

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
DOUTORADO EM HIGIENE VETERINÁRIA E PROCESSAMENTO
TECNOLÓGICO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL

MOACIR CERQUEIRA DA SILVA

MICROSPORIDIOSE E COCCIDIOSE EM PEIXES DA
ESPÉCIE *Brachyplatystoma vaillantii* (VALENCIENNES,
1840) CAPTURADOS NA REGIÃO COSTEIRA DO
MUNICÍPIO DE VIGIA DE NAZARÉ, ESTADO DO PARÁ.

UNIVERSIDADE
FEDERAL
FLUMINENSE

BELÉM
2011

MOACIR CERQUEIRA DA SILVA

MICROSPORIDIOSE E COCCIDIOSE EM PEIXES DA ESPÉCIE *Brachyplatystoma vaillantii* (VALENCIENNES, 1840) CAPTURADOS NA REGIÃO COSTEIRA DO MUNICÍPIO DE VIGIA DE NAZARÉ, ESTADO DO PARÁ.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor em Medicina Veterinária – área de Concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.

Prof. Dr. Sérgio Carmona de São Clemente - Orientador
Universidade Federal Fluminense

Prof. Dr. Edilson Rodrigues Matos - Coorientador
Universidade Federal Rural da Amazônia

BELÉM
2011

MOACIR CERQUEIRA DA SILVA

MICROSPORIDIOSE E COCCIDIOSE EM PEIXES DA ESPÉCIE *Brachyplatystoma vaillantii* (VALENCIENNES, 1840) CAPTURADOS NA REGIÃO COSTEIRA DO MUNICÍPIO DE VIGIA DE NAZARÉ, ESTADO DO PARÁ.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor em Medicina Veterinária – área de Concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Sérgio Carmona de São Clemente – Orientador
Faculdade de Veterinária - UFF

Prof. Dr. Edilson Rodrigues Matos – Coorientador
Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA

Prof. Dr. Francisco Carlos de Lima
Faculdade de Veterinária - UFF

Prof. Dr. Rogério Tortelli
Faculdade de Veterinária - UFF

Prof^ª. Dr^a. Elane Guerreiro Giese
Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA

DEDICATÓRIA

À minha Querida Mãe, Cornélia
Cerqueira da Silva, *in memoriam*, pela
vida e amor a mim dedicados.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos Professores Sérgio Carmona de São Clemente e Edilson Rodrigues Matos pela orientação e amizade;

Aos professores do Curso pelos os ensinamentos, compreensão e amizade;

A Dr^a. Elizabeth Conceição de Oliveira Santos, Diretora do Instituto Evandro Chagas, pelo apoio institucional e disponibilização de parte da estrutura de pesquisa necessária a realização deste trabalho

Ao Professor Dr. José Antônio Picanço Diniz, Coordenador do Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto Evandro Chagas, pela colaboração na realização da microscopia eletrônica de transmissão, contraste de interferência diferencial e contraste de fase;

A Médica Veterinária Michelle Silva, pela realização das técnicas histológicas e fotográficas;

A Professora Conceição de Maria Almeida Vieira da UFRA pelo apoio junto ao Instituto Evandro Chagas;

A Técnica Patrícia Sacco dos Santos, do LPCA pela realização dos procedimentos e técnicas que permitiram a realização da microscopia eletrônica de transmissão;

Ao LPCA pelo apoio a realização da pesquisa;

A UFF pela acolhida e oportunidade;

A CAPES pela bolsa de estudos oferecida através do projeto de Doutorado Interinstitucional – DINTER UFF/UFRA;

A UFRA por ter propiciado e facilitado à realização e participação no projeto DINTER CAPES/UFF/UFRA;

A FUNPEA pelo suporte e apoio na impressão gráfica e encadernação da tese.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS, p. 6

LISTA DE FIGURAS, p. 7

RESUMO, p. 9

ABSTRACT, p. 10

1 INTRODUÇÃO, p. 11

2 REVISÃO DE LITERATURA, p. 14

2.1 PIRAMUTABA, p. 14

2.2 FILO MICROSPORÍDIA, p. 15

2.2.1 Sistemática, morfologia e ciclo de vida, p. 15

2.2.1.1 Sistemática, p. 15

2.2.1.2 Morfologia, p. 18

2.2.1.3 Ciclo de vida, p. 20

2.3 FILO APICOMPLEXA, p. 21

2.3.1 Sistemática, morfologia e ciclo de vida, p. 21

2.3.1.1 Sistemática, p. 21

2.3.1.2 Morfologia, p. 23

2.3.1.3 Ciclo de vida, p. 24

3 DESENVOLVIMENTO, p. 26

3.1 PRIMEIRO ARTIGO, p. 28

3.2 SEGUNDO ARTIGO, p. 40

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS, p. 49

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS, p. 50

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.

(°)	Grau medida do ângulo em relação ao equador ou a um meridiano
µm	Micrômetro
C.	<i>Calyptospora</i>
CHH	Célula hospedeira hipertrófica
cm	Centímetro
D	Disco de ancoragem
DIC	Differential interference contrast
EAS	Estuário Amazonas Solimões
EM	Membrana do esporosplasma
END	Endosporo
EX	Exosporo
g	Gramma
HE	Hematoxilina-eosina
kg	Quilograma
kV	Quilovolts
LPCA	Laboratório de Pesquisas Carlos Azevedo
M	Molar
m	metro
mm	milímetro
°C	Graus Celsius
PA	Parede do esporo
pH	Potencial hidrogênio iônico
PO	Polaroplasto
S	South (sul)
sp.	Espécie ainda não identificada
spp.	Todas as espécies do gênero <i>Calyptospora</i>
TP	Tubo polar
TP ₁	Tubo polar corte transversal
VP	Vacúolo posterior
W	West (oeste)

LISTAS DE FIGURAS

1º ARTIGO

- Figuras 1 e 2. Xenomas (cabeças de setas) de *Microsporidium* sp. em cortes semifinos corados pelo corante HE, encontrados na mucosa gástrica de *Brachyplatystoma vaillantii* X 400 e 1000, respectivamente. p. 31
- Figura 3. Três xenomas maduros irregulares de diferentes tamanhos de *Microsporidium* sp. encontrados na mucosa gástrica de *Brachyplatystoma vaillantii* X 400. p. 32
- Figura 4. Esporos isolados e agrupados de *Microsporidium* sp. X 400. Detalhe: esporos de microsporídios X 300. p. 32
- Figura 5. Foto de um xenoma rompido contendo inúmeros esporos de microsporídio isolado de mucosa gástrica de *Brachyplatystoma vaillantii* X 400. p. 32
- Figura 6. Vários esporos isolados e agrupados de *Microsporidium* sp. em corte semifino, corado pelo azul de toluidina X 1000. Detalhe: microsporídios X 300. p. 32
- Figura 7. Corte ultrafino longitudinal de esporo de *Microsporidium* sp. na mucosa gástrica de *Brachyplatystoma vaillantii*, onde são observadas as estruturas: D – disco de ancoragem; TP – tubo polar porção anterior; PO – polaroplasto; PA – parede do esporo; VP – Vacúolo posterior; TP₁ – tubo polar em corte transversal X 20.000. p. 33
- Figura 8. Parede do esporo - PA, constituída pelo exósporo – EX, endosporo – EM e membrana do esporoplasma (cabeça de seta) observado em *Brachyplatystoma vaillantii* X 30.000. p. 33
- Figura 9. Corte longitudinal ultrafino de esporo de microsporídio observado em *Brachyplatystoma vaillantii*, destacando as lamelas do polaroplasto - (PO) e vesícula posterior – VP. X 20.000. p. 34
- Figura 10. Corte ultrafino X 20.000, destacando o esporoplasma – ESP contendo poliribossomas – (*). p. 34

2º ARTIGO

- Figura 1. Preparação a fresco, alguns oocistos isolados e agrupados de *Calyptospora* sp. obtidos de fígado de *B. vaillantii*, x 400. p. 43
- Figura 2. Cortes semifinos corado pelo método tricrômico de Gutiérrez, contendo oocistos imaturos (cabeças de setas) de *Calyptospora* sp. X 40. Destaque: oocisto maduro (seta) contendo esporocistos em diferentes níveis de focagem X 400. p. 43
- Figura 3. Oocistos de *Calyptospora* sp. agrupados contendo quatro esporocistos distribuídos entre as células hepáticas de *B. vaillantii* (*) DIC x 1000. p. 44
- Figura 4. Dois esporocistos onde se evidencia o esporopodium com as projeções laterais (seta pequena) e o véu (cabeça de seta) de *Calyptospora* sp. DIC X 1000. p. 44
- Figura 5. Preparação a fresco, oocistos maduros de *Calyptospora* sp. contendo esporocistos em formato piriforme obtidos de parênquima hepático de *B. vaillantii*, mostrando as medidas dos esporocistos, microscopia de luz X 400 (ampliado). p. 44
- Figura 6. Corte semifino de parênquima hepático de *B. vaillantii* corado pelo método tricrômico de Gutiérrez, contendo vários oocistos imaturos (setas) x 1000. p. 44
- Tabela 1. Medidas comparativas em (μm) dos oocistos e esporocistos das espécies do gênero de *Calyptospora* spp. descritas na literatura. p. 45
- Figura 7. Vários oocistos isomórficos maduros de *Calyptospora* sp. em parênquima hepático de *B. vaillantii* e dois com características de oocistos imaturos (setas), contraste de fase X 1000. p. 45
- Figura 8. Dois oocistos maduros (cabeças de setas) e um imaturo (seta), contraste de fase X 1000. p. 45

RESUMO

Os peixes de água doce e marinha das diferentes áreas geográficas são hospedeiros de variadas formas de parasitismo, entre as protozooses, destacam-se as microsporidioses e as coccidioses que ocorrem em vários órgãos e tecidos dos hospedeiros. O objetivo do estudo foi descrever os aspectos morfológicos e ultraestruturais dos esporos de microsporídeo e oocistos de *Calyptospora* encontrados respectivamente, na mucosa gástrica e fígado de piramutabas, através da utilização da microscopia de luz, eletrônica de transmissão, contraste de interferência diferencial. Trinta exemplares de *Brachyplatystoma vaillantii*, capturadas por pescadores artesanais na região costeira do Município de Vigia, (00° 51'S; 48° 08'W) com dados biométricos de 380-450g de peso, comprimento de 28,5cm a 45,5cm, foram necropsiados, tendo sido encontrados em 80%, xenomas de microsporídios na mucosa gástrica e 60% com oocistos de coccídeos localizados no parênquima hepático. Através de estudos de microscopia de luz e ultraestrutural, observou-se que os xenomas na mucosa gástrica, continham incontáveis esporos de formato elipsoidal com extremidades arredondadas, medindo 4,2 x 2,1µm. A espessura da parede do esporo, medindo 0,01µm é constituída por duas camadas elétron-densas, com filamento polar do tipo isofilar, enrolado com 6 a 7 voltas e vacúolo posterior ocupando mais de 1/3 do comprimento do esporo. Os oocistos esféricos contendo quatro esporocistos, foram analisados através da microscopia de luz e de contraste de interferência diferencial (DIC), apresentaram diâmetro médio de 20,8µm. Os esporocistos de formato piriforme apresentaram comprimento médio de 8,9µm por 4,15µm de largura. As características ultraestruturais e morfológicas observadas na forma, parede, polaroplasto, filamento polar e vacúolo posterior dos esporos são coincidentes com as do filo Microsporidia, permitindo deduzir ser parasitismo por *Microsporidium* sp. constituindo uma nova espécie parasita da mucosa gástrica de *Brachyplatystoma vaillantii*. Os traços característicos da morfologia e biometria dos oocistos e esporocistos são evidências que assinalam a similaridade entre as espécies descritas em peixes da fauna amazônica, permitindo concluir que a e *B. vaillantii*, é um novo hospedeiro para *Calyptospora* sp.

Palavras-chave: *Microsporidium* sp.. *Calyptospora* sp.. *Brachyplatystoma vaillantii*. Piramutaba.

ABSTRACT

The freshwater fish and marine waters of different geographic areas are host to various forms of parasitism among the protozoan stand out microsporidiosis and coccidia occurring in various organs and tissues of the host. The aim of this study was to describe the morphological and ultrastructural of microsporidian spores and oocysts found *Calyptospora* respectively, in gastric mucosa and liver of piramutaba through the use of light microscopy, transmission electron, and differential interference contrast. Thirty specimens of *Brachyplatystoma vaillantii* caught by fishermen in the coastal city of Vigia, (00 ° 51'S, 48 ° 08'W) with biometric data of 380-450g in weight, length of 28.5 cm to 45.5 cm were necropsied and were found in 80% xenoma microsporidia in the gastric mucosa and 60% with coccidia oocysts found in the liver parenchyma. Through studies of light microscopy and ultrastructure, it was observed that xenoma gastric mucosa, contained countless spores ellipsoidal shape with rounded ends, measuring 4.2 x 2.1 µm. The thickness of the spore wall, measuring 0.01µm layers consisting of two electron-dense, with polar filament type isofile wound with 6-7 turns and posterior vacuole occupying more than 1/3 of the length of spore. The spherical oocysts with four sporocysts, were examined by light microscopy and differential interference contrast (DIC), showed an average diameter of 20.8 micrometers. The format piriform sporocysts showed a mean length of 8.9 µm by 4.15 µm in width. The morphological and ultrastructural features as wall, polaroplasto, polar filament and posterior vacuole of the spores were coincident with the phylum Microsporidia, allowing inference to be parasitized by *Microsporidium* sp. constituting a new species of parasites of the gastric mucosa *Brachyplatystoma vaillantii*. The characteristics of morphology and biometry of the oocysts and sporocysts are evidences that indicate the similarity between the described species in the Amazon fish fauna, allowing us to conclude that e *B.vaillantii* is a new host for *Calyptospora* sp.

Keywords: *Microsporidium* sp.. *Calyptospora* sp.. *Brachyplatystoma vaillantii*. Piramutaba.

1 INTRODUÇÃO

A Amazônia é uma região de pesca tradicional antiga e muito desenvolvida, donde faz parte o Estuário do Amazonas, constituído pelos rios Amazonas e Tocantins, que desembocam no Oceano Atlântico na costa norte do Brasil, entre os Estados do Pará e Amapá (MÉRONA, 1995; PAIVA, 1997).

O ecossistema amazônico é dominado pela periodicidade do ciclo das chuvas em que o primeiro semestre do ano é conhecido na região como inverno, quando ocorre o aumento da pluviosidade e elevação do nível de água nos rios. A grande vazão de água descarregada dos rios nos estuários e oceano tornam estes ambientes menos salinos, com grande quantidade de material em suspensão, dificultando a proliferação do fitoplâncton. No verão, a coloração da água muda de marrom para esverdeada, devido à deposição dos sedimentos, que ocorre com o aumento da salinidade, favorecendo o desenvolvimento do conjunto dos organismos vegetais que compõem o plâncton (MILLIMANN; SUMMERHAYES; BARRETO, 1975).

Segundo o Instituto Acquamazon (2010) o Estado do Pará produziu em 2009, cerca de 200 mil toneladas de pescado, tendo passado a ocupar o posto antes pertencente à Santa Catarina, que teve produção média de 180 mil toneladas. Precisamente, o estado produz cerca de 100 mil toneladas resultantes da pesca industrial, sendo que 80% da produção são para o abastecimento do mercado interno, e 20% são destinados à exportação.

Os cinco municípios que mais desembarcaram pescado em 2008 são Belém, com quase 40% da produção de todo o Estado, seguido de Vigia, Santarém, Bragança e Abaetetuba. A produção contabilizada não leva em consideração a pesca na região do Xingu e tampouco os números da pesca de subsistência (ROCHA; ROCHA JR., 2007).

O Município de Vigia de Nazaré encontra-se situado entre as coordenadas geográficas 00° 51' S e 48° 08'W, na mesorregião do Nordeste do Estado do Pará, na microrregião do Salgado. Distante 77 quilômetros da cidade de Belém, limita-se a oeste pela ilha de Colares, ao sul pelos Municípios de Castanhal e Santo Antônio do Tauá, a leste pelo Município de São Caetano de Odivelas e ao norte pelo Oceano Atlântico (BRITO et al. 2002).

Apresenta clima equatorial super úmido, com temperaturas entre 39 e 26°C (BRITO et al. 2002) com precipitação pluviométrica de aproximadamente 2.770mm por ano, situado praticamente ao nível do mar, com a sede municipal apresentando cotas altimétricas próximas a 6m, havendo pequenas elevações na costa mais ao sul (RAYOL, 2002).

A piramutaba *Brachyplatystoma vaillantii* é o alvo principal da pesca industrial na região, cuja safra ocorre principalmente durante o período chuvoso. Peixe de pele, muito conhecido na Amazônia, chegando a medir 1,0m de comprimento e peso podendo atingir 10 kg, sendo mais abundante em profundidades compreendidas entre 5 e 10 metros vivendo em grandes cardumes (BARTHEM; PETRERE JR, 1995).

A pesca da piramutaba é a segunda em importância econômica para a Região Norte, sendo inferior a pesca de camarões. Em nível nacional, historicamente, vem ocupando o terceiro lugar na pauta de exportações (BARTHEM; GOULDING, 1997a).

É uma das duas mais importantes espécies comerciais de bagres na Amazônia, principalmente para o mercado de exportação. Vários autores sugerem que a espécie é composta de um único estoque que migra sazonalmente, utilizando diferentes áreas para a reprodução, alimentação e crescimento ao longo do sistema Estuário – Amazonas – Solimões (EAS). Desta forma, é capturada tanto pela pesca comercial artesanal, que ocorre em todo o sistema EAS, quanto pela industrial, que é praticada somente no estuário, paralelamente à pesca artesanal (AQUINO 2006).

