



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA REGIÃO TOCANTINA DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

YAGO BRITO MARIANO

**MIXOSPORÍDEOS (CNIDÁRIA, MYXOZOA) EM *Boulengerella cuvieri* SPIX &
AGASSIZ, 1829 (BICUDA) NA BACIA DO RIO TOCANTINS DA CIDADE DE
IMPERATRIZ DO MARANHÃO, AMAZÔNIA ORIENTAL**

IMPERATRIZ
2022

YAGO BRITO MARIANO

MIXOSPORÍDEOS (CNIDÁRIA, MYXOZOA) EM *Boulengerella cuvieri* SPIX & AGASSIZ, 1829 (BICUDA) NA BACIA DO RIO TOCANTINS DA CIDADE DE IMPERATRIZ DO MARANHÃO, AMAZÔNIA ORIENTAL

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão, como requisito básico para a conclusão do Curso de Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Francisco da Silva.

FICHA CATALOGRÁFICA

M333m

Mariano, Yago Brito

Mixosporídeos (cnidária, myxozoa) em *Boulengerella cuvieri* Spix & Agassiz, 1829 (bicuda) na bacia do Rio Tocantins da cidade de Imperatriz do Maranhão, Amazônia oriental. / Yago Brito Mariano. – Imperatriz, MA, 2022.

32 f.; il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Medicina Veterinária) – Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão – UEMASUL, Imperatriz, MA, 2022.

1. Doenças dos peixes. 2. Mixosporídeos. 3. Morfologia e Histopatologia. 4. Imperatriz - MA. I. Título.

CDU 639.2.09:616-091.8(812.1)

Ficha elaborada pelo Bibliotecário: **Mateus de Araújo Souza CRB13/955**

MIXOSPORÍDEOS (CNIDÁRIA, MYXOZOA) EM *Boulengerella cuvieri* SPIX & AGASSIZ, 1829 (BICUDA) NA BACIA DO RIO TOCANTINS DA CIDADE DE IMPERATRIZ DO MARANHÃO, AMAZÔNIA ORIENTAL

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão, como requisito básico para a conclusão do Curso de Medicina Veterinária.

Data de aprovação: 19 / 08 / 2022

Banca Examinadora

Prof. Dr. Marcelo Francisco da Silva

Instituição: UEMASUL/CCENT

Julgamento: Aprovado

Prof. Me. Jociel Ferreira Costa.

Instituição: UEMASUL/CCENT

Julgamento: Aprovado

Prof. Me. Everton Sousa Ferreira

Instituição: UESC

Julgamento: Aprovado

DEDICATÓRIA

“Com gratidão, dedico este trabalho à Deus. Devo a Ele tudo o que sou. “A minha família. A minha namorada e amigos que tanto me ajudaram ao longo desta jornada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por estar cuidando de mim, concedendo-me saúde, força mental e física, paz e perseverança para terminar mais esta etapa da minha vida que é a monografia de conclusão do curso. Sem ele nada disso seria possível, agradeço-lhe eternamente.

Nesse segmento, agradeço o apoio de toda a minha família durante toda a jornada do curso, minha falecida vó Maria, minha tia Katia, meu padrinho Neto, minhas primas Kezia e Karuanny, meus primos Leonardo e Wilkesson, minha mãe Elizangela e meu pai Marcones. Em especial agradeço imensamente à minha irmã Leticia por me apoiar durante todo o curso, sem ela seria impossível me manter no curso de medicina veterinária, ao meu pai de coração Hermerson por me apoiar durante toda jornada da minha vida e por me ajudar na coleta dos peixes no Rio Tocantins. Todos têm meus agradecimentos eternos.

À minha namorada Wandila Santana pelo seu amor imensurável, por compreender minha dedicação à realização da monografia e por me apoiar em todos os momentos, e aos seus pais Wilma e Aldo por terem me ajudado grandemente – sem poupar esforços - durante toda essa jornada.

Agradeço, também, a todo corpo docente do curso de medicina veterinária pelos ensinamentos fundamentais para minha formação como profissional.

Deixo um agradecimento especial ao meu orientador Marcelo, pelo incentivo, paciência, dedicação e pelas valiosas contribuições dadas durante todo o processo. Sua orientação foi essencial para a realização desta monografia.

À acadêmica de medicina veterinária Luane por me ensinar a manejar os equipamentos do laboratório de limnologia da UEMASUL.

RESUMO

A classe Myxosporea, dentre os parasitos de peixes, acolhe um grupo variado de metazoários parasitas contendo cerca de 2300 agentes descritos. Os espécimes dos gêneros *Henneguya* e *Myxobolus* são organismos que mais se destacam nesta classe, uma vez que são agentes que mais afetam peixes tanto de ambientes dulcícolas quanto marinhos. Esses mixozoários são endoparasitas obrigatórios, eucariontes e formadores de esporos. No presente estudo foram realizadas coletas de exemplares de *Boulengerella cuvieri* (SPIX e AGASSIZ, 1829), na cidade de Imperatriz – MA, durante o período de janeiro a maio de 2022. As análises morfológicas evidenciaram os mixosporídeos dos gêneros *Henneguya* parasitando lamelas branquiais e bexiga urinária, e *Myxobolus* infectando bexiga urinária. Já análise histopatológica revelou uma compressão no tecido adjacente provocada pelos plasmódios desses esporos. O presente estudo tem como objetivo descrever os mixozoários parasitas de brânquias e bexiga urinária de *Boulengerella cuvieri*.

Palavras-chave: Myxozoa. *Henneguya*. *Myxobolus*, Morfologia. Análise histopatológica.

ABSTRACT

The Myxosporea class, among the fish parasites, hosts a varied group of metazoan parasites containing about 2300 described agents. Specimens of the genera *Henneguya* and *Myxobolus* are organisms that stand out in this class, since they are agents that most affect fish from both freshwater and marine environments. These myxozoans are obligate endoparasites, eukaryotes and spore formers. In the present study, samples of *Boulengerella cuvieri* (SPIX and AGASSIZ, 1829) were collected in the city of Imperatriz - MA, during the period from January to May 2022. The morphological analyzes showed the myxosporids of the *Henneguya* genera. parasitizing gill lamellae and urinary bladder, and *Myxobolus* infecting urinary bladder. Histopathological analysis revealed a compression in the adjacent tissue caused by the plasmodia of these spores. The present study aims to describe the myxozoan parasites of gills and urinary bladder of *Boulengerella cuvieri*

