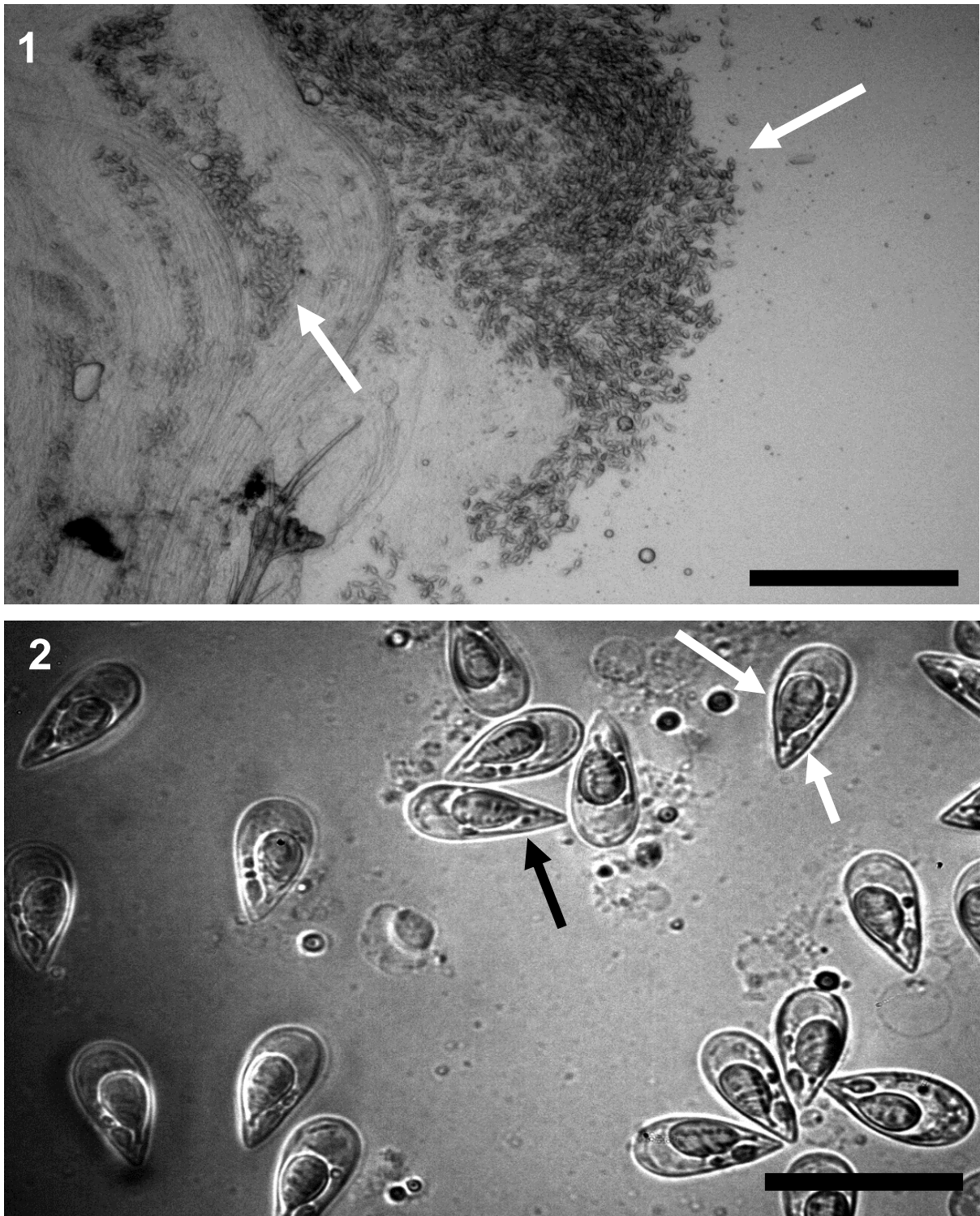
### 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em 10 exemplares de *T. stellatus*, jovens e adultos (66,66%) (10/15) avaliados a fresco em microscopia de luz, foram observadas a presença de cistos de formato arredondado e esbranquiçados de *Myxobolus* sp. fixados entre os filamentos branquiais.

