

INCIDÊNCIA DE PARASITAS DO PHYLUM MYXOZOA (SUB-REINO PROTOZOA) EM PEIXES DA REGIÃO AMAZÔNICA, COM ESPECIAL DESTAQUE PARA O GÊNERO *HENNEGUYA*¹

Edilson MATOS²
Laura CORRAL³
Patricia MATOS⁴
Graça CASAL⁵
Carlos AZEVEDO⁶

RESUMO: Neste trabalho realça-se a importância de ictioparasitas da fauna amazônica, destacando algumas espécies do gênero *Henneguya* Thélohan, 1892 (Phylum Myxozoa). Estes parasitas constituem um heterogêneo grupo que atua nos mais diversos tecidos, causando grandes malefícios e, em alguns casos, a morte dos seus hospedeiros. Estes parasitas têm sido encontrados em diferentes áreas geográficas e descritos em espécies pertencentes a vários grupos taxonômicos. O esporo dos parasitas do gênero *Henneguya* é constituído por duas valvas, cada uma delas com uma longa cauda. No seu interior localizam-se duas células capsulogênicas e uma célula esporogênica binucleada. As espécies encontradas em peixes do Amazonas da região próxima de Belém (Pará - Brasil), destacam-se cinco do gênero *Henneguya*: *H. amazonica*, *H. striolata*, *H. malabarica*, *H. adherens* e *H. testicularis*, e, também, duas outras espécies de mixosporídeos *Myxobolus braziliensis* e *Tetrauronema desaequalis*, cuja morfologia ultra-estrutural será apresentada e discutida. Por outro lado, discute-se a ação dos parasitas sobre o tecido parasitado e a reação no hospedeiro.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: Ultra-estrutura, Protoparasitas, Myxozoa, Teleósteos, Amazônia.

ICTHYOPARASITISM OF THE PHYLUM MYXOZOA ON FISHES OF THE AMAZON BASIN

ABSTRACT: This paper discusses the importance of some species of the myxozoan genus *Henneguya* Thelohan, 1892 as ichthyoparasites of Amazon fishes. These parasites are a heterogeneous group affecting various tissues, causing great damage and in some cases the death of their hosts. They have been found in different geographic areas and described in hosts of diverse taxonomic groups. Spores

¹ Aprovado para publicação em 20.11.2001

² Professor Titular da FCAP. Departamento de Biologia Animal, Av Tancredo Neves nº 2501, CEP: 66.077-530, Belém - Pará - Brasil.

³ Técnica em Microscopia Eletrônica - Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar - Departamento de Biologia Celular e CIMAR - Universidade do Porto - Porto - Portugal

⁴ Bióloga, Professora Assistente da UFPA - Departamento de Histologia e Embriologia - Belém - Pará - Brasil.

⁵ Bióloga, Instituto Superior de Ciências da Saúde - Norte, Laboratório de Biologia Celular - Paredes - Portugal

⁶ Biólogo, Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar - Departamento de Biologia Celular e CIMAR - Universidade do Porto - Porto - Portugal

of *Henneguya* are formed by two valves, each with a long tail. Two capsulogenic cells and a binuclear sporogenic cell are found in their interior. Five *Henneguya* species found in Amazon fishes near Belém (State of Pará, Brazil) include *H. amazonica*, *H. striolata*, *H. malabarica*, *H. adherens* and *H. testicularis*. Their ultrastructural morphology as well as of the two other myxosporids, *Myxobolus braziliensis* and *Tetraurionema desaequalis*, are described. Parasitism over the host tissue and host reaction is also discussed.

INDEX TERMS: Ultrastructure, Protoparasites, Myxozoa, Teleosts, Amazonia.

1 INTRODUÇÃO

Os parasitas pertencentes ao Phylum Myxozoa constituem um heterogêneo grupo com cerca de 50 gêneros e mais de 1330 espécies (LOM; DYKOVÁ, 1992). Difundidos nos mais diversos meios aquáticos de água doce e salgada, estes parasitas são considerados, na maior parte dos casos, parasitas patogênicos, atuando em diversos tecidos, como fígado, rim, brânquias, gônadas, intestino, pele e outros. Produzem profundas alterações ultra-estruturais nos tecidos onde desenvolvem, de um modo geral, todo o ciclo de vida. Entre os gêneros mais difundidos destaca-se o gênero *Henneguya*, do qual se conhecem cerca de 120 espécies (LOM; DYKOVÁ, 1992).

Os primeiros trabalhos em microscopia de luz sobre estes parasitas remontam à década de 1920 (GIOIA; CORDEIRO, 1996; WALLIKER, 1969; KENT; HOFFMAN, 1984). Relativamente, poucos trabalhos de microscopia eletrônica foram até o momento efetuados no Brasil, nomeadamente na Amazônia (AZEVEDO; MATOS, 1989; AZEVEDO, et al., 1989; ROCHA; MATOS; AZEVEDO, 1992; TORRES; MATOS; AZEVEDO, 1994;

AZEVEDO; MATOS, 1995; CASAL; MATOS; AZEVEDO, 1996; AZEVEDO; MATOS, 1996 a,b; CASAL; MATOS; AZEVEDO, 1997; AZEVEDO; CORRAL; MATOS, 1997). Este trabalho tem por objetivo divulgar os dados colhidos relativamente ao ciclo de vida, morfologia ultra-estrutural e reação do hospedeiro, nos peixes do rio Amazonas, que constitui uma área de grande biodiversidade animal e que tem constituído o objeto da pesquisa.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para este estudo, foram utilizados diferentes órgãos dos peixes de diferentes espécies. A presença de parasitas foi observada ao microscópio de luz (ML).

Posteriormente, o tecido parasitado foi preparado para microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e de varredura "Scanning" (SEM). Pequenos fragmentos de tecido parasitado foram fixados em glutaraldeído de 3 a 5% em tampão de cacodilato de sódio a 0,2 M, pH 7,2 a 4°C durante quatro horas. Depois de lavados em tampão por doze horas a 4°C, os fragmentos foram pós-fixados em tetróxido de ósmio a 2% a 4°C durante três horas, desidratados e incluídos em Epon. Os cortes ultrafinos,

feitos com faca diamante, foram observados em TEM JEOL100CXII, trabalhando a 60 Kv. A preparação do material para observação em SEM foi feita pela tecnologia clássica com revestimento de ouro (AZEVEDO; MATOS, 1989).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presença de esporos de mixosporídeos (Phylum Myxozoa) são facilmente observados em DIC e identificados pela sua morfologia (LOM; DYKOVÁ, 1992). Os esporos dos parasitas, apesar de se apresentarem com formas diferentes (em grande parte tipo elipsóide), possuem externamente duas valvas e no interior duas cápsulas e uma célula

esporogênica, geralmente binucleada (Figuras 1 e 2). A morfologia do esporo permite a identificação do gênero / espécie. Nas observações realizadas, constatou-se que os esporos possuíam duas caudas como prolongamento das valvas (Figura 2). Esta particularidade específica permitiu identificar os parasitas encontrados nos peixes do Baixo Amazonas (Quadro 1), como pertencentes ao gênero *Henneguya* Thélohan, 1892 (LOM; DYKOVÁ, 1992). Por outro lado, observou-se que a presença de duas caudas de cada uma das valvas permitiu, também em DIC e em TEM, constatar que os esporos pertenciam ao gênero *Tetrauronema* (Figuras 21-25).

