

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA



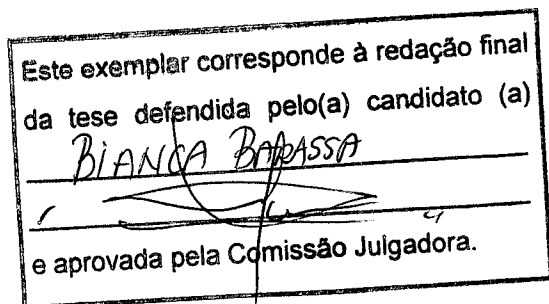
**ESTUDO DA SUSCEPTIBILIDADE À INFECÇÃO NATURAL POR
PARASITOS MYXOZOA (MYXOSPOREA: MYXOBOLIDAE) EM
DOURADO (*Salminus brasiliensis*) E PIAPARA (*Leporinus obtusidens*)
ORIUNDOS DE AMBIENTE NATURAL.**

Autora: Bianca Barassa

Orientador: Prof. Dr. Nelson da Silva Cordeiro

Co-orientador: Profa. Dra. Sarah Arana

**Tese apresentada ao Instituto de Biologia
da Universidade Estadual de Campinas
como parte dos requisitos exigidos para a
obtenção do título de Doutora em
Parasitologia.**



Campinas – SP

2009

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP

B231e	<p>Barassa, Bianca</p> <p>Estudo da susceptibilidade à infecção natural por parasitos Myxozoa (Myxosporea: Myxobolidae) em dourado (<i>Salminus brasiliensis</i>) e piapara (<i>Leporinus obtusidens</i>) oriundos de ambiente natural / Bianca Barassa. – Campinas, SP: [s.n.], 2009.</p> <p>Orientadores: Nelson da Silva Cordeiro, Sarah Arana. Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.</p> <p>1. Myxosporea. 2. <i>Leporinus obtusidens</i>. 3. <i>Salminus brasiliensis</i>. 4. Histopatologia. I. Cordeiro, Nelson da Silva. II. Arana, Sarah. III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. IV. Título.</p> <p>(scs/ib)</p>
--------------	--

Título em inglês: Study of susceptibility to the natural infection for parasites Myxozoa (Myxosporea: Myxobolidae) in dourado (*Salminus brasiliensis*) and piapara (*Leporinus obtusidens*) originating from natural environment.

Palavras-chave em inglês: Myxosporea; *Leporinus obtusidens*; *Salminus brasiliensis*; Histopathology.

Área de concentração: Parasitologia.

Titulação: Doutora em Parasitologia.

Banca examinadora: Nelson da Silva Cordeiro, Marlene Tiduko Ueta, Silmara Marques Allegretti, Maurício Laterça Martins, Maria José Tavares Ranzani de Paiva.

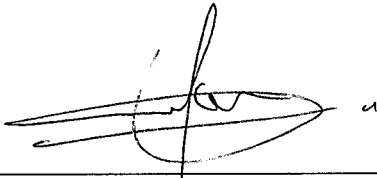
Data da defesa: 27/08/2009.

Programa de Pós-Graduação: Parasitologia.

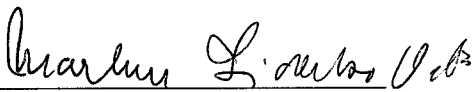
Campinas, 27 de agosto de 2009.

Banca Examinadora:

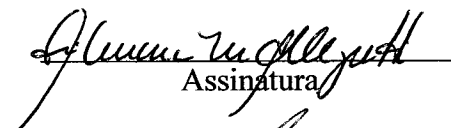
Prof. Dr. Nelson da Silva Cordeiro (Orientador)


Assinatura

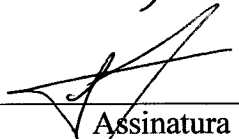
Profa. Dra. Marlene Tiduko Ueta


Assinatura

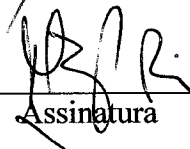
Profa. Dra. Silmara Marques Alegretti


Assinatura

Prof. Dr. Maurício Laterça Martins


Assinatura

Profa. Dra. Maria José Tavares Ranzani de Paiva


Assinatura

Prof. Dr. Luiz Eduardo Roland Tavares

Assinatura

Profa. Dra. Selma Giorgio

Assinatura

Profa. Dra. Ana Maria Aparecida Guaraldo

Assinatura

“Aos meus pais, Dirce e Luiz, pelo apoio e incentivo.”

“Ao meu marido, Rogério, pelo seu amor, mas principalmente pela amizade e compreensão.”

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Professor Doutor Nelson da Silva Cordeiro pela orientação, apoio, e principalmente pela confiança e amizade durante a realização deste trabalho.

À Professora Doutora Sarah Arana, do Departamento de Histologia e Embriologia do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas pela co-orientação, apoio e incentivo durante a realização deste trabalho.

Ao Professor Doutor Maurício Laterça Martins, do Departamento de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina, pela análise crítica do trabalho durante o exame prévio.

Às Professora Dotoras Marlene Tiduko Ueta e Silmara Marques Alegretti, do Departamento de Parasitologia do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, pela análise crítica deste trabalho durante o exame prévio, mas também pela consideração e incentivo.

Aos demais professores do Departamento de Parasitologia, pela amizade e colaboração.

Ao Doutor Paulo Sérgio Ceccarelli do Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais (ICMBIO-MMA), pelo apoio, confiança e amizade.

Aos funcionários do Departamento de Parasitologia pela colaboração e amizade.

Aos funcionários do ICMBIO-MMA pelo apoio técnico.

Aos colegas, Edson e Nádia, pela amizade e constante colaboração, possibilitando o compartilhamento de idéias.

À amiga Lucimara, pela amizade e incentivo desde a graduação.

RESUMO

A susceptibilidade à infecção natural por parasitos do filo Myxozoa foi avaliada em *Salminus brasiliensis* (dourado) e *Leporinus obtusidens* (piapara), oriundos de ambiente natural. Durante o período de 2005 a 2007, 60 dourados e 60 piaparas, foram colhidos no rio Mogi-Guaçu, em trechos a jusante da barragem da Cachoeira de Emas, localizada no município de Pirassununga, SP, Brasil. Os peixes foram capturados com o auxílio de tarrafas, transportados vivos para o laboratório, para análise. Fragmentos de tecidos de órgãos infectados foram fixados para estudo histopatológico e ultraestrutural. No dourado foi observada uma nova espécie de mixosporídio pertencente ao gênero *Myxobolus*: *Myxobolus* sp. 1, parasitando o fígado com 90% de prevalência. A análise histopatológica e ultraestrutural revelou que o parasito forma plasmódios brancos e de forma esférica que estão em contato direto com as células do hospedeiro. Expansões da parede do plasmódio foram observadas, o que permite ao parasito infiltrar-se entre os espaços intercelulares dos hepatócitos circunvizinhos. O desenvolvimento dos plasmódios no parênquima hepático não resultou em reação inflamatória por parte do hospedeiro. Na piapara foi observada uma nova espécie de mixosporídio pertencente ao gênero *Henneguya*: *Henneguya* sp. 1, parasitando as brânquias com 70% de prevalência. A análise histopatológica revelou que os plasmódios brancos e de forma arredondada foram do tipo intralamelar desenvolvendo-se em várias regiões do epitélio branquial, resultando no espessamento do epitélio do filamento e dilatação dos vasos sanguíneos. A análise ultraestrutural mostrou que a parede do plasmódio de *Henneguya* sp. 1 consiste de uma única membrana, a qual está em contato direto com as células do hospedeiro e possuem canais de pinocitose, que se estendem para o interior do plasmódio.

Palavras chave: Myxosporea, *Leporinus obtusidens*, *Salminus brasiliensis*, Histopatologia.

ABSTRACT

The susceptibility to natural infection by Myxozoan parasites was evaluated in *Salminus brasiliensis* (dourado) and *Leporinus obtusidens* (piapara), from the natural environment. During the period of 2005 to 2007, 60 dourado and 60 piapara were collected in the river Mogi-Guaçu, near Cachoeira de Emas, located in the municipality of Pirassununga, State of São Paulo, Brazil. Fish were captured with “net”, transported alive to the laboratory, for analysis. Tissue fragments of infected organs were fixed for histopathological and ultrastructural analysis. One myxosporean species were found in dourado: *Myxobolus* sp. 1, infected the liver with 90% of prevalence. Histopathological and ultrastructural analysis revealed that the parasite produced white and spherical plasmodia directly attached to the host cells. Enlarged plasmodium wall allowed the infiltration of parasite amongst intercellular spaces of the neighbour hepatocytes. The development of the plasmodia in the hepatic tissue did not result in inflammatory reaction of the host. One myxosporean species were found in piapara: *Henneguya* sp. 1, parasitizing the gills with 70% of prevalence. Histopathological analysis revealed white and round intralamellar plasmodia located in several regions of the gill. Consequently, thickening of the gill filament and enlarged of the blood vessels were observed. Ultrastructural analysis showed that the wall of the plasmodia of *Henneguya* sp. 1 was provided by a single membrane in direct contact with the host cells. It contained pinocytosed canals that extended into plasmodia.

Key words: Myxosporea, *Leporinus obtusidens*, *Salminus brasiliensis*, Histopathology.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. FILO MYXOZOA.....	4
3. OBJETIVOS.....	10
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
4.1 Colheita dos Peixes.....	11
4.2 Análise Macroscópica.....	13
4.3 Análise Microscópica.....	13
4.4 Estudo Taxonômico.....	13
4.4.1 Análise Morfológica.....	13
4.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura.....	14
4.5 Microscopia Eletrônica de Transmissão.....	14
4.6 Estudo Histopatológico.....	15
4.7 Análise Estatística dos Dados.....	15
5. RESULTADOS.....	16
Capítulo 1: Estudo morfológico e da interação parasito-hospedeiro de <i>Myxobolus</i>	17
sp. 1 (Myxozoa: Myxobolidae) infectando <i>Salminus brasiliensis</i> (Osteichthyes:	
Characidae) colhido no rio Mogi-Guaçu, Brasil.....	
Resumo.....	17
Abstract.....	18
Introdução.....	19
Material e Métodos	20
Resultados.....	21
Discussão.....	26

Referências.....	29
Capítulo 2: <i>Henneguya</i> sp. 1 (Myxosporea) infectando as brânquias de <i>Leporinus obtusidens</i> (Osteichthyes: Anostomidae) colhido no rio Mogi-Guaçu, Brasil: histopatologia e ultraestrutura.....	32
Resumo.....	32
Abstract.....	33
Introdução.....	34
Material e Métodos.....	35
Resultados.....	36
Discussão.....	43
Referências.....	46
6. CONCLUSÕES.....	50
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
8. ANEXO.....	58

1. INTRODUÇÃO

Os peixes representam aproximadamente 50% dos vertebrados, englobando cerca de 24.000 espécies. Entre essas, 96% são teleósteos, das quais 41% são encontradas em ambientes de água doce (VAZZOLER, 1996). Das 482 famílias de peixes, as oito maiores (Cyprinidae, Gobiidae, Cichlidae, Characidae, Loricariidae, Labridae, Balitaridae e Serranidae) abrangem aproximadamente 33% do número de espécies que, em sua maioria, representam grupos de água doce, e perfazem 40% de todos os peixes do planeta, distribuídos em 1% da superfície e em 0,01% da água (NELSON, 1994).

A ictiofauna Neotropical é a mais diversificada quando comparada com a de outras regiões do mundo, onde se estima que existam cerca de 8.000 espécies de peixes de água doce, taxonomicamente reconhecidas (SCHAEFER, 1998).

A ordem Characiformes apresenta 10 famílias, 237 gêneros e, pelo menos, 1343 espécies de peixes descritas, sendo um dos maiores grupos de peixes de água doce do mundo (NELSON, 1994). Estes organismos possuem ampla distribuição geográfica, sendo encontrados representantes na África do Sul e Central e América do Norte e Sul. Contudo, a maior diversidade é verificada na região Neotropical (BUCKUP, 1998). Faz parte desta ordem a família Characidae, considerada a maior e mais complexa em relação às demais, com aproximadamente 166 gêneros e 685 espécies de peixes e a família Anostomidae com 11 gêneros e 110 espécies (NELSON, 1984).

A família Characidae é composta de peixes de hábitos alimentares diversificados (herbívoros, carnívoros e onívoros) que exploram grande variedade de habitats. Entre os peixes mais conhecidos desta família, destaca-se *Salminus brasiliensis* Cuvier, 1816 (= *S. maxillosus* Valenciennes, 1849), conhecido popularmente por dourado, sendo uma espécie reofílica, piscívora, que ocorre na bacia do Prata (Argentina, Bolívia, Brasil, Paraguai e Uruguai). O dourado é um peixe nobre, pois apresenta carne de excelente qualidade, além de ser muito procurado por pescadores esportivos no ambiente natural e em pesque-pagues. É uma espécie de grande porte e com grande potencial para produção (FRACALOSSO et al., 2004; MAI & ZANIBONI-FILHO, 2005), sendo considerada espécie de grande importância comercial no Brasil.

A família Anostomidae é restrita à América do Sul e com representantes em todas as bacias hidrográficas do Brasil (NELSON, 1994). *Leporinus obtusidens* Valenciennes, 1837,

conhecido popularmente por piapara, é uma espécie reofílica de porte médio, chegando a medir até 40 cm de comprimento, que ocorre na bacia do Prata. Como as demais espécies do gênero *Leporinus*, a piapara possui hábito alimentar onívoro, alimentando-se de insetos, restos de peixes e vegetais (SANTOS, 2000) e tem valor comercial significativo.

Historicamente os peixes são recurso alimentar importante, sendo fonte protéica acessível até os dias de hoje, tanto pela exploração direta das populações naturais, como também de peixes provenientes de sistema de cultivo. Embora essas populações naturais de peixes pareçam ser inesgotáveis, a pesca predatória e/ou o comprometimento do ambiente natural têm contribuído para a sua redução, tornando-se inevitável que populações mundiais tornem-se cada vez mais dependentes de peixes obtidos e mantidos em sistema de cultivo.

A piscicultura, diferentemente da pesca, fundamenta-se na criação de peixes em ambiente artificial. No Brasil, destaca-se a piscicultura com ênfase para a intensificação dos sistemas de cultivo e domesticação de espécies nativas com potencial para a criação (MARTINS & ROMERO, 1996).

A piscicultura, entendida como produção de peixes em quaisquer de suas fases de desenvolvimento, é uma atividade importante e viável economicamente. O Brasil tem um dos maiores potenciais do mundo para o desenvolvimento da piscicultura, particularmente devido ao seu clima, diversidade de espécies, quantidade de água, tipo de solo e facilidade de acesso aos locais de produção. Essas condições e a carência alimentar observada em diversas regiões do mundo tornam a exploração desse potencial praticamente uma exigência social (CECCARELLI et al., 2000).

Segundo a FAO (2007), no Brasil, a produção aquícola total no ano de 2004 foi estimada em mais de 260.000 toneladas, o que representa receita de mais de R\$ 2 bilhões, havendo predomínio do cultivo de peixes de água doce com cerca de 65,8% de toda a produção. Com base nestas informações, existe uma previsão de que em 2030 o Brasil produza 21,347 milhões de toneladas de pescado por ano (FAO, 2007).

A piscicultura apresenta grande importância econômica, principalmente, para as regiões onde as propriedades rurais são de pequeno porte, apresentando-se, portanto, como uma opção de renda para o pequeno agricultor. Além da importância sócio-econômica desta atividade, o cultivo de pescado, quando bem estabelecidas às condições de manejo, produz alimento de qualidade e

ajuda a minimizar o impacto ambiental da pesca extrativista sobre as espécies de maior aceitação comercial (ADRIANO, 2004).

A mortalidade de peixes em geral é condicionada por uma associação de vários fatores, tais como alterações nos parâmetros físicos, químicos e biológicos. Desta forma, o estudo dos fatores biológicos causadores de morte e patogenia em peixes é de fundamental importância para subsidiar informações adequadas ao manejo, mediante a identificação da etiologia ou ainda para evitar a sua ocorrência.

Segundo Thatcher (1981), na natureza quase todos os peixes estão infectados com alguma espécie de parasito. Entretanto em ambiente natural as indicações patogênicas em peixes capturados são menos freqüentes do que em peixes provenientes de sistema de criação, pois existe um equilíbrio na relação parasito-hospedeiro. Em piscicultura este equilíbrio pode ser rompido devido a vários fatores, tais como, baixa qualidade da água, alimentação inadequada, alta densidade populacional, dentre outros.

A importância econômica dos parasitos não consiste apenas em seu caráter letal, muitas vezes, as parasitoses têm conseqüências importantes, mas não tão evidentes como a diminuição da eficiência de assimilação de alimento e da taxa de crescimento e diminuição do valor do produto final para comercialização (EIRAS, 1994). Sendo assim, a falta de conhecimento sobre as enfermidades que acometem os peixes, juntamente com a falta de condições adequadas para o seu cultivo, como o descuido no manejo sanitário e o intercâmbio de animais vivos entre os criadores contribuem para a sua mortalidade.

Dentre os patógenos que podem acarretar danos aos peixes, parasitos do filo Myxozoa Grasse, 1960, estão entre os que apresentam grande importância, por infectarem peixes economicamente importantes, podendo gerar lesões que comprometem o bom desempenho dos plantéis.

O estudo de mixosporídios em peixes da família Characidae (AZEVEDO et al., 1997; CASAL et al., 1997; MARTINS et al., 1997; MOLNÁR et al., 1998; CASAL et al., 2002; AZEVEDO & MATOS, 2003; BARASSA et al., 2003a,b; VITA et al., 2003; ADRIANO et al., 2005a,c; ADRIANO et al., 2006; CASAL et al., 2006), e da família Anostomidae (MARTINS et al., 1999; EIRAS et al., 2004a) vem sendo realizado por vários pesquisadores. No entanto, na literatura existe até o momento apenas uma descrição de mixosporídeos ocorrendo em *S. brasiliensis* e nenhuma em *L. obtusidens*.

2. FILO MYXOZOA Grasse, 1960

Os mixosporídeos são parasitos obrigatórios de peixes e raramente tem sido reportados infectando invertebrados, répteis e anfíbios (LOM & DYKOVÁ, 1995; KENT et al., 2001). Recentemente uma nova espécie foi assinalada infectando mamíferos terrestres (PRUNESCU et al., 2007). Atualmente são reconhecidas na literatura 2.180 espécies de mixosporídeos distribuídas em 60 gêneros, que parasitam principalmente peixes de água doce, tanto de ambiente natural como de sistema de criação (LOM & DYKOVÁ, 2006; SITJÁ-BOBADILLA, 2008). O gênero *Myxobolus* é o mais comum, com 792 espécies, incluindo 7 em anfíbios, seguido pelo gênero *Henneguya* com aproximadamente 204 espécies (LOM & DYKOVÁ, 2006). Considerando estes dois gêneros, apenas 24 espécies pertencentes ao gênero *Myxobolus* e 36 ao gênero *Henneguya* foram reportadas infectando peixes da fauna brasileira até a presente data.

