



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
BIOLOGIA DE AGENTES INFECCIOSOS E PARASITÁRIOS

**ESTUDO MORFOLÓGICO DE MICROPARASITAS EM *Aequidens  
plagiozonatus* KULLANDER 1984 (OSTEITHETHYES:CICHLIDAE).**

MARCELA NUNES VIDEIRA

**MARCELA NUNES VIDEIRA**

**ESTUDO MORFOLÓGICO DE MICROPARASITAS EM *Aequidens plagiozonatus* KULLANDER 1984 (OSTEITHETHYES:CICHLIDAE).**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários.

Orientador: Prof. Dr. Edilson Rodrigues Matos

Belém-Pará  
2010

MARCELA NUNES VIDEIRA

**ESTUDO MORFOLÓGICO DE MICROPARASITAS EM *Aequidens plagiozonatus* KULLANDER 1984 (OSTEITHTHYES:CICHLIDAE).**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários.

Orientador: Prof. Dr. Edilson Rodrigues Matos  
Instituto da Saúde e Produção Animal, UFRA

Banca Examinadora: Prof. Dr. Adriano Penha Furtado  
Laboratório de Biologia Celular e Helminologia “Reinalda Lanfredi”  
Instituto de Ciências Biológicas(UFPA)

Dra. Edilene da Silva Oliveira  
Laboratório de Biologia Estrutural  
Instituto de Ciências Biológicas(UFPA)

Dra. Iêda Maria Louzada Guedes  
Laboratório de Histologia de Animais Aquáticos  
Instituto de Ciências Biológicas(UFPA)

Dra. Jeannie Nascimento dos Santos (UFPA) como suplente.  
Laboratório de Biologia Celular e Helminologia “Reinalda Lanfredi”  
Instituto de Ciências Biológicas(UFPA)

Belém, 22 de dezembro de 2010

"Ser feliz não é ter uma vida perfeita.  
Mas usar as lágrimas para irrigar a tolerância.  
Usar as perdas para refinar a paciência.  
Usar as falhas para esculpir a serenidade.  
Usar a dor para lapidar o prazer.  
Usar os obstáculos para abrir as janelas da inteligência."

(Augusto Cury)

A meu Grande Mestre,  
Edilson Matos  
Dedico.

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela presença constante e por proporcionar um ambiente favorável para a criação e manutenção da vida na Terra.

A minha Mãe Marcia Nunes por ter me mantido em seu ventre e me dado a luz da vida, pelo amor, carinho e incentivo dedicado a mim durante toda minha vida.

A minha avó Jandyra, pelo imenso amor, carinho, compreensão e impecável educação com que me conduziu durante minha vida.

Ao meu Pai e meu avô, que sempre me amaram e sonharam com este momento desde os meus primeiros passos. Sei que mesmo não presentes em matéria, seus espíritos me iluminam a cada dia e torcem por mim.

A toda minha família pelo incentivo, torcida, amor e companheirismo, principalmente meus tios Merita e Mario e minhas primas: Luciana, Sarita, Melissa e Patricia.

Ao Prof. Dr. Edilson Matos pela amizade, respeito, confiança e seu apoio paternal, me apresentando as primeiras noções de pesquisa e por todos esses 6 anos de dedicação..

Patricia Matos, pelas discussões, experiências e conhecimento repassado.

A Equipe do Laboratorio de Biologia Estrutural: Prof. Dr. Edilene Oliveira e técnicos Fernanda Lobo e Heyder Almeida, pela disposição em auxiliar com a microscopia eletrônica de transmissão e pela gentileza com que me receberam no laboratório.

A família LPCA, por todas as vezes que me auxiliaram tanto na vida profissional e pessoal. Seu Pedrinho, por sua experiência e auxílio as coletas de campo. A Diego Tuloza, pela imensa amizade, companheirismo, incentivo.

A Patricia Sacco, pelo companheirismo, amizade e auxílio laboratorial, melhorando o convívio diário no LPCA.

À Michele Velasco por sempre ser companheira estando presente em todos os momentos.

A Augusto Peralta pelo conhecimento e experiências repassadas. A D. Euriana, pela compreensão, conversas, amizade e por estar sempre disposta a ajudar. vi

Aos amigos Fabio Edir, Rafael Holanda, Kelly Paixão, Jose Neto, Heleniana Miranda, Raul Henrique e a mais nova amizade da Herikona, que tornaram melhor cada um dos anos que passei no LPCA, pois juntos ouvimos raios, risos, gargalhadas, notícias boas e ruins, sempre procurando ajudar-nos.

A D. Maroca que proporcionou a realização das coletas em sua fazenda, além de ceder, tão gentilmente sua casa para a equipe LPCA e a gentileza de Seu Tipi, por nos guiar

pelas longas trilhas que levam aos braços do Rio Peixe- Boi durante as coletas deste trabalho. A todas as pessoas do interior do estado que colaboram com o nosso trabalho durante as viagens de coletas.

A Universidade Federal do Para (UFPA), que me proporcionou integrar ao curso PPG em Biologia de agentes Infecciosos e Parasitários.

Ao CNPq e a Capes que sempre auxiliaram financeiramente, contribuindo para o desenvolvimento das pesquisas.

Á Allan Jamerson, pelo auxílio na confecção dos mapas geográficos.

Ao Prof. Rogério Tortelly, pela atenção e auxílio com análises histopatológicas. A todos os meus professores, meus grandes mestres ao longo da vida.

Aos meus amigos, irmãos e companheiros da UFPA Flavia, Laffite, Otto e Juninho que me incentivaram para que eu persistisse em minha caminhada, tornando meus dias mais leves e divertidos.

Aos meus amigos veterinários que fizeram com que cada dia, mês e ano fosse inesquecível e tornaram cada momento mais especial na minha vida: Kelly Gonçalves, Samuel Vidal, Michel Miyasaki, Moises Jr., Carla Carvalho, Renata Bastos, Larissa Seixas, Annie Samira, Fabio Baia, Monique Luz, Eliane Lima e Cely Raquel, pelo companheirismo durante o curso, por existirem em minha vida, enchendo-a de felicidade, amor e carinho.

A todos aquele que torceram pelo meus sucesso e hoje estão felizes com minhas conquistas. Minha eterna gratidão.

## SUMARIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
1.1 A ATIVIDADE PESQUEIRA.....	1
1.2 PEIXES: ASPECTOS GERAIS .....	4
<b>1.2.1 Ordem Peciformes.....</b>	<b>6</b>
<b>1.2.2 Família Cichlidae.....</b>	<b>7</b>
1.3- DIVERSIDADE PARASITOLÓGICA ENCONTRADA EM PEIXES.....	8
<b>1.3.1 Classificação taxonômica do antigo grupo dos Protozoa.....</b>	<b>10</b>
<b>1.3.2 Phylum Microsporidia.....</b>	<b>12</b>
<b>1.3.3 Phylum Myxozoa.....</b>	<b>18</b>
<b>1.3.4 Phylum Apicomplexa.....</b>	<b>23</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>26</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	26
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
<b>3 METODOLOGIA.....</b>	<b>27</b>
3.1 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA.....	27
<b>3.1.1 Área de estudo .....</b>	<b>27</b>
<b>3.1.2 Peixes: coleta e transporte.....</b>	<b>29</b>
3.2 DISSECAÇÃO DOS ESPÉCIMES.....	30
3.3 PROCESSAMENTO DO MATERIAL BIOLÓGICO.....	32
<b>3.3.1 Microscopia de luz.....</b>	<b>32</b>
3.4 ANÁLISE DE DADOS.....	34
<b>4 RESULTADOS.....</b>	<b>35</b>
<b>5 DISCUSSÃO.....</b>	<b>43</b>
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>47</b>

<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>48</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>60</b>

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Desenho esquemático tridimensional do esporo do *Microsporidium brevirostris* (esquerda) e morfologia ultraestrutural em secção longitudinal (direita). AD – disco de ancoragem, N - núcleo, P - polaroplasto, PT - tubo polar, V - vacúolo, W- parede do esporo..... 13
- Figura 2: Representação esquemática do ciclo de vida dos microsporídios: 1- secção longitudinal de um esporo; 2- extrusão do tubo polar; 3- contato da extremidade do tubo polar com a célula hospedeira e transmissão do núcleo do esporo; 4- sucessivas fases do desenvolvimento do ciclo de vida e formação do vacúolo parasitóforo. (a- merontes; b,c- esporontes; d- esporoblastos; e- esporos)..... 16
- Figura 3: Secção ultraestrutural do esporo (S) com o filamento polar extruído (F), Observado em Microscopia eletrônica transmissão..... 16
- Figura 4: Esquema do ciclo de vida dos mixosporídios. Mostrando a fase em que a célula pericítica (pericito - a) começa a englobar a célula germinativa (b) (1). A célula germinativa fica completamente envolvida pelo pericito (2). A célula germinativa dividi-se sucessivamente em duas células (3) e em 4 células (4). No final da divisão, o esporo (monoespórico - 5) é constituído por 5 células diferenciadas em 2 valvogênicas (d), 2 células capsulogênicas (e) e uma célula binucleada – o esporoplasma (c). Esporo (6)..... 20
- Figura 5: Figura esquemática do esporo de *Kudoa aequidens*, em vista lateral (A) e frontal (B)..... 21
- Figura 6: a- Esquema tridimensional da secção transversal do *Triangulamyxa amazonica* demonstrando a morfologia interna e externa do esporo. b- Esporo de *Triangulamyxa amazonica*, observado em SEM..... 22
- Figura 7: a- Esquema de um oocisto contendo quatro esporocistos (SC), rodeados por um véu membranoso (VE) e desenho demonstrando tridimensionalmente a organização ultra-estrutural do esporocisto de *Calyptospora spinosa* n. sp, com dois esporozoítos (SZ). b- Esporocisto mostrando o corpo elipsoidal e suas projeções, observado em MEV. 9000X. Detalhe: Esporocisto observado em DIC..... 24

Figura 8: Oocistos de <i>Calyptospora spinosa</i> observados em DIC.....	24
Figura 9: Esquema das fases do ciclo de vida do <i>Calyptospora spinosa</i> : 1- Zigoto (vacúolo parasitóforo*; HC: célula hospedeira); 2- Formação do esporoblasto; 3- esporoblastos jovens; 4- Esporoblasto maduro rodeado pelo véu, esporocisto.....	25
Figura 10: Localização geográfica do Município de Peixe-Boi, na Mesorregião Nordeste do Pará.....	28
Figura 11: Localização geográfica dos pontos de coleta (A e B).....	28
Figura 12: Equipe do LPCA coletando os exemplares de peixes na Fazenda São João, Peixe-Boi/PA. Braço do Rio Peixe-boi.....	29
Figura 13: Exemplar de <i>A. plagiozonatus</i> em aquário no LPCA.....	30
Figura 14: Necropsia de exemplar de <i>A. plagiozonatus</i> com a visualização de seus órgãos. Hepatopâncreas (Fi), estômago (est), Ovário (ov) e baço (ba).....	31
Figura 15: Gráfico demonstrando a prevalência parasitária nos meses de coleta...	36
Figura 16: Cisto de microsporídio na nadadeira de <i>A. plagiozonatus</i> .....	37
Figura 17: Cisto de microsporídio no opérculo de <i>A. plagiozonatus</i> .....	37
Figura 18: Cisto (Ci) de microsporídio comprimido entre lâmina e lamínula.....	38
Figura 19: Esporos de microsporídios observados em ML.....	38
Figura 20: Distribuição dos microsporídios nos diferentes órgãos de <i>A.</i> <i>plagiozonatus</i> .....	39
Figura 21: Esporos de mixosporídio encontrado na bexiga urinária de <i>A.</i> <i>plagiozonatu</i> .....	40
Figura 22: Parênquima hepático demonstrando coloração pálida, observado macroscopicamente durante a necropsia.....	41
Figura 23: Esporocistos de <i>Calyptospora</i> sp. A- Predominância de esporocistos maduros (seta) observados em ML, a fresco, notar a presença de um esporocisto na forma imatura (circulo). B- Esporocistos imaturos entre os hepatócitos (seta) (coloração Tricrômico de Gomori). C- Oocisto (seta) localizado na porção pancreática do hepatopâncreas, notar a presença dos corpos melanomacrofágicos (CMM). (coloração HE). D- Oocisto contendo esporocistos maduros (seta) e imaturos (*), notar a presença da capsula hialina (CI) e corpos melanomacrofágicos.....	42

## RESUMO

O mercado de peixes ornamentais vem crescendo gradativamente nos últimos anos e com a crescente pressão exercida nos bancos naturais de recursos pesqueiros, buscase alternativas para a continuidade da produção de pescado, seja através da aquicultura ou da busca por novos recursos pouco ou até mesmo inexplorado, como o caso do cara-pix8una, *Aequidens plagiozonatus*. A partir desse conhecimento é importante a realização de estudos que caracterizem o perfil parasitológico dessas espécies de peixes a fim de verificar e controlar a disseminação de parasitas que geram desequilíbrio nos ecossistemas aquáticos. Por isso, o objetivo deste estudo foi Descrever morfologicamente os microparasitas (microsporídios, mixosporídios e coccídios) encontrados em *A. plagiozonatus* provenientes do rio Peixe-Boi /PA, através do levantamento de ações parasitárias causadas por microparasitas (microsporídios, myxosporídios e coccídios) com ênfase na morfologia destes. Para isso, foram realizadas 5 coletas, totalizando 100 espécimes, sendo estes necropsiados e tendo seus órgãos analisados. Dos órgãos parasitados foram retirados fragmentos, fixados e processados para microscopia de luz. Foram calculados o Índice hepatossomático dos exemplares e a prevalência parasitaria para cada grupo de parasitas analisados, enfatizando os microparasitas. A partir das observações feitas foram encontrados os 3 filos parasitas: Myxozoa, Microsporidia e Apicomplexa. A prevalência dos microsporídios nos exemplares estudados foi de 100%, dos mixosporídios 18% e dos Apicomplexa de 45%. Nossos dados representam uma importante contribuição para o estudo ictiossanitário em *A. plagiozonatus* na região, uma vez que qualquer atividade que envolva a extração de recursos naturais deve ser gerenciada por meio de medidas de ordenamento e manejo, para permitir o equilíbrio dos ecossistemas, promovendo o uso sustentável de seus recursos e garantindo a preservação do sistema, a fim de que se possa evitar a propagação e transferência de doenças por meio de animais aquáticos.

Palavras-chave: Peixes, Ictioparasitologia, *Aequidens plagiozonatus*, Microparasitas.

## ABSTRACT

The ornamental fish market has been growing gradually in recent years and the increasing pressure on the banks of natural fishery resources, seeks to find alternatives to the continued production of fish through aquaculture or is the search for new features or even slightly, such as fish *Aequidens plagiozonatus*, common name cará pixuna. Based on this knowledge is important to perform studies characterizing the parasitological profile of these species of fish in order to verify and control the spread of parasites that cause imbalance in aquatic ecosystems. The objective this study was to provide a better understanding the bioecology, through a survey of actions caused by parasitic microparasites (microsporídios, myxosporídios e coccidios) emphasizing the morphology of these organisms. For this, five collections were made, totaling 100 specimens, which were autopsied and having their organs. Parasitized organs were removed fragments, fixed and processed for light microscopy. Hepatosomatic index were calculated and the prevalence of the parasite specimens for each group of parasites analyzed, giving the enfaze microparasites. From the observations made were 3 phyla were found: Myxozoa, Microsporidia and Apicomplexa. We observed the first occurrence of mixosporidiose urinary bladder of this species. We also observed the occurrence of multiparasitism and the multifocal localization of some parasites. The prevalence of microsporidia in the studied was 100%, 18% myxosporeans, Apicomplexa 45%. These data represent an important contribution to the study sanitary fish *A. plagiozonatus* in the region, since any activity that involves the extraction of natural resources should be managed through planning and management measures to allow the equilibrium of ecosystems, promoting sustainable use of its resources and guaranteeing the preservation of the system, so that it can prevent the spread and transfer of disease by means of aquatic animals. Keywords: Fish, Ictioparasitology, *Aequidens plagiozonatus*, microparasites.

Keywords: Fish, Ictioparasitology, *Aequidens plagiozonatus*, microparasites.



## **INTRODUÇÃO**

### **1.1 A ATIVIDADE PESQUEIRA**

A atividade pesqueira, nas últimas décadas, vem despertando um crescente e renovado interesse no Brasil, nos diferentes agentes sociais, públicos e privados, sendo objeto de estudos e discussões que buscam aprofundar a compreensão da sua dinâmica e aperfeiçoar a prática em todas as regiões do país (Oliveira, 2005).

Na Amazônia, esta atividade pode ser dividida em seis categorias: pesca de subsistência, comercial alimentar ribeirinha, comercial alimentar profissional, ornamental, esportiva e industrial (Santos & Santos, 2005).