Keywords: Myxozoa. *Henneguya*. *Myxobolus*, Morphology. Histopathological analysis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Ciclo biológico dos mixosporídeos	16
Figura 2 - Desenho esquemático de um esporo maduro de <i>Henneguya</i> spp.....	18
Figura 3 - Desenho esquemático de um esporo maduro de <i>Myxobolus</i> spp	19
Figura 4 - Cisto de <i>Henneguya</i> spp. em tecido branquial de <i>Boulengerella cuvieri</i>	22
Figura 5 - Esporo de <i>Henneguya</i> spp. em tecido de bexiga urinária de <i>Boulengerella cuvieri</i>	23
Figura 6 - Foto de microscopia óptica de mixósporo de <i>Henneguya</i> spp. tirada após a compressão do tecido branquial fresco em lâmina e lamínula	23
Figura 7 - Corte histológico do cisto de <i>Myxobolus</i> sp. em tecido de bexiga urinária de <i>Boulengerella cuvieri</i>	25
Figura 8 - Foto de microscopia óptica de esporo de <i>Myxobolus</i> sp. tirada após a compressão do tecido de bexiga urinária fresco em lâmina e lamínula	26
Figura 9 - Corte histológico de mixósporo de <i>Myxobolus</i> sp. infectando bexiga urinária de <i>Boulengerella cuvieri</i>	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dimensões dos esporos de <i>Henneguya</i> spp. achados em tecido branquial de <i>Boulengerella cuvieri</i> . As medições são dadas em μm	24
Tabela 2 - Dimensões dos esporos de <i>Myxobolus</i> sp. achados em tecido de bexiga urinária de <i>Boulengerella cuvieri</i> . As medições são dadas em μm	27

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS	14
2.1. Objetivo geral.....	14
2.2. Objetivo específico	14
3. REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1. Ciclo biológico dos mixosporídeos	16
3.2. Gênero <i>Henneguya</i> spp.....	17
3.2.1. Taxonomia	17
3.2.2. Morfologia	18
3.3. Gênero <i>Myxobolus</i> spp.....	18
3.3.1. Taxonomia	19
3.3.2. Morfologia	19
4. MATERIAIS E MÉTODOS	20
4.1 Área de estudo	20
4.2. Coleta e caracterização de myxosporos	20
4.3. Análise histológica e morfometria de myxozoários	21
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
5. 1. Gênero <i>Henneguya</i> spp.....	21
5.2. Gênero <i>Myxobolus</i> spp.....	25
6. CONCLUSÕES.....	28
REFERÊNCIAS.....	29

1. INTRODUÇÃO

Os mixozoários são parasitas metazoários (multicelulares) do filo Cnidaria (JIMÉNEZ-GURI ET AL., 2007), com mais de 2.400 espécies descritas, que parasitam espécies de ambientes marinhos e dulcícolas (OKAMURA ET AL., 2015; DA SILVA, 2020). Esses parasitas intracelulares obrigatórios são caracterizados por utilizarem vertebrados (peixes) e invertebrados (anelídeos) como hospedeiros intermediários e definitivos, ao longo de seu ciclo de vida (LOM E DYKOVÁ, 2006; OKAMURA ET AL., 2015). Apesar de menos comuns, alguns mixozoários podem ser encontrados parasitando anfíbios, répteis, aves e mamíferos. Cabe ressaltar que esses parasitas infectam os peixes como mixósporos, que podem apresentar uma variedade de formas e tamanhos como, por exemplo, esporoplasma mono ou binucleado e capsulas polares de tamanhos desiguais (BITTENCOURT, 2020).

Nesse Contexto, a classe Myxosporea Bütschli, 1881, em especial os mixosporídeos, compõe um grupo de microparasitos eucariotos associados a peixes da região tropical sobre o qual existe o maior volume de conhecimento científico, elucidando as características morfológicas, a taxonomia e a filogenia, acumulado ao longo dos últimos anos (MATOS E AZEVEDO, 2004; MOREIRA ET AL., 2014; ADRIANO E OKAMURA, 2017; SILVA ET AL., 2020, 2021).

Contudo, alguns estudos, além de estarem restritos a algumas bacias hidrográficas das regiões Norte, Sudeste e Sul do Brasil, no geral são focados somente na caracterização morfológica de myxosporos e filogenia destes organismos (CASAL ET AL., 2002; NALDONI ET AL., 2018). Aspectos relativos à filogeografia de mixosporídeos são poucos abordados, o que gera uma lacuna de conhecimento importante, visto o papel ambiental destes organismos e seu potencial zoonótico pouco conhecido e estudado (YAHATA ET AL., 2015; YOKOYAMA E OGAWA, 2015).

Além disso, os mixosporídeos são responsáveis por causar a mixosporidiose, doença que causa altas taxas de mortalidade em peixes. Nesse sentido, essa patologia desempenha um importante papel na dinâmica da população de peixe, principalmente de ambiente de água doce, visto que é apontada como um dos fatores que deve ser considerado como regulador da população desse organismo aquático (HENNING ET AL., 2013; LOM E DYKOVÁ, 2006).

O presente estudo relata acerca de mixozoários parasitas de *Boulengerella cuvieri* (SPIX e AGASSIZ, 1829). Vale ressaltar que essa espécie de peixe é uma das 3.148 espécies de peixes de água doce descritas no Brasil (ICMBio 2018). Nesse segmento, o atual estudo descreve as

características morfológicas, os dados morfométricos e os dados histopatológicos de *Henneguya spp.* parasitando filamento branquial e bexiga urinária, e de *Myxobolus sp.* infectando bexiga urinária de *B. cuvieri*, popularmente chamada de Bicuda.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Apresentar dados morfológicos, morfométricos e histopatológicos dos parasitos dos gêneros *Henneguya* e *Myxobolus* encontrados na *Boulengerella cuvieri* (Bicuda), e contribuir no melhor conhecimento científico do estado sanitário do peixe.

2.2. Objetivo específico

- Descrever a morfologia desses parasitos através de análises histológicas e morfometria por meio de fotomicrografias obtidas pelas técnicas de microscopia.
- Descrever a taxonomia de mixosporídeos encontrados na *B. cuvieri* (Bicuda).
- Analisar a interação parasito-hospedeiro através de estudos histopatológicos dos tecidos infectados de *B. cuvieri* pelos mixosporídeos *Henneguya* e *Myxobolus*.
- Comparar os dados morfométricos obtidos com dos outros myxozoários descritos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

Nos últimos anos os estudos acerca dos parasitos de peixes vêm sendo intensificados, principalmente devido aos fatores de morbidade e mortalidade que esses agentes podem provocar, não somente em peixes de ambiente natural, mas também de explorações piscícolas (MILANIN, 2015; YAHATA ET AL., 2015; YOKOYAMA E OGAWA, 2015; MATOS E AZEVEDO, 2004; MOREIRA ET AL., 2014; ADRIANO E OKAMURA, 2017; SILVA ET AL., 2020, 2021; OKAMURA ET AL., 2015; DA SILVA, 2020). Nessa conjuntura, vale frisar que o estresse - devido à má qualidade da água, à superlotação e ao manejo inadequado (MARTINS ET AL., 2018) - do peixe é um fator que predispõe ao parasitismo (JUNIOR, 2014).

