



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

MICHELE VELASCO OLIVEIRA DA SILVA

**ASPECTOS MORFOLÓGICOS E ULTRAESTRUTURAIS DE MIXOSPORIDIOSE E  
COCCIDIOSE EM *Cichla temensis* HUMBOLDT, 1821, (OSTEICHTHYES:  
CICHLIDAE) ORIUNDO DO MUNICÍPIO DE CAMETÁ/PA**

BELÉM

2012



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

MICHELE VELASCO OLIVEIRA DA SILVA

**ASPECTOS MORFOLÓGICOS E ULTRAESTRUTURAIS DE MIXOSPORIDIOSE E  
COCCIDIOSE EM *Cichla temensis* HUMBOLDT, 1821, (OSTEICHTHYES:  
CICHLIDAE) ORIUNDO DO MUNICÍPIO DE CAMETÁ/PA**

**Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Aquicultura e Recursos Aquáticos Tropicais: área de concentração Aquicultura, para obtenção do título de Mestre.  
Orientador: Prof. Dr. Edilson Rodrigues Matos**

**BELÉM**

**2012**

---

Silva, Michele Velasco Oliveira da

Aspectos morfológicos e ultraestruturais de mixosporidiose e coccidiose em *Cichla temensis* Humboldt, 1821, (Osteichthyes: Cichlidae) oriundo do município de Cametá./ Michele Velasco Oliveira da Silva. – Belém, 2012.

63 f.:il.

Dissertação (Mestrado em Aquicultura e Recursos Aquáticos Tropicais) – Universidade Federal Rural da Amazônia, 2012.

1. Mixosporídio 2. Coccídio 3. Brânquia 4. Hepatopâncreas I.  
Título.

CDD – 597.74

---



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

MICHELE VELASCO OLIVEIRA DA SILVA

**ASPECTOS MORFOLÓGICOS E ULTRAESTRUTURAIS DE MIXOSPORIDIOSE E  
COCCIDIOSE EM *Cichla temensis* HUMBOLDT, 1821, (OSTEICHTHYES:  
CICHLIDAE) ORIUNDO DO MUNICÍPIO DE CAMETÁ/PA**

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

Aprovado em Janeiro de 2012.

BANCA EXAMINADORA

---

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

---

Prof. Dr. Moacir Cerqueira – 1º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

---

Prof. Dr. Nuno Filipe Alves Correia de Melo– 2º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

---

Prof. Dr. Evonnildo Costa Gonçalves – 3º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

**FIGURA 1.** Desenho esquemático do ciclo de vida de um mixosporídeo

**FIGURA 2.** Desenhos esquemáticos de 8 esporos de mixosporídios de diferentes gêneros.

**FIGURA 3.** Esquema do ciclo de vida de um mixosporo no hospedeiro intermediário.

**FIGURA 4.** Desenho esquemático da organização morfológica de um grupo de oocistos (a, b), e um oocisto (c) contendo quatro esporocistos (d, e), cada uma com dois esporozoítos (E).

**FIGURA 5.** Esquema das fases do ciclo de vida do *Calyptospora spinosa*.

**FIGURA 6.** Oocistos de *Calyptospora spinosa* observados em DIC.

**FIGURA 7.** Localização geográfica do município de Cametá, na mesoregião nordeste do Pará.

**FIGURA 8.** Exemplar de *Cichla temensis*

**FIGURA 9.** Necropsia do hospedeiro *C. temensis*. Observação da região branquial.

**FIGURA 10.** Necropsia do hospedeiro *C. temensis*. Observação da cavidade celomática, mostrando a região hepática (\*).

### CAPÍTULO II

**FIGURA 1.** Localização geográfica do município de Cametá, na mesoregião nordeste do Pará.

**FIGURA 2.** Observação a fresco de oocistos de *Calyptospora*.

**FIGURA 3.** Microscopia eletrônica de varredura de um oocisto de *Calyptospora* (\*) com esporocistos (Es) e esporopódio (setas)

**FIGURA 4.** Aglomerados de oocistos de *Calyptospora* sp. (\*) parasitando a região pancreática (cabeça de seta).

**FIGURA 5.** Oocisto de *Calyptospora* (seta) entre as células pancreáticas (cabeças de setas).

**FIGURA 6.** Aglomerados de oocistos de *Calyptospora* (\*) parasitando a região hepática.

**FIGURA 7.** Fígado com oocistos de *Calyptospora* com 4 esporocistos (Es).

### **CAPÍTULO III**

**FIGURA 1.** Corte histológico de um cisto (cabeça de seta) no filamento branquial (F).

**FIGURA 2.** Corte semifino mostrando um cisto (asterístico) contendo esporos.

**FIGURA 3.** Esporo observado em DIC.

**FIGURA 4.** Corte ultrafino longitudinal do esporo maduro, mostrando a cápsula polar (CP) e cauda (C).

**FIGURA 5.** Corte ultrafino longitudinal do esporo maduro, mostrando as duas cápsulas polares (CP).

**FIGURA 6.** Corte longitudinal da porção anterior do esporo mostrando a linha de sutura (asterísticos), cápsula polar (CP), e o filamento polar (FP).

**FIGURA 7.** Corte transversal do corpo esporal (\*), evidenciando duas cápsulas polares (CP) e algumas inclusões eletrondensas esféricas (setas cruzadas).

**FIGURA 8.** Corte longitudinal da porção posterior do esporo, mostrando o esporoplasma (S) com os esporoplasmosomas (setas).

**FIGURA 9.** *Henneguya temensis* n. sp. Representação esquemática de um esporo maduro mostrando suas medidas.

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

<b>C</b>	Cauda
<b>CP</b>	Cápsula polar
<b>DIC</b>	Contraste por interferência diferencial
<b>E</b>	Esporo
<b>F</b>	Filamento branquial
<b>FP</b>	Filamento polar
<b>H</b>	Hora
<b>HE</b>	Hematoxilina-Eosina
<b>INPA</b>	Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia
<b>kV</b>	Quilovolts
<b>LPCA</b>	Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo
<b>M</b>	Molar
<b>MET</b>	Microscopia eletrônica de Transmissão
<b>ML</b>	Microscopia de luz
<b>n.</b>	Nova
<b>°C</b>	Graus Celsius
<b>pH</b>	Potencial hidrogênio iônico
<b>S</b>	Esporoplasma
<b>Sp</b>	Espécie
<b>Spp</b>	Todas as espécies do gênero
<b>UFRA</b>	Universidade Federal Rural da Amazônia
<b>Mm</b>	Micrômetro

Dedico ao meu filho, minha vida,  
força e que me encoraja à sempre  
seguir em frente.

## AGRADECIMENTOS

À Deus por mais esta conquista;

Aos meus pais, Irle Oliveira e Alberto Oliveira, pelo constante amor, carinho e apoio, fundamentais para a realização desse sonho;

Ao meu esposo, Marcelo Silva, pelo amor, companheirismo, incentivo e pelas alegrias que me proporciona.

Ao meu filho, Enzo Felipe, o sentido da minha vida.

Aos meus irmãos, Danielle Oliveira, Williams Oliveira e Maikon Andrade, pelo apoio e pelos momentos felizes que já vivemos e por muitos que virão.

À minha avó, Carmelina Alves, pelo carinho e atenção;

Ao meu avô in memoriam, Adelson Velasco, que sempre acreditou na minha vitória;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Edilson Matos, grande educador, que me ajudou a dar os primeiros passos na vida acadêmica, me apoiou nos momentos em que precisei de ajuda e, que me incentiva, a cada dia, a ir mais além.

À Patrícia Sacco, pela grande amizade, companheirismo e pelo apoio técnico;

À Euriana Tuloza pela troca de experiências de vida.

Ao Sr. Pedro Freitas, pela ajuda nas coletas de campo;

Aos colegas José Sindeaux Neto e Raul Henrique Pinheiro pela contribuição e amizade;

À Marcela Videira, pela grande amizade e pelas inúmeras ajudas para realização deste trabalho.

À minha grande amiga Kelly Paixão, pelo companheirismo, pela grande ajuda nos momentos que precisei.

À Lilian Dias pela colaboração e grande amizade;

Ao Sr. Assunção e familiares, pela estadia nos dias de coleta no município de Cametá, assim como ao Eng. de Pesca José Mauro Vianna.

À Prof<sup>a</sup> Patrícia Matos pelas orientações e conhecimentos repassados.

Ao Prof. Dr. Moacir Cerqueira da Silva, pela contribuição na Microscopia eletrônica;

Ao Prof. Dr. Carlos Azevedo pela colaboração nas imagens em DIC.

Ao Dr. José Antônio Picanço Diniz Junior, Coordenador do Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto Evandro Chagas, pela colaboração na realização da microscopia eletrônica de transmissão.

Ao Eduardo Monteiro Cordeiro pela colaboração na microtomia e outras etapas da microscopia eletrônica.

Ao Prof. Dr. Evonnildo Gonçalves, pela colaboração nas análises moleculares.

À bióloga Soráia Andrade, técnica do Laboratório de Polimorfismo de DNA da UFPA, pelo apoio técnico e acolhida.

À todos do Laboratório de Polimorfismo de DNA e do Laboratório de Tecnologia Biomolecular, pela acolhida e apoio nas análises.

Ao Prof. Dr. Nuno Filipe Alves Correia de Melo, coordenador do PPG-AqRAT, pelo apoio e colaboração.

À Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), que me proporcionou a formação.

À Capes que me auxiliou financeiramente, com bolsa de pesquisa, contribuindo para o desenvolvimento da dissertação.

## RESUMO

O presente estudo relata os aspectos em microscopia de luz e eletrônica de transmissão de um mixosporídio e um coccídio encontrado parasitando brânquia e fígado, respectivamente, do peixe teleósteo *Cichla temensis* (Humboldt, 1821), coletado no rio Tocantins, próximo à cidade de Cametá, Estado do Pará, Brasil. A prevalência de infecção foi de 60%, tanto para mixosporidiose quanto para a coccidiose. Na mixosporidiose, os cistos contendo esporos estavam localizados nas lamelas brânquias, com formato oval e coloração esbranquiçada. Os esporos tinham um comprimento total de  $42,3 \pm 0,65 \mu\text{m}$ ; corpo fusiforme medindo  $12,8 \pm 0,42 \mu\text{m}$  de comprimento e  $8,6 \pm 0,32 \mu\text{m}$  de largura; cada uma das duas válvulas apresentaram uma cauda afilada medindo  $29,5 \pm 0,73 \mu\text{m}$ . Os esporos apresentavam duas cápsulas polares com  $7,4 \pm 0,16 \mu\text{m}$  de comprimento e  $2,6 \pm 0,08 \mu\text{m}$  de largura, contendo um filamento polar com 5-7 voltas. Está sendo apresentada uma tabela com as mensurações de esporos de *Henneguya* do Brasil, comparados neste trabalho. Os esporos são diferentes das espécies descritas anteriormente. Com base na morfologia dos esporos, conclui-se que esta espécie pertence à família Myxobolidae, gênero *Henneguya*, e que constitui uma nova espécie: *H. temensis* n. sp. Na coccidiose, os oocistos estavam disseminados em todo parênquima hepático, e de acordo com a morfologia observada em ML (oocisto contendo 4 espocistos, cada um com 2 esporozoítos), conclui-se que esta espécie pertence à família Calyptosporidae, gênero *Calyptospora*. Esses dados permitem descrever um novo hospedeiro para *Henneguya* e *Calyptospora*, além de descrever uma nova espécie de mixosporídio em *Cichla temensis*.

**Palavras-chave:** Mixosporídio, coccídio, brânquia, hepatopâncreas

## ABSTRACT

The present study reports on aspects of light microscopy and transmission electron of a mixosporidíio and a coccidian parasite found in gill and liver, respectively, teleost fish *Cichla temensis* (Humboldt, 1821), collected the Tocantins River, near to Cameta, State Pará, Brazil. The prevalence of infection was 60% for both mixosporidíose, as for coccidiosis. In mixosporidíose cysts containing spores were located in gill lamellae with oval and whitish. The spores had a total length of  $42.3 \pm 0.65 \mu\text{m}$  ; fusiform body measuring  $12.8 \pm 0.42 \mu\text{m}$  in length and  $8.6 \pm 0.32 \mu\text{m}$  in width, each of the two valves presented a tapering tail measuring  $29, 5 \pm 0.73 \mu\text{m}$ . The spores had two polar capsules with  $7.4 \pm 0.16 \mu\text{m}$  in length and  $2.6 \pm 0.08 \mu\text{m}$  in width, containing a polar filament with 5-7 turns. This is a table with the measurements of spores of *Henneguya* in Brazil, being compared in this work. The spores are different from previously described species. Based on spore morphology, it is concluded that this species belongs to the family Myxobolidae, genus *Henneguya*, and constitutes a new species: *H. temensis* sp. In coccidiosis, oocysts were scattered throughout the liver parenchyma, and according to the morphology observed under light microscopy (oocyst containing 4 espcistos, each with 2 sporozoites), it is concluded that this species belongs to the family Calyptosporidae, gender *Calyptospora*. These data allow us to describe a new host for *Henneguya* and *Calyptospora*, and describe a new species of mixosporídíio in *Cichla temensis*.

**Keywords:** Mixosporidíio, coccidian, gill, hepatopancreas

## SUMÁRIO

<b>1. CAPÍTULO I</b>	15
1.1 INTRODUÇÃO GERAL	15
1.2 OBJETIVOS	16
1.3 REVISÃO DE LITERATURA	17
1.3.1 Considerações gerais	17
1.3.2 Tucunaré, <i>Cichla temensis</i> (Humboldt, 1821)	17
1.3.3 Parasitos de peixes	18
1.3.4. Mixosporídios	19
1.3.4.1. Filo Myxozoa Grassé, 1970	20
1.3.4.2 Classe Myxospora Bütschli, 1881	20
1.3.4.3 Gênero <i>Henneguya</i> Thélohan, 1892	24
1.3.5 Coccídios	24
1.3.5.1 Filo Apicomplexa	24
1.4 MATERIAL E MÉTODOS	27
1.4.1 Colheita dos espécimes e área de estudo	27
1.4.2 Dissecção dos espécimes e pesquisa de parasitos	28
1.4.3 Processamento do material biológico	29
1.4.3.1 Microscopia de luz	29
1.4.3.2 Microscopia eletrônica	29
1.5 REFERENCIAS	30
<b>2. CAPÍTULO II – COCCIDIOSE HEPATOPANCREÁTICA EM <i>Cichla temensis</i></b>	36
<b>2.1 Morfologia e nova ocorrência de um coccídio hepatopancreático em <i>Cichla temensis</i> do município de Cametá estado do Pará</b>	36
2.1.1 RESUMO	36
2.1.2 ABSTRACT	37
2.1.3 INTRODUÇÃO	37
2.1.4 MATERIAL E MÉTODOS	38
2.1.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
2.1.6 AGRADECIMENTOS	40

2.1.7 REFERÊNCIAS	40
<b>3. CAPÍTULO III - MIXOSPORIDIOSE EM BRÂNQUIA DE <i>Cichla temensis</i></b>	<b>45</b>
<b>3.1 Análise Ultraestrutural de <i>Henneguya temensis</i> n. sp. (Myxozoa) parasitando brânquia do peixe teleósteo amazônico <i>Cichla temensis</i> Humboldt, 1821 (Cichlidae)</b>	<b>45</b>
3.1.1 RESUMO	45
3.1.2 ABSTRACT	46
3.1.3 INTRODUÇÃO	46
3.1.4 MATERIAL E MÉTODOS	47
3.1.5 RESULTADOS	48
3.1.6 DISCUSSÃO	53
3.1.7 AGRADECIMENTOS	54
3.1.8 REFERÊNCIAS	55
<b>CAPÍTULO IV - CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>59</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>60</b>

## CAPÍTULO I- CONSIDERAÇÕES GERAIS

### 1. INTRODUÇÃO GERAL

A exploração dos recursos pesqueiros marinhos e estuarinos tem alcançado reconhecida importância no âmbito global, contribuindo para suprir a carência proteica da população no mundo. No Brasil, as atividades de pesca e aquicultura vêm despertando progressivo interesse para a economia, sobretudo nas últimas décadas, buscando associar o aproveitamento sustentável à preservação ambiental (BORGES, 2009; SOARES, et al. 2008; SOUSA, et al. 2008). A produção pesqueira no país está em intensa expansão tendo um aumento no ano de 2009 de 25,2%, se comparado ao ano de 2003, totalizando neste ano 1.240.813 t (BRASIL, 2010).