A classificação dos mixosporídeos, ao longo da história, tem sofrido várias mudanças. Este grupo foi usualmente referido como sendo protozoários até o final da década de 90 do século passado. Desde então, estudos baseados na morfologia dos esporos e dados moleculares (18S rDNA) claramente indicam que são metazoários (KENT et al., 2001; ZRZAVÝ, 2001; LOM & DYKOVÁ, 2006). Informações provenientes de estudos moleculares, aliado à presença de esporos multicelulares, com cápsulas polares distintas, as quais possuem organelas similares aos nematocistos de cnidários, indicam que, provavelmente, os mixosporídeos são um grupo irmão de cnidários (KENT et al., 2001; ZRZAVÝ, 2001; MORRIS & ADAMS, 2006). Contudo, a classificação exata dos mixosporídeos dentro do grupo dos metazoários, ainda está em transição. Alguns estudos moleculares, realizados por diversos pesquisadores, designam estes parasitos como Bilateria ou seu grupo irmão (CANNING & OKAMURA, 2004).

Atualmente, o filo Myxozoa abriga duas classes, a classe Myxosporea Bütschli, 1881, que inclui os parasitos principalmente de peixes e a classe Malacosporea Canning, Curry, Feist, Longshaw, Okamura, 2000, que agrupa os parasitos que infectam os briozoários (KENT et al., 2001; LOM & DYKOVÁ, 2006). A classe Myxosporea está dividida em duas ordens, Bivalvulida Schulman, 1959 (esporos com duas valvas e uma a quatro cápsulas polares) e Multivalvulida Schulman, 1959 (esporos com três a sete valvas e duas a sete cápsulas polares), enquanto que a classe Malacosporea possui apenas a ordem Malacovalvulida, que agrupa as espécies de mixosporídeos pertencentes ao gênero *Tetracapsula*.

Wolf & Markiw (1984) foram os primeiros pesquisadores a descreverem alternância no ciclo de vida dos mixosporídeos, no qual os peixes são os hospedeiros intermediários e anelídeos aquáticos os hospedeiros definitivos. A partir desta descoberta, o ciclo de vida de 25 espécies de mixosporídeos foi elucidado com a mesma alternância de hospedeiros (KENT et al., 2001). Embora a transmissão direta entre peixes tenha sido verificada em três espécies de mixosporídeos parasitos de peixes de água salgada, a transmissão heteroxênica, a qual inclui peixes e anelídeos, é a mais prevalente (CANNING & OKAMURA, 2004).

A localização dos mixosporídeos nos hospedeiros é bastante variada, podendo ser encontrados em todos os tecidos e órgãos. Podem ser histozóicos (encontrados intracelularmente e intercelularmente), ou ainda celozóicos (encontrados nas cavidades dos órgãos, principalmente vesícula biliar e bexiga natatória) (LOM, 1987). Contudo, segundo Salim & Dessler (2000) as espécies de mixosporídios apresentam alto grau de tropismo, tanto para o hospedeiro como para os tecidos infectados. Recentemente, o papel da afinidade do parasito pelo tecido e/ou hospedeiro, na diferenciação de espécies de mixosporídeos próximas, tem sido avaliada (LOM & DYKOVÁ, 2006; ESZTERBAUER, 2004; ADRIANO et al., 2009).

Alguns dos transtornos ocasionados por estes organismos são notoriamente conhecidos. Na “Doença do Rodopio”, que ocorre em salmonídeos e tem como agente etiológico *Myxobolus cerebralis* Hofer, 1903, o parasito destrói a cartilagem da cabeça e da coluna vertebral de peixes, promovendo elevadas taxas de mortalidades, principalmente em indivíduos jovens (EIRAS, 1994). Várias espécies dos gêneros *Kudoa*, *Unicapsula* e *Hexacapsula* têm sido reportadas parasitando o tecido muscular estriado esquelético de peixes, provocando sérias lesões neste tecido, comprometendo desta forma a aceitação do pescado pelo consumidor (LOM & DYKOVÁ, 1995). Espécies pertencentes ao gênero *Henneguya* vêm sendo descritas produzindo severa reação inflamatória, hemorragia e hiperplasia nas brânquias de peixes de água doce, diminuindo a superfície branquial para as trocas gasosas e outras funções (KALAVATI & NARASIMHAMURTI, 1985; LOM & DYKOVÁ, 1995). *Ceratomyxa shasta* Noble, 1950, infecta o trato digestório de salmonídeos de água doce e marinha, sendo considerado economicamente importante, pois causa elevada taxa de mortalidade em indivíduos jovens mantidos em sistema de criação e em ambiente natural (LOM & DYKOVÁ, 1995).

Nos últimos anos, tanto na região Neotropical como em outras partes do mundo, a maioria das espécies de mixosporídios foi descrita com o emprego de métodos tradicionais, isto é, as

descrições foram feitas com base nas características morfológicas e morfométricas dos esporos, especificidade do hospedeiro e tropismo no tecido. Recentemente alguns pesquisadores estão empregando métodos de biologia molecular, tanto para identificar e diferenciar espécies de mixosporídios morfológicamente similares (ESZTERBARRER et al., 2001; MOLNÁR et al., 2002; ESZTERBARRER, 2002; BAHRI et al., 2003; FERGUSON et al., 2008; IWANOWICZ et al., 2008; ZHAO et al., 2008), como para elucidar aspectos do ciclo de vida (XIAO & DESSER, 2000) e no estudo filogenético (ANDREE et al., 1999; KENT et al., 2001; BAHRI et al., 2003; FIALA, 2006). Entretanto, são ainda escassos os trabalhos feitos no Brasil utilizando estas técnicas para o estudo de Myxozoa (ADRIANO et al., 2009). Até o momento, os resultados provenientes de estudos moleculares, corroboram os obtidos pelos métodos zoológicos clássicos, assim sendo, as análises moleculares devem ser utilizadas, particularmente, em casos onde os dados fenotípicos são escassos ou ausentes.

Splendore (1910) e Migone (1916) foram os primeiros pesquisadores a registrarem a presença de mixosporídeos em peixes no Brasil. Atualmente vários autores têm se dedicado ao estudo de parasitos da classe Myxosporea da nossa fauna (ADRIANO et al., 2002, 2005a,b,c, 2006, 2009; AZEVEDO & MATOS, 2002, 2003; AZEVEDO et al., 2002, 2008; EIRAS et al., 2005, 2007; FEIJÓ et al., 2008; MARTINS & ONAKA, 2006) sendo que em muitos destes trabalhos são utilizadas características ultraestruturais na descrição.

Azevedo & Matos (1995, 1996, 2002 e 2003) descreveram *Henneguya adherens*, parasitando as brânquias de *Acestrorhynchus falcatus*; *Henneguya malabarica*, infectando as brânquias de *Hoplias malabaricus*; *Henneguya curimata*, parasitando os rins de *Curimata inornata* e *Henneguya pilosa*, infectando os filamentos branquiais de *Serrasalmus altuvei*, todos da bacia amazônica. A análise ultraestrutural dos esporos de *H. adherens* e *H. malabarica* revelou a presença de uma bainha, composta por uma substância hialina, circundando os esporos, enquanto que nos esporos de *H. pilosa* evidenciou-se a presença de uma massa granulo-fibrilar.

Com base em estudos morfométricos e ultraestruturais Azevedo et al. (1997, 2002, 2008) descreveram *Henneguya testicularis*, infectando os testículos de *Moenkhausia oligolepis*; *Myxobolus desaequalis*, parasitando as brânquias de *Apteronotus albifrons* e *Henneguya rondoni* infectando o sistema nervoso periférico de *Gymnorhamphichthys rondoni*.

Ao utilizarem dados morfométricos e ultraestruturais Casal et al. (1996, 1997, 2002 e 2003) reportaram quatro novas espécies de mixosporídeos de peixes também oriundos da região

Amazônica. *Myxobolus brasiliensis*, parasitando as brânquias de *Bunocephalus coracoideus*; *Henneguya striolata*, parasitando as brânquias de *Serrasalmus spilopleura*; *Myxobolus maculatus*, parasitando os rins de *Metynnis maculatus* e *Henneguya friderici*, infectando os filamentos branquiais de *Leporinus friderici*.

Utilizando apenas características morfológicas e morfométricas, Martins & Souza (1997), Molnár et al. (1998) e Cellere et al. (2002) descreveram três novas espécies de mixosporídeos. *Henneguya piaractus*, parasitando os filamentos branquiais de *Piaractus mesopotamicus*, *Myxobolus macroplasmoidalis*, parasitando a cavidade abdominal de *Salminus maxillosus* e *Myxobolus absonus*, parasitando a cavidade opercular de *Pimelodus maculatus*, respectivamente.

O estudo histopatológico das brânquias de *Leporinus macrocephalus*, realizado por Martins et al. (1999), mostraram que *Henneguya leporinicola* provoca intensa reação inflamatória, hemorragia, hiperplasia e diminuição da superfície para as trocas gasosas.

Os estudos de Adriano et al. (2002) mostraram a formação de uma fina camada de tecido conjuntivo ao redor dos cistos de *Myxobolus porofilus*, parasito da cavidade visceral de *Prochilodus lineatus*, criados em sistema de cultivo no Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais em Pirassununga, SP, Brasil.

Duas novas espécies de mixosporídeos foram descritas por Barassa et al. (2003a,b) em brânquias de *Serrasalmus spilopleura* e *Astyanax altiparanae*. *Henneguya curvata* e *Henneguya chydadae*, provocaram deformação das estruturas lamelares e compressão dos capilares branquiais, comprometendo desta forma a superfície branquial para as trocas gasosas e metabólicas.

Os estudos de Vita et al. (2003) revelaram *Henneguya astyanax*, infectando as brânquias de *Astyanax keithi*, coletados na região Amazônica, perto de Belém, Pará.

Mais recentemente Eiras et. al. (2004a,b, 2005, 2007), utilizando apenas dados morfológicos e morfométricos, descreveram quatro novas espécies de mixosporídeos em peixes coletados de ambiente natural. *Henneguya schizodon*, infectando os rins de *Schizodon fasciatus*, proveniente do rio Amazonas; *Henneguya paranaensis*, parasitando as brânquias de *Prochilodus lineatus*, coletados do rio Paraná; *Myxobolus insignis*, infectando as brânquias de *Semaprochilodus insignis*, também proveniente do rio Amazonas; *Myxobolus platanus*, infectando o baço de *Mugil platanus*, coletados da lagoa dos Patos, RS e *Henneguya corruscans*, parasitando as brânquias de *Pseudoplatystoma corruscans*, oriundos também do rio Paraná.

Adriano et. al. (2005b,c) descreveram *Henneguya caudalongula* e *Henneguya pellucida*, infectando as brânquias de *Prochilodus lineatus* e a bexiga de *Piaractus mesopotamicus*, peixes provenientes de sistema de cultivo, respectivamente. A análise histopatológica de *P. lineatus* revelou que *H. caudalongula*, causa deformação das estruturas lamelares, fusão lamelar, deslocamento das lamelas vizinhas e hiperplasia das células epiteliais. Segundo os autores, nestes casos, infecções maciças podem comprometer as funções branquiais, pela redução na superfície das trocas gasosas. Já em *P. mesopotamicus*, o estudo revelou que *H. pellucida* produz reação granulomatosa e o espessamento da túnica na bexiga natatória.

Duas novas espécies de mixosporídeos foram descritas por Matos et. al. (2005) e Tajdari et. al. (2005). *Henneguya rhamdia*, parasitando os filamentos branquiais de *Rhamdia quelen* e *Myxobolus testicularis*, parasitando os testículos de *Hemiodopsis microlepis*, peixes provenientes de ambiente natural.

Adriano et. al. (2006) reportaram a presença de *Myxobolus cuneus*, infectando diversos órgãos de pacus, oriundos de sistema de cultivo. Os maiores danos foram registrados, particularmente, nas brânquias, devido à obstrução parcial e/ou total das arteríolas dos filamentos branquiais.

Martins e Onaka (2006) descreveram duas novas espécies de mixosporídeos, com base em dados morfológicos e morfométricos. *Myxobolus peculiaris* e *Henneguya garavelli* foram observadas parasitando as brânquias de *Cyphocharax nagelli*, coletados no rio do Peixe, São José do Rio Pardo, estado de São Paulo.

Os estudos de Feijó et. al. (2008) revelaram *Henneguya arapaima* infectando o arco branquial e a vesícula biliar de pirarucu (*Arapaima gigas*). Segundo os autores, embora não tenham sido observadas alterações histopatológicas importantes nos peixes analisados, *H. arapaima* pode ocasionar prejuízos ao hospedeiro em sistema de cultivo.

A análise morfológica, ultraestrutural, histopatológica e molecular realizada por Adriano et. al (2009) revelou a presença de *Myxobolus cordeiroi* no arco branquial, pele, serosa da cavidade abdominal, bexiga urinária e olho de *Zungaro jahu* do Pantanal Mato-Grossense. A análise histológica mostrou que os plasmódios ocorrem no tecido conjuntivo dos órgãos infectados e que estes estavam envoltos por uma cápsula de colágeno.

Apesar de nos últimos anos, como descrito acima, vários pesquisadores realizarem estudos histopatológicos e ultraestruturais dos mixosporídeos, ainda se faz necessário mais

pesquisas nesta área, em virtude, por exemplo, da variada relação parasito-hospedeiro entre as espécies o que influi diretamente na suscetibilidade à infecção parasitária. Assim, utilizando-se a análise ultraestrutural de tecidos contendo cistos de mixosporídeos pode-se fornecer conhecimento sobre a interface entre o parasito e o hospedeiro, além disso, pode-se obter um melhor entendimento da taxonomia e dos fatores que levam a patogenicidade. Estas pesquisas são reconhecidamente necessárias, ainda, para adequação do manejo sanitário em sistemas de criação e em última instância prover bases para a pesquisa de fármacos contra esses parasitos.

3. OBJETIVOS

3.1 – Objetivo Geral:

Determinar a susceptibilidade de dourado (*Salminus brasiliensis*) e da piapara (*Leporinus obtusidens*), provenientes de ambiente natural, à infecção por parasitos do filo Myxozoa, classe Myxosporea.

3.2 – Objetivos Específicos:

- a- Descrever as espécies de mixosporídeos parasitos de dourado e piapara baseando-se em dados morfológicos, utilizando-se de microscopia de luz, microscopia eletrônica de transmissão e de varredura;
- b- Verificar a prevalência de mixosporídeos nas espécies de peixes investigadas;
- c- Avaliar e comparar os efeitos do parasitismo sobre os tecidos e órgãos infectados;
- d- Investigar a relação parasito hospedeiro utilizando-se da análise histopatológica e da microscopia eletrônica de transmissão;

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Colheita dos Peixes

O trabalho de campo foi realizado em parceria com o Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais (ICMBIO-MMA) em Pirassununga, São Paulo, Brasil.

Durante o período compreendido entre 2005 e 2007, sessenta espécimes de *Salminus brasiliensis* (dourado) e sessenta *Leporinus obtusidens* (piapara) foram colhidos no rio Mogi-Guaçu, em trechos a jusante da barragem da Cachoeira de Emas, localizada no município de Pirassununga, SP, Brasil. (Autorização SISBIO / ICMBIO nº 15507-1) (Anexo I)

Os peixes foram capturados com o auxílio de tarrafas, recolhidos e transportados vivos ao laboratório. (Figs. 1 e 2). A princípio, os peixes foram examinados em seguida à colheita, e quando não possível foram mantidos em aquários, previamente higienizados, sob aeração constante até a análise.

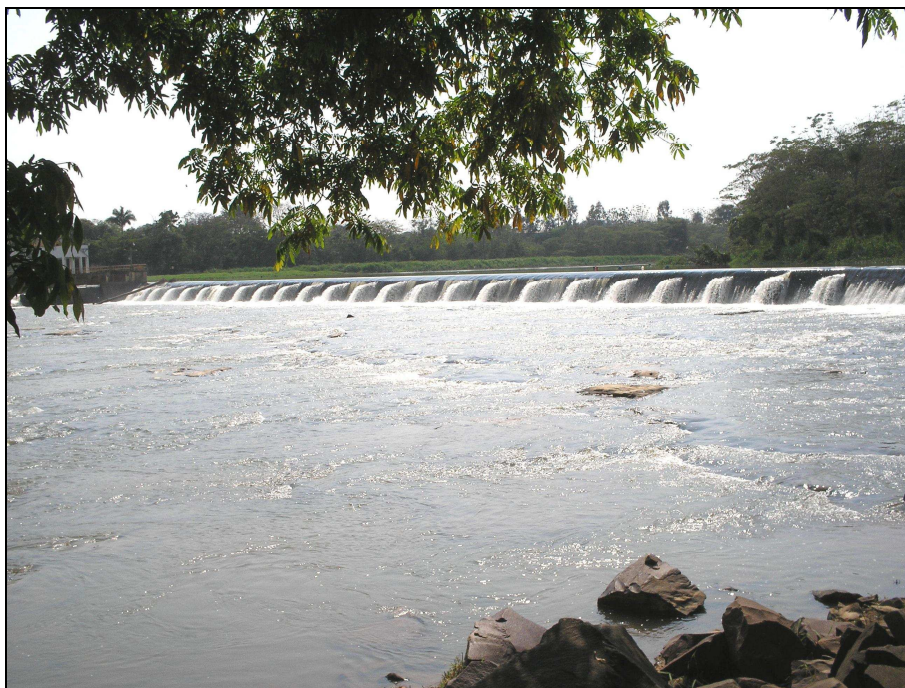


Figura1: Rio Mogi-Guaçu: barragem da Cachoeira de Emas



Figura 2: Colheita dos peixes com utilização de tarrafas.

4.2 Análise Macroscópica

Os peixes, depois de sacrificados por transecção do cordão espinhal, foram medidos em seu comprimento total, pesados e os resultados anotados em fichas apropriadas (Anexo II). Após a análise macroscópica externa, a olho desarmado e com o auxílio de lupa, foi realizada a necropsia, tanto para fins parasitológicos como para a sexagem.

4.3 Análise Microscópica

Os órgãos foram retirados através da incisão ventro-longitudinal da parede do corpo do peixe, após análise *in locu* dos mesmos. Raspados ou pequenos fragmentos de órgãos que apresentaram pontos esbranquiçados, suspeitos de infecção parasitária, foram comprimidos entre lâmina e lamínula, com a finalidade de se confirmar a presença do parasito e estudar as formas de desenvolvimento. As análises foram realizadas com o auxílio de microscópio fotônico.

4.4 Estudo Taxonômico

4.4.1 Análise Morfológica

Todas as observações foram realizadas a partir de preparações à fresco. Esfregaços contendo esporos livres foram secos à temperatura ambiente, fixados em álcool metílico, corados por solução de Giemsa (pH 7.2) e montados em CytosealTM para confecção de material permanente.

As espécies de mixosporídeos foram identificadas e descritas conforme os critérios estabelecidos por Lom & Arthur (1989).

Os estágios vegetativos do parasito foram caracterizados quanto ao sítio de infecção, se histozóico ou celozóico, quanto à forma (oval, alongado ou irregular), tamanho e número de esporos produzidos.