A classe Myxosporea, dentre os parasitos de peixes, acolhe um grupo variado de metazoários, como, por exemplo, de *Henneguya* e de *Myxobolus*, parasitas contendo cerca de 2300 agentes descritos (RODRIGUES, 2021). Além do mais, os gêneros dessa classe destacam-se entre os mais relevantes devido não somente ao surgimento de novas espécies, mas também pela ameaça significativa para o desenvolvimento dos peixes (CARRIERO, 2013; DYKOVÁ, 2006).

Nesse Sentido, Stil e Yanong (2017) ressaltaram que os parasitas myxozoários são microscópicos, pluricelulares (metazoários) e formadores de esporos podendo ser encontrados em invertebrados e em peixes de ambientes marinhos e dulcícolas. Desse modo, os mixosporídeos são achados em sua grande maioria nos órgãos dos peixes, como, por exemplo, bexiga natatória, bexiga urinária, vesícula biliar, brânquias e cérebro. Esses agentes podem ser achados intracelularmente e intercelularmente (histozóicos) como também poder ser encontrados nas cavidades dos órgãos (celozóicos). Entretanto, esses parasitos têm um elevado grau de tropismo, não só pelo hospedeiro, mas também pelos órgãos (JUNIOR, 2014). Além do mais, podemos citar que são utilizados para a diferenciação das espécies de mixosporídeos a válvula de concha, tamanho das cápsulas polares, largura das cápsulas polares, comprimento do esporo, largura do esporo e número de voltas dos tubos polares (MATOS et al., 2001).

Ademais, Carriero (2013) dissertou que dentre os mixosporídeos, os gêneros *Henneguya* spp. e *Myxobolus* spp. são os mais abundantes e têm uma variabilidade de espécies que contêm um plausível impacto em seus hospedeiros.

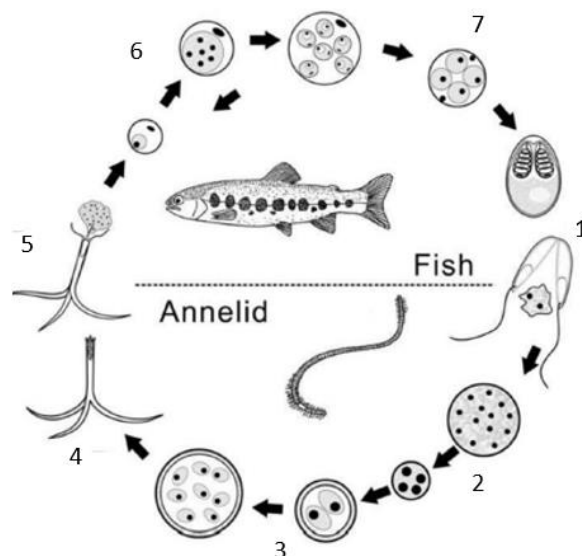
3.1. Ciclo biológico dos mixosporídeos

O ciclo biológico inclui um anelídeo (invertebrado) – que pode ser oligoqueta para espécies de água morna ou poliqueta para agentes marinhos – e um peixe (vertebrado). Nesse sentido, vale frisar que a fase esporogonia do mixósporo ocorre no peixe e as fases gametogonia e esporogonia do actinosporo acontece no anelídeo. Ademais, vale enfatizar que o primeiro ciclo biológico descrito foi o do *M. cerebralis* (YOKOYAMA; GRABNER; SHIRAKASHI, 2012).

Os anelídeos ingerem os mixósporos, estes liberam os filamentos polares para fixar o esporo ao epitélio intestinal, seguido pela abertura das válvulas da concha. Após isso, o agente se reproduz e se desenvolve no tecido intestinal produzindo comumente oito estágios de actinosporos no interior de um pansporocisto. Aqueles são dispensados de seus hospedeiros e ficam flutuando na água (YOKOYAMA; GRABNER; SHIRAKASHI, 2012).

Posto isso, quando o actinosporo entra em contato com pele ou brânquias do hospedeiro vertebrado (peixe), os esporoplasmas introduzem-se através do epitélio, onde ocorre o desenvolvimento do estágio mixosporiano (nesse estágio a célula secundária (filha) se desenvolve na célula primária (mãe). Ocorrendo a multiplicação dos estágios pré-progônicos e migração destes através do sistema nervoso ou circulatório e se desenvolvem em estágios esporogônicos. No término da contaminação, os parasitos geram esporos maduros dentro de plasmódios polispóricos (figura 1) (YOKOYAMA; GRABNER; SHIRAKASHI, 2012).

Figura 1 – Ciclo biológico dos mixosporídeos.



1: os filamentos polares do mixósporo são liberados, devido à abertura das válvulas da concha, para fixar o esporo à parede intestinal. 2: gametogonia. do actinosporo 3: esporogonia do actinosporo. 4: actinosporo maduro desenvolvido dentro de um pansporocisto, aquele é liberado na água. 5: liberação dos filamentos polares, quando o actinosporo entre em contato com a pele ou brânquias do peixe, para ancorar o esporo, isso facilita a invasão dos esporoplasmas no hospedeiro vertebrado. 6: multiplicação pré-porogônica. 7: esporogonia da fase mixosporiana.

Fonte: YOKOYAMA; GRABNER; SHIRAKASHI, 2012.

3.2. Gênero *Henneguya* spp

Esse gênero contém cerca de 44 espécies conhecidas na América do Sul e é o que está em maior número nesse continente (VIDAL e LUQUE, 2017). Todavia, acredita-se que esse número já esteja ultrapassado, devido ao surgimento de novas espécies. Além disso, vale ressaltar que esses agentes são comuns em águas doces.

As espécies desse gênero são normalmente encontradas em brânquias, mas podem ser detectadas em bexiga urinária, rim, vesícula biliar, intestino e ovário. Nesse sentido, destaca-se que o parasitismo em brânquias danifica o tecido branquial causando uma fratura e remodelação da cartilagem, que podem ser observados macroscopicamente. Ademais, os peixes acometidos comumente estão em dificuldade respiratória e os mais jovens são os mais afetados (STIL e YANONG, 2017).