Os cistos apresentavam-se repletos de esporos, que se caracterizavam por ter corpo com formato piriforme, duas valvas e duas cápsulas polares desiguais (Figura 1). Os esporos foram fotografados e medidos, apresentando comprimento do corpo de 17  $\mu\text{m}$  e 8,23  $\mu\text{m}$  de largura. Os esporos apresentaram duas cápsulas polares de tamanhos diferentes e formato oval, onde a maior capsula polar mediu 10,71  $\mu\text{m}$  de comprimento e 4,47  $\mu\text{m}$  de largura, apresentando 10-12 voltas de filamento polar e a menor capsula polar, mediu 4,59  $\mu\text{m}$  de comprimento e 1,7 $\mu\text{m}$  de largura, apresentando 3-4 voltas de filamento polar.

Foram medidas algumas variáveis físico-químicas da água no local da coleta, a temperatura variou entre 32 °C (setembro) a 23 °C (janeiro), oxigênio dissolvido variou entre 7,1 mg/l (setembro) a 3,8 mg/l (janeiro) e pH variou de 6,1 (setembro) a 5,5 (janeiro). Essas variações estão dentro da normalidade por se tratar da estação mais quente e menos quente da nossa Região Amazônica. Não foram observadas variações sazonais entre os meses de captura, todos os dez peixes estavam parasitados, (fêmeas e machos, juvenis e adultos em período reprodutivo).

**Figura 1 e 2** – Fotomicrografia de *Myxobolus* sp. 1 - Lâmina preparada com material a fresco mostrando cisto rompido liberando esporos maduros entre os filamentos branquiais de *T. stellatus* (seta). Barra = 200  $\mu\text{m}$ . 2 - Esporos maduros de *Myxobolus* sp. (seta preta) apresentando cápsulas polares desiguais (seta branca) livres nas brânquias de *T. stellatus*. Barra = 20  $\mu\text{m}$ .



Luque (2004), menciona que as espécies de parasitos que ocorrem com maior frequência no Brasil em peixes marinhos e de água doce são pertencentes aos gêneros *Myxobolus*, *Henneguya* e *Kudoa*. São parasitos que formam cistos com numerosos esporos e podem provocar compressão nos tecidos ou órgãos do hospedeiro, sendo encontrados parasitando brânquias, órgãos internos, musculatura entre outros (FEIST e LONGSHAW, 2006).

Segundo Matos et al. (2001), a melhor fase para identificação dos mixosporídios é a esporal, onde os esporos já estão diferenciados apresentando as características morfológicas de cada grupo. Ainda segundo Matos et al. (2001), as características morfológicas mais usadas para diferenciação das espécies de mixosporídios são o tamanho da cápsula polar, quantidade de valvas e o número de voltas dos filamentos polares.

*Myxobolus* Bütschli, 1882 são microparasitos pertencentes à ordem Bivalvulida, apresentam duas cápsulas polares próximas uma da outra, posicionadas paralelamente a linha de sutura e próximas a região apical. Os esporos maduros apresentam valvas lisas e formas elipsoidal, ovoide ou arredondada, suas cápsulas polares podem ser de tamanhos iguais ou diferentes. São parasitos histozóico maioritariamente de peixes de água doce (LOM; DYKOVÁ, 2006). Os esporos encontrados no presente estudo, possuem cápsulas polares de tamanho desiguais e outras características que permitiram classificá-los como pertencentes ao gênero *Myxobolus*.