Quadro 1 – Nome vulgar e espécie dos peixes estudados, com indicação do respectivo parasito e tecido/ órgão parasitado.

Nome vulgar	Espécie	Parasita Gênero <i>Henneguya</i>	Órgãos parasitados						
			1	2	3	4	5	6	7
Tamoatá	<i>Hoplosternum littorale</i>	<i>H. amazonica</i>	-	+	-	-	-	-	+
Ueua	<i>Acestrorhynchus falcatus</i>	<i>H. adherens</i>	-	+	-	-	-	-	-
Traíra	<i>Hoplias malabaricus</i>	<i>H. malabarica</i>	-	+	-	-	-	-	-
Piranha branca	<i>Serrasalmus striolatus</i>	<i>H. striolata</i>	-	+	-	-	-	-	-
Piaba do rabo preto	<i>Moenkausia oligolepis</i>	<i>H. testiculares</i>	-	-	-	-	-	+	-

Sinais convencionais utilizados : - não parasitado, + parasitado
1.fígado , 2 . brânquia, 3. rim , 4. tubo digestivo, 5. pele , 6. testículo, 7. ovário

Estes parasitas foram encontrados em diferentes órgãos de diferentes espécies de peixes (Quadro 1), onde se distribuíam com variáveis graus de prevalência.

O ciclo de vida destes parasitas encontrados em peixes da Amazônia foi estudado através de ML, DIC SEM e TEM (Quadro 1). A esporogênese inicia-se com o envolvimento de uma célula esporogônica, por uma célula chamada pericito (Figura 12), originando a formação de uma estrutura celular designada de pansporoblasto (Figuras 12, 15, 27). Dentro do pericito, a célula esporogônica divide-se, sucessivamente, por meio de nucleocineses e citocineses, originando células uninucleadas, exceto uma célula na qual ocorre apenas uma nucleocinese, originando-se, assim, uma célula binucleada, a célula esporoplásmica (Figura 1).

Como resultado desta divisão, resultam dois grupos de cinco células, pansporoblasto dispórico. As células de cada grupo diferenciam-se do seguinte modo: as duas células valvogênicas diferenciam-se englobando as outras três, formando-se, assim, um esporo. As três células que ficam no interior são duas células capsulogênicas onde no citoplasma se diferenciam as cápsulas polares, possuindo cada uma destas no seu interior um filamento polar enrolado em hélice (Figuras 2, 11, 18, 24, 28). A outra célula é a referida célula esporoplásmica binucleada que se caracteriza por conter inúmeras vesículas eletrodensas designadas de esporoplasmossomas, bem como partículas

de β -glicogênio (Figuras 19, 25, 30). Também as cápsulas são estruturas específicas dos esporos dos mixosporídeos. As cápsulas resultam das células capsulogênicas que se diferenciam durante o processo de maturação (Figura 2). No interior de cada uma das cápsulas localiza-se um tubo polar enrolado em espiral (Figuras 1 e 2). Observa-se a morfologia das cápsulas e do seu tubo polar, bem como a organização do tubo polar das diferentes espécies (Figuras 3, 11, 18, 24 e 28). O filamento polar é a estrutura responsável pela propagação da espécie, no período pós-maturação. Durante o processo de formação do esporo observou-se que cada uma das valvas desenvolve um complexo sistema microtubular que se diferencia nas caudas ou prolongamentos, estruturas que caracterizam as diferentes espécies do gênero *Henneguya* (Figuras 5, 9, 14, 16, 20, 23, 29).

Em peixes da bacia amazônica foram detectadas e descritas outras espécies de parasitas mixosporídeos como o *Myxobolus braziliensis*, parasita da brânquia de *Bunocephalus coracoideus* (Teleósteo) (Figuras 26-30) (CASAL; MATOS; AZEVEDO, 1996). Nenhuma referência é feita à reação hospedeira. Dentro deste gênero, a espécie mais conhecida e que representa um poderoso parasita patogênico destaca-se *Myxobolus cerebralis* que ataca geralmente a cartilagem dos peixes na fase anterior à ossificação, determinando mortalidade elevada que pode atingir 100% da população (LOM; DYKOVÁ, 1992). Embora as diferentes espécies do gênero *Henneguya* se mostrem morfologicamente

semelhantes, contendo duas valvas cada uma com uma cauda, duas cápsulas e uma célula esporoplásmica binucleada, existem entre elas diferenças específicas, principalmente, dimensões dos esporos e caudas, organização ultra-estrutural das cápsulas e respectivos tubos polares, assim como, em algumas delas, revestimentos extra-esporais. As diferenças encontradas permitiu verificar que estavam também relacionados com a especificidade de peixe hospedeiro.

Observa-se que, apesar do trabalho já desenvolvido nesta área da investigação, há ainda um longo caminho a percorrer no sentido de se esclarecer alguns detalhes do ciclo de vida, processo de propagação e reação dos hospedeiros.

Na bibliografia atual, não são conhecidos casos de transmissão destes parasitas ao homem.

4 CONCLUSÃO

Estudos desta natureza são de importância fundamental para se saber o estado de sanidade dos peixes de interesse econômico. Estes estudos, os primeiros que se realizam sobre a fauna da Amazônia, mostram que muitos peixes se encontram parasitados com diversas espécies de parasitas do Phylum Myxozoa. A ação parasitária sob os diversos órgãos dos hospedeiros causa não só malefícios ultra-estruturais que podem causar a morte, mas, também, em certos casos, a esterilidade dos hospedeiros.

AGRADECIMENTOS

Parte dos resultados apresentados foram obtidos através de projetos de pesquisa, parcialmente subsidiados pela Fundação Eng^o António de Almeida (Porto - Portugal) e pela FCAP, UFPa, Universidade do Porto/Portugal.