A produção pesqueira no país está em intensa expansão, com um aumento no ano de 2009 de 25,2%, se comparado ao ano de 2003, totalizando neste ano 1.240.813 t (MPA, 2010). Na região amazônica, a atividade pesqueira está em intenso desenvolvimento, segundo dados do MPA (2010). O Norte é o terceiro maior produtor de pescado do país no ano de 2009, contendo 21% da produção nacional, tendo o Pará como o segundo Estado com maior produção nacional de pescado com produção de 133.228t.

Nessa região, a pesca se encontra em uma situação vantajosa, em relação a outras regiões brasileiras, em razão dos suportes naturais que as sustentam e alimentam a idéia de que é uma região propícia para a pesca. Possui um litoral que se estende desde a costa do Amapá, passando pelo Pará, até a divisa com o Maranhão, totalizando cerca de 1.160 km. Existem grandes e pequenos estuários e uma profusão de águas interiores das diversas bacias existentes, onde a relação oceano-continente tem a sua marca na vida social e na biodiversidade (Furtado, 2007).

A extensão territorial, as características geológicas e geomorfológicas da bacia Amazônica e as suas condições climáticas, determinam algumas características de

extrema relevância para a diversidade de espécies de peixes, para o tamanho dos estoques pesqueiros e para a potencialidade da pesca. Estas se referem tanto ao regime das águas do Amazonas e seus tributários, com períodos de secas e cheias, como aos tipos de água de seus diferentes rios (Isaac, 2010).

Furtado (2004) ressalta que as características dos rios da Amazônia e a composição química de suas águas fazem dela um local propício, tanto à existência da diversidade biológica disponível ao homem, quanto às variações ecológicas da prática ou exploração pesqueira nessa região.

Além disso, Isaac (2010) destaca que a matéria orgânica oriunda da decomposição das florestas de mangue e das planícies inundadas do rio Amazonas, bem como a ação dos rios carregando sedimentos para a plataforma continental são responsáveis pela formação de boas condições de produtividade.

Observa-se que, das cerca de 1.400 espécies de peixes conhecidas na bacia amazônica, pelo menos 400 são aproveitadas como peixes ornamentais (Chao, 1998) e mais de outras 100 são utilizadas comercialmente para a alimentação. Há também outras espécies que são empregadas na pesca familiar (Batista *et al.*, 2004), ou seja, pelo menos 30% da ictiofauna é utilizada diretamente. Além disso, considerando o grande número de espécies piscívoras existentes, pode-se dizer que mesmo as espécies não utilizadas diretamente devem ser importantes para a formação da atual produção pesqueira comercial e familiar.

A exploração dos ambientes aquáticos é uma atividade bastante expressiva na região amazônica, pois é uma das principais fontes de proteína e subsistência para população ribeirinha (Santos & Santos, 2005; Batista *et al.*, 2004). Além deste tipo de atividade, outra categoria de pesca vem se desenvolvendo na Amazônia nas últimas

décadas, correspondendo à exploração de algumas espécies de peixes para fins ornamentais.

O comércio de peixes ornamentais no Brasil teve início com as espécies de água doce da região amazônica através da descoberta do cardinal, *Paracheiromaxilla axelrodi* Schultz, 1956, por Herbet Axelrod (Chao, 2001); uma das características intrínsecas desta região é a alta diversidade de espécies com grande variedade de cores e formas exóticas. Esta diversidade se dá por uma série de características peculiares ao bioma amazônico como, por exemplo, a prevalência de vários tipos de ecossistemas (marítimo, estuarino e água doce), o que pode ser notado no estado do Pará, entre outros estados amazônicos.

Nas décadas de 1950 e 1960, despertou-se para o grande potencial dos peixes ornamentais amazônicos para suprir o mercado de aquarofilia, entretanto, o grande salto de desenvolvimento do comércio de peixes ornamentais se deu na década seguinte (Vidal Jr., 2003).

De acordo com a Secretaria de Estado de Pesca e Aquicultura – Sepaq (2010) em levantamento sobre estatística pesqueira foram identificadas áreas de pesca ornamental em todas as seis mesorregiões do Estado do Pará, abrangendo 70 municípios dentre 19 microrregiões. Também foi constatado que as pescarias ocorrem em todas as principais bacias de drenagem que configuram as sub-regiões hidrográficas do Pará, entre as quais: Araguaia, Tocantins, Xingu, Tapajós, Amazonas, Guamá e Gurupi.

A pesca ornamental na Amazônia é efetuada por ribeirinhos, localmente chamados de piabeiros, os quais vendem o produto da captura a intermediários locais ou diretamente aos compradores vinculados aos exportadores.

No contexto mundial de exportação de peixes ornamentais, o Brasil passou da 15ª posição, no período de 1995 a 1997 (FAO, 1999), para a 10ª posição no ano de 2000, sendo maior a participação de peixes de águas continentais, principalmente da Bacia Amazônica (Davenport, 1996; Monteiro-Neto *et al.*, 2000).

A atividade pesqueira para fins ornamentais apresenta um crescimento contínuo incluindo mais de mil espécies de peixes e 45 países, onde o Brasil tem uma participação ativa nas exportações de peixes ornamentais (Sampaio & Rosa, 2003), tendo triplicado seu crescimento a partir do ano 2000 (IBAMA, 2003).

O mercado de peixes ornamentais é uma atividade multimilionária, de grande importância econômica para os países em desenvolvimento (Andrews, 1990; Davenport, 1996; Chapman *et al.*, 1997). Desde 1985, o que mais tem influenciado as comunidades pesqueiras desses países são as atividades que envolvem a indústria de peixes ornamentais (FAO, 1999).

Em decorrência do estado atual de exploração dos recursos pesqueiros na Amazônia, considera-se fundamental o delineamento de ações que busquem elucidar o estado ictiossanitário desta região.

## 1.2 PEIXES: ASPECTOS GERAIS

A diversidade biológica de animais, plantas e microorganismos são de importância fundamental para a sobrevivência humana. Estima-se que atualmente existam no mundo 41.700 espécies de vertebrados, e destas, aproximadamente 25.000 são peixes (Pough *et al.*, 1999).

Os peixes pertencem ao Filo Chordata, Subfilo 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 (lampréias), esqueleto cartilaginoso, sem nadadeiras pares (ventrais e peitorais) e uma só fossa nasal; Classe Chondrichthyes, onde estão incluídos tubarões, raias e quimeras, que possuem maxilares, 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, número de nadadeiras variáveis e brânquias irrigadas através de opérculos móveis.

De acordo com Vazzoler (1996), os peixes representam aproximadamente 50% dos vertebrados, englobando cerca de 24.600 espécies que ocupam os mais diversos ambientes aquáticos. Estima-se que 96% destes são peixes teleósteos, o que revela uma enorme diversidade de adaptações, comportamento e preferência por habitat.

A distribuição dos peixes teleósteos em ambientes aquáticos continentais e marinhos é desproporcional, uma vez que a água doce recobre apenas 1% da superfície terrestre. Sendo assim, 41% das espécies são de água doce, aquelas que migram de um ambiente para outro (anádromas e catádromas) representam 1% do total de espécies. Dos 58% restantes, que vivem nos mares, 45% são espécies de zonas litorâneas e costeiras, 1% da zona epipelágica e 12% de águas profundas (abaixo de 200m) (Wootton, 1990).

A Classe Osteichthyes inclui o taxa Sarcopterigii (celacanto e peixes pulmonados) e o taxa Actinopterigii (peixes modernos). Os Actinopterigii subdividem-se em 6 ordens: Characiformes, Siluriformes, Gymnotiformes, Cyprinodontiformes, Synbranchiformes e Perciformes (Orr, 1986).

### 1.2.1 Ordem Perciformes

Perciformes é a maior e mais diversificada ordem dos vertebrados, compreendendo 20 subordens, 160 famílias, com cerca de 1.540 gêneros e aproximadamente 10.033 espécies. Pelo menos 52 famílias possuem um único gênero dos quais 23 são monotípicos e outros 21 possuem 100 ou mais espécies. Das 20 subordens, três (Percoidei, Labroidei e Gobioidi) compreendem 75% desta ordem. Das 160 famílias, somente oito são representativas (Gobiidae, Cichlidae, Serranidae, Labridae, Blenniidae, Pomacentridae, Apogonidae e Sicanidae) e juntas, com 5.479 espécies constituem aproximadamente 55% de todos os Perciformes (Nelson, 2006).

Estão presentes em quase todos os ambientes aquáticos com ocorrência mais freqüente (aproximadamente 80% das 9.283 espécies) nos mares e oceanos. Como é um grupo basal dentro de Teleostei, acredita-se que diversos outros grupos tenham se derivado de Perciformes (Brum & Galetti Jr., 1997; Nelson, 2006).

Os animais que pertencem a esta ordem podem ter o corpo alongado ou discoidal, escamas grandes e sua linha lateral pode ser interrompida ou completa, dependendo da espécie. Apresenta nadadeira dorsal sempre única, com espinhos na parte anterior e raios moles na parte posterior, com um entalhe pronunciado separando essas duas porções (Orr, 1986).

Muitos dos peixes de grande importância econômica estão presentes na ordem Perciformes. Estes apresentam padrões de cores fascinantes tornando as espécies de pequeno porte muito atraente para os aquaríofistas (incluí-se o *A. plagiozonatus*) e as de grande porte como fonte de alimentação e pesca esportiva (Axelrod, 1996).

### 1.2.2 Família Cichlidae

Dentro da ordem Perciformes a sub-ordem Labroidei é composta por seis famílias com 219 gêneros e aproximadamente 2.234 espécies formando um clado monofilético. Do total de espécies de Labroidei, 1.275 pertencem à família Cichlidae formando um dos maiores grupos de peixes teleósteos, ocupando o quarto lugar entre os peixes em número de espécies (Nelson, 2006).

De acordo com Nelson (2006), a posição taxonômica desta família é a seguinte:

Classe – Osteichthyes

Sub-Classe – Actinopterygii

Infra-Classe – Teleostei

Divisão – Euteleostei

Infra-Divisão – Neoteleostei

Super-Ordem – Acanthopterygii

Série – Percomorpha

Ordem – Perciformes

Sub-Ordem – Labroidei

Família – Cichlidae

Dentre os ciclídeos, o gênero *Aequidens* Eigenmann & Bray, 1894 é amplamente distribuído na América do Sul, sendo composto por vinte espécies válidas (Kullander, 2006).

A espécie *A. plagiozonatus* foi descrita na Bacia do Prata (Paraguai), através da observação de caracteres, tais como, escamas ciclóides pré-pelvicas e uma faixa escura que se estende desde a abertura branquial até a base da nadadeira caudal (Kullander, 1984). Esta espécie se alimenta de pequenos crustáceos e outros peixes menores. Possui comportamento agressivo, assim como a maioria dos ciclídeos. Uma das principais

característica é o grande cuidado parental, suas cores atraentes e seu pequeno porte favorecem sua utilização em escala crescente como peixe ornamental.

### 1.3- DIVERSIDADE PARASITOLÓGICA ENCONTRADA EM PEIXES

Os parasitos de peixes possuem uma distribuição mundial, afetando todas as espécies, de águas tropicais a águas polares, em qualquer que seja o hábitat do hospedeiro e o nicho ecológico. Segundo Eiras (1994), a atual distribuição geográfica desses 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.

Segundo Hoffman, apud Eiras (1994), pelo menos 48 espécies de parasitas de peixes de água doce (5 protozoários, 31 monogenéticos, 5 digenéticos, 3 nematódeos, 1 acantocéfalo e 3 copépodes) estabeleceram-se em outro continente através do transporte de peixe vivo e congelado, por vezes com conseqüências sanitárias catastróficas, especialmente quando os parasitas contataram com novos hospedeiros.

Vários são os mecanismos de transmissão de patógenos e parasitos entre os peixes, já que o ambiente aquático, por ser de certo modo bastante homogêneo, facilita a propagação e distribuição desses organismos (Kubtiza & Kubtiza, 2004).

Luque (2004) afirmou que estudos parasitológicos dos peixes são importantes, pois os parasitos podem ser utilizados como bioindicadores para determinar unidades populacionais, para avaliar a ecologia do parasitismo (incluindo estudos de dinâmica populacional), para avaliar potencial zoonótico de alguns parasitos e também indicar o parasitismo como um fator limitante para a piscicultura de determinada espécie.

A patogenicidade dos distintos parasitos de peixes varia muito de uma espécie para outra e depende de vários fatores, principalmente, da intensidade e da prevalência

do parasitismo, dos órgãos afetados, da especificidade do hospedeiro correspondente, da presença de infecções concomitantes e das condições ambientais (Alvarez Pellitero & Barja, 1988). Por outro lado, o ciclo de vida dos parasitos é muitas vezes dependente de alterações climáticas sazonais, o que faz com que a prevalência e a intensidade da parasitose dependam da época do ano (Eiras, 2004).

Com a crescente pressão exercida nos bancos naturais de recursos pesqueiros, busca-se alternativas para a continuidade da produção de pescado, seja através da aquicultura ou da busca por novos recursos pouco ou até mesmo inexplorados (IBAMA, 2000). Devido a este fato, além das espécies de peixes ornamentais já estabelecidas, busca-se a inserção de uma grande quantidade de outras espécies nativas nesse mercado, como é o caso do Cará-pixuna, *Aequidens plagiozonatus*, que embora ainda não seja de grande importância econômica na região Amazônica, apresenta-se como um peixe utilizado em escala crescente com finalidade ornamental, possuindo um elevado potencial de comercialização.

No entanto, nota-se que devido a ampla variedade de parâmetros existentes no meio aquático, estes, quando alterados além dos limites aceitáveis, podem predispor os peixes a agentes invasores e provocar enfermidades, as quais podem ocorrer devido a uma diversidade de fatores, de origem natural ou por ação antrópica (Genovez *et al* , 2008). O impacto socioeconômico, sanitário e ecológico desses parasitas pode ser verificado de forma direta ou indireta, através da redução do tamanho do animal com a diminuição da conversão alimentar, “castração” parasitária e conseqüente diminuição dos estoques pesqueiros.

A partir desse conhecimento é importante a realização de estudos que caracterizem o perfil parasitológico dessas espécies de peixes a fim de verificar e controlar a disseminação de parasitas que geram desequilíbrio nos ecossistemas

aquáticos, uma vez que esses, segundo Malta (1984), apresentam peculiaridades que facilitam a propagação, complementação do ciclo de vida e outros fatores de relevante importância para sobrevivência de cada grupo de organismos parasitas. Por isso, serão descritos aspectos morfológicos de microparasitas, esperando contribuir para um melhor conhecimento do estado sanitário da fauna ictiológica amazônica.

### **1.3.1 Classificação taxonômica do antigo grupo dos Protozoa**

Com recentes modificações taxonômicas, faz-se necessário destacar alguns pontos quanto a posição sistemática de diferentes filos que incluíam o Reino Protozoa e que, recentemente, sofreram modificações radicais.

Segundo Cavalier-Smith (2004), atualmente os eucariotas (Império ou Super-Reino Eukaryota) estão divididos em 5 reinos: Protozoa, Animalia, Fungi, Plantae e Chromista. O Reino Protozoa é subdividido nos Sub-Reinos: Archeozoa e Neozoa, sendo que este último está subdividido em 4 Infra-Reinos, dentre eles o Alveolata, que inclui o Filo Apicomplexa. O reino Animalia subdivide-se nos Sub-Reinos: Radiata e Myxozoa. Além disso, este insere o Filo Microsporidia como pertencente ao Reino Fungi (Ver Quadro 1).

## Quadro 1: Divisão dos reinos vivos, adaptado de Cavalier-Smith (2004).

---

Os seis reinos da vida e os 34 filos microbianos (baseado em Cavalier-Smith 1998, 2002a, 2003a, b)

---

Império Prokaryota (Cavalier-Smith, 2002b)

### **Reino Bacteria**

Subreino Negibacteria (filos Eobacteria, Sphingobacteria, espiroquetídeo, Proteobactérias  
Planctobacteria, Cyanobacteria)

Subreino Unibacteria (filos Posibacteria, Archaeobacteria)

Império Eukaryota (Cavalier-Smith 1998)

### **Reino Protozoa** (Cavalier-Smith 2002a, 2003a)

Subreino Sarcomastigota (filos Amoebozoa, Choanozoa)

Subreino Biciliata

Infrareino Rhizaria (filos Cercozoa, foraminíferos, Radiozoa)

Infrareino Excavata (filos Loukoozoa, Percoloozoa, Euglenozoários, Metamonada, este último inclui agora Parabasalia e Anaeromonadea; Cavalier-Smith 2003a, b)

Infrareinoalveolata (filos Myzozoa (Cavalier-Smith & Chao 2004), Ciliophora)

Incertae sedis Biciliata: filo Apusozoa (pode ser irmã de Excavata); filo Heliozoa<sup>b</sup>

### **Reino Animalia** (Myxozoa e 21 filos other<sup>a</sup>) (Cavalier-Smith 1998; Cavalier-Smith & Chao, 2003c)

### **Reino Fungi** (filos Archemycota, microsporídios, Ascomycota, Basidiomycota) (Cavalier-Smith, 2000b)

### **Reino Plantae**

Subreino Biliphyta (filos Glaucophyta, Rhodophyta)

Subreino Viridiaeplantae (Chlorophyta, Bryophyta<sup>a</sup>, Tracheophyta<sup>a</sup>)

### **Reino Chromista**

Subreino Cryptista (filo Cryptista: criptofíceas, goniomonads, katablepharids)

Subreino Chromobiota

Infrareino Heterokonta (filos Ochrophyta, Pseudofungi, Opalozoa (compreendendo subfilos  
Opalinata, Sagenista)

Infrareino Haptista (filo Haptophyta)

---

<sup>a</sup> não apresenta representantes “micróbios”. Todos os 34 filos que contêm micróbios são listados.