3.2.1. Taxonomia

Segundo Rodrigues (2021):

Reino: Metazoa

Filo: Cnidaria

Subfilo: Myxozoa

Classe: Myxosporea

Ordem: Bivalvulida

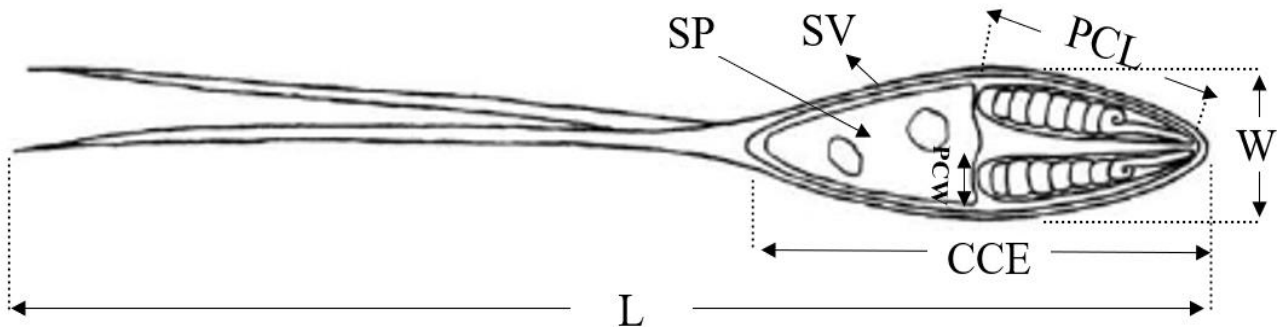
Família: Myxobolidae

Gênero: *Henneguya*

3.2.2. Morfologia

As características morfológicas são: corpo do esporo em forma elipsoide (oval) com duas válvulas de concha as quais se afinam em duas caudas, normalmente, estas são mais longas que o corpo. A porção anterior do esporo exibe duas cápsulas polares alongadas e paralelas contendo filamentos polares. Já o compartimento posterior (próximo as caudas) tem um vacúolo e dois núcleos (figura 2). Além do mais, os cistos (plasmódios) são alongados e brancos e geralmente são encontrados nos filamentos branquiais. Por fim, vale frisar que as medições desse parasito variam de espécie para espécie (RODRIGUES, 2021; STIL e YANONG, 2017; EIRAS, 2002).

Figura 2 – Desenho esquemático de um esporo maduro de *Henneguya* spp.



W: largura do esporo. **L:** comprimento do esporo. **CCE:** comprimento do corpo do esporo. **PCL:** comprimento da cápsula polar. **PCW:** largura da cápsula polar. **SV:** válvula de concha. **SP:** esporoplasma.

Fonte: Adaptado de CARRIERO, 2013.

3.3. Gênero *Myxobolus* spp

Há cerca de 31 espécies de *Myxobolus* descritas infectando peixes no Brasil, entretanto esse número já deve estar ultrapassado devido ao aparecimento de novas espécies (AZEVEDO et al., 2014). Ademais, cabe dissertar que esse gênero tem aproximadamente um total de 850 espécies descritas (ABDEL-GHAFFAR ET AL., 2017). Nesse interim, vale dizer que esse gênero é um dos grandes grupos de mixosporídeos e suas espécies são patógenos importantes de peixes de água doce (AZEVEDO et al., 2014).

Esses mixosporídeos contêm uma fase de vida vegetativa, os quais são detectados nas cavidades corporais, órgãos vitais, tecido intracelulares e extracelulares, provocando inflamação devido ao desenvolvimento dos cistos, tendo como resultado efeitos deletérios teciduais nos

peixes. Exemplo disso, são os danos provocados pelo *M. cerebralis*, devido à “doença do rodopio” ou a “doença da cauda negra”, que são identificados distúrbios natatórios com aspectos em forma de círculos. Além disso, esses parasitas desempenham pressão sobre os nervos caudais deixando a cauda enegrecida, enquanto estão alojados na cartilagem da coluna vertebral (DE ARAÚJO et al., 2017).

3.3.1. Taxonomia

Segundo Rodrigues (2021), a taxonomia é a seguinte:

Filo: Cnidaria

Subfilo: Myxozoa

Classe: Myxosporea

Ordem: Bivalvulida

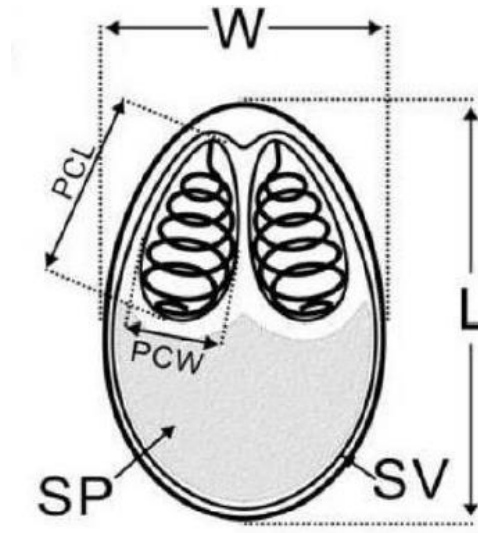
Família: Myxobolidae

Gênero: *Myxobolus*

3.3.2. Morfologia

As características morfológicas desses microparasitas são: esporos maduros elipsoides, ovais e arredondados, possuindo plasmódios pequenos, redondo e alongados; cápsulas polares piriforme e de iguais tamanho (no entanto, há relatos de cápsulas polares de tamanho desiguais); esporos lisos; válvulas simétricas e protoplasma mono ou binucleado (figura 3) (MATOS et al., 2014; RODRIGUES, 2021).

Figura 3 – Desenho esquemático de um espora maduro de *Myxobolus* sp.



W: largura do esporo. **L:** comprimento do esporo. **PCL:** comprimento da cápsula polar. **PCW:** largura da cápsula polar. **SV:** válvula de concha. **SP:** esporoplasma.

Fonte: YOKOYAMA; GRABNER; SHIRAKASHI, 2012.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Área de estudo

Os exemplares de *Boulengerella cuvieri* (SPIX e AGASSIZ, 1829) analisados foram obtidos via pesca manual com linha de mão, redes de espera e tarrafa no trecho urbano do Rio Tocantins na cidade de Imperatriz no estado do Maranhão, Brasil (5,527310° S, 47,495523° W), durante o período de janeiro a maio de 2022.

A coleta seguiu as recomendações aprovadas na Autorização para atividades com Finalidade de Pesquisa n° 77709-1 – SISBIO-IBAMA e os protocolos laboratoriais foram avaliados e aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA/UEMASUL, protocolo n° 6186201221.