Os esporos, os mais importantes na identificação dos mixosporídios foram caracterizados quanto à estrutura e orientação da linha de sutura, forma das cápsulas polares (redonda, piriforme

ou elipsóide), número e disposição de voltas dos filamentos polares, presença de projeções ou apêndices caudais, existência de estrias ou outras características na superfície do esporo, relação de tamanho entre as cápsulas polares, tamanho da cápsula polar em relação ao esporo, posição da extremidade anterior da cápsula polar, posição do esporoplasma na cavidade do esporo, tamanho dos esporos e variabilidade da forma e tamanho dos esporos.

As ilustrações e os detalhes de interesse sistemático foram realizados com o auxílio de câmera clara e as medidas, referidas em micrômetros, foram obtidas a partir de ocular micrométrica.

4.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

Esporos livres foram depositados em lamínula impregnada com poli-L-lisina, fixados em glutaraldeído, lavados em solução tampão de cacodilato de sódio (pH 7.2) a 0,1 M, desidratados em soluções crescentes de álcool, secos com ponto crítico, cobertos com ouro e examinados ao microscópio eletrônico de varredura (Joel JMS 35 operado a 15 kV) do Instituto de Biologia da UNICAMP.

4.5 Microscopia Eletrônica de Transmissão

Para o exame ao microscópio eletrônico de transmissão, cistos isolados e fragmentos de tecidos contendo cistos foram fixados em 2,5% de glutaraldeído diluído em solução tampão de cacodilato de sódio a 0,1M (pH 7.2) por 2 horas a 4°C, lavados no mesmo tampão por 2-4 horas a 4°C, posteriormente fixados em 1% de tetróxido de ósmio diluído em solução tampão de cacodilato de sódio por 2 horas na mesma temperatura. Em seguida, as amostras foram desidratadas em séries de acetona e incluídas em Epon-Araldite. Cortes semi-finos (1 µm), foram corados pelo solução de Azul de Toluidina para exame prévio em microscópio fotônico. Secções ultra-finas foram contrastadas com acetato de uranila e citrato de chumbo, observadas e fotografadas ao microscópio eletrônico de transmissão LEO 906 operado com 60 kV (ADRIANO et al., 2005a,b, 2006).

4.6 Estudo Histopatológico

Fragmentos de aproximadamente 1cm³ de tecidos dos órgãos parasitados foram fixados em formalina 10% tamponada, por 24h. Posteriormente, as amostras foram desidratadas em soluções crescentes de álcool etílico, diafanizadas pelo xilol e incluídas em parafina. Cortes de aproximadamente 4µm de espessura foram corados pela hematoxilina–eosina, com o objetivo de estudar a morfologia geral do órgão parasitado. Coloração por Sirius Red foi realizada para análise de possíveis alterações no estroma conjuntivo do órgão e avaliação, se ocorrer do encapsulamento do cisto. A coloração com o Ácido Periódico de Schiff (PAS) foi utilizada para observar possíveis alterações em células mucosas em órgãos onde estas células ocorrem como hipertrofia, hiperplasia e distribuição ectópica, por exemplo. Cortes histológicos corados foram observados ao microscópio fotônico.

4.7 Análise Estatística

A taxa da prevalência dos mixosporídeos nos peixes foi calculada de acordo com Bush et al. (1997) e o teste χ^2 foi utilizado para avaliar se a prevalência dos mixosporídeos foi significativamente diferente entre os sexos dos hospedeiros.

5- RESULTADOS

A tese foi estruturada em dois capítulos, sendo que cada um aborda a descrição de uma nova espécie de parasito pertencente ao filo Myxozoa, a prevalência das espécies em cada uma das espécies de peixes investigados, os efeitos do parasitismo sobre os tecidos e os órgãos infectados e a relação parasito hospedeiro, utilizando-se de análise histopatológica e microscopia eletrônica de transmissão.

Capítulo 1

Estudo morfológico e da interação parasito-hospedeiro de *Myxobolus* sp. 1 (Myxozoa: Myxobolidae) parasito de *Salminus brasiliensis* (Osteichthyes: Characidae) colhido no rio Mogi-Guaçu, Brasil

Barassa B.^a, Arana S.^b, Adriano E.^c, Ceccarelli P. S.^d, Cordeiro N. S.^a

^a Departamento de Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil.

^b Departamento de Histologia e Embriologia, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil.

^c Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Diadema, SP, Brasil.

^d Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais (ICMBIO-MMA), Pirassununga, SP, Brasil.

Resumo. Uma nova espécie de *Myxobolus* é descrita infectando dourado (*Salminus brasiliensis*). Durante o período de 2005 a 2007, 60 peixes adultos, foram colhidos no rio Mogi-Guaçu, próximo da Cachoeira de Emas, Pirassununga, SP, Brasil e 90% apresentaram plasmodium do parasito. A análise histopatológica e ultraestrutural revelou que o parasito forma plasmódios brancos e de forma esférica que estão em contato direto com as células do hospedeiro. Expansões da parede do plasmódio foram observadas, o que permite ao parasito infiltrar-se entre os espaços intercelulares dos hepatócitos circunvizinhos. O desenvolvimento dos plasmódios no parênquima hepático não resultou em reação inflamatória por parte do hospedeiro. A esporogênese foi assincrônica, com estágios jovens presentes na periferia e esporos maduros na região central. Os esporos maduros apresentaram formato oval, com a extremidade anterior mais afilada do que a posterior (comprimento do esporo = $14.7 \pm 0.5\mu\text{m}$; largura do esporo = $10.0 \pm 0.2 \mu\text{m}$). As cápsulas polares foram alongadas e de igual tamanho (comprimento = $8.0 \pm 0.3\mu\text{m}$; largura = $4.0 \pm 0.0\mu\text{m}$). No interior das cápsulas polares os filamentos polares apresentaram 7 a 8 voltas,

arranjados perpendicularmente ao eixo da cápsula. A microscopia eletrônica de varredura demonstrou que as valvas eram lisas, com uma linha de sutura visível, e a presença de um poro de descarga do filamento polar na extremidade anterior do esporo. Baseado em diferenças morfométricas e ultraestruturais, o parasito observado em *S. brasiliensis* foi considerado uma nova espécie de *Myxobolus*.

Palavras-Chave: Myxosporea; *Myxobolus*; Characidae; *Salminus brasiliensis*; Brasil.

Abstract. A new species of *Myxobolus* is described infecting dourado (*Salminus brasiliensis*). During the period of 2005 to 2007, 60 adult fish were collected in the river Mogi-Guaçu, near Cachoeira de Emas, located in the municipality of Pirassununga, State of São Paulo, Brazil and 90% presented plasmodium of the parasite. Histopathological and ultrastructural analysis revealed that the parasite produced white and spherical plasmodia directly attached to the host cells. Enlarged plasmodium wall allowed the infiltration of parasite amongst intercellular spaces of the neighbour hepatocytes. The development of the plasmodia in the hepatic tissue did not result in inflammatory reaction of the host. The development of the parasite was asynchronous, with earliest stages occurred at the periphery and mature spores in the central region. Mature spores had an oval bod in the view frontal, with the anterior extremity slender than the posterior extremity (length of the spore = $14.7 \pm 0.5 \mu m$; width of the spore = $10.0 \pm 0.2 \mu m$). The polar capsules were elongated and equal in size (length = $8.0 \pm 0.3 \mu m$; width = $4.0 \pm 0.0 \mu m$). The polar filaments were coiled in 7-8 turns perpendicular to the axis of the capsule. Scanning electron microscopy showed the presence of smooth valves, with a visible line of suture, and one pore for the discharge of polar filaments situated at the anterior extremity of the spore. Based on the morphometric and ultrastructural differences, o parasite observed in *S. brasiliensis* was considered to be a new species of *Myxobolus*.

Key words: Myxosporea; *Myxobolus*; Characidae; *Salminus brasiliensis*; Brasil.

1. Introdução

Salminus brasiliensis Cuvier, 1816 (Sin. *S. maxilosus* Valenciennes, 1849), é uma espécie de peixe reofílica, conhecida popularmente por dourado, que ocorre na bacia do Prata (Argentina, Bolívia, Brasil, Paraguai e Uruguai). É um peixe nobre, pois apresenta carne de excelente qualidade, muito requisitado em pesque-pague, de grande porte, com um bom potencial de produção (Fracalossi et al., 2004; Mai e Zaniboni-Filho, 2005) e considerada uma das espécies comerciais mais importantes no Brasil.

Os mixosporídeos estão entre os mais importantes parasitos de peixes. Atualmente são conhecidas 2.180 espécies distribuídas em 60 gêneros, que parasitam principalmente peixes, tanto de ambiente natural como de sistema de criação (Lom e Dyková, 2006; Sitjá-Bobadilla, 2008). Espécies do gênero *Myxobolus* Butschli, 1882, tem sido assinaladas como importantes agentes patogênicos para seus hospedeiros (Kent et al., 2001), e este é o gênero com maior número de espécies dentro da classe Myxoporea, com 792 espécies descritas, incluindo 7 em anfíbios (Lom e Dyková, 2006). Em peixes da América do Sul, 27 espécies de *Myxobolus* foram assinaladas (Eiras et al., 2005a,b; Adriano et al., 2006, 2009; Martins e Onaka, 2006; Flores e Viozzi, 2007) sendo que até o presente, *Myxobolus macroplasmoidalis*, foi à única espécie reportada parasitando *S. brasiliensis* (Molnár et al., 1998).

Durante um estudo da fauna de mixosporídeos em *S. brasiliensis*, provenientes de ambiente natural, observou-se a ocorrência de uma nova espécie do gênero *Myxobolus* infectando o fígado. A descrição da espécie, bem como a interface entre o parasito e o hospedeiro, foi feita empregando microscopia fotônica e microscopia eletrônica de transmissão e de varredura.

2. Material e Métodos

Sessenta espécimes adultos de dourado (*S. brasiliensis*) foram colhidos no rio Mogi-Guaçu no período de 2005 a 2007. As colheitas foram realizadas em trechos a jusante da barragem da Cachoeira de Emas, localizada no município de Pirassununga, SP, Brasil. Imediatamente depois de capturados, os peixes foram transportados vivos para o laboratório, sacrificados, medidos e necropsiados. A caracterização morfológica dos esporos foi baseada nos critérios de Lom e Arthur (1989) e as dimensões foram obtidas usando uma ocular micrométrica, sendo realizadas a partir de esporos maduros em preparações à fresco, obtidos de diferentes espécimes de peixes (N = 30). As dimensões são expressas como médias \pm desvio padrão (M \pm DP). Esfregaços contendo esporos livres foram corados com solução de Giemsa (pH 7.2) e montados em CytosealTM, para obtenção de material permanente. Para a análise histológica, fragmentos de fígado contendo cistos foram fixados em formalina 10% tamponada, incluídos em parafina, cortados a 4 μ m de espessura e corados com hematoxilina-eosina e Sirius Red (Adriano et al., 2002). Para a microscopia eletrônica de varredura, esporos livres foram depositados em lamínula impregnada com poli-L-lisina, fixados em glutaraldeído 0,1 M por 2h em temperatura ambiente, lavados em solução tampão de cacodilato de sódio 0,1 M (pH 7.2), desidratados em soluções crescentes de álcool, secos com ponto crítico, cobertos com ouro e examinados ao microscópio eletrônico de varredura (Joel JMS 35 operado a 15 kV). Para a microscopia eletrônica de transmissão, fragmentos de fígado contendo cistos foram fixados em 2,5% de glutaraldeído diluído em solução tampão de cacodilato de sódio a 0,1M (pH 7.2) por 2 horas a 4°C, lavados no mesmo tampão por 2-4 horas a 4°C, posteriormente fixados em 1% de tetróxido de ósmio diluído em solução tampão de cacodilato de sódio por 2 horas na mesma temperatura. Em seguida, as amostras foram desidratadas em séries de acetona e incluídas em Epon-Araldite. Secções ultra-finas foram contrastadas com acetato de uranila e citrato de chumbo, observadas e fotografadas ao microscópio eletrônico de transmissão LEO 906 operado com 60 kV. O teste χ^2 foi utilizado para avaliar se as prevalências, calculadas segundo Bush et al. (1997), variaram significativamente entre machos e fêmeas.

3. Resultados

Dos 60 espécimes de *S. brasiliensis* examinados neste estudo 54 (90%) apresentaram o fígado infectado por plasmódios de uma espécie do gênero *Myxobolus* ainda não descrita (Tabela I). Todos os peixes examinados tinham mais de 55 cm de comprimento. A prevalência do parasito nos machos foi de 88,2% (30/34) e nas fêmeas 92,3% (24/26), não apresentando diferença significativa ($\chi^2_1 = 0,27$, $P > 0,60$).

Descrição de *Myxobolus* sp. 1 (Figs.1-10)

Plasmodium poliespórico, branco e de forma esférica, medindo aproximadamente 100µm de diâmetro, foram encontrados no tecido hepático de *S. brasiliensis*.

Esporos maduros apresentaram formato oval em visão frontal, com a extremidade anterior mais afilada do que a posterior (comprimento do esporo = $14.7 \pm 0.5\mu\text{m}$; largura do esporo = $10.0 \pm 0.2 \mu\text{m}$). As cápsulas polares são alongadas, de igual tamanho (comprimento = $7.9 \pm 0.3\mu\text{m}$; largura = $4.0 \pm 0.0\mu\text{m}$) e ocuparam cerca de 2/3 do comprimento do esporo. Cada cápsula polar continha um filamento polar com 7 a 8 voltas, arranjado perpendicularmente ao eixo da cápsula (Figs. 1 e 3). A microscopia eletrônica de varredura demonstrou que as valvas dos esporos eram simétricas e lisas e um poro de descarga do filamento polar foi observado na extremidade anterior do esporo (Fig 2.).

Hospedeiro tipo: *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816) (Pisces: Characidae)

Sítio de infecção: Fígado

Prevalência: 54/60 (90%) *S. brasiliensis* examinados estavam infectados.

Localidade: Rio Mogi-Guaçu, nas proximidades da Cachoeira de Emas, Pirassununga, SP, Brasil.

Material tipo: lâminas coradas contendo esporos de *Myxobolus* sp. 1 (Sintipo) serão depositadas no Museu de História Natural, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), São Paulo, Brazil (ZUEC).

A análise histológica do fígado do dourado infectado por *Myxobolus* sp. 1 demonstrou que o parasito se desenvolve no parênquima hepático, contudo não houve reação inflamatória por parte do hospedeiro (Fig. 4).

A análise ultraestrutural revelou que a parede do plasmódio consiste de uma única membrana e que ela está em contato direto com as células do hospedeiro (Figs. 5 e 6). Expansões da parede do plasmódio são observadas, o que permite ao parasito infiltrar-se entre os espaços intercelulares entre os hepatócitos circunvizinhos (Fig. 5). Os plasmódios apresentaram desenvolvimento assincrônico, com estágios jovens presentes na periferia e esporos maduros na região central (Figs. 4, 5, 7 e 9). O esporoplasma binucleado contém numerosos esporoplasmosomos e no espaço entre as cápsulas polares e as valvas foi observada a presença de material formador de valvas (Fig. 3, 7 e 8). Numerosas gotas de lipídeos foram observadas imersas no interior dos plasmódios e em menor quantidade no interior dos esporos (Fig. 3 e 7).

Tabela I. Comparação das medidas (μm) dos esporos de *Myxobolus* sp. 1 com outras espécies do gênero descritas em peixes da América do Sul.

Espécie	CE	LE	CPC	LCP	FP	FV	Órgão	Referências
<i>Myxobolus associatus</i>	15,0	10,0	7,0	-	-	---	Rins	Nemeczek, 1926
<i>Myxobolus serrasalmi</i>	14,8	8,6	7,7	3,1	-	---	Fígado e rim	Walliker, 1969
<i>Myxobolus macropasmodialis</i>	11,0	8,5	4,5	2,8	6	Simétricas	Serosa da cavidade abdominal	Molnar et al., 1998
<i>Myxobolus absonus</i>	15,7	10,2	6,4	3,6	5	Assimétrica	Cavidade opercular	Cellere et al., 2002
<i>Myxobolus insignis</i>	14,5	11,3	7,6	4,2	6	Simétrica	Brânquias	Eiras et al., 2005b
<i>Myxobolus peculiaris</i>	23,1	14,8	10,7	4,4	4-5	Simétrica	Brânquias	Martins e Onaka, 2006
<i>Myxobolus</i> sp. 1	14,7	10,0	7,9	4,0	7-8	Simétrica	Fígado	Este Trabalho

CE: comprimento do esporo; LE: largura do esporo; CPC: comprimento da cápsula polar; LCP: largura da cápsula polar; FP: filamento polar; FV: forma das valvas.

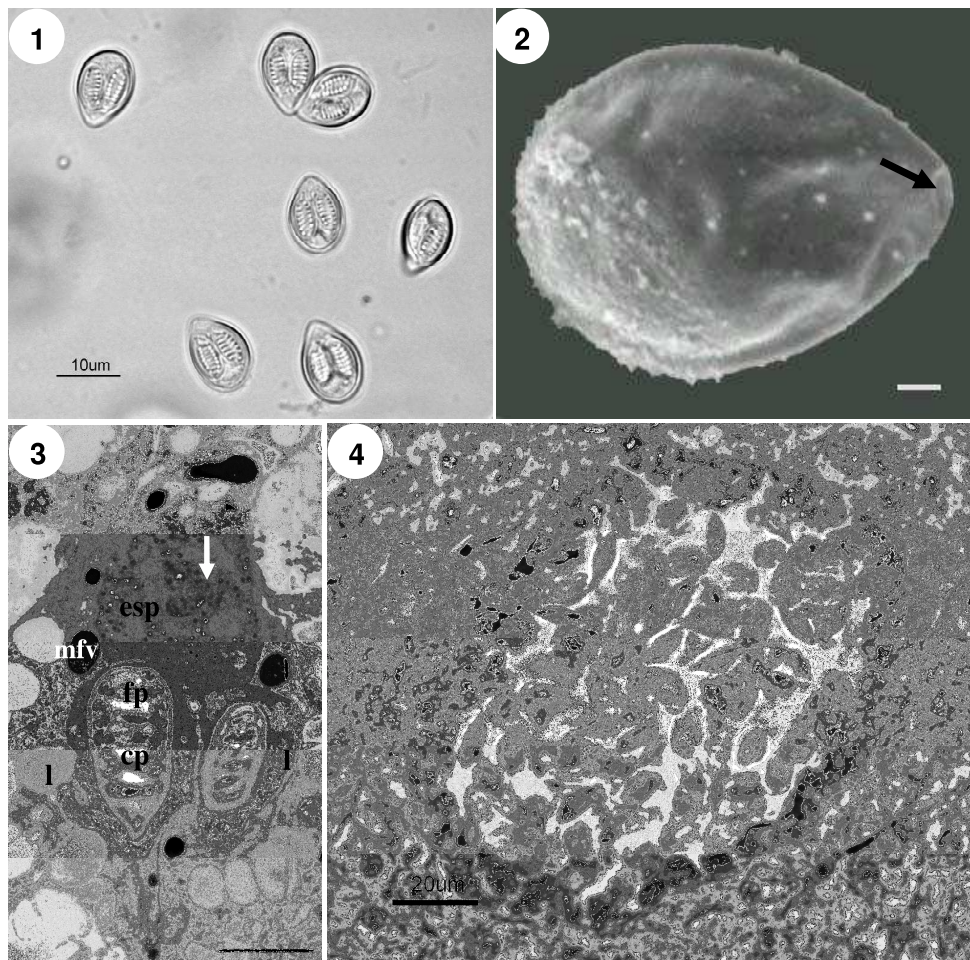


Fig. 1-4: *Myxobolus* sp. 1 em *Salminus brasiliensis*. Fig. 1: Esporos em preparação a fresco. Barra = 10µm. Fig. 2: Microscopia eletrônica de varredura: espora maduro em visão frontal. Note a presença de um poro para a descarga do filamento polar situado na extremidade anterior do espora (seta preta) Barra = 1 µm. Fig. 3: Microscopia Eletrônica de Transmissão: corte longitudinal de um espora maduro demonstrando a cápsula polar (cp), filamentos polares (fp), esporoplasma (esp) com esporoplasmosomos (seta branca) e material formador de valvas (mfv). Note a presença de numerosas gotas de lipídeos (l) no plasmódio e no interior do espora. Barra = 5µm. Fig. 4: Corte histológico demonstrando um plasmodium se desenvolvendo no parênquima hepático do peixe. Barra = 20 µm.