Agradecemos o excelente trabalho iconográfico de João Carvalheiro (UP - Portugal).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AZEVEDO, C.; MATOS, E. *Henneguya adherens* n.sp. (Myxozoa, Myxosporea) parasite of the amazonian fish, *Acestrorhynchus falcatus*. *J. Euk. Microbiol.*, v. 42, p. 515-518, 1995.
- ; MATOS, E. *Henneguya malabarica* sp. nov. (Myxozoa, Myxobolidae) in the Amazonian fish *Hoplias malabaricus*. *Parasitol. Res.*, v. 82, p. 222-224, 1996a.
- ; MATOS, E. Light and electron microscopic study of a Myxosporean, *Tetrauronema desaequalis* n.sp. (Fam. Tetrauronematidae), from an Amazonian fish. *J. Parasitol.*, v. 82, n. 2, p. 288-291, 1996b.
- ; MATOS, E. Some ultrastructural data on the spore development in *Henneguya* sp. parasite of the gill from a Brazilian fish. *Parasitol. Res.*, v. 76, p. 131-134, 1989.
- ; CORRAL, L.; MATOS, E. Light and ultrastructural data of *Henneguya testicularis* n. sp. (Myxozoa, Myxobolidae) parasite from the testis of an Amazonian fish *Moenkhausia oligolepis*. *Syst. Parasitol.*, v. 37, p. 111-114, 1997.

- AZEVEDO, C.; CORRAL, L.; MATOS, E.; GUSMÃO, S. Some ultrastructural aspects of the life cycle of *Henneguya* sp. (Myxozoa), parasite of an estuarine fish of the Amazon River. In: PERKINS, F.O.; CHENG, T. *Pathology in marine science*. New York: Academic Press, 1989.
- CASAL, G.; MATOS, E.; AZEVEDO, C. Some ultrastructural aspects of *Henneguya striolata* sp. nov. (Myxozoa, Myxosporea), a parasite of the Amazonian fish *Serrasalmus striolatus*. *Parasitol. Res.*, v. 83, p. 93-95, 1997.
- ; ———; ———. Ultrastructural data on the life cycle stages of *Myxobolus braziliensis* n. sp., parasite of an Amazonian fish. *Europ. J. Protistol.*, v. 32, p. 123-127, 1996.
- GIOIA, I.; CORDEIRO, N.S. Brazilian Myxosporidian check-list (Myxozoa). *Acta Protozoologica*, v. 35, p. 137-149, 1996.
- KENT, M.L.; HOFFMAN, G.L. 1984. Two new species of Myxozoa, *Myxobolus inaequus* sp. n. and *Henneguya theca* sp. n. from the brain of a South American knife fish, *Eigemannia virescens* (V.). *J. Protozool.*, v. 31, p. 91-94, 1984.
- LOM, J.; DYKOVÁ, I. Myxosporidia (phylum Myxozoa). In: PROTOZOAN parasites of fishes. Amsterdam: Elsevier, 1992. p. 159-235. (Development in Aquacultura and Fisheries Science, v. 26).
- ROCHA, E.; MATOS, E.; AZEVEDO, C. *Henneguya amazonica* n. sp. (Myxozoa, Myxobilidae), parasitizing the gills of *Crenicichla lepidota* Heckel, 1840 (Teleostei, Cichlidae) from Amazon River. *Europ. J. Protistol.*, v. 28, p. 273-278, 1992.
- TORRES, A.; MATOS, E.; AZEVEDO, C. Fine structure of *Henneguya amazonica* (Myxozoa) in ovarian follicles of *Hoplosternum littorale* (Teleostei) from the Amazon river. *Dis. Aquat. Org.*, v. 19, p. 169-172, 1994.
- WALLIKER, D. Myxosporidea of some Brazilian freshwater fishes. *J. Parasitol.*, v. 5, p. 942-948, 1969.

Apêndices

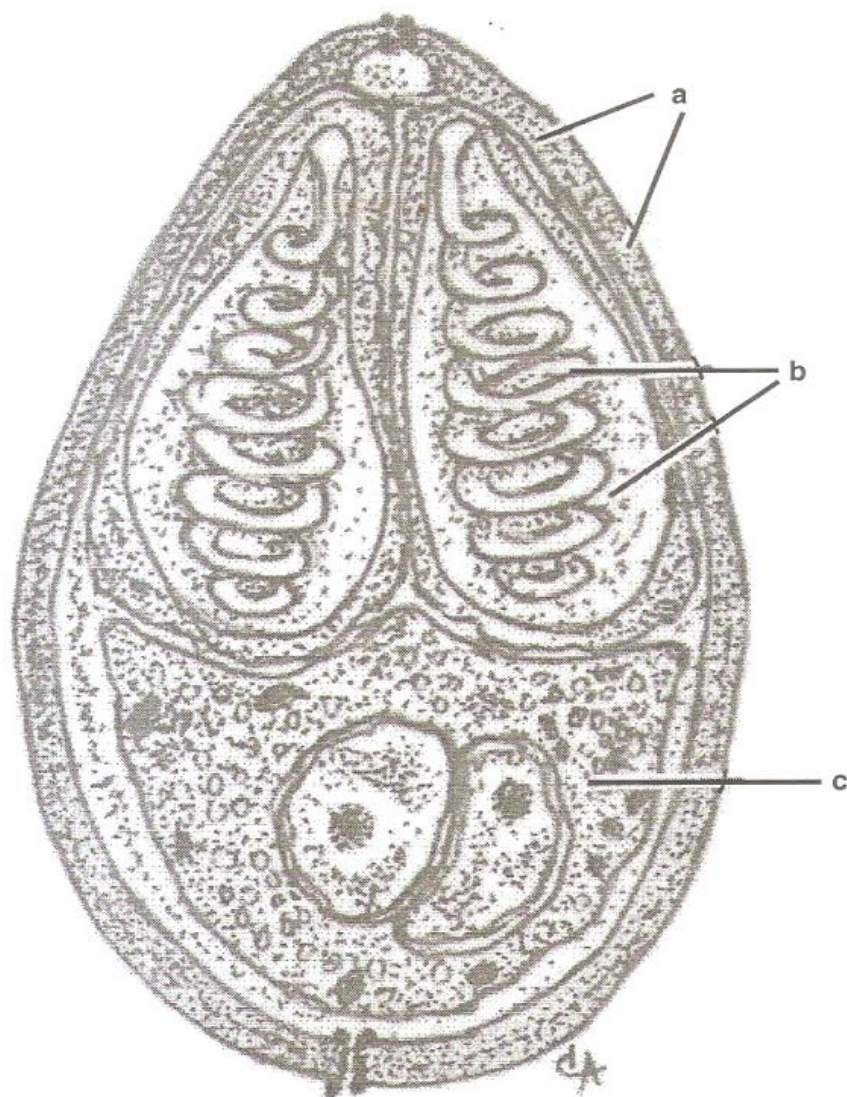


Figura 1 – Desenho esquemático de um esporo de um Mixosporídeo (filo Myxozoa) mostrando as valvas (a), as duas cistulas, cada uma contendo um tubo polar envolvido em hélice (b), e a célula esporoplásmica binucleada (c).