Os peixes de água doce e marinha das diferentes áreas geográficas são hospedeiros de variadas formas de parasitismo, viroses, babesioses, ricketzioses, micoplasma, protozooses e outras, que constituem os principais parasitas que ocorrem em peixes. Entre as protozooses, destacam-se as microsporidioses e as coccidioses que ocorrem em vários órgãos e tecidos dos hospedeiros (RANZANI-PAIVA; TAKEMOTO; LIZANA, 2004).

É representante das protozooses o filo Microsporidia, que engloba unicamente parasitos intracelulares e o filo Apicomplexa, que corresponde a um complexo grupo de microrganismos que englobam algumas formas parasitárias e patogênicas que ocorrem, principalmente em moluscos bivalves e peixes (MATOS et al. 2004).

Durante a realização de necropsias em peixes da espécie *Brachyplatystoma vaillantii* capturados por pescadores artesanais na costa do município de Vigia, foram encontrados cistos e de *Calyptospora* sp. no fígado e xenomas de *Microsporidium* sp. na mucosa gástrica de grande número de exemplares o que motivou a realização do presente estudo.

O objetivo do estudo foi descrever os aspectos morfológicos e ultraestruturais dos esporos de *Microsporidium* sp. e oocistos de *Calyptospora* sp. encontrados respectivamente,

na mucosa gástrica e fígado de piramutabas, através da utilização da microscopia de luz, eletrônica de transmissão e contraste de interferência diferencial.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PIRAMUTABA

A piramutaba, *Brachyplatystoma vaillantii* (Valenciennes, 1840), é peixe de clima tropical encontrados em regiões estuarinas, pertencentes à classe Actinopterygii, ordem dos Siluriformes e família Pimelodidae, podendo atingir 80 a 150 cm de comprimento e peso máximo de 20 kg, encontrados na região norte da América do Sul, nas bacias dos rios Amazonas e Orinoco na Venezuela e nos principais rios das Guianas e no nordeste do Brasil (FROESE; PAULY, 2010).

Peixes com nadadeiras suportadas por "raios" ou lepidotríquias, esqueleto interno tipicamente calcificado e aberturas branquiais protegidas por um opérculo ósseo, possuem o corpo com coloração cinza-escuro na região dorsal e cinza-claro na região ventral (CHAVES et al. 2003).

Espécie demersal de águas doce e salobra de baixa salinidade, capturada geralmente em profundidades de até 40 m, não sendo encontradas em áreas profundas mais afastadas da costa, fora das áreas diretamente influenciadas pelas descargas fluviais (PAIVA, 1997; IBAMA, 1997).

Os peixes jovens e subadultos são frequentemente encontrados na foz dos rios e estuários, onde a água é carregada com sedimentos com fundo lamacento, nunca nas zonas propensas a inundações. As migrações reprodutivas ocorrem provavelmente como em outros peixes do mesmo gênero, sendo capturados com o uso de espinhéis e redes de emalhar (LE BAIL; KEITH; PLANQUETTE, 2000).

É a única espécie do gênero que forma grandes cardumes, podendo ser capturada aos milhares ao longo da calha do rio Solimões-Amazonas. É muito bem aceita tanto para o consumo local como para exportação, devido seu sabor agradável e boa qualidade nutricional (BARTHEM; GOULDING, 1997b).

Considerando os aspectos sociais, as capturas de piramutaba, tambaqui e jaraqui, são mais representativas para a Região Norte, seja pela mão de obra que emprega ou pelo volume de pescado gerado para o consumo interno (BARTHEM; GOULDING, 1997a).

Aquino em (2006) citou que entre as variedades de peixes existentes na Amazônia, a piramutaba e a dourada são alvos preferenciais da pesca em quase toda a área de distribuição, espécies que realizam longas viagens (mais de 3.000 km) no eixo Solimões-Amazonas para completarem os seus ciclos de vida. Nasceram e se reproduzem no alto das nascentes de vários afluentes dos rios Solimões e Amazonas, como os rios Juruá, Purus, Madeira, Içá, Japurá e outros. Alimentam-se no estuário, em Belém, e crescem na Amazônia Central (de Almeirim-Santarém, até Manaus). Para a reprodução, migram numa viagem de volta aos afluentes onde provavelmente nasceram.

A exploração industrial da piramutaba teve início no ano de 1971, através de uma política de incentivos fiscais (isenção de impostos, financiamentos e facilidades de importações) direcionada para a Amazônia, com utilização de barcos camaroneiros adaptados para a pesca de peixes demersais (IBAMA, 1999).

2.2 FILO MICROSPORIDIA

2.2.1 Sistemática, morfologia e ciclo de vida

2.2.1.1 Sistemática

Os Microsporidia (Filo Microspora), ainda considerados protozoários, constituem o grupo de parasitas menos estudados, apesar de estarem identificadas aproximadamente 1200 espécies (MAGALHÃES et al. 2006) distribuídas por cerca de 150 gêneros (FRANZEN, 2004; WITTNER, 1999) presentes em alguns grupos de invertebrados e em todas as cinco classes de vertebrados (AZEVEDO e MATOS, 2002; CANNING et al. 2005; DIDIER, 2005). São eucariotas unicelulares, parasitas intracelulares obrigatórios e produtores de esporos (KEELING, 2002). Causam infecções crônicas nos hospedeiros o que provoca uma redução da sua condição corporal (LEWIS et al. 2006).

Pertencem ao filo Microsporidia Balbiani 1882, abrangendo unicamente parasitos intracelulares (CANNING; LOM, 1986; LARSSON, 1999; LOM, 2002; SPRAGUE; BECNEL; HAZARD, 1992).

São considerados eucariontes, embora possuam características de organismos procariontes, tais como a ausência de mitocôndrias e peroxissomas. Estes microrganismos infectam uma variedade de tipos celulares de hospedeiros invertebrados e vertebrados, incluindo o homem (FRANZEN; MÜLLER, 1999).

Os microsporídios são parasitos obrigatórios, patógenos intracelulares que infectam as células eucarióticas animais, incluindo seres humanos (KEELING; FAST, 2002; MATOS, 2007).

Morfologicamente, são eucariotas verdadeiros, isto é, possuem um núcleo tipicamente eucariota, um sistema de membranas internas e citoesqueleto, mas revelam características moleculares e citológicas reminiscentes de procariotas (MÉTÉNIER; VIVARÈS, 2001) que incluem o tamanho do genoma à escala das bactérias, a ausência de mitocôndrias identificáveis, peroxissomas, hidrogenossomas e do típico aparelho de Golgi (MATHIS et al. 2005).

Além de seres humanos, uma variedade de espécies de microsporídios pode infectar uma grande diversidade de animais, especialmente insetos e peixes, e em alguns casos, são utilizados para controle de pragas (BECNEL; ANDREADIS, 1999; LOM; NILSEN, 2003).

Matos et al. (2006) afirmaram que os microsporídios são considerados agentes naturais importantes no controle de algumas espécies de insetos, pois podem ser letais nos estágios intermediários do desenvolvimento de certas espécies que passam por metamorfose completa.

Keeling e Fast em 2002 referiram que foram descritas mais de 1200 espécies em 150 gêneros de microsporídios, no entanto, a posição filogenética do grupo como um todo, tem sido muito discutida entre vários pesquisadores.

Em 1857 Carl Wilhelm Von Nägeli descreveu o organismo causador da doença do bicho-da-seda (*Bombyx mori* L.) designada pebrina (apud. WITTNER, 1999), como *Nosema bombycis* Nägeli, a primeira referência a um microsporídeo na literatura, descrita como uma levedura colocando-a no Reino Fungi (FRANZEN, 2008).

Nos peixes estão descritas aproximadamente 156 espécies de microsporídios, distribuídos em 15 gêneros, possuindo diferentes e complexos ciclos de vida, além da característica comum de produzirem no ambiente esporos resistentes, que são responsáveis pela transmissão horizontal (MATOS, 2007).

Foram reconhecidos como Filo Microsporidia (Balbiani, 1882) (SPRAGUE; BECNEL, 1998), mas esta classificação não está isenta de controvérsia dado que também foram incluídos no Reino Protozoa por Goldfuss (1818) e no agora inexistente Reino Archeozoa por Haeckel (1894) (VÁVRA; LARSSON, 1999), o que evidencia a intensa polémica gerada nos últimos dois séculos em torno da sistemática deste grupo singular (CAVALIER-SMITH, 1993).

Estudos filogenéticos argumentam contra uma origem primitiva de microsporídios, sugerindo que sejam derivados de fungos ou um grupo irmão de fungos (GILL; FAST, 2006; HIRT et al. 1999; KEELING; LUKER; PALMER, 2000; KEELING, 2003).

Na última década, a hipótese deste grupo ser incluído no Reino Fungi ganhou consistência, principalmente devido à introdução de dados moleculares na obtenção das relações filogenéticas (BADAULF et al. 2000; BRUNS, 2006; CAVALIER-SMITH, 1998; HIRT et al. 1999). Estudo abrangente sobre classificação do Reino Fungi incluiu os Microsporidia num ramo basal deste reino, mas considera-os como um grupo-irmão dos restantes fungos e não como “verdadeiros fungos” (HIBBETT et al. 2007). Examinando a sua classificação ambígua e complexa, optou-se por incluir o Filo Microsporidia no Reino Protista (FRANZEN, 2008), apesar das fortes evidências da sua natureza fúngica.

Estudos realizados por Lee et al. (2008), sugeriram a hipótese de que microsporídios são fungos e descendem de um ancestral zigomiceto, pois conservam em seu genoma a mesma ordem e conteúdo um locus contendo genes ligados ao cromossoma sexual que é conservado no genoma dos fungos.

Nos peixes, os microsporídios se concentram nos mais diversos tecidos e/ou órgãos, como tubo digestivo, brânquias, fígado, sistema nervoso, sistema tegumentar, gônadas e outros (CANNING; NICHOLAS, 1980; CANNING; LOM, 1986; LOM; DYKOVÁ, 1992; LARSSON, 1999; LOM, 2002).

De acordo com Matos et al. (2004), a forma mais facilmente observável é a de esporo, geralmente de forma ovoide a elipsoidal, constituído por uma parede de espessura variável que contorna um esporoplasma uni ou binucleado. A maioria das espécies de microsporídios tem uma característica comum; produzem no ambiente, esporos resistentes que são responsáveis para transmissão horizontal. Os esporos produzidos por hospedeiros infectados localizam-se em diferentes regiões nos hospedeiros, podem estar diferenciados em esporos ou nos estados iniciais de desenvolvimento, e serem liberados quando um hospedeiro contaminado morre (MATOS, 2007).

Segundo Shaw e Kent (1999) as espécies de microsporídios encontram-se distribuídas em dois grupos: um em que os esporos se desenvolvem em xenomas e outro em que se desenvolvem em estruturas organizacionais não xenômicas.

Em muitos casos de aglomeração esporal, pode haver diferenciação em xenoma, que consiste em uma estrutura complexa, composta por uma célula hipertrófica cercada por uma parede espessa, constituída por várias camadas de colágeno. O núcleo hipertrófico de grande dimensão apresenta-se, geralmente, com profundas ramificações (MATOS et al. 2003a).

Uma reação à infecção por microsporídios, leva ao desenvolvimento de uma lesão hipertrófica maciça ao redor do parasita, o que é reconhecido como xenoma, termo introduzido por Weissenberg (1949). No citoplasma da célula hospedeira hipertrófica (HHC), o parasita se divide repetidamente, originando um xenoma alargado contendo numerosos esporos e vários outros estágios do ciclo de vida (LOM; PEKKARINEN, 1999; MORRISON; SPRAGUE, 1981).

Alguns gêneros de microsporídios são conhecidos por causar o desenvolvimento de um complexo hipertrófico único no hospedeiro chamado xenoma ou um complexo xenoparasitário (LOM; DYKOVÁ, 2005).

Animais podem servir como fonte de infecção por microsporídios para humanos. A identificação de esporos destes parasitas pode reduzir e prevenir a exposição do homem. Isso se aplica principalmente para pessoas que possuem um maior risco de adquirir microsporidiose, como no caso de imunocomprometidos e crianças desnutridas (LOBO; TELES; CUNHA, 2003).

DENGJEL et al. (2001) e DIDIER et al. (1996) admitiram a possibilidade da microsporidiose ser uma doença de caráter zoonótico.

2.2.1.2 Morfologia

Franzen e Müller (1999) e Keeling e Fast (2002) afirmaram que a característica mais diagnosticável de um microsporídio é a sua célula infecciosa, o esporo, que é a única fase do ciclo de vida viável fora da célula hospedeira e mais facilmente reconhecível. É uma célula única, cujas dimensões podem variar entre de 1-40 μ m. Relativamente à forma, esta também é variável podendo ser mais ou menos alongada (bastonete até redonda), mas a maioria é ovoide.

Possuem uma parede sem qualquer tipo de abertura ou perfuração que encerra uma célula uni ou binucleada que possui uma organização peculiar deste grupo, o esporoplasma (MATOS et al. 1993).

O esporo divide-se geralmente em duas porções, uma apical, na sua quase totalidade ocupada por um polaroplasto, sistema membranar complexo de grande importância no processo de extrusão do tubo polar e uma basal, geralmente ocupada por um volumoso vacúolo no interior do qual, em algumas espécies, é encontrada uma estrutura densa, o posterossoma (MATOS et al. 1993).

Os esporos dos microsporídios são pequenas estruturas medindo aproximadamente 2 a 7 μ m de comprimento por 1,5 a 5 μ m de largura, exibindo parede espessa constituída

externamente pelo exosporo denso, podendo ser formado por três camadas e internamente pelo endosporo de aspecto delgado, onde se apresenta organizado por pontes de quitina conectando o endosporo com a membrana plasmática, e um aparelho de extrusão, o esporoplasma e o vacúolo posterior (MATOS, 2007).

É constituído por uma parede grossa que é composta por três camadas: o exosporo (camada externa eletrom densa e de composição protéica), o endosporo (camada interna eletrom lucente, e de composição quitinosa) e a membrana plasmática que envolve o citoplasma, o núcleo ou núcleos, vacúolo posterior e o aparelho infeccioso ou de extrusão (BIGLIARDI; SACCHI, 2001).

Apresenta ainda, estruturas que ocorrem exclusivamente nos microsporídios, sendo, portanto, específicas deste grupo: o tubo polar e polaroplasto (MATOS et al. 2004).

Matos et al. (2003a) ao estudarem microsporídios da fauna ictiológica da Amazônia, descreveram que externamente, o esporo possui uma parede, geralmente densa, de espessura uniforme, exceto na região apical que se situa sobre o disco de ancoragem. A parede do esporo é geralmente constituída por duas porções, em que a porção mais externa pode apresentar-se lisa, rugosa ou com sulcos de contornos muito evidentes. A parede do esporo envolve uma célula, a qual, na maior parte das espécies, é uninucleada e localiza-se na zona central do esporo.

Matos et al. (2004) relataram que a maioria dos esporos possui um vacúolo de volume variável na região posterior. Na maior parte dos casos, o tubo polar enrola-se na porção posterior, permanecendo entre o vacúolo e a parede do esporo. O núcleo situa-se, na maior parte das vezes, na porção média do esporo, entre o polaroplasto e o vacúolo, sendo, frequentemente, circundado por vários polirribossomas, ordenados na forma de fitas.

O aparelho infeccioso destes parasitas é a característica distintiva destes organismos, sendo composto por três organelas: o filamento polar, estrutura tubular enrolada em hélice, ligada ao ápice do esporo através do disco ancorante, o polaroplasto e o vacúolo posterior (VÁVRA; LARSSON, 1999). O número de voltas do filamento polar, o seu arranjo espacial relativo e o ângulo de inclinação da hélice, permitem diagnosticar a espécie de microsporídio (KEELING; FAST, 2002).

Os esporos possuem um aparelho de extrusão constituído pelo filamento polar, um complexo saco polar também denominado de disco de ancoragem, um polaroplasto ao redor do filamento polar, de aspecto lamelar e vesicular, com um vacúolo posterior com malhas de vesículas do complexo de Golgi, responsável pela produção do restante do aparelho de extrusão o tubo polar (MATOS, 2007).

O tubo polar projeta-se para a porção posterior do esporo sob a forma de um enrolamento em espiral à volta do vacúolo. O número de voltas do tubo polar à volta do vacúolo é caráter diagnóstico dos diferentes gêneros (MATOS et al. 2003b).

Sprague, Becnel e Hazard (1992), referiram que as características mais evidentes dos esporos como a forma, parede, polaroplasto, filamento polar e vacúolo posterior são utilizados para distinguir os microsporídios de outros grupos taxonômicos.

A morfologia ultraestrutural dos esporos e formas quiescentes do ciclo de vida é utilizada para a identificação genérica e específica, possibilitando o estabelecimento de novos gêneros e espécies (AZEVEDO; MATOS, 2002a,b, 2003a,b).

2.2.1.3 Ciclo de vida

A maioria dos microsporídios infectam todos os estados do desenvolvimento do hospedeiro, podendo causar a sua morte em poucos dias ou meses, variando a sua especificidade (desde o nível da espécie ao nível da classe) consoante a espécie em causa (FIGUEIREDO, 1997).

De forma a completar o ciclo de vida, os microsporídios devem estar em contato com o hospedeiro, penetrar no corpo e reproduzir-se com sucesso nos tecidos adequados ao seu desenvolvimento e, conseqüentemente, contatar e infectar novos hospedeiros (VAN DRIESCHE; BELLOWS, 1996).