<sup>b</sup> Embora Heliozoa possa ser Chromista, provavelmente pertence a Protozoa (Biciliata) (Cavalier-Smith & Chao 2003a).

Fonte: Modificado de Cavalier-Smith (2004)

O Filo Microsporidia Balbiani, 1882 durante muito tempo foi inserido no reino Protozoa, no entanto, na última década do século XX, sua posição taxonômica sofreu grandes transformações, sendo reconhecidos como os mais primitivos seres eucariotas. A *priori*, pensava-se que este grupo teria divergido num período evolutivo anterior à endossimbiose mitocondrial, no entanto, segundo Casal (2009), alguns estudos moleculares realizados sugeriram que este grupo de parasitas possuiu mitocôndrias, perdendo-as durante seu processo evolutivo por consequência do tipo de vida parasitária, hipótese defendida por Cavalier-Smith (2004).

Evidências da sub-unidade de RNA polimerases II apontam para o Reino Fungi, com evidências genéticas e moleculares, bem como a presença de quitina e trehalose nos microsporídios e fungos (Keeling &McFadden, apud Casal, 2009). Lee *et al.* (2008) com análises filogenéticas, demonstraram estes serem fungos verdadeiros, descendentes de um ancestral zigomiceto que possuem componentes reguladores genéticos que poderiam funcionar na determinação do sexo e reprodução sexual.

O Filo Myxozoa Grassé, 1970 por um longo período também foi inserido no Reino Protozoa, na Classe Sporozoa, apesar de se ter reconhecido uma proximidade com o Filo Cnidaria. Atualmente, estes parasitos constituem uma superclasse do Infracilo Metazoa dentro do Filo Opisthoconta (Cavalier-Smith, 1998), pois estudos filogenéticos sugerem semelhança com os metazoários de simetria bilateral (Casal, 2009).

### **1.3.2 Filo Microsporidia**

O Filo Microsporidia Balbiani, 1882 inclui microrganismos que apresentam caracteres específicos de eucariotas (presença de núcleo) e dos procariotas (unidades ribossomais típicas) (MATOS *et al.*, 2003a), pertencem ao Reino Fungi devido a características moleculares. Podem parasitar diferentes grupos taxonômicos, principalmente os pertencentes ao Reino Animalia, inclusive humanos (BRASIL *et al.*, 1997) e insetos (MATOS *et al.*, 2006).

Estes parasitos são estritamente intracelulares (Lom & Dyková, 1992). A fase de seu ciclo de vida mais facilmente observável é a de esporo, que geralmente possui formato oval a elipsóide. Este esporo possui estruturas que caracterizam este grupo, tais como: tubo polar (TP) e polaroplasto (Po), que podem ser observados, bem como suas outras estruturas (Figura 1).

Segundo Matos *et al.* (2004a), este esporo é constituído por uma parede de espessura variável que contorna um esporoplasma uni ou binucleado, revestido por uma parede espessa. A maior parte dos esporos tem um vacúolo de volume variável na porção posterior, sendo que na maior parte dos casos, o TP se enrola nesta porção, ficando entre o vacúolo e a parede do esporo. Este TP reage positivamente na reação de PAS (detecção de polissacarídeos). O núcleo se localiza na porção média do esporo, entre o polaroplasto e o vacúolo, sendo frequentemente rodeado por vários polirribossomas.

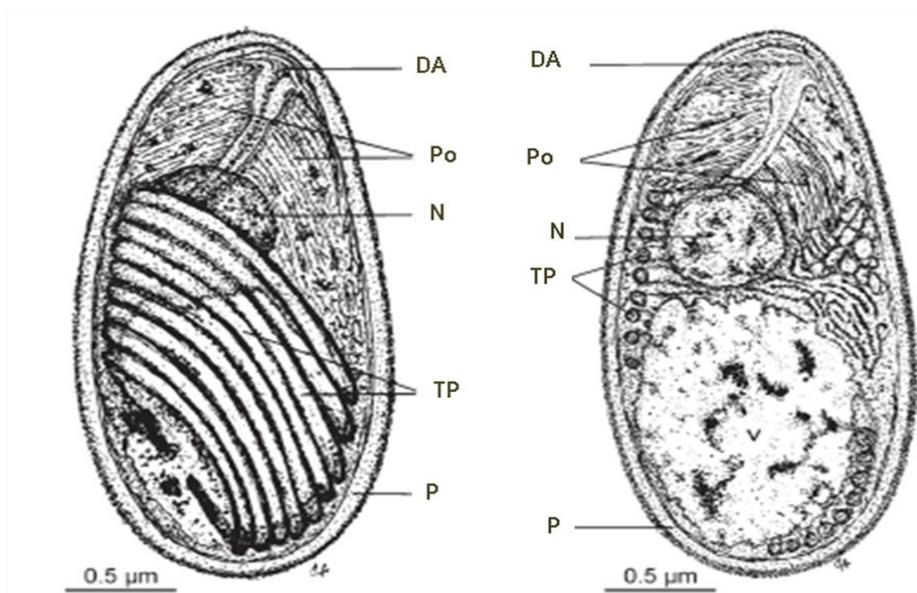


Figura 1: Desenho esquemático tridimensional do esporo do *Microsporidium breviostris* (esquerda) e morfologia ultraestrutural em secção longitudinal (direita). DA – disco de ancoragem, N - núcleo, Po - polaroplasto, TP - tubo polar, V - vacúolo, P- parede do esporo.

Fonte: Modificado de Matos & Azevedo (2004b).

Lom & Dyková (1992) ressaltam que as mitocôndrias são completamente ausentes ao longo do ciclo de vida dos microsporídios, no entanto é possível verificar a presença retículo endoplasmático rugoso e liso, ribossomos livres e várias vesículas de natureza indeterminada, além de um atípico aparelho de Golgi.

Em virtude da pequena dimensão dos esporos, o estudo dos microsporídios só obteve avanço significativo, após o advento da microscopia eletrônica, e atualmente além dos dados ultra-estruturais são indispensáveis para a identificação e classificação de espécies e gêneros novos, o auxílio da biologia molecular (Casal *et al.*, 2008a).

Quando o esporo se encontra em condições favoráveis a sua “germinação”, seu TP desenvagina-se e é projetado a uma longa distância. Durante esse processo, o núcleo e alguns componentes do esporoplasma são descarregados do esporo pelo tubo polar expulsado. Este fenômeno pode ser simulado artificialmente pela ação de peróxido de hidrogênio, vários ácidos, substâncias alcalinas, ou até mesmo calor ou pressão mecânica, devido a grande pressão interna dentro do esporo (calculada em torno de até 60 atmosferas). O filamento extruído, dirigido por uma grande força osmótica, é duro e sólido bastante para perfurar as células do hospedeiro, injetando seus componentes. Uma “concha” de esporo vazia permanece para trás (Lom & Dyková, 1992).

Segundo Matos (2007), alguns fatores ambientais podem influenciar na “germinação” dos microsporídios, tais como: radiação, luz solar, temperatura, umidade, pH, vento, água e substrato.

Após a entrada do núcleo, regenera-se imediatamente uma pequena porção do citoplasma e da membrana, tornando-se a fase de meronte. Os merontes são células geralmente arredondadas ou alongadas, que se desenvolvem no interior de um vacúolo do citoplasma da célula hospedeira. Na maioria das espécies, são uninucleados, mas existem também algumas espécies que possuem diplocácion (Matos *et al.*, 2003c).

Os merontes se dividem várias vezes por divisão binária, múltipla ou por plasmotomia (dependendo da espécie), sendo que no final desta fase de divisão (merogonia), os merontes se diferenciam em esporontes. A partir daí, ocorre outra divisão, a esporogonia. Então, os esporontes começam a espessar sua parede e no final

desta fase, originarão os esporoblastos, que são geralmente ovóides. Posteriormente, os esporoblastos continuam a se diferenciar e espessar sua parede, originando assim os esporos maduros. Durante esta última fase, ocorre um aumento do retículo endoplasmático rugoso e liso, bem como o desenvolvimento dos dictiossomas (aparelho de Golgi) e numerosas vesículas e vacúolos. A partir daí são diferenciados o Po e o TP. Na fase final as vesículas se fundem originando o vacúolo (Matos *et al.*, 2004a) (Figura 2).

Estes esporos podem infectar qualquer célula do hospedeiro através da extrusão do tubo polar (Figura 3), e dependendo da espécie às reações celulares a tais infecções distingui-se, pois há espécies que provocam dilatações celulares causando uma hipertrofia na célula infectada, e constituindo com os tecidos que reagem às infecções estruturas denominadas, por Weissenberg, apud Eiras (1994) de xenomas. Outras espécies não causam essas dilatações e não formam xenomas, ou seja, as células infectadas pelos esporos apresentam o mesmo tamanho daquelas que não foram parasitadas, no entanto seu conteúdo é substituído por esporos, devido a ação de um meio alcalino causando dessa forma infecções difusas nos órgãos afetados.

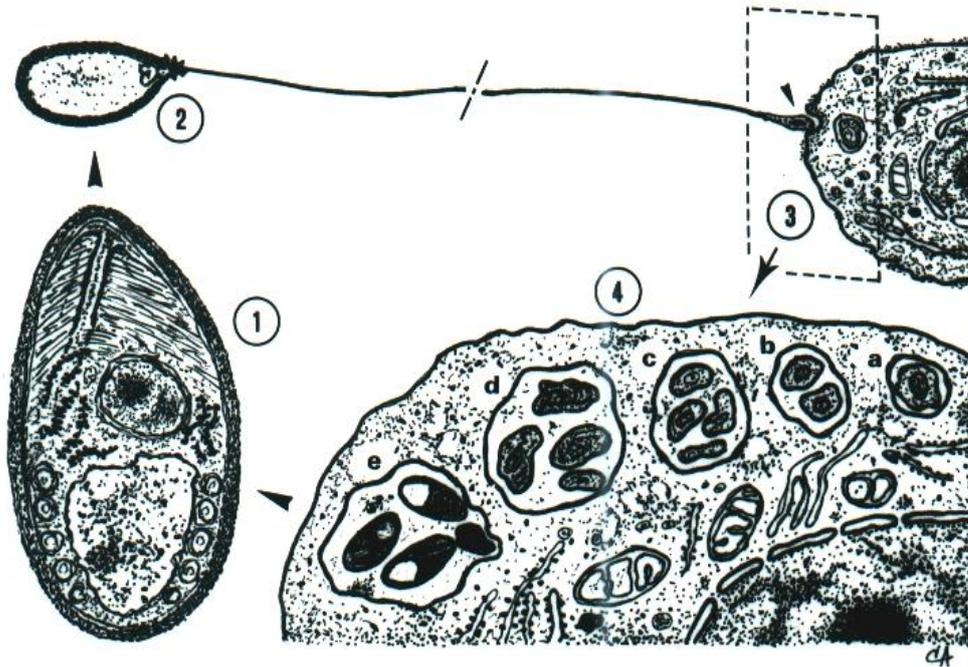


Figura 2: Representação esquemática do ciclo de vida dos microsporídios: 1- secção longitudinal de um esporo; 2- extrusão do tubo polar; 3- contato da extremidade do tubo polar com a célula hospedeira e transmissão do núcleo do esporo; 4- sucessivas fases do desenvolvimento do ciclo de vida e formação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

Fonte: Matos *et al.* (2003a).

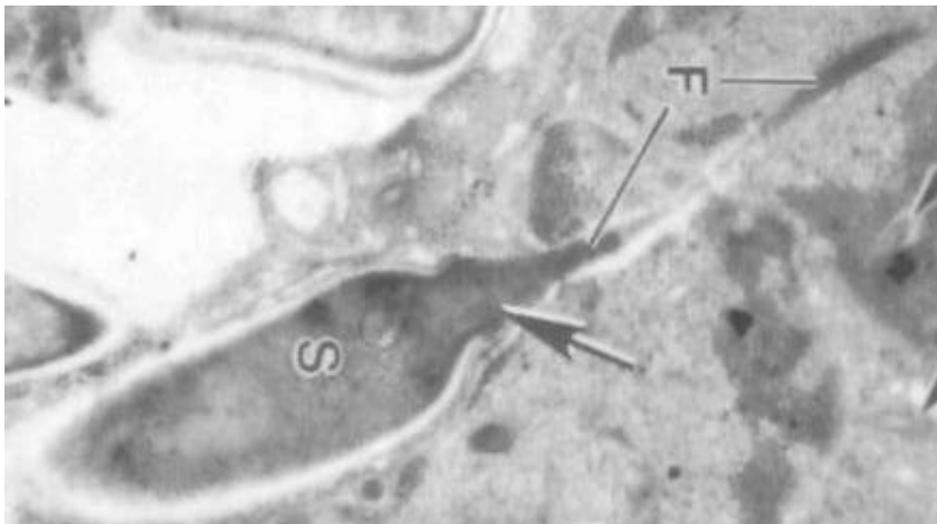


Figura 3: Secção ultraestrutural do esporo (S) com o filamento polar extruído (F), Observado em Microscopia eletrônica transmissão.

Fonte: Matos *et al.* (2003c)

Segundo Eiras (1994), a maioria dos estudos realizados em torno do modo de transmissão enfatizam que a infecção se dá por via oral, no entanto, talvez existam outras vias, pois dados de Hauck, apud Eiras (1994) permitem supor a ocorrência de infecção direta das brânquias a partir de esporos presentes na água.

De acordo com Matthews & Matthews (1980), a transmissão dos microsporídios ocorre pela ingestão de esporos presentes na água e também pela ingestão de carcaças infectadas ou da atividade predatória de exemplares infectados. O fato é que existem várias vias de transmissão das microsporidioses (Matos, 2007).

A percentagem da mortalidade dos hospedeiros provenientes de populações selvagens não é muito precisa, pois não se tem uma idéia global da população. No entanto, as microsporidioses podem ter repercussões econômicas significativas nas pisciculturas, sendo de grande importância evitar o contato de indivíduos de origem selvagens nas pisciculturas. Principalmente as que utilizam o mesmo curso de água de um rio (Eiras *et al*, 2000).

No Brasil, especificamente na Amazônia, a equipe de pesquisa do Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo (Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA), em Belém-Pa, vem descrevendo inúmeras espécies parasitando peixes, tais como: *Loma myrophis* (Azevedo & Matos, 2002) (nova espécie), *Amazonspora hassar* (Azevedo & Matos, 2003) (novo gênero e nova espécie), *Microsporidium brevirostris* (Matos & Azevedo, 2004b) (nova espécie), *Potaspora morhaphis* (Casal *et al*, 2008a) (novo gênero, nova espécie com descrição de biologia molecular) e no inseto *Lutzomyia longipalpis* a nova espécie *Vavraia lutzomyia* (Matos *et al*, 2006).

### 1.3.3 Filo Myxozoa

O Filo Myxozoa Grasse, 1970 constitui um grupo heterogêneo com cerca de 50 gêneros (Lom & Dyková, 1992). Disseminados nos mais diversos meios aquáticos de água doce e salgada, a maioria destes parasitos são considerados patogênicos, atuando em diversos tecidos e órgãos, como fígado, rim, brânquias, gônadas, intestino, pele e outros. Produzem profundas alterações nos tecidos onde se desenvolvem, e onde se encontra todo o ciclo de vida, observado preferencialmente em microscopia eletrônica.

Em todo mundo há apenas uma descrição de dois casos de mixosporídios (gênero *Henneguya*) parasitando humanos, sendo que a via de infecção não foi confirmada, mas os autores postulam que a via mais provável seria oral (McClelland, *et al.*, 1997).

A maioria destes parasitos (aproximadamente 1400 espécies conhecidas) é estenoxeno, ou seja, apresentam especificidade parasitária. Entretanto, uma espécie de peixe pode albergar várias espécies de mixosporídeos. Desde o fim do século 19, grupos de especialistas estão pesquisando o ciclo evolutivo dos mixosporídeos e as doenças que eles provocam (Békesi *et al.*, 2002).

Segundo Eiras *et al.* (2010), no Brasil estão descritas a ocorrência de 79 espécies de mixosporídios em peixes de água doce, pertencentes a sete gêneros distintos.

O Filo Myxozoa está hoje dividido em 2 classes: Malacosporea (esporos de valvas sem rigidez que infectam os briozoários e os peixes) e Myxosporea Bütschli, 1882 (esporos de valvas rígidas que ocorrem em anelídeos e peixes). Esta última Classe é composta por duas ordens: Bivalvulida (esporos com duas valvas e duas cápsulas polares) e Multivalvulida (esporos com mais de duas valvas e mais de duas cápsulas polares) (Lom & Dyková, 2006; Casal, 2009).