4.2. Coleta e caracterização de myxosporos

No total de 8 espécimes de *Boulengerella cuvieri* (Bicuda) foram coletados, mantidos vivos e transportados até o Laboratório de Ecologia e Limnologia da Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão – LEL/UEMASUL, onde foram mantidos em aquários com água do habitat natural, em temperatura entre 24 e 26 °C sob aeração, até o momento das análises. Os

exemplares foram identificados, pesados e medidos para a estimativa do Fator de Condição (FC). Posteriormente, toda a superfície corpórea externa e os órgãos internos foram examinados através de microscópio estereoscópico, para verificar a existência de lesões ou cistos de microparasitos (SILVA ET AL., 2019).

Fragments de tecidos com características sugestivas de estarem parasitados foram prensados entre lâmina e lamínula para exame a fresco sob microscopia óptica. Confirmada a ocorrência de microparasitas, fragmentos de tecidos foram fixados com solução de Davidson (álcool 95%, formaldeído, ácido acético e água) para estudos histológicos e em etanol a 80% para a realização de estudos de biologia molecular (SILVA ET AL., 2019).

4.3. Análise histológica e morfometria de myxozoários

Foram obtidas fotomicrografias pelas técnicas de microscopia de campo claro e por Contraste Diferencial Interferencial - DIC do material a fresco, sendo estas utilizadas para a realização da caracterização morfométrica dos parasitos. Além do mais, foi utilizado o software ZEN (blue edition) para analisar os parâmetros morfométricos como comprimento e largura do esporo, comprimento e largura da cápsula polar (SILVA ET AL., 2019).

Fragments de tecido fixados para histologia foram desidratados e incluídos em parafina para a confecção de cortes com 6 µm de espessura, que foram corados pelas técnicas de hematoxilina e eosina (H & E) e Ziehl-Neelsen para evidenciação de estruturas parasitárias (SILVA ET AL., 2019).

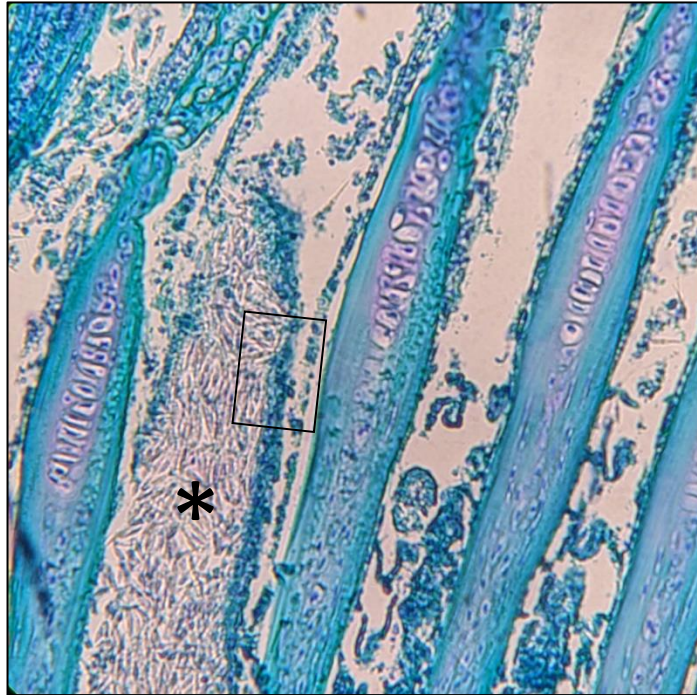
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5. 1. Gênero *Henneguya* spp

Os espécimes de *Henneguya* examinadas foram encontradas em filamentos branquiais de todos os peixes coletados, representando 100% de prevalência, mas somente um dos oitos exemplares de peixes tinha esse mixósporo infectando a bexiga urinária, 12,5% de prevalência. Esses locais de parasitismo estão, de acordo com o estudo de Stil e Yanong (2017), entre os sítios de ocorrência destes parasitos, visto que esses mixosporídeos podem afetar órgãos como, por exemplo, bexiga urinária, brânquias, rim, vesicular biliar, intestino e ovário.

A análise histopatológica mostrou uma deformação e compressão das lamelas branquiais, devido ao desenvolvimento dos plasmódios. Além disso, foi observado a presença de uma cápsula formada por tecido conjuntivo circundando o plasmódio (figura 4).

Figura 4 – Cisto de *Henneguya* spp. em tecido branquial de *Boulengerella cuvieri*.



O símbolo * está situado no meio do cisto. Observa-se uma cápsula formada por tecido conjuntivo circundando o cisto.

Fonte: Arquivo pessoal.

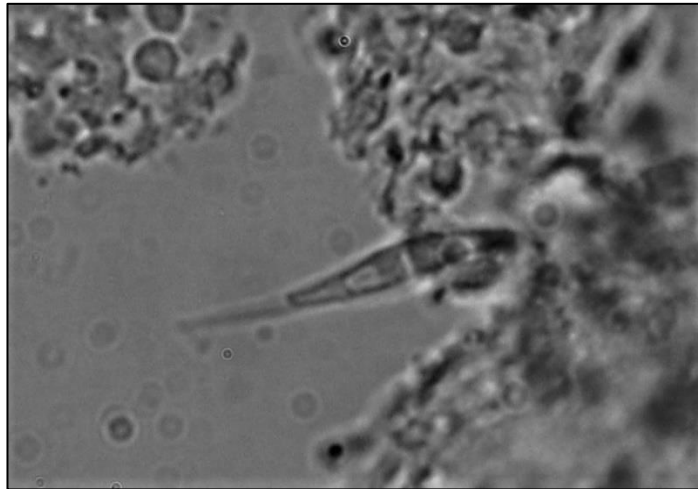
O cisto desse myxozoário provoca hemorragias severas e focos inflamatórios no epitélio branquial, além de causar lesões como compressão de capilares que resulta em edemas nas lamelas primária e secundária. Em estágio mais avançado, o cisto dilata as lamelas tendo como consequência a diminuição da eficiência respiratória. Essa ocorrência tem efeito direto no comportamento do hospedeiro vertebrado, o qual fica mais tempo na margem do rio ou agrupado, apresenta uma baixa atividade alimentar, atividade de nado fica irregular, manifesta perda de equilíbrio, podendo chegar à óbito (Martins et al. 1999).

Vale ressaltar que o tamanho dos cistos encontrados nos filamentos branquiais apresentava tamanhos variados e coloração branca. Em relação ao tamanho desigual dos cistos, Molnár et al.

(1998) dissertaram que isso pode estar relacionado a espécies diferentes de *Henneguya* ou pode ser uma reinfecção subsequente.