Uma vez que não procuram ativamente o hospedeiro, os esporos devem estar presentes no mesmo ambiente. Podem ser transportados pelo vento, água, outros organismos e, serem inoculados no hospedeiro por diversas vias, sendo a ingestão oral de esporos a forma mais comum (transmissão horizontal) (FIGUEIREDO, 1997).

No interior do hospedeiro, ao reproduzirem-se podem transmiti-los à descendência (transmissão vertical). A transmissão vertical pode dar-se transovariamente, os patógenos são transmitidos aos ovos quando da postura da fêmea infectada. Este tipo de transmissão é predominante no filo Microsporidia (BECNEL; ANDREADIS, 1999).

Quando o esporo atinge o pleno estado de maturação e se encontrando sob ação de fatores externos apropriados, o interior do esporo passa por fenômenos ainda não totalmente esclarecidos, sofrendo um aumento da pressão interna que obriga a uma extrusão do tubo polar (MATOS et al. 1993).

A extrusão do filamento polar inocula o esporoplasma na célula hospedeira, sendo este o original mecanismo infectante dos microsporídios (FRANZEN, 2004; MAGALHÃES et al. 2006).

Com a entrada do esporoplasma do parasita na célula hospedeira, inicia-se a fase proliferativa do ciclo de vida, caracterizada pela ocorrência da merogonia, evento em que o parasita aumenta massivamente o seu número com a formação de células merontes. Segue-se a fase esporogênica que consiste na formação das células infecciosas, evento designado por esporogonia que ao germinarem reiniciam o ciclo (BIGLIARDI; SACCHI, 2001).

Ao encontrar condições de desenvolvimento, o esporo desenvolve o tubo polar que projeta-se a longa distância. Durante o processo de extrusão do tubo, o núcleo e alguns componentes do esporoplasma são arrastados para o interior de sua extremidade. Em contato com as células hospedeiras, a extremidade do tubo polar conecta a membrana da célula hospedeira ocorrendo à fusão, o que permite a entrada do núcleo, que imediatamente regenera uma pequena parte do citoplasma e da membrana, resultando em merontes, que após sucessivas divisões (merogonia), se diferenciam, passando a ser designados esporontes, que sofrem uma divisão (esporogonia), quando inicia o espessamento da sua parede, resultando em esporoblastos (MATOS et al. 2004).

2.3 FILO APICOMPLEXA

A importância da infecção ocasionada por várias espécies do gênero *Calyptospora* spp. em mamíferos e aves é documentada há muito tempo, enquanto informações em espécies de peixes é bastante limitada (ALBUQUERQUE; BRASIL-SATO, 2010).

Davies e Ball, (1993) e Molnár (2006) citaram que as coccidioses são comuns em peixes marinhos e de água doce incluindo o *Calyptospora*.

2.3.1 Sistemática, morfologia e ciclo de vida

2.3.1.1 Sistemática

O filo Apicomplexa Levine, 1970 compreende um conjunto grande e heterogêneo de parasitas intracelulares obrigatórios de importância médica e veterinária. O maior subgrupo deste filo é a subordem Eimeriorina Léger, 1911, que contém organismos referidos coletivamente como a coccídios. Predominantemente parasitas intestinais, podem infectar todas as classes de vertebrados e invertebrados. Atualmente, a subordem Eimeriorina tem pelo menos 10 famílias, 42 gêneros e mais de 2.000 espécies descritas (DUSZYNSKI; COUCH; UPTON, 2000).

Constitui um grupo de microrganismos de vida intracelular, com todo o ciclo de vida ocorrendo nas células hospedeiras englobando algumas formas patogênicas e parasitárias que ocorrem principalmente em moluscos bivalves e peixes (MATOS et al. 2004).

Nem todos os gêneros estão descritos como patogênicos (ALBUQUERQUE et al. (2007).

Dyková e Lom (1983) descreveram 127 espécies de coccídios em peixes. Nos últimos anos do século XX o estudo da fauna de protozoários de peixes foi realizado intensivamente e o número de espécies de protozoários encontrados em peixes estudados atingiu 250 (BELOVA; KRYLOV, 2000).

A família Calyptosporidae descrita por Overstreet, Hawkins e Fournié em 1984, é representada por somente cinco espécies descritas, *Calyptospora funduli* por Overstreet, Hawkins e Fournié (1984) e Oliveira, Hawgins, Overstreet e Fournié (1993); *Calyptospora empristica* por Fournié, Hawgins e Overstreet (1985); *C. serrasalmi* por Cheung, Nigrelli e Ruggieri (1986); *C. tucunarensis* Békési, Molnár (1991) e *C. spinosa* por Azevedo, Matos e Matos (1993).

Duszynski, Couch e Upton (2000), compilaram as informações taxonômicas referentes ao gênero *Calyptospora* que se encontra provisoriamente colocado dentro de família Eimeriidae, uma vez que as afinidades taxonômicas desse gênero ainda não foram estabelecidas.

Calyptospora empristica tem como hospedeiro definitivo *Fundulus notti* tendo como o local de infecção o fígado, entretanto, o ciclo de vida ainda não foi estabelecido (FOURNIÉ, HAWKINS E OVERSTREET, 1985a).

Calyptospora funduli Overstreet, Hawkins e Fournié (1984) têm como sinônimos *Eimeria funduli* e *Eimeria* sp. de Overstreet (1987) possuindo como hospedeiros definitivos os Cyprinodontiformes da família Fundulidae (DUSYNSKI; SOLANGI; OVERSTREET, 1979). Os locais de infecção são: fígado, pedúnculo caudal, ovário, tecido adiposo ao redor da cavidade corporal e parede intestinal (FOURNIÉ e OVERSTREET 1982, 1983a, 1983b, 1993; FOURNIÉ e SOLANGI 1980; FOURNIÉ; HAWKINS e OVERSTREET 1985b, 2000; HAWKINS; SOLANGI e OVERSTREET 1981a, 1981b, 1983a, 1983b, 1983c, 1983d, 1984a, 1984b; OVERSTREET 1988, 1993; OVERSTREET; HAWKINS e FOURNIÉ 1984; SOLANGI e OGLE, 1981; SOLANGI e OVERSTREET, 1980; SOLANGI; OVERSTREET e FOURNIÉ 1982; UPTON, 1981, 1982a e UPTON e DUSZYNSKI 1982b, 1982c).

Calyptospora serrasalmi Cheung, Nigrelli e Ruggieri (1986) possui como hospedeiro *Serrasalmus niger*, sinônimo de *S. rhombeus*, tendo como local de infecção o fígado (CHEUNG et al. 1983, 1986) o seu ciclo de vida ainda não estabelecido.

Calyptospora spinosa Azevedo, Matos e Matos (1993) tem como hospedeiro *Crenicichla lepidota* e como locais de infecção: fígado, testículo e ovários, o ciclo de vida ainda não foi esclarecido.

Calyptospora tucunaresis apresenta como hospedeiro *Cichla ocellaris* tendo como local de infecção o fígado, o ciclo de vida também não foi determinado (BEKESI; MOLNÁR, 1991).

Em peixes brasileiros, somente três espécies do gênero *Calyptospora* foram descritas parasitando o fígado de peixes, *C. serralalmi* em *Serrasalmus niger* (CHEUNG; NIGRELLI; RUGGIERI, 1986), *C. tucunarensis*, em *Cichla ocellaris* (BÉKÉSI; MONÁR, 1991) e *C. spinosa* em *Crenicichla lepidota* (AZEVEDO, MATOS, MATOS, 1993).

Bonar et al. (2006) citaram a ocorrência de *Calyptospora* sp. em sete peixes jovens da espécie *Arapaima gigas* (pirarucu), que haviam sido exportados da cidade de Manaus para dois aquários nos Estados Unidos que morreram entre 4 a 6 semanas após a chegada, resultante da infecção por coccidiose e por *Dawestrema cycloancistrum* (Ancyrocephalinae) que provocaram uma variedade de lesões, principalmente no fígado, nas brânquias, cérebro e trato gastrointestinal.

Entre os parasitos mais comuns, encontrados e descritos em hospedeiros da fauna Amazônica, Matos et. al. (2004) destacaram *Calyptospora spinosa* pertencente à família Calyptosporidae, descrita como parasito dos peixes da espécie *Hoplosternum littorale* (tamotá) e de *Crenicichla lepidota* (jacundá) peixes naturais da bacia fluvial Amazônia.

Albuquerque e Brasil-Sato (2010) descreveram pela primeira vez a ocorrência de *Calyptospora* sp. parasitando o fígado e intestino de *Triporthus guentheri* e de *Tetragonopterus chalcus*, espécies de peixes forrageiros do reservatório de Três Marias no alto do rio São Francisco.

A presença de esporos de *Calyptospora* sp. é facilmente observada em microscopia óptica, principalmente na fase esporal, formando vacúolos parasitóforos tendo no seu interior quatro esporocistos (THATCHER e NETO, 1992).

A primeira citação da ocorrência de coccidiose em animais aquáticos da Amazônia foi feita por LAINSON et al. (1983) em *Trichechus inunguis* (peixe-boi) capturados no Estado do Amazonas.

2.3.1.2 Morfologia

Casal et al. (2007) descreveram com base na morfologia do esporocisto a ocorrência de *Calyptospora serralalmi* em *Serrasalmus striolatus* do Rio Amazonas e *S. rhombeus* na região lagunar da cidade do Recife respectivamente, cuja infecção envolvia apenas o parênquima hepático, com a ocorrência de oocistos esféricos isolados ou em grupos, medindo aproximadamente 25,5µm de diâmetro, contendo quatro esporocistos de formato piriforme

medindo 11,8µm de comprimento por 6,0 µm de largura, envolvidos por uma fino véu membranoso e com um esporopodium apical contendo várias projeções laterais.

Albuquerque et al. (2007) citaram a ocorrência de *Calyptospora* sp. em *Colossoma macropomum* (tambaqui), criados em uma estação experimental de piscicultura que apresentavam redução no ganho de peso e queda na taxa de crescimento. A presença de esporos de coccídios no fígado e gônadas foi observada através de microscopia de luz, formando vacúolos parasitóforos contendo quatro esporocistos, tendo concluído que algumas espécies podem alterar o comportamento de seus hospedeiros, tornando-os susceptíveis aos predadores.

Na tabela 1 estão registrados os dados biométricos comparativos referentes às dimensões de oocistos, formas, comprimento e largura dos esporocistos de espécies de *Calyptospora* descritas na literatura.

Tabela 1. Medidas comparativas em (µm) dos oocistos e esporocistos das espécies do gênero *Calyptospora* descritos na literatura.

Espécies	Origem	Diâmetro do oocisto (µm)	Formato	Esporocisto		Referências
				Comprimento (µm)	Largura (µm)	
<i>C. empristica</i>	USA	19,6-24,5	Elipsoide	7,0-9,5	4,5-7,5	Fournié et al. 1985
<i>C. funduli</i>	USA	20,0-31,0	Ovoide	9,0-11,0	5,0-7,0	Duszynski et al. 1979
<i>C. Seralsalmi</i>	Brasil	22,0-25,0	Piriforme	10,0-11,5	5,0-6,0	Cheung et al. 1986
<i>C. tucumarensis</i>	Brasil	23,0-26,0	Frigideira, corpo Elipsóide	7,2-9,1	3,5-5,0	Békési; Molnár, 1991
<i>C. spinosa</i>	Brasil	21,1-23,4	Elipsóide	8,9-9,5	3,6-4,1	Azevedo et al. 1993
<i>Calyptospora</i> sp.	Brasil	16,0-22,0	Piriforme	8,0-10,0	4,5-5,0	Bonnar et al. 2006
<i>Calyptospora</i> sp.	Brasil	24,5	-	11,5	4,5	Albuquerque; Brasil-Sato, 2010
<i>Calyptospora</i> sp.	Brasil	20,8	Piriforme	8,9	4,1	Presente estudo

2.3.1.3 Ciclo de vida

O ciclo de vida dos coccídios em peixes pode envolver dois tipos principais de hospedeiros, os que realizam o ciclo em um único hospedeiro (monóxeno) e os que completam o seu ciclo evolutivo passando pelo menos em dois hospedeiros (heteróxeno). Há os que necessitam de hospedeiros intermediários. O gênero *Calyptospora* foi inicialmente confundido com *Eimeria*, mas que pode ser diferenciado destas espécies por necessitarem de um hospedeiro intermediário (DAVES e BALL, 1993; MOLNÁR 2006).

Thatcher (2006) estudando peixes Amazônicos mencionou que espécies de gêneros de coccídios foram encontradas parasitando o fígado de *Triporthus elongatus* (Günther, 1864). Embora estudos sobre os ciclos de vida destas espécies não tenham sido concluídos ainda, parece ser provável que camarões de água doce (*Macrobrachium* spp.) sejam os hospedeiros

intermediários deste protozoário, havendo a contaminação quando o peixe se alimenta com camarão infectado.

Fournié et al. (2000) estudando o ciclo de vida de *Calyptospora fundulli* confirmaram a existência de um hospedeiro intermediário verdadeiro o *Palaemonetes paludosus* (camarão grama). Os esporozoítos se desenvolvem no organismo do crustáceo levando cerca de cinco dias para tornarem-se esporozoítos infectantes presentes em células basais do intestino do camarão, que após a ingestão pelo hospedeiro definitivo, chegam a corrente sanguínea atingindo o fígado, onde foram identificadas as formas intermediárias no interior dos hepatócitos.

Os ciclos de vida das demais espécies descritas ainda não foram determinados (DUSZYNSKI; COUCH; UPTON 2000).

O conhecimento da ação parasitária em peixes torna-se mais importante, quando os hospedeiros são espécies de interesse econômico, onde podem produzir consideráveis prejuízos na cadeia produtiva do pescado.

3 DESENVOLVIMENTO

O estudo foi conduzido a partir de achados de microsporídios e coccídios parasitando o estômago e fígado de peixes da espécie *Brachyplatystoma vaillantii*, piramutaba, onde foi utilizada a microscopia de luz, contraste de interferência indireta e microscopia de eletrônica de transmissão, no desenvolvimento de dois artigos conduzidos simultaneamente.

3.1 Primeiro registro de *Microsporidium* sp. parasito de *Brachyplatystoma vaillantii* (Valenciennes, 1840) capturadas na região costeira do município de Vigia de Nazaré, Estado do Pará, Brasil.

3.2 Infecção hepática causada por *Calypsozpora* sp. (Apicomplexa) em *Brachyplatystoma vaillantii* (Valenciennes, 1840) capturadas na região costeira do município de Vigia de Nazaré, Estado do Pará.

3.1 PRIMEIRO ARTIGO: Primeiro registro de *Microsporidium* sp. parasito de *Brachyplatystoma vaillantii* (Valenciennes, 1840) capturadas na região costeira do município de Vigia de Nazaré, Estado do Pará, Brasil.

Primeiro registro de *Microsporidium* sp. parasito de *Brachyplatystoma vaillantii* (Valenciennes, 1840) capturadas na região costeira do município de Vigia de Nazaré, Estado do Pará, Brasil.

Moacir Cerqueira da Silva⁽¹⁾; Sérgio Carmona da São Clemente⁽²⁾; José Antônio Picanço Diniz⁽³⁾; Michele Velasco⁽¹⁾; Edilson Matos⁽¹⁾.

RESUMO

Primeira descrição de *Microsporidium* sp. parasito de peixes da espécie *Brachyplatystoma vaillantii* (piramutaba), capturadas artesanalmente na região estuarina do município de Vigia de Nazaré, estado do Pará, a descrição foi realizada com base em estudos de microscopia de luz e ultraestrutural. O parasita apresentava-se em forma de xenomas localizados na mucosa gástrica, caracterizados por estruturas esbranquiçadas, contendo incontáveis esporos de formato elipsoidal com extremidades arredondadas, medindo 4,2 x 2,1µm. A espessura da parede 0,01µm, constituída por duas camadas elétron-densas. O filamento polar, isofilar enrolado com 6-7 voltas. O vacúolo posterior apresenta uma área clara, ocupando mais de 1/3 do comprimento do esporo. Os resultados são indicativos de se tratar de uma nova espécie de *Microsporidium*, parasitando peixes *Brachyplatystoma vaillantii*.

Palavras-chave: *Brachyplatystoma vaillantii*. *Microsporidium* sp.. Piramutaba. Ultraestrutura.

First report of *Microsporidium* spp. in *Brachyplatystoma vaillantii* (Valenciennes, 1840) caught in the coastal municipality of Vigia of Nazareth, State of Pará

Abstract

First description of *Microsporidium* spp. parasitizing fish *Brachyplatystoma vaillantii* (piramutaba) captured by hand in the estuarine region of the municipality of Vigia of Nazareth, is described based on studies of light microscopy and electron microscopy. The parasite develops xenoma gastric mucosa, characterized by whitish structures, containing countless spores ellipsoidal shape with rounded ends, measuring 2.2 x 2.1µm. The thickness of the wall is 0.01µm consists of two electron-dense layers. The polar filament, isofilar wound with 6-7 turns. The posterior vacuole appeared as a bright area, occupying more 1/3 the length of the spore. The results are indicative of whether a new kind of *Microsporidium* parasitizing fish *Brachyplatystoma vaillantii*.

Keywords: *Brachyplatystoma vaillantii*. *Microsporidium* sp.. Piramutaba. Ultrastructure.