Segundo Matos et al. (2001) quando encontrados em órgãos importantes esses parasitos podem ser letais para o hospedeiro, pois causam processos infecciosos agravando o quadro para lise celular. Parasitos do gênero *Myxobolus* pode afetar qualquer órgão do corpo do peixe, causando lesões e atrofia dos mesmos por conta do crescimento dos plasmódios (LUQUE, 2004).

Podemos destacar os danos em peixes causados por *M. cerebralis*, como a “doença do rodopio” ou a “doença da cauda negra”, que atinge exemplares jovens, onde provocam distúrbios natatórios característicos em forma de círculos e quando localizados na cartilagem da coluna vertebral, exercem pressão sobre os nervos caudais deixando-a enegrecida. (EIRAS, 1994).

Molnar e Székely (2014), registraram infecção na musculatura de diversas espécies de peixes de água doce da Europa. Na maioria dos peixes analisados foi possível verificar plasmódios de *Myxobolus* diferenciando-se intracelularmente em células musculares e em outros casos foram observados infecção do tecido conjuntivo intermuscular. Lesões profundas em organismos aquáticos, dificilmente voltam a sua normalidade com tratamentos (LUQUE,



2004). Estas infecções podem causar necrose no tecido devido as rupturas das células hospedeiras para liberação dos esporos (MOLNAR e SZÉKELY, 2014).

As características morfológicas e morfométricas de *Myxobolus* sp. do presente estudo foi comparado com características de outras espécies de *Myxobolus* descritas no Brasil, com destaque para a ocorrência de *M. desaequalis* parasitando branquiais de *Apteronotus albifrons* (AZEVEDO et al., 2002); *M. metynnis* encontrado em *Metynnis argenteus* parasitando tecidos subcutâneos (CASAL et al., 2006); *M. heckelii* na brânquia do *Centromochlus Heckelii* (AZEVEDO et al., 2009b); *Myxobolus* sp. no músculo cardíaco de *Pimelodus ornatus* (MATOS et al., 2014) e *M. lomi* nas brânquias do *Prochilodus lineatus* (AZEVEDO et al., 2014).

Neste trabalho, foi encontrado cistos repletos de esporos maduros de *Myxobolus* sp. com capsulas polares de tamanhos diferentes parasitando filamentos branquiais de *T. stellatus*, apresentando similaridade quanto ao sítio de infecção com os trabalhos de (AZEVEDO et al., 2002; AZEVEDO et al., 2009; AZEVEDO et al., 2014), em relação ao tamanho dos esporos, tamanho das cápsulas polares e números de voltas dos filamentos polares, *Myxobolus* sp. do presente estudo diferenciou-se de todos os outros trabalhos apresentados na tabela 1.

Outra similaridade do *Myxobolus* sp. do presente estudo apresentou foi com relação a cápsulas polares de tamanhos diferentes, Azevedo et al. (2002) registrou para *Apteronotus albifrons* coletado no Estado do Pará a espécie de *M. desaequalis* e para *Prochilodus lineatus*, capturados no Estado de São Paulo a espécie *M. lomi* (AZEVEDO et al., 2014). Ambos parasitando brânquias e apresentando cápsulas polares de tamanhos diferentes.

Há necessidade de estudos em microscopia eletrônica de transmissão e biologia molecular, para determinação e classificação da espécie parasitária no peixe *T. stellatus*.

**Tabela 1** - Comparação morfométrica ( $\mu\text{m}$ ) de esporos maduros de *Myxobolus* sp. encontrado neste trabalho com outras espécies de *Myxobolus* descritas no Brasil.