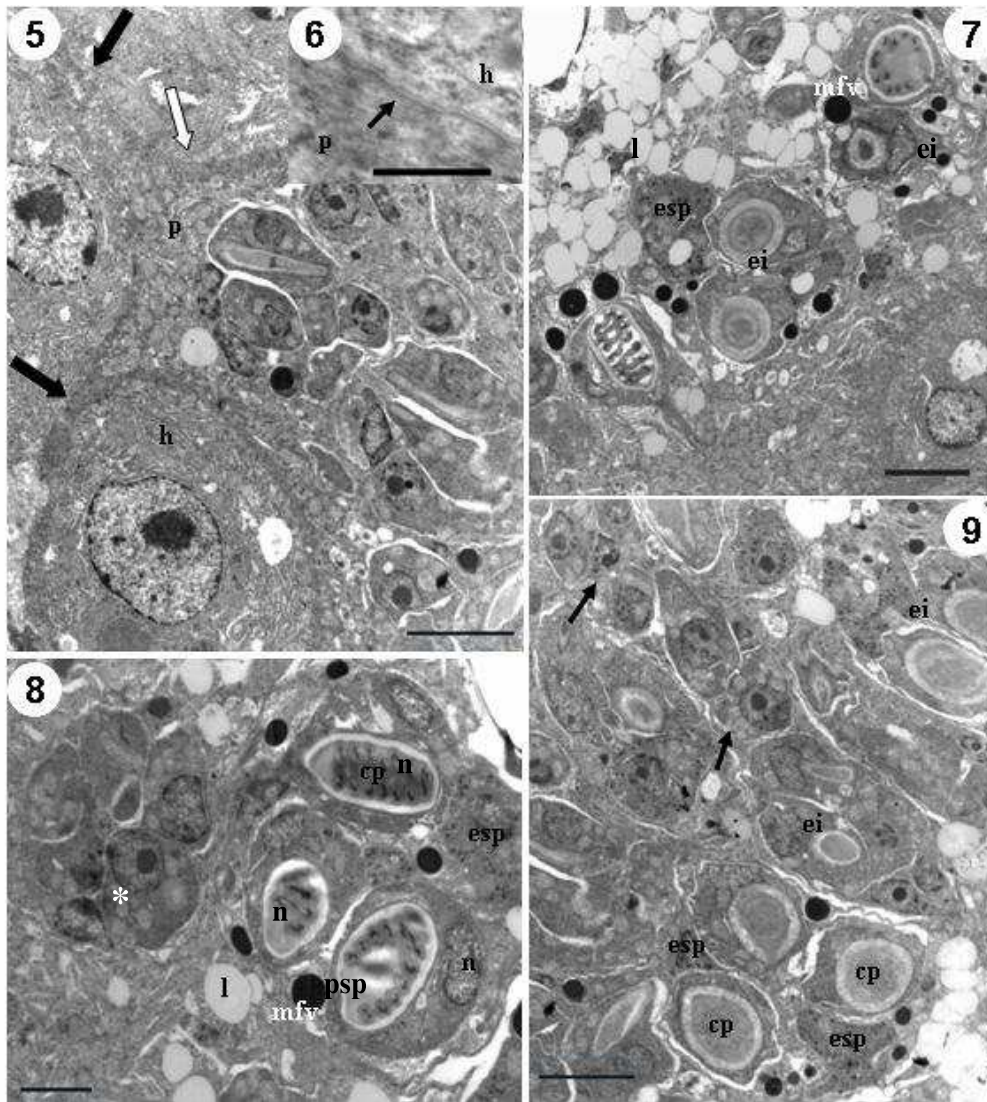


Fig. 5-9: Microscopia eletrônica de *Myxobolus* sp. 1 em *Salminus brasiliensis*. Fig. 5: Plasmódio de *Myxobolus* sp. 1 (p) em contato direto com os hepatócitos (h) do hospedeiro (Seta branca). Note a presença de expansões ocupando o espaço intercelular dentre os hepatócitos (setas pretas). Barra = 5 μ m. Fig. 6: Ampliação da interface parasito-hospedeiro mostrando a parede do plasmódio formada por uma única membrana (seta). Barra = 0,2 μ m. Fig. 7: Periferia do plasmódio mostrando esporos imaturos (ei), com esporoplasma (esp) e material formador de valvas (mfv) e uma grande quantidade de gotas de lipídeos imersas no interior do plasmódio (l). Barra = 5 μ m. Fig. 8: Plasmódio com um pansporoblasto jovem contendo células indiferenciadas (*) e outro (psp) em estágio avançado de desenvolvimento mostrando esporoplasma (esp), cápsulas polares (cp), material formador de valvas (mfv) e núcleos das células capsulogênicas (n). Barra = 5 μ m. Fig. 9: Plasmódio mostrando esporoblastos em diferentes estágios de desenvolvimento: estágios esporogênicos jovens (seta) e esporos imaturos (ei) com esporoplasma (esp) e cápsulas polares (cp). Barra = 5 μ m.

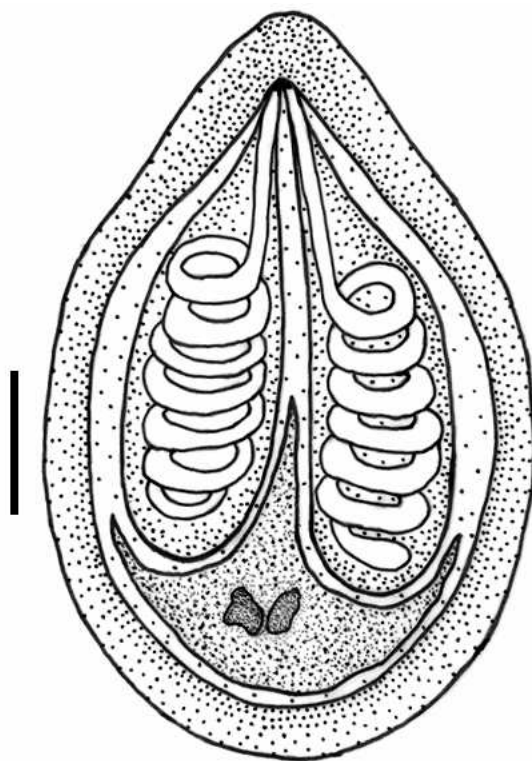


Fig. 10: Representação esquemática de um esporo maduro de *Myxobolus* sp. 1. Barra = 10 μ m

4. Discussão

A morfologia e as dimensões dos esporos de *Myxobolus* sp. 1. foram comparadas com as espécies de *Myxobolus* descritas, até o momento, em peixes da América do Sul (Eiras et al., 2005a,b; Adriano et al., 2006, 2009; Martins e Onaka, 2006; Flores e Viozzi, 2007). Das 27 espécies de *Myxobolus* assinaladas, apenas *M. macroplasmoidal* (Molnár et al., 1998), foi registrada infectando dourado, entretanto a morfologia e as dimensões dos esporos diferem da espécie aqui em estudo. (Tabela I). Além disso, *Myxobolus* sp 1 foi assinalado infectando o parênquima hepático, enquanto que *M. macroplasmoidal* foi registrado na membrana serosa da cavidade visceral. Com relação às demais espécies descritas em peixes da América do Sul, *M. absonus* foi descrito parasitando a cavidade opercular de *Pimelodus maculatus* (Cellere et al., 2002), *M. insignis*, infectando brânquias de *Semaprochilodus insignis* (Eiras et al., 2005b), *M. associatus*, parasitando rins de *Leporinus mormyrops* (Nemeczek, 1926), *M. serratalsmi*, parasitando o fígado e rins de *Serrasalmus rhombeus* (Walliker, 1969) e *M. peculiaris*, parasitando brânquias de *Cyphocharax nageelli*, possuem dimensões similares a *Myxobolus* sp. 1 (Tabela 1). Os esporos *M. absonus*, assemelham-se àqueles de *Myxobolus* sp. 1 na largura do corpo do espora, entretanto em relação as outras dimensões são diferentes. Uma das diferenças mais marcantes são cápsulas polares de tamanhos desiguais e valvas assimétricas. Já os esporos de *M. insignis* assemelham-se aos esporos da espécie aqui em questão, em relação ao comprimento do corpo do espora e ao comprimento e largura das cápsulas polares, mas apresentam esporos largos (11,3 μm), menor número de voltas do filamento polar (6) e extremidades dos esporos arredondadas, enquanto os esporos de *Myxobolus* sp. 1 são ovais, com a extremidade anterior mais afilada do que a posterior. *M. associatus* apresenta semelhanças em relação ao comprimento e à largura dos esporos de *Myxobolus* sp. 1, entretanto o comprimento da cápsula polar é menor. Além disso, o sítio de infecção de *M. associatus* é o rim, enquanto para *Myxobolus* sp. 1 é o fígado. Os esporos de *M. serratalsmi* assemelham-se aos de *Myxobolus* sp. 1 no comprimento do corpo do espora e no comprimento das cápsulas polares, no entanto, a largura do corpo do espora, a largura das cápsulas polares são menores e o sítio de infecção é o rim e o fígado. Os esporos de *M. peculiaris* apresentam apenas a largura das cápsulas polares semelhante à espécie aqui em estudo, pois as demais dimensões são superiores. Desta forma, com base nas diferenças acima citadas, conclui-se que *Myxobolus* sp. 1 é uma espécie ainda não descrita na literatura.

A análise ultraestrutural demonstrou que o desenvolvimento de *Myxobolus* sp. 1 difere das outras espécies de *Myxobolus* previamente descritas (Casal et al., 1996; Azevedo et al., 2002; Casal et al., 2002; Tajdari et al., 2005; Adriano et al., 2006; Casal et al., 2006) pela abundante presença de gotas de lipídeos imersas no interior dos plasmódios e nos esporos. Similar inclusão de lipídeos tem sido observada em mixosporídeos do gênero *Myxidium* (Feist, 1995), *Enteromyxum* (Palenzuela et al., 2002; Redondo et al., 2003) e *Henneguya* (Adriano et al., 2005a), mas ainda não tinha sido assinalada para o gênero *Myxobolus*. Apesar destas inclusões estarem relacionadas com a estocagem de energia, a sua função e papel no metabolismo desses parasitos ainda precisa ser melhor estabelecido (Redondo et al., 2003). Os esporoplasmosomos, verificados em grande quantidade no esporoplasma dos esporos de *Myxobolus* sp. 1, também tem sido assinalados em diversas espécies de parasitos do filo Myxozoa (Azevedo e Matos, 2002; Vita et al., 2003; Adriano et al., 2005a,b; Casal et al., 2006; Azevedo et al., 2008). Segundo Current (1979) a presença destas estruturas em esporos que estão se aproximando da maturidade pode estar relacionada com a estocagem de reservas metabólicas para posterior uso. Em adição, Casal et al. (2003), sugerem que a variedade de formas e dimensões dos esporoplasmosomos, nos diferentes gêneros de mixosporídeos, possibilita a sua utilização como um parâmetro ultraestrutural na diferenciação dos gêneros destes parasitos. Nos esporos maduros da espécie aqui em estudo foi verificada a presença de material formador de valvas no citoplasma das células valvogênicas. Vários autores reportaram semelhantes observações (Current, 1979; Ali et al., 2007; Abdel-Ghaffar, 2008).

A prevalência de *Myxobolus* sp. 1 foi elevada, com 90% dos dourados infectados. Outros trabalhos também têm assinalado uma alta prevalência de mixosporídeos em diversas espécies de hospedeiros. Martins e Souza (1997) reportaram uma prevalência de 97,3% de *Piaractus mesopotamicus*, provenientes de sistema de criação, infectados por *Henneguya piaractus*. Adriano et al. (2009) encontraram plasmódios de *Myxobolus cordeiroi* em 78% dos espécimes de *Zungaro jahu*, colhidos em rios do Pantanal Mato-grossense, examinados.

Neste trabalho não foram observadas alterações histopatológicas nos espécimes de dourados analisados, mas em sistema de cultivo, devido ao estresse e o descuido no manejo sanitário, a alta parasitemia por *Myxobolus* sp. 1, pode desencadear resposta do hospedeiro ou fornecer porta de entrada para infecções secundárias.

Agradecimentos

Os autores agradecem Ricardo Afonso Torres de Oliveira (ICMBIO-MMA) pela assistência durante a colheita e necropsia dos peixes.

Referências

- Abdel-Ghaffar, F., Abdel-Baki, A.S., Bayoumy, E. M., Bashtar, A.R., Qurieshy, S. A., Morsey, K.S., Alghamdy, A., Mehlhorn, H., 2008. Light and electron microscopic study on *Henneguya suprabranchiae* Landsberg, 1987 (Myxozoa: Myxosporea) infecting *Oreochromis niloticus*, a new host record. Parasitol. Res. 103, 609-617.
- Adriano, E.A., Arana, S., Ceccarelli, P.S., Cordeiro, N.S., 2002. Light and scanning electron microscopy of *Myxobolus porofilus* sp. n. (Myxosporea: Myxobolidae) infecting the visceral cavity of *Prochilodus lineatus* (Pisces: Characiformes; Prochilodontidae) cultivated in Brazil. Folia Parasitol. 49, 259-262.
- Adriano, E.A., Arana, S., Cordeiro, N.S., 2005a. Histology, ultrastructure and prevalence of *Henneguya piaractus* (Myxosporea) infecting the gills of *Piaractus mesopotamicus* (Characidae) cultivated in Brazil. Dis. Aquat. Org. 64, 229-235.
- Adriano, E.A., Arana, S., Cordeiro, N.S., 2005b. An ultrastructural and histopathological study of *Henneguya pellucida* n. sp. (Myxosporea: Myxobolidae) infecting *Piaractus mesopotamicus* (Characidae) cultivated in Brazil. Parasite. 12, 221-227.
- Adriano, E.A., Arana, S., Cordeiro, N.S., 2006. Histopathology and ultrastructure of *Myxobolus cuneus* n. sp. infecting the connective tissue of *Piaractus mesopotamicus* (Pisces: Characidae) cultivated in Brazil. Parasite. 13, 137-142.
- Adriano, E.A., Arana, S., Alves, A.L., Silva, M.R.M., Ceccarelli, P.S., Silva, F.H., Maia, A.A.M., 2009. *Myxobolus cordeiroi* n. sp., a parasite of *Zungaro jahu* (Siluriformes: Pimelodiidae) from Brazilian Pantanal: morphology, phylogeny and histopathology. Vet. Parasitol. 162, 221-229.
- Ali, M.A., Abdel-Baki, A.S., Sakran, Th., Entzeroth, R., Abdel-Ghaffar, F., 2007. *Myxobolus lubati* n. sp. (Myxosporea: Myxobolidae), a new parasite of haffara seabream *Rhabdosargus haffara* (Forsskal, 1775), Red Sea, Egypt: a light and transmission electron microscopy. Parasitol. Res. 100, 819-827.
- Azevedo, C., Matos, E., 2002. Fine structure of the myxosporean, *Henneguya curimata* n. sp., parasite of the Amazonian fish, *Curimata inornata* (Teleostei, Curimatidae). J. Euk. Microbiol. 49, 197-200.
- Azevedo, C., Corral, L., Matos, E., 2002. *Myxobolus desaequalis* n. sp. (Myxozoa, Myxosporea), parasite of the Amazonian freshwater fish, *Apteronotus albifrons* (Teleostei, Apteronotidae). J. Euk. Microbiol. 49, 485-488.
- Azevedo, C., Casal, G., Matos, P., Matos, E., 2008. A new species of Myxozoa, *Henneguya rondoni* n. sp. (Myxozoa), from the peripheral nervous system of the Amazonian fish, *Gymnorhamphichthys rondoni* (Teleostei). J. Euk. Microbiol. 55, 229-234.

- Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M., Shostak, A.W., 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. *J. Parasitol.* 83, 575-583.
- Casal, G., Matos, E., Azevedo, C., 1996. Ultrastructural data on the life cycle stages of *Myxobolus brasiliensis* n. sp., parasite of an Amazonian fish. *Europ. Protistol.* 32, 123-127.
- Casal, G., Matos, E., Azevedo, C., 2002. Ultrastructural data on the spore of *Myxobolus maculatus* n. sp. (phylum Myxozoa), parasite from the Amazonian fish *Metynnis maculatus* (Teleostei). *Dis. Aquat. Org.* 51, 107-112.
- Casal, G., Matos, E., Azevedo, C., 2003. Light and electron microscopic study of the myxosporean, *Henneguya friderici* n. sp. from Amazonian teleostean fish, *Leporinus friderici*. *Parasitology.* 126, 313-319.
- Casal, G., Matos, E., Azevedo, C., 2006. A new myxozoan parasite from the Amazonian fish *Metynnis argenteus* (Teleostei, Characidae): light and electron microscope observations. *J. Parasitol.* 92, 817-21.
- Cellere, E.F., Cordeiro, N.S., Adriano, E.A., 2002. *Myxobolus absonus* sp. n. (Myxozoa: Myxosporidia) parasitizing *Pimelodus maculatus* (Siluriformes: Pimelodidae), a South American freshwater fish. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 97, 79-80.
- Current, W.L., 1979. *Henneguya adiposa* Minchew (Myxosporidia) in the Channel Catfish: Ultrastructure of the Plasmodium Wall and Sporogenesis. *J. Protozool.* 26, 209-217.
- Eiras, J.C., Molnár, K., Lu, Y.S., 2005a. Synopsis of the species of *Myxobolus* Butschli, 1882 (Myxozoa: Myxosporidia: Myxobolidae). *Syst. Parasitol.* 61, 1-46.
- Eiras, J.C., Malta, J.C.O., Varella, A.M.B., Pavanelli, G.C., 2005b, *Myxobolus insignis* sp. n. (Myxozoa, Myxosporidia, Myxobolidae), a parasite of the Amazonian teleost fish *Semaprochilodus insignis* (Osteichthyes, Prochilodontidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 100, 245-247.
- Feist, S.W., 1995. Ultrastructural aspects of *Myxidium gadi* (Georgévitch, 1916) (Myxozoa: Myxosporidia) infections in Pollack (*Pollachius pollachius* L.) and (*P. virens* L.). *Eur. J. Protistol.* 31, 309-317.
- Flores, V., Viozzi, G., 2007. Infection of *Myxobolus galaxii* (Myxozoa) in *Galaxias maculatus* (Osmeriformes: Galaxiidae) from northwestern Patagonian Andean lakes (Argentina). *J. Parasitol.* 93, 418-421.
- Fracalossi, D.M., Meyer, G., Santamaria, F.M., Weingartner, M., Zaniboni-Filho, E., 2004. Desempenho do jundiá, *Rhamdia quelen*, e do dourado, *Salminus brasiliensis*, em viveiros de terra na região Sul do Brasil. *Acta Sci.: Anim. Sci.* 26, 345-352.
- Kent, M.L., Andree, K.B., Bartholomew, J.L., El-Matbouli, M., Desser, S.S., Delvin, R.H., Feist, S.W., Hedrick R.P., Hoffmann, R.W., Khattra, J., Hallett, S.L., Lester, R.J.G., Longshaw, M.,

- Palenzeula, O., Siddall, M.E., Xiao, C.X., 2001. Recent advances in our knowledge of the Myxozoa. *J. Euk. Microbiol.* 48, 395-413.
- Lom, J., Arthur, J.R., 1989. A guideline for the preparation of species description in Myxosporea. *J. Fish. Dis.* 12, 151-156.
- Lom, J., Dyková, I., 2006. Myxozoan genera: definition and notes on taxonomy, life-cycle terminology and pathogenic species. *Folia Parasitol.* 53, 1-36.
- Mai, M.G., Zaniboni-Filho, E., 2005. Efeito da idade de estocagem em tanques externos no desempenho da larvicultura do dourado *Salminus brasiliensis* (Osteichthyes, Characidae). *Act. Sci.: Anim. Sci.* 27, 287-296.
- Martins, M.L., Onaka, E.M., 2006. *Henneguya garavelli* n. sp. and *Myxobolus peculiaris* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae) in the gills of *Cyphocharax nagelli* (Osteichthyes: Curimatidae) from Rio do Peixe Reservoir, São José do Rio Pardo, São Paulo, Brazil. *Vet. Parasitol.* 137, 253-261.
- Martins, M.L., Souza, V.N., 1997. *Henneguya piaractus* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae), a gill parasite of *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae), in Brazil. *Rev. Bras. Biol.* 57, 239-245.
- Molnár, K., Ranzani-Paiva, M.J., Eiras, J.C., Rodrigues, E.L., 1998. *Myxobolus macropylasmoidalis* sp. n. (Myxozoa: Myxosporea), a parasite of the abdominal cavity of the characid teleost, *Salminus maxillosus*, in Brazil. *Acta Protozool.* 37, 241-245.
- Nemeczek, A., 1926. Beiträge zur Kenntnis der Myxosporidienfauna Brasiliens. *Archiv. Fur. Protistenk.* 54, 137-149.
- Palenzuela, O., Redondo, M.J., Alvarez-Pellitero, P., 2002. Descriptions of *Enteromyxum scophtalmi* gen. nov., sp. nov. (Myxozoa), an intestinal parasite of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) using morphological and ribosomal RNA sequence data. *Parasitology.* 124, 369-379.
- Redondo, M.J., Quiroga, M.I., Palenzuela, O., Nieto, J.M., Alvarez-Pellitero, P., 2003. Ultrastructural studies on the development of *Enteromyxum scophtalmi* (Myxozoa), an enteric parasite of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Parasitol. Res.* 90, 193-202.
- Sitjà-Bobadilla, A., 2008. Fish immune response to myxozoan parasites. *Parasite.* 15, 420-425.
- Tajdari, J., Matos, E., Mendonça, I., Azevedo, A., 2005. 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.
- Vita, P., Corral, L., Matos, E., Azevedo, C., 2003 Ultrastructural aspects of the myxosporean *Henneguya astyanax* sp. n. (Myxozoa: Myxobolidae), a parasite of the Amazonian teleost *Astyanax keithi* (Characidae). *Dis. Aquat. Org.* 53, 55-60.
- Walliker, D., 1969. Myxosporidia of some Brazilian freshwater fishes. *J. Parasitol.* 55, 942-948.

Capítulo 2

***Henneguya* sp. 1 (Myxozoa: Myxosporea) parasito de brânquias de *Leporinus obtusidens* (Osteichthyes: Anostomidae) do rio Mogi-Guaçu, Brasil: histopatologia e ultraestrutura**

Barassa B.^a, Arana S.^b, Adriano E.^c, Ceccarelli P. S.^d, Cordeiro N. S.^a

^a Departamento de Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil.

^b Departamento de Histologia e Embriologia, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil.

^c Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Diadema, SP, Brasil.

^d Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais (ICMBIO-MMA), Pirassununga, SP, Brasil.

Resumo. Uma nova espécie de *Henneguya* é descrita infectando piapara (*Leporinus obtusidens*). Durante o período de 2005 a 2007, 60 peixes foram colhidos no rio Mogi-Guaçu, nas proximidades de Cachoeira de Emas, Pirassununga, SP, Brasil e 70% apresentaram plasmódio do parasito. A análise histopatológica e ultraestrutural revelou que o parasito produz plasmódios brancos e de forma esférica medindo aproximadamente 100µm. A análise histopatológica revelou que os plasmódios brancos e de forma arredondada foram do tipo intralamelar desenvolvendo-se em várias regiões do epitélio branquial, resultando no espessamento do epitélio do filamento e dilatação dos vasos sanguíneos. A análise ultraestrutural mostrou que a parede do plasmódio de *Henneguya* sp. 1 consiste de uma única membrana, a qual está em contato direto com as células do hospedeiro e possuem canais de pinocitose, que se estendem para o interior do plasmódio. A esporogênese foi assíncrona, com estágios jovens presentes na periferia e esporos maduros na região central. Os esporos maduros, em visão frontal, foram alongados (comprimento total = $45,2 \pm 0,6\mu\text{m}$; comprimento do corpo do esporo = $10 \pm 0,0\mu\text{m}$; largura do corpo do esporo = $4,4 \pm 0,4\mu\text{m}$). As cápsulas polares foram alongadas e de igual tamanho (comprimento = $3,8 \pm 0,3\mu\text{m}$; largura = $1,0 \pm 0,0\mu\text{m}$). Cada cápsula polar contém um filamento polar com 6 a 7 voltas,

arranjados perpendicularmente ao eixo da cápsula. A microscopia eletrônica de varredura demonstrou que as valvas são lisas, com uma linha de sutura visível, e a presença de um poro de descarga do filamento polar, na extremidade anterior do esporo. Diferenças morfométricas e ultraestruturais entre esta espécie e outras já descritas do gênero *Henneguya* indicam que o parasito observado em *L. obtusidens* é uma nova espécie. Esta é a primeira vez que um mixosporídeo é reportado em *L. obtusidens*.

Palavras-Chave: Myxosporea; *Henneguya*; Anostomidae, *Leporinus obtusidens*, Brasil.

Abstract. A new species of *Henneguya* is described infecting piapara (*Leporinus obtusidens*). During the period of 2005 to 2007, 60 fish were collected in the river Mogi-Guaçu, near Cachoeira de Emas, located in the municipality of Pirassununga, State of São Paulo, Brazil and 70% presented plasmodium of the parasite. Histopathological and ultrastructural analysis revealed that the parasite produced white and spherical plasmodia and measured 100µm in diameter. Histopathological analysis revealed white and round intralamellar plasmodia located in several regions of the gill. Consequently, thickening of the gill filament and enlarged of the blood vessels were observed. Ultrastructural analysis showed that the wall of the plasmodia of *Henneguya* sp. 1 was provided by a single membrane in direct contact with the host cells. It contained pinocytosed canals that extended into plasmodia. The development of the parasite was asynchronous, with earliest stages occurred at the periphery and mature spores in the central region. Mature spores were elongated in the view frontal (total length = $45,2 \pm 0,6\mu\text{m}$; body length = $10 \pm 0,0\mu\text{m}$; body width = $4,4 \pm 0,4 \mu\text{m}$). The polar capsules were elongated and equal in size (length = $3,8 \pm 0,3\mu\text{m}$; width = $1,0 \pm 0,0\mu\text{m}$). The polar filaments were coiled in 6-7 turns perpendicular to the axis of the capsule. Scanning electron microscopy showed the presence of smooth valves, with a visible line of suture, and one pore for the discharge of polar filaments situated at the anterior extremity of the spore. Based on the morphometric and ultrastructural differences, the parasite observed in *L. obtusidens* was considered to be a new species of *Henneguya*. This is the first time that a mixosporídeo is reported in *L. obtusidens*.

Key words: Myxosporea; *Henneguya*; Anostomidae, *Leporinus obtusidens*, Brazil.

1. Introdução

Numerosas espécies de parasitos da classe Myxosporea tem sido descritas em peixes de água doce, tanto de ambiente natural como de sistema de criação, de diversas áreas geográficas do mundo (Adriano et al., 2002, 2005a,b, 2006, 2009; Barassa et al., 2003a,b; Martins e Onaka, 2006; Ali et al., 2007; Flores e Viozzi, 2007; Azevedo et al., 2008; Eiras et al., 2009; Feijó et al., 2008; Molnár et al., 2009). *Henneguya* Thelohan, 1892, é o segundo gênero mais comum, com aproximadamente 204 espécies descritas (Lom e Dyková, 2006), algumas das quais são importantes agentes patogênicos (Kalavati e Narasimhamurti, 1985; Molnár, 1998; Barassa et al., 2003a,b; Adriano et al., 2005a; Azevedo et al., 2008). Espécies pertencentes ao gênero *Henneguya* vêm sendo descritas produzindo severa reação inflamatória, hemorragia e hiperplasia nas brânquias de peixes de água doce, diminuindo a superfície branquial para as trocas gasosas e outras funções (Kalavati & Narasimhamurti, 1985; Lom & Dyková, 1995).

Em peixes da fauna brasileira, espécies do gênero *Henneguya*, são as mais comuns, com 36 espécies descritas até o presente (Eiras, 2002; Azevedo e Matos, 2002, 2003; Barassa et al., 2003a,b; Casal et al., 2003; Vita et al., 2003; Eiras et al., 2004a,b; Adriano et al., 2005b,c; Matos et al., 2005; Martins e Onaka, 2006; Abdallah et al., 2007; Feijó et al., 2008; Azevedo et al., 2008; Eiras et al., 2009), sendo que em peixes da família Anostomidae são conhecidas apenas 2 espécies (Martins et al., 1999; Eiras et al., 2004a), contudo, nenhuma infectando *Leporinus obtusidens*.

Leporinus obtusidens Valenciennes, 1837, conhecido popularmente por piapara, é uma espécie reofílica de porte médio, chegando a medir até 40 cm de comprimento, que ocorre na bacia do Prata. Como as demais espécies do gênero *Leporinus*, a piapara possui hábito alimentar onívoro, alimentando-se de insetos, restos de peixes e vegetais (Santos, 2000) e apresenta valor comercial significativo.

Durante um estudo da fauna de mixosporídeos em *L. obtusidens* oriundos de ambiente natural, observou-se uma nova espécie do gênero *Henneguya* infectando as brânquias. A descrição da espécie, bem como a análise da interface parasito-hospedeiro foram feitas empregando microscopia fotônica e microscopia eletrônica de transmissão e de varredura.

2. Material e Métodos

Sessenta espécimes de piapara (*L. obtusidens*) foram colhidos no rio Mogi-Guaçu no período de 2005 a 2007, em trechos a jusante da barragem da Cachoeira de Emas, localizada no município de Pirassununga, SP, Brasil. Imediatamente depois de capturados, os peixes foram transportados vivos para o laboratório, onde foram sacrificados, medidos e necropsiados. A caracterização morfológica dos esporos foi baseada nos critérios estabelecidos por Lom e Arthur (1989) e as dimensões foram obtidas usando uma ocular micrométrica, sendo realizadas a partir de esporos maduros em preparações à fresco (N = 30), obtidos de diferentes espécimes de peixes. As dimensões são expressas como médias \pm desvio padrão (M \pm DP). Esfregaços contendo esporos livres foram corados com solução de Giemsa (pH 7.2) e montados em Cytoseal™, para obtenção de material permanente. Para a análise histológica, fragmentos de brânquias contendo cistos foram fixados em formalina 10% tamponada, incluídos em parafina, cortados a 4 μ m de espessura e corados com hematoxilina-eosina e Sirius Red (Adriano et al., 2002). Para a microscopia eletrônica de varredura, esporos livres foram depositados em lamínula impregnada com poli-L-lisina, fixados em glutaraldeído 0,1 M por 2h em temperatura ambiente, lavados em solução tampão de cacodilato de sódio 0,1 M (pH 7.2), desidratados em soluções crescentes de álcool, secos com ponto crítico, cobertos com ouro e examinados ao microscópio eletrônico de varredura (Joel JMS 35 operado a 15 kV). Para a microscopia eletrônica de transmissão, fragmentos de brânquias contendo cistos foram fixados em 2,5% de glutaraldeído diluído em solução tampão de cacodilato de sódio a 0,1M (pH 7.2) por 2 horas a 4°C, lavados no mesmo tampão por 2-4 horas a 4°C, pós-fixados em 1% de tetróxido de ósmio diluído em solução tampão de cacodilato de sódio por 2 horas na mesma temperatura. Em seguida, as amostras foram desidratadas em séries de acetona e incluídas em Epon-Araldite. Secções ultra-finas foram contrastadas com acetato de uranila e citrato de chumbo, observadas e fotografadas ao microscópio eletrônico de transmissão LEO 906 operado com 60 kV. O teste χ^2 foi utilizado para avaliar se as prevalências, calculadas segundo Bush et al. (1997), variaram significativamente entre machos e fêmeas.

3. Resultados

Dos 60 peixes examinados neste estudo, 42 (70%) apresentaram a brânquia infectada por plasmódios de uma espécie do gênero *Henneguya* ainda não conhecida (Tabela I). Dos peixes examinados, 32 tinham entre 30 a 40 cm de comprimento e 28 tinham entre 41 a 50 cm de comprimento. A prevalência do parasito nos machos foi de 74% (20/27) e nas fêmeas 66% (22/33), não apresentando diferença significativa ($\chi^2_1 = 0,38$, $P > 0,53$).

Descrição de *Henneguya* sp. 1 (Figs. 1-16)

Plasmódios brancos e de forma esférica, medindo aproximadamente 100 μ m de comprimento, foram encontrados nas lamelas branquiais de *L. obtusidens*.

Os esporos maduros, em visão frontal, foram alongados (comprimento total = $45,2 \pm 0,6\mu$ m; comprimento do corpo do espora = $10,0 \pm 0,0\mu$ m; largura do corpo do espora = $4,4 \pm 0,4\mu$ m). As cápsulas polares foram alongadas, de igual tamanho (comprimento = $3,8 \pm 0,3\mu$ m; largura = $1,0 \pm 0,0\mu$ m) e ocuparam cerca de 1/3 do comprimento do corpo do espora (Figs. 1, 2 e 16). Cada cápsula polar continha um filamento polar com 6 a 7 voltas, arranjadas perpendicularmente ao eixo da cápsula (Fig. 15 e 16). A microscopia eletrônica de varredura demonstrou que as valvas dos esporos foram simétricas e lisas e um poro de descarga do filamento polar foi observado na extremidade anterior dos esporos (Fig 3).

Hospedeiro tipo: *Leporinus obtusidens* (Valenciennes, 1837) (Osteichthyes: Anostomidae)

Sítio de infecção: Lamela branquial

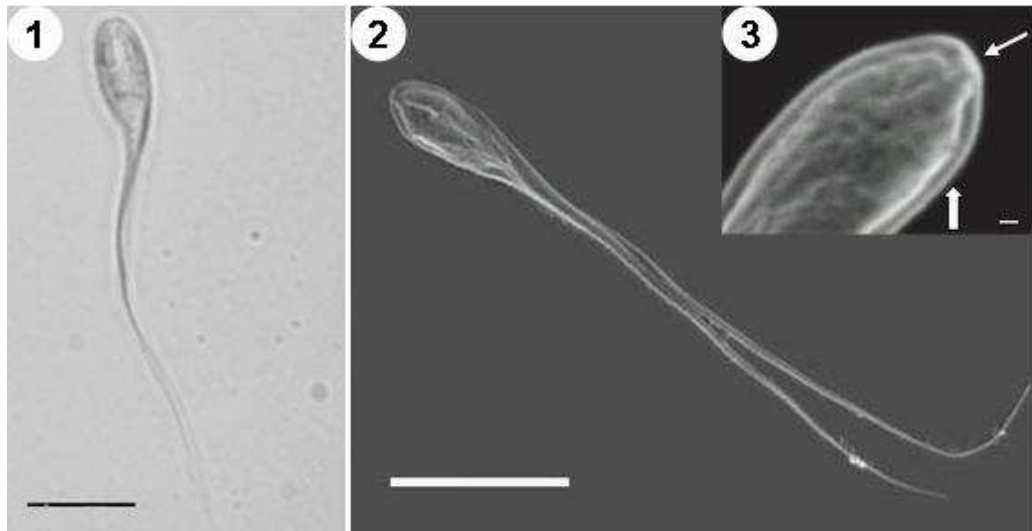
Prevalência: 42/60 (70%) *L. obtusidens* examinados estavam infectados.

Localidade: Rio Mogi-Guaçu, nas proximidades da Cachoeira de Emas, Pirassununga, SP, Brasil.

Material tipo: lâminas coradas contendo esporos de *Henneguya* sp. 1 (Sintipo) serão depositadas no Museu de História Natural, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), São Paulo, Brazil (ZUEC).

A análise histológica das brânquias de *L. obtusidens* revelou que os plasmódios de *Henneguya* sp. 1 foram do tipo intralamelar e ocorrem entre o epitélio da lamela branquial e o capilar (Fig. 5). Os plasmódios ocorrem em qualquer uma das porções da lamela branquial, desde a porção basal até o ápice da lamela, preferencialmente no terço superior (Figs. 4, 5, 6 e 7). O parasito, em alguns casos, causou o espessamento do epitélio do filamento e a compressão dos

capilares. O desenvolvimento dos plasmódios não provocou reação inflamatória por parte do hospedeiro.