1. Instituto da Saúde e Produção Animal – UFRA, Av. Presidente Tancredo Neves, 2501, Belém (PA), CEP 66.077-530. E-mail: <moacir.silva@ufra.edu.br>; <edilson.matos@ufra.edu.br>; <michelle.silva@ufra.edu.br>
 2. Faculdade de Veterinária - Universidade Federal Fluminense/UFF, Rua Vital Brazil Filho, 64. Niterói/RJ. 24.230-340. E-mail: <scsc@vm.uff.br>
 3. Instituto Evandro Chagas IEC, Av. Almirante Barroso, 492, Belém (PA), 66090-000. e-mail: joseantonio@iec.pa.gov.br

INTRODUÇÃO

A piramutaba, *Brachyplatystoma vaillantii* (Valenciennes, 1840), pertence ao grupo de peixes de clima tropical encontrados em regiões estuarinas, pertencentes à classe Actinopterygii, ordem dos Siluriformes e família Pimelodidae, podendo atingir 80 a 150cm de comprimento e peso máximo de 20kg. Encontrados na região norte da América do Sul, nas bacias dos rios Amazonas e Orinoco na Venezuela e nos principais rios das Guianas e no nordeste do Brasil (FROESE; PAULY, 2010).

A piramutaba é uma das duas mais importantes espécies comerciais de bagres na Amazônia, principalmente para o mercado de exportação. Vários autores sugerem que a espécie é composta de um único estoque que migra sazonalmente, utilizando diferentes áreas para a reprodução, alimentação/crescimento ao longo do sistema Estuário-Amazonas-Solimões (AQUINO, 2006).

Os Microsporidia (Filo Microspora), ainda considerados como protozoários, constituem o grupo de parasitas menos estudados, apesar de estarem identificadas aproximadamente 1200 espécies (MAGALHÃES et al. 2006) distribuídas por cerca de 150 gêneros (FRANZEN, 2004; WITTNER, 1999) presentes em alguns grupos de invertebrados e em todas as cinco classes de vertebrados (AZEVEDO; MATOS, 2002; CANNING et al., 2005; DIDIER, 2005;). Pertencem ao filo Microsporidia Balbiani 1882, abrangendo unicamente parasitos intracelulares (CANNING, LOM, 1986; LARSSON, 1999; LOM, 2002; SPRAGUE, BECNEL, HAZARD, 1992;).

Em um estudo abrangente sobre classificação do Reino Fungi, incluiu os Microsporidia num ramo basal deste reino, mas considera-os como um grupo irmão dos restantes fungos e não como “verdadeiros fungos” (HIBBETT et al. 2007).

Examinando a sua classificação ambígua e complexa, optaram por incluir o Filo Microsporidia no Reino Protista (FRANZEN, 2008), apesar das fortes evidências da sua natureza fúngica.

O esporo é constituído por uma parede grossa que é composta por três camadas: o exosporo (camada externa elétron densa e de composição proteica), o endosporo (camada interna elétron lucente, e de composição quitinosa) a membrana plasmática que envolve o citoplasma, o núcleo ou núcleos, vacúolo posterior, o aparelho infeccioso ou de extrusão

(BIGLIARDI; SACCHI, 2001), exclusivos dos microsporídios, e específicas deste grupo: o tubo polar e polaroplasto (MATOS et al., 2004).

MATERIAIS E MÉTODOS

Trinta exemplares de piramutaba *Brachyplatystoma vaillantii* com dados biométricos de 380-450g de peso, comprimento entre 28,5 e 45,5cm capturados no estuário do Município de Vigia (00° 51'S; 48° 08'W), Estado do Pará, a 77 km da cidade de Belém por pescadores artesanais, com o auxílio de apetrechos de pesca como rede de emalhar, mantidos sob refrigeração em caixas de poliestireno expandido e transportados até o Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo (LPCA) da UFRA, onde foram necropsiados seguindo técnicas utilizadas pelo LPCA.

O exame histológico foi realizado em cortes semifinos de 0,7µm de espessura obtidos em ultramicrotomo modelo Reichert Ultracuts, Leica, corados pelo corante azul de toluidina.

Depois de retirados fragmentos da mucosa gástrica com os cistos de parasitas, foram observados em microscopia de luz para confirmação da ocorrência de microsporídios, e imediatamente fixados para microscopia eletrônica, em glutaraldeído a 3% tamponado com cacodilato de sódio a 0,2M, pH 7.2 durante 3 horas a 4⁰C. Depois de lavados no mesmo tampão, durante 2 horas a 4⁰C, os fragmentos foram pós-fixados durante 2 horas a 4⁰C, em tetróxido de ósmio a 2% tamponado. Sequencialmente, os fragmentos foram desidratados em séries crescentes de álcool, seguida de três passagens em óxido de propileno.

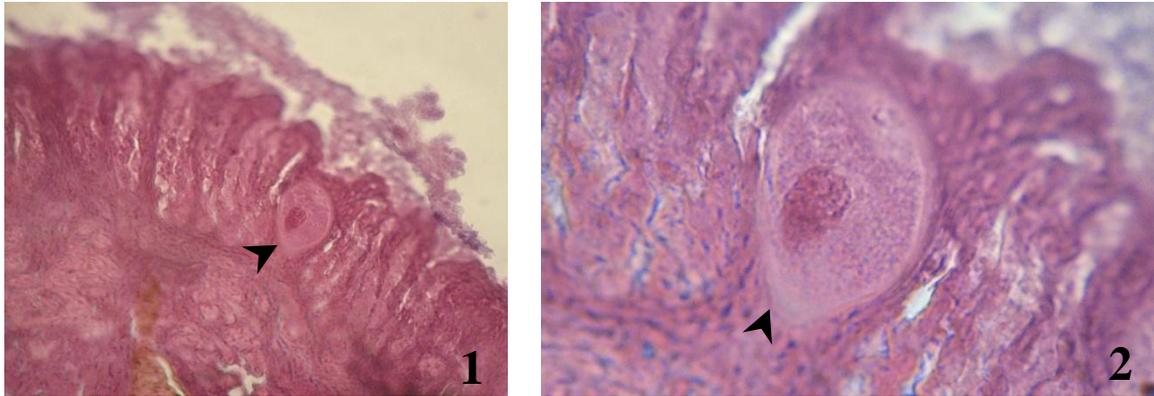
O material foi incluído em resina EponTM de acordo com técnicas laboratoriais (MATOS; CORRAL; AZEVEDO, 2003). As observações foram feitas em cortes ultrafinos de 70nm, contrastados com acetato de uranila e citrato de chumbo, e observados em microscópio eletrônico de transmissão Ziess EM 900, operando a 80 kV.

Alguns fragmentos de tecidos contendo cistos foram pressionados entre lâminas de vidro com glutaraldeído a 3% tamponado com cacodilato de sódio 0,1M pH 7,2 fixados nesta solução a 4⁰C durante 2 horas e após mantidos em tampão de cacodilato de sódio, montados entre lâmina e lamínula e observados em microscopia de luz (DIC).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em 24 exemplares de trinta necropsiados, foram encontradas estruturas complexas (Figuras 1 e 2) nas mucosas gástricas, constituídas por células hipertróficas cercadas por paredes espessas, tendo sido identificadas como xenomas, semelhantes às descrições feitas por (MATOS et al. 2003a).

Na avaliação histopatológica realizada em cortes semifinos, observou-se que a mucosa gástrica apresentava-se com alterações compatíveis com autólise, decorrente provavelmente do tempo transcorrido entre a captura dos espécimes e a fixação.



Figuras 1 e 2. Xenomas (cabeças de setas) de *Microsporidium* sp. em cortes semifinos corados pela HE, encontrados na mucosa gástrica de *Brachyplatystoma vaillantii* X 400 e 1000, respectivamente.

Os xenomas encontravam-se distribuídos irregularmente na mucosa gástrica, correspondendo a uma taxa de prevalência de 80% correspondendo à presença em 24 espécimes.

Em espécies de peixes amazônicos Azevedo e Matos (2002; 2003) e Matos et al. (2003b), relataram taxas de prevalência de 37,5 e 34% respectivamente de microsporídios em brânquias e mucosa do tubo intestinal de *Hassar orestis* e de *Myrophis plathyhynchus*.

Através da microscopia de luz, verificou-se que os xenomas (Figura 3), continham inúmeros esporos (Figura 4), achado semelhante aos descritos por Lom e Nilsen, (2003) e Becnel e Andreadis (1999). A existência de uma variedade de espécies de microsporídios pode infectar grande diversidade de animais, especialmente insetos e peixes. Azevedo e Matos (2002) e Matos e Azevedo (2004), encontraram microsporídios parasitando os tecidos subepiteliais do intestino e músculo esquelético adjacente à cavidade abdominal em peixes da bacia Amazônia.

Em peixes, os microsporídios se concentram nos mais diversos tecidos e/ou órgãos, como tubo digestivo, brânquias, fígado, sistema nervoso, sistema tegumentar, gônadas e outros (CANNING; NICHOLAS, 1980, CANNING; LOM, 1986; LOM; DYKOVÁ, 1992; LARSSON, 1999; LOM, 2002).

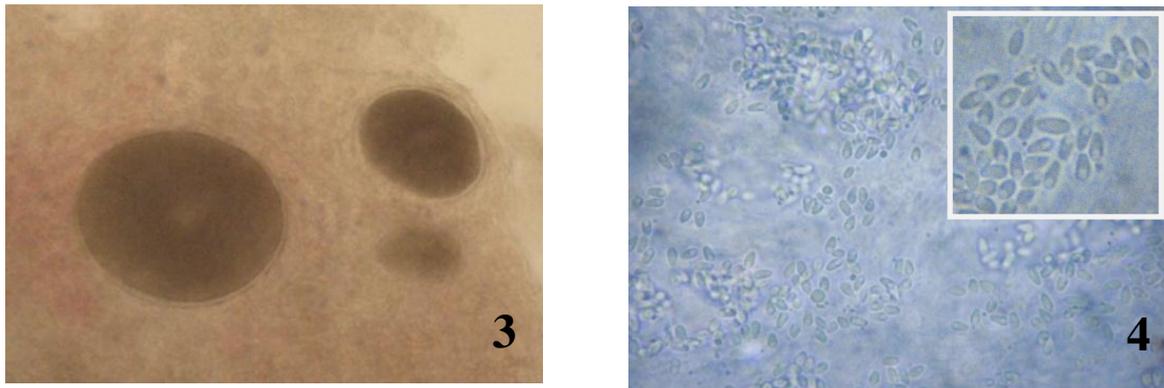


Figura 3. Três xenomas maduros irregulares de diferentes tamanhos de *Microsporidium* sp. encontrados na mucosa gástrica de *Brachyplatystoma vaillantii* X 400. Figura 4. Esporos isolados e agrupados de *Microsporidium* sp. X 400. Detalhe: esporos de microsporídios ampliados.

Após a ruptura dos xenomas, (Figura 5) numerosos esporos de forma elipsoidal com extremidades arredondadas medindo 4,2 x 2,1µm foram observados (Figura 6).

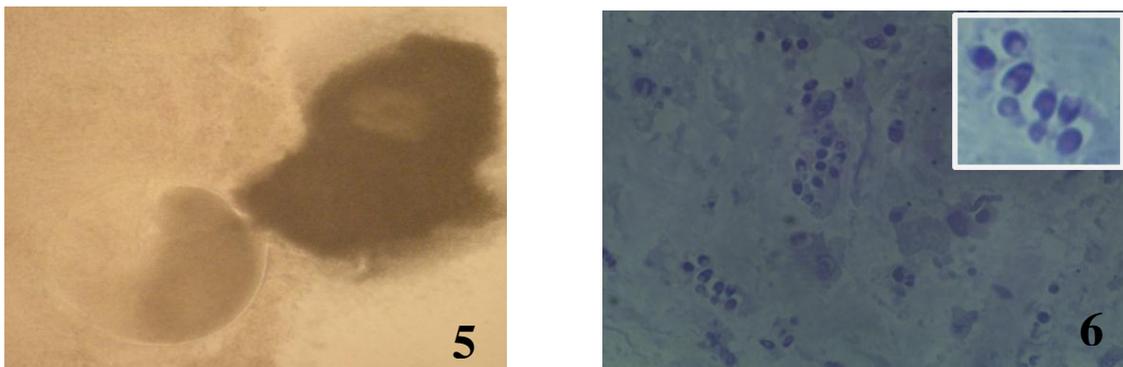


Figura 5. Foto de um xenoma rompido contendo inúmeros esporos de microsporídio isolado de mucosa gástrica de *Brachyplatystoma vaillantii* X 400. Figura 6. Vários esporos isolados e agrupados de *Microsporidium* sp. em corte semifino, corado pelo corante azul de toluidina X 1000. Detalhe: esporos de microsporídios ampliados.

As dimensões e forma dos esporos são semelhantes às descritos por Matos et al. (2003b) ao descreverem que podem apresentar formato elipsoide, com dimensões muito variadas, na ordem de 4,0 x 2,0µm, podendo frequentemente encontrarem-se agrupados formando xenomas nas células do hospedeiro.

Na avaliação morfológica ultraestrutural do esporo (Figura 7), verificou-se que possui um arranjo característico que distingue todos os microsporídios, uma parede espessa envolvendo uma célula uninucleada, contendo caracteres específicos do grupo, disco de ancoragem e tubo polar, polaroplasto e vacúolo posterior ocupando $\frac{1}{3}$ do comprimento do esporo, semelhante aos aspectos descritos por Matos e Azevedo (2004).

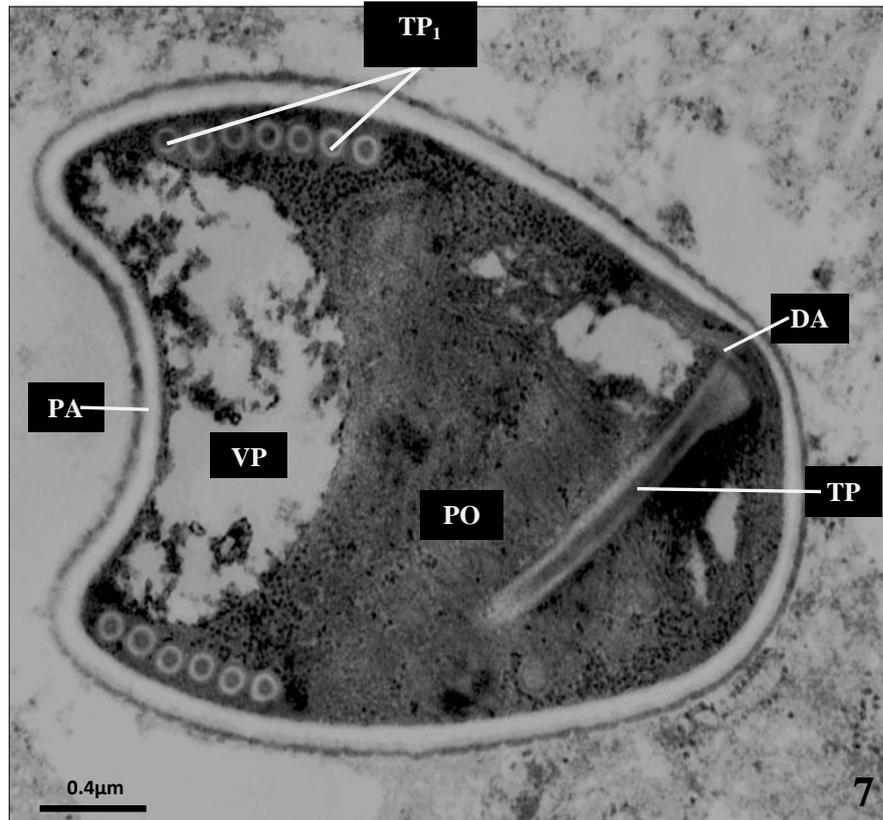


Figura 7. Corte ultrafino longitudinal de esporo de *Microporidium* sp. na mucosa gástrica de *Brachyplatystoma vaillantii*, onde são observadas as estruturas: D – disco de ancoragem; TP – tubo polar porção anterior; PO – polaroplasto; PA – parede do esporo; VP – Vacúolo posterior; TP₁ – tubo polar em corte transversal X 20.000.

O diâmetro do esporo foi de aproximadamente 4,2μm e a espessura média da parede de 0,01μm constituída por uma camada externa elétron densa, o exosporo, e uma camada interna elétron lucente, o endosporo e membrana envolvendo o esporoplasma (Figura 8), equivalente à descrição de Bigliardi e Sacchi (2001).

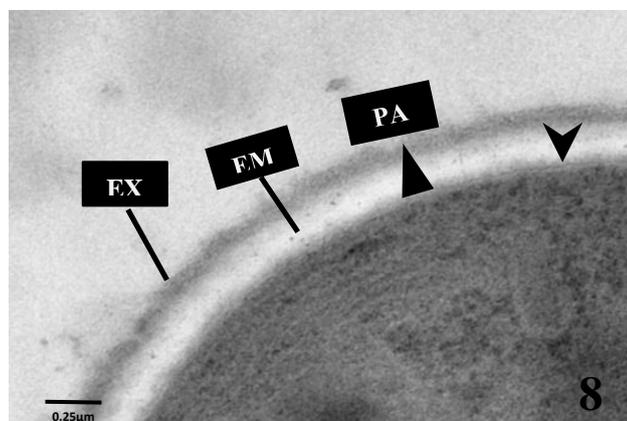


Figura 8. Parede espessa do esporo - PA, constituída pelo exosporo – EX, endosporo – EM e membrana do esporoplasma (cabeça de seta) observado em *Brachyplatystoma vaillantii* X 30.000.