<b>Parasito</b>	<b>CT</b>	<b>LC</b>	<b>CCP</b>	<b>LCP</b>	<b>NFP</b>	<b>Sítio de infecção</b>	<b>Hospedeiro</b>
<i>Myxobolus</i> sp.*	17	8,23	10,71 4,59	4,47 1,7	10 - 12 3 - 4	Filamentos branquiais	<i>T. stellatus</i>
<i>M. desaequalis</i> (AZEVEDO et al., 2002)	18,3	11,2	11,2 4,6	4,9 2,8	11 - 12 4 - 5	Brânquias	<i>Apteronotus albifrons</i>
<i>M. metynnis</i> (CASAL et al., 2006)	13,1	7,8	5,2	2,3	8 - 9	Tecidos subcutâneos	<i>Metynnis argenteus</i>
<i>M. heckelii</i> (AZEVEDO et al., 2009b)	12.2-13.2	6.3-6.9	2.7-3.1	1.4-2.0	4 - 5	Brânquias	<i>Centromochlus Heckelii</i>
<i>Myxobolus</i> sp. (MATOS et al., 2014)	8 $\pm$ 0.2	5.8 $\pm$ 0.4	3.6 $\pm$ 0.3	1.2 $\pm$ 0.2	-	Músculo cardíaco	<i>Pimelodus ornatus</i>
<i>M. lomi</i> (AZEVEDO et al., 2014)	14.2 $\pm$ 1.4	11.1 $\pm$ 1.5	6.4 $\pm$ 0.9 6.0 $\pm$ 0.8	3.1 $\pm$ 0.7 2.9 $\pm$ 0.5	8 - 11	Brânquias	<i>Prochilodus lineatus</i>

Nota: Comprimento total (CT), Largura do corpo (LC), Comprimento da cápsula polar (CCP), Largura da cápsula polar (LCP), Número de voltas do filamento polar (NFP). Presente estudo (\*).

## AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos à CAPES, CNPq, SISBIO/ICMBIO-IBAMA, FAPESPA e aos colegas estagiários do LPCA-UFRA/Belém, por toda ajuda na coleta do material em campo e análises no laboratório.

## REFERÊNCIAS

ATKINSON, S.D.; BARTHOLOMEW, J.L. Alternate spore stages of *Myxobilatus gasterostei*, a myxosporean parasite of three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*) and oligochaetes (*Nais communis*). **Rev Parasitol**, v.104, p. 1173-1181, 2009.

AZEVEDO, C.; CORRAL, L.; MATOS, E. *Myxobolus desaequalis* n. sp. (Myxozoa, Myxosporea), parasite of the Amazonian freshwater fish, *Apteronotus albifrons* (Teleostei, Apterontidae). **J Eukaryot Microbiol**, v. 49, n. 6, p. 485-488, 2002.

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). **J Eukaryot Microbiol**, v. 56, p. 589-593, 2009.

AZEVEDO, C.; CASAL, G.; MENDONÇA, I.; CARVALHO, E.; MATOS, P. and MATOS, E. Light and electron microscopy of *Myxobolus sciades* n. sp. (Myxozoa), a parasite of the gills of the Brazilian fish *Sciades herzbergii* (Block, 1794) (Teleostei). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 101, p. 203-207, 2010.

AZEVEDO, C.; CASAL, G.; MARQUES, D.; SILVA, E.; MATOS, E. Ultrastructure of *Myxobolus brycon* n. sp. (Phylum Myxozoa), parasite of the piraputanga fish *Brycon hilarii* (Teleostei) from Pantanal (Brazil). **Jour. Eukar. Micro.** v. 58, n. 2, p. 88-93, 2011.

AZEVEDO, R. K.; VIEIRA, D. H. M. D.; VIEIRA, G. H.; SILVA, R. J.; MATOS, E.; ABDALLAH, V. D. Phylogeny, ultrastructure and histopathology of *Myxobolus lomi* sp. nov., a parasite of *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) (Characiformes: Prochilodontidae) from the peixes river, São Paulo state, Brazil. **Parasitol Int**, v. 63, p. 303-307, 2014.

CARRIERO, M. M.; ADRIANO, E. A.; SILVA, M. R. M.; CECCARELLI, P. S.; MAIA, A. A. M. Molecular phylogeny of the *Myxobolus* and *Henneguya* genera with several new asouth American species. **Plos one**. v. 8, n. 9, p. 1-12, 2013.