A exploração dessa atividade ocorre através da coexistência de cinco tipos diferentes de captura: a pesca de subsistência, praticada por pescadores das comunidades das várzeas do rio Amazonas e seus afluentes; a pesca comercial, que abastece os principais centros urbanos regionais; a pesca industrial no estuário amazônico, voltada para a captura de bagres; a pesca de reservatório, praticada nos lagos de Balbina e Tucuruí; e a pesca de peixes ornamentais, efetuada em maior escala na região do rio Negro (CARDOSO e FREITAS, 2008).

Na região destacam-se cinco ecossistemas com enorme potencial pesqueiro: fluvial, lacustre, estuarino, litorâneo e marítimo. Cada um desses com características ecológicas específicas e abrigam uma biota com as mais variadas formas de vida, e por isso, altamente vulnerável à ação antrópica (DINIZ et al, 2006; SANTOS e SANTOS, 2005).

A bacia amazônica abriga a maior e mais diversa ictiofauna do mundo, tendo mais de 1500 espécies contabilizadas (MONTAG, et al., 2008). Os peixes são os vertebrados mais parasitados por serem os mais antigos na terra. É 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 parasitas (MALTA, 1984, AHID et al., 2009.).

Os parasitos podem reduzir o tamanho do hospedeiro e a sua sobrevivência direta ou indiretamente. Efeitos diretos, como debilidade do hospedeiro, podem causar conseqüências indiretas, tais como aumento da vulnerabilidade a predadores e diminuição da resistência à pressão do ambiente (EIRAS, 2004), e ainda podem facilitar o aparecimento de infecções secundárias, por fungos e bactérias (THATCHER, 2006).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo geral:

Estudar os parasitos do filo Myxozoa e Apicomplexa infectando *Cichla temensis* (tucunaré) oriundos de ambiente natural, rio Tocantins, município de Cametá, Pará.

### 2.2. Objetivos específicos:

- Realizar estudo taxonômico de mixosporídios e coccídios que parasitam *Cichla temensis*.
- Avaliar os efeitos do parasitismo sobre os tecidos do hospedeiro.
- Analisar a preferência parasitária em relação aos vários órgãos do hospedeiro, bem como identificar a ocorrência de multiparasitismo.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Considerações gerais

Os peixes são animais pertencentes ao Filo Chordata, apresentando como principais características a presença de um tubo nervoso dorsal, cauda pós-anal, notocorda e fendas branquiais, pelo menos durante a fase embrionária. Apresentam simetria bilateral, três folhetos embrionários, corpo segmentado, trato digestivo completo e celoma bem desenvolvido (BUCKUP, 1999). Pertencem ao Sub-filo Vertebrata (Craniata), havendo divergências entre autores, devido aos vários critérios de classificação sistemática. Segundo Pereira (1986), a maioria dos autores está de acordo em dividir os peixes em três classes: Classe Agnatha, que são peixes sem maxilares (lampreias), esqueleto cartilaginoso, sem nadadeiras pares (ventrais e peitorais) e uma só fossa nasal; Classe Chondrichthyes, onde estão incluídos tubarões, raias e quimeras, que possuem maxilar, esqueleto cartilaginoso, duas narinas e nadadeiras pares e ímpares; e a Classe Osteichthyes ou peixes de esqueleto ósseo (também denominados teleósteos), que apresentam maxilares, duas narinas, podem possuir ou não escamas, bem como, número de nadadeiras variáveis e brânquias irrigadas através de opérculos móveis.

A Classe Osteichthyes inclui os táxon Sarcopterygii (celacanto e peixes pulmonados) e o Actinopterygii (peixes modernos). Os Actinopterygii subdividem-se em seis ordens: Characiformes, Siluriformes, Gymnotiformes, Cyprinodontiformes, Synbranchiformes e Perciformes (ORR, 1986).

#### 3.2 Tucunaré, *Cichla temensis* (Humboldt, 1821)

A família Cichlidae, na América do Sul é representada por 50 gêneros e cerca de 450 espécies (KULLANDER e FERREIRA, 2006). É uma das mais diversas e amplamente distribuídas famílias de peixes teleósteos, sendo seus representantes, em sua maioria, encontrados em ambientes de água doce (ANDRADE et al. 2001). As espécies do gênero *Cichla*, Schneider, 1801, são chamados de "tucunaré" no Brasil; sendo naturais da Bacia Amazônica e representam o principal grupo de peixes piscívoros da família Cichlidae na América do Sul (SANTOS et al, 2001). São considerados importantes fonte de alimento e recurso esportivo (pesca esportiva) nas grandes bacias hidrográficas tropicais da América do Sul (HOEINGHAUS et al, 2003; KULLANDER e FERREIRA, 2006).

A espécie *Cichla temensis* Humboldt, 1821, é típica de ambientes lênticos alimentando-se preferencialmente de peixes pequenos, camarões e insetos aquáticos. É de grande importância na alimentação e na fonte de renda de muitas populações, constituindo também apreciado alvo da pesca esportiva (ANDRADE et al. 2001). Desta forma, os tucunarés foram introduzidos e encontram-se estabelecidos em diversas bacias hidrográficas brasileiras. A taxonomia de *Cichla* tem sido avaliada apenas com dados morfológicos, e atualmente quinze espécies são consideradas válidas (KULLANDER e FERREIRA, 2006).

### 3.3 Parasitos de peixes

Nas últimas décadas tem aumentado consideravelmente a relevância dos estudos relacionados com parasitos e outros patógenos de organismos aquáticos, principalmente daqueles hospedeiros com potencial para o cultivo e para a comercialização, face ao aumento significativo destas atividades no Brasil e no mundo. Parte-se do princípio de que, assim como em outros tipos de hospedeiros vertebrados, os peixes apresentam fauna parasitária própria que inclui numerosas espécies organizadas nos principais grupos de parasitos (LUQUE, 2004).

Os parasitos de peixes 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 de algumas espécies, como é o caso do crustáceo *Learnea cyprinacea*, que chegou ao Brasil através da importação de carpas húngaras (EIRAS, 1994).

Vários são os mecanismos de transmissão de patógenos e parasitos entre os peixes. O ambiente aquático, por ser de certo modo bastante homogêneo, facilita a propagação e distribuição desses organismos (KLEIN et al., 2004; KUBTIZA e KUBTIZA, 2004).

As doenças de organismos aquáticos têm aspectos diferentes de acordo com a origem dos hospedeiros, seja de populações de ambiente natural, ou de pisciculturas. Nesses ambientes, as condições são muito distintas, devido a fatores, tais como, altas densidades populacionais, tipo de alimentação, degradação da qualidade de água, manuseio nos exemplares e execução de tratamentos que provocam estresse nos hospedeiros (CAMPOS, 2006).

Em seu hábitat natural, os peixes possuem uma variedade de patógenos não apresentando sinais clínicos de parasitose. Normalmente, isso acontece, devido ao estado

nutricional e fisiológico do peixe estar em equilíbrio com o ambiente, evitando a manifestação da doença. Quando, porém, ocorrem alterações ambientais, com reflexos nos mecanismos de defesa, imediatamente poderão levar esses animais a manifestarem sinais clínicos de certas enfermidades, já que passam a se tornar sujeitos à ação dos patógenos (PAVANELLI; EIRAS e TAKEMOTO, 2002).

As infecções e parasitoses, quando não levam à morte, interferem negativamente no cultivo, na medida em que prejudicam o desenvolvimento e a sanidade. Quando se trata de endoparasitas, estão mais relacionados com alterações no trato gastrointestinal e distúrbios metabólicos. No que se refere aos ectoparasitas, provocam lesões que podem ter evolução benigna ou maligna (FONSÊCA, 2003).

Dentre os parasitos que ocorrem em organismos aquáticos, encontram-se espécies dos filos Myxozoa, Microspora e Apicomplexa os quais pertencem aos reinos Animalia (sub-reino Metazoa), Fungi e Protista, respectivamente, contribuindo com grande parte dos microorganismos causadores de doenças em peixes de alto valor comercial, além de microcrustáceos, nematódeos, entre outros.

#### 3.4. Mixosporídios

Os membros deste grupo são endoparasitos, causadores da mixosporidiose, doença que acomete principalmente peixes de água doce e marinha, de diferentes áreas geográficas (AZEVEDO et al, 2009; CASAL, 2009), atuando em diversos tecidos e órgãos, como fígado, rim, brânquias, gônadas, intestino, pele e outros (LUQUE, 2004).

Os mixosporídios pertencem taxonomicamente ao Filo Myxozoa Grassé, 1970, possuindo mais de 2.200 espécies descritas, sendo a maioria parasitos de peixes, tanto de ambiente natural como de sistemas de criações, sendo algumas espécies responsáveis por doenças que geram altas taxas de mortalidade em todo o mundo (LOM e DYKOVÁ, 2006). As mais notáveis são: a doença do “rodopio” (causado por *Myxobolus cerebralis*) em salmão; doença renal proliferativa (causada por *Tetracapsuloides bryosalmonae*) em truta e salmão; doença proliferativa da brânquia (causada por *Henneguya ictaluri*) em bagre e a doença enteromysosis (causadas por *Enteromyxum leei*) em culturas de peixes marinhos (BARTHOLOMEW et al, 2008). Existem poucos relatos de mixosporidiose em humanos, geralmente a infecção possui causa acidental por ingestão de alimento contaminado (geralmente peixes). Há descrições de trabalhos relatando esporos em fezes de pacientes, que

provavelmente ingeriram peixe contaminado com mixosporídios (BOREHAM et al, 1998; MCCLELLAND et al, 1997).

Os mixosporídios eram considerados antigamente como pertencentes ao Reino Protista, no entanto, possuíam características que os diferenciavam como: esporos multicelulares e presença de cápsulas polares. Aliando essas características a estudos filogenéticos (utilização de dados de sequenciamento do gene 18S rDNA) foi possível confirmar a relação destes parasitos com os metazoários (Infracilo Metazoa) (CAVALIER SMITH, 1998).

#### 3.4.1. Filo Myxozoa Grassé, 1970

São parasitos de invertebrados e vertebrados compostos por células eucariotas, com ausência de centríolos e flagelos, possuindo microtúbulos, mitocôndrias, junções celulares e junções comunicantes. Membros deste filo possuem uma estrutura variada, mas sua constituição esta associada a uma ou mais valvas, podendo ou não possuir projeções caudais simples ou elaboradas. Internamente, os esporos possuem um ou mais esporoplasmas (região infectante), uma ou mais cápsulas polares, que contém cada uma um filamento polar extrusível com uma função de ancoragem. Este filo é dividido em duas classes: Myxosporea (esporos de valvas rígidas que ocorrem em anelídeos e peixes) e Malacosporea (esporos de valvas sem rigidez que infectam os briozoários e os peixes). A primeira classe está composta por duas ordens: Bivalvulida (esporos compostos por duas valvas e geralmente duas cápsulas polares) e Multivalvulida (esporos com mais de duas valvas e mais de duas cápsulas polares) (KENT et al, 2001; LOM e DIKOVÁ, 2002; LOM e DIKOVÁ, 2006).

#### 3.4.2. Classe Myxospora Bütschli, 1881

A classe Myxosporea está constituída por aproximadamente de 65 gêneros, como por exemplo, os gêneros *Henneguya* Thélohan, 1892, *Triangulamyxa* Azevedo et al, 2005; *Kudoa* Meglitsch, 1947 e *Myxobolus* Bütschli, 1882 (LOM e DYKOVÁ, 2006). Os gêneros *Henneguya* e *Myxobolus*, são os mais comumente encontrados. Os membros dessa classe possuem estágios vegetativos que podem ser celozóicos (em cavidades do corpo ou de órgãos do corpo) ou histozóico intercelular (com formação entre as células do tecido) ou ainda intracelular.

O ciclo de vida é indireto e compreende duas fases: uma no hospedeiro intermediário (no peixe) e outra no hospedeiro definitivo (no anelídeo), abrangendo neste ciclo um

myxosporeo e um actinosporeo. A fase mais conhecida é a de myxosporeos, encontrados geralmente em peixes (hospedeiros intermediários); a fase de actinosporeos envolve um processo sexual, quase que exclusivamente nos anelídeos (Figura 1) (KENT et al, 2001; LOM e DIKOVÁ, 2002; LOM e DIKOVÁ, 2006).

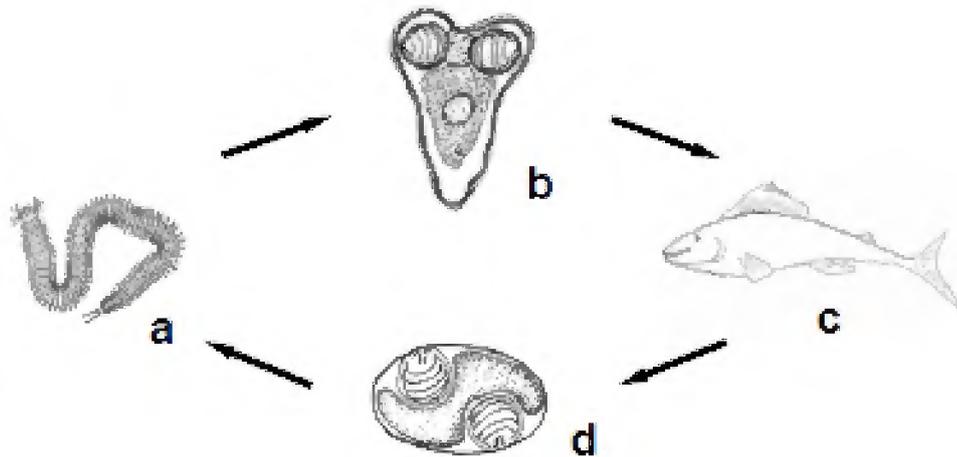


Figura 1. Desenho esquemático do ciclo de vida de um mixosporídio. a) Hospedeiro definitivo; b) actinosporo; c) hospedeiro intermediário e d) mixósporo. Fonte: Casal (2009).

A fase esporal (mixosporos) é a mais comumente encontrada nos hospedeiros intermediários, podendo ser observado macroscopicamente ou microscopicamente em plasmódios contendo esporos alojados no tecido hospedeiro. Os esporos maduros podem ser facilmente observados em ML comum e em contraste por interferência diferencial (Nomarski - DIC), sendo que a morfologia do corpo esporal apresenta-se de formas variadas (Figura 2), de ovóide a quadrangular (AZEVEDO et al., 2008).

A fase de esporogonia que ocorre nos hospedeiros intermediários tem início com o envolvimento de uma célula esporogônica, desenvolvida e protegida por uma célula, o perícito (fagócito). Dentro do perícito, a célula esporogônica divide-se, sucessivamente, por meio de nucleocinese e citocinese, originando células uninucleares, ou ainda, divisão de uma célula na qual ocorre apenas uma nucleocinese, originando uma célula binucleada, a célula esporoplasmática (Figura 3).