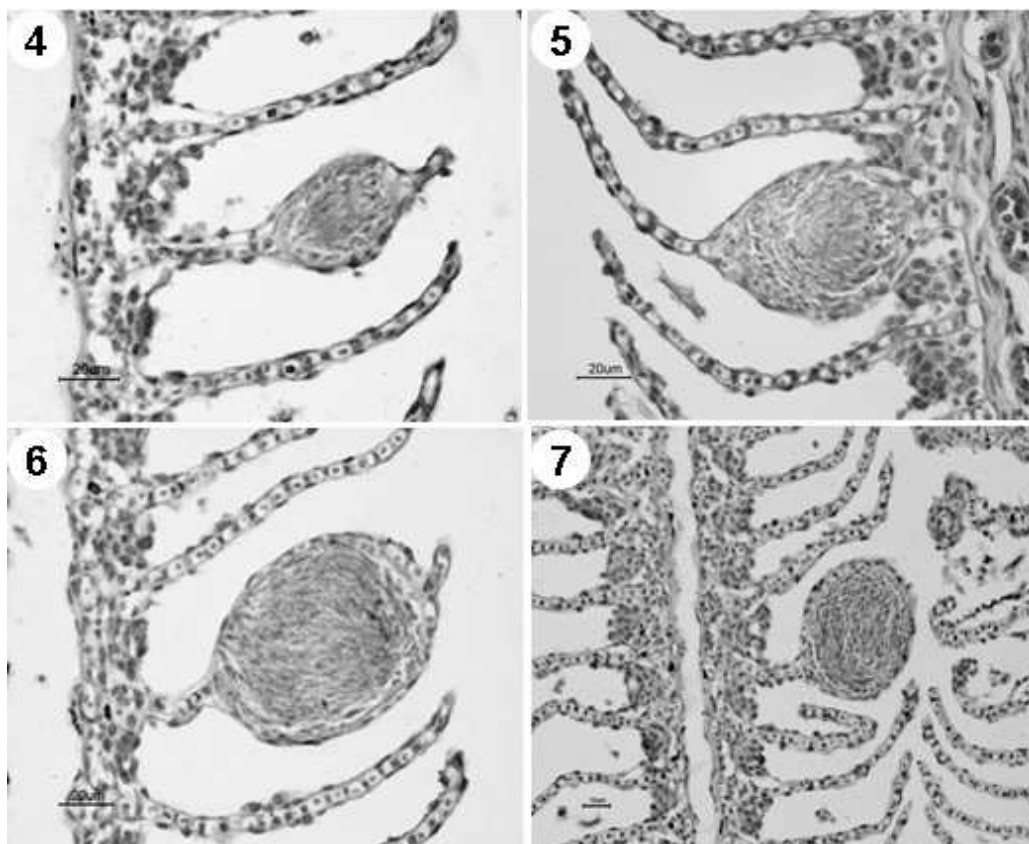
Figs. 1-3: Esporos de *Heneguya* sp. 1 parasito de brânquias de *Leporinus obtusidens*. Fig. 1: Esporo em preparação a fresco. Barra = 10µm. Fig. 2: Microscopia eletrônica de varredura: espora maduro em visão frontal. Barra = 10µm. Fig 3: Ampliação da porção anterior do corpo do espora. Notar a presença de um poro para a descarga do filamento polar situado na extremidade anterior do espora (seta fina) e a linha de sutura (seta grossa) Barra = 1 µm.

A análise ultraestrutural demonstrou contato direto entre a parede do plasmódio e as células do hospedeiro (Fig. 8). A parede do plasmódio foi composta por uma única membrana, a qual contém canais de pinocitose (Fig. 9). O desenvolvimento foi assincrônico: na zona cortical do plasmódio foram observadas células generativas e um grande número de mitocôndrias (Fig. 8), mais internamente verificaram-se esporoblastos jovens e esporos imaturos (Fig. 11, 12 e 15) e na região central, esporoblastos contendo dois esporos maduros e uma grande área vazia. (Fig. 10). Nos esporos pode-se notar o esporoplasma binucleado (Fig. 14), o qual contém numerosos esporoplasmosomos e no espaço entre as cápsulas polares e as valvas foi observada a presença de grande quantidade de material formador de valvas (Fig. 13).

Tabela I. Comparação das medidas (μm) dos esporos de *Henneguya* sp. 1 com outras espécies do gênero descritas em peixes da América do Sul.

Espécie	CT	CE	LE	CCP	LCP	CC	FP	FV	Órgão	Referências
<i>H. leporinicola</i>	29,4	7,6	4,2	3,0	1,6	21,8	-	---	Brânquias	Martins et al., 1999
<i>H. astyanax</i>	47,8	15,2	5,7	5,0	1,5	32,6	8-9	---	Brânquias	Vita et al., 2003
<i>H. schizodon</i>	28,9	13,1	3,3	5,4	1,3	16,3	8-10	Simétrica	Rins	Eiras et al., 2004a
<i>H. garavelli</i>	46,6	13,6	4,0	5,4	1,2	33,0	8-9	---	Brânquias	Martins e Onaka, 2006
<i>Henneguya</i> sp. 1	45,2	10,0	4,4	3,8	1,0	35,2	6-7	Simétrica	Brânquias	Este trabalho

CT: comprimento total; CE: comprimento do corpo espora; LE: largura do corpo espora; CCP: comprimento da cápsula polar; LCP: largura da cápsula polar; CC: comprimento da cauda; FP: filamento polar; FV: forma das valvas.



Figs. 4-7: Corte Histológico das brânquias de *Leporinus obtusidens* mostrando o desenvolvimento de plasmódios de *Henneguya* sp. 1 em diferentes porções da lamela. Fig. 4: Plasmódio imaturo na região mediana da lamela secundária. Barra = 20µm. Fig. 5: Plasmódio imaturo na região basal. Barra = 20µm. Fig. 6: Plasmódio na região mediana. Barra = 20µm. Fig. 7: Plasmódio ocupando praticamente toda o extensão da lamela branquial. Barra = 10µm.

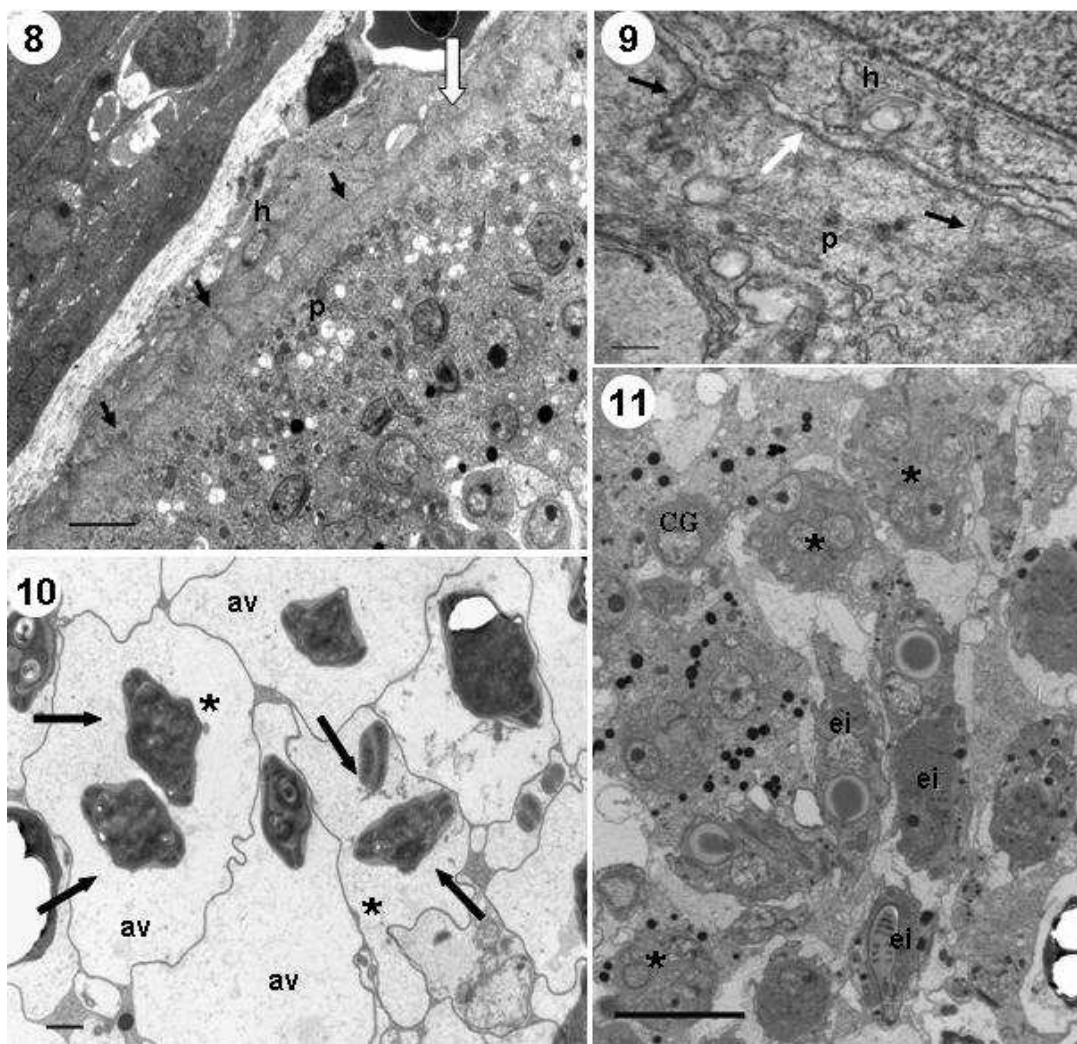


Fig. 8-11: Microscopia eletrônica de *Henneguya* sp. 1 em *Leporinus obtusidens*. Fig. 8: Plasmódio de *Henneguya* sp. 1 (p) em contato direto com as células do hospedeiro (h) (seta branca). Note a presença de canais de pinocitose (setas pretas) Barra = 5µm. Fig. 9: Ampliação da interface parasito (p)-hospedeiro (h) mostrando os canais de pinocitose (setas pretas) e a parede do plasmódio formada por uma única membrana (seta branca). Barra = 0,5µm. Fig 10: Corte transversal de um plasmódio onde pode-se notar que cada esporoblasto (*) contém dois esporos (setas) e uma grande área vazia (av). Barra = 2µm. Fig 11: Plasmódio mostrando esporoblastos em diferentes estágios de desenvolvimento: célula generativa (CG), esporoblastos jovens (*) e esporos imaturos (ei). Barra = 5µm.

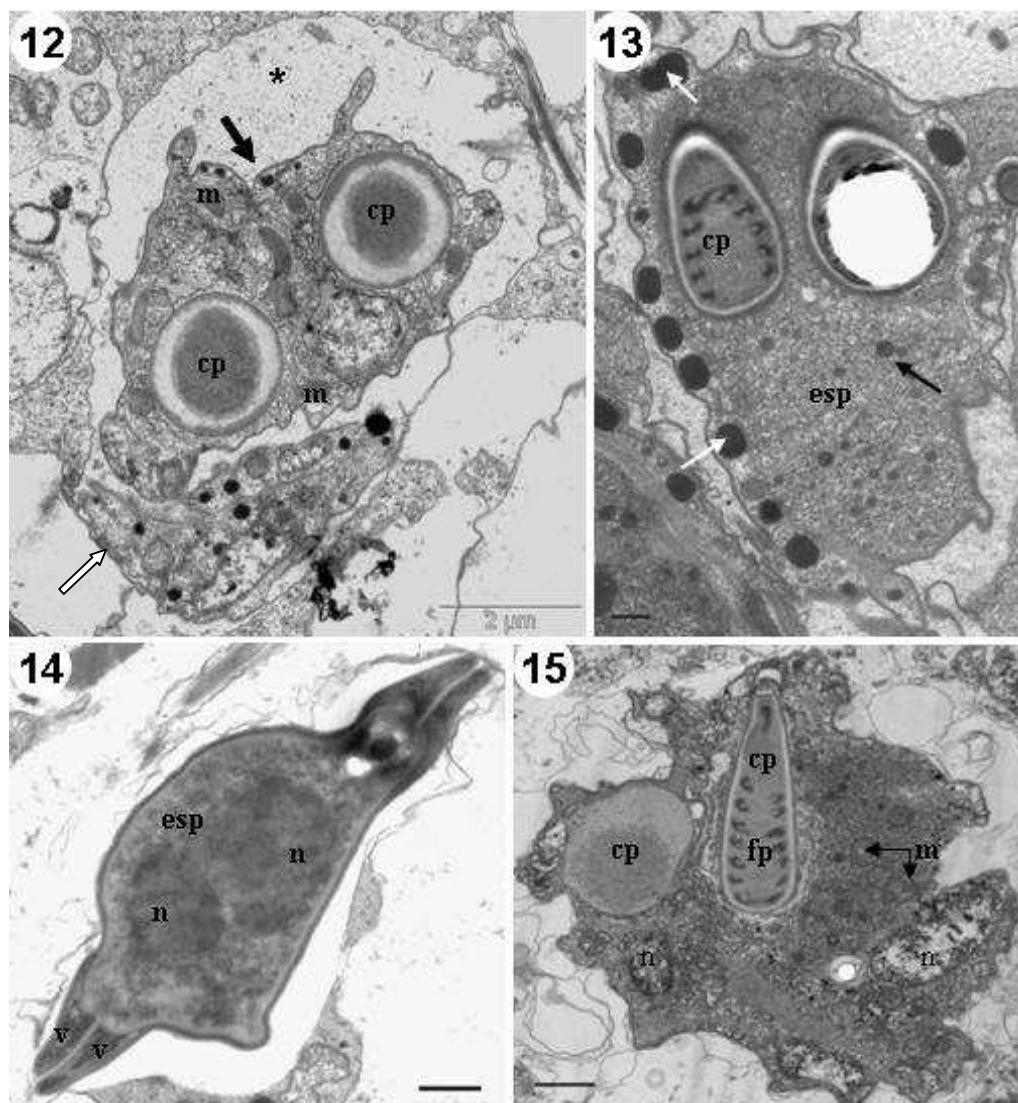


Fig. 12-15: Microscopia eletrônica de *Henneguya* sp. 1 em *Leporinus obtusidens* Fig 12: Esporoblasto (*) contendo dois esporos em desenvolvimento, um em corte transversal (seta preta) mostrando as cápsulas polares (cp) e outro em corte longitudinal (seta branca). Notar a presença de um grande número de mitocôndrias (m) no seu interior. Barra = 2 μ m. Fig. 13: Corte longitudinal de um esporo maduro mostrando duas cápsulas polares (cp), esporoplasma (esp) com esporoplasmossomos (seta preta) e uma grande quantidade de material formador de valvas (setas brancas). Barra = 2 μ m. Fig. 14: Esporo imaturo em corte transversal mostrando o esporoplasma (esp) com seus dois núcleos (n) e as paredes das valvas (v). Barra = 5 μ m. Fig. 15: Corte longitudinal de um esporo imaturo mostrando as cápsulas polares (cp), filamentos polares (fp), mitocôndrias (m) e núcleos das células capsulogênicas (n). Barra = 20 μ m.

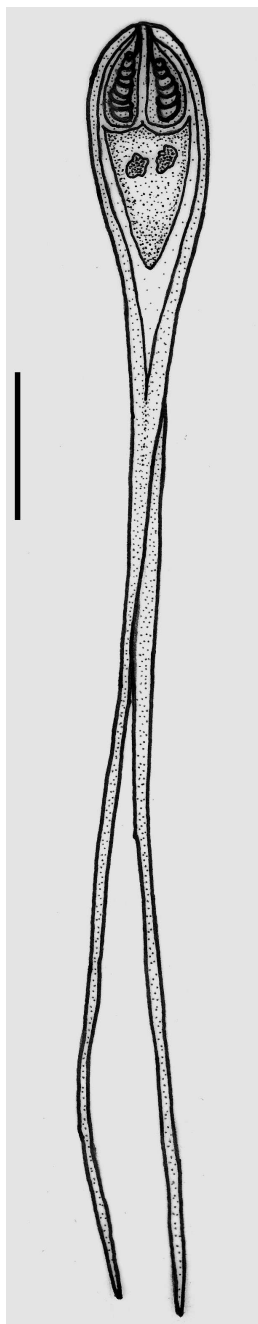


Fig. 16: Representação esquemática de um esporo maduro de *Henneguya* sp. 1. Barra = 5 μ m

4. Discussão

A morfologia e as dimensões dos esporos de *Henneguya* sp. 1. foram comparadas com todas as espécies de *Henneguya* descritas em peixes da América do Sul (Eiras, 2002; Azevedo e Matos, 2002, 2003; Barassa et al., 2003a,b; Casal et al., 2003; Vita et al., 2003; Eiras et al., 2004a,b; Adriano et al., 2005b,c; Matos et al., 2005; Martins e Onaka, 2006; Abdallah et al., 2007; Feijó et al., 2008; Azevedo et al., 2008; Eiras et al., 2009). Das 36 espécies de *Henneguya* reportadas até o momento, apenas *Henneguya leporinicola* (Martins et al., 1999), descrita parasitando as brânquias de *Leporinus macrocephalus*, e *Henneguya schizodon* (Eiras et al., 2004a), nos rins de *Schizodon fasciatus*, foram descritas em peixes da família Anostomidae, contudo, as dimensões dos esporos diferem da espécie aqui em estudo (Tabela I). Entre as demais espécies descritas, *Henneguya astyanax* (Vita et al., 2003) e *Henneguya garavelli* (Martins e Onaka, 2006) respectivamente em *Astyanax keithie* e *Cyphocharax nagell*, possuem comprimento total do esporo semelhante ao de *Henneguya* sp. 1. *H. astyanax* também apresenta o mesmo sítio de infecção que *Henneguya* sp. 1, contudo diferem nas outras dimensões, e além disso, possuem um filamento polar com maior número de voltas (8-9). Os esporos de *Henneguya garavelli* também se assemelham aos de *Henneguya* sp. 1, na largura do corpo do esporo e na largura das cápsulas polares, no entanto, o comprimento do corpo do esporo e o comprimento das cápsulas polares são maiores. Em adição, *H. garavelli* apresenta um filamento polar com um maior número de voltas (8-9) (Tabela I). Finalmente, *H. astyanax* e *H. garavelli* são parasitos de peixes da família Characidae e Curimatidae, respectivamente, enquanto que *Henneguya* sp. 1 foi registrada em Anostomidae. Segundo Molnár (1998) espécies de mixosporídeos do gênero *Henneguya* possuem alta especificidade de hospedeiro, podendo este ser mais um caráter utilizado na diferenciação das espécies.

Desta forma, baseado em características morfológicas e morfométricas, sítio de infecção, especificidade do hospedeiro, e pelo fato deste ser o primeiro registro de uma espécie de mixosporídeo infectando *L. obtusidens*, o presente material foi considerado como uma nova espécie.

A prevalência de *Henneguya* sp. 1 nas brânquias de *L. obtusidens* (70%) foi similar a aquela apresentada por *Henneguya garavelli* (63%) e *Henneguya striolata* (62,5%), parasitos das brânquias de *Cyphocharax nagelli* e *Serrasalmus striolatus*, respectivamente (Martins e Onaka, 2006; Casal et al., 1997).

Várias espécies de mixosporídeos do gênero *Henneguya* descritas infectando, tanto peixes da fauna brasileira como de outras partes do mundo, tem sido assinaladas como patogênicas. Em peixes da fauna brasileira podem-se destacar *Henneguya chydadea*, parasito de *Astyanax altiparanae* (Barassa et al., 2003b), *Henneguya curvata*, parasito de *Serrasalmus spilopleura* (Barassa et al., 2003a), *Henneguya piaractus*, parasito de *Piaractus mesopotamicus* (Martins e Souza, 1997; Adriano et al., 2005a) e *Henneguya rondoni*, parasito de *Gymnorhamphichthys rondoni* (Azevedo et al., 2008). Já em peixes de outras áreas geográficas, *Henneguya exilis*, parasito de bagre do canal (Current e Janovy, 1976), *Henneguya creplini*, parasito de *Stizostedion lucioperca* (Molnár, 1998), *Henneguya suprabranchiae*, parasito de *Clarias gariepinus* (El-Mansy e Bashtar, 2002) podem ser mencionadas.