Observou-se a existência de uma estrutura tubular em formato de hélice (Figura 7), ligada ao ápice do esporo, correspondendo ao tubo polar, filamento de largura constante (isofilar), projetando-se para a porção posterior do esporo sob a forma de um enrolamento em espiral, contendo 5-7 voltas ao redor do vacúolo, com a porção apical ligada ao disco de ancoragem, onde apresenta a menor espessura, condições que influenciam a taxonomia específica dos diferentes gêneros de microsporídios conforme referido por Vávra e Larsson (1999).

O número de voltas do filamento polar, o seu arranjo espacial relativo e o ângulo de inclinação da hélice, são utilizados para diagnosticar a espécie de microsporídio de acordo com Keeling e Fast (2002), Matos et al. (2003b) e Matos (2007).

O polaroplasto apresenta aspecto lamelar e vesicular (Figura 9) e esporoplasma contendo vários poliribossomas, que de acordo com Matos (2007) são encontrados na maioria dos gêneros e espécies de microsporídios (Figura 10).

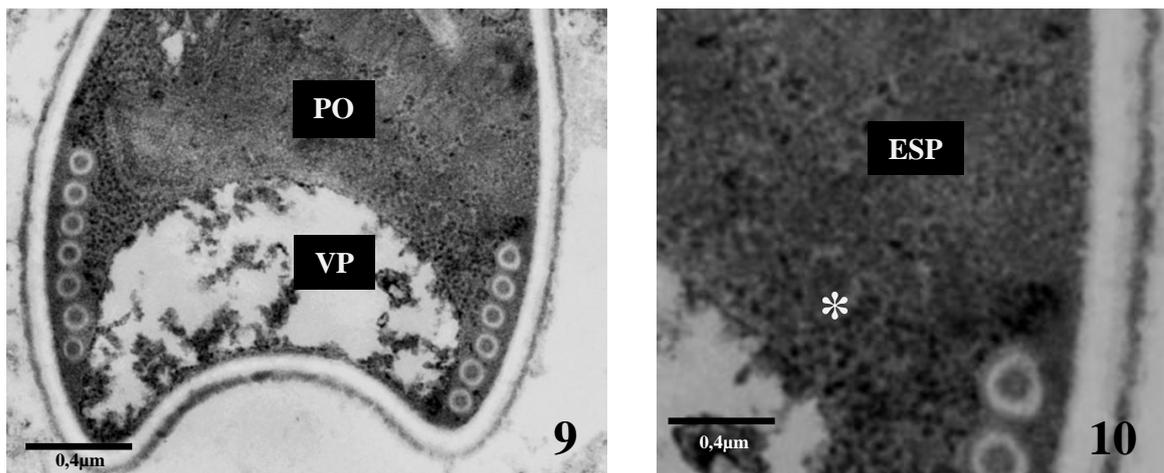


Figura 9. Corte longitudinal ultrafino de esporo de microsporídio observado em *Brachyplatystoma vaillantii*, destacando as lamelas do polaroplasto - (PO) e vesícula posterior - VP X 20.000. Figura 10. Corte ultrafino X 20.000, destacando o esporoplasma - ESP contendo poliribossomas - (*).

As características ultraestruturais e morfológicas observadas da forma, parede, polaroplasto, filamento polar e vacúolo posterior dos esporos são coincidentes com as mencionadas por Sprague, Becnel e Hazard (1992), Azevedo e Matos (2002, 2003), correspondendo ao filo Microsporídia, permitindo deduzir ser parasitismo por *Microsporidium* sp. que após estudos detalhados, ciclo de vida e biologia molecular, poderá constituir uma nova espécie parasita da mucosa gástrica de *Brachyplatystoma vaillantii*.

CONCLUSÃO

Os resultados são indicativos de se tratar de uma nova espécie de *Microsporidium* parasitando *Brachyplatystoma vaillantii*, sendo, portanto a primeira descrição nessa espécie de peixe amazônico.

AGRADECIMENTOS

Este estudo teve apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa de estudos (CAPES). Instituto Acquamazon pelo fornecimento dos peixes. Ao Laboratório de Pesquisas Aquáticas Carlos Azevedo da Universidade Federal Rural da Amazônia. Do Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto Evandro Chagas em Belém.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AQUINO, K. F. Variabilidade genética da piramutaba *Brachyplatystoma vaillantii* (Siluriformes: Pimelodidae) no Sistema Estuário-Amazonas-Solimões. *Biota Neotrópica*, Campinas, v. 6, n. 1, 2006. Disponível em: < <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sciarttext&pid=S167606032006000100021&lng=en&nrm=isso>>. Acesso em: 13 nov. 2008.

AZEVEDO, C.; MATOS, E. *Amazonspora hassar* n. gen. and n. spp. (Phylum Microsporida, fam. Glugeidae), a parasite of the Amazonian fish, *Hassar orestis* (Fam. Doradidae). *Journal of Parasitology*, v. 89, p. 336 - 341, 2003.

_____. , _____. E. Fine structure of a new species, *Loma myrophis* (Phylum Microsporidia) parasite of the Amazonian fish *Myrophis plathyrynchus* (Teleostei, Ophichthidae). *European Journal of Protistology*, v. 37, p. 445 - 452, 2002.

BARTHEM, R.; GOULDING, M. The Catfish Connection: Ecology, Migration and Conservation of Amazon Predators. *Columbia University Press*: New York, 1997a.144p.

BECNEL, J. J.; ANDREADIS, T. G. *Microsporidia in insects*. In: The microsporidia and microsporidiosis, WITTNER, M. (Washington, D.C.: ASM Press), 1999. p. 1–6.

BIGLIARDI, E.; SACCHI, L. Cell biology and invasion of the microsporidia. *Microbes and Infection*, v. 3, p. 373 - 379. 2001.

CANNING, E. U.; FEIST, S. W.; LONGSHAW, M.; OKAMURA, B.; ANDERSON, C. L.; TSE, M. T.; CURRY, A. *Microgemma vivaresi* n. spp. (Microsporidia, Tetramicidae), infecting liver and skeletal muscle of sea scorpions, *Taurulus bubalis* (Euphrasen 1786) (Osteichthyes, Cottidae), an Inshore, littoral fish. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, v. 52, p. 123-131, 2005.

CANNING, E. U.; LOM, J. *The Microsporidia of Vertebrates*. London: Academic Press, 1986. 289 p.

_____; NICHOLAS, J. P. Genus *Pleistophora* (Phylum Microspora): Redescription of type species, *Pleistophora typicalis* Gunley, 1893 and ultrastructural characterization of the genus, *Journal Fish Diseases*, v. 3. p. 317-338, 1980.

DIDIER, E. S. Microsporidiosis: An emerging and opportunistic infection in humans and animals. *Acta Tropica*, v. 94, p. 61 - 76, 2005.

FRANZEN, C. Microsporidia: A Review of 150 Years of Research. *The Open Parasitology Journal*, v. 2, p. 1 - 34, 2008.

_____. Microsporidia: how can they invade other cells. *Trends in Parasitology*, v. 20, p. 6, 2004.

FROESE, R.; D. PAULY. *FishBase* 2010. Disponível em: <<http://www.fishbase.org/home.htm>> Acesso em: 12 dez. 2010.

HIBBETT, D. S.; BINDER, M.; BISCHOFF, J. F.; BLACKWELL, M.; CANNON, P. F.; ERIKSSON, O. E.; HUHDORF, S.; JAMES, T.; KIRK, P. M.; LÜCKING, R.; LUMBSCH, H. T.; LUTZONI, F.; MATHENY, P. B.; MCLAUGHLIN, D. J.; POWELL, M. J.; REDHEAD, S.; SCHOCH, C. L.; SPATAFORA, J. W.; STALPERS, J. A.; VILGALYS, R.; AIME, M. C.; APTROOT, A.; BAUER, R.; BEGEROW, D.; BENNY, G. L.; CASTLEBURY, L. A.; CROUS, P. W.; DAI, Y.-C.; GAMS, W.; GEISER, D. M.; GRIFFITH, G. W.; GUEIDAN, C.; HAWKSWORTH, D. L.; HESTMARK, G.; HOSAKA, K.; HUMBER, R. A.; HYDE, K. D.; IRONSIDE, J. E.; KÖLJALG, U.; KURTZMAN, C. P.; LARSSON, K.-H.; LICHTWARDT, R.; LONGCORE, J.; MIADLIKOWSKA, J.; MILLER, A.; MONCALVO, J.-M.; MOZLEY-STANDRIDGE, S.; OBERWINKLER, F.; PARMASTO, E.; REEB, V.; ROGERS, J. D.; ROUX, C.; RYVARDEN, L.; SAMPAIO, J. P.; SCHÜBLER, A.; SUGIYAMA, J.; THORN, R. G.; TIBELL, L.; UNTEREINER, W. A.; WALKER, C.; WANG, Z.; WEIR, A.; WEISS, M.; WHITE, M. M.; WINKA, K.; YAO, Y.-

J.; ZHANG, N. A higher-level phylogenetic classification of the fungi. *Mycological Research*, v. 111, p. 509 - 547, 2007.

KEELING, P. J.; FAST, N. M. Microsporidia: Biology and evolution of highly reduced intracellular parasites. *Annual Review of Microbiology*, v. 56, p. 93–116, 2002.

LARSSON, J. I. R. Identification of Microsporidia. *Acta Protozoologica*, v. 38, p. 161 - 197, 1999.

LOM, J. Catalogue of described genera and species of microsporidians parasitic in fish. *Systematic Parasitology*, v. 5, p. 81 - 99, 2002.

_____; NILSEN, F. Fish microsporidia: Fine structural diversity and phylogeny. *International Journal for Parasitology*, v. 33, p. 107–127, 2003.

LOM, J.A.; DYKOVÁ, I. Microsporidia (Phylum Microspora Sprague, 1977). In: LOM, J.; DYKOVÁ, I. *Protozoan parasites of fish. Development in aquaculture and fisheries Science*. Amsterdam: Elsevier, 1992, p. 125-157.

MAGALHÃES, N.; LOBO, M. L.; ANTUNES, F.; MATOS, O. Aves e cães como potencial fonte de infecção zoonótica por microsporídeos para o Homem. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, v. 101, p. 69 - 75, 2006.

MATOS, E. R. *Caracterização de aspectos morfológicos e ultraestruturais do ciclo de vida de microsporídios encontrados em peixes da região amazônica*. Belém, 2007. Originalmente apresentada como Tese de Doutorado. Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará. 2007. 135f

MATOS, E.; AZEVEDO, C. Ultrastructural description of *Microsporidium brevirostris* spp. n. parasite of the teleostean *Brachyhypopomus brevirostris* (Hypopomidae) from the Amazon river. *Acta Protozoology*, v. 43, p. 261 – 267, 2004.

MATOS, E.; MATOS, P.; CASAL, G.; GIESE, E.; CORRAL, L.; AZEVEDO, C. Dados ultraestruturais de microsporídios (Phylum Microsporidia) da fauna ictiológica da Região Amazônica. *Revista de Ciências Agrárias*, n. 39. p. 95 - 108, jan/jul. 2003.

_____;_____; CORRAL, L.; AZEVEDO, C. A morfologia ultraestrutural de microrganismos parasitas que causam microsporidioses e mixosporidioses em peixes tropicais brasileiros. *Boletim Técnico do CEPTA*, Pirassununga, v. 16, p. 27 - 40, 2003.

SPRAGUE, V.; BECNEL, J. J.; HAZARD, E. I. Taxonomy of Phylum Microspora. *Critical Reviews in Microbiology*, v. 18, p. 285 - 395, 1992.

VÁVRA, J.; LARSSON, J. I. R. Structure of the Microsporidia. In: *The Microsporidia and microsporidiosis*. WITTNER, M.; WEISS, L. M. Washington, D. C: ASM Press, 1999. p. 7 - 84.

WITTNER, M. Historic Perspective on the Microsporidia: Expanding Horizons. In: *The Microsporidia and Microsporidiosis*. WITTNER, M. Washington, D.C. *American Society for Microbiology*, p. 1 - 6, 1999.

3.2 SEGUNDO ARTIGO: Infecção hepática causada por *Calyptospora* sp. (Apicomplexa) em *Brachyplatystoma vaillantii* (Valenciennes, 1840) capturadas na região costeira do município de Vigia de Nazaré, Estado do Pará.

Infecção hepática causada por *Calyptospora* sp. (Apicomplexa) em *Brachyplatystoma vaillantii* (Valenciennes, 1840) capturadas na região costeira do município de Vigia de Nazaré, Estado do Pará, Brasil

Moacir Cerqueira da Silva⁽¹⁾; Sérgio Carmona da São Clemente⁽²⁾; José Antônio Picanço Diniz⁽³⁾; Michele Velasco⁽¹⁾; Edilson Matos⁽¹⁾.

RESUMO

O artigo descreve a primeira ocorrência de coccidiose hepática em bagres da espécie *Brachyplatystoma vaillantii*, capturadas na região costeira do Município de Vigia, Estado do Pará, Brasil, causada por parasitas do gênero *Calyptospora*, família Calyptosporidae. Foram examinados trinta exemplares dos quais 60% encontravam-se parasitados com localização hepática, apresentando vários oocistos maduros e imaturos, agrupados ou isolados, com quatro esporocistos de formato piriforme. São descritas as características morfológicas e dimensões dos oocistos e esporocistos, obtidas a partir de microscopia de luz e de contraste de interferência diferencial.

Palavras-chave: Coccidiose. *Brachyplatystoma vaillantii*. *Calyptospora*. Piramutaba. Fígado.

Liver disease caused by *Calyptospora* sp. (Apicomplexa) in *Brachyplatystoma vaillantii* (Valenciennes, 1840) caught in the costal municipality of Nazareth Vigia, Pará, Brazil.

ABSTRACT

The article describes the first occurrence of hepatic coccidiosis in catfish *Brachyplatystoma vaillantii* caught in the coastal city of Vigia, Pará, Brazil, caused by parasites of the genus *Calyptospora*, family Calyptosporidae. This group of Coccidia can cause the death of their hosts, with a reduction in fish stocks of catfish consumed more important marketed by the State of Pará. Thirty specimens were examined and found in liver tissue of 60% of specimens, number of oocysts mature and immature, or grouped isolated, containing four cysts pyriform shape. We describe the morphological characteristics and dimensions of the oocysts and sporocysts, obtained from conventional light microscopy and differential interference contrast.

Keywords: Coccidiosis. *Brachyplatystoma vaillantii*. *Calyptospora*. Piramutaba, Liver.

1. Instituto da Saúde e Produção Animal – UFRA, Av. Presidente Tancredo Neves, 2501, Belém (PA), CEP 66.077-530. e-mail: <moacir.silva@ufra.edu.br>; <edilson.matos@ufra.edu.br>; <michele.velasco@ufra.edu.br>

2. Faculdade de Veterinária - Universidade Federal Fluminense/UFF, Rua Vital Brazil Filho, 64. Niterói/RJ. 24.230-340. e-mail: <scsc@vm.uff.br >

3. Instituto Evandro Chagas – IEC, Av. Almirante Barroso, 492, Belém (PA), 66090-000. e-mail: <joseantonio@iec.pa.gov.br>

INTRODUÇÃO

A piramutaba, *Brachyplatystoma vaillantii* (Valenciennes, 1840), pertence ao grupo de peixes de clima tropical encontrados em regiões estuarinas, pertencentes à classe Actinopterygii, ordem dos Siluriformes e família Pimelodidae, podendo atingir 80 a 150 cm de comprimento e peso máximo de 20 kg. Encontrados na região norte da América do Sul, nas bacias dos rios Amazonas e Orinoco na Venezuela e nos principais rios das Guianas e no nordeste do Brasil (FROESE ; PAULY, 2010).

É a única espécie do gênero que forma grandes cardumes, podendo ser capturada aos milhares ao longo da calha do rio Solimões-Amazonas. É muito bem aceita tanto para o consumo local como para exportação, devido seu sabor agradável e boa qualidade nutricional (BARTHEM; GOULDING, 1997).

A *B. vaillantii* é uma das espécies de peixes mais importantes e comerciais da região Amazônica, principalmente para o mercado de exportação. Vários autores citam que a espécie é composta de um único estoque que migra sazonalmente, utilizando diferentes áreas para a reprodução, alimentação e crescimento ao longo do sistema Estuário-Amazonas-Solimões (EAS). É capturada tanto pela pesca comercial artesanal, que ocorre em todo o sistema EAS, quanto pela industrial, que é praticada somente no estuário, paralelamente à pesca artesanal (AQUINO, 2006).

O filo Apicomplexa Levine, 1970 compreende um conjunto grande e heterogêneo de parasitas intracelulares obrigatórios de importância médica e veterinária. O maior subgrupo deste filo é a subordem Eimeriorina Léger, 1911 que contém organismos referidos coletivamente como coccídios. Predominantemente parasitos intestinais, podem infectar todas as classes de vertebrados e invertebrados. Atualmente, a subordem Eimeriorina tem pelo menos 10 famílias, 42 gêneros e mais de 2.000 espécies descritas (DUSZYNSKI; COUCH; UPTON, 2000).

Constitui um grupo de microrganismos de vida intracelular, com todo o ciclo de vida ocorrendo nas células hospedeiras, englobando algumas formas patogênicas e parasitárias que ocorrem principalmente em moluscos bivalves e peixes (MATOS et al. 2004). A importância econômica da infecção ocasionada por parasitos do gênero *Calyptospora* em mamíferos e aves é documentada há muito tempo, enquanto registros em espécies de peixes são bastante limitadas (ALBUQUERQUE; BRASIL-SATO, 2010).