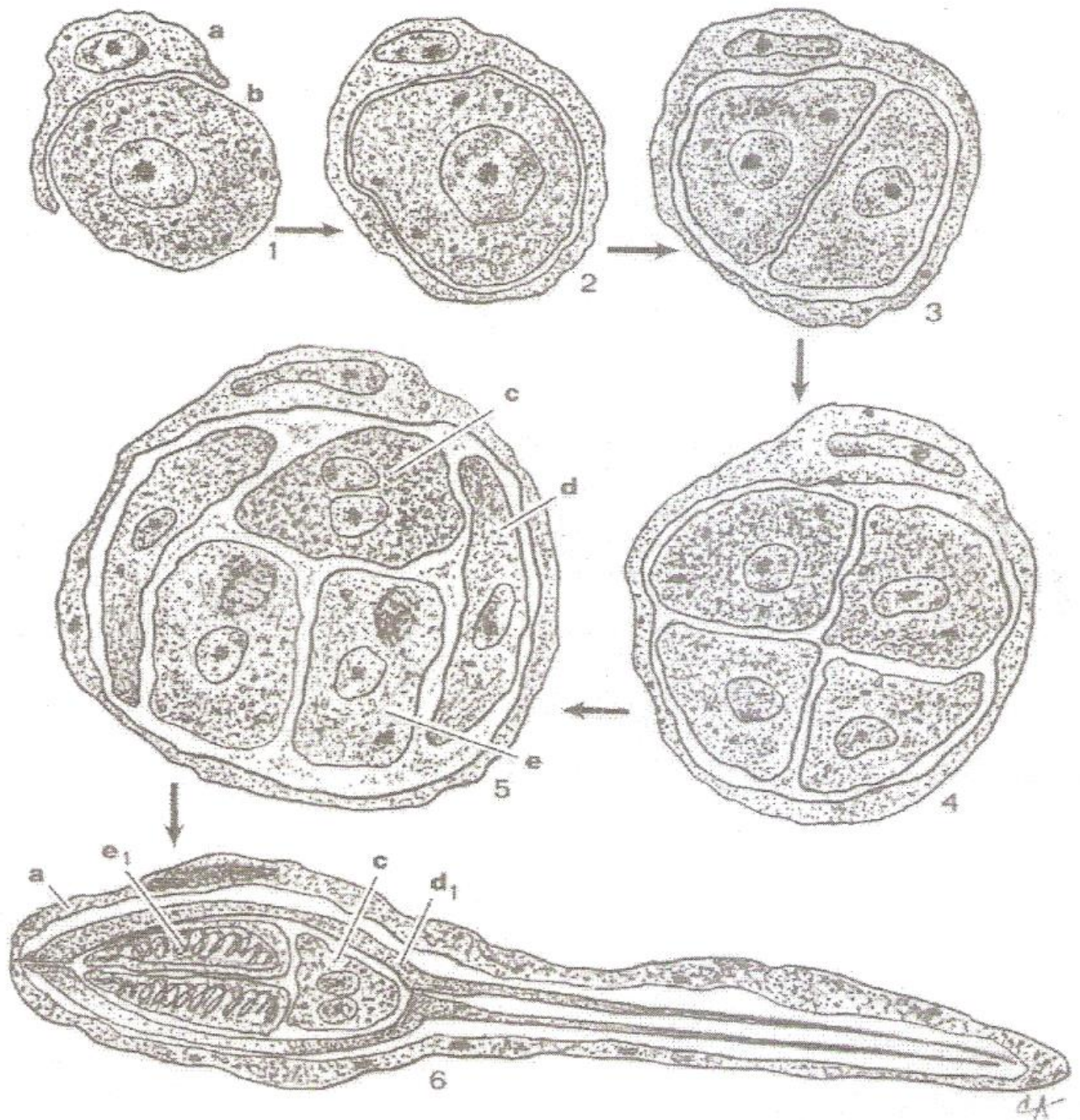
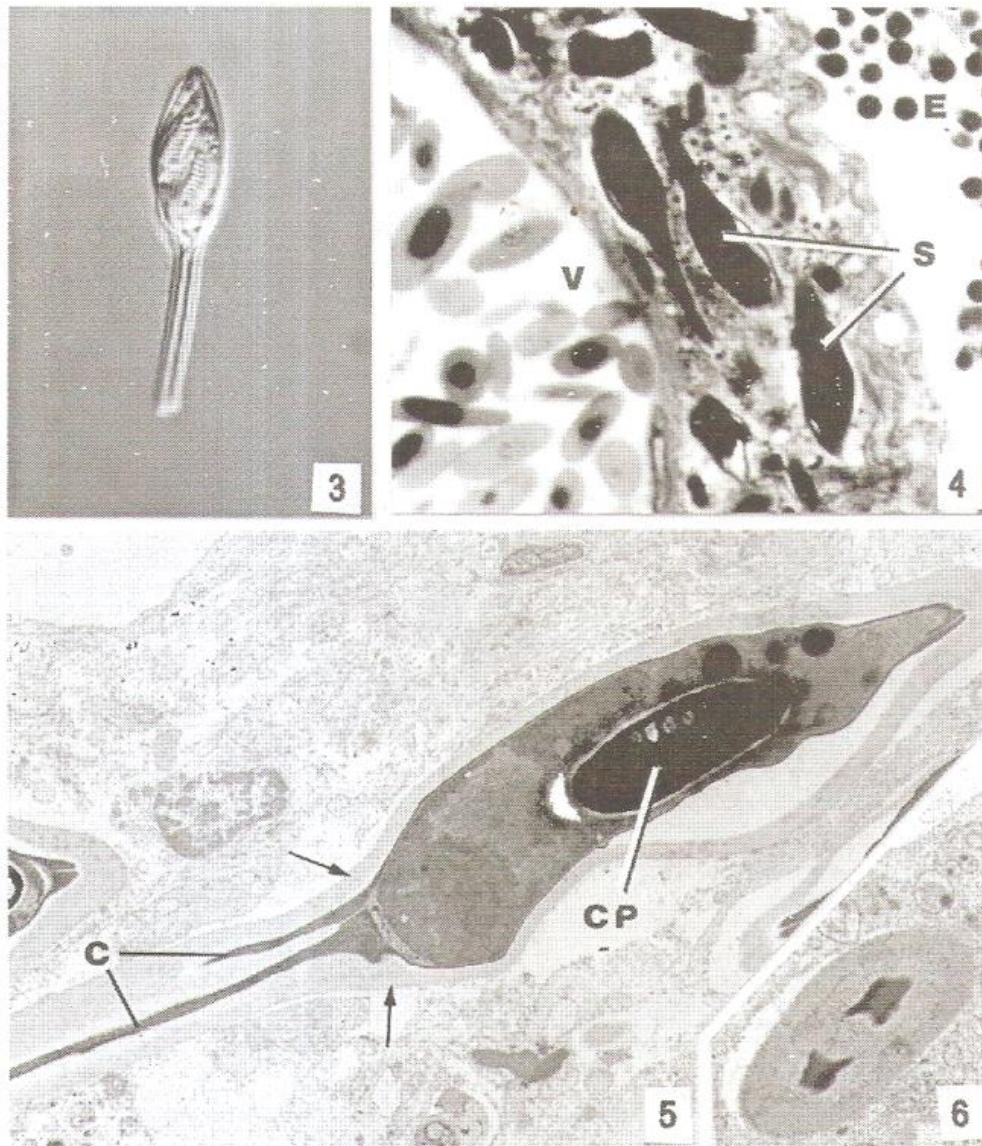


Figura 2 – Desenho semi-esquemático do ciclo de vida do gênero *Henneguya*.