O ciclo de vida destes parasitos em peixes da Amazônia tem sido bastante estudado através de diferentes tipos de microscopia (Azevedo *et al.*, 1995; Azevedo & Matos, 1996; Casal *et al.*, 2002; Tajdari *et al.*, 2005; Casal *et al.*, 2006; Azevedo *et al.*, 2008). A esporogênese inicia-se com o envolvimento de uma célula esporogônica, desenvolvida e protegida por uma célula, o pericito (fagócito). Dentro do pericito, a célula esporogênica divide-se, sucessivamente, por meio de nucleocinese e citocineses, originando células uninucleares, exceto uma célula na qual ocorre apenas uma nucleocinese, originando-se, assim, uma célula binucleada, a célula esporoplasmática (Figura 4).

Como resultados desta divisão resultam dois grupos de cinco células. As células de cada grupo diferenciam-se do seguinte modo: as duas células valvôgenicas diferenciam-se englobando as outras três, formando-se, assim, um esporo. As três células que ficam no interior são duas células capsulogênicas 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 a referida como esporoplasmática binucleada que se caracteriza por conter inúmeras vesículas eletrondensas designadas de esporoplasmossomas, bem como partículas de  $\beta$ -glicogênio. Também as cápsulas são estruturas específicas dos esporos dos mixosporídios. As cápsulas são estruturas específicas dos esporos dos mixosporídios (Matos *et al.*, 2001).

As cápsulas resultam das células capsulogênicas que se diferenciam durante o processo de maturação. No interior de cada uma das cápsulas localiza-se um tubo polar enrolado em espiral. Observa-se a morfologia das cápsulas e do tubo polar, bem como a organização do tubo polar das diferentes espécies. O filamento polar é uma estrutura responsável pela propagação da espécie, no período pós-maturação. Durante o processo de formação do esporo foi observado que cada uma das valvas desenvolve um

complexo sistema microtubular que se diferencia, em algumas espécies, nas caudas ou prolongamentos (Matos *et al.*, 2004a).

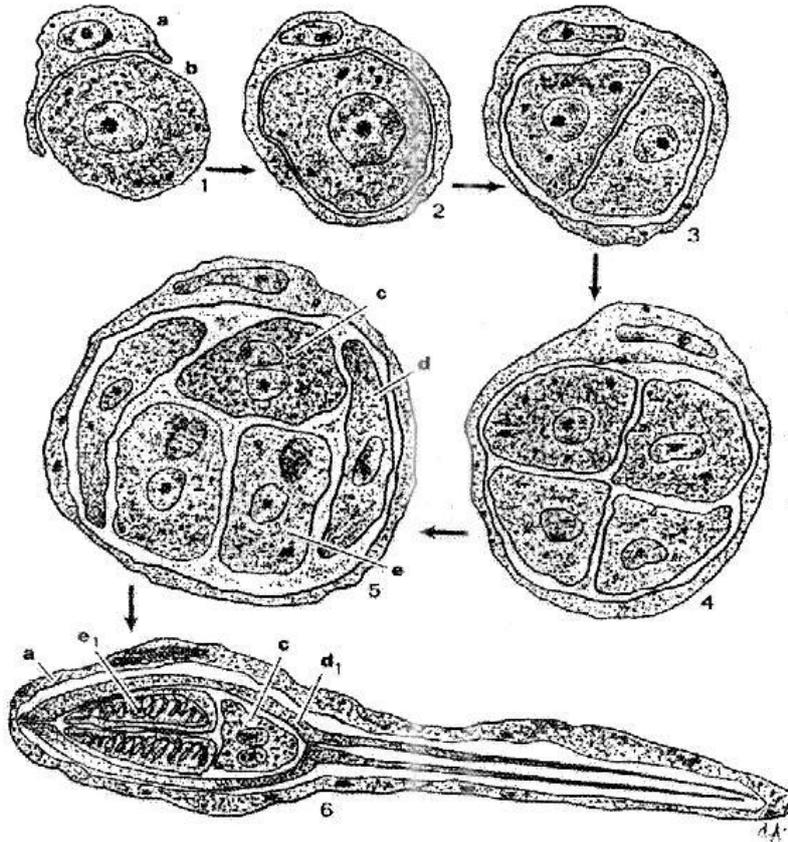


Figura 4: Esquema do ciclo de vida dos mixosporídios (gênero *Henneguya*). Mostrando a fase em que a célula pericítica (pericito - a) começa a englobar a célula germinativa (b) (1). A célula germinativa fica completamente envolvida pelo pericito (2). A célula germinativa divide-se sucessivamente em duas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

Fonte: Matos *et al.* (2001).

A presença de esporos de mixosporídios (Phylum Myxozoa) são facilmente observados em Microscopia de Contraste Interferencial (Nomarski - DIC) e identificados pela sua morfologia (Lom & Dyková, 1992). Os esporos, apesar de se

apresentarem com formas diferentes entre as espécies, possuem duas valvas e no interior duas cápsulas e uma célula esporogênica geralmente binucleada, considerando a ordem Bivalvulida.

O gênero *Kudoa* Meglitsch, 1947 é constituído por mixosporídios pertencentes a ordem Multivalida, que apresentam com 4 ou mais valvas de simetria radial esporos quadrangulares, em observação apical, de forma estrelada (Figura 5) (Casal, 2009). As linhas de sutura formam um ângulo de 90°. Um reduzido número de espécies possui curtas projeções apicais e as cápsulas polares podem, na mesma espécie, serem de tamanhos sensivelmente iguais ou diferentes (Eiras, 1994).

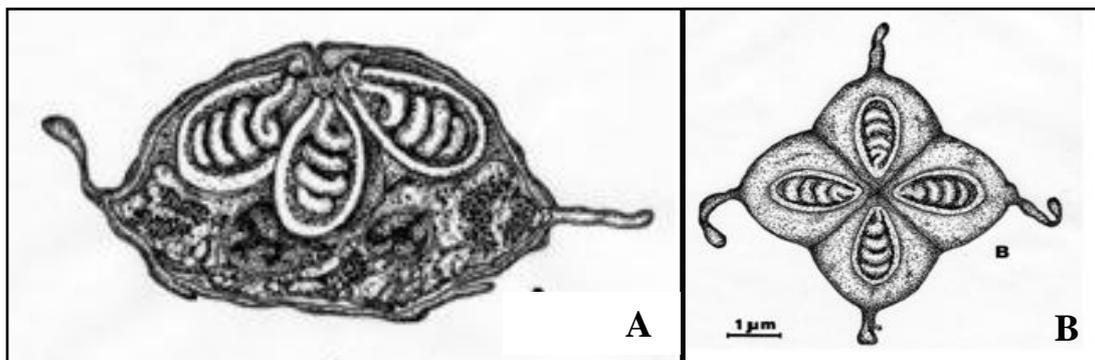


Figura 5: Figura esquemática do esporo de *Kudoa aequidens*, em vista lateral (A) e frontal (B).

Fonte: Casal *et al.* (2008b).

Estes parasitos têm sido descritos ocorrendo no músculo esquelético e cardíaco, tegumento, barbatanas, cérebro, rim, peritônio, glomérulos e mesentério. Sendo que apesar dessa localização diversificada, podem ser considerados parasitos típicos do músculo esquelético. Casal *et al.* (2008b), verificaram a presença de *Kudoa* na musculatura sub-opercular de *A. plagiozonatus*, provenientes do Rio Peixe-Boi / Pa.

De acordo com Lom & Dyková (1992), algumas espécies estão colocadas entre as fibras musculares e têm a aparência de cistos rodeados por paredes de tecido

conjuntivo, sendo que outras se encontram dentro das fibras musculares, podendo causar um aumento considerável do comprimento dessas fibras.

O gênero *Triangulamyxa* foi criado em 2004, pela identificação de esporos de alguns mixosporídios da ordem Bivalvulida no lúmen do intestino de *Sphoeroides testudineus*, provenientes da vila de Algodual, município de Maracanã – PA. Observou-se através da Microscopia eletrônica (ME) a que esses esporos apresentavam morfologia triangular com cantos laterais arredondados, que apresentavam formato elipsoidal em corte transversal, linhas suturais levemente sinuosas e presença de cápsulas polares (Azevedo *et al.*, 2005) (Figura 6).

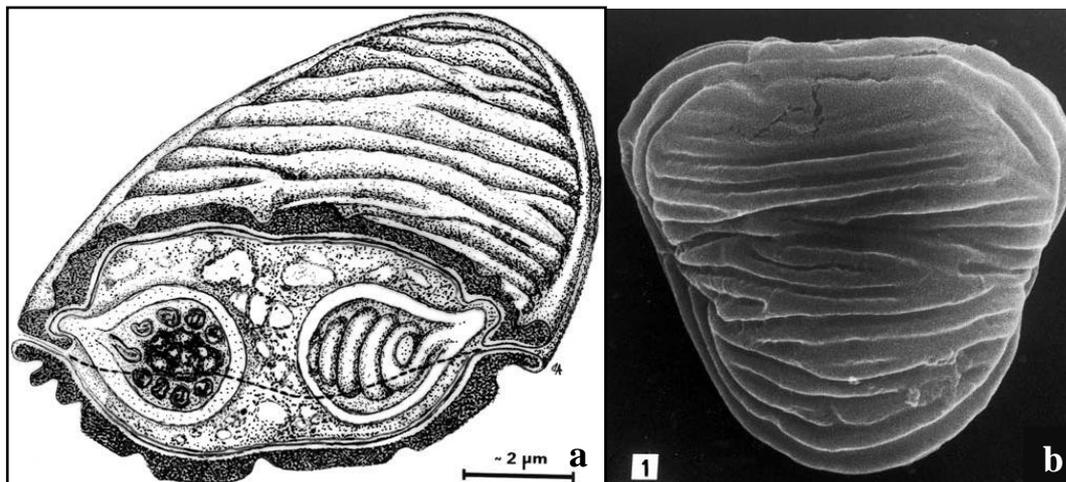


Figura 6: a- Esquema tridimensional da seção transversal do *Triangulamyxa amazonica* demonstrando a morfologia interna e externa do esporo. b- Esporo de *Triangulamyxa amazonica*, observado em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

Fonte: Azevedo *et al.* (2005).

#### 1.3.4 Filo Apicomplexa

O Filo Apicomplexa Levine, 1970 é um complexo grupo de microrganismos, que engloba algumas formas patogênicas e parasitárias que ocorrem, também em moluscos bivalves e peixes (Matos *et al.*, 2004a). Dentre os parasitos pertencentes a este filo encontrado na ictiofauna amazônica, destaca-se o *Calyptospora spinosa*

(Calyptosporidae) parasitando o fígado de *Crenicichla lepidota* (jacundá) (Azevedo *et al.*, 1993; Azevedo *et al.*, 1995), e *Calyptospora* sp. em *Hoplosternum littorale* (tamoatá), *Serrasalmus* sp. (piranha), *Colomesus psittacus* (baiacu) e *Arapaima gigas* (pirarucu) (Videira *et al.*, 2007; Videira *et al.*, 2008; Bonar *et al.*, 2007).

A presença de oocistos de coccídios *Calyptospora* sp. é facilmente observada em microscopia de luz, principalmente na fase de esporo, formando vacúolos parasitóforos com 4 esporocistos. Em muitos casos são observadas células iniciais do ciclo de vida ou já formando vacúolos parasitóforos, quando se encontra diferentes fases do ciclo de vida, variando a forma dos esporocistos, de arredondada a elipsóide (Figura 7). Os vacúolos parasitóforos localizam-se no fígado, e eventualmente encontrados nas gônadas, variando de dimensão (Figura 8) (Azevedo *et al.*, 1993). Segundo Lom & Dyková (1992), em infecções pesadas, agregações grandes de oocistos substituíram até 85% do fígado e aparecem como branco pálido a lesões pretas nos tecidos.

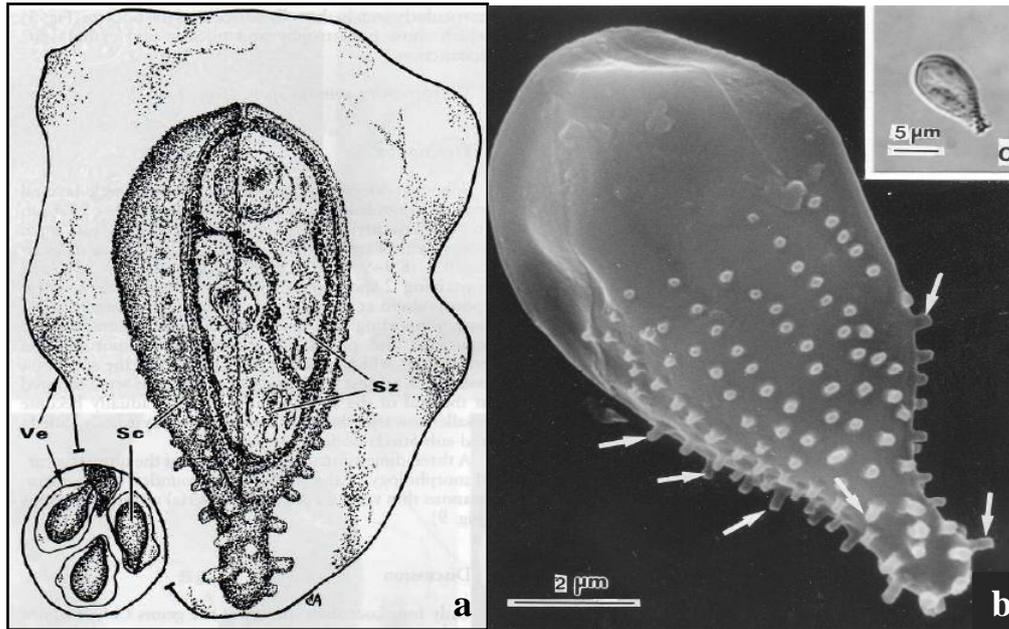


Figura 7: a- Esquema de um oocisto contendo quatro esporocistos (SC), rodeados por um véu membranoso (VE) e desenho demonstrando tridimensionalmente a organização ultra-estrutural do esporocisto de *Calyptospora spinosa* n. sp, com dois esporozoítos (SZ). b- Esporocisto mostrando o corpo elipsoidal e suas projeções, observado em MEV. 9000X. c- Detalhe de esporocisto observado em DIC..

Fonte: Azevedo *et al.* (1993).



Figura 8: Oocistos de *Calyptospora spinosa* observados em DIC.

Fonte: Azevedo *et al.*,1995.

Azevedo *et al.* (2005) relataram pela primeira vez a formação do véu membranoso em espécies de *Calyptospora* e também das fases sequenciais de desenvolvimento esporoblastos. E propuseram o ciclo de vida descrito para este gênero (Figura 9). No entanto, neste estudo, não foi observada a divisão dos esporoblastos que dá origem aos dois esporozoítos contidos no oocisto. Provavelmente é necessária a presença de um hospedeiro intermediário para completar o ciclo de vida.

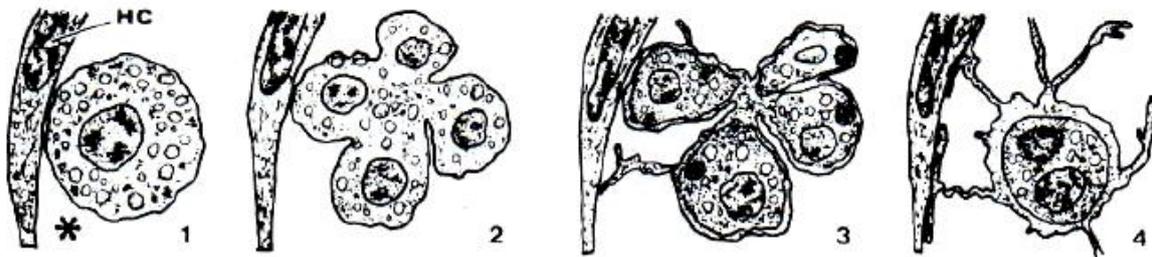


Figura 9: Esquema das fases do ciclo de vida do *Calyptospora spinosa*: 1- Zigoto (vacúolo parasitóforo\*; HC: célula hospedeira); 2- Formação do esporoblasto; 3- esporoblastos jovens; 4- Esporoblasto maduro rodeado pelo véu, esporocisto.  
Fonte: Azevedo *et al.*,1995.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Descrever morfológicamente os microparasitas (microsporídios, mixosporídios e coccídios) encontrados em *A. plagiozonatus* provenientes do rio Peixe-Boi /PA.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar e classificar os microparasitas encontrados, bem como descrever sua localização no hospedeiro em questão.
- Verificar a prevalência de cada grupo de parasitas nos espécimes analisados.
- Analisar a localização dos parasitas em relação aos vários órgãos do hospedeiro.
- Verificar a influência do parasitismo por coccídios hepáticos sobre as dimensões do fígado através do Índice Hepatosomático (IHS%).
- Verificar a influência da sazonalidade na prevalência parasitária.