As coccidioses são comuns em peixes marinhos e de água doce incluindo o gênero *Calyptospora* (DAVIES; BALL, 1993; MOLNÁR, 2006).

A família Calyptosporidae descrita por Overstreet, Hawkins e Fournié em 1984, é representada por somente cinco espécies descritas, *Calyptospora funduli* por Overstreet, Hawkins e Fournié (1984) e Oliveira et al. (1993); *Calyptospora empristica* por Fournié, Hawkins e Overstreet, (1985); *C. serrasalmi* por Cheung, Nigrelli e Ruggieri, (1986); *C. tucunarensis* por Békési e Molnár, (1991) e *C. spinosa* por Azevedo, Matos e Matos (1993).

Em peixes brasileiros, somente três espécies do gênero *Calyptospora* foram descritas parasitando o fígado de peixes, *C. serrasalmi* em *Serrasalmus niger* (CHEUNG; NIGRELLI; RUGGIERI, 1986), *C. tucunarensis*, em *Cichla ocellaris* (BÉKÉSI; MONÁR, 1991) e *C. spinosa* em *Crenicichla lepidota* (AZEVEDO, MATOS, MATOS, 1993).

Bonar et al. (2006) citaram a ocorrência de *Calyptospora* sp. em sete peixes jovens da espécie *Arapaima gigas* (pirarucu), exportados da cidade de Manaus para os Estados Unidos que vieram a morrer entre 4 a 6 semanas após a chegada, resultante da infecção por coccídios e por *Dawestrema cycloancistrum* (Ancyrocephalinae) com lesões, principalmente no fígado, nas brânquias, cérebro e trato gastrointestinal.

Entre os parasitos mais comuns, encontrados e descritos em hospedeiros da fauna Amazônica, Azevedo, Matos e Matos (1993) destacaram a *Calyptospora spinosa* em peixes da espécie *Hoplosternum littorale*, (tamoatá) e de *Crenicichla lepidota*, (jacundá,) peixes naturais da bacia fluvial Amazônica.

Na tabela 1 são registrados os dados biométricos referentes às dimensões de oocistos, formas, comprimento e largura dos esporocistos de espécies de *Calyptospora* descritas na literatura.

MATERIAL E MÉTODOS

Trinta exemplares de piramutabas, *Brachyplatystoma* com dados biométricos de 380-450g de peso, comprimento entre 28,5 e 45,5cm capturados no estuário do Município de Vigia (00° 51'S; 48° 08'W), por pescadores artesanais, mantidos sob refrigeração em caixas de poliestireno expandido foram transportados até o Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo (LPCA) da UFRA, onde foram necropsiados. Os protozoários foram coletados, fixados, conservados e identificados segundo as técnicas utilizadas por Azevedo, Matos e Matos (1993).

Para evidenciar os contornos dos oocistos, esporocistos e esporopodium, foi realizado o contraste de interferência diferencial – DIC (Nomarski), em amostras de fígado contendo oocistos, que após fragmentação, foram mantidos em solução de cloreto de sódio a 0,9% estendidos entre lâmina e lamínula e observados em microscópio Zeiss, com sistema

Axiophot, adaptado com DIC (Nomarski), pertencente ao laboratório de microscopia eletrônica do Instituto Evandro Chagas.

No exame da estrutura dos oocistos foi empregado o contraste de fase em amostras do tecido hepático, obtidos pela mesma técnica empregada para DIC, e observadas em microscópio Zeiss, Scope. A1 utilizando o software de processamento de imagem digital AxioVision.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos 18 exemplares positivos de *B. vaillantii*, foram observados em preparações a fresco, grande quantidade de oocistos esféricos agrupados e isolados (Figura 1). Em muitos casos o parênquima hepático do hospedeiro encontrava-se substituído por numerosos grupos de oocistos irregularmente distribuídos (Figura 2). Azevedo, Matos e Matos (1993) verificaram infecções, onde o fígado do hospedeiro de *Crenicichla lepidota* encontrava-se largamente substituído por numerosos grupos de oocistos dispostos irregularmente no parênquima hepático.

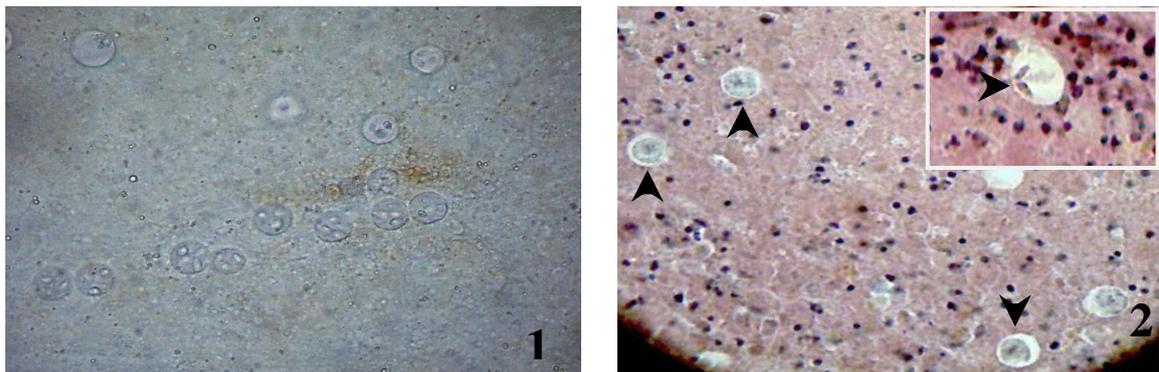


Figura 1. Preparação a fresco, alguns oocistos isolados e agrupados de *Calyptospora* sp. obtidos de fígado de *B. vaillantii*, X 400. Figura 2. Corte semifino corado pelo tricrômico de Gutiérrez, contendo oocistos imaturos (cabeças de setes) de *Calyptospora* sp. X 40. Destaque: oocisto maduro (seta) contendo esporocistos em diferentes níveis de focagem (ampliado).

O principal órgão acometido pelo *Calyptospora* sp. nos peixes examinados, foi o fígado, assim como nos trabalhos de Albuquerque e Brasil-Sato (2010) em *Arapaima gigas*, Azevedo, Matos e Matos (1993; 1995) em *Crenicichla lepidota*, Békési e Molnár (1991) em *Cichla ocellaris*, Casal et al. (2007) em peixes do gênero *Serrasalmus*, Cheung, Nigrelli e Ruggieri (1986) em *Serralsalmus niger*, Fournié, Hawkins e Overstreet (1985) em *Fundulus notti*, que mencionaram terem encontrado predominantemente o coccídeo no fígado.

A prevalência da infecção hepática foi de 60%, semelhante às relatadas por Azevedo, Matos e Matos (1993) e Békési e Molnár (1991) quando destacaram a alta prevalência de processos infecciosos causados por *Calyptospora* em espécies de peixes.

Na análise morfológica, foram evidenciados vários grupos de oocistos esféricos, cada um contendo quatro esporocistos com formato piriforme (Figura 3), no interior dos quais foram evidenciados os esporozoítos e o esporopodium com as projeções laterais (Figura 4), parasitando o parênquima hepático, achados semelhantes aos descritos por Azevedo, Matos e Matos (1993) na espécie *Creniciclha lepidota*, parasitada por *Calyptospora spinosa*. Estes achados são consistentes somente com um gênero conhecido de Apicomplexa que infectam peixes, o *Calyptospora*, com fundamento nas descrições feitas por Overstreet, Hawkins e Fournié em 1984.

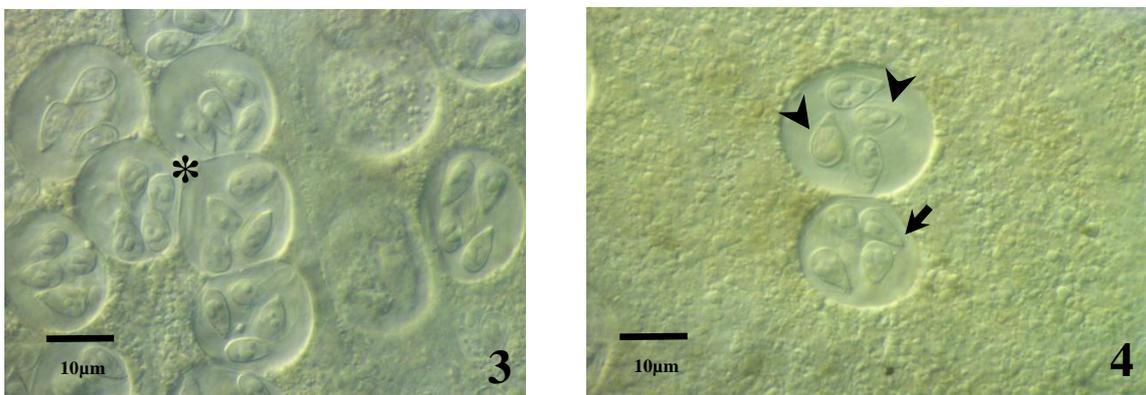


Figura 3. Oocistos de *Calyptospora* sp. agrupados contendo quatro esporocistos distribuídos entre as células hepáticas de *B. vaillantii* (*) DIC X 1000. Figura 4. Dois esporocistos onde se evidencia o esporopodium com as projeções laterais (seta pequena) e o véu (cabeça de seta) de *Calyptospora* sp. DIC X 1000.

Foram realizadas as medições dos oocistos e esporocistos, estruturas consideradas como elementos principais na diferenciação de gêneros e espécies de coccídeos em peixes de acordo com Albuquerque e Brasil-Sato (2010). Os oocistos apresentaram diâmetro médio de 20,8µm, os esporocistos de formato piriforme, apresentaram comprimento médio de 8,9µm por 4,15µm de largura (Figura 5).

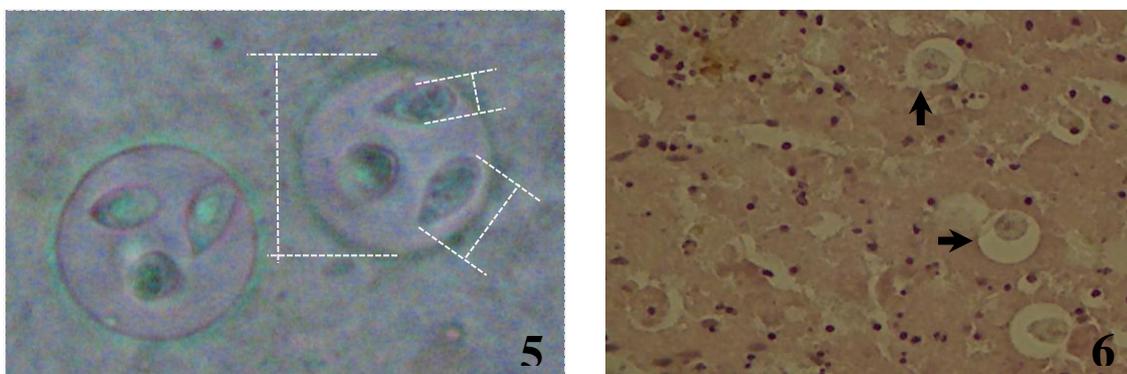


Figura 5. Preparação a fresco, oocistos maduros de *Calyptospora* sp. contendo esporocistos em formato piriforme obtidos de parênquima hepático de *B. vaillantii*, mostrando as medidas dos esporocistos, microscopia de luz X 400 (ampliado) – Figura 6. Corte semifino de parênquima hepático de *B. vaillantii* corado pelo tricrômico de Gutiérrez, contendo vários oocistos imaturos (setas) X 1000.

Os dados biométricos dos oocistos são similares aos descritos por Fournié et al. (1985) em *Calyptospora empristica*, Duszynski et al. (1979) em *Calyptospora funduli*, Cheung et al. (1986) em *Calyptospora seralsalmi*, Békési e Molnár, (1991) em *Calyptospora tucunarensis*, Azevedo et al. (1993) em *Calyptospora spinosa*, Bonnar et al. (2006) em *Calyptospora* sp. e Albuquerque e Brasil-Sato em 2010 em *Calyptospora* sp.

Na tabela 1 são registrados os dados biométricos comparativos referentes às dimensões de oocistos, formas, comprimento e largura dos esporocistos de espécies de *Calyptospora* descritas na literatura.

Tabela 1. Medidas comparativas em (μm) dos oocistos e esporocistos das espécies do gênero *Calyptospora* descritos na literatura.

Espécies	Origem	Diâmetro do oocisto (μm)	Formato	Esporocisto		Referência
				Comprimento (μm)	Largura (μm)	
<i>C. empristica</i>	USA	19,6-24,5	Elipsóide	7,0-9,5	4,5-7,5	Fournié et al. 1985
<i>C. funduli</i>	USA	20,0-31,0	Ovóide	9,0-11,0	5,0-7,0	Duszynski et al. 1979
<i>C. Seralsalmi</i>	Brasil	22,0-25,0	Piriforme	10,0-11,5	5,0-6,0	Cheung et al. 1986
<i>C. tucunarensis</i>	Brasil	23,0-26,0	Frigideira, corpo Elipsóide	7,2-9,1	3,5-5,0	Békési; Molnár, 1991
<i>C. spinosa</i>	Brasil	21,1-23,4	Elipsóide	8,9-9,5	3,6-4,1	Azevedo et al. 1993
<i>Calyptospora</i> sp.	Brasil	16,0-22,0	Piriforme	8,0-10,0	4,5-5,0	Bonnar et al. 2006
<i>Calyptospora</i> sp.	Brasil	24,5	-	11,5	4,5	Albuquerque; Brasil-Sato, 2010
<i>Calyptospora</i> sp.	Brasil	20,8	Piriforme	8,9	4,1	Presente estudo

Casal et al. (2007), ao realizarem nova descrição morfológica e estrutural de *Calyptospora serrasalmi*, encontraram 25,4 μm de diâmetro nos oocistos. O tamanho dos oocistos do presente trabalho é menor, entretanto similar ao de *C. spinosa* descrita por Azevedo, Matos e Matos (1993).

Na avaliação da disposição exterior dos oocistos através da utilização de contraste de fase, verificou-se isomorfismo (Figura 7) assim como algumas formas distintas, sugestivas de oocistos imaturos (Figura 8).

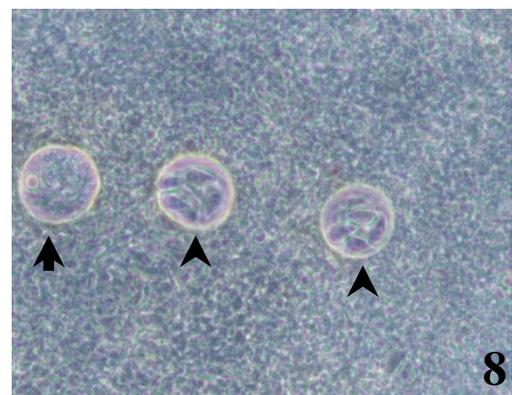
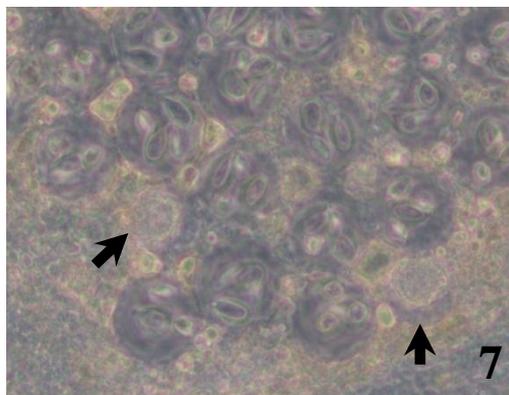


Figura 7. Vários oocistos isomórficos maduros de *Calyptospora* sp. em parênquima hepático de *B. vaillantii* e dois com características de oocistos imaturos (setas), contraste de fase X 1000. Figura 8. Dois oocistos maduros (cabecãs de setas) e um imaturo (seta), contraste de fase X 1000.

Na análise da forma e dimensão dos esporocistos, são semelhantes às de *C. serrasalmi*, descrita por Cheung et al. (1986) e *Calyptospora* sp. relatada por Bonnar et al. (2006) ambas no Brasil.

Os traços característicos da morfologia e biometria dos oocistos e esporocistos observados através da microscopia de luz e de contraste de interferência diferencial (DIC) permite inferir que pertencem ao gênero *Calyptospora*, uma vez que coccídios dessa categoria taxonômica possuem oocistos esféricos de mesma dimensão, contendo cada um quatro esporocistos, características semelhantes às descritas por Azevedo, Matos e Matos (1993) onde assinalaram a similaridade morfológica dos esporocistos entre espécies de *C. funduli*, *C. empristica*, *C. serrasalmi* e *C. tucunarensis* e observado no presente estudo.

CONCLUSÃO

A espécie de peixe *B. vaillantii*, é um novo hospedeiro para *Calyptospora* sp.

AGRADECIMENTOS

Este estudo teve apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa de estudos (CAPES). Instituto ACQUAMAZON pela disponibilização dos peixes. Do Laboratório de Pesquisas Aquáticas Carlos Azevedo da Universidade Federal Rural da Amazônia. Do Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto Evandro Chagas em Belém.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

AQUINO, K. F. Variabilidade genética da piramutaba *Brachyplatystoma vaillantii* (Siluriformes: Pimelodidae) no Sistema Estuário-Amazonas-Solimões. *Biota Neotropical*, Campinas, v. 6, n. 1, 2006. Disponível em <<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sciarttext&pid=S167606032006000100021&lng=en&nrm=isso>>. Acesso em: 13 nov. 2008.