Como já citado anteriormente, no exame histopatológico foi identificado um *Henneguya* parasitando bexiga urinária (figura 5). Nesse contexto, nota-se que quase não há relatos acerca da infecção desse parasito em bexiga urinária.

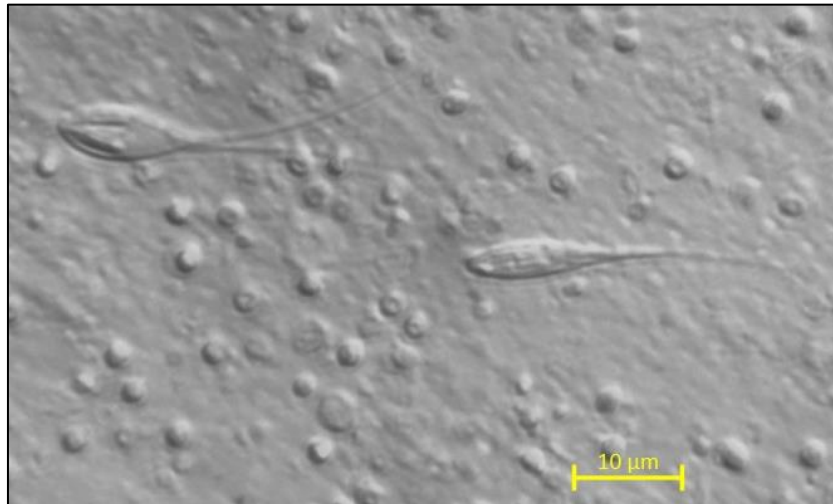
Figura 5 – Esporo de *Henneguya* spp. em tecido de bexiga urinária de *Boulengerella cuvieri*.



Fonte: Arquivo pessoal.

A análise microscópica dos tecidos parasitados revelou esporos alongados e elipsoidais na vista frontal e biconvexos na vista lateral, com uma borda protuberante circundando os esporos no ponto de junção da válvula de concha a qual se alonga e forma uma cauda bifurcada na extremidade. As cápsulas polares eram compridas, de igual tamanho e ocupavam a metade anterior do corpo dos esporos (figura 6). Ferguson et al. (2008) relataram que a morfologia é o principal mecanismo para a caracterização e identificação dos mixosporídeos.

Figura 6 – Foto de microscopia óptica de mixósporo de *Henneguya* spp. tirada após a compressão do tecido branquial fresco em lâmina e lamínula.



Fonte: Arquivo pessoal.

Foi efetuado a morfometria de quatro esporos (tabela 1), avaliando o comprimento total, largura, comprimento da cápsula polar, largura da cápsula polar e comprimento do corpo.

Tabela 1 - Dimensões dos esporos de *Henneguya* spp. achados em tecido branquial de *Boulengerella cuvieri*. As medições são dadas em μm .

<i>Henneguyas</i> em brânquias	Comprimento total do esporo	Largura do esporo	Comprimento da cápsula polar	Largura da cápsula polar	Comprimento do corpo do esporo
<i>Henneguya</i> 1	41,127 μm	3,513 μm	7,934 μm	1,197 μm	14,970 μm
<i>Henneguya</i> 2	31,467 μm	4,796 μm	5,914 μm	2,344 μm	11,411 μm
<i>Henneguya</i> 3	28,653 μm	3,125 μm	6,309 μm	1,233 μm	11,956 μm
<i>Henneguya</i> 4	19,769 μm	3,883 μm	5,686 μm	1,361 μm	10,644 μm

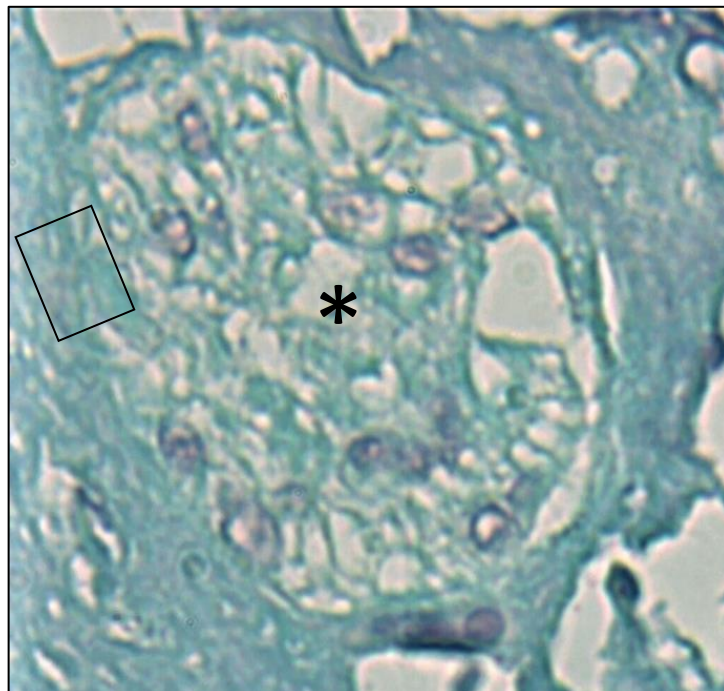
As medições morfológicas foram divergentes em comparação com a nova espécie de *Henneguya*, denominada de *Henneguya pindaibensis*, descrita por Úngari et al. (2021), parasitando lamelas branquiais de *B. cuvieri* (Spix and Agassiz, 1829), as medições desse parasito foram as seguintes: comprimento total 36,1 μm , comprimento do corpo 12,8 μm , largura do corpo 4,9 μm , comprimento das cápsulas polares 7,2 μm , largura da cápsula polar 3,9 μm .

5.2. Gênero *Myxobolus* spp

Dois espécimes, entre os oitos coletados, de *B. cuvieri* (bicuda) continham a bexiga urinária parasitada por plasmódios de *Myxobolus*, 25% de prevalência. O estudo relatado por Adriano et al. (2009) teve um resultado semelhante em relação ao tropismo por tecido, ele salientou que os cistos desse mixósporo podem ser encontrados infectando arco branquial, pele, serosa da cavidade corporal, bexiga urinária e olho, e que o mesmo parasito pode infectar vários outros órgãos.

A microscopia de luz revelou a presença de cistos brancos e arredondados. Nos cortes histológicos foram identificadas deformações e compressão do tecido da bexiga urinária provocada pelo desenvolvimento dos plasmódios, sendo possível observar o estiramento do epitélio (figura 7). Adriano et al. (2009) dissertou que essas características podem indicar um parasita com forte potencial de lesão e disseminação.

Figura 7 – Corte histológico do cisto de *Myxobolus* sp. em tecido de bexiga urinária de *Boulengerella cuvieri*.