### **3 METODOLOGIA**

#### **3.1 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA**

##### **3.1.1 Área de estudo**

A Bacia Hidrográfica do Rio Peixe-Boi possui uma área de aproximadamente 1.044,32 km<sup>2</sup>, apresentando grande relevância no contexto hídrico do Estado do Pará. Está localizada na Mesorregião Nordeste do Pará (Figura 10), na Microrregião denominada Bragantina, abrangendo além do município de Peixe-Boi os municípios de Capanema, Santarém-Novo, Nova Timboteua, Bonito e Primavera (Silva & Lima, 2000).

Esta bacia está inserida na Sub-Bacia 32 da Bacia do Atlântico – Trecho Norte-Nordeste e tem como principal o Rio Peixe-Boi. Sua nascente está localizada próxima ao município de Santo Antônio de Cumaru e sua foz no Rio Maracanã, próximo ao município de Porto Seguro, sendo caracterizada como uma bacia hidrográfica rural (Silva & Lima, 2000).

Na fazenda São João (01<sup>o</sup>07' 19,2''S 47<sup>o</sup>18' 38,8''W), localizada as margens da bacia do rio Peixe-Boi, há áreas que permanecem mais tempo inundadas do que secas conhecidas como restinga baixa, e áreas raramente inundadas, a restinga alta. Sazonalmente, as águas ultrapassam os limites das restingas marginais e transbordam. Nesse processo, parte da fazenda é inundada e os lagos interiores estabelecem uma conexão com a calha principal do rio Peixe-Boi. Conseqüentemente, segundo Junk (1984), há erosão com carreamento de detritos e sedimentação, o que resulta em uma notável variação na produção aquática e no enriquecimento do solo com nutrientes, impulsionando o crescimento da vegetação e da cadeia trófica relacionada. Neste ambiente foi estabelecido dois pontos de coleta (A e B) (Figura 11).

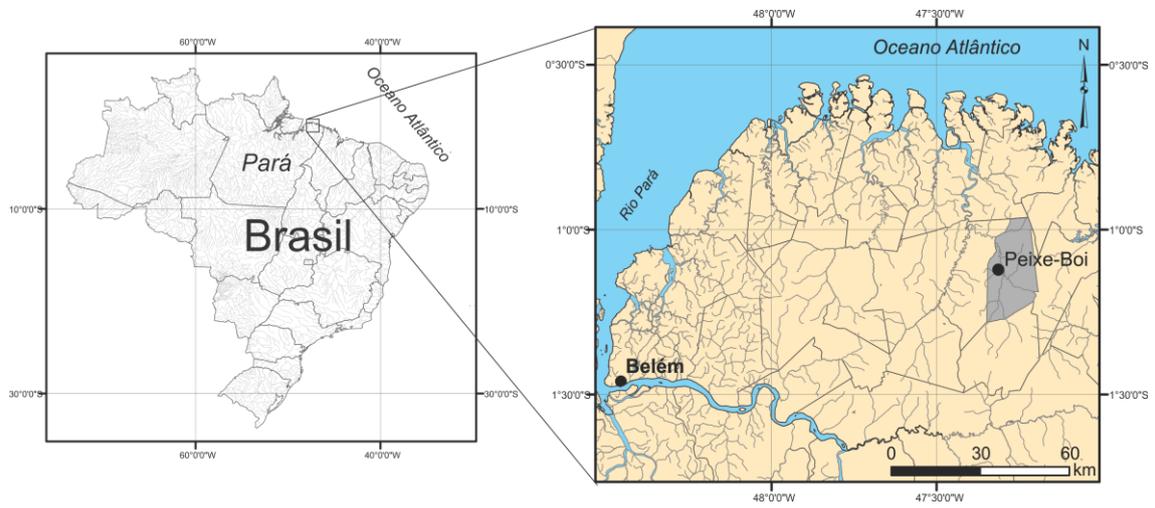


Figura 10: Localização geográfica do Município de Peixe-Boi, na Mesorregião Nordeste do Pará.

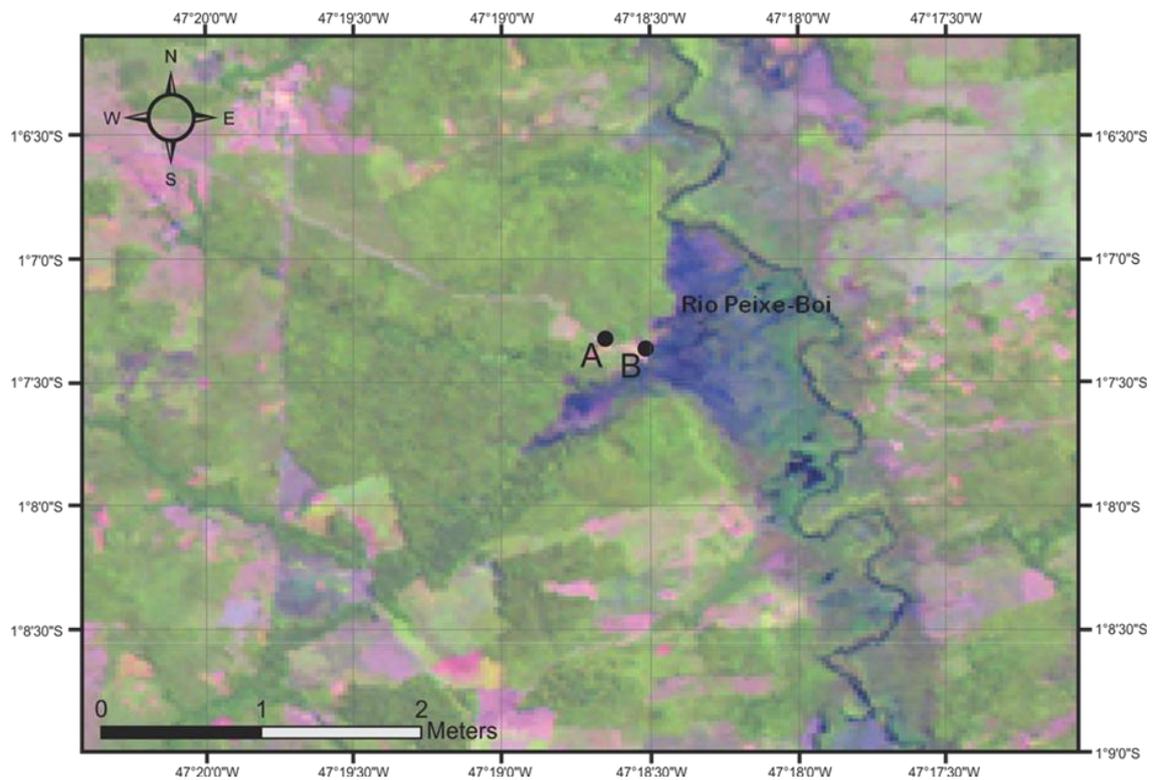


Figura 11: Localização geográfica dos pontos de coleta (A e B).

### 3.1.2 Peixes: coleta e transporte

Os espécimes de *A. plagiozonatus* utilizados nesse estudo foram provenientes do município de Peixe-boi ( $01^{\circ}07'17,65''S$   $47^{\circ}18'48,35''W$ ) (Figura 12), sendo capturados com a utilização de apetrechos de pesca, tais como, tarrafas e redes de emalhar (Figura 12).

Foram realizadas 5 coletas: abril, julho, outubro, dezembro/2009 e janeiro/2010 sendo capturados a cada coleta em média 20 indivíduos, totalizando 100 espécimes.



Figura 12: Equipe do LPCA coletando os exemplares de peixes na Fazenda São João, Peixe-Boi/PA. Braço do Rio Peixe-boi.  
Fonte: Acervo LPCA, 2009.

Os animais foram acondicionados em sacos plásticos contendo aeração e transportados vivos até o Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo (LPCA), na Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), onde permaneceram em aquários (Figura 13), contendo água proveniente do próprio hábitat dos animais, até que se procedessem as análises.



Figura 13: Exemplar de *A. plagiozonatus* em aquário no LPCA.  
Fonte: Acervo LPCA, 2009.

### 3.2 DISSECAÇÃO DOS ESPÉCIMES

Nos aquários os animais foram anestesiados com Tricafina Metano sulfonato (MS222 SIGMA) na concentração de 50mg/l. Em seguida, toda a superfície corpórea externa foi examinada através de microscópio estereoscópico, para verificar a existência

de lesões (cistos) ou perda de revestimento (escamas e epiderme). Observações que podem determinar a existência de parasitas ou reações do hospedeiro (cistos).

Em seguida foram realizadas incisões, com bisturi e tesoura, na região ventral, sendo duas transversais e uma longitudinal, de modo a expor suas vísceras para que cada órgão pudesse ser examinado com auxílio de pinças anatômicas, a fim de encontrar lesões como cistos, tumefações e manchas leitosas (Figura 14). Todos os dados foram registrados em uma ficha de coleta (Anexo 1).

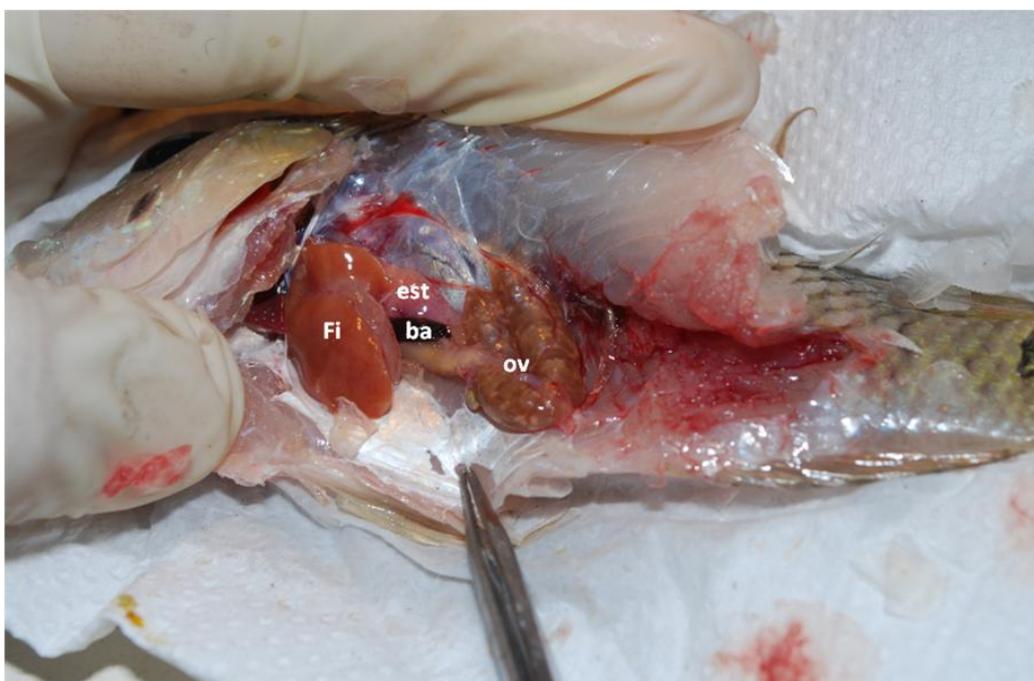


Figura 14: Necropsia de exemplar de *A. plagiozonatus* com a visualização de seus órgãos. Hepatopâncreas (Fi), estômago (est), Ovário (ov) e baço (ba).  
Fonte: Acervo LPCA, 2009.

Dos tecidos onde foram encontrados possíveis focos de desenvolvimento de parasitas, foram retirados pequenos fragmentos, coletados com pinças e colocados entre lâmina e lamínula, com uma gota de água, para ser realizada a observação através de microscopia de luz (ML). Assim foi feita a confirmação de achados parasitológicos ou

não, uma vez que a perda do tecido epidérmico pode ser causada por contato produzido pelo estresse da captura e permanência em hábitat estranho ao animal. Essa confirmação por ML é necessária para um diagnóstico confiável, uma vez que os cistos podem ser de gordura, de secreção glandular assim como, as manchas ou tumefações podem ter sido causadas por outros agentes exógenos, inclusive por resíduos existentes no meio aquático.

### 3.3 PROCESSAMENTO DO MATERIAL BIOLÓGICO

#### 3.3.1 Microscopia de luz

Os fragmentos colhidos foram fixados em Davidson (Álcool 95%, formol, ácido acético e água), na proporção de dez partes de fixador por uma de material biológico (10:1). O material permaneceu embebido neste por 24 horas, a fim de inativar as enzimas, conservando assim a estrutura celular mais próxima de como se apresenta *in vivo*, sem a ação autolítica celular.

Após a fixação, os órgãos coletados foram seccionados para torná-los mais delgados, a fim de absorverem de forma mais eficaz as várias substâncias as quais estes seriam embebidos. Após a secção, o material foi colocado em um fragmento de gaze, sendo envolvido pela mesma para ajudar na manipulação do material nas etapas seguintes. Nesta etapa o material foi numerado e identificado em um livro de registro mantido para este fim (ANEXO 2).

O material foi desidratado passando-o por concentrações crescentes de alcoóis, passando pela seguinte bateria: álcool 70%, álcool 80%, álcool 90%, álcool absoluto I, álcool absoluto II e álcool absoluto III, permanecendo um tempo de uma hora em cada um desses.

Na etapa que sucedeu, a diafanização, o material passou em uma outra bateria, composta por álcool / xilol (50:50), xilol I e xilol II, sendo que o tempo de processamento passa em cada uma das etapas foi de uma hora, trinta minutos e trinta minutos, respectivamente.

Em seguida foi feita a impregnação pela parafina: nessa etapa o material retirado do xilol II sofreu uma impregnação por parafina líquida (na estufa a 60°C), passando por uma bateria de parafina I, parafina II e parafina III, a uma temperatura de 60°C. O tempo que o material processado permaneceu nessa etapa foi de 1h, sendo vinte minutos em cada uma delas. Ressalta-se que todas essas etapas foram controladas com uma ficha de processamento (Anexo 3).

Após essa etapa, os órgãos foram incluídos em cassetes contendo parafina com o auxílio do aparelho TISSUE EMBEDDING CENTER MICRON EC350. Após incluídos, os blocos foram cortados a uma espessura de 5µm, utilizando para isso o micrótomo ROTARY MICROTOME MICRON HM315. Em seguida foi realizada a “pescagem” desses cortes em lâminas de vidro, mantidas posteriormente numa estufa regulada em 60°C, onde permaneceram um período de 24 hs. Após esse processamento, as lâminas foram coradas por Hematoxilina-Eosina (HE), Tricrômico de Gomori e Tricrômico de Gutierrez.

#### 3.4 ANÁLISE DE DADOS

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

Dos exemplares, também foram aferidos o peso total e o peso do fígado. De posse desses dados foi determinado o Índice Hepatosomático (IHS%), sendo calculado

através da seguinte relação:  $IHS(\%) = \text{peso do fígado (g)} / \text{peso corporal (g)} \times 100$ . A determinação dos valores desse índice é de grande importância para compreensão dos distúrbios que podem ocorrer durante condições ambientais adversas, inclusive a presença de alguns parasitas.

Para análise e processamento de dados estatísticos foi utilizado o software Bioestat 5.0. (Ayres *et al.*, 2007).

#### 4 RESULTADOS

Na análise parasitológica foi identificada os 3 filos de interesse: Myxozoa, Microsporidia, Apicomplexa.

A prevalência dos microsporídios nos exemplares estudados foi de 100%, dos mixosporídios 18% e dos Apicomplexa de 45%. A distribuição dos parasitos nos órgãos se deu de maneira distinta, sendo que a localização dos microsporídios foi multifocal (Quadro2).

Em todos os espécimes foi verificada a presença de pelo menos um filo parasita. Nenhum dos animais analisados apresentou os 3 filos simultaneamente.

Os espécimes de *A. plagiozonatus* coletados tiveram o comprimento médio de  $13,4 \pm 1,5$ cm, não apresentando nenhuma correlação entre o comprimento e a prevalência infecção (coeficiente de Spearman = 0.57 /  $p < 0.0001$ ).

Quadro 2: Localização dos parasitos nos órgãos observados no hospedeiro.

PARASITA	LOCALIZAÇÃO
Microsporidio	Brânquias, nadadeiras, cavidade oral, opérculo
Apicomplexa	Hepatopâncreas
Mixosporidio	Bexiga urinária

Os dados de prevalência foram analisados com o objetivo de identificar possíveis variações sazonais, observando-se que estes não demonstraram variação sazonal definida. Os valores oscilaram de maneira não padronizada, tanto em período de secas como de cheias (chuvoso) (Figura 15). Observou-se um pico no parasitismo por mixosporídios no período chuvoso (dez/09 e jan/10) sendo esta discrepância não significativa estatisticamente, quando testadas pelo Test t de Student.