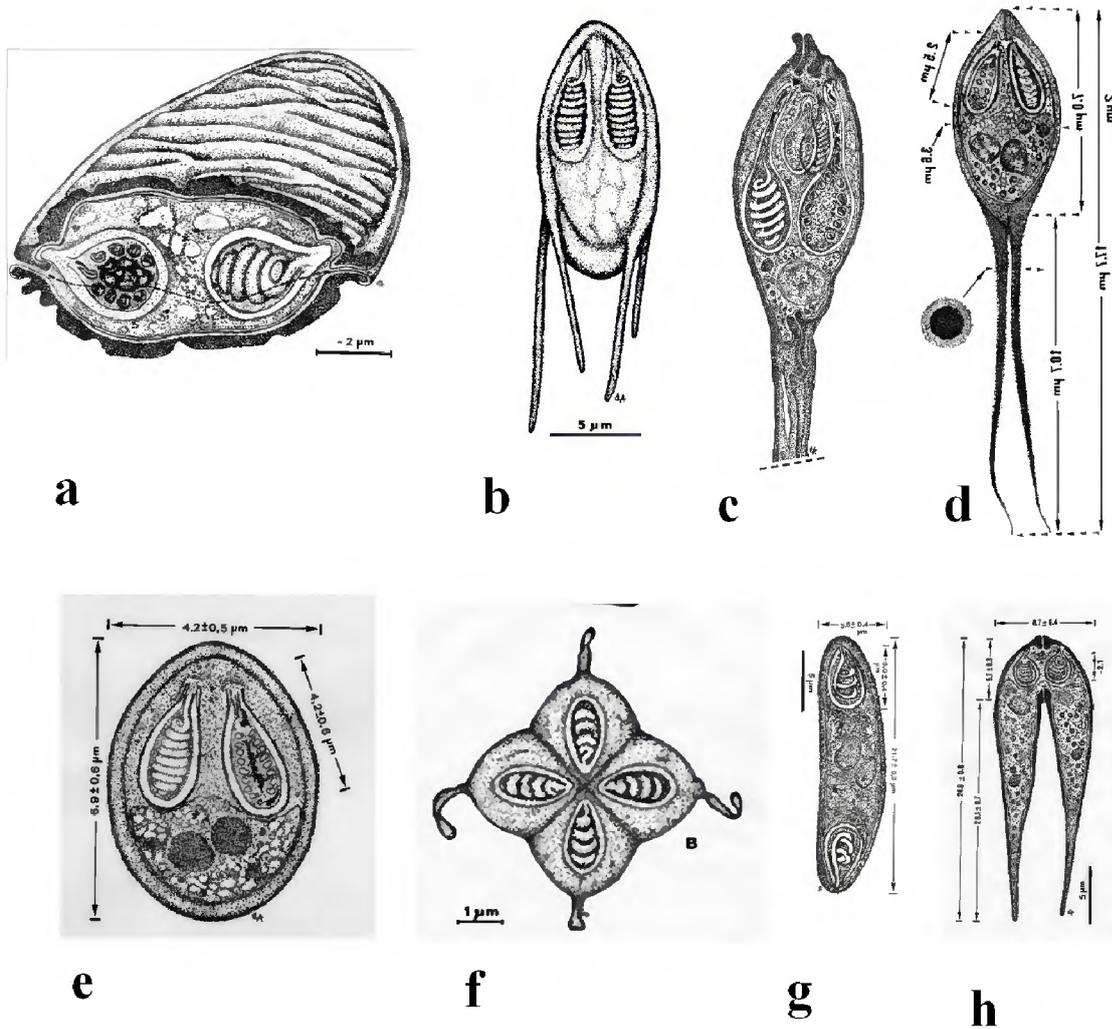


Figura 2. Desenhos esquemático de 8 esporos de mixosporídios de diferentes gêneros. **a.** *Tryangulamyxa amazonica* (AZEVEDO et al, 2005); **b.** *Tetrauronea desaequalis* (AZEVEDO e MATOS, 1996); **c.** *Agarella gracillis* (VITA et al, 2004); **d.** *Henneguya rondoni* (AZEVEDO et al, 2008); **e.** *Myxobolus bricon* (AZEVEDO et al, 2011a); **f.** *Kudoa aequidens* (CASAL et al, 2008); **g.** *Myxidium volitans* (AZEVEDO et al, 2011b); **h.** *Meglitschia mileii* (AZEVEDO et al, 2011c).

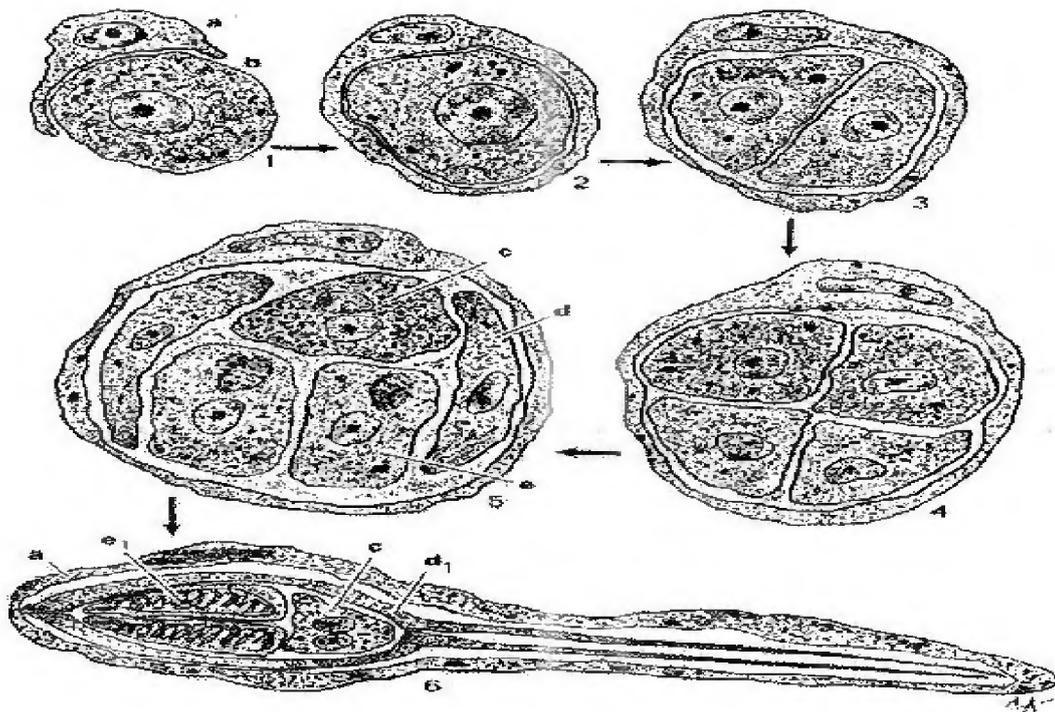


Figura 3: Esquema do ciclo de vida de um mixosporo no hospedeiro intermediário. Mostrando a fase em que a célula pericítica (a) começa a englobar a célula germinativa (b) (1). A célula germinativa fica completamente envolvida pelo pericito (2). A célula germinativa divide-se sucessivamente em duas células (3) e em 4 células (4). No final da divisão, o esporo (monoespórico - 5) é constituído por 5 células diferenciadas em 2 células valvogênicas (d), 2 células capsulogênicas (e) e uma célula binucleada – o esporoplasma (c). Esporo (6). Fonte: Matos et al. (2001).

Com o resultado da divisão, dois grupos de cinco células são formadas. As células de cada grupo diferenciam-se do seguinte modo: as duas células valvogênicas diferenciam-se englobando as outras três, formando assim, um esporo. As três células que ficam no interior são duas células cápsulogênicas onde no citoplasma se diferenciam as cápsulas polares, possuindo cada uma delas no seu interior um filamento polar enrolado em hélice. A outra célula é referida como esporoplasmática, binucleada, que se caracteriza por conter inúmeras vesículas eletrondensas designadas de esporoplasmosomas, bem como partículas de  $\beta$ -glicogênio.

As cápsulas são estruturas específicas dos esporos dos mixosporídios, que resultam das células cápsulogênicas que se diferenciam durante o processo de maturação. No interior de cada uma delas localiza-se um tubo polar enrolado em espiral. O filamento polar é uma estrutura responsável pela propagação da espécie, no período pós-maturação. Durante o processo de formação do esporo observa-se que cada uma das valvas desenvolve um

complexo sistema microtubular que se diferencia, em algumas espécies, nas caudas ou prolongamentos (KENT et al, 2001; LOM e DYKOVÁ, 2006; MATOS et al., 2001; MATOS et al., 2004).

#### 3.4.3. Gênero *Henneguya* Thélohan, 1892

Os membros deste gênero são pertencentes à ordem Bivalvulida, possuindo corpo elipsóide, duas cápsulas polares e duas valvas posicionadas paralelamente a linha de sutura que se prolongam, dando origem a duas projeções caudais. Possui esporoplasma com célula binucleada, de forma geralmente esférica e por vezes contendo uma inclusão polissacarídica. Estes parasitos são em sua maioria histozóicos, parasitam principalmente peixes de água doce possuindo tropismo pelo tecido branquial (KENT et al, 2001; LOM e DIKOVÁ, 2002; LOM e DIKOVÁ, 2006).

### 3.5. Coccídios

#### 3.5.1 Filo Apicomplexa

O filo Apicomplexa Levine, 1970 é um grupo grande e heterogêneo de microrganismos, que engloba algumas formas patogênicas. São parasitos intracelulares obrigatórios de importância médica e veterinária (DUSZYNSKI et al, 2000; MATOS et al, 2004).

Os parasitos têm vida intracelular, com todo o ciclo de vida ocorrendo nas células hospedeiras (AZEVEDO, MATOS e MATOS, 1995). Nos peixes e em moluscos, ocorrem em diversos tecidos/órgãos, como brânquias, fígado, gônadas e outros. Nem todos os gêneros estão descritos como patogênicos. A descrição e a ocorrência de coccídios em peixes dulcícolas e em moluscos na região amazônica são 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), *Mytella guyanensis* (sururu) e *Anomalocardia brasiliensis* (sernambi) (SILVA et al, 2007; VIDEIRA et al, 2008).

A presença de oocistos de coccídios de *Calyptospora* Overstreet, Hawkins e Fournie, 1984, são facilmente observados em ML, formando vacúolos parasitóforos com 4 esporocistos e dois esporozoítos (Figura 4). Em muitos casos são observadas células iniciais do ciclo de vida (Figura 5) ou já formando vacúolos parasitóforos, quando se encontra diferentes fases do ciclo de vida, variando a forma dos esporocistos, de arredondada a elipsóide. Os vacúolos parasitóforos localizam-se, geralmente, no fígado, e eventualmente encontrados nas gônadas, variando de dimensão, mas sempre com quatro esporocistos no interior de cada vacúolo (Figura 6) (AZEVEDO, MATOS e MATOS, 1995).

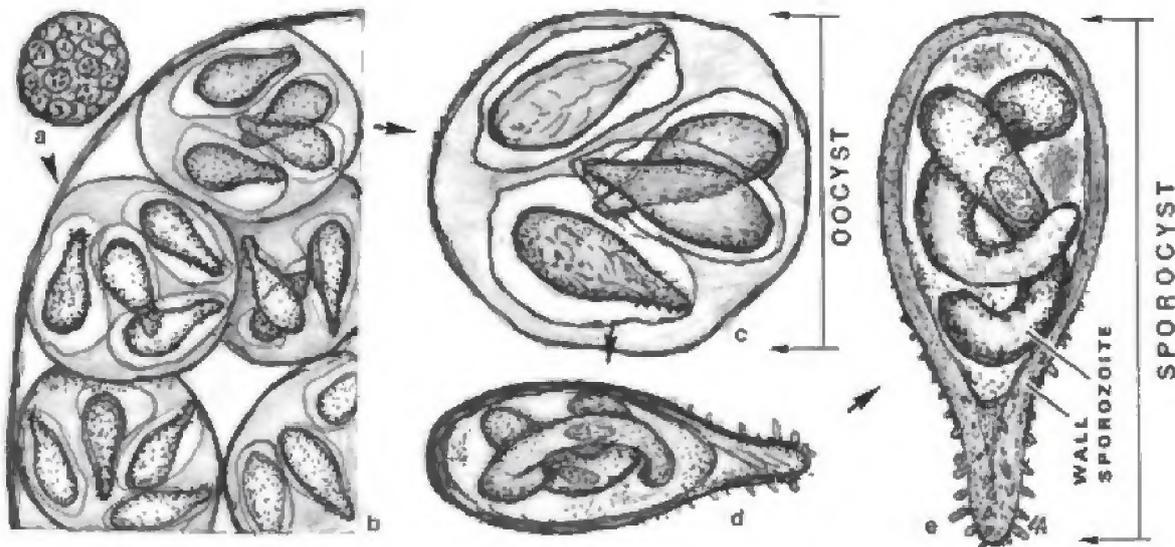


Figura 4. Desenho esquemático da organização morfológica de um grupo de oocistos (a, b), e um oocisto (c) contendo quatro esporocistos (d, e), cada uma com dois esporozoítos (E). Fonte: Casal, et al, (2007).

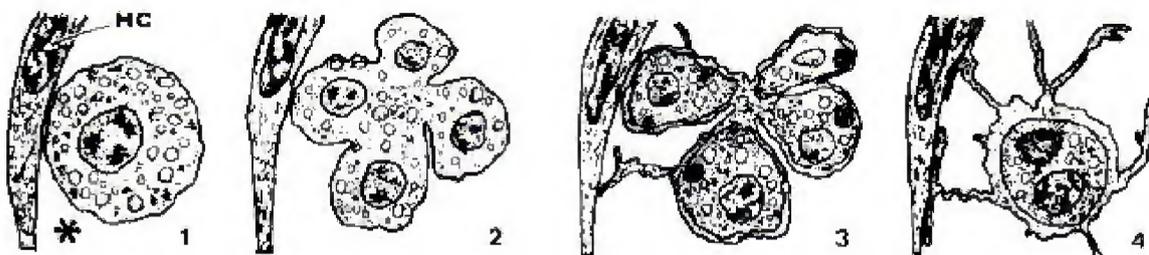


Figura 5. Esquema das fases do ciclo de vida do *Calyptospora spinosa*: 1- Zigoto (vacúolo parasitóforo\*; CH: célula hospedeira); 2- Formação do esporoblasto; 3- esporoblastos jovens; 4- Esporoblasto maduro rodeado pelo véu, esporocisto. Fonte: Azevedo et al, (1995).



Figura 6. Oocistos de *Calyptospora spinosa* observados em DIC. Fonte: Azevedo; Matos; Matos, 1995.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Colheita dos espécimes e área de estudo

Os espécimes de *Cichla temensis* (Figura 8), utilizados no estudo, foram coletados do município de Cametá ( $2^{\circ}14'13.36''\text{S}$   $49^{\circ}29'33,81''\text{W}$ ) (Figura 7), sendo capturados com a utilização de apetrechos de pesca, tais como, tarrafas e redes de emalhar. Foram feitas 7 coletas: nos meses de Janeiro, Maio, Agosto e Novembro de 2010 e Fevereiro, Abril e agosto de 2011, sendo que em cada coleta foram capturados 10 indivíduos, totalizando 70 espécimes (Anexo 1).

Os animais foram acondicionados em sacos plásticos com aeração artificial, transportados vivos até o Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo (LPCA), na Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), onde ficaram armazenados em aquários até que se procedessem as análises.