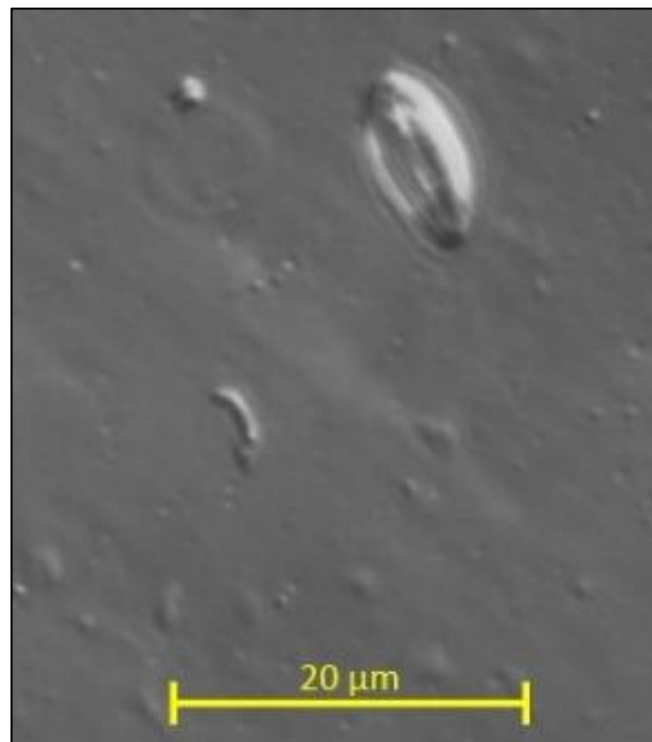
O símbolo * está situado no meio do cisto. Nota-se um espessamento do epitélio da bexiga urinária. Os esporos são identificados através da coloração meio roxa das cápsulas polares.

Fonte: Arquivo pessoal.

Matos et al. (2014) ressaltou que as diferenças entre as espécies do gênero *Myxobolus* são baseadas principalmente na estrutura morfológica do esporo, e em especial seu tamanho e forma. Para mais, as propriedades morfológicas como forma dos plasmódios, número de voltas de filamentos polares e sítio de infecção, também, são importantes para distinção desses parasitos (EIRAS; MOLNÁR; LU, 2005).

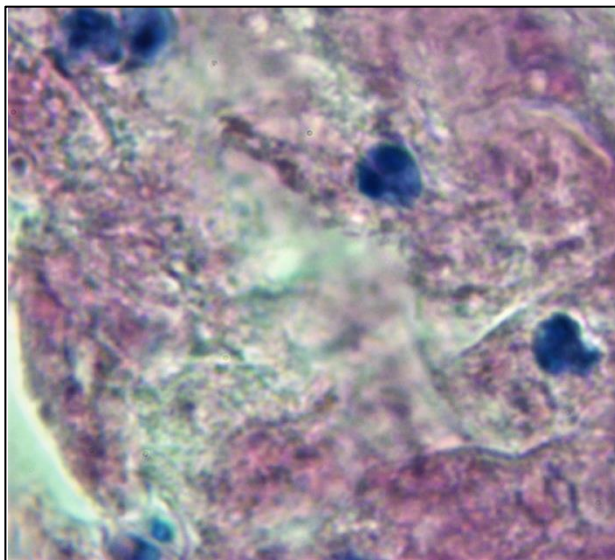
Os esporos observados no presente estudo eram morfológicamente elipsoides em vista frontal, válvulas de concha simétricas e convexas em vista lateral, contendo cápsulas polares alongadas e de tamanho igual que ocupavam a metade do corpo do esporo, mas em alguns as cápsulas polares ocupavam quase totalmente o corpo (figura 8 e 9).

Figura 8 – Foto de microscopia óptica de esporo de *Myxobolus* sp. tirada após a compressão do tecido de bexiga urinária fresco em lâmina e lamínula.



Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 9 – Corte histológico de mixósporo de *Myxobolus* sp. infectando bexiga urinária de *Boulengerella cuvieri*.



Fonte: Arquivo pessoal.

Os dados morfométricos foram tirados de quatro esporos maduros, avaliou-se o comprimento total, largura, comprimento da cápsula polar e a largura da cápsula polar (tabela 2).

Tabela 2 - Dimensões dos esporos de *Myxobolus* sp. achados em tecido de bexiga urinária de *Boulengerella cuvieri*. As medições são dadas em μm .

<i>Myxobolus</i> em bexiga urinária	Comprimento total do espora	Largura do espora	Comprimento da cápsula polar	Largura da cápsula polar
<i>Myxobolus</i> 1	10,548 μm	4,294 μm	5,676 μm	1,652 μm
<i>Myxobolus</i> 2	10,781 μm	4,550 μm	6,437 μm	2,254 μm
<i>Myxobolus</i> 3	7,556 μm	5,044 μm	5,519 μm	2,281 μm
<i>Myxobolus</i> 4	10,900 μm	5,495 μm	8,436 μm	2,599 μm

As medições morfológicas do *Myxobolus* 1 da tabela 2 tiveram uma breve semelhança com as dimensões, descritas por Adriano et al. (2009), do *Myxobolus cordeiroi* infectando a bexiga urinária do bagre jaú (*Zungaro jahu*). Esse espora apresentou comprimento total de 11,2 μm , largura de 7,3 μm , comprimento da cápsula polar de 5,4 μm e largura da cápsula polar de 1,5 μm .

6. CONCLUSÕES

A partir dos achados descritos no presente estudo, foi possível caracterizar a infecção dos filamentos branquiais e da bexiga urinária de *Boulengerella cuvieri* (SPIX e AGASSIZ, 1829) provocada pelos mixosporídeos dos gêneros *Henneguya* spp. e *Myxobolus* sp. Nesse contexto, vale ressaltar que este é o primeiro relato abordando a ocorrência destes mixozoários parasitos em *B. cuvieri* no médio curso da bacia do rio Tocantins da cidade de Imperatriz do Maranhão.

Nesse sentido, os padrões morfométricos observados nos esporos de *Henneguya* spp. e de *Myxobolus* sp. do presente estudo, quanto ao comprimento do espora, largura total do espora e tamanho da cápsula polar, foram divergentes em relação aos estudos que relatam infecção por *Henneguya* spp. nas brânquias e de *Myxobolus* sp. em bexiga urinária, salvo este último que teve um *Myxobolus* sp. com os dados morfológicos semelhantes a uma espécie já descrita, também, parasitando bexiga urinária.

Ainda nessa conjuntura, os dados histopatológicos mostraram que os cistos destes mixozoários provocaram graves lesões no tecido dos filamentos branquiais e da bexiga urinária, isso destaca o elevado grau de infecção e disseminação desses esporos.