CASAL, G.; MATOS, E.; AZEVEDO, C. A new myxozoan parasite from the Amazonian fish *Metynnis argenteus* (Teleostei: Characidae): light and electron microscope observations. **J Parasitol**, v. 92, p. 817-821, 2006.

- EIRAS, J.C. **Elementos de Ictioparasitologia**. Fundação Engenheiro Antônio de Almeida. Porto, p. 339, 1994.
- EIRAS, J. C.; MOLNÁR, K.; LU, Y. S. Synopsis of the species of *Myxobolus* Bütschli, 1882 (Myxozoa: Myxosporae: Myxobolidae). **Syst Parasitol**, Dordrecht, v. 61, n. 1, p. 1-46, 2005.
- EIRAS, J.C.; ABREU, P.C.; ROBALDO, R; PEREIRA-JUNIOR, J. *Myxobolus platanus* n. sp. (Myxosporae, Myxobolidae), parasite of *Mugil platanus* Günther, 1880 (Osteichthyes, Mugilidae) from Lagoa dos Patos, RS, Brazil. **Arq Bras Med Vet Zootec**, v. 59, p. 895-898, 2007.
- FEIST, S. W.; LONGSHAW, M. Phylum Myxozoa. In: Woo PTK, editor. **Fish diseases and disorders: Protozoan and Metazoan infections**. 2a ed. UK: CAB International. p. 230–296, 2006.
- KENT, M. L.; ANDREE, K. B.; BARTHOLOMEW. J. L.; EL-MATBOULI.; M.; DESSER, S. S. Recent advances in our knowledge of the Myxozoa. **J Eukaryot Microbiol**. v. 48, p. 395–413, 2001.
- LOM, J.; DYKOVÁ, I. Myxozoan genera: definition and notes on taxonomy, life-cycle terminology and pathogenic species. **Folia Parasitol**. v. 53, p. 1–36, 2006.
- LUQUE, J. L. Biologia, epidemiologia e controle de parasitos de peixes. **Rev Bras Parasitol Vet**, Ouro Preto, MG, v. 13, 2004. Suplemento 1.
- MACIEL, P. O.; AFFONSO, E. G.; BOJINK, C. L.; TAVARES-DIAS, M.; INOUE, L. A. K. A. *Myxobolus* sp. (Myxozoa) in the circulating blood of *Colossoma macropomum* (Osteichthyes, Characidae). **Rev Bras Parasitol Vet**, Jaboticabal, SP, v. 20, n. 1, p. 82-84, 2011.
- MATOS, E.; CORRAL, L.; MATOS, P.; CASAL, G.; AZEVEDO, C. Incidência de parasitas do Phylum Myxozoa (Sub-reino Protozoa) em peixes da região amazônica, com especial destaque para o gênero *Henneguya*. **Rev Cienc Agr**, Belém, PA, v. 36, p. 83-99, 2001.
- MATOS, E.; VIDEIRA, M.; VELASCO, M.; SANCHES, O. Infection of the heart of *Pimelodus ornatus* (Teleostei, Pimelodidae), by *Myxobolus* sp. (Myxozoa, Myxobolidae). **Rev Bras Parasitol Vet**, Jaboticabal, SP, v. 23, n. 4, p. 543-546, 2014.
- MILANIN, T.; EIRAS, J.C.; ARANA.; S.; MAIA, A. A.; ALVES.; A. L. Phylogeny, ultrastructure, histopathology and prevalence of *Myxobolus oliveirai* sp. nov., a parasite of *Brycon hilarii* (Characidae) in the Pantanal wetland, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 105, p. 762–769, 2010.
- MOLNAR, K.; SZÉKELY, C. Tissue preference of some myxobolids (Myxozoa: Myxosporae) from the musculature of European freshwater fishes. **Dis Aquat Org**, v. 107, p. 191-196, 2014.
- MPA. Instrução normativa interministerial nº 1 de 3 de janeiro de 2012. Brasília, DF, 46 p, 2012.