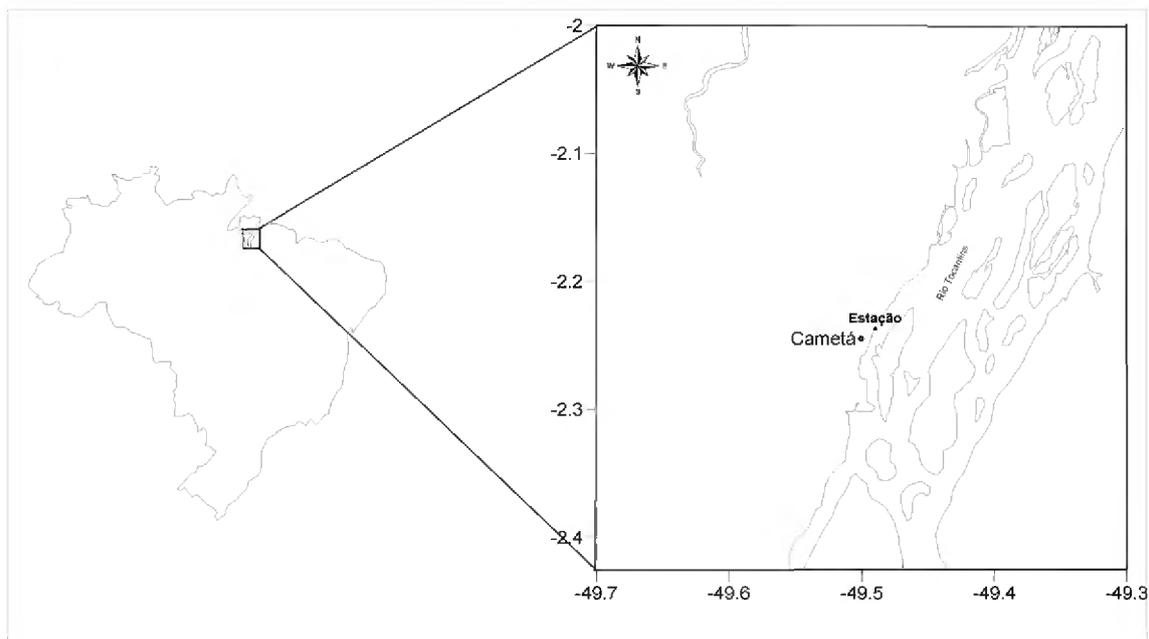


Figura 7: Localização geográfica do município de Cametá, na mesoregião nordeste do Pará.



Figura 8: Exemplo de *Cichla temensis*. Fonte: LPCA (2010).

#### 4.2. Dissecção dos espécimes e pesquisa de parasitos

Os animais foram anestesiados com Tricafina Metano sulfonato (MS222 SIGMA) na concentração de 50mg/L (AZEVEDO et al, 2008) e em seguida retirados dos aquários. Em seguida, realizaram-se as necropsias (ficha de coleta/necropsia - Anexo 2). Foram retirados fragmentos de tecidos com possíveis focos de parasitos e colocados entre lâmina e lamínula contendo uma gota de água, para realizar a observação em microscópio de luz, diferenciando estádios de parasitoses com cistos de secreção glandular ou de células adiposas.

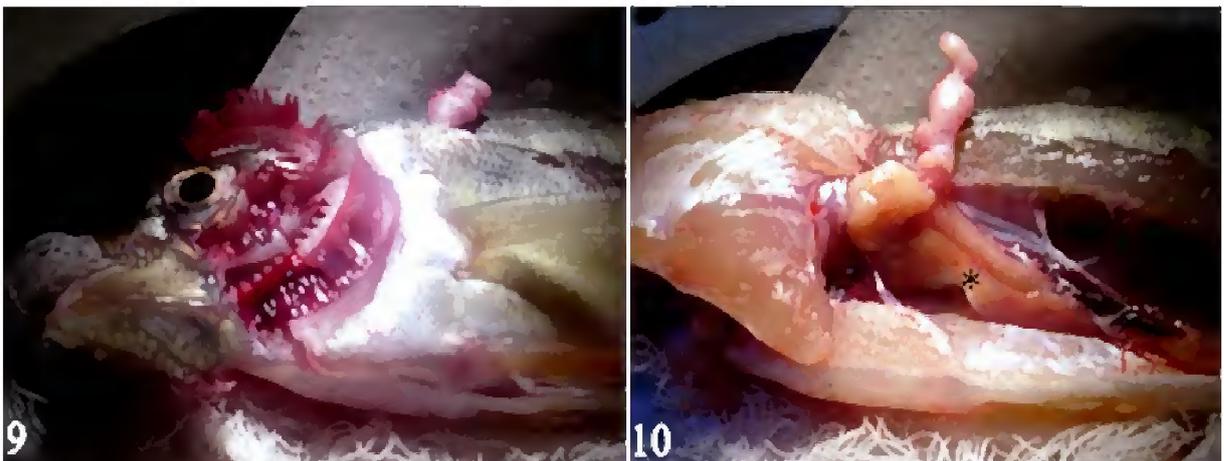


Figura 9 e 10: **9.** Observação da região branquial. **10.** Observação da cavidade celômica, mostrando a região hepática (\*). Fonte: LPCA (2010).

### 4.3. Processamento do material biológico

#### 4.3.1 Microscopia de luz

Os fragmentos de tecidos parasitados foram fixados em solução de Davidson (formaldeído, ácido acético, etanol 95%, e água destilada), na proporção de nove partes de fixador para uma de material biológico, durante 24 horas, a fim de inativar as enzimas, conservando a estrutura celular mais próxima de como se apresenta in vivo, sem a ação autolítica.

Após a fixação, os fragmentos foram processados de acordo com as técnicas padronizadas pelo LPCA (Anexo 3), passando por uma bateria de concentrações alcoólica crescente, diafanização, inclusão (com o auxílio do aparelho TISSUE EMBEDDING CENTER MICRON EC350), microtomia (micrótomo ROTARY MICROTOME MICRON HM315) e coloração por Hematoxilina-Eosina e Tricrômico de Gutierrez.

#### 4.3.2 Microscopia eletrônica

Para a realização da microscopia eletrônica de transmissão (MET), pequenos fragmentos das regiões parasitadas foram fixados em glutaraldeído 3%, em 0,2 M de cacodilato de sódio tamponado (pH 7.2) por 3 h a 4°C. Em seguida, lavados no mesmo tampão por 2-4 h a 4°C, e pós-fixados em tetróxido de ósmio a 2%, tamponado, por 2 horas na mesma temperatura. Foram desidratados em série crescentes de etanol e óxido de propileno, embebidos e incluídos em Epon. Cortes ultrafinos foram contrastados com acetato de uranila e citrato de chumbo, e observados em microscópio eletrônico Zeiss EM 900, operando a 80 kV (Anexo 4).

## 5. REFERÊNCIAS

- AHID, S.M.M.; FILGUEIRA, K.D.; FONSECA, Z.A.A.S. SOTO-BLANCO, B.; OLIVEIRA, M.F. de. 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.
- ANDRADE, F.; SCHNEIDER, H.; FARIAS, I, FELDBERG, E.; SAMPAIO, I. Análise filogenética de duas espécies simpátricas de tucunaré (*Cichla*, perciformes), com registro de hibridização em diferentes pontos da bacia amazônica. **Revista Virtual de Iniciação Acadêmica da UFPA**. Vol 1, No 1, 2001.
- 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.**, 58(2): 88–93, 2011a.
- AZEVEDO, C.; CASAL, G.; SÃO CLEMENTE, S.C. de; LOPES, L.M.S.; MATOS, P.; ABDEL-BAKI, A.A.; OLIVEIRA, E.; MATOS, E. *Myxidium volitans* sp. nov., a parasite of the gallbladder of the fish, *Dactylopterus volitans* (Teleostei: Triglididae) from the Brazilian Atlantic coast - Morphology and pathology. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. 106(5): 557-561, 2011b.
- AZEVEDO, C.; RIBEIRO, M.; SÃO CLEMENTE, S.C. de.; CASAL, G.; LOPES, L.; MATOS, P.; AL-QURAI SHY, S.A.; MATOS, E. Light and Ultrastructural Description of *Meglitschia mylei* n. sp. (Myxozoa) from *Myleus rubripinnis* (Teleostei: Serrasalminidae) in the Amazon River System. **J. Eukaryot. Microbiol.**, 58(6): 525–528, 2011c.
- AZEVEDO, C., CASAL, G., MENDONÇA, I., MATOS, E. Fine structure of *Henneguya hemiodopsis* sp. n. (Myxozoa), a parasite of the gills of the Brazilian teleostean fish *Hemiodopsis microlepes* (Hemiodontidae). **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Vol. 104(7): 975-979, 2009.
- AZEVEDO, C.; CASAL, G.; MATOS, P.; MATOS, E. A New Species of Myxozoa, *Henneguya rondoni* n. sp. (Myxozoa), from the Peripheral Nervous System of the Amazonian Fish, *Gymnorhamphichthys rondoni* (Teleostei). **J. Eukaryot. Microbiol.**, 55(3): 229–234, 2008.

AZEVEDO, C.; CORRAL, L.; MATOS, E. Ultrastructure of *Triangulamyxa amazonica* n. gen. and n. sp. (Myxozoa, Myxosporaea), a parasite of the Amazonian freshwater fish, *Sphoeroides testudineus* (Teleostei, Tetodontidae). **European Journal of Protistology** v.41. p.57–63, 2005.

AZEVEDO, C.; MATOS, E. Light and electron microscopic study of a Myxosporan, *Tetrauronema desaequalis* n. sp. (Fam. Tetrauronematidae), from Amazonian fish. **Journal of Parasitology**, v.82, p.288-291, 1996.

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, P.; MATOS, E. Morphological Data of *Calyptospora spinosa* n. sp. (Apicomplexa, Calyptosporidae) Parasite of *Crenicichla lepidota* HEOKEL, 1840 (Teleostei) from Amazon River. **Europ.J.Protistol.** v.29, p.171-175, 1993.

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. **Intern. Jour. Parasitol.** 38:1199–1207, 2008.

BOREHAM, R.E.; HENDRICK, S.; O'DONOGHUE, P.J.; STENZEL, D. J. Incidental Finding of *Myxobolus* Spores (Protozoa: Myxozoa) in Stool Samples from Patients with Gastrointestinal Symptoms. **J. Clin. Microbiol.** 36 (12): 3728–3730, 1998.

BORGES, J.C.L. Sustentabilidade econômica da atividade pesqueira em Santa Catarina. **Rev.Ciên. Hum.** 43 (2): 401-414, 2009.

**BRASIL, MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA.** PRODUÇÃO PESQUEIRA E AQUÍCOLA: Estatística 2008 e 2009. 2010. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/>. Acesso: 13/ 11/ 2010.

BUCKUP, P.A. Sistemática e biogeografia de peixes de riachos. PP. 91-138. In: CARARAMASCHI, E.P.; MAZZONI, R e PERES-NETO P.R. **Ecologia de Peixes de Riacho.** Série Oecologia Brasiliensis, vol. VI. PPGE-UFRJ, 1999.

CAMPOS, C.F.M. de. Fauna parasitária e alterações teciduais em três espécies de peixes dos rios Aquidauana e Miranda, Pantanal sul Mato-Grossense. (Doutorado em Aquicultura) – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, 2006. Disponível em: <<http://www.caunesp.unesp.br/>>. Acesso: 16 set.. 2010.

CARDOSO, R.S; FREITAS, C.E.C. A pesca de pequena escala no rio Madeira pelos desembarques ocorridos em Manicoré (Estado do Amazonas), Brasil. **Acta Amazônica**. vol. 38(4): 781 – 788, 2008.

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

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

CAVALIER-SMITH, T. A revised six-kingdomsystem of life. **Biol. Rev.** 73: 203-266, 1998.

DINIZ, M.B.; DINIZ, M.J.T.; SANTOS, R.B.; FILGUEIRAS, G.C.F.C. Atividade pesqueira na amzônia: limites e possibilidades para o desenvolvimento local. **XLIV CONGRESSO DA SOBER**, 2006.

EIRAS, J.C. Aspectos gerais da patologia das parasitoses de peixes marinhos. In: RANZANI-PAIVA, M.J.T.; TAKEMOTO, R.M.; LIZAMA, M.L. **Sanidade de Organismos Aquáticos**. Varela. São Paulo, 2004.

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

FONSÊCA, F.T.B. **Cepópodas parasitas de peixes Mugilidae, Centropomidae e Gerreidae do canal de Santa Cruz e Área de Suape (Pernambuco-Brasil)**. 50f. (Doutorado em Oceanografia Biologica) - Centro de Tecnologia e Geociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2003.

HOEINGHAUS, D.J.; LAYMAN, C.A.; ARRINGTON, D.A.; WINEMILLER, K.O. Movement of *Cichla* species (Cichlidae) in a Venezuelan floodplain river. **Neotropical Ichthyology**, 1(2):121-126, 2003.

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

KLEIN, S.; FEIDEN, A.; BOSCOLO, W.R.; REIDEL, A.; SIGNOR, A.; A. SIGNOR, A.A. Utilização de produtos químicos no controle de *Ichthyophthirius multifiliis*, Fouquet (1876) em alevinos de surubim do Iguaçu *Steindachneridion* sp., Garavello (1991). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina. 25 (1): 51-58, 2004.

KUBITZA, F.; KUBITZA, L.M.M. **Principais parasitoses e doenças dos peixes cultivados**. 4. ed. Jundiaí: F. Kubitza. (Coleção piscicultura avançada), 2004.

KULLANDER, S.O; FERREIRA, E.J.G. A review of the South American cichlid genus *Cichla*, with descriptions of nine new species (Teleostei: Cichlidae). **Ichthyol. Explor. Freshwaters**. Vol. 17, No. 4, pp. 289-398, 2006.

LOM J.; DYKOVÁ I Protozoan parasites of fishes. Elsevier, New York, 315pp., 1992.

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

LUQUE, J.L. Biologia, epidemiologia e controle de parasitas de peixes. Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária & I Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses, 13º; **Anais...** Ouro Preto, MG, 2004.

MALTA, JCO. Os peixes de um lago de várzea da Amazônia Central (Lago Janauacá Rio Solimões) e suas relações com os crustáceos ectoparasitas (Branchiura: Argulidae). **Acta Amazonica**, 14: 355-372, 1984.

MATOS, E., CASAL, G.; MATOS, P.; CORRAL, L.; AZEVEDO, C. Microrganismos Parasitos de Animais Aquáticos da Amazonia. 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.

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

MCCLELLAND, R.S.; MURPHY, D.M.; CONE, D.C. Report of Spores of *Henneguya salminicola* (Myxozoa) in Human Stool Specimens: Possible Source of Confusion with Human Spermatozoa. **J. Clin. Microbiol.** 35 (11): 2815–2818, 1997.

MILANIN, T. Taxonomia morfológica e molecular de *Myxosporea* parasito de *brycon hilarii*, oriundo do pantanal Matogrossense (Dissertação de mestrado em parasitologia) – Universidade de Campinas/ SP, 2011.

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

ORR, R.T. **Biologia dos vertebrados**. 5ª ed. São Paulo-SP: Roca, 1986.

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

PEREIRA, R. **Peixes de nossa terra**. Ed. Nobel. São Paulo, 495p, 1986.

SANTOS, G.M.; SANTOS, A.C.M. Sustentabilidade da pesca na Amazônia. **Estud. av.** vol.19 no.54 2005.

SANTOS, L.N. dos.; GONZALEZ, A.F.; ARAÚJO, F.G. (2001) Dieta do tucunaré-amarelo *Cichla monoculus* (Bloch & Schneider) (Osteichthyes, Cichlidae), no Reservatório de Lajes, Rio de Janeiro, Brasil. **Revta bras. Zool.** 18: 191 - 204.

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

SOARES, E.C; TEIXEIRA, C.V ; OLIVEIRA, A.C; PARISE, M; PINTO, W.H.A. Avaliação da pesca através do banco de estatística e sig na região de Santarém, Estado do Pará, Brasil. **Rev. Bras. Enga. Pesca** 3(1), 2008.

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

TATCHER, V.E. **Amazon Fish Parasites**. 2 ed. Pensoft Publishers. Sofia, Moscow, 508pp, 2006.

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.

VITA, P.; CORRAL, L.; MATOS, E.; AZEVEDO, C. Ultrastructural description of *Agarella gracilis* Dunkerly, 1915 (Myxozoa, Chloromyxidae) parasite of the dipnoan *Lepidosiren paradoxa* from the River Amazon. **European Journal of Protistology** 40: 213–218, 2004.

## CAPÍTULO II- COCCÍDIOSE HEPATOPÂNCREÁTICA EM *Cichla temensis*

1

1 **Morfologia e nova ocorrência de um coccidio hepatopancreático em *Cichla***  
 2 ***temensis* do município de Cametá estado do Pará**  
 3 *Morphology and occurrence new of hepatopancreatic coccidian in *Cichla temensis* the*  
 4 *city of Cameta state of Pará*

5  
 6 **Michele Velasco<sup>1</sup>, Marcela Videira<sup>2</sup>, Patrícia Matos<sup>3</sup>, Sergio Carmona de São**  
 7 **Clemente<sup>4</sup>, Osimar Sanches<sup>5</sup>, Edilson Matos<sup>1\*</sup>**

8 <sup>1</sup>Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo. Universidade Federal Rural da Amazônia.  
 9 Belém, Pará, Brasil.