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

_____; _____. Ultrastructural data on sporogony of the coccidian parasite *Calyptospora spinosa* from the liver of the Amazonian fish, *Crenicichla lepidota* Heckel. *Journal of Fish Diseases*, v. 18, p.475-479, 1995.

BARTHEM, R. B.; PETRERE JR., M.; ISAAC, V. J.; RIBEIRO, M. C. L. B.; MCGRATH, D. G.; VIEIRA, I. J. A.; VALDERAMA-BARCO, M. A pesca na Amazônia: problemas e perspectivas para o seu manejo. In: VALADARES-PÁDUA, C.; BODMER, R. E. *Manejo e Conservação da Vida Silvestre no Brasil. MCT-CNPq*, Sociedade Civil Mamirauá, 1997. p.173-184.

BÉKÉSI, L.; MOLNÁR, K. *Calyptospora tucunarensis* n. sp. (Apicomplexa: Sporozoea) from liver of tucunare *Cichla ocellaris* in Brazil. *Systematic Parasitology*, v.18, p.127-132, 1991.

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

CHEUNG, P. J.; NIGRELLI, R. F.; RUGGIERI, G. D. *Calyptospora serrasalmi* sp nov. (Coccidia: Calyptosporidae) from liver on the black piranha, *Serrasalmus niger* Schomburgk. *Journal of Agriculture & Aquatic Science*, v. 4, p. 54-57, 1986.

CASAL, G.; PADOVAN, I.; MATOS, E.; PADOVAN, P.; MATOS, P.; MAGALHÃES, A.; AZEVEDO, C. Morphological and Ultrastructural Redescription of *Calyptospora serrasalmi* (Apicomplexa: Calyptosporidae): a parasite found in two new species of the genus *Serrasalmus* and its pathological activities. *Brazilian Journal Morphology Science*, v.20, p.11-16, 2007.

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

DUSZYNSKI, D. W.; SOLANGI, M. A.; OVERSTREET, R. M. A new and unusual eimerian (Protozoa: Eimeriidae) from the liver of *Gulf killifish*, *Fundulus grandis*. *Journal Wildlife Diseases*, v. 15, p. 543-552, 1979.

DUSZYNSKI, D. W.; COUCH, L. J.; UPTON, S. J. 2000. *The coccidian genus Calyptospora*, disponível em: <<http://www.k-sate.edu/parasitology/worldcoccidia/CALYPTOSPORA?>>. Acesso em: 30 jan. 2010.

FROESE, R.; D. PAULY. *FishBase* 2010. Disponível em:<<http://www.fishbase.org/home.htm>>. Acesso em: 12 dez. 2010.

FOURNIÉ, J. W.; HAWKINS, W.; OVERSTREET, R. M. *Calyptospora empristica* n. sp. (Eimeriorina: Calyptosporidae) from the liver of the starhead topminnow, *Fundulus notti*. *Journal of Protozoology*, v. 32, p.542-547, 1985.

MATOS, E.; CASAL, P. M.; CORRAL, L.; AZEVEDO, C. Microrganismos parasitos de animais aquáticos da Amazônia. In: RANZANI-PAIVA, M. J.; TAKEMOTO, R. M.; LIZANA, M. A. P. *Sanidade de organismos aquáticos*. São Paulo: Varela, 2004. 426 p. cap. 7, p. 159-178.

MONÁR, K. Phylum Apicomplexa. In: WOO, P. T. K. *Fish Disease and disorders: Protozoan and Metazoan Infections*. Cabi Publishing. Cambridge. 2006. p. 183-204.

MOURÃO, K. R. M.; PINHEIRO, L. A., LUCENA, F. Organização Social e Aspectos Técnicos da Atividade Pesqueira no Município de Vigia-PA. *Boletim do Laboratório de Hidrologia*, v. 20, p. 39-52, 2007.

OLIVEIRA, M. F. T.; HAWKINS, W.; OVERSTREET, R. M.; FOURNIÉ J. W. *Calyptospra funduli* (Apicomplexa, Calyptosporidae) in the liver of the Gulf toadfish, *Opsanus beta*. *Journal of Helminthology*, v. 60, p. 273-277, 1993.

OVERSTREET, R. M.; HAWKINS, W.; FOURNIÉ J. W. The coccidian genus *Calyptospora* n. g and Family Calyptosporidae n. fam. (Apicomplexa), with members infecting primarily fishes. *Journal of Protozoology*, v. 31, p. 332-339, 1984.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Há uma crescente preocupação com a sanidade dos peixes tanto selvagens como de cativeiro. É importante que se conheça a biologia da espécie e dos patógenos para que se possa correlacionar epizootias com fatores bióticos e abióticos e aplicação das medidas mitigatórias necessárias.

O conhecimento das doenças provocadas por parasitismo é importante, pois além de provocarem as doenças e perdas econômicas, causam danos nos órgãos parasitados e mortandade dos hospedeiros.

A infecção, a depreciação comercial e a fauna parasitária podem variar, dependendo de diferentes fatores, uma vez que os peixes estão continuamente expostos aos parasitos no habitat, presença de substâncias poluentes, variações climáticas e introdução de novos patógenos.

A piramutaba é uma espécie cuja comercialização movimentava milhares de dólares anualmente, se infectada pode-se supor que acarrete redução dos estoques se os agentes provocarem a morte dos hospedeiros.

A ocorrência de microsporidiose e coccidiose em piramutabas é motivo de apreensão, uma vez que nas condições em que a pesquisa foi realizada, não foi possível estabelecer o índice de intensidade média de parasitismo, assim como as relações parasito-hospedeiro para o estabelecimento de prognóstico.

Estudos complementares e epidemiológicos podem elucidar os fenômenos parasitários decorrentes da habilidade dos microsporídios e coccídios descritos em infectarem, permanecerem no hospedeiro, evoluírem e reproduzirem-se.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, F. E. A.; CORREA, R. O; PAIXÃO, K. C. G.; ARRAZ, R. M.; MATOS, E; PINHEIRO, G. E. V. Presença de apicomplexa em tambaqui (*Colossoma macropomum*) na estação experimental de piscicultura da Embrapa Amazônia Oriental, 2007. Disponível em: <http://www.abz.org.br/publicacoes=tecnicas/anais/artigos>. Acesso em: 2 jan. 2011.

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

AQUINO, K. F. Variabilidade genética da piramutaba *Brachyplatystoma vaillantii* (Siluriformes: Pimelodidae) no Sistema Estuário-Amazonas-Solimões. *Biota Neotrópica*, Campinas, v.6, n.1, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sciarttext&pid=S167606032006000100021&lng=en&nrm=isso>. Acesso em: 13 nov. 2008.

AZEVEDO, C.; MATOS, E. Fine structure of the Myxosporean, *Henneguya curimata* n. sp., parasite of the Amazonian fish *Curimata inornata* (Teleostei, Curimatidae). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, v. 49, n. 3, p. 197-200, 2002a.

_____; _____. Fine structure of a new species, *Loma myrophis* (Phylum Microsporidia) parasite of the Amazonian fish *Myrophis plathyrynchus* (Teleostei, Ophichthidae). *European Journal of Protistology*, v. 37, p. 445-452, 2002b.

_____; _____. *Amazonspora hassar* n. gen. and n. spp. (Phylum Microsporida, fam. Glugeidae), a parasite of the Amazonian fish, *Hassar orestis* (Fam. Doradidae). *Journal of Parasitology*, v. 89, p. 336-341, 2003a.

_____; _____. Fine structure of *Henneguya pilosa* sp. n. (Myxozoa: Myxosporea), parasite of the Brazilian fish, *Serrasalmus altuvei* (Characidae). *Folia Parasitology*, v. 50, p. 35-40, 2003b.

AZEVEDO, C.; MATOS, P.; MATOS, E. Morphological data of *Calyptospora spinosa* n. sp. (Apicomplexa, Calyptosporidae) parasite of *Crenicichla lepidota* Heckel, 1840 (Teleostei) from Amazon river. *European Journal of Protistology*, v. 29, p. 171-175, 1993.

_____; _____. Ultrastructural data on sporogony of the coccidian parasite *Calyptospora spinosa* from the liver of the Amazonian fish, *Crenicichla lepidota* Heckel. *Journal of Fish Diseases*, v.18, p.475-479, 1995.

BALDAUF, S. L.; ROGER, A. J.; WENK-SIERFERT, I.; DOOLITTLE, W. F. A Kingdom-Level Phylogeny of Eukaryotes Based on Combined Protein Data. *Science*, v. 290, p. 972-976, 2000.

BARTHEM, R.; GOULDING, M. *The Catfish Connection: Ecology, Migration and Conservation of Amazon Predators*. Columbia University Press: New York, 1997a. 144p.

_____; _____. *Os bagres balizadores: Ecologia, Migração e Conservação de peixes amazônicos*. Brasília Sociedade Civil Mamirauá, CNPq, 1997b. 140p.

_____; PETRERE JR., M. Fisheries and population dynamics of *Brachyplatystoma vailantii* (Pimelodidae) in the Amazon Estuary. In: World Fisheries Congress, 1995, New Delhi. Proceedings ... New Delhi: Oxford/IBH Publishing, 1995. p. 329-340.

_____; _____. ISAAC, V. J.; RIBEIRO, M. C. L. B.; MCGRATH, D. G.; VIEIRA, I. J. A.; VALDERAMA-BARCO, M. A pesca na Amazônia: problemas e perspectivas para o seu manejo. In: VALADARES-PÁDUA, C.; BODMER, R. E. *Manejo e Conservação da Vida Silvestre no Brasil*. MCT-CNPq, Sociedade Civil Mamirauá, 1997. p.173-184.

BECNEL, J. J.; ANDREADIS, T. G. *Microsporidia in insects*. In: The microsporidia and microsporidiosis, WITTNER, M. (Washington, D.C.: ASM Press), 1999. p. 1-6.

BÉKÉSI, L.; MOLNÁR, K. *Calyptospora tucunarensis* n. sp. (Apicomplexa: Sporozoa) from liver of tucunare *Cichla ocellaris* in Brazil. *Systematic Parasitology*, v. 18, p.127-132, 1991.

BELOVA, L. M.; KRYLOV, M. V. Specificity of coccidia of fishes (Sporozoa, Coccidiida). Annual Reports of the Zoological Institute RAS, 2000. Disponível em: <http://www.zin.ru/annrep/2000/02.html>. Acesso em: 15 janeiro 2011.

BIGLIARDI, E.; SACCHI, L. Cell biology and invasion of the microsporidia. *Microbes and Infection*, v. 3, p. 373-379. 2001.

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

BRITO, C. S. F.; JÚNIOR, I. F.; TAVARES, M. C. S; SILVA, Z. C. *Estatística da Pesca Marítima e Estuarina do Estado do Pará - 1997 a 2002*. Centro de Pesquisa e Gestão e Recursos Pesqueiros do Norte do Brasil (CEPNOR). Belém, 2002. 56 p.

BRUNS, T. A kingdom revised. *Nature*, v. 443, p. 758-760, 2006.

CANNING, E. U.; NICHOLAS, J. P. Genus *Pleistophora* (Phylum Microspora): Redescription of type species, *Pleistophora typicalis* Gunley, 1893 and ultrastructural characterization of the genus, *Journal Fish Diseases*, v. 3. p. 317-338, 1980.

_____; LOM, J. *The Microsporidia of Vertebrates*. London: Academic Press, 1986. 289 p.

_____; FEST, S. W.; LONGSHAW, M.; OKAMURA, B.; ANDERSON, C. L.; TSE, M. T.; CURRY, A. *Microgemma vivaresi* n. spp. (Microsporidia, Tetramicidae), infecting liver and skeletal muscle of sea scorpions, *Taurulus bubalis* (Euphrasen 1786) (Osteichthyes, Cottidae), an Inshore, littoral fish. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, v. 52, p. 123-131, 2005.

CASAL, G.; PADOVAN, I.; MATOS, E.; PADOVAN, P.; MATOS, P.; MAGALHÃES, A.; AZEVEDO, C. Morphological and Ultrastructural Redescription of *Calyptospora serrasalmi* (Apicomplexa: Calyptosporidae): a parasite found in two new species of the genus *Serrasalmus* and its pathological activities. *Brazilian Journal Morphology Science*, v. 20, p.11-16, 2007.

CAVALIER-SMITH, T. Kingdom Protozoa and Its 18 Phyla. *Microbiological Reviews*, n. 57. v. 4, p. 953-994, 1993.

_____. A revised six-kingdom system of life. *Biological Reviews*, v. 73, p. 203-266, 1998.

CHAVES, R. A.; SILVA, K. C. A.; IVO, C. T. C.; CINTRA, I. H. A.; AVIZ, J. S. Sobre a pesca da piramutaba, *Bachyplatystoma vaillantii* (Valenciennes, 1940) em pescarias da frota industrial no estado do Pará. *Boletim Técnico Científico CEPNOR*, Belém, v. 3, n. 1, p. 163-177, 2003.

CHEUNG, P. J.; NIGRELLI, R. F.; RUGGIERI, G. D. Coccidian parasite from the liver of the black piranha, *Serrasalmus niger* Schomburgk. Eastern Fish Health Workshop, June 21-23, 1983. National Fish Health Research Laboratory, Kearneysville, West Virginia. p. 3, 1983.

_____; _____. *Calyptospora serrasalmi* sp nov. (Coccidia: Calyptosporidae) from liver on the black piranha, *Serrasalmus niger* Schomburgk. *Journal of Agriculture & Aquatic Science*, v. 4, p. 54-57, 1986.

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

DENGJEL, B.; ZAHLER, M.; HERMANN, W.; HEINRITZI, K.; SPILLMANN, T.; THOMSCHKE, T.; LÖSCHER, T.; GOTHE, R.; RINDER, H. Zoonotic potential of *Enterocytozoon bieneusi*. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 39, p. 4495-4499, 2001.

DIDIER, E. S.; VISVESVARA, G. S.; BAKER, M. D.; ROGERS, L. B.; BERTUCCI, D. C.; DE GROOTE, M. A.; VOSSBRINCK, C. R. A microsporidian isolated from an AIDS patient corresponds to *Encephalitozoon cuniculi* III, originally isolated from domestic dogs. *Journal Clinical of Microbiology*, v. 34, p. 2835-2837, 1996.

_____. Microsporidiosis: An emerging and opportunistic infection in humans and animals. *Acta Tropica*, v. 94, p. 61-76, 2005.

DUSZYNSKI, D. W.; SOLANGI, M. A.; OVERSTREET, R. M. A new and unusual eimerian (Protozoa: Eimeriidae) from the liver of *Gulf killifish*, *Fundulus grandis*. *Journal Wildlife Diseases*, v. 15, p. 543-552, 1979.

_____; COUCH, L. J.; UPTON, S. J. 2000. *The coccidian genus Calyptospor.*, Disponível em: <<http://www.k-sate.edu/parasitology/worldcoccidia/CALYPTOSPORA?>>. Acesso em: 30 jan. 2010.

DYKOVA, I.; LOM. J. Fish coccidia: an annotated list of described species. *Folia Parasitology*, v. 30, p. 193-208, 1983.

FIGUEIREDO, E. T. L. *Entomopatogénios e bioinsecticidas*. Provas de Aptidão Pedagógica e Capacidade Científica. Universidade Técnica de Lisboa. Instituto Superior de Agronomia. 1997. 355p.

FOURNIÉ, J. W.; SOLANGI, M. A. Prevalence of *Eimeria funduli* (Protozoa: Eimeriidae) in the longnose killifish *Fundulus similis* from Horn Island, Mississippi. *Gulf Research Reports*, v. 6, p. 427-428, 1980.

_____; OVERSTREET, R. M. Host-specificity of the coccidium *Eimeria funduli* in fishes. In: Molecular and Biochemical Parasitology. Parasites-their World and Ours, Muller, M., Gutteridge, W., and Kohler, P. . Proceedings of the International Congress of Parasitology, 5, August 7-14, Toronto. Elsevier Biomedical Press, Toronto. p. 444-445, 1982.

_____; _____. An intermediate host required for the piscine coccidian *Eimeria funduli*. *Journal of Parasitology*, v. 69 , 1983a. p. 51. Supplement 84.

_____; _____. True intermediate hosts for *Eimeria funduli* (Apicomplexa) from estuarine fishes. *Journal of Protozoology*, v. 30, p. 672-675, 1983b.

_____; HAWKINS, W. E; OVERSTREET, R. M. *Calyptospora empristica* n. sp. (Eimeriorina: Calyptosporidae) from the liver of the starhead topminnow, *Fundulus notti*. *Journal of Protozoology*, v. 32, p.542-547, 1985.

_____; _____. *Calyptospora empristica* n. sp. (Eimeriorina: Calyptosporidae) from the liver of the starhead topminnow, *Fundulus notti*. *Journal of Protozoology*, v. 32, p. 542-547, 1985a.

_____; _____. Organization of sporulated oocysts of two species of the piscine coccidium, *Calyptospora*. *Journal of Parasitology*, n. 71, v. 38, 1985b. Abstract 68.

_____; OVERSTREET, R. M. Host specificity of *Calyptospora funduli* (Apicomplexa: Calyptosporidae) in Atheriniform fishes. *Journal of Parasitology*, v. 79, p. 720-727, 1993.

_____; VOGELBEIN, W. K.; OVERSTREET, R. M.; HAWKINS, W. E. Life cycle of *Calyptospora funduli* (Apicomplexa: Calyptosporidae). *Journal of Parasitology*, v. 86, p. 501-505, 2000.