NETTO-FERREIRA, A. L. et al. Feeding habits of *Thoracocharax stellatus* (Characiformes: Gasteropelecidae) in the upper rio Tocantins, Brazil. **Neotrop. Ichthyol.**, v. 5, n. 1, p. 69-74, 2007.

SILVA, E. L.; CENTROFANTE, L.; MIYAZAWA, C. S. Análise morfométrica em *Thoracocharax stellatus* (Kner, 1858) (Characiformes, Gasteropelecidae) proveniente de diferentes bacias hidrográficas Sul-americanas. *Biota Neotrop.*, v. 9, n. 2, p. 71-76, 2009.

TAJDARI, J.; MATOS, E.; MENDONÇA, I.; AZEVEDO, C. Ultrastructural morphology of *Myxobolus testicularis* n. sp., parasite of the testis of *Hemiodopsis microlepis* (Teleostei: Hemiodontidae) from the NE of Brazil. **Acta Protozool.**, v. 44, p. 377–384, 2005.

WEITZMAN, S. H.; PALMER, L. Family Gasteropelecidae. In: REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS-JR, C. **Checklist of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre, p. 101-103, 2003.

## 5. CAPÍTULO V - CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar da identificação de mixosporídios e coccidiose encontrados e relatados neste estudo para *T.stellatus*, esta espécie possui potencial de exportação para a aquariofilia por apresentar boa aceitação no mercado e potencial econômico para população local que vive da atividade de extrativismo.

A identificação da ação parasitária sob os diversos órgãos de *T.stellatus*, a localização e prevalência dos parasitos é de grande importância para que possamos desenvolver meios de profilaxia para o combate ou controle dos parasitos, visto que esta é uma das dificuldades encontradas por exportadores e criadores de peixes ornamentais, garantindo dessa forma a diminuição da taxa de mortalidade do peixes e um maior controle de propagação ou transferência de doenças parasitárias entre peixes ornamentais exportados mundialmente.

## ANEXO A - Ficha de colheita de campo.



**LABORATÓRIO DE PESQUISA CARLOS AZEVEDO**  
**RELATÓRIO 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:

CONDUTIVIDADE ELÉTRICA:

## ANEXO B - Ficha de necropsia.

**COLHEITA DE MATERIAL**

Nome popular:		
Nome científico:		
Local de coleta:		
Data de coleta:     /     /		
Peso:		
Comprimento total:		
Comprimento padrão:		
Sexo / estágio de Maturação:                     /		
Órgão	Parasita	Nº
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 70 .....30'	30' .....1H	.....1H	.....	.....	.....
ALC 90.....30' (*)	30' .....1H	.....1H	.....	.....	.....
ALC ABS I .....30'	60' .....1H	.....1H	.....	.....	.....
ALC ABS II .....30'	60' .....1H	.....1H	.....	.....	.....
ALC ABS III.....30'	60' .....1H	.....2H	.....	.....	.....
ALC XILOL	30' .....1H	.....1H	.....	.....	.....
DIAFANIZAÇÃO (CLAREAMENTO)					
XILOL / BENZOL I	30'.....30'.....24H	.....	.....	.....	.....
XILOL / BENZOL II					
IMPREGNAÇÃO EM ESTUFA A 60 °C					
BANHO DE PARAFINA I	30'.....30'.....24H	.....	.....	.....	.....
BANHO DE PARAFINA II	30'.....60'.....24H	.....	.....	.....	.....
BANHO DE PARAFINA III	30'(*).....60'.....24H	.....	.....	.....	.....
INCLUSÃO EM PARAFINA : TEMPERATURA AMBIENTE					
INCLUSÃO					
TOTAL					

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