10 <sup>2</sup>Departamento de Engenharia de Pesca. Universidade do Estado do Amapá. Macapá,  
 11 Amapá, Brasil.

12 <sup>3</sup>Laboratório de Pesquisa Edilson Matos. Universidade Federal do Pará. Belém, Pará,  
 13 Brasil.

14 <sup>4</sup>Faculdade de Veterinária. Universidade Federal Fluminense, Niteroi, Rio de Janeiro,  
 15 Brasil.

16 <sup>5</sup>Laboratório de Patologia Animal. Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE).  
 17 Presidente Prudente -São Paulo, Brasil.

18

19

### 20 **RESUMO**

21

22 O filo Apicomplexa é um grupo grande e heterogêneo de microrganismos, que engloba  
 23 algumas formas patogênicas. O gênero *Calyptospora* possui espécies parasitas de peixes  
 24 de água doce e marinha, e são frequentemente encontrados no fígado do hospedeiro.  
 25 Setenta espécimes do peixe *C. temensis* foram coletados no rio Tocantins próximo a  
 26 cidade de Cametá/ PA. Os animais foram transportados ao Laboratório de Pesquisa  
 27 Carlos Azevedo, anestesiados e necropsiados para pesquisa de parasitos. Os animais  
 28 apresentaram parasitismo por *Calyptospora* na região hepática e hepatopancreática  
 29 disseminados em todo tecido, com prevalência parasitária de 40%. Este trabalho tem por

---

<sup>†</sup> Corresponding author: **EDILSON RODRIGUES MATOS**  
 Avenida Presidente Tancredo Neves, N° 2501 Bairro: Montese  
 Cep: 66.077-901 Cidade: Belém-Pará-Brasil.  
 Telefone:(91)3210-5207. E-mail: [edilson.matos9@gmail.com](mailto:edilson.matos9@gmail.com)

30 objetivo descrever uma nova ocorrência e morfologia de um coccídio hepático e  
31 pancreático em *Cichla temensis* do município de Cametá estado do Pará.

32

33 PALAVRAS-CHAVE: *Calyptospora*, tucunaré, parasito, Amazônia

34

35

36 ABSTRACT

37 The phylum Apicomplexa is a large and heterogeneous group of microorganisms, which  
38 includes some pathogenic forms. The genus has *Calyptospora* parasite species of  
39 freshwater fish and marine and is often found in the liver of the host. Seventy specimens  
40 fish *Cichla temensis* were collected on the Tocantins River near the town of Cameta /  
41 PA. Animals were transported to Carlos Azevedo Research Laboratory, anesthetized  
42 and necropsied to study parasite. The animals were parasitized by liver *Calyptospora* in  
43 the region and spread across hepatopancreatic tissue, parasite prevalence of 40%. This  
44 paper aims to describe a new occurrence and morphology of coccidian in liver and  
45 pancreatic *C. temensis* the city of Cameta state of Para.

46

47 KEY WORDS: *Calyptospora*, peacock bass, parasite, Amazon

48

## 49 INTRODUÇÃO

50 As espécies do gênero *Cichla*, Schneider, 1801, são conhecidas no Brasil como  
51 "tucunarés", sendo naturais da Bacia Amazônica e representam o principal grupo de  
52 peixes piscívoros da família Cichlidae na América do Sul (SANTOS; GONZALEZ;  
53 ARAÚJO, 2001).

54 A espécie *Cichla temensis* Humboldt, 1821, é típica de ambientes lênticos  
55 alimentando-se preferencialmente de peixes pequenos, camarões e insetos aquáticos. É  
56 de grande importância na alimentação e na fonte de renda de muitas populações,  
57 constituindo também apreciado alvo da pesca esportiva (ANDRADE et al., 2001).

58 O filo Apicomplexa Levine, 1970 é um grupo grande e heterogêneo de  
59 microrganismos, que engloba algumas formas patogênicas. São parasitos intracelulares  
60 obrigatórios de importância médica e veterinária. Engloba algumas formas patogênicas

61 e parasitárias que ocorrem em diversos grupos, ocorrendo também em moluscos  
62 bivalves e peixes (MATOS et al., 2004).

63 Espécies do gênero *Calyptospora* Overstreet, Hawkins e Fournie, 1984, quando  
64 observados em Microscopia de Luz (ML), formam vacúolos parasitóforos com 4  
65 esporocistos e dois esporozoítos. Em muitos casos são observadas células iniciais do  
66 ciclo de vida ou já formando vacúolos parasitóforos, quando se encontra diferentes fases  
67 do ciclo de vida, variando a forma dos esporocistos, de arredondada a elipsóide  
68 (AZEVEDO; MATOS; MATOS, 1995). Este trabalho tem por objetivo descrever uma  
69 nova ocorrência e morfologia de um coccídio hepático e pancreático em *C. temensis* no  
70 município de Cametá estado do Pará.

71

## 72 MATERIAL E MÉTODOS

73

74 Setenta espécimes do peixe de água doce *C. temensis* (Teleostei, Cichlidae) (nome  
75 comum = “Tucunaré”), foram coletados no Rio Tocantins (2°14'13.36"S  
76 49°29'33,81"W), próximo à cidade de Cametá (Figura 1), estado do Pará, no nordeste  
77 paraense, durante os anos de 2010 e 2011. Os peixes foram transportados vivos ao  
78 Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo na UFRA e mantidos em aquário com 28 a  
79 30°C. Os animais foram anestesiados com tricáina metano sulfonato (MS222 SIGMA)  
80 na concentração de 50mg/L e necropsiados para pesquisa de parasitos através de  
81 estereomicroscópio. Pequenos fragmentos do hepatopâncreas infectado foram retirados  
e examinados em microscópio de luz.

82 Para ML, os fragmentos de tecidos parasitados foram fixados em solução de  
83 Davidson (formaldeído, ácido acético, etanol 95%, e água destilada) durante 24 horas.  
84 Após a fixação, os fragmentos foram processados, cortados e corados por Hematoxilina-  
85 Eosina e Tricrômico de Gutierrez. Os cortes corados foram documentados através  
86 microscópio de luz ZEISS PRIMO STAR com um adaptador CANON A610/A620  
87 52mm.

88 Para a microscopia eletrônica de varredura (MEV), pequenos fragmentos de  
89 tecido hepático parasitado (1,0 cm de espessura) foram fixados em glutaraldeído 5%,  
90 tamponado com cacodilato de sódio (pH 7,2) por 12 h em 4 ° C; lavados durante a noite  
91 no mesmo tampão e pós-fixados em OsO<sub>4</sub> a 2% tamponado na mesma solução por 3h  
92 na mesma temperatura. Em seguida, foi realizada a desidratação em uma série crescente

93 de etanol. Os fragmentos foram submetidos à secagem até o ponto crítico, metalizados  
94 com uma fina película de ouro de 20 nm e fotografados ao microscópio eletrônico de  
95 varredura LEO 1459 VP operando a 80 kV.

96

## 97 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

98 A partir da necropsia dos exemplares foi possível observar que o fígado  
99 (hepatopâncreas) dos hospedeiros parasitados apresentava regiões de coloração  
100 esbranquiçada, ocupando grandes áreas do órgão, que através da ML, foi possível  
101 confirmar que as lesões correspondiam a agregações parasitárias causadas por oocistos  
102 de coccídios. O parasitismo esteve presente, predominantemente, no fígado e no  
103 pâncreas intra-hepático (em conjunto hepatopâncreas), em forma de aglomerados de  
104 oocistos ou ainda oocistos isolados distribuídos por todo o parênquima.

105

106 Os oocistos foram identificados como pertencentes ao gênero *Calyptospora*  
107 Overstreet, Hawkins, Fournie, 1984, devido à morfologia esférica, formando vacúolos  
108 parasitóforos com 4 esporocistos, de formato elipsoidal (Figura 2 ), e dois esporozoítos.  
109 Os esporocistos apresentavam na região apical estruturas granulares conhecidas como  
110 esporopódio (Figura 3). Achados semelhantes foram descritos por Albuquerque e  
111 Brasil-Sato (2010); Casal et al. (2007), Bonar et al. (2006); Azevedo et al. (1993);  
112 Békési e Molnar (1991).

113

114 Os aspectos histológicos evidenciaram oocistos agrupados no parênquima  
115 hepático (figura 5 e 6) e pancreático (figura 3), bem como oocistos isolados em ambos  
116 os órgãos (figura 3 e 4). Os oocistos raramente provocaram resposta inflamatória no  
117 órgão parasitado, observando-se apenas leves compressões dos hepatócitos adjacentes a  
118 localização do parasito.

119

120 A coccidiose hepática e pancreática causada por *Calyptospora* sp. estava presente  
121 em todo período de coleta, e, dos 70 exemplares analisados, 28 encontravam-se  
122 parasitados (40%).

123

124 Diante dos achados macro e microscópicos da parasitose, foi possível observar  
125 que apesar da grande carga parasitária presente na região hepatopancreática, não foi  
126 observado reação inflamatória significativa pelo hospedeiro, sendo apenas observado  
127 compressão dos hepatócitos adjacentes aos aglomerados de oocistos de *Calyptospora*

124 sp. Além disso, este estudo registra a primeira ocorrência do parasitismo por  
 125 *Calyptospora* em *Cichla temensis* da região do nordeste paraense.  
 126

### 127 AGRADECIMENTOS

128 Nossos agradecimentos a Universidade Federal Rural da Amazônia, CAPES,  
 129 CNPq, ao Laboratório de Pesquisa Edilson Matos (LPEM- UFPA), ao Prof. Dr. Wolmar  
 130 Wosiacki do MPEG, pela identificação do espécime hospedeiro e ao Prof. Hilton Túlio  
 131 do centro de Microscopia Eletrônica de Varredura do MPEG.  
 132

### 133 REFERÊNCIAS

- 134 ALBUQUERQUE, M.C. DE.; BRASIL-SATO, M.C. First report of *Calyptospora* sp.  
 135 (Apicomplexa, calyptosporidae) in forage characid fish from the Três Marias  
 136 Reservoir, São Francisco Basin, Brazil. *European journal of protistology*. V.46,  
 137 p.150–152, 2010
- 138 ANDRADE, F.; SCHNEIDER, H.; FARIAS, I, FELDBERG, E.; SAMPAIO, I. Análise  
 139 filogenética de duas espécies simpátricas de tucunaré (*Cichla*, perciformes), com  
 140 registro de hibridização em diferentes pontos da bacia amazônica. *Revista Virtual de*  
 141 *Iniciação Acadêmica da UFPA*, v.1, n. 1, 2001.
- 142 AZEVEDO, C.; MATOS, P.; MATOS, E. (1995) Ultrastructural data on sporogony of  
 143 the coccidian parasite *Calyptospora spinosa* from the liver of the Amazonian fish,  
 144 *Crenicichla lepidota* Heckel. *Journal of fish Diseases*, v.18, p.475-79, 1993.
- 145 AZEVEDO, C.; MATOS, P.; MATOS, E. Morphological data of *Calyptospora spinosa*  
 146 n. sp. (Apicomplexa, Calyptosporidae) parasite of *Crenicichla lepidota* HECKEL,  
 147 1840 (Teleostei) from Amazon River. *Europ. J. Prostistol*, v.29, p.171-175.
- 148 BÉKÉSI, L.; MOLNAR, K. *Calyptospora tucunarensis* n. sp. (Apicomplexa:  
 149 Sporozoea) from the liver of tucunare *Cichla ocellaris* in Brazil. *Systematic*  
 150 *Parasitology*. v. 18, p. 127-13, 1991.
- 151 BONAR, C.J.; POYNTON, S.L.; SCHULMAN, F.Y.; RIETCHECK, R.L.; GARNER,  
 152 M.M. Hepatic *Calyptospora* sp. (Apicomplexa) infection in a wild-born, aquarium-  
 153 held clutch of juvenile arapaima *Arapaima gigas* (Osteoglossidae). *Dis. Aquat. Org*,  
 154 v. 70, p. 81-92, 2006.

155 CASAL, G.; PADOVAN, I.; MATOS, E.; PADOVAN, P.; MATOS, P.;  
 156 GUIMARÃES, A.; AZEVEDO, A. Morphological and ultrastructural redescription  
 157 of *Calyptospora serrasalmi* Cheung, Nigrelli & Ruggieri, 1986 (Apicomplexa:  
 158 Calyptosporidae), a parasite found in two new host species of the genus *Serrasalmus*.  
 159 *Braz. J. morphol. Sci.* v. 24, n. 1, p. 11-16, 2007.

160

161 MATOS, E.; CASAL, G.; MATOS, P.; CORRAL, L.; AZEVEDO, C. Microorganismos  
 162 Parasitos de Animais Aquaticos da Amazonia. In: RANZANI-PAIVA, M.J.T.,  
 163 TAKEMOTO, R.M., LIZAMA, M.A.P. **Saúde de organismos aquáticos**. Editora  
 164 Varela, São Paulo, Brasil, p.158-178, 2004.

165 SANTOS, L.N. dos.; GONZALEZ, A.F.; ARAÚJO, F.G. Dieta do tucunaré-amarelo  
 166 *Cichla monoculus* (Bloch & Schneider) (Osteichthyes, Cichlidae), no Reservatório  
 167 de Lajes, Rio de Janeiro, Brasil. *Revta bras. Zool.* v. 18, p. 191 – 204, (2001).

168

169

170

171

172

173 Figura 1. Localização geográfica do município de Cametá, na mesoregião nordeste do  
 Pará.

174 Figura 2. Observação a fresco de oocistos de *Calyptospora* (seta), contendo 4  
 175 esporocistos (Es), parasitando fígado de *C. temensis*. Barra de escala: 20 µm.