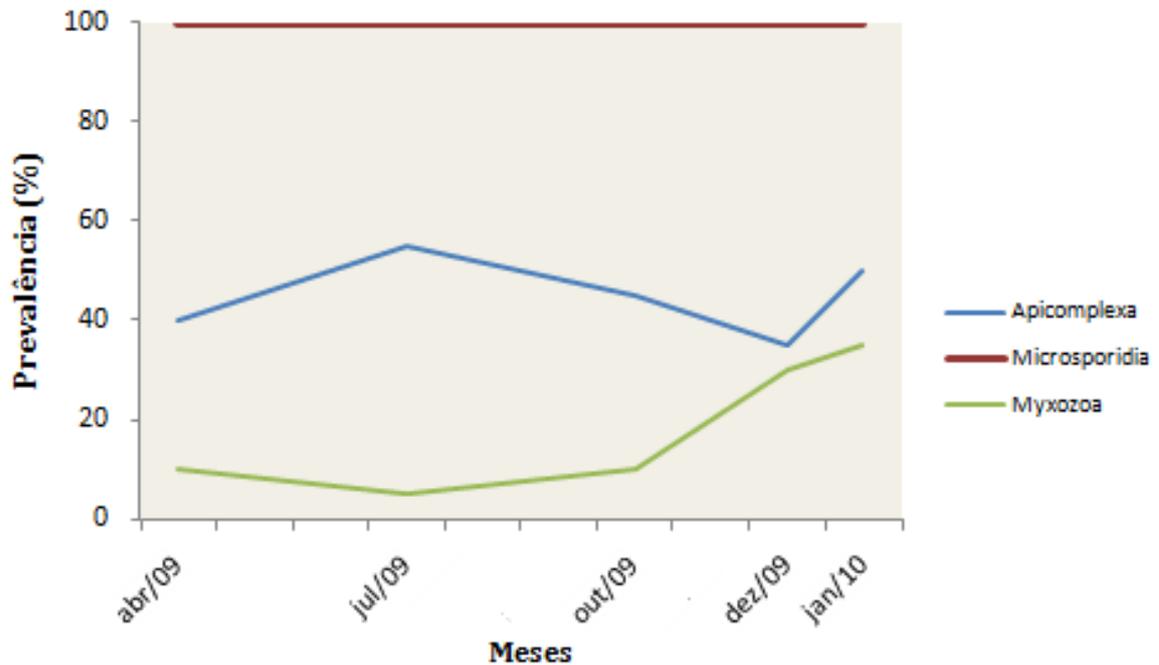


Figura 15: Gráfico demonstrando a prevalência parasitária nos meses de coleta.

Do filo Microsporidia foram visualizados esporos semelhantes a morfologia dos microsporídios pertencentes ao gênero *Loma* Morrison e Sprague, 1981. Foram observados vários cistos arredondados de coloração esbranquiçada (Figuras 16 e 17), que quando comprimidos entre lâmina e lamínula (Figura 18) podiam-se visualizar os esporos (Figura 29). Este parasito apresentou localização multifocal (vários órgãos) (Figura 20), sendo que 73% dos cistos se localizavam nas nadadeiras.

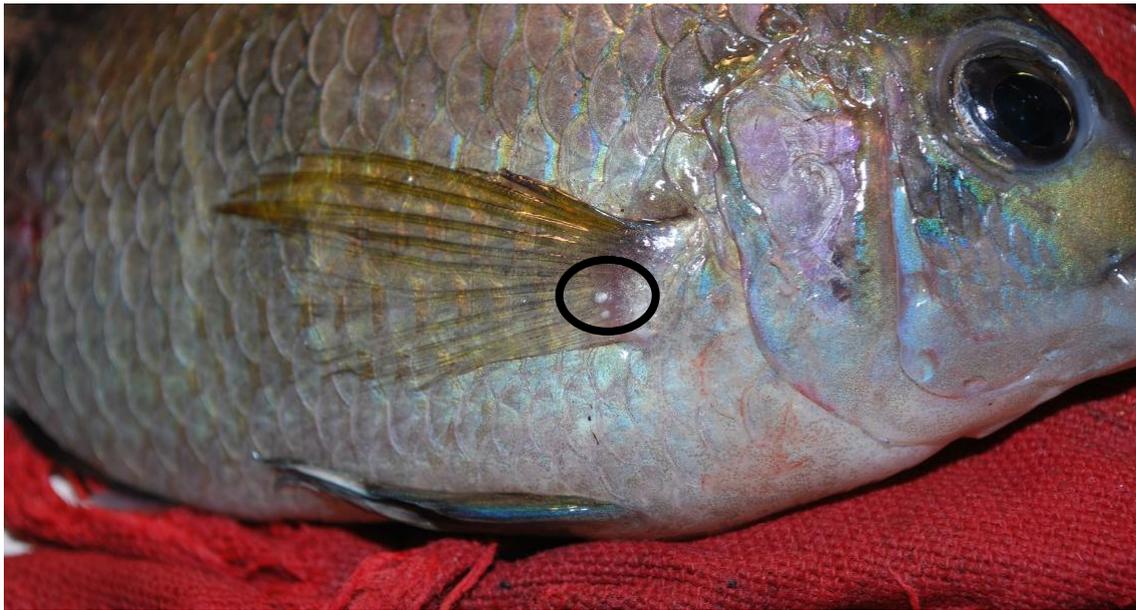


Figura 16: Cisto de microsporídio na nadadeira de *A. plagiozonatus*.  
Fonte: Acervo LPCA, 2009.

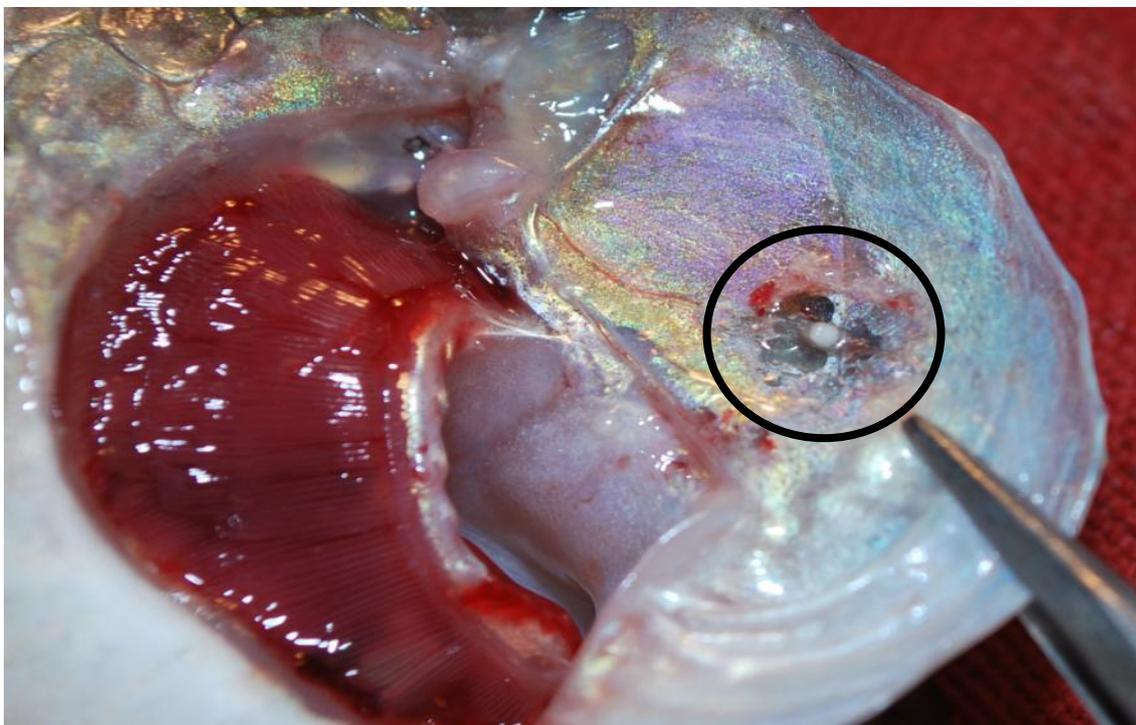


Figura 17: Cisto de microsporídio no opérculo de *A. plagiozonatus*.  
Fonte: Acervo LPCA, 2009.

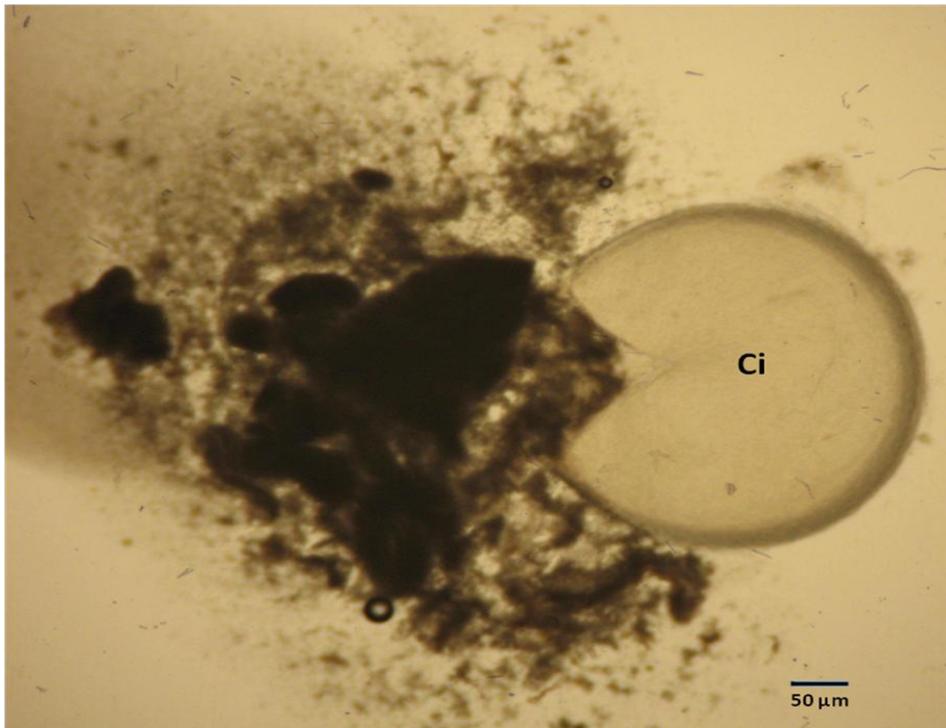


Figura 18: Cisto (Ci) de microsporídio comprimido entre lâmina e lamínula.  
Fonte: Acervo LPCA, 2009.

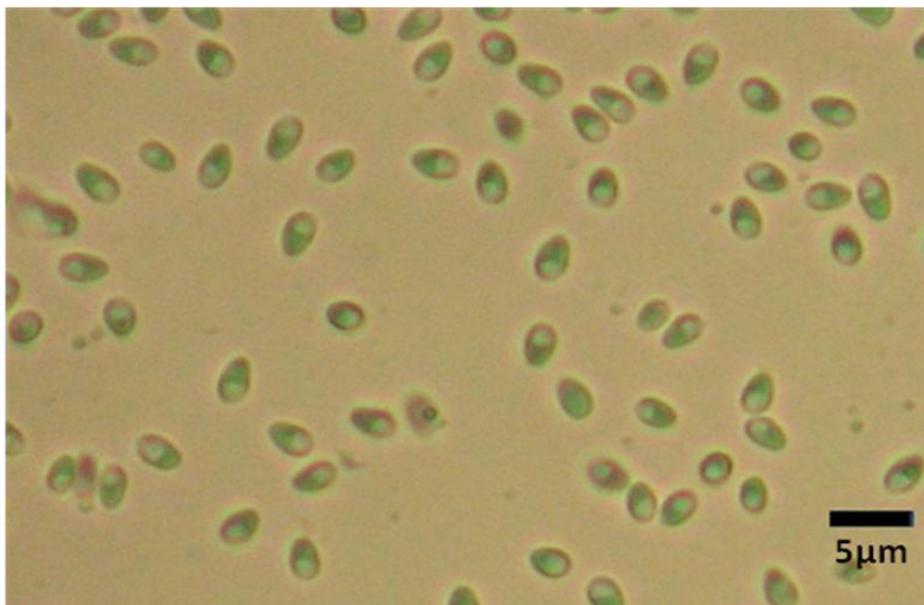


Figura 19: Esporos de microsporídios observados em ML.  
Fonte: Acervo LPCA, 2009.

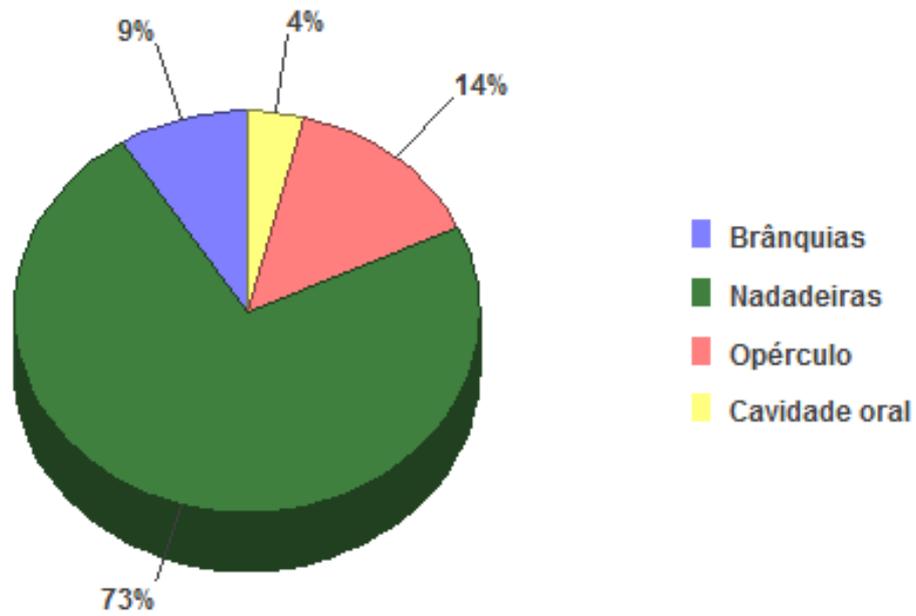


Figura 20: Distribuição dos microsporídios nos diferentes órgãos de *A. plagiozonatus*.

Do filo Myxozoa, foi encontrado na bexiga urinária esporos de um parasito com formato triangular (Figura 21), com morfologia semelhante a *Triangulamyxa* sp. (AZEVEDO *et al.*, 2005), quando observado à ML.

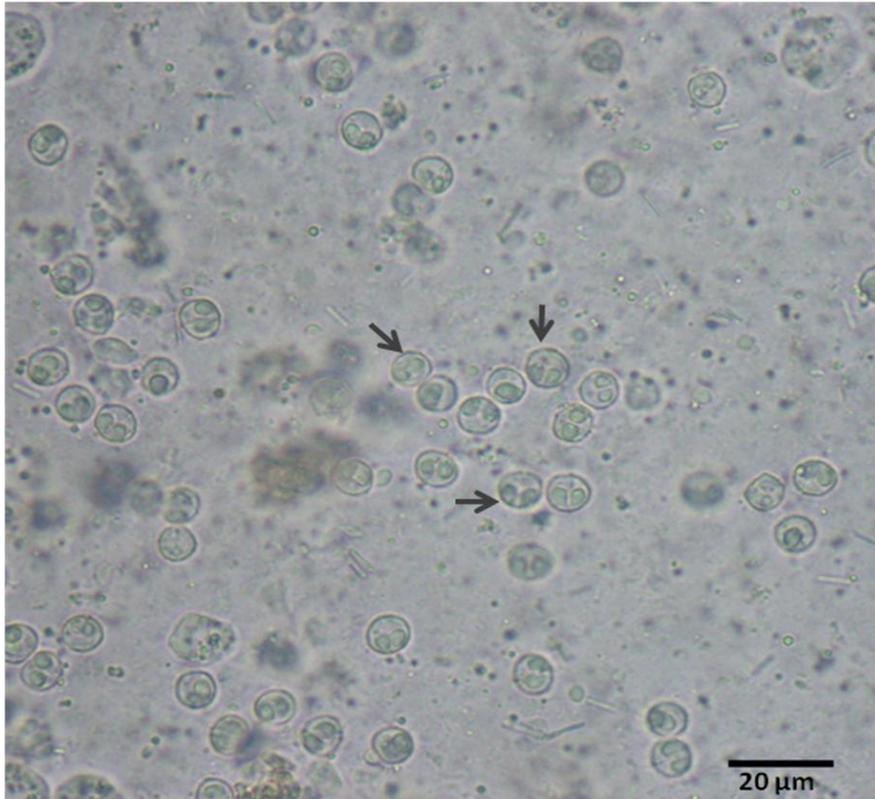


Figura 21: Esporos de mixosporídio encontrado na bexiga urinária de *A. plagiozonatus*.  
Fonte: Acervo LPCA, 2009.

No hepatopâncreas, foi encontrado o apicomplexa do gênero *Calyptospora*, bem como a presença de larvas de nematóides.

Em *A. plagiozonatus*, macroscopicamente, os hepatopâncreas apresentaram coloração pálida (Figura 22) a lesões escuras no parênquima hepático.