FRAZEN, C.; MÜLLER, A. Molecular techniques for detection, species differentiation, and phylogenetic analysis of microsporidia. *Clinical Microbiology Review*, v. 12, p. 243-285, 1999.

_____. Microsporidia: how can they invade other cells. *Trends in Parasitology*, v. 20, p. 6, 2004.

_____. Microsporidia: A Review of 150 Years of Research. *The Open Parasitology Journal*, v. 2, p. 1-34, 2008.

FROESE, R.; PAULY, D. *FishBase* 2010. Disponível em: <http://www.fishbase.org/home.htm>. Acesso em: 12 dez. 2010.

GILL, E. E.; FAST, N. M. Assessing the microsporidia-fungi relationship: Combined phylogenetic analysis of eight genes. *Gene*, v. 375, p. 103-109, 2006.

HAWKINS, W. E.; SOLANGI, M. A.; OVERSTREET, R. M. Ultrastructural effects of the coccidium, *Eimeria funduli* Duszynski, Solangi and Overstreet, 1979 on the liver of killifishes. *Journal of Fish Diseases*, n. 4, p. 281-295, 1981a.

_____; _____. Ultrastructural aspects of the development of the coccidium *Eimeria funduli* in killifish. *Journal of the Mississippi Academy of Sciences*, n. 26, (Supplement 133), 1981b.

_____; _____. Gamogony in *Eimeria funduli*, a coccidian parasite of killifish. LSEM Spring Meeting and Annual Symposium, May 21-23, Baton Rouge. Louisiana Society for Electron Microscopy Newsletter 7, 1981c. Supplement.

HAWKINS, W. E.; FOURNIÉ, J. W.; OVERSTREET, R. M. Organization of sporulated oocysts of *Eimeria funduli* in the gulf killifish, *Fundulus grandis*. *Journal of Parasitology*, v. 69, p. 496-503, 1983a.

_____; _____. Morphological studies on the life cycle stages of *Eimeria funduli*, an extraintestinal piscine coccidian. *Journal of Parasitology*, v. 69, 1983b, p. 65., Supplement 150.

_____.; _____. Ultrastructure of the macrogamont of *Eimeria funduli*, a coccidium parasitizing killifishes. *Journal of Fish Diseases*, v.6, p. 33-43, 1983c.

_____.; _____. Ultrastructure of the microgamont and microgamete of *Eimeria funduli*, a coccidium parasitizing killifishes. *Journal of Fish Diseases*, v. 6, p. 45-57, 1983d.

HAWKINS, W. E.; FOURNIÉ, J. W.; OVERSTREET, R. M. Ultrastructure of the interface between stages of *Eimeria funduli* (Apicomplexa) and hepatocytes of the longnose killifish, *Fundulus similis*. *Journal of Parasitology*, v. 70, p. 232-238, 1984a.

_____.; _____. Intrahepatic stages of *Eimeria funduli* (Protista: Apicomplexa) in the longnose killifish, *Fundulus similis*. *Transactions of the American Microscopical Society*, v. 103, p. 185-194, 1984b.

HIBBETT, D. S.; BINDER, M.; BISCHOFF, J. F.; BLACKWELL, M.; CANNON, P. F.; ERIKSSON, O. E.; HUHDORF, S.; JAMES, T.; KIRK, P. M.; LÜCKING, R.; LUMBSCH, H. T.; LUTZONI, F.; MATHENY, P. B.; MCLAUGHLIN, D. J.; POWELL, M. J.; REDHEAD, S.; SCHOCH, C. L.; SPATAFORA, J. W.; STALPERS, J. A.; VILGALYS, R.; AIME, M. C.; APTROOT, A.; BAUER, R.; BEGEROW, D.; BENNY, G. L.; CASTLEBURY, L. A.; CROUS, P. W.; DAI, Y-C.; GAMS, W.; GEISER, D. M.; GRIFFITH, G. W.; GUEIDAN, C.; HAWKSWORTH, D. L.; HESTMARK, G.; HOSAKA, K.; HUMBER, R. A.; HYDE, K. D.; IRONSDALE, J. E.; KÖLJALG, U.; KURTZMAN, C. P.; LARSSON, K-H.; LICHTWARDT, R.; LONGCORE, J.; MIADLIKOWSKA, J.; MILLER, A.; MONCALVO, J-M.; MOZLEY-STANDRIDGE, S.; OBERWINKLER, F.; PARMASIO, E.; REEB, V.; ROGERS, J. D.; ROUX, C.; RYVARDEN, L.; SAMPAIO, J. P.; SCHÜBLER, A.; SUGIYAMA, J.; THORN, R. G.; TIBELL, L.; UNTEREINER, W. A.; WALKER, C.; WANG, Z.; WEIR, A.; WEISS, M.; WHITE, M. M.; WINKA, K.; YAO, Y-J.; ZHANG, N. A higher-level phylogenetic classification of the fungi. *Mycological Research*, v. 111, p. 509-547, 2007.

HIRT, R. P.; LOGSDON, J. M.; L. J.; HEALY, B.; DOREY, M. W.; DOOLITTLE, W. F.; EMBLEY, T. M. Microsporidia are related to Fungi: Evidence from the largest subunit of RNA polymerase II and other proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, v. 96, p. 580-585, 1999.

INSTITUTO ACQUAMAZON. In: Pará é o maior produtor de Pescado do País. *Informativo Bimestral do Instituto Acquamazon*, Belém, ano 3, n. 8, p. 3, jan. / fev. 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS (IBAMA). *Camarão Norte e Piramutaba*: IBAMA, 1997. 148p. (Coleção Meio Ambiente. Série estudos pesca, n. 9).

_____. Reunião do Grupo Permanente de Estudos sobre a piramutaba, 5., 1997, Belém: Brasília, 1999.

KEELING, P. J.; LUKER, M. A.; PALMER, J. D. Evidence from betatubulin phylogeny that microsporidia evolved from within the fungi. *Molecular Biology and Evolution*, v. 17, p. 23-31, 2000.

_____; FAST, N. M. Microsporidia: Biology and evolution of highly reduced intracellular parasites. *Annual Review of Microbiology*, v. 56, p. 93-116, 2002.

_____. Congruent evidence from alpha-tubulin and betatubulin gene phylogenies for a zygomycete origin of microsporidia. *Fungal Genetics and Biology*, v. 38, p. 298-309, 2003.

LAINSON, R.; NAIFF, R. D.; BEST, R. C.; SHAW, J. J. *Eimeria trichechi* n. sp. From Amazonian manatee, *Thichechus inunguis* (Mammalia: Sirenia). *Systematic Parasitology*, n. 5, p. 287-289, 1983.

LARSSON, J. I. R. Identification of Microsporidia. *Acta Protozoologica*, v. 38, p. 161-197, 1999.

LE BAIL, P.Y.; KEITH, P.; PLANQUETTE, P. *Atlas des poissons d'eau douce de Guyane*. Paris: Publications scientifiques du Muséum national d'Histoire naturelle, 2000. 307 p.

LEE, S. C; CORRADI, N; BYRNES III, E. J.; TORRES-MARTINEZ, S.; DIETRICH, F. S.; KEELING, P. J.; HEITMAN, J. *Microsporidia Evolved from Ancestral Sexual Fungi Current Biology*, 18, p. 1675-1679, 2008.

LEWIS, L. C.; SUMERFORD, D. V.; BING, L. A.; GUNNARSON, R. D. Dynamics of *Nosema pyrausta* in natural populations of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*: A six-year study. *BioControl*, v. 51, p. 627-642, 2006.

LOBO, M. L.; TELES, A.; CUNHA, M. B. Microsporidia detection in stools from pets and animals from the zoo in Portugal: a preliminar study. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, v. 50, p. 581-582, 2003.

LOM, J. A.; DYKOVÁ, I. Microsporidia (Phylum Microspora Sprague, 1977). In: LOM, J.; DYKOVÁ, I. *Protozoan parasites of fish. Development in aquaculture and fisheries Science*. : Elsevier, 1992, p. 125-157.

_____; _____. Studies on protozoan parasites of Australian fishes. Notes on coccidian parasites with description of three new species. *Systematic Parasitology*, v. 31, p. 147-156, 1995.

_____; PEKKARINEN M. Ultrastructural observations on *Loma acerinae* (Jírovec, 1930) comb. n. (Phylum Microsporidia). *Acta Protozoology*, v. 38, p. 61-74, 1999.

_____. Catalogue of described genera and species of microspodians parasitic in fish. *Systematic Parasitology*, v. 5, p. 81-99, 2002.

_____; NILSEN, F. Fish microsporidia: Fine structural diversity and phylogeny. *International Journal for Parasitology*, v. 33, p. 107-127, 2003.

_____; DYKOVÁ, I. Microsporidian xenomas in fish seen in wider perspective. *Folia Parasitology*, v. 52, p. 69-81, 2005.

MAGALHÃES, N.; LOBO, M. L.; ANTUNES, F.; MATOS, O. Aves e cães como potencial fonte de infecção zoonótica por microsporídeos para o Homem. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, v. 101, p. 69-75, 2006.

MATHIS, A., WEBER, R.; DEPLAZES, P. Zoonotic Potential of the Microsporidia. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 18, n. 3, p. 423-445. 2005.

MATOS, E.; MATOS, P.; CASAL, G.; GIESE, E.; CORRAL, L.; AZEVEDO, C. Dados ultraestruturais de microsporídios (Phylum Microsporidia) da fauna ictiológica da Região Amazônica. *Revista de Ciências Agrárias*, n. 39. p. 95-108, jan/jul. 2003a.

_____; _____; CORRAL, L.; AZEVEDO, C. A morfologia ultraestrutural de microrganismos parasitas que causam microsporidioses e mixosporidioses em peixes tropicais brasileiros. *Boletim Técnico do CEPTA*, Pirassununga, v. 16, p. 27-40, 2003b.

_____; AZEVEDO, C. Ultrastructural description of *Microsporidium brevirostris* spp. n. parasite of the teleostean *Brachyhypopomus brevirostris* (Hypopomidae) from the Amazon river. *Acta Protozoology*, v. 43, p. 261-267, 2004.

_____; CASAL, P. M.; CORRAL, L.; AZEVEDO, C. Microrganismos parasitos de animais aquáticos da Amazônia. In: RANZANI-PAIVA, M. J.; TAKEMOTO, R. M.; LIZANA, M. A. P. *Sanidade de organismos aquáticos*. São Paulo: Varela, 2004. 426 p. cap. 7, p. 159-178.

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

MATOS, E. R. *Caracterização de aspectos morfológicos e ultraestruturais do ciclo de vida de microsporídios encontrados em peixes da região amazônica*. Belém, 2007. 135 f. Tese (Doutorado) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém, 2007.

MÉRONA, B. Ecologia da pesca e manejo pesqueiro na região amazônica. *Boletim Museu Paraense Emilio Goeldi, Série Antropologia*, v. 11, p.2, p. 167-183, 1995.

MÉTÉNIER, G.; VIVARÈS, C. Molecular characteristics and physiology of microsporidia. *Microbes and Infection*, v. 3, p. 407-415, 2001.

MILLIMAN, J. D.; SUMMERHAYES, C. P.; BARRETO, H. T. Oceanography and suspended matter off the Amazon River February-March 1973. *Journal Sedimentary Petrology*. Tulsa. v. 45, n. 1, p.189-206. 1975.

MOLNÁR, K. Phylum Apicomplexa. In: WOO, P.T.K. *Fish Disease and disorders: Protozoan and Metazoan Infections*. Cabi Publishing. Cambridge. 2006. p. 183-204.

MORRISON C. M., SPRAGUE V. Light and electron microscopic study of microsporidia in the gills of haddock, *Melanogrammus aeglefinus* (L.). *Journal of Fish Diseases*, v. 4, p. 179-184, 1981.

OLIVEIRA, M. F. T.; HAWKINS, W.; OVERSTREET, R. M.; FOURNIÉ J. W. *Calyptospra funduli* (Apicomplexa, Calyptosporidae) in the liver of the Gulf toadfish, *Opsanus beta*. *Journal of Helminthology*, v. 60, p. 273-277, 1993.

OVERSTREET, R. M.; HAWKINS, W.; FOURNIÉ J. W. The coccidian genus *Calyptospora* n. g and Family Calyptosporidae n. fam. (Apicomplexa), with members infecting primarily fishes. *Journal of Protozoology*, v. 31, p. 332-339, 1984.

_____. Marine Maladies? Worms, Germs, and other Symbionts from the Northern Gulf of Mexico. Mississippi-Alabama Sea Grant Consortium, Blossman Printing, Inc., Ocean Springs, Mississippi, 1987. 140 p.

_____. Coccidiosis of Killifishes. In: Disease Diagnosis and Control of North American Marine Aquaculture, Sindermann, C. J., and Lightner, D. ., Elsevier Science Publishers, 1988. p. 373-375.

_____. Parasitic diseases of fishes and their relationship with toxicants and other environmental factors. In: Pathobiology of Marine and Estuarine Organisms. CRC Press, Boca Raton. p. 111-156, 1993.

PAIVA, M. P. *Recursos Pesqueiros Estuarinos e Marinhos do Brasil*. Fortaleza: UFC, 1997. 286p.

RANZANI-PAIVA, M. J.; TAKEMOTO, R. M.; LIZANA, M. A. P. *Sanidade de organismos aquáticos*. São Paulo: Varela, 2004. 426 p.

RAYOL, A. C. D. *Estudo geoeconômico e ambiental dos recursos minerais dos municípios da Vigia, São Caetano de Odivelas e Colares*. 2002. 65 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Centro de Geociências, Universidade Federal do Pará, Belém, 2002.

ROCHA, C. A. M.; ROCHA JR., C. A. M. Levantamento e caracterização dos peixes mais frequentes no mercado de Icoaraci, Belém-Pará. In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 59, 2007, Belém. *Anais eletrônicos...* São Paulo: SBPC/UFPA, 2007. Disponível em: <<http://www.sbpcnet.org.br/livro/59ra>>. Acesso em: 09 nov.2008.

SHAW, R. W.; KENT, M. I. Fish Microsporidia. In: WITTER, M.; WEISS, L. M. The Microsporidia and microsporidiosis. Washington, D.C.: *American Society of Microbiology*, p. 418-446, 1999.

SOLANGI, M. A.; OVERSTREET, R. M. Biology and pathogenesis of the coccidium *Eimeria funduli* infecting killifishes. *Journal of Parasitology*, v. 66, p. 513-526, 1980.

_____; OGLE, J. T. Preliminary observations of the effect of *Eimeria funduli* (Protozoa: Eimeriidae) on the Gulf killifish *Fundulus grandis* and its potential impact on the killifish bait industry. *Gulf Research Reports*, v. 7, p. 87-88, 1981.

_____; OVERSTREET, R. M.; FOURNIÉ, J. W. Effect of low temperature on development of the coccidium *Eimeria funduli* in the Gulf killifish. *Parasitology*, v. 84, p. 31-39, 1982.

SPRAGUE, V.; BECNEL, J. J.; HAZARD, E. I. Taxonomy of Phylum Microspora. *Critical Reviews in Microbiology*, v. 18, p. 285-395, 1992.

_____; _____. Note on the Name-Author-Date combination for the taxon Microsporidies Balbiani, 1882, when ranked as a Phylum. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.71, p. 91-94, 1998.

THATCHER, V. E.; NETO, J. B. Diagnóstico, prevenção e tratamento das enfermidades de peixes neo-tropicais de água doce. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 16, n. 3, p.111-128, 1994.

_____. Amazon Fish Parasites. 2 ed. Sofia; Pensoft, 2006. 497p.

UPTON, S. J. Development of *Eimeria funduli* infecting killifish. M.S. Thesis, University of New Mexico, 1981. 112 p.

_____; DUSZYNSKI, D. W. Development of *Eimeria funduli* in *Fundulus heteroclitus*. *Journal of Protozoology*, v. 29, p. 66-71, 1982a.

_____; _____. Development of *Eimeria funduli* in *Fundulus heteroclitus*. *American Society of Biologists Bulletin*, v. 29, p. 89, 1982b. Abstract.

_____; _____. Development of *Eimeria funduli* in *Fundulus heteroclitus*. *Journal of the Alabama Academy of Sciences*, v. 53, p.32, 1982c. Abstract.

VAN DRIESCHE, R. G.; BELLOWS JR., T. S. *Biological Control*. Chapman & Hall. 1996. 539 p, 1996.

VÁVRA, J.; LARSSON, J. I. R. Structure of the Microsporidia. In: *The Microsporidia and microsporidiosis*. WITTNER, M.; WEISS, L. M. Washington, D. C: ASM Press, 1999. p. 7-84.

WEISSENBERG, R. Cell growth and cell transformation induced by cellular parasites. *Anatomical Record*, v. 100, p. 517-518, 1949.

WITTNER, M. Historic Perspective on the Microsporidia: Expanding Horizons. In: *The Microsporidia and Microsporidiosis*. WITTNER, M. Washington, D.C. *American Society for Microbiology*, p. 1-6, 1999.

S586

Silva, Moacir Cerqueira da

Microsporidiose e coccidiose em peixes da espécie *Brachyplatystoma vaillantii* (Valenciennes, 1840) capturados na região costeira do município de Vigia de Nazaré, estado do Pará / Moacir Cerqueira da Silva; orientador Sérgio Carmona de São Clemente. – 2011.

61f.

Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal)–Universidade Federal Fluminense, 2011.

Orientador: Sérgio Carmona de São Clemente

1. Microbiologia de peixe. Parasitologia veterinária. 2. Microsporidiose. 3. Coccidiose. 4. Píramutaba (Peixe). 5. Pará. I. Título.

CDD 636.089601