- 1 Uma célula pericítica (pericito) (a) englobando uma célula germinativa (b).
- 2-4 A célula germinativa divide-se sincronicamente originando quatro células.
- 5 Destas quatro células, uma divide-se para originar as duas células valvôgenicas (d), enquanto que outra sofre apenas uma citocinese sem nucleocinese originando uma célula binucleada – a célula esporogênica (c). As outras duas células (d) sofrem uma diferenciação originando as células capsulogênicas (e)
- 6 Após a fase final da diferenciação e maturação, o esporo tem a morfologia descrita no texto (a - pericito, c - célula esporogênica, d₁ - valvas resultantes das células valvôgenicas (5d), e₁ - cápsulas remanescentes das células capsulogênicas (5e).



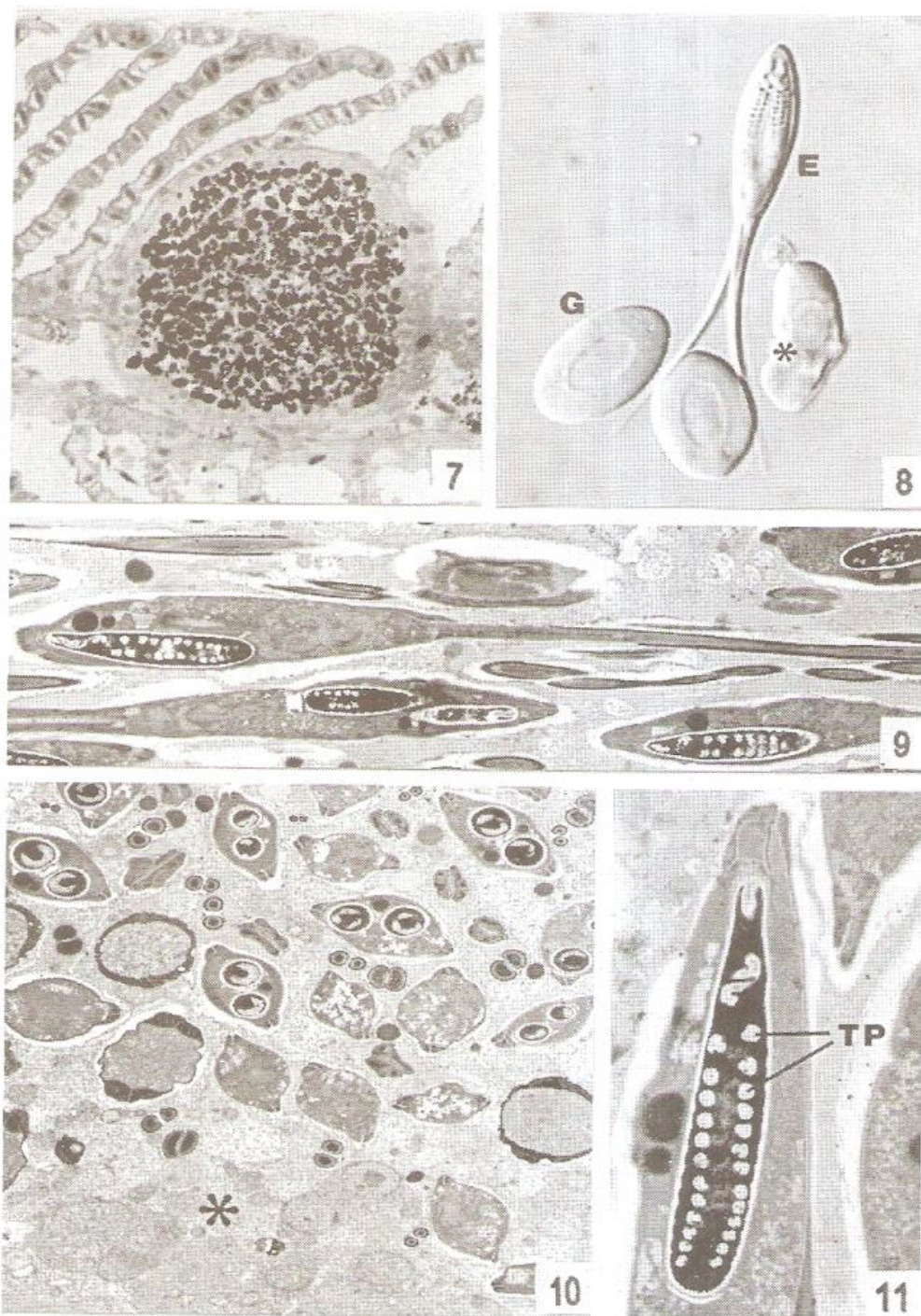
Figuras 3-6 – Aspectos de *Henneguya testicularis*.

Figura 3 – Esporo observado em DIC. X 1.525

Figura 4 – Corte semifino de testículo, mostrando alguns esporos (S) no estroma testicular entre um vaso sanguíneo (V) e na região com espermatozoides (E). X 1525

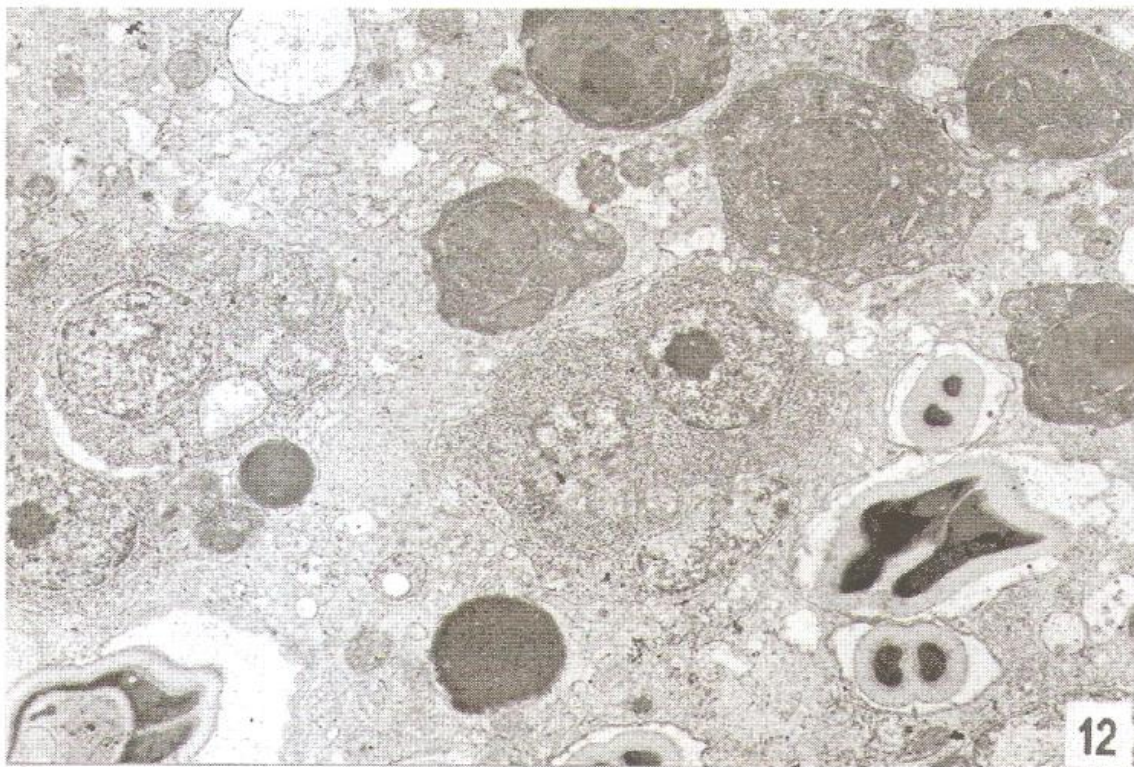
Figura 5 – Corte ultrafino longitudinal de um esporo mostrando uma cápsula polar (CP) e as caudas (C). Todo o esporo é revestido por uma massa homogênea de pouca densidade (setas). X 5.510.