De acordo com a classificação proposta por Molnár (2002), os plasmódios de *Henneguya* sp. 1 observados nas brânquias de *L. obtusidens* foram identificados como sendo do tipo intralamelar. A análise histopatológica revelou que o parasito provoca espessamento do epitélio do filamento, tal como observado por Martins et al. (1999) em *L. macrocephalus* e compressão dos capilares. Focos hemorrágicos e reação inflamatória por parte do hospedeiro não foram observadas.

Segundo Current e Janovy (1976) a caracterização da ultraestrutura da parede do plasmódio de parasitos da classe Myxosporea é de fundamental importância. A ultraestrutura do plasmódio difere entre as várias espécies do gênero *Henneguya* e também entre os “tipos clínicos” de uma mesma espécie (Current e Janovy, 1978).

No presente estudo, a análise ultraestrutural mostrou que a parede do plasmódio de *Henneguya* sp. 1 consiste de uma única membrana, a qual está em contato direto com as células do hospedeiro e possuem canais de pinocitose, que se estendem para o interior do plasmódio. A presença de plasmódios com uma única membrana tem sido relatada em diversas espécies do gênero *Henneguya* (Current, 1979; El-Mansy e Bashtar, 2002; Adriano et al., 2005a; Abdel-Ghaffar et al., 2008), enquanto a ocorrência de canais de pinocitose foi também registrada em espécies de *Henneguya* parasitos de brânquias de diferentes hospedeiros (Current, 1979; El-Mansy e Bashtar, 2002; Azevedo e Matos, 2003; Adriano et al., 2005a,c; Matos et al., 2005; Abdel-Ghaffar et al., 2008). De acordo com El-Mansy e Bashtar (2002) a parede do plasmódio pode ser considerada como organela responsável pela nutrição do parasito nas diferentes fases do

seu desenvolvimento, provendo nutrientes necessários para o crescimento, via canais de pinocitose, os quais podem incorporar o citoplasma da célula do hospedeiro.

Como observado em outras espécies de mixosporídeos, o desenvolvimento do plasmódio de *Henneguya* sp. 1 foi assincrônico. Nas porções periféricas foram observadas células generativas, esporoblastos jovens e esporos imaturos, enquanto que os esporos maduros ficavam centralmente localizados. No citoplasma das células valvogênicas de esporos imaturos de *Henneguya* sp.1 foi observada grande quantidade de material formador de valvas, e este registro está em acordo com o relato de vários outros autores (Current, 1979; El-Mansy e Bashtar, 2002; Ali et al., 2007; Abdel-Ghaffar, 2008). No esporoplasma dos esporos imaturos e maduros foram observados esporoplasmosomos, como em outras espécies do gênero *Henneguya* (Casal et al., 2003; Adriano et al., 2005a,c; Matos et al., 2005; Abdel-Ghaffar et al., 2008; Azevedo et al., 2008). Estas estruturas exibem grande diversidade no tamanho, no entanto, não se conhece a sua função (Abdel-Ghaffar et al., 2008). Segundo diversos autores, a presença de grande número de mitocôndrias nos esporos em desenvolvimento, como observado na espécie aqui em estudo, está provavelmente relacionada com a aquisição de um metabolismo aeróbico pelo parasito, para a obtenção de energia. (Current e Janovy 1976; Current e Janovy, 1978; El-Mansy e Bashtar 2002).

A infecção causada por *Henneguya* sp. 1 aparentemente não comprometeu as funções fisiológicas do órgão, mas em uma infecção intensa, as trocas gasosas e o equilíbrio osmótico podem ser comprometidos.

Agradecimentos

Os autores agradecem Ricardo Afonso Torres de Oliveira (ICMBIO-MMA) pela assistência durante a colheita e necropsia dos peixes.

Referências

- Abdallah, V.D., Azevedo, R.K., Luque, J.L., Bomfim, T.C.B., 2007. Two new species of *Henneguya* Thélohan, 1892 (Myxozoa, Myxobolidae), parasitic on the gills of *Hoplosternum littorale* (Callichthyidae) and *Cyphocharax gilbert* (Curimatidae) from the Guandu River, State of Rio de Janeiro, Brazil. *Parasitol. Latinoam.* 62, 35 – 41.
- Abdel-Ghaffar, F., Abdel-Baki, A.S., Bayoumy, E. M., Bashtar, A.R., Qurieshy, S. A., Morsey, K.S., Alghamdy, A., Mehlhorn, H., 2008. Light and electron microscopic study on *Henneguya suprabranchiae* Landsberg, 1987 (Myxozoa: Myxosporea) infecting *Oreochromis niloticus*, a new host record. *Parasitol. Res.* 103, 609-617.
- Adriano, E.A., Arana, S., Ceccarelli, P.S., Cordeiro, N.S., 2002. Light and scanning electron microscopy of *Myxobolus porofilus* sp. n. (Myxosporea: Myxobolidae) infecting the visceral cavity of *Prochilodus lineatus* (Pisces: Characiformes; Prochilodontidae) cultivated in Brazil. *Folia Parasitol.* 49, 259-262.
- Adriano, E.A., Arana, S., Cordeiro, N.S., 2005a. Histology, ultrastructure and prevalence of *Henneguya piaractus* (Myxosporea) infecting the gills of *Piaractus mesopotamicus* (Characidae) cultivated in Brazil. *Dis. Aquat. Org.* 64, 229-235.
- Adriano, E.A., Arana, S., Cordeiro, N.S., 2005b. An ultrastructural and histopathological study of *Henneguya pellucida* n. sp. (Myxosporea: Myxobolidae) infecting *Piaractus mesopotamicus* (Characidae) cultivated in Brazil. *Parasite.* 12, 221-227.
- Adriano, E.A., Arana, S., Cordeiro, N.S., 2005c. Histopathology and ultrastructure of *Henneguya caudalongula* sp. n. infecting *Prochilodus lineatus* (Pisces: Prochilodontidae) cultivated in the state of São Paulo, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 100, 177-181.
- Adriano, E.A., Arana, S., Cordeiro, N.S., 2006. Histopathology and ultrastructure of *Myxobolus cuneus* n. sp. infecting the connective tissue of *Piaractus mesopotamicus* (Pisces: Characidae) cultivated in Brazil. *Parasite.* 13, 137-142.
- Adriano, E.A., Arana, S., Alves, A.L., Silva, M.R.M., Ceccarelli, P.S., Silva, F.H., Maia, A.A.M., 2009. *Myxobolus cordeiroi* n. sp., a parasite of *Zungaro jahu* (Siluriformes: Pimelodiade) from Brazilian Pantanal: morphology, phylogeny and histopathology. *Vet. Parasitol.* 162, 221-229.
- Ali, M.A., Abdel-Baki, A.S., Sakran, Th., Entzeroth, R., Abdel-Ghaffar, F., 2007. *Myxobolus lubati* n. sp. (Myxosporea: Myxobolidae), a new parasite of haffara seabream *Rhabdosargus haffara* (Forsskal, 1775), Red Sea, Egypt: a light and transmission electron microscopy. *Parasitol. Res.* 100, 819–827.
- Azevedo, C., Matos, E., 2002. Fine structure of the myxosporean, *Henneguya curimata* n. sp., parasite of the Amazonian fish, *Curimata inornata* (Teleostei, Curimatidae). *J. Euk. Microbiol.* 49, 197-200.

- Azevedo, C.; Matos, E., 2003. Fine structure of *Henneguya pilosa* sp. N. (Myxozoa: Myxosporea), a parasite of *Serrasalmus altuvei* (Characidae), in Brasil. *Folia Parasitol.* 50, 37-42.
- Azevedo, C., Casal, G., Matos, P., Matos, E., 2008. A new species of Myxozoa, *Henneguya rondoni* n. sp. (Myxozoa), from the peripheral nervous system of the Amazonian fish, *Gymnorhamphichthys rondoni* (Teleostei). *J. Euk. Microbiol.* 55, 229-234.
- Barassa, B., Adriano, E. A., Arana, S., Cordeiro, N. C., 2003a *Henneguya curvata* sp. n. (Myxosporea: Myxobolidae) parasitising the gills of *Serrasalmus spilopleura* (Characidae: Serrasalminae), a South American freshwater fish. *Folia Parasitol.* 50, 151-153.
- Barassa, B., Adriano, E. A., Arana, S., Cordeiro, N. C., 2003b A new species of *Henneguya*, a gill parasite of *Astyanax altiparanae* (Pisces: characidae) from Brazil, with comments on histopathology and seasonality. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 98, 761-765.
- Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M., Shostak, A.W., 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. *J. Parasitol.* 83, 575-583.
- Casal, G., Matos, E., Azevedo, C., 1997. Some ultrastructural aspects of *Henneguya striolata* sp. nov. (Myxozoa, Myxosporea), a parasite of the Amazonian fish *Serrasalmus striolatus*. *Parasitol Res.* 83, 93-95.
- Casal, G., Matos, E., Azevedo, C., 2003. Light and electron microscopic study of the myxosporean, *Henneguya friderici* n. sp. from Amazonian teleostean fish, *Leporinus friderici*. *Parasitology.* 126, 313-319.
- Current, W.L., 1979. *Henneguya adiposa* Minchew (Myxosporida) in the Channel Catfish: Ultrastructure of the Plasmodium Wall and Sporogenesis. *J. Protozool.* 26, 209-217.
- Current, W.L., Janovy, J. Jr., 1976. Ultrastructure of interlamellar *Henneguya exilis* in the channel catfish. *J. Parasitol.* 62, 975-981.
- Current, W.L., Janovy, J. Jr., 1978. Comparative study of ultrastructure of interlamellar and intralamellar types of *Henneguya exilis* Kudo from channel catfish. *J. Protozool.* 25, 56-65.
- Eiras, J.C., 2002. Synopsis of the species of the genus *Henneguya* Thélohan, 1892 (Myxozoa: Myxosporea: Myxobolidae). *Syst. Parasitol.* 52, 43-54.
- Eiras, J.C., Malta, J.C., Varela, A., Pavanelli, G.C., 2004a. *Henneguya schizodon* n. sp. (Myxozoa, Myxobolidae), a parasite of the Amazonian teleost fish *Schizodon fasciatus* (Characiformes, Anostomidae). *Parasite.* 11, 169-73.
- Eiras, J.C., Pavanelli, G.C., Takemoto, R.M., 2004b. *Henneguya paranaensis* sp. n. (Myxozoa, Myxobolidae), a parasite of the teleost fish *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae) from the Paraná River, Brazil. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 24, 308-311.

- Eiras, J.C., Takemoto, R.M., Pavanelli, G.C., 2009. *Henneguya corruscans* n. sp. (Myxozoa, Myxosporea, Myxobolidae), a parasite of *Pseudoplatystoma corruscans* (Osteichthyes, Pimelodidae) from the Paraná River, Brazil: a morphological and morphometric study. Vet. Parasitol. 159, 154-8.
- El-Mansy, A.I.E., Bashtar, A.R., 2002. Histopathological and ultrastructural studies of *Henneguya suprabranchiae* Landsberg, 1987 (Myxosporea: Myxobolidae) parasitizing the suprabranchial organ of the freshwater catfish *Clarias gariepinus* Burchell, 1822 in Egypt. Parasitol. Res. 88, 617-626.
- Feijó, M.M., Arana, S., Ceccarelli, P.S., Adriano, E.A., 2008. Light and scanning electron microscopy of *Henneguya arapaima* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae) and histology of infected sites in pirarucu (*Arapaima gigas*: Pisces: Arapaimidae) from the Araguaia River, Brazil. Vet. Parasitol. 157, 59-64.
- Flores, V., Viozzi, G., 2007. Infection of *Myxobolus galaxii* (Myxozoa) in *Galaxias maculatus* (Osmeriformes: Galaxiidae) from northwestern Patagonian Andean lakes (Argentina). J. Parasitol. 93, 418-421.
- Kalavati, C., Narasimhamurti, C.C., 1985. Histopathological changes in the gills of *Channa punctatus* BL infected with *Henneguya waltirensis*. Arch. Protistenk. 129, 199-202.
- Lom, J., Arthur, J.R., 1989. A guideline for the preparation of species description in Myxosporea. J. Fish. Dis. 12, 151-156.
- Lom, J., Dyková, I., 1995. Myxosporea (Phylum Myxozoa). In: WOO, P. T. K. Fish Diseases and Disorders: Protozoan and Metazoan Infections. Cab International. p. 97-148.
- Lom, J., Dyková, I., 2006. Myxozoan genera: definition and notes on taxonomy, life-cycle terminology and pathogenic species. Folia Parasitol. 53, 1-36.
- Martins, M.L., Onaka, E.M., 2006. *Henneguya garavelli* n. sp. and *Myxobolus peculiaris* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae) in the gills of *Cyphocharax nagelli* (Osteichthyes: Curimatidae) from Rio do Peixe Reservoir, São José do Rio Pardo, São Paulo, Brazil. Vet. Parasitol. 137, 253-261.
- Martins, M.L., Souza, V.N., 1997. *Henneguya piaractus* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae), a gill parasite of *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae), in Brazil. Rev. Bras. Biol. 57, 239-245.
- Martins, M.L., Souza, V.N., Moraes, J.R., Moraes, F.R., 1999. Gill infection of *Leporinus macrocephalus* Garavello & Britski, 1988 (Osteichthyes: Anostomidae) by *Henneguya leporinicola* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae). Description, histopathology and treatment. Rev. Bras. Biol. 59, 527-34.
- Matos, E., Tajdari, J., Azevedo, C., 2005. Ultrastructural Studies of *Henneguya rhamdia* n. sp. (Myxozoa) a Parasite from the Amazon Teleost Fish, *Rhamdia quelen* (Pimelodidae). J. Euk. Microbiol. 52, 532-537.

- Molnár, K., 1998. Taxonomic problems, seasonality and histopathology of *Henneguya creplini* (Myxosporea) infection of the pikeperch *Stizostedion lucioperca* in Lake Balaton. *Folia Parasitol.* 45, 261-269.
- Molnár, K., 2002. Site preference of fish myxosporeans in the gill. *Dis. Aquat. Org.* 48, 197-207.
- Molnár, K., Eszterbauer, E., Marton, S., Cech, G., Székely, C., 2009. *Myxobolus erythrophthalmi* sp. n. and *Myxobolus shaharomae* sp. n. (Myxozoa: Myxobolidae) from the internal organs of rudd, *Scardinius erythrophthalmus* (L.), and bleak, *Alburnus alburnus* (L.). *J. Fish Dis.* 32, 219-31.
- Santos, G.O., 2000. Aspectos importantes para a piscicultura do gênero *Leporinus* Spix, 1829 – uma revisão. *Pesq. Agrop. Gaúcha.* 6, 151-156.
- Vita, P., Corral, L., Matos, E., Azevedo, C., 2003 Ultrastructural aspects of the myxosporean *Henneguya astyanax* sp. n. (Myxozoa: Myxobolidae), a parasite of the Amazonian teleost *Astyanax keithi* (Characidae). *Dis. Aquat Org.* 53, 55-60.

6. CONCLUSÕES

Os resultados deste trabalho possibilitaram as seguintes conclusões:

- 1) A análise dos tecidos e órgãos de *Salminus brasiliensis* revelou a presença de uma nova espécie de mixosporídeo pertencente ao gênero *Myxobolus*: *Myxobolus* sp. 1 parasitando o fígado, com prevalência de 90%.
- 2) O estudo dos tecidos e órgãos de *Leporinus obtusidens* demonstrou a presença de uma nova espécie de mixosporídeo pertencente ao gênero *Henneguya*: *Henneguya* sp. 1 parasitando as brânquias, com 70% de prevalência.
- 3) A análise histológica do fígado de *S. brasiliensis*, infectado por *Myxobolus* sp. 1, demonstrou que o parasito se desenvolve no parênquima hepático, mas não provoca reação inflamatória por parte do hospedeiro.
- 4) Os plasmódios de *Henneguya* sp. 1, do tipo intralamelar, causaram o espessamento do epitélio do filamento e a compressão dos capilares. O desenvolvimento dos plasmódios não provocou reação inflamatória por parte do hospedeiro.
- 5) A análise ultraestrutural demonstrou que o plasmódio de ambas as espécies consiste de uma única membrana, a qual está em contato direto com as células do hospedeiro, com a diferença que em *Henneguya* sp. 1 existem canais de pinocitose, que se estendem para o interior do plasmódio.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADRIANO, E. A **Myxozoa em Peixes Autóctones Mantidos em Sistemas de Criação: Taxonomia e Relação Parasito hospedeiro**. 2004. 90f. Tese (Tese de Doutorado em Parasitologia)- Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2004.
- ADRIANO, E. A.; ARANA, S.; CECCARELLI, P. C.; CORDEIRO, N. S. Light and scanning electron microscopy of *Myxobolus porofilus* sp. n. (Myxosporea: Myxobolidae) infecting the visceral cavity of *Prochilodus lineatus* (Pisces: Characiformes; Prochilodontidae) cultivated in Brazil. **Folia Parasitol.**, v. 49, p. 259-262, 2002.
- ADRIANO, E. A.; ARANA, S.; CORDEIRO, N. S. Histology, ultrastructure and prevalence of *Henneguya piaractus* (Myxosporea) infecting the gills of *Piaractus mesopotamicus* (Characidae) cultivated in Brazil. **Dis. Aquat. Org.**, v. 64, p. 229-235, 2005a.
- ADRIANO, E. A.; ARANA, S.; CORDEIRO, N. S. Histopathology and ultrastructure of *Henneguya caudalongula* sp. n. infecting *Prochilodus lineatus* (Pisces: Prochilodontidae) cultivated in the state of São Paulo, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 100, p. 177-181, 2005b.
- ADRIANO, E. A.; ARANA, S.; CORDEIRO, N. S. An ultrastructural and histopathological study of *Henneguya pellucida* n. sp. (Myxosporea: Myxobolidae) infecting *Piaractus mesopotamicus* (Characidae) cultivated in Brazil. **Parasite**, v. 12, p. 221-227, 2005c.
- ADRIANO, E. A.; ARANA, S.; CORDEIRO, N. S. *Myxobolus cuneus* n. sp. (Myxosporea) infecting the connective tissue of *Piaractus mesopotamicus* (Pisces: Characidae) in Brazil: histopathology and ultrastructure. **Parasite**, v. 13, p.137-142, 2006.
- ADRIANO, E. A.; ARANA, S.; ALVES, A. L.; SILVA, M. R. M.; CECCARELLI, P. S.; SILVA, F. H.; MAIA, A. A. M. *Myxobolus cordeiroi* n. sp., a parasite of *Zungaro jahu* (Siluriformes: Pimelodiade) from Brazilian Pantanal: morphology, phylogeny and histopathology. **Vet. Parasitol.**, v. 162, n. 3-4, p. 221-229, 2009.
- ANDREE, K. B.; SÉKELY, C.; MOLNÁR, K.; GRESOVIAC, S. J.; HEDRICK, R. P. Relationships among members of the genus *Myxobolus* (Myxozoa: Bivalvidae) based on small subunit ribosomal DNA sequences. **J. Parasitol.**, v. 85, n. 1, p. 68-74, 1999.
- AZEVEDO, C.; MATOS, E. *Henneguya adherens* n. sp. (Myxozoa, Myxosporea), parasite of the Amazonian fish, *Acesthorhynchus falcatus*. **J. Euk. Microbiol.**, v. 42, p. 515-518, 1995.
- AZEVEDO, C.; MATOS, E. *Henneguya malabarica* sp. n. (Myxozoa, Myxobolidae) in the Amazonian fish *Hoplias malabaricus*. **Parasitol. Res.**, v. 82, p.222-224, 1996.
- AZEVEDO, C.; MATOS, E. Fine structure of the myxosporean, *Henneguya curimata* n. sp., parasite of the Amazonian fish, *Curimata inornata* (Teleostei, Curimatidae). **J. Euk. Microbiol.**, v. 49, n. 3, p.197-200, 2002