176 Figura 3: Microscopia eletrônica de varredura de um oocisto de *Calyptospora* (\*) com  
 177 esporocistos (Es) e esporopódio (setas)

178 Figs. 4-7: Parasitismo por *Calyptospora* sp. em região hepática e pancreática de *C.*  
 179 *temensis* 4. Aglomerados de oocistos de *Calyptospora* sp. (\*) parasitando a região  
 180 pancreática (cabeça de seta). Gutierrez. Escala: 100 µm. 5. Oocisto de *Calyptospora*  
 181 (seta) entre as células pancreáticas (cabeças de setas). Gutierrez. Escala: 50 µm. 6.  
 182 Aglomerados de oocistos de *Calyptospora* (\*) parasitando a região hepática. HE.  
 183 Escala: 25 µm. 7. Fígado com oocistos de *Calyptospora* com 4 esporocistos (Es).  
 184 Gutierrez. Escala: 25 µm Detalhe: esporocisto (seta). Gutierrez. Escala:10 µm

185

186

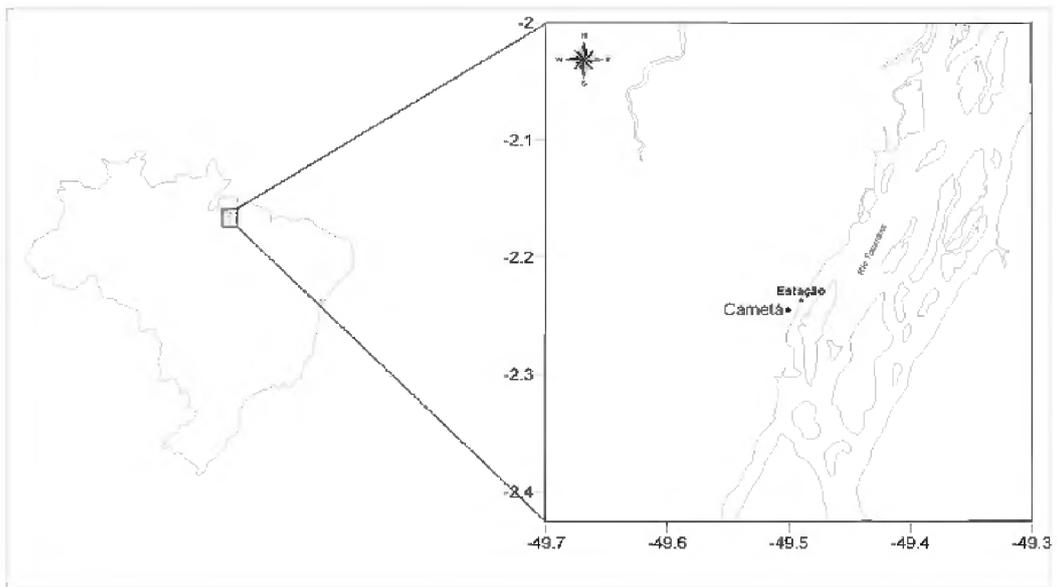
187

188

189

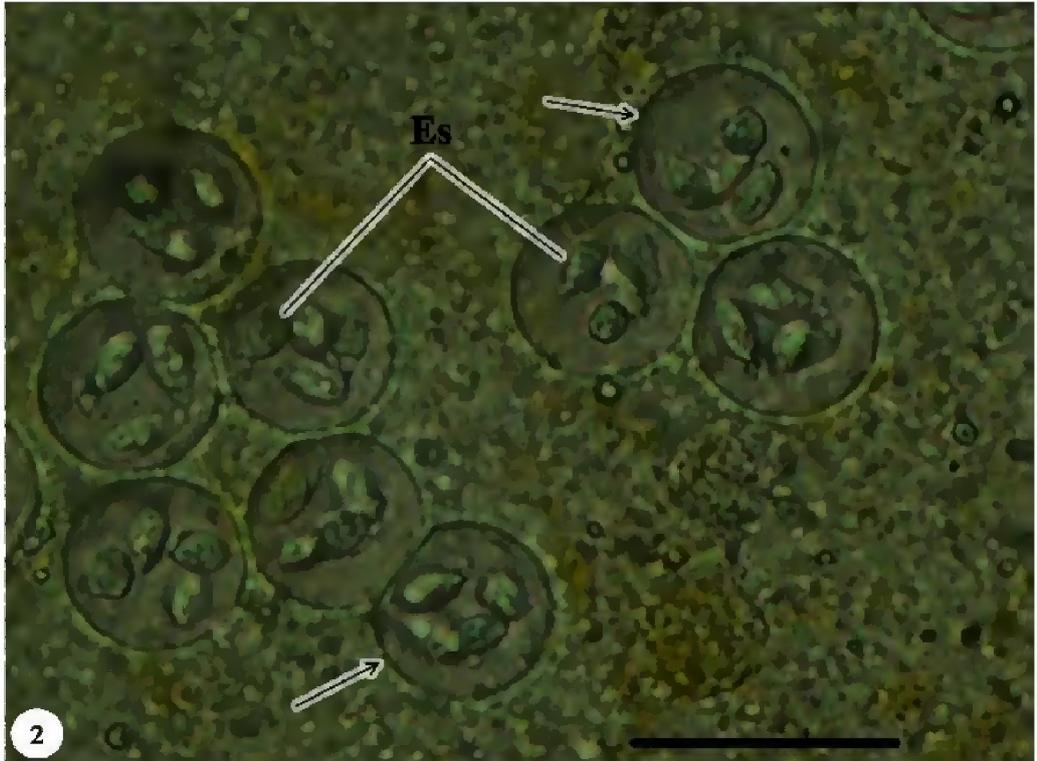
190

191



192

193

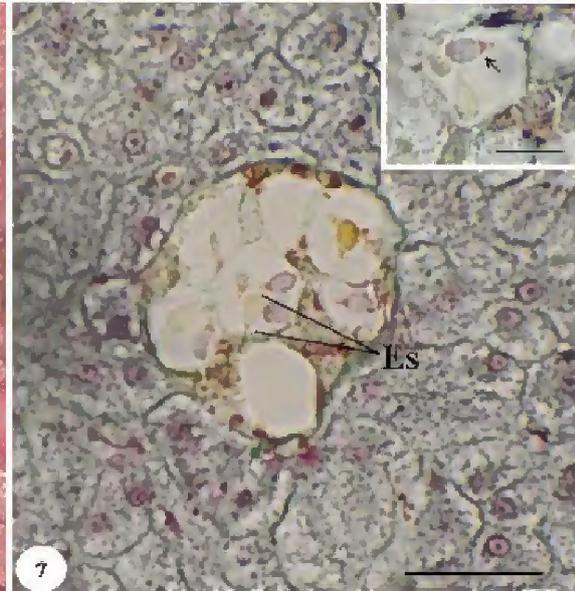
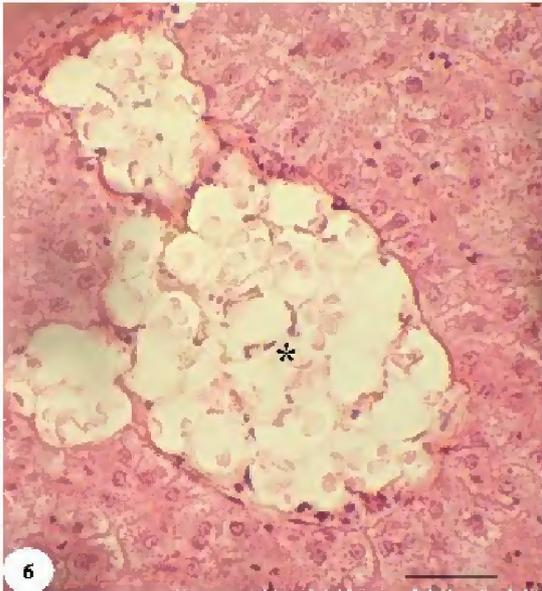
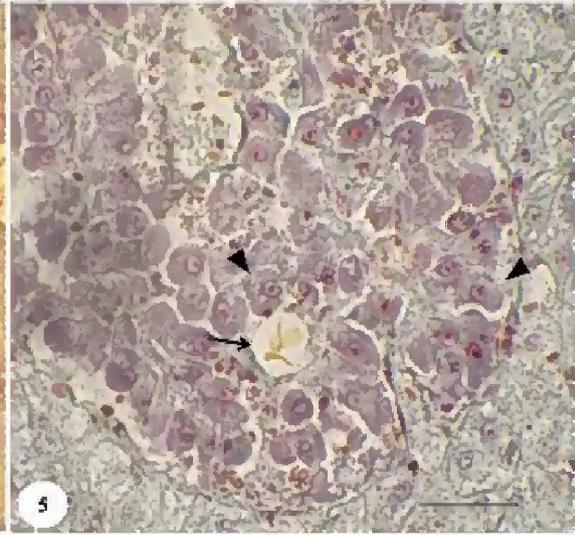
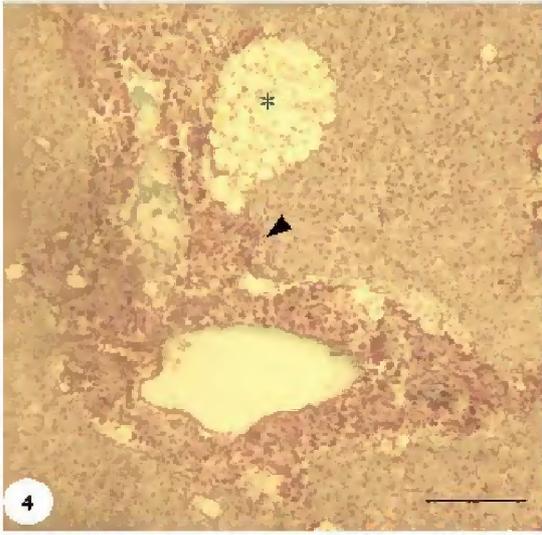


194

195



196



197

198

### CAPÍTULO III – MIXOSPORIDIOSE EM BRÂNQUIA DE *Cichla temensis*

1

1 **Análise Ultraestrutural de *Henneguya temensis* n. sp. (Myxozoa) parasitando brânquia**  
 2 **do peixe teleósteo amazônico *Cichla temensis* Humboldt, 1821 (Cichlidae)**

3

4 **Michele Velasco<sup>1,7</sup>, Marcela Videira<sup>2,7</sup>, José Antônio Picanço Diniz<sup>3</sup>, Evonnildo**  
 5 **Gonçalves<sup>4</sup>, Soraia Andrade<sup>5</sup>, Patrícia Matos<sup>6</sup>, Edilson Matos<sup>7</sup>**

6

7 <sup>1</sup>Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo. Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Belém-Pará-  
 8 Brasil.

9 <sup>2</sup>Departamento de Engenharia de Pesca. Universidade do Estado do Amapá (UEAP), Macapá-Amapá-Brasil.

10 <sup>3</sup>Instituto Evandro Chagas (IEC), Belém-Pará-Brasil.

11 <sup>4</sup>Laboratório de Tecnologia Biomolecular. Universidade Federal do Pará (UFPA). Belém-Pará-Brasil.

12 <sup>5</sup>Laboratório de Polimorfismo de DNA. Universidade Federal do Pará (UFPA). Belém-Pará-Brasil.

13 <sup>6</sup>Laboratório de Pesquisa Edilson Matos (UFPA), Belém-Pará-Brasil.

14 <sup>7</sup>Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo (UFRA), Belém-Pará-Brasil.

15

#### 16 **RESUMO**

17 O presente estudo relata os aspectos em microscopia de luz e eletrônica de transmissão de um  
 18 mixosporidio encontrado parasitando região branquial do peixe teleósteo *Cichla temensis*  
 19 (Humboldt, 1821), coletado no rio Tocantins, próximo a cidade de Cametá, Estado do Pará,  
 20 Brasil. A prevalência de infecção foi de 60%. Os cistos contendo esporos estavam localizados  
 21 nas lamelas branquiais em formato oval e coloração esbranquiçada. Os esporos tinham um  
 22 comprimento médio de  $42,3 \pm 0,65 \mu\text{m}$ ; corpo fusiforme medindo  $12,8 \pm 0,42 \mu\text{m}$  de  
 23 comprimento e  $8,6 \pm 0,32 \mu\text{m}$  de largura; cada uma das duas válvulas apresentava uma cauda  
 24 afilada medindo  $29,5 \pm 0,73 \mu\text{m}$ . Os esporos possuíam duas cápsulas polares com  $7,4 \pm 0,16 \mu\text{m}$   
 25 de comprimento por  $2,6 \pm 0,08 \mu\text{m}$  de largura, contendo um filamento polar com 5-7 voltas. Os  
 26 esporos são diferentes das espécies já descritas anteriormente e com base na morfologia dos

---

† Corresponding author: **EDILSON RODRIGUES MATOS**  
 Avenida Presidente Tancredo Neves, Nº 2501 Bairro: Montese  
 Cep: 66.077-901 Cidade: Belém-Pará-Brasil.  
 Telefone:(91)3210-5207. E-mail: edilson.matos9@gmail.com

27 esporos, conclui-se que a espécie pertence à família Myxobolidae, gênero *Henneguya*, e que  
28 constitui uma nova espécie: *Henneguya temensis* n. sp.

29 **PALAVRAS-CHAVE: Amazônia, peixe, *Henneguya temensis*, parasito, ultraestrutura,**  
30 **esporo, brânquia**

### 31 **ABSTRACT**

32 The present study reports on aspects of light microscopy and transmission electron  
33 mixosporidion parasitizing a gill region of a teleost fish *Cichla temensis* (Humboldt, 1821),  
34 collected on the Tocantins River, near the town of Cameta, State of Pará, Brazil. The  
35 prevalence of infection was 60%. The cysts containing spores were found in gill lamellae-  
36 shaped oval and whitish. The spores had an average length of  $42.3 \pm 0.65 \mu$ ; spindle body  
37 measuring  $12.8 \pm 0.42 \mu$  in length and  $8.6 \pm 0.32 \mu$  in width, each of the two valves  
38 measuring had a tapered tail  $29.5 \pm 0.73 \mu$ . The spores had two polar capsules with  $7.4 \pm 0.16$   
39  $\mu$  in length by  $2.6 \pm 0.08 \mu$  in width, containing a polar filament with 5-7 turns. The spores are  
40 different from previously described species based on morphology and spore, it is concluded  
41 that the species belonging to the family Myxobolidae, genus *Henneguya*, and constitutes a  
42 new species: *Henneguya temensis* n. sp.

43 **KEYWORDS: Amazon fish, *Henneguya temensis*, parasite, ultrastructure, spore, gill**

### 44 **INTRODUÇÃO**

45 Apesar do amplo conhecimento sobre as espécies de Myxozoa, há poucas descrições de  
46 parasitismo por mixosporídios em peixes do Brasil, em especial na Amazônia, visto que essa  
47 região possui uma das maiores populações de peixes de água doce do mundo (Azevedo, et al,  
48 2009). No Brasil diversas espécies de *Henneguya* foram descritas através da microscopia de  
49 luz (Abdalla et al., 2007; Barassa et al., 2003; Eiras et al, 2009; Gioia et al, 1986; Martins et

50 al., 1999; Martins e Onaka, 2006), e atualmente diversas espécies estão sendo descritas  
51 utilizando a ultraestrutura (Azevedo et al., 2011; Azevedo, et al. 2009; Casal, et al, 2002;  
52 Feijó, et al, 2008; Naldoni, et al., 2009).

53 O gênero *Henneguya* Thélohan, 1892 (filo Myxozoa), é um dos gêneros da família  
54 Myxobolidae com maior diversidade de espécies descritas (Lom & Dykova, 1992). A maioria  
55 dessas espécies são parasitos, principalmente, de peixes de água doce e marinhos, tendo uma  
56 distribuição cosmopolita (Lom & Dykova, 1992, Lom & Dykova, 2006). Possuem um amplo  
57 local de infecção, apresentando tropismo pelo tecido branquial (Iwanowicz et al., 2008).

58 O parasitismo por esses organismos pode gerar impactos econômicos, principalmente  
59 para animais com alto valor comercial (Eiras et al., 2009; Naldoni et al., 2009), como é o caso  
60 da espécie *Cichla temensis*, que é um peixe amplamente comercializado, e utilizado para o  
61 consumo e em pesca esportiva (Kullander e Ferreira, 2006).

62 Este artigo descreve os aspectos morfológicos e as características ultraestruturais de uma  
63 nova espécie, *Henneguya temensis*, encontrado nas brânquias de *C. temensis*.

64

## 65 MATERIAL E MÉTODOS

66 Quarenta espécimes do peixe de água doce *C. temensis* (Teleostei, Cichlidae) (Nome  
67 comum = “Tucunaré”), foram coletados no Rio Tocantins (2°14'13.36"S 49°29'33,81"W),  
68 próximo à cidade de Cametá, Estado do Pará, no nordeste paraense, durante o ano de 2010.  
69 Os peixes foram transportados vivos ao Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo na UFRA e  
70 mantidos em aquário de 28 a 30 °C. Os animais foram anestesiados com Tricaina Metano  
71 sulfonato (MS222 SIGMA) na concentração de 50mg/L e necropsiados para pesquisa de  
72 parasitas através do estereomicroscópio. Pequenos fragmentos de tecidos branquiais  
73 infectados foram retirados e examinados em microscópio de contraste de interferência

74 diferencial (DIC/ Nomarski) e realizada a medida do corpo, cápsula polar e caudas dos  
75 esporos.

76 Para estudos ultraestruturais, pequenos fragmentos de tecido infectado  
77 foram fixados em glutaraldeído a 5% em 0,2 M tampão cacodilato de sódio (pH 7,2) durante  
78 20 - 24 h, lavados durante a noite no mesmo tampão e pós-fixado em OsO<sub>4</sub> 2% tamponado  
79 por 4 h a 4 ° C. Após desidratação em série etanólica crescente e óxido de propileno, os  
80 fragmentos foram incluídos em Epon. Cortes semifinos foram corados com azul de toluidina  
81 para verificação da presença de esporos de *Henneguya*. Os cortes ultrafinos foram  
82 contrastados com acetato de uranila e citrato de chumbo e observados em microscópio  
83 eletrônico de transmissão Zeiss EM 900, operado a 80 kV.