Figura 6 – Pormenor ultra-estrutural das caudas de um esporo. X 12.100



Figuras 7-11 – Aspectos de *Hemeguya striolata*.

- Figura 7 – Corte semifino de um cisto branquial contendo numerosos esporos. X 635
Figura 8 – Esporo (E) observado em DIC, rodeado por 3 glóbulos vermelhos (G) num dos quais aparentemente em lise (*). X 1.525
Figura 9 – Corte ultrafino longitudinal de esporos, observados em várias secções. X 4.000
Figura 10 – Corte ultrafino da periferia de um cisto, mostrando as fases iniciais da esporogênese (*) e cortes transversais de esporos ao final do corpo esporal e das caudas. X 4.000
Figura 11 – Pormenor ultra-estrutural de uma das cápsulas do espora, mostrando as diferentes secções do tubo polar (TP). X 8.000

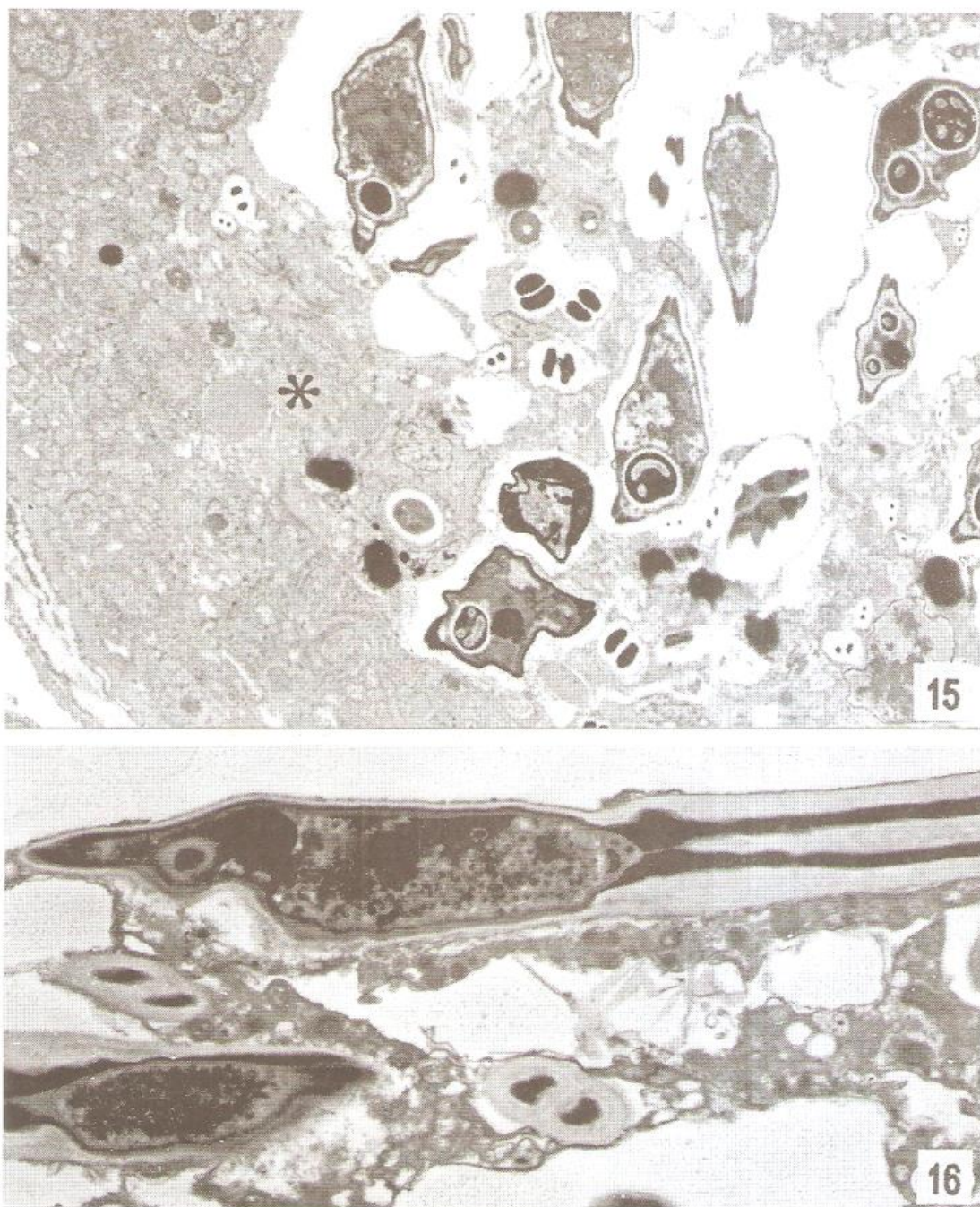


Figuras 12-14 – Aspectos de *Henneguya malabarica*.