Nos hepatopâncreas com coloração mais clara foi observada a presença de esporocistos maduros de *Calyptospora* sp., pouco abundantes, constituídos por aglomerados de localização focal, com presença de uma parede acidófila delimitando-os em uma área circunscrita.



Figura 22: Parênquima hepático demonstrando coloração pálida, observado macroscopicamente durante a necropsia.

Fonte: Acervo LPCA, 2009.

A presença de oocistos de *Calyptospora* sp. foi facilmente observada em microscopia de luz, formando vacúolos parasitóforos com 4 esporozóitos (Figura 23A). Os vacúolos parasitóforos encontrados nesta espécie de peixe tiveram localização difusa no hepatopâncreas, variando de dimensão, mas sempre com quatro esporozóitos no interior de cada vacúolo.

Embora aparentemente a infecção dos fígados tenha sido sincronizada, em alguns casos, além dos esporocistos maduros, oocistos não esporulados foram observados dispersos entre os hepatócitos (Figura 23B).

Nos hepatopâncreas com coloração mais escurecida foram observadas a presença de formas imaturas abundantes dos coccídeos, o que na análise histopatológica, foi evidenciada pela presença de um grande número de corpos

melanomacrofágicos (Figuras 23C e 23D) dispersos por todo o órgão de forma difusa e com coloração bastante escura, variando do amarelo ao marrom.

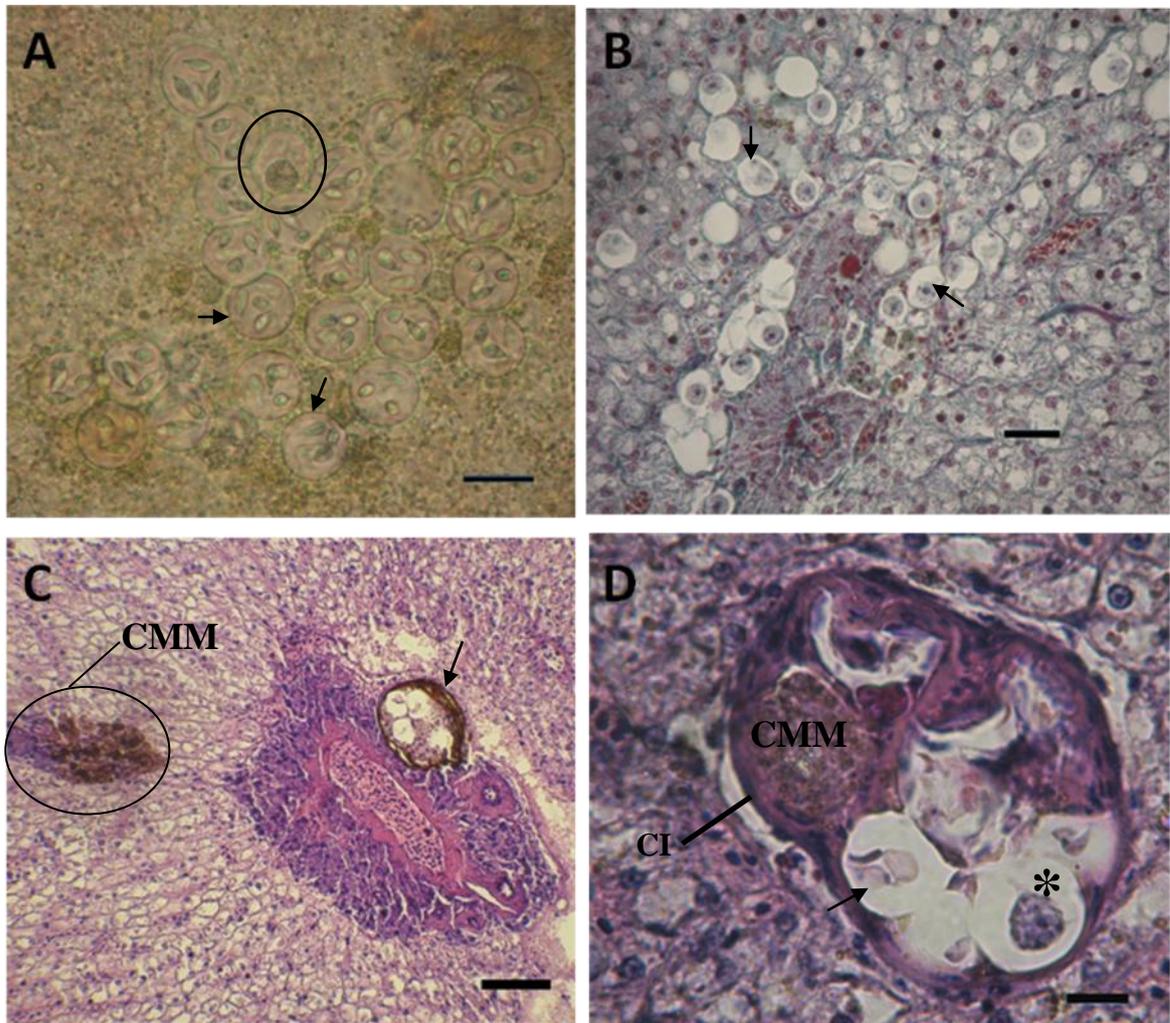


Figura 23: Oocistos de *Calyptospora* sp. A- Predominância de esporocistos maduros (seta) observados em ML, a fresco, notar a presença de um esporocisto na forma imatura (circulo). B- Esporocistos imaturos entre os hepatócitos (seta) (coloração Tricrômico de Gomori). C- Oocisto (seta) localizado na porção pancreática do hepatopancreas, notar a presença dos corpos melanomacrofágicos (CMM). (coloração HE). D- Oocisto contendo esporocistos maduros (seta) e imaturos (\*), notar a presença da capsula hialina (CI) e corpos melanomacrofágicos. Escala: 20µm.

## 5 DISCUSSÃO

Não existe registro anterior sobre índices de prevalência sobre os microparasitas (microsporídios, myxosporídios e coccídios) observados neste estudo, bem como sobre a ocorrência destes microparasitas.

Na costa brasileira, provenientes do mesmo local de coleta, existe apenas a descrição da ocorrência do mixosporídio da ordem Multivalvulida *Kudoa aequidens* (Casal *et al.*, 2008b), em que foi observada a prevalência de 35,7% na musculatura sub-opercular de *A. plagiozonatus*. No entanto, este parasita não foi encontrado na amostra coletada para este estudo.

Os esporos de mixosporídios encontrados neste estudo, pertenciam a ordem bivalvulida (presença de duas capsulas polares e duas valvas), apresentaram-se de maneira isolada na bexiga urinária dos exemplares analisados, não sendo observada formação de cistos. A prevalência deste parasito foi muito baixa (18%) quando comparada a outras espécies de mixosporídios, destacando o gênero *Tryangulamixa* que foi descrito com uma prevalência de 40% em peixes selvagens de ambiente estuarino (Matos *et al.*, 2005). Martins *et al.* (1999) chega a descrever 100% de parasitismo por *Myxobolus colossomatis* e *Henneguya piaractus* em peixes de cultivo.

Esta é a primeira vez que foi verificada a ocorrência de tal parasito em *A. plagiozonatus*, o que implica dizer que com estudos posteriores em biologia molecular, provavelmente darão origem a uma nova espécie ou novo gênero.

A elevada prevalência de microsporídios (100%) e sua localização multifocal indica que esta área geográfica pode ser utilizada como referência para estudos de levantamento epidemiológico desta parasitose.

Não há registros da prevalência de microsporídios na razão de 100% na região amazônica. Estudos relacionando a prevalência de microsporidioses nesta região tem descrito valores inferiores: 37,5% para *Amazonspora hassar*, 34% para *Loma myrophis*,

45% para *Microsporidium brevirostris* e 40% para *Potaspota morhaphis* (Azevedo & Matos, 2003; Azevedo & Matos, 2002; Matos & Azevedo, 2004b; Casal *et al.*, 2008a).

Segundo Kubitzka & Kubitzka (2004), a concentração de células produtoras de muco na região da cabeça e do tronco é maior do que nas nadadeiras, isso pode explicar a maior incidência de microsporídios nesta região, visto que o muco dos peixes é uma das barreiras mais importantes contra organismos patogênicos.

Com relação aos coccídeos, as agregações parasitárias raramente provocaram uma resposta do hospedeiro, observou-se apenas leve compressão dos hepatócitos adjacentes a localização do parasita.

Nos peixes, os corpos melanomacrofágicos, normalmente, estão presentes no tecido hepático e são constituídos por células cheias com grânulos pigmentares castanho-escuro, tal como visto na coloração de rotina (HE) (Manera *et al.*, 2000). No entanto, o excesso deste pode indicar reação inflamatória celular, processamento de antígenos e/ou exposição a um agente externo. Alguns autores também propuseram desses corpos como biomarcadores de degradação ambiental e poluição (Couillard & Hodson, 1996).

Os dados amostrais do IHS foram submetidos ao Teste-*t* de Student para amostras independentes, onde o valor de *t* foi 6,0679, altamente significativo, com  $p < 0,0001$  (bilateral). Portanto o parasitismo por *Calyptospora* sp influencia no IHS (%) na espécie de peixe estudada, isto devido tanto a presença do parasita quanto a presença de pigmentos melanomacrofágicos, estes últimos que apesar de presentes em fígados normais mostraram-se abundantes nos peixes parasitados.

Estes dados são importantes para verificar a influencia do parasita sobre o metabolismo do hospedeiro, uma vez que, alguns autores relacionam o aumento do IHS% com ajustes bioquímicos e fisiológicos necessários para manter a homeostasia em

resposta a agressores ambientais, como aquelas envolvidas nas repostas leucocitárias às infecções ou produção de eritrócitos para reposição sanguínea em processos anemiantes (Tavares-Dias & Mataqueiro, 2004; Tavares-Dias *et al.*, 2000).

Esch (1988) observou que a prevalência das infecções parasitárias estão associadas a fatores fisiológicos como a produção de hormônios e muco, portanto, estes fatores e diferenças de comportamento entre os sexos podem produzir uma pequena tendência nos níveis de infecção entre machos e fêmeas. No entanto, nesta pesquisa não foi detectada influência do sexo do hospedeiro sobre a comunidade parasitária.

Os padrões de ocorrência de multiparasitismo observados, segundo Tavares-Dias *et al.* (2001) podem estar relacionados em maior ou menor grau aos efeitos dos fatores abióticos como: a concentração de oxigênio e temperatura da água ou fatores bióticos como a espécie hospedeira, seu comportamento, migrações, imunidade ou à interação entre estes fatores.

Kennedy *et al.* (1997) e Overstreet (1997) consideraram que populações de parasitas podem responder positivamente a impactos antrópicos, enquanto outros podem responder negativamente, assim, eles se tornam ferramentas difíceis para prever os efeitos nas populações de parasitas.

O estudo da ecologia de parasitas de peixes oferece informações importantes não só a respeito de seus hospedeiros, mas também do ambiente de maneira geral. Isso pode ser evidenciado, já que as alterações ambientais, principalmente as que decorrem de oscilações da dinâmica hidrológica, servem para justificar a presença ou a ausência de determinadas espécies de parasitas, bem como sua prevalência (Eiras *et al.*, 2010).

## 6 CONCLUSÃO

- A prevalência dos microsporídios nos exemplares estudados foi de 100%, dos mixosporídios 18% e dos Apicomplexa de 45%.
- A distribuição dos parasitos nos órgãos se deu de maneira distinta, sendo que a localização dos microsporídios foi multifocal, observando-se a preferência parasitária pelas nadadeiras.
- Concluiu-se que o parasitismo por *Calyptospora* sp aumenta o IHS (%) na espécie de peixe estudada, isto devido tanto a presença do parasita quanto a presença de pigmentos melanomacrofágicos.
- Não foi observada relação de sazonalidade com a prevalência dos parasitas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVAREZ-PELLITERO, P.; BARJA, J.L. **Patologia en Acuicultura**. Mundi Prensa Libros. S.A . Madrid, 1988. 550p.
- ANDREWS, C. The ornamental fish trade and fish conservation. **J. Fish Biol.**, v. 37 (Supplement A), p.53-59, 1990.
- AXELROD H.R. **The most complete colored lexicon of cichlids**. 2ª edição. TFH Publications. NJ, USA. 1996. 864p.
- AYRES, M. ; AYRES-JUNIOR, M. ; AYRES, D. L. ; SANTOS, A. S. ; AYRES, L. L. **Bioestat 5.0 aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém: IDSM, 2007. 364p.
- AZEVEDO, C.; MATOS, P.; MATOS, E. Morphological Data of *Calyptospora spinosa* n. sp. (Apicomplexa, Calyptosporidae) Parasite of *Crenicichla lepidota* HEÖKEL, 1840 (Teleostei) from Amazon River. **Europ.J.Protistol.** 29, 171-175. May 28, 1993.
- 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**, 18, 475-79. 1995.
- AZEVEDO, C.; MATOS, E. Light and electron microscopic study of a Myxosporean, *Tetrauronema desaequalis* n. sp. (Fam. Tetrauronematidae), from Amazonian fish. **Journal of Parasitology**, 82: 288-291. 1996.
- AZEVEDO, C.; CORRAL, L.; MATOS, E. *Myxobolus desaequalis* n. sp. (Myxozoa, Myxosporea), parasite of the Amazonian freshwater fish, *Apteronotus albifrons* (Teleostei, Apteronotidae). **Journal of Eukaryotic Microbiology**, 49: 485-488. 2002.

- AZEVEDO, C.; MATOS, E. *Amazonspora Hassar* n. gen. and n. sp. (Phylum Microsporídia, Fam. Glugeidae), a parasite of the amazonian teleost *Hassar orestis* (Fam. Doradidae). **J. Parasitol.**, 89 (2), p. 336-341. 2003.
- AZEVEDO, C.; CORRAL, L.; MATOS, E. Ultrastructure of *Triangulamyxa amazonica* n. gen. and n. sp. (Myxozoa, Myxosporea), a parasite of the Amazonian freshwater fish, *Sphoeroides testudineus* (Teleostei, Tetradontidae). **European Journal of Protistology**, 41. p. 57–63. 2005.
- 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. Eukaryotic Microbiology**, 55(3), pp. 229–234. 2008.
- BATISTA, V. S.; ISAAC, V. J.; VIANA, J. P. Exploração e manejo dos recursos pesqueiros na Amazônia. In: **A pesca e os recursos pesqueiros na Amazônia. Manaus: Ibama/Pro-varzea**. RUFFINO, M. L. (Ed.). p. 63-151, 2004. 272p.
- BÉKÉSI, L.; SZÉKELY, C; MOLNÁR, K. Atuais conhecimentos sobre Myxosporea (Myxozoa), parasitas de peixes. Um estágio alternativo dos parasitas no Brasil. **Braz. J. vet. Res. anim. Sci.**, São Paulo, v. 39, n.5, p.271-276.2002.
- BRASIL, P.; BONFIM DE LIMA, D. ; MOURA, H. Microsporidiose humana na síndrome de imunodeficiência adquirida. **Rev. Ass. Med. Brasil**, 43(3): 254-64. 1997.
- BONAR, C. J. ; POYNTON, S. L. ;SCHULMAN, F. Y.; RIETCHECK, R. L.; GARNER, M. M. Hepatic *Calyptospora* sp. (Apicomplexa) infection in a wild-born, aquarium-held clutch of juvenile arapaima *Arapaima gigas* (Osteoglossidae). **Dis Aquat Organ.** Jun 12;70(1-2):81-92. 2006.

- BRUM, M.J.I.; GALETTI JR., P.M. Teleostei group plan karyotype. **J. Comp. Biol.**, 2: 91-102. 1997.
- CASAL, G.; MATOS, E.; AZEVEDO, C. Ultrastructural data on the spore of *Myxobolus maculatus* n. sp. (phylum Myxozoa), parasite from the Amazonian fish *Metynnis maculatus* (Teleostei). **Diseases of Aquatic Organisms**, 51: 107-112. 2002.
- 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.**, 92(4), 2006, pp. 817–821. 2006.
- CASAL, G.; MATOS, E.; TELES-GRILLO, M.L.; AZEVEDO, C. A new microsporidian parasite, *Potasporea morhaphis* n. gen., n. sp. (Microsporidia) infecting the Teleostean fish, *Potamorhaphis guianensis* from the River Amazon. Morphological, ultrastructural and molecular characterization. **Parasitology** 135, 1053–1064. 2008a.
- 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. 2008b.
- CASAL, G. **Microsporidioses e Mixosporidioses da ictiofauna portuguesa e brasileira: Caracterização ultraestrutural e filogenética.** Tese (Doutorado em Ciências Biomédicas). Porto-Portugal. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto, 2009. 249 p.
- CAVALIER-SMITH, T. Only six kingdoms of life. **Proc. R. Soc. Lond. B.** 271, 1251–1262. 2004.