84

## 85 RESULTADOS

86 Os animais apresentaram parasitismo nos seguintes órgãos: brânquias e palato, em  
87 forma de cistos ovóides, esbranquiçados disseminados nos tecidos. Através das observações  
88 com DIC, os esporos foram identificados como pertencentes  
89 ao gênero *Henneguya* Thélohan de 1892, devido à sua morfologia elipsoidal com duas valvas  
90 de tamanhos iguais, cada uma tendo projeção afilada  
91 formando uma cauda (Figura 3). Do total de 40 exemplares analisados, 24 (60%)  
92 encontravam-se parasitados.

### 93 *Henneguya temensis* sp. nov.

94 Com base na morfologia (Figs. 3 e 9) e nos aspectos ultraestruturais (Figs. 4-8) dos esporos  
95 valvulados multicelulares e quanto a natureza das cápsulas polares contendo filamentos  
96 polares enrolados, juntamente com a especificidade do hospedeiro, o parasito foi descrito  
97 como *Henneguya temensis* n. sp, de acordo com as seguintes descrições:

- 98 Filo: Myxozoa Grassé, 1970  
99 Classe: Myxosporea Bütschli, 1881  
100 Ordem: Bivalvulida Shulman, 1959  
101 Família: Myxobolidae Thélohan, 1892  
102 Gênero: *Henneguya* Thélohan, 1892

103 *Henneguya temensis* n. sp.

104 **Descrição**

105 Os esporos apresentaram comprimento médio de  $42,3 \pm 0,65$   $\mu\text{m}$  (intervalo: 41,65-42,95  $\mu\text{m}$ ,  
106  $n=15$ ), com formato elipsoidal do corpo, com comprimento de  $12,8 \pm 0,42$   $\mu\text{m}$  (intervalo:  
107 12,38-13,22  $\mu\text{m}$  ,  $n = 15$ ), largura de  $8,6 \pm 0,32$   $\mu\text{m}$  (variação: 8,18-8,92  $\mu\text{m}$ ,  $n= 15$ ) e o  
108 comprimento da cauda de  $29,5 \pm 0,73$   $\mu\text{m}$  (intervalo: 28,77-30,23  $\mu\text{m}$ ,  $n = 12$ ) (Figs 4, 5 e 7).  
109 Duas cápsulas polares iguais com  $7,4 \pm 0,16$   $\mu\text{m}$  (intervalo: 6,67-7,56  $\mu\text{m}$   $n= 07$ ) de  
110 comprimento e  $2,6 \pm 0,08$   $\mu\text{m}$  (variação: 2,52-2,68  $\mu\text{m}$ ,  $n =07$ ) de largura (Figs 3, 5 e 7). O  
111 número de voltas do filamento polar variou 5-7 (Figs. 5 e 6). A parede dos esporos era fina e  
112 lisa composta por 2 válvulas de mesmo tamanho (Figs. 5 e 6), cada uma com uma projeção  
113 caudal formando a cauda (Figuras 3 e 4). O esporoplasma não foi bem evidenciado com seus  
114 núcleos, no entanto, os esporoplasmosomas (Figs. 5 e 8) foram observados localizados no  
115 pólo posterior esporal.

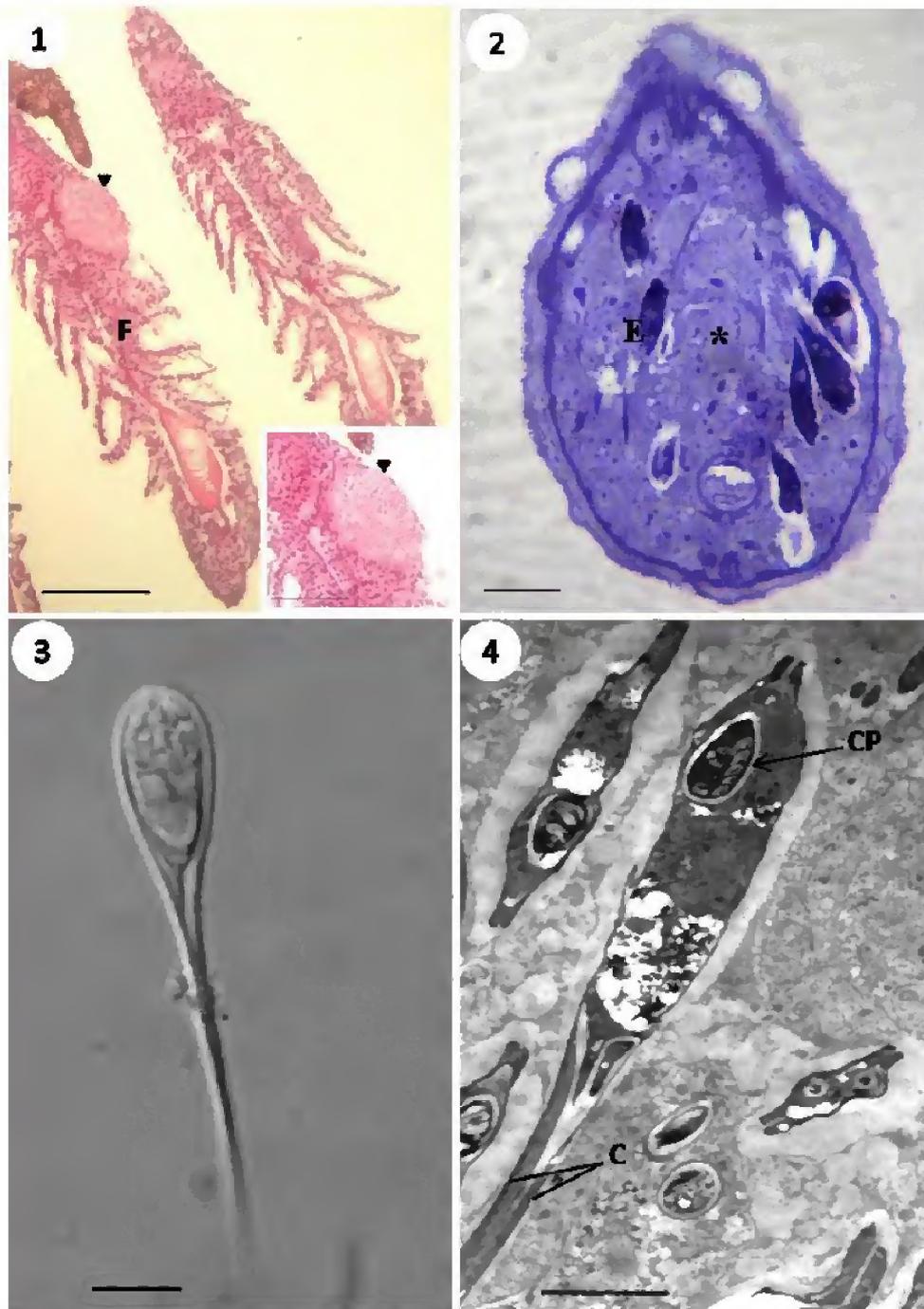
116 **Tipo de hospedeiro:** Os esporos foram observados no tecido branquial e em toda região oral  
117 dos peixes de água doce da espécie *Cichla temensis* (Teleostei, Cichlidae).

118 **Tipo de localidade:** rio Tocantins ( $02^{\circ}14'54''\text{S}$   $49^{\circ}49'12''\text{W}$ ), próximo à cidade de Cametá,  
119 Estado do Pará, Brasil.

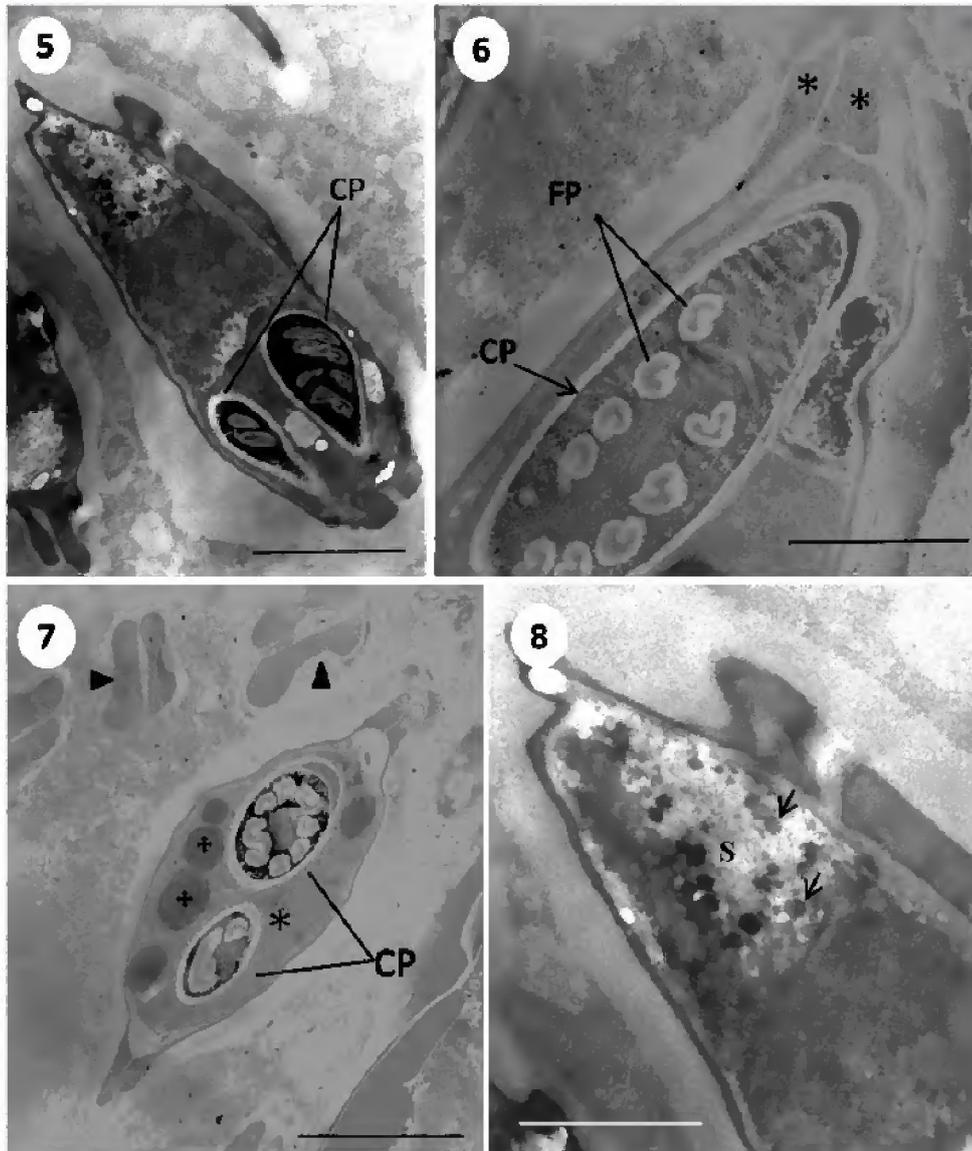
120 **Prevalência:** 24 dos 40 exemplares analisados (60%).

121 **Tipo de espécimes:** Lâminas contendo cortes de cistos e esporos corados (Sintipo) serão  
122 depositadas nas Coleções Biológicas do Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia – INPA,  
123 Manaus-Amazonas, Brasil.

124 **Etimologia:** O epíteto específico deriva do nome científico da espécie hospedeira de origem.



125  
 126 Figs. 1-4: Microscopia de luz e eletrônica de transmissão do mixosporídio *Henneguya temensis* n. sp.  
 127 parasitando filamento brânquial do peixe *Cichla temensis*. 1. Corte histológico de um cisto (cabeça de seta) no  
 128 filamento branquial (F).HE. Barra escala: 100  $\mu$ m . Detalhe do Cisto repletos de esporos. HE. Barra escala: 50  
 129  $\mu$ m. 2. Corte semifino mostrando um cisto (asterístico) contendo esporos (E). Barra escala: 20  $\mu$ m. 3. Esporo  
 130 observado em DIC. Barra escala: 5  $\mu$ m. 4. Corte ultrafino longitudinal do esporo maduro, mostrando a cápsula  
 131 polar (CP) e cauda (C). Escala: 3  $\mu$ m.



132 Figs. 5-8: Microscopia eletrônica de transmissão do mixosporídio *H. temensis* n. sp. 5. Corte ultrafino  
 133 longitudinal do esporo maduro, mostrando as duas cápsulas polares (CP). Escala: 2,9  $\mu\text{m}$  6. Corte longitudinal da  
 134 porção anterior do esporo mostrando a linha de sutura (asteriscos), cápsula polar (CP) e o filamento polar (FP).  
 135 Escala: 1,2  $\mu\text{m}$  7. Corte transversal do corpo esporal (\*), evidenciando duas cápsulas polares (CP) e algumas  
 136 inclusões eletrondensas esféricas (setas cruzadas). Notar corte transversal das caudas (cabeça de seta). Escala: 2  
 137  $\mu\text{m}$  8. Corte longitudinal da porção posterior do esporo, mostrando o esporoplasma (S) com os  
 138 esporoplasmosomas (setas). Escala: 1,5  $\mu\text{m}$

140

**Patogenicidade:** Nos tecidos circundantes, houve moderada hiperplasia das células epiteliais

141

branquiais e um leve infiltrado inflamatório mononuclear no

142

interstício da brânquia, sem sinais significativos de atrofia.

143

**DISCUSSÃO**

144

145

146

147

148

149

150

151

152

153

154

155

156

157

158

159

160

161

162

163

164

165

166

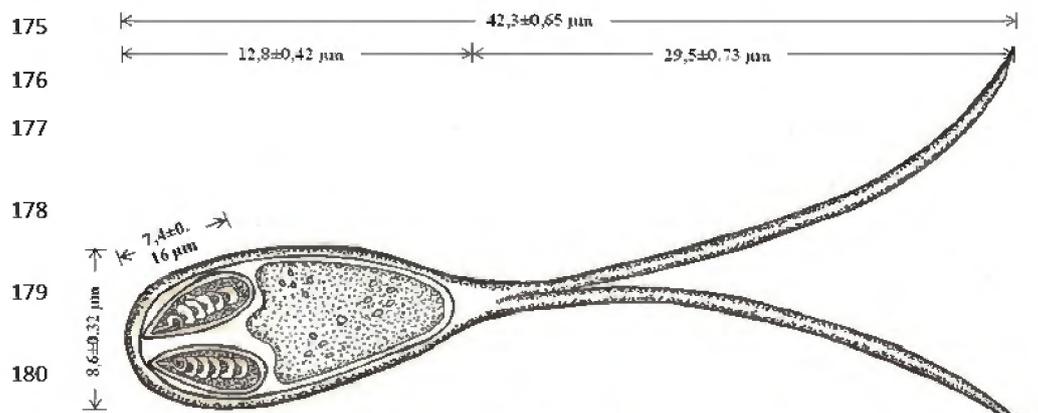
As características morfológicas do mixosporídio estão de acordo com as descritas por Lom e Dyková, 1992 para o gênero *Henneguya*. Os aspectos morfológicos e ultraestruturais dos esporos maduros, bem como a especificidade do hospedeiro e a localização da infecção, foram comparados com outras espécies do gênero *Henneguya* descritas, principalmente, em peixes brasileiros conforme mostrado na tabela 1.