Figura 12 – Aspecto ultra-estrutural do tecido hospedeiro, mostrando as diferentes fases do ciclo de vida. X 7.000

Figura 13 – Aspecto ultra-estrutural de esporos cortados em diferentes níveis. X 5.200

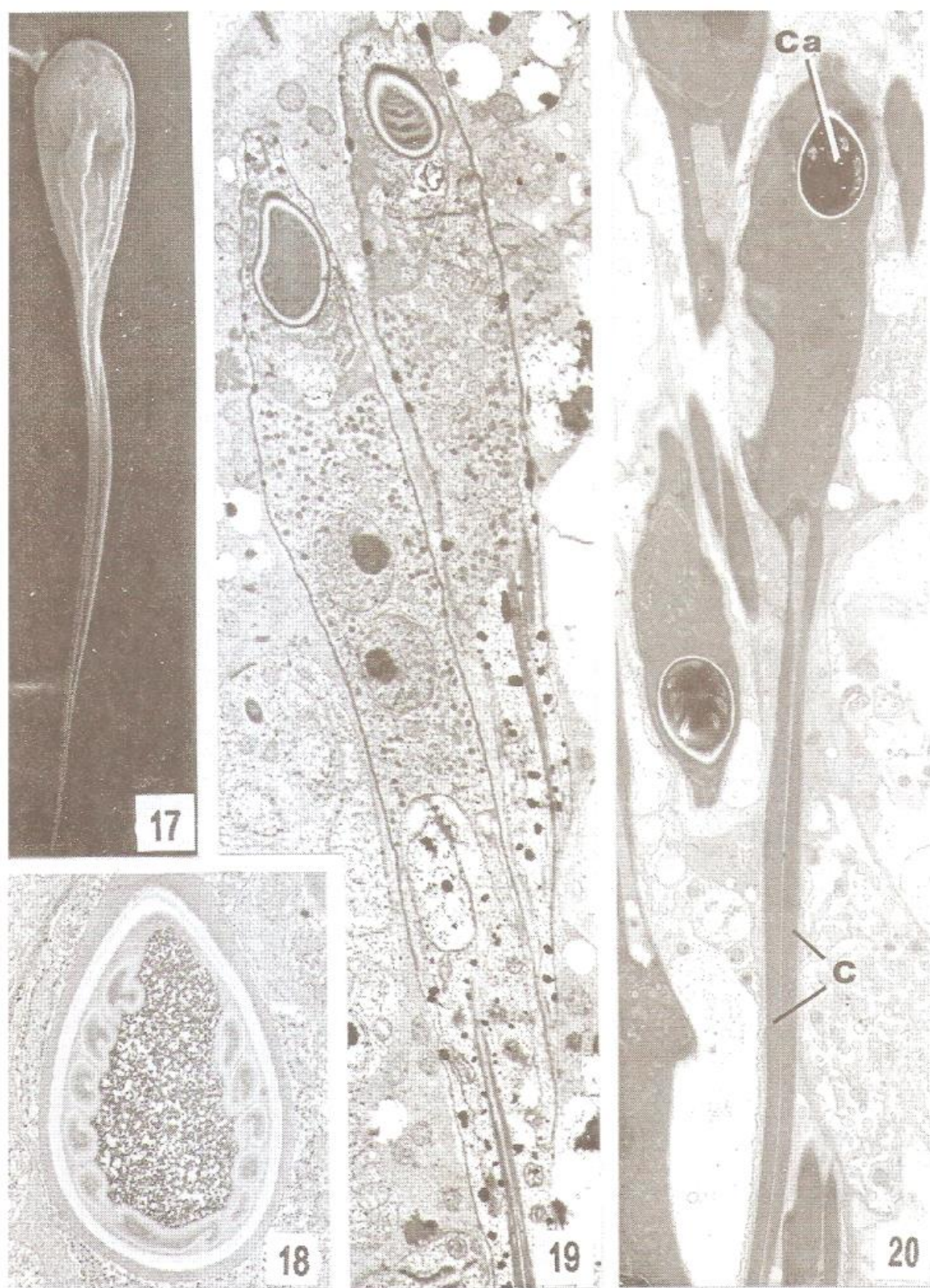
Figura 14 – Pormenor de um corte longitudinal da porção basal do esporo, mostrando a parede do esporo (P), as caudas (C) e o revestimento do esporo (setas). X 16.000



Figuras 15 e 16 – Aspectos de *Heneguya adherens*.

Figura 15 – Corte ultrafino da porção periférica de um cisto, mostrando as fases iniciais do ciclo de vida (*) e esporos maduros (E). X 4.250

Figura 16 – Pormenor ultra-estrutural de um esporo cortado longitudinalmente e um corte transversal das caudas. X 7.680



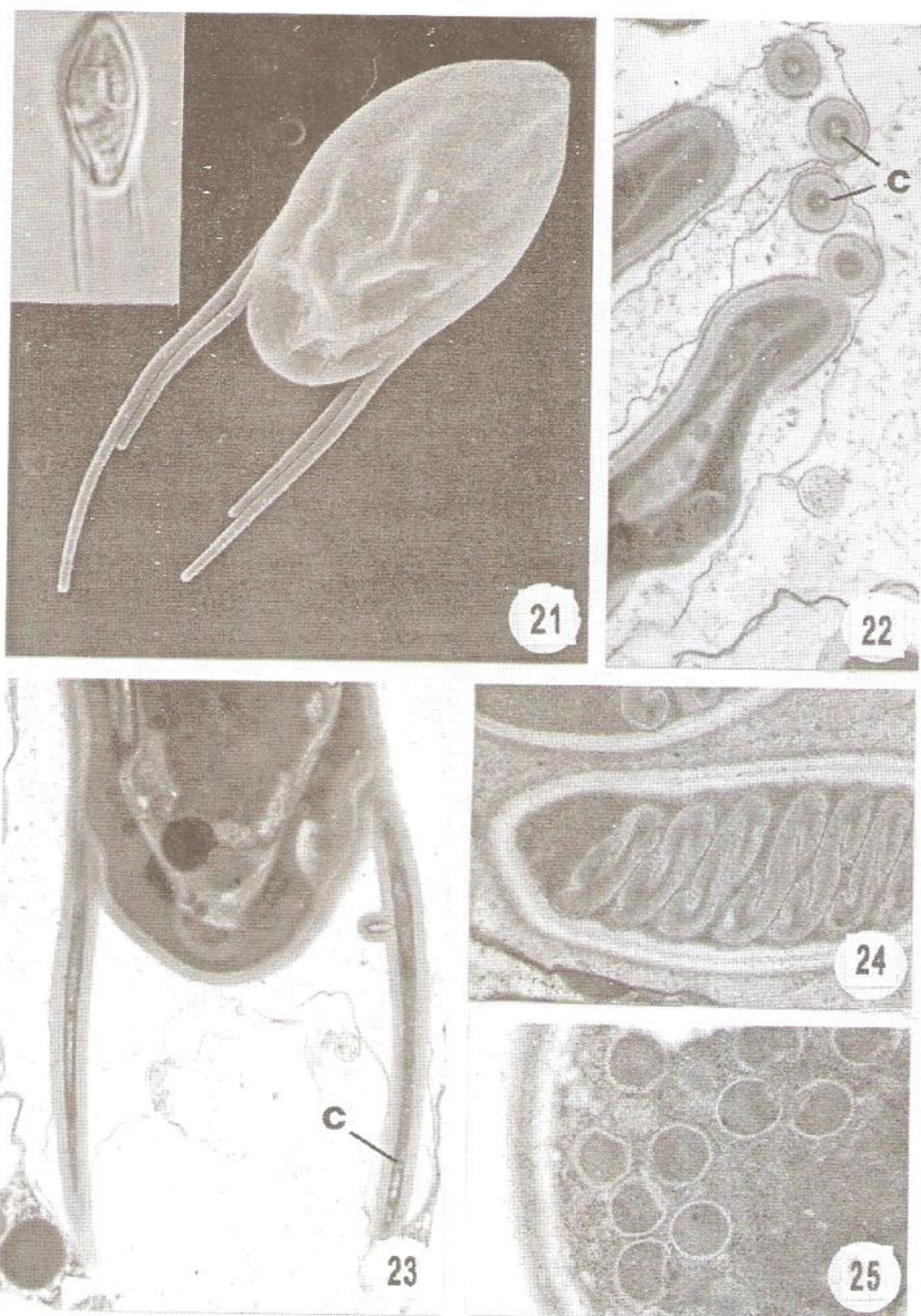
Figuras 17-20 – Aspectos de *Henneguya amazonica*.