- AZEVEDO, C.; MATOS, E. Fine structure of *Henneguya pilosa* sp. N. (Myxozoa: Myxosporea), a parasite of *Serrasalmus altuvei* (Characidae), in Brasil. **Folia Parasitol.**, v. 50, p. 37-42, 2003.
- AZEVEDO, C.; CORRAL, L.; MATOS, E. Light and ultrastructural data on *Henneguya testicularis* n. sp. (Myxozoa, Myxobolidae), a parasite from the testis of the Amazonian fish *Moenkhausia oligolepis*. **Syst. Parasitol.**, v. 37, p.111-114, 1997.
- AZEVEDO, C.; CORRAL, L.; MATOS, E. *Myxobolus desaequalis* n. sp. (Myxozoa, Myxosporea), parasite of the Amazonian freshwater fish, *Apteronotus albifrons* (Teleostei, Apteronotidae). **J. Euk. Microbiol.**, v. 49, p.485-488, 2002.
- 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. Euk. Microbiol.**, v. 55, n. 3, p.229-234, 2008.
- BAHRI, S.; ANDREE, K. B.; HEDRICK, R. P. Morphological and phylogenetic studies of marine *Myxobolus* spp. from mullet in Ichkeul Lake, Tunisia. **J. Euk. Microbiol.**, v. 50, p.463-470, 2003.
- BARASSA, B.; ADRIANO, E. A.; ARANA, S.; CORDEIRO, N. C. *Henneguya curvata* sp. n. (Myxosporea: Myxobolidae) parasitising the gills of *Serrasalmus spilopleura* (Characidae: Serrasalminae), a South American freshwater fish. **Folia Parasitol.**, v. 50, p. 151-153, 2003a.
- BARASSA, B.; ARANA, S.; CORDEIRO, N. C. A new species of *Henneguya*, a gill parasite of *Astyanax altiparanae* (Pisces: characidae) from Brazil, with comments on histopathology and seasonality. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 98, p. 761-765, 2003b.
- BUCKUP, P.A. Relationships of the Characidiinae and phylogeny of Characiform fishes (Teleostei: Ostariophysi). In: WOO, P. T. K. **Fish Diseases and Disorders: Protozoan and Metazoan Infections**. Cab International, 1998. p. 123-147.
- BUSH, A.O.; LAFFERTY, K. D.; LOTZ, J. M.; SHOSTAK, A. W. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. **J. Parasitol.** v. 83, p.575-583, 1997.
- CANNING, E. U.; OKAMURA, B. Biodiversity and evolution of the Myxozoa. **Adv. Parasitol.**, v. 56, p.43-131, 2004
- CASAL, G.; MATOS, E.; AZEVEDO, C. Ultrastructural data on the life cycle stages of *Myxobolus brasiliensis* n. sp., parasite of an Amazonian fish. **Europ. Protistol.**, v. 32, p.123-127, 1996.
- CASAL, G.; MATOS, E.; AZEVEDO, C. Some ultrastructural aspects of *Henneguya striolata* sp. n. (Myxozoa, Myxosporea), a parasite of the Amazonian fish *Serrasalmus striolatus*. **Parasitol. Res.**, v. 83, p.93-95, 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). **Dis. Aquat. Org.**, v. 51, p. 107-112, 2002.

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

CASAL, G.; MATOS, E.; AZEVEDO, C. A new myxozoan parasite from the Amazonian fish *Metynnis argenteus* (Teleostei, Characidae): light and electron microscope observations. **J. Parasitol.**, v. 92, n. 4, p. 817-21, 2006.

CECARELLI, P. S.; SENHORINI, J. A.; VOLPATO, G. **Dicas em piscicultura: Perguntas e Respostas**. Botucatu: Santana Gráfica Editora, 2000. 247p.

CELLERE, E. F.; CORDEIRO, N. S.; ADRIANO, E. A. *Myxobolus absonus* sp. n. (Myxozoa: Myxosporea) parasitizing *Pimelodus maculatus* (siluriformes: Pimelodidae), a South American freshwater fish. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 1, p.79-80, 2002.

EIRAS, J. C. **Elementos de Ictioparasitologia**. Porto- Portugal: Fundação Eng. António de Almeida, 1994. 339 p.

EIRAS, J. C.; MALTA, J. C.; VARELA, A.; PAVANELLI, G. C. *Henneguya schizodon* n. sp. (Myxozoa, Myxobolidae), a parasite of the Amazonian teleost fish *Schizodon fasciatus* (Characiformes, Anostomidae). **Parasite**, v. 11, n. 2, p. 169-73, 2004a.

EIRAS, J. C.; PAVANELLI, G. C.; TAKEMOTO, R. M. *Henneguya paranaensis* sp. n. (Myxozoa, Myxobolidae), a parasite of the teleost fish *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae) from the Paraná River, Brazil. **Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.**, v. 24, n. 6, p.308-311, 2004b.

EIRAS, J. C.; MALTA, J. C.; VARELLA, A. M.; PAVANELLI, G. C. *Myxobolus insignis* sp. n. (Myxozoa, Myxosporea, Myxobolidae), a parasite of the Amazonian teleost fish *Semaprochilodus insignis* (Osteichthyes, Prochilodontidae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 3, p.245-247, 2005.

EIRAS, J. C.; ABREU, P. C.; ROBALDO, R.; PEREIRA JÚNIOR, J. *Myxobolus platanus* n. sp. (Myxosporea, Myxobolidae), a parasite of *Mugil platanus* Günther, 1880 (Osteichthyes, Mugilidae) from Lagoa dos Patos, RS, Brazil. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 59, n. 4, p.895-898, 2007.

ESZTERBAUER, E. Molecular biology can differentiate morphologically indistinguishable myxosporean species: *Myxobolus elegans* and *M. hungaricus* (short communication). **Acta Vet. Hungarica**, v. 50, p. 59-62, 2002.

ESZTERBAUER, E. Genetic relationship among gill-infecting *Myxobolus* species (Myxosporea) og ciprininids: molecular evidence of importance of tissue-specificity. **Dis. Aquatic. Org.**, v. 58, p. 35-40, 2004.

ESZTERBAUER, E.; BENKO, M.; DÁN, A.; MOLNÁR, K. Identification of fish-parasitic *Myxobolus* (Myxosporea) species using a combined PCR-RFLP method. **Dis. Aquatic. Org.**, v. 44, p.35-39, 2001.

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

FERGUSON, J. A.; ATKINSON, S. D.; WHIPPS, C. M.; KENT, M. L. Molecular and morphological analysis of myxobolus spp. of salmonid fishes with the description of a new myxobolus species. **J. Parasitol.**, v. 94, n. 6, p. 1322-34, 2008.

FIALA, I. The phylogeny of Myxosporea (Myxozoa) based on small subunit ribosomal RNA gene analysis. **Int. J. Parasitol.**, v. 36, p.1521-1534, 2006.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Global Aquiculture production search. Disponível em: www.fao.gov. 2007. Acesso em: 19 jan. 2009.

FRACALOSS, D. M.; MEYER, G.; SANTAMARIA, F. M.; WEINGARTNER, M.; ZANIBONI-FILHO, E. Desempenho do jundiá, *Rhamdia quelen*, e do dourado, *Salminus brasiliensis*, em viveiros de terra na região Sul do Brasil. **Acta Sci.: Anim. Sci.**, v. 26, p.345-352, 2004.

IWANOWICZ, L. R.; IWANOWICZ, D. D.; POTE, L. M.; BLAZER, V. S.; SCHILL, W. B. Morphology and 18S rDNA of *Henneguya gurlei* (Myxosporea) from *Ameriurus nebulosus* (Siluriformes) in North Carolina. **J. Parasitol.**, v. 94, n. 1, p. 46-57, 2008.

KALAVATI, C.; NARASIMHAMURTI, C. C. Histopathological changes in the gills of *Channa punctatus* BL infected with *Henneguya waltirensis*. **Arch. Protistenk.**, v. 129, p.199-202, 1985.

KENT, M. L.; ANDREE, K. B.; BARTHOLOMEW, J. L.; EL-MATBOULI, M.; DESSER, S. S.; DELVIN, R. H.; FEIST, S. W.; HEDRICK, R. P.; HOFFMANN, R. W.; KHATTRA, J.; HALLETT, S. L.; LESTER, R. J. G.; LONGSHAW, M.; PALENZEULA, O.; SIDDALL, M. E.; XIAO, C. X. Recent advances in our knowledge of the Myxozoa. **J. Euk. Microbiol.**, v. 48, p. 395-413, 2001.

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

LOM, J.; ARTHUR, J. R. A Guideline for the Preparation of Species Description in Myxosporea. **J. Fish Dis.**, v. 12, p.151-156, 1989.

LOM, J.; DYKOVÁ, I. Myxosporea (Phylum Myxozoa). In: WOO, P. T. K. **Fish Diseases and Disorders: Protozoan and Metazoan Infections**. Cab International, 1995. p. 97-148.

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

MAI, M. G.; ZANIBONI-FILHO, E. Efeito da idade de estocagem em tanques externos no desempenho da larvicultura do dourado *Salminus brasiliensis* (Osteichthyes, Characidae). **Acta Sci: Anim. Sci.**, v.27, p.287-296, 2005.

MARTINS, M. L.; ONAKA, E. M. *Henneguya garavelli* n. sp. and *Myxobolus peculiaris* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae) in the gills of *Cyphocharax nagelli* (Osteichthyes: Curimatidae) from Rio do Peixe Reservoir, São José do Rio Pardo, São Paulo, Brazil. **Vet. Parasitol.**, v. 137, n. 3-4, p.253-61, 2006.

MARTINS, M. L.; ROMERO, N. G. Efectos del Parasitismo sobre el Tejido Branquial em Peces Cultivados: Estudio Parasitológico e histológico. **Rev. Bras. Zool.**, v. 13, p.489-500, 1996.

MARTINS, M. L.; SOUZA, V. N. *Henneguya piaractus* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae), a gill parasite of *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae), in Brazil. **Rev. Bras. Biol.**, v. 57, p. 239-245, 1997.

MARTINS, M. L.; SOUZA, V. N.; MORAES, J. R. E.; MORAES, F. R.; COSTA, A. J. Pathology and behavioural effects associated with *Henneguya* sp. (Myxozoa: Myxobolidae) infections of captive pacu *Piaractus mesopotamicus* in Brazil. **J. World Aquacul. Soc.**, v. 28, p.297-300, 1997.

MARTINS, M. L.; SOUZA, V. N.; MORAES, J. R.; MORAES, F. R. Gill infection of *Leporinus macrocephalus* Garavito & Britski, 1988 (Osteichthyes: Anostomidae) by *Henneguya leporincola* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae). Description, histopathology and treatment. **Rev. Bras. Biol.**, v. 59, n. 3, p. 527-34, 1999.

MATOS, E.; TAJDARI, J.; AZEVEDO, C. Ultrastructural Studies of *Henneguya rhamdia* n. sp. (Myxozoa) a Parasite from the Amazon Teleost Fish, *Rhamdia quelen* (Pimelodidae). **J. Euk. Microbiol.**, v. 52, n. 6, p.532-537, 2005.

MIGONE, L. E. Parasitologie de certains animaux du Paraguay. **Bul. Soc. Pathol. Exot.**, v. 9, p.359-364, 1916.

MOLNÁR, K.; RANZANI-PAIVA, M. J.; EIRAS, J. C.; RODRIGUES, E. L. *Myxobolus macroplasmoidalis* sp. N. (Myxozoa: Myxosporidia), a parasite of the abdominal cavity of the Characid Teleost, *Salminus maxillosus* in Brasil. **Acta Protozool.**, v. 37 p.241-245, 1998.

MOLNÁR, K.; ESZTERBAUER, E.; SCZÉKELY, C.; BENKO, M.; HARRACH, B. Morphological and molecular biological studies on intramuscular *Myxobolus* spp. of cyprinid fish. **J. Fish Dis.**, v. 25, p. 643-652, 2002.

MORRIS, D. J.; ADAMS, A. Transmission of freshwater myxozoans during the asexual propagation of invertebrate hosts. **Int. J. Parasitol.**, v. 36, n. 3, p. 371-7, 2006.

NELSON, J. S. **Fishes of the World**. 2 ed. New York: John & Sons, 1984. 523p.

- NELSON, J.S. **Fishes of the World**. 3 ed. New York: John & Sons, 1994. 600p.
- PRUNESCU, C. C.; PRUNESCU, P.; PUCEK, Z.; LOM J. The first finding of myxosporean development from plasmodia to spores in terrestrial mammals: *Soricimyxum fegati* gen. et sp. n. (Myxozoa) from *Sorex araneus* (Soricomorpha). **Folia Parasitol.**, v. 54, n. 3, p 159-64, 2007.
- SALIM, K. Y; DESSER, S. S. Descriptions and phylogenetic systematics of *Myxobolus* spp. from Cyprinids in Algonquin Park, Ontario. **J. Euk. Microbiol.**, v. 47, p.309-318, 2000.
- SANTOS, G. O. Aspectos importantes para a piscicultura do gênero *Leporinus* Spix, 1829 – uma revisão. **Pesq. Agrop. Gaúcha**, v.6, n.1, p.151-156, 2000.
- SCHAEFER, S. A. Conflict and resolution: impact of new taxa on phylogenetic studies of the neotropical cascudinhos (Siluroidea: Loricariidae). In: MALABARBA, L. R; REIS, R. E; VARI, R. P; LUCENA, Z. M. S; LUCENA, C. A. S (eds). **Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 1998. p. 375-400.
- SITJÀ-BOBADILLA, A. Fish immune response to myxozoan parasites **Parasite**, v. 15, 420-425 2008.
- SPLENDRE, A. Trypanosomes Des Poissons Brésiliens. **Bul. Soc. Pathol. Exot.**, v. 524, 1910.
- TAJDARI, J.; MATOS, E.; MENDONÇA, I.; AZEVEDO, A. Ultrastructural Morphology of *Myxobolus testicularis* sp. n., Parasite of the Testis of *Hemiodopsis microlepis* (Teleostei: Hemiodontidae) from the NE of Brazil. **Acta Protozool.**, v. 44, p.377 – 384, 2005.
- THATCHER, V. E. Patologia de peixes da Amazônia Brasileira. 1. Aspectos gerais. **Acta Amazônica**, v. 11, p.125-140, 1981.
- VAZZOLER, A. E. A. M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá: EDUEM, 1996. 196p.
- VITA, P.; CORRAL, L.; MATOS, E., AZEVEDO, C. Ultrastructural aspects of the myxosporean *Henneguya astyanax* sp. n. (Myxozoa: Myxobolidae), a parasite of the Amazonian teleost *Astyanax keithi* (Characidae). **Dis. Aquat. Org.**, v. 53, p. 55-60, 2003.
- WOLF, K.; MARKIW, M. E. Biology contravenes taxonomy in the myxozoa: new discoveries show alternation of invertebrate and vertebrate host. **Science**, v. 255, p.1449-1452, 1984.
- XIAO, C.; DESSER, S. S. Cladistic analysis of myxozoan species with known alternating life-cycle. **Sys. Parasitol.**, v. 46, p. 81-91, 2000.
- ZHAO, Y.; SUN, C.; KENT, M. L.; DENG, J.; WHIPPS, C. M. Description of a new species of *Myxobolus* (Myxozoa: Myxobolidae) based on morphological and molecular data. **J. Parasitol.**, v. 94, n. 3, p.737-742, 2008.

ZRZAVÝ J. The interrelationships of metazoan parasites: a review of phylum-and higher-level hypotheses from recent morphological and molecular phylogenetic analyses. **Folia Parasitol.**, v. 48, n. 2, p.81-103, 2001.

8. ANEXO

8.1 Anexo I

FICHA DE COLETA

DATA DA COLETA: / /

PEIXE Nº:

Nome genérico:

Nome científico:

Comprimento:

Sexo:

Órgãos Parasitados:

Forma parasitária: () Cisto

() Esporo

Gênero:

Espécie:

Observações:

Órgãos Parasitados:

Forma parasitária: () Cisto

() Esporo

Gênero:

Espécie:

Observações:

DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que o conteúdo de minha dissertação/tese de Mestrado/Doutorado intitulada: “ESTUDO DA SUSCEPTIBILIDADE À INFECÇÃO NATURAL POR PARASITOS MYXOZOA (MYXOSPOREA: MYXOBOLIDAE) EM DOURADO (*Salminus brasiliensis*) E PIAPARA (*Leporinus obtusidens*) ORIUNDOS DE AMBIENTE NATURAL”:

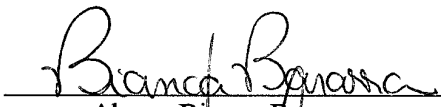
() não se enquadra no § 3º do Artigo 1º da Informação CCPG 01/08, referente a bioética e biossegurança.

() está inserido no **Projeto CIBio/IB/UNICAMP** (Protocolo nº _____), intitulado _____;

() tem autorização da **Comissão de Ética em Experimentação Animal/IB/UNICAMP** (Protocolo nº _____);

() tem autorização do **Comitê de Ética para Pesquisa com Seres Humanos/FCM/UNICAMP** (Protocolo nº _____);

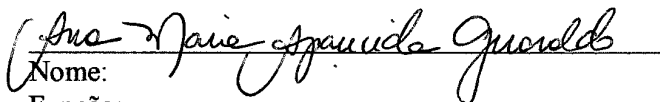
(X) tem autorização de comissão de bioética ou biossegurança externa à UNICAMP.
Especificar: SISBIO / ICMBIO (nº 15507-1)


Aluno: Bianca Barassa


Orientador: Profo. Nelson da Silva Cordeiro

Para uso da Comissão ou Comitê pertinente:

(X) Deferido () Indeferido


Nome: _____
Função: _____

Profa. Dra. ANAMARIA A. GUARALDO
Presidente
Comissão de Ética na Experimentação Animal
CEEa/IB - UNICAMP