- CAVALIER-SMITH, T. A revised six-kingdom system of life. **Biol. Rev.** 73, 203-266. 1998.
- CHAO, N. L. A draft of Brazilian freshwater fishes for the hobby-a proposal to IBAMA. **Ornamental Fish International Journal**, v.23, p. 11-19, 1998.
- 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, 2001. 310p.
- CHAPMAN, F.A.; FITZ-COY, S.A.; THUNBERG, E.M.; ADAMS, C.M. United States trade in ornamental fish. **J. World Aquacult. Soc.**, v. 28, p.1-10, 1997.
- COUILLARD, C. M.; HODSON, P. V. Pigmented macrophage aggregates: a toxic response in fish exposed to bleached-kraft mill effluent? **Environmental Toxicology and Chemistry** 15, 1844–1854p. 1996.
- DAVENPORT, K.E. Characteristics of the current international trade in ornamental fish, with special reference to the European Union. **Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.**, v. 15, n. 2, 1996. p. 435-443.
- EIRAS, J. C. **Elementos de Ictioparasitologia**. Fundação Engenheiro António de Almeida. Porto, 1994. 339p.
- EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C. **Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes**. Maringá: EDUEM, 2000. 173p.
- EIRAS, J. C. Aspectos gerais da patologia das parasitoses da 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, 2004. 143-156p.
- EIRAS, J.C., TAKEMOTO, R.M., PAVANELLI, G.C. **Diversidade dos parasitas de água doce do Brasil**. Ed. Clichetec. Maringa. 2010. 333p. il.

- FAO (Fundo da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação). **O estado mundial da pesca e aquicultura**. Roma.1999. 112p.
- FURTADO, L. G. Dinâmicas sociais e conflitos da pesca na Amazônia. In: **Conflitos Ambientais no Brasil**. ACSELRAD, Henri (org.), Rio de Janeiro: Relume Dumará: Fundação Heinrich Boll. 2004. p.57-71.
- FURTADO, L. G. Uma visão regional da pesca artesanal na Amazônia, sob a perspectiva antropológica. In: **Nas redes da pesca artesanal**. COSTA, A. L. Brasília, Ibama, p. 183-190. 2007. 308p.
- GENOVEZ, L. W.; PILARSKI, F.; FUJIMOTO, R. Y. **Levantamento parasitológico de peixes oriundos de reservatórios da região de Buritama (Rio Tietê), Paranapanema (Represa Jurumirim) e Ilha Solteira (Rio Paraná)**. Disponível em:<http://www.caunesp.unesp.br/eventos/VII%20Reuniao/CD/resumos/Patologia/genovez.PDF>.> Acessado em: 19/11/2008.
- HOSSAIN, M., KIM, S. R.; OH, M. J. The lymphocystis diseases in the Olive flounder, *Paralichthys olivaceus* .**Univ. j. zool. Rajshahi Univ.** 26: 59-62. 2007.
- IBAMA. **Estatística da Pesca Brasil: Grandes Regiões e Unidades da Federação**. MMA. Diretoria Fauna e Recursos Pesqueiros, 2000.
- IBAMA. **Relatório da Reunião Nacional sobre Regulamentação Específica para Exploração de Peixes Ornamentais Marinhos**. Fortaleza. 36p. 2003.
- ISAAC, V. J. **Exploração e manejo dos recursos pesqueiros do litoral amazônico: um desafio para o futuro**. Brasil, 2010. Disponível em: <<http://cienciaecultura.bvs.br/pdf/cic/v58n3>. Acesso em: 14/01/2010.
- JUNK, W. J. Ecology, fisheries and fish culture in Amazonia. In: **The Amazon: limnology and landscape ecology of a mighty tropical river and its basin**. SIOLI, H. (Ed.). Netherlands: W. Junk publications p. 443-476. 1984.

- KENNEDY, C. R.; DI CAVE, D. ; BERRILLI, F. ; ORECCHIA, P. Composition and structure of helminth communities in eels *Anguila anguila* from Italia coastal lagoons. **Journal of Helminthology** 71, p. 35-40. 1997.
- 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. Cichlid Fishes from the La Plata Basin. Part V. Description of *Aequidens plagiozonatus* sp. n . (Teleostei, Cichlidae) from the Paraguay River Syste. **Zoologica Scripta**, Vol. 13, No. 2, pp. 155-159, 1984.
- KULLANDER, S. O. Ichthyological Exploration of Freshwaters An international journal for field-orientated ichthyology. v. 17, n. 4. P.289-398, il. Dez. 2006.
- LEE, S.C.; CORRADI, N.; BYRNES, E.J.; TORRES-MARTINEZ, S.; DIETRICH, F.S.; KEELING, P.J.; HEITMAN, J. Microsporidia evolved from ancestral sexual Fungi. **Curr. Biol.** 18: 1675-1679. 2008.
- LOM, J.; DYKOVÁ, I. **Protozoan Parasites of Fishes**. Amsterdam, Elsevier, 315 p. 1992.
- LOM, J.; DYKOVÁ, I. Myxozoan genera: definition and notes on taxonomy, life-cycle terminology and pathogenic species. **Folia Parasitologica** 53: 1-36. 2006
- LUQUE, J.L. Parasitologia de peixes marinhos da América do Sul: estado atual e perspectivas. In: RANZANI-PAIVA, M.J.T., TAKEMOTO, R.M., LIZAMA, M.A.P. **Sanidade de organismos aquáticos**. Editora Varela, São Paulo, Brasil, 199-215p. 2004.
- MALTA, J. C. O. Os peixes de um lago de várzea da Amazônia central ( lago Janauacá, rio Solimões) e suas relações com crustáceos ectoparasitas (Brachiura: Argulidae). **Acta Amazonica**, 14(3-4): 355-372.1984.

- MANERA, M. ; SERRA, R. ; ISANI, G. ; CARPENE, E. Macrophage aggregates in gilthead sea bream fed copper, iron and zinc enriched diets. **Journal of Fish Biology** 57, 457–465p. 2000.
- MARTINS, M. L. ; SOUZA, V. N. ; MORAES, J. R. E. ; MORAES, F. R. ; COSTA, A. J. Comparative evaluation of the susceptibility of cultivated fishes to the natural infection with myxosporean parasites and tissue changes in the host. **Rev. Bras. Biol.** vol.59, no.2, São Carlos, May, 1999
- 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.** Belém-PA. v.36, p.83 - 99, 2001.
- MATOS, E.; AZEVEDO, C. Fine structure of a new species, *Loma myrophis* (Phylum Microsporidia), parasite of the Amazonian fish *Myrophis platyrhynchus* (Teleostei, Ophichthidae). **Europ. J. Protistol.** 37, 445–452. 2002.
- MATOS, E.; MATOS, P.; CASAL, G.; GIESE, E.; CORRAL, L.; AZEVEDO, C. Dados ultra-estruturais de esporos de microsporídios (Phylum Microsporidia) da fauna ictiológica da Região Amazônica. **Rev. Cienc. Agrár.**, Belém, 39, p. 95-108. jan./ jun. 2003a.
- MATOS, E.; CORRAL, L.; AZEVEDO, C. Ultrastructural details of the xenoma of *Loma myrophis* (phylum Microsporidia) and extrusion of the polar tube during autoinfection. **Dis Aquat Organ.** Apr 24;54(3):203-7. 2003b.
- 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 a.

MATOS, E.; AZEVEDO, C. Ultrastructural Description of *Microsporidium brevirostris* sp. n., Parasite of the Teleostean *Brachyhypopomus brevirostris* (Hypopomidae) from the Amazon River. **Acta Protozool.** 43: 261 – 267. 2004b.

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

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

MATTHEWS, R. A.; MATTHEWS, B. F. Cell and tissue reactions of turbot *Scophthalmus maximus* (L.) to *Tetramicra brevifilum* gen.n., sp.n. (Microspora). **J. Fish Diseases**, 2: 495-515. 1980.

MCCLELLAND, R. S.; MURPHY, D. M.; CONE, D. K. Report of Spores of *Henneguya salminicola* (Myxozoa) in Human Stool Specimens: Possible Source of Confusion with Human Spermatozoa. **Journal of clinical microbiology.** p. 2815–2818, Nov. 1997.

MINISTERIO DA PESCA E AQUICULTURA (MPA). Produção Pesqueira e Aquícola Estatística 2008/2009. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/mpa/seap/Jonathan/mpa3/dados/2010/Docs/Caderno%20consolidação0dos%20dados%20estatiscos%20final%20curvas%20-%20completo.pdf>.> Consultado em: 07/11/2010.

MONTEIRO-NETO, C.; FERREIRA, B.P.; ROSA, I.L.; ROCHA, L.A.; ARAÚJO, M.E.; GUIMARÃES, R.Z.P.; FLOETER, S.R.; GASPARINI, J.L. **The marine**

**aquarium fisheries and trade in Brazil. A preliminary report submitted to the IUCN.** Fortaleza, 2000.

NELSON, J.S. **Fishes of the world.** John Wiley & Sons Inc. NY, USA. 4rd Edition.. 2006. 601p.

OLIVEIRA, G. M. **Pesca e aquicultura no Brasil, 1991-2000: produção e balanço comercial.** Brasília: IBAMA, 2005.

ONAKA, E.M. Principais parasitoses em peixes de água doce no Brasil. In: **Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo.** Tavares-Dias, M. (Organizador). Embrapa Amapá, Macapá. Capítulo 21: p. 536-574. 723p. 2009.

ORR, R.T. **Biologia dos vertebrados.** Ed. Roca. 5ª edição. São Paulo-Sp. 1986. 508p.

OVERSTREET, R. M. Parasitological data as monitors of environmental health. **Parasitologia**, v. 39, n. 3, p. 169-175, 1997.

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

PAVANELLI, G. C.; TAKEMOTO, R. M. ; MACHADO, P.; LIZAMA, M. ; TANAKA, L. K. ; GUIDELLI, G.; ISAAC, A.; CARVALHO, S. ; FRANÇA J. G. **Ictioparasitologia.** Disponível em: <<http://www.peld.uem.br/CompBioticoIctioparas.PDF>> Acesso em: 17/05/2010

PEREIRA, R. **Peixes de nossa terra.** 1ª edição. Ed. Nobel. São Paulo, 1986. 495p.

POUGH, F. H.; HESER, J. B. ; McFARLAND, W. N. **A vida dos vertebrados.** 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1999. 798 p.

ROBERTS, R.J. **Patologia de los peces.** Madrid: Mundi-Prensa. 366p. 1981.

SAMPAIO, C.L.S.; ROSA, I.L. Comércio de peixes ornamentais marinhos na Bahia: passado, presente e futuro. **Boletim da SBI.** Nº 71, João Pessoa, 2003.

SANTOS, G. M.; SANTOS, A. C. M. Sustentabilidade da pesca na Amazônia. **Estudos Avançados**, v. 19, n.54, 2005.

**Secretaria Estadual de Aquicultura e Pesca – Sepaq.** Disponível em:

<<http://www.sepaq.pa.gov.br/index.php?q=node/23>. >. Acessado em: 02/03/2010.

SILVA, A. M.; LIMA, L. C. **Caracterização fisiográfica da bacia do rio Peixe-Boi.**

Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia Civil). Belém:

Universidade da Amazônia/Centro de Ciências Exatas e Tecnologia, 2000. 52p.

TAJDARI, J.; MATOS, E.; MENDONÇA, I.; AZEVEDO, C. Ultrastructural

Morphology of *Myxobolus testicularis* sp. n., Parasite of the Testis of

*Hemiodopsis microlepis* (Teleostei: Hemiodontidae) from the NE of Brazil. **Acta**

**Protozool.** 44: 377 - 384. 2005.

TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, de los A. P.; GUIDELLI, G M.; PAVANELLI, G. C.

Parasitos de peixes de águas continentais. 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.

TANABE, Y.; WATANABE, M.; SUGIYAMA, J. Are *Microsporidia* really related to

Fungi?: a reappraisal based on additional gene sequences from basal fungi.

**Mycology Research**, 106: 1380-1391.2002.

TAVARES-DIAS, M.; MARTINS, M. L.; MORAES, F. R.; KRONKA, S. N. Fator de

condição e relação hepato e esplenossomática em teleósteos de água doce

naturalmente parasitado **Acta Scientiarum.** 22(2):533-537, 2000.

TAVARES-DIAS, M.; MATAQUEIRO, M. I. Características hematológicas,

bioquímicas e biométricas de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887

(Osteichthyes: Characidae) oriundos de cultivo intensivo. **Acta Scientiarum.**

**Biological Science.** Maringá, v. 26, no. 2, p. 157-162, 2004.

- THATCHER, V. E. . Amazon Fish Parasites. **Amazoniana**. 11: 263-571. 1991.
- VAZZOLER, A.E.A. de M. **Biologia da reprodução dos peixes teleósteos: teoria e prática**. Ed. EDUEM. São Paulo. 1996. 169p.
- VIDAL JR., M. V. Peixes ornamentais: reprodução em aquicultura. In: **Panorama da Aquicultura**, set./out., 2003. p. 22-27.
- VIDEIRA, M. N.; PAIXÃO, K. C. G.; OLIVEIRA, M. V.; ALBUQUERQUE, F. E. A.; MATOS, E. Dados preliminares da ocorrência de coccidiose em *Colomesus psittacus* Schneider, 1801 (Tetraodontidae) no rio Tocantina, Cametá –PA. In: XVII Encontro Brasileiro de Ictiologia. **Anais do XVII Encontro Brasileiro de Ictiologia**. Itajaí-Sc. 2007.
- 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**. Fortaleza-Ce. 2008.
- WILLIAMS, H.; JONES, A. **Parasitic worms of fish**. Taylor & Francis, 1994. 593p.
- WOOTTON, R. J. **Ecology of teleost fishes**. London-New York, Chapman and Hall. 1990. 404p.

**ANEXO 1: Ficha para coleta de material laboratorial.**



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

PESO TOTAL	
PESO EVISCERADO	
COMPRIMENTO TOTAL	
COMPRIMENTO PADRÃO	

- ANÁLISE DA PRESENÇA DE PARASITAS
  
- OBSERVAÇÕES

**ANEXO 2 - Ficha do livro de registro do LPCA/UFRA .**

<b>Nº do Bloco</b>	<b>Data</b>	<b>Órgão</b>	<b>Fixador</b>	<b>Técnica</b>	<b>Animal</b>	<b>Observações</b>

**Prof. Tit. Dr. Edilson Rodrigues Matos**

**Coordenador do LPCA ; UFRA**

### ANEXO 3 - Ficha de processamento de material biológico – LPCA/UFRA

Data do início do processamento: \_\_\_\_\_

Material processado: \_\_\_\_\_

Local em que o material processado foi coletado: \_\_\_\_\_

Responsável pelo processamento: \_\_\_\_\_

Fixador utilizado: \_\_\_\_\_

Número de registro do material: \_\_\_\_\_

IMERSÃO	DATA	HORA	TEMPO
ALC. 70%			
ALC. 80%			
ALC. 90%			
ALC. ABS. I			
ALC. ABS. II			
ALC. ABS. III			
ALC. / XILOL			
XILOL I			
XILOL II			
PARAFINA I			
PARAFINA II			
PARAFINA III			

**Prof. Tit. Dr. Edilson Rodrigues Matos**

**Coordenador do LPCA/UFRA**

## ANEXO 4 - Ficha de preparação de material para microscopia eletrônica.

### PREPARAÇÃO DE MATERIAL PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA

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

( ) NORMAL

( ) MICROPARASITAS

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

INÍCIO FIM OBS

#### FIXAÇÃO

GLUTARALDEÍDO (T) 2/2,5/3,0/5,0 4°C...1/2/3 HS

LAVAGEM (T).....4°C.....1/2 HS (\*)

ÓSMIO (T) 1 / 1,5 / 2 / 2,5 %.....4°C.....1/2 HS

#### DESIDRATAÇÃO

#### MICROPARASITAS

ALC 50.....30'

30'.....1H .....1H

ALC 75.....30' (\*)

30' .....1H .....1H

ALC 90.....30'

60'.....1H .....1H

ALC 95.....30'

60'.....1H.....1H

ALC ABS I.....30'

60' .....1H .....2H

ALC ABS II.....30'

60' .....1H .....2H

ALC ABS III.....30'

30' .....1H .....1H

OX PROP I.....15'

15' .....2H .....2H

OX PROP II.....15'

15' .....2H .....2H

OX PROP III.....15'

15' .....1H .....1H

#### IMPREGNAÇÃO

OX PROP + EPON (A+B) (3:1)..... 30'.....30'.....24H

OX PROP + EPON (A+B) (2:1)..... 30'.....60'.....24H

OX PROP + EPON (A+B) (1:1)..... 30'(\*).....60'.....24H

OX PROP + EPON (A+B) (1:2)..... 30'..... 60'.....24H

OX PROP + EPON (A+B) (1:3)..... 30'.....60'.....24H

EPON TOTA AMBIENTE 30'/60'.....120'.....12/24 H

EPON TOTAL ESTUFA 60°C 30'.....30'.....30'/60'

#### INCLUSÃO

ENCAPSULAR E MANTER EM ESTUFA A 60° C.....3 DIAS

OBS: (\*) PODE DEIXAR A NOITE A 4°C