Figura 17 – Esporo observado em SEM. X 5.250

Figura 18 – Pormenor ultra-estrutural de uma cápsula polar com as diferentes secções do filamento polar. X 17.150

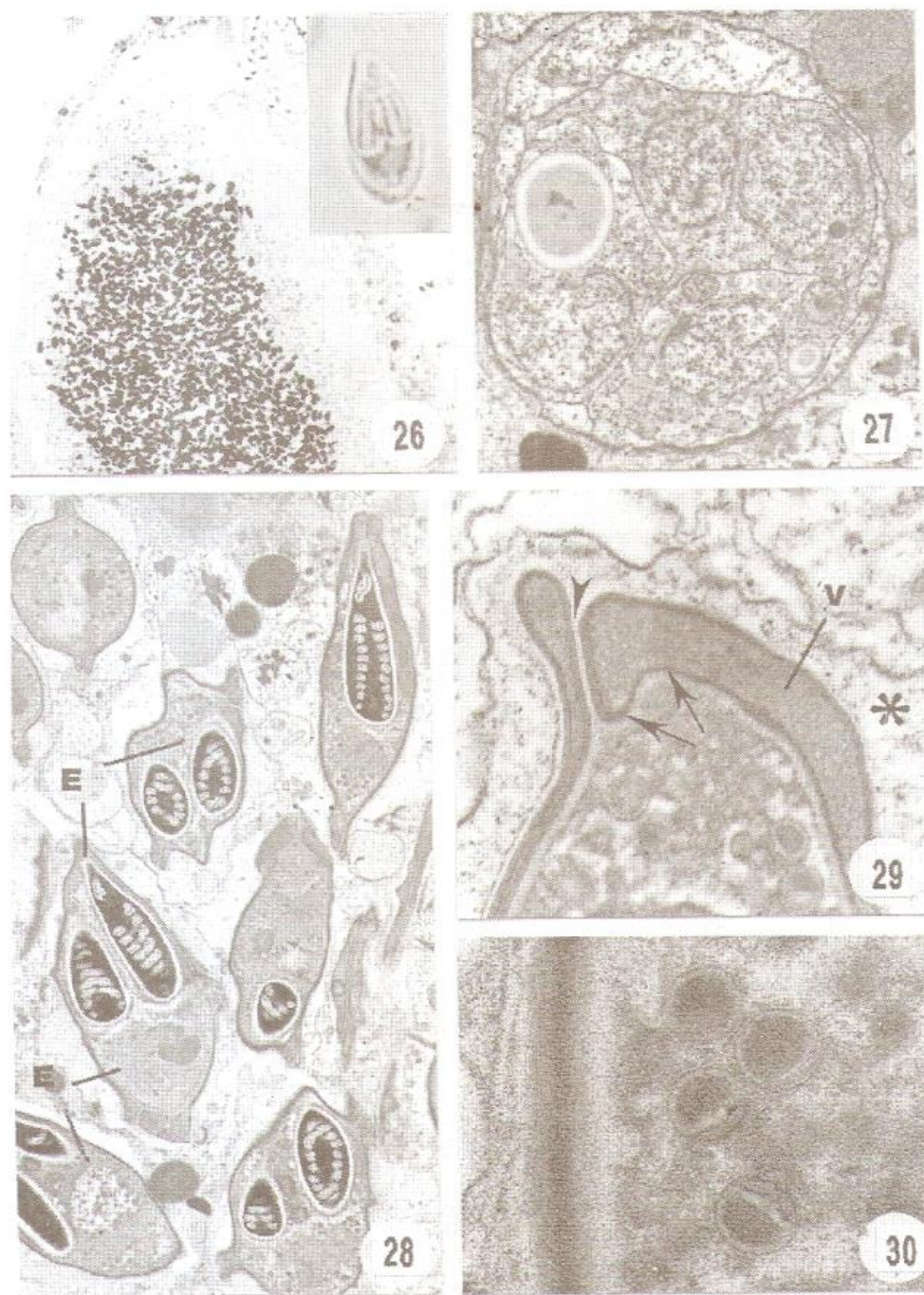
Figura 19 – Ultra-estrutura de dois esporos jovens cortados longitudinalmente, mostrando as cápsulas polares e o esporoplasma binucleado. X 5.800

Figura 20 – Corte longitudinal de um esporo maduro onde se evidencia uma cápsula (Ca) e as caudas (C). 5.800



Figuras 21-25 – Aspectos de *Tetraurionema desaequalis*.

- Figura 21 – Aspecto do esporo mostrando as 4 caudas observado em SEM. X 4270. No canto : aspecto observado em DIC. X 1.525
- Figura 22 – Cortes transversais do esporo, mostrando caudas (C). X 13.600
- Figura 23 – Aspecto ultra-estrutural de fase do esporo mostrando a continuidade da parede com as caudas (C). X 8.000
- Figura 24 – Corte longitudinal de uma cápsula polar mostrando o filamento polar enrolado em hélice. X 22.500
- Figura 25 – Pormenor ultra-estrutural dos esporoplasmossomas. X 32.000



Figuras 26-30 – Aspectos de *Myxobolus braziliensis*.

- Figura 26 – Corte semifino de um cisto com numerosos esporos. X 210. No canto : espora observado em DIC. X 2.000
Figura 27 – Aspecto ultra-estrutural de uma fase inicial da esporogênese. X 10.600
Figura 28 – Aspectos ultra-estruturais de esporos maduros (E) cortado em diferentes planos. X 5.600
Figura 29 – Pormenor ultra-estrutural das valvas (V) na região da sutura. A porção mais externa das valvas mostra-se mais densa (setas). X 40.000
Figura 30 – Pormenor ultra-estrutural dos esporoplasmosomas da célula esporoplásmica. X 80.000