Ao comparar *Henneguya temensis* n. sp. com outras espécies encontrados em peixes de água doce do Brasil (tabela 1), o comprimento total foi semelhante as das *H. amazonica* (Rocha et al, 1992), *H. araipama* (Feijó et al, 2008) , *H. rhamdia* (Matos et al, 2005) e especialmente para *H. astyanax* (Vita et al. 2003) e *H. azevedoi* (Barassa et al, 2011). No entanto, eles diferem pelas características do corpo de esporos, cauda e cápsulas polares, bem como no número de voltas do filamento polar. *Henneguya amazonica* descrito a partir de *Crenicichla lepidota*, difere da espécie descrita, principalmente pelo tamanho da cauda, que se apresenta maior e as cápsulas polares possuindo comprimento e largura menores. Quando se compara *H. Temensis* com a espécie *Henneguya araipama*, que tem como hospedeiro *Arapaima gigas*, nota-se uma grande diferença, pois *H. araipama* possui cápsulas polares de menor tamanho e desiguais, além de apresentar tamanho de cauda maior para *H. arapaima*. Em *Henneguya rhamdia*, parasito de *Rhamdia quelen*, o tamanho das cápsulas polares apresentaram-se menores aos valores obtidos em *H.temensis* n. sp., além de possuírem o número de voltas do filamento polar maior (10-11) ao apresentado pelo parasito sob estudo (5-7). *Henneguya astyanax* descrito a partir de *Astyanax keithi*, possui um corpo mais delgado, maior comprimento da cauda e cápsulas polares com comprimento e largura inferiores, e, o filamento polar apresentando de 8-9 voltas, medidas essas superiores ao *H. temensis* que possui 5-7 voltas. *H. azevedoi* parasito de *Leporinus obtusidens*, distingue-se de

167 *H. temensis* por possuir corpo menor; cauda mais longa e cápsulas polares menores e mais  
168 delgadas.

169 Apresenta-se abaixo uma representação esquemática de um esporo de *Henneguya*  
170 *temensis* n. sp. (Figura 9), destacando características específicas tais como, a forma do esporo  
171 e suas dimensões. Com base nas diferenças morfológicas e ultraestruturais descritas e a  
172 ausência de descrições de parasitos do gênero *Henneguya* em espécie do gênero *Cichla*,  
173 propõem-se a denominação de nova espécie, *Henneguya temensis* n. sp.

174



181 Fig. 9. *Henneguya temensis* n. sp. Representação esquemático de um esporo maduro mostrando suas medidas.

182 Barra de escala: 5  $\mu$ m.

183

#### 184 AGRADECIMENTOS

185

186 Nossos agradecimentos a CAPES, CNPq, ao Laboratório de Pesquisa Edilson Matos (LPEM-  
187 UFPA); ao Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto Evandro Chagas; ao Prof. Dr.  
188 Carlos Azevedo da Universidade do Porto – Portugal.

189

190

191

191 **REFERENCIAS**

- 192 ABDALLAH, V. D., AZEVEDO, R.K., LUQUE, J.L., BOMFIM, T.C.B. (2007) Two new  
193 species of *Henneguya* Thélohan, 1892 (Myxozoa, Myxobolidae), parasitic on the gills of  
194 *Hoplosternum littorale* (Callichthyidae) and *Cyphocharax gilbert* (Curimatidae) from the  
195 Guandu River, State of Rio de Janeiro, Brazil. **Parasitol Latinoam.** 62: 35 – 41.
- 196 AZEVEDO, C., CASAL, G., MATOS, P., ALVES, A., MATOS, E. (2011) *Henneguya*  
197 *torpedo* sp. nov. (Myxozoa), a parasite from the nervous system of the Amazonian teleost  
198 *Brachyhypopomus pinnicaudatus* (Hypopomidae). **Dis Aquat Org** 93: 235–242.
- 199 AZEVEDO, C., CASAL, G., MENDONÇA, I., MATOS, E. (2009) Fine structure of  
200 *Henneguya hemiodopsis* sp. n. (Myxozoa), a parasite of the gills of the Brazilian teleostean  
201 fish *Hemiodopsis microlepes* (Hemiodontidae). **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Vol. 104(7): 975-  
202 979.
- 203 BARASSA, B., ADRIANO, E.A., CORDEIRO, N.S., ARANA, S., CECCARELLI, P.S.  
204 (2011) Morphology and host–parasite interaction of *Henneguya azevedoi* n. sp., parasite of  
205 gills of *Leporinus obtusidens* from Mogi-Guaçu River, Brazil. **Parasitol Res.**
- 206 BARASSA, B., S CORDEIRO, N.S., ARANA, S. (2003) A new species of *Henneguya*, a gill  
207 parasite of *Astyanax altiparanae* (Pisces: Characidae) from Brazil, with comments on  
208 histopathology and seasonality. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** vol.98 no.6.
- 209 CASAL, G., MATOS, E. AZEVEDO, C. (2003) Light and electron microscopic study of the  
210 myxosporean, *Henneguya friderici* n. sp. from the Amazonian teleostean fish, *Leporinus*  
211 *friderici*. **Parasitology**, 126, 313–319.
- 212 EIRAS, J.C., TAKEMOTO, R.M., PAVANELLI, G.C. (2009) *Henneguya corruscans* n. sp.  
213 (Myxozoa, Myxosporia, Myxobolidae), a parasite of *Pseudoplatystoma corruscans*  
214 (Osteichthyes, Pimelodidae) from the Parana' River, Brazil: A morphological and  
215 morphometric study **Veterinary Parasitology** 159 154–158.
- 216 GIOIA I, CORDEIRO NS, ARTIGAS PT. (1986). *Henneguya intracornea* n. sp. (Myxozoa:  
217 Myxosporia) parasita do olho do lambari, *Astyanax scabripinnis* (Jenyns, 1842)  
218 (Osteichthyes, Characidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 82: 19.

- 219 IWANOWICZ, L.R; IWANOWICZ, D.D.; POTE, L.M.; BLAZER, V.S.; SCHILL, W.B.  
 220 (2008) Morphology And 18s Rdna of *Henneguya Gurlei* (Myxosporea) From *Ameiurus*  
 221 *Nebulosus* (Siluriformes) In North Carolina.. **J. Parasitol.**, 94(1), pp. 46–57.
- 222 LOM J, DYKOVÁ I (1992) Protozoan parasites of fishes. Elsevier, New York, 315pp.
- 223 LOM, J., DYKOVA', I., (2006). Myxozoa genera: definition and notes on taxonomy, life-  
 224 cycle terminology and pathogenic species. **Folia Parasitol.** 53: 1-36.
- 225 FEIJO', M.M. ARANA, S.; CECCARELLI, P.S.; ADRIANO, E.A. (2008) Light and  
 226 scanning electron microscopy of *Henneguya arapaima* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae) and  
 227 histology of infected sites in pirarucu (*Arapaima gigas*: Pisces: Arapaimidae) from the  
 228 Araguaia River, Brazil. **Veterinary Parasitology**, 157 59–64.
- 229 MARTINS, M.L., ONAKA E.M. (2006) *Henneguya garavelli* n. sp. and *Myxobolus*  
 230 *peculiaris* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae) in the gills of *Cyphocharax nagelli* (Osteichthyes:  
 231 Curimatidae) from Rio do Peixe Reservoir, São Jose' do Rio Pardo, São Paulo, Brazil.  
 232 **Veterinary Parasitology** 137, 253–261.
- 233 MARTINS, M. L., SOUZA, V. N. de, MORAES, J. R. E de, MORAES, F. R de. GILL.  
 234 (1999) Infection of *Leporinus macrocephalus* Garavello & Britski, 1988 (Osteichthyes:  
 235 Anostomidae) by *Henneguya leporinicola* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae). Description,  
 236 histopathology and treatment. **Rev. Brasil. Biol.**, 59(3): 527-534.
- 237 MATOS, E., TAJDARI, J., AZEVEDO, C. (2005) Ultrastructural Studies of *Henneguya*  
 238 *rhandia* n. sp. (Myxozoa) a Parasite from the Amazon Teleost Fish, *Rhandia quelen*  
 239 (*Pimelodidae*). **J. Eukaryot. Microbiol.**, 52(6), pp. 532–537.
- 240 NALDONI, J., ARANA, S., MAIA, A.A.M., CECCARELLI, P.S., TAVARES, L.E.R,  
 241 BORGES, F.A., POZO, C.F.; ADRIANO, E.A. (2009) *Henneguya pseudoplatystoma* n. sp.  
 242 causing reduction in epithelial area of gills in the farmed pintado, a South American catfish:  
 243 Histopathology and ultrastructure. **Veterinary Parasitology** 166: 52–59.
- 244 ROCHA, E., MATOS, E. & AZEVEDO, C. (1992). *Henneguya amazonica* n. sp. (Myxozoa,  
 245 Myxobolidae) parasiting the gills of *Crenicichla lepidota* Heckel, 1840 (Teleostei, Cichlidae)  
 246 from Amazon River. **Eur. J. Protistol.**, 28:273–278.

247 VITA, P, CORRAL, L, MATOS, E, AZEVEDO, C. (2003) Ultrastructural aspects of the  
248 myxosporean *Henneguya astyanax* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae), a parasite of the  
249 Amazonian teleost *Astyanax keithi* (Characidae). **Dis Aquat Org** 53: 55–60.

250

Tabela 1. *Henneguya* spp. Dados comparativos (mensurações médias em  $\mu\text{m}$ ) dos esporos descritos de diferentes espécies de peixes brasileiros de água doce. CT: comprimento total; CC: comprimento do corpo; LC: largura do corpo; C: comprimento da cauda; CCP: comprimento da cápsula polar; LCP: largura da cápsula polar; FP: número de voltas do filamento polar; F. Cisto: Forma do cisto; H: Hospedeiro; SI: Sítio de infecção.

Espécies	CT	CC	LC	C	CCP	LCP	FP	F. CISTO	H	SI
<i>H. amazonica</i> Rocha et al, 1992	59,3 $\pm$ 0,56	13,9 $\pm$ 0,16	5,7 $\pm$ 0,06	45,4 $\pm$ 0,61	3,3 $\pm$ 0,02	1,5 $\pm$ 0,04	6	Oval	<i>Crenicichla lepidota</i>	Brânquia
<i>H. arapaima</i> Feijó et al, 2008	51,6 $\pm$ 3,4	14,2 $\pm$ 0,8	5,7 $\pm$ 0,5	38,3 $\pm$ 2,9	6,5 $\pm$ 0,2 6,3 $\pm$ 0,1	1,5 $\pm$ 0,1	-	-	<i>Arapaima gigas</i>	V. biliar e Arco branquial
<i>H. asyrmac</i> Vita et al, 2003	47,8 $\pm$ 0,71	15,2	5,7 $\pm$ 0,71	32,6	5,0 $\pm$ 0,13	1,5 $\pm$ 0,07	(3 - 9)	Elipsóide	<i>Asyrmac heithi</i>	Brânquia
<i>H. arevedoi</i> Barasse et al, 2011	45,2 $\pm$ 0,6	10,0 $\pm$ 0,07	-	35,6 $\pm$ 0,9	3,8 $\pm$ 0,3	1,0	(6-7)	Oval	<i>Leporinus obtusidens</i>	Brânquia
<i>H. rhomboida</i> Matos et al, 2005	50 $\pm$ 1,8	13,1 $\pm$ 1,1	5,2 $\pm$ 0,5	36,9 $\pm$ 1,6	4,7 $\pm$ 0,4	1,1 $\pm$ 0,2	(10-11)	Esféricas e Elipsóide	<i>Rhomboida guatem</i>	Brânquia
<i>Henneguya temensis</i> n. sp.	42,3 $\pm$ 0,65 (n=15)	12,8 $\pm$ 0,42 (n=15)	8,6 $\pm$ 0,32 (n=15)	29,5 $\pm$ 0,73 (n=12)	7,4 $\pm$ 0,16 (n=7)	2,6 $\pm$ 0,08 (n=7)	(5 - 7) (n=5)	Oval	<i>Cichla temensis</i>	Brânquia

## **CAPÍTULO IV – CONSIDERAÇÕES FINAIS**

### **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os peixes do gênero *Cichla* denominados vulgarmente de tucunarés são considerados economicamente importantes, pois são comercializados para a alimentação da população humana e apresentam potencial para a piscicultura intensiva e extensiva, assim como, na utilização da pesca esportiva. Nos últimos anos houve um aumento considerável dos estudos relacionados com parasitos e outros patógenos de animais aquáticos, especialmente os peixes, e principalmente daqueles com potencial para o cultivo e a comercialização.

Devido à grande extensão da costa brasileira, o controle da captura, comercialização, qualidade e sanidade dos organismos aquáticos mostram falhas no atendimento à legislação pertinente. Devido a isso, com os dados obtidos neste trabalho reforça a idéia de que qualquer atividade que envolva a extração de recursos naturais deve ser gerenciada por meio de medidas de ordenamento e manejo que atenda a legislação.

Com isso haverá maior controle da propagação e transferência de doenças de animais aquáticos, garantindo o uso sustentável de seus recursos naturais e o equilíbrio dos ecossistemas.

## Anexo 1. Ficha de coleta 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 2: Ficha de Necropsia



## COLHEITA DE MATERIAL

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

## Anexo 3: Ficha de processamento para Microscopia de Luz



## PREPARAÇÃO DE MATERIAL PARA MICROSCOPIA DE LUZ

MATERIAL..... Nº...../..... DATA...../...../.....

( ) NORMAL

( ) ESPECIAL

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

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

		INÍCIO	FIM	OBS
FIXAÇÃO : TEMPERATURA AMBIENTE				
FORMOL AQ 10% / DAVIDSON / AFA / OUTRO	HS	.....	.....	.....
LAVAGEM EM ÁGUA CORRENTE	HS	.....	.....	.....
DUPLA FIXAÇÃO	HS	.....	.....	.....
DESIDRATAÇÃO				
ESPECIAL				
ALC 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.

## Anexo 4: Ficha de processamento

**PREPARAÇÃO DE MATERIAL PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA**

MATERIAL..... Nº...../..... DATA...../...../.....

( ) NORMAL

( ) MICROPASITAS

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

			INÍCIO	FIM	OBS
<b>FIXAÇÃO</b>					
GLUTARALDEÍDO (T) 2/2,5/3,0/5,0 4°C...1/2/3 HS	.....	.....	.....	.....	.....
LAVAGEM (T).....4°C...1/2 HS (*)	.....	.....	.....	.....	.....
ÓSMIO (T) 1 / 1.5 / 2 / 2,5 %.....4°C...1/2 HS	.....	.....	.....	.....	.....
<b>DESIDRATAÇÃO</b>		<b>MICROPASITAS</b>			
ALC 50.....30'	30'	.....1H	.....1H	.....	.....
ALC 75.....30' (*)	30'	.....1H	.....1H	.....	.....
ALC 90.....30'	60'	.....1H	.....1H	.....	.....
ALC 95.....30'	60'	.....1H	.....1H	.....	.....
ALC ABS I.....30'	60'	.....1H	.....2H	.....	.....
ALC ABS II.....30'	60'	.....1H	.....2H	.....	.....
ALC ABS III.....30'	30'	.....1H	.....1H	.....	.....
OX PROP I.....15'	15'	.....2H	.....2H	.....	.....
OX PROP II.....15'	15'	.....2H	.....2H	.....	.....
OX PROP III.....15'	15'	.....1H	.....1H	.....	.....
<b>IMPREGNAÇÃO</b>					
OX PROP + EPON (A+B) (3:1)..... 30'.....30'.....24H	.....	.....	.....	.....	.....
OX PROP + EPON (A+B) (2:1)..... 30'.....60'.....24H	.....	.....	.....	.....	.....
OX PROP + EPON (A+B) (1:1)..... 30'(*).....60'.....24H	.....	.....	.....	.....	.....
OX PROP + EPON (A+B) (1:2)..... 30'.....60'.....24H	.....	.....	.....	.....	.....
OX PROP + EPON (A+B) (1:3)..... 30'.....60'.....24H	.....	.....	.....	.....	.....
EPON TOTAL AMBIENTE 30/60.....120'.....12/24 H	.....	.....	.....	.....	.....
EPON TOTAL ESTUFA 60°C 30'.....30'.....30/60'	.....	.....	.....	.....	.....
<b>INCLUSÃO:</b>					
ENCAPSULAR E MANTER EM ESTUFA A 60° C...3 DIAS	.....	.....	.....	.....	.....

OBS: (\*) PODE DEIXAR A NOITE A 4°C