Portanto, devido a esses registros de *Henneguya* spp. e de *Myxobolus* sp. em *B. cuvieri* e as características apresentadas por estes parasitos, a continuação deste trabalho abordando características moleculares e ultraestruturais é de fundamental importância para determinação e classificação das espécies destes gêneros de parasitos. Além disso, vale frisar que estudo contribui para o entendimento da biodiversidade da região e, em particular, da bacia do rio Tocantins.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-GHAFFAR F, ABDEL-GABER R, MAHER S, EL DEEB N, KAMEL R, AL QURAI SHY S, ET AL. Morphological and ultrastructural characteristics of *Myxobolus ridibundae* n. sp. (Myxosporaea: Bivalvulida) infecting the testicular tissue of the marsh frog *Ranaridibunda* (Amphibia: Ranidae) in Egypt. *Parasitol Res* 2017; 116(1): 133-141. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-016-5269-x>. PMID:27757539.
- ADRIANO, Edson Aparecido et al. *Myxobolus cordeiroi* n. sp., a parasite of Zungaro jahu (Siluriformes: Pimelodiade) from Brazilian Pantanal: morphology, phylogeny and histopathology. **Veterinary Parasitology**, v. 162, n. 3-4, p. 221-229, 2009.
- ADRIANO EA, OKAMURA.B. Motility, morphology and phylogeny of the plasmodial worm, *Ceratomyxa vermiformis* n. sp. (Cnidaria: Myxozoa: Myxosporaea). **Parasitology** **144** (2): 158-168, 2017.
- AZEVEDO, Rodney Kozlowiski et al. Phylogeny, ultrastructure and histopathology of *Myxobolus lomi* sp. nov., a parasite of *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) (Characiformes: Prochilodontidae) from the Peixes River, São Paulo State, Brazil. **Parasitology international**, v. 63, n. 2, p. 303-307, 2014.
- BITTENCOURT, Luana Silva et al. *Sphaerospora festivus* n. sp., a parasite of the flag cichlid, *Mesonauta festivus* (Teleostei: Cichlidae) from eastern Amazon, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 30, 2021.
- CARRIERO, Mateus Maldonado et al. Molecular phylogeny of the *Myxobolus* and *Henneguya* genera with several new South American species. **PLoS One**, v. 8, n. 9, p. e73713, 2013.
- CASAL G, MATOS E, AZEVEDO C. Ultrastructural data on the spore of *Myxobolus maculatus* sp. (phylum Myxozoa), parasite from the Amazonian fish *Metynnus maculatus* (Teleostei). **Diseases of Aquatic Organisms** **51**: 107-112, 2002
- DA SILVA, Marcelo Francisco et al. Coelozoic parasite of the family Ceratomyxidae (Myxozoa, Bivalvulida) described from motile vermiform plasmodia found in *Hemiodus unimaculatus* Bloch, 1794. **Parasitology research**, v. 119, n. 3, p. 871-878, 2020.
- DE ARAÚJO, Rebeca Silva et al. Ocorrência de *Myxobolus* sp. (MYXOZOA) em *Thoracocharax stellatus* (KNER, 1858) (CHARACIFORMES) em um Igarapé da Floresta Amazônica, Pará, Brasil. **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**, v. 21, n. 1, p. 16-20, 2017.
- EIRAS, J. C. **Elementos de Ictioparasitologia**. Fundação Engenheiro Antônio de Almeida. Porto, 1994.
- EIRAS, J. C.; MOLNÁR, K.; LU, Y. S. Synopsis of the species of *Myxobolus butschli*, 1882 (Myxozoa: Myxosporaea: Myxobolidae). **Syst Parasitol**, Dordrecht, v. 61, n. 1, p. 1-46, 2005.

- EIRAS, J. C. Synopsis of the species of the genus *Henneguya* Thélohan, 1892 (Myxozoa: Myxosporidia: Myxobolidae). **Systematic Parasitology**, v. 52, n. 1, p. 43-54, 2002.
- FERGUSON, J. A. et al. Molecular and morphological analysis of *Myxobolus* spp. of salmonid fishes with the description of a new *Myxobolus* species. **J Parasitol**, Lincoln, v. 94, p. 1322–1334, 2008.
- HENNING SS, HOFFMAN LC, MANLEY M. A review of *Kudoa* - induced myoliquefaction of marine fish species in South Africa and other countries. **South African Journal of Science** **109** (11/12): 1-5, 2013
- ICMBio (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade) (2018) Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Volume VI - Peixes. ICMBio, Brasília, DF, Brazil.
- JIMÉNEZ-GURI E, PHILIPPE H, OKAMURA B, HOLLAND PWH. *Buddenbrockia* is a cnidarian worm. *Science* 2007; 317(5834): 116-118. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1142024>. PMID:17615357.
- JUNIOR, Antonio Carlos Souza Silva. Myxosporidiose em peixes de água doce. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 2, n. 2, p. 25-39, 2014.
- LOM J, DYKOVA´ I (2006) Myxozoan genera: definition and notes on taxonomy, lifecycle terminology and oathogenic species. **Folia Parasitol** 53: 1–36.
- LOM, J.; DYKOVÁ, I. Myxozoan genera: definition and notes on taxonomy, lifecycle terminology and oathogenic species. **Fol. Parasitol.** 43:1-36, 2006.
- MARTINS, Maurício et al. *Henneguya* sp. (Myxozoa: Myxobolidae) em *Pimelodus maculatus* (Osteichthyes: Siluridae) do Reservatório de Volta Grande, Minas Gerais, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 30, n. 1, p. 01-07, 2018.
- MARTINS, M.L.; SOUZA, V.N.; MORAES, J.R.E.; MORAES, F.R. Gill infection of *Leporinus macrocephalus* Garavello & Britski, 1988 (Osteichthyes: Anostomidae) by *Henneguya leporinicola* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae). Description, Histopathology and Treatment. **Revista Brasileira de Biologia**, São Paulo, v.59, p.527-534, 1999.
- MATOS E, AZEVEDO C. Ultrastructural Description of *Microsporidium brevirostris* sp., Parasite of the Teleostean *Brachyhypopomus brevirostris* (Hypopomidae) from the Amazon River. **Acta Protozool** **43**: 261-267, 2004.
- MATOS, Edilson et al. Infection of the heart of *Pimelodus ornatus* (Teleostei, Pimelodidae), by *Myxobolus* sp. (Myxozoa, Myxobolidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, p. 543-546, 2014.

- MATOS, E.; CORRAL, L.; MATOS, P.; CASAL, G.; AZEVEDO, C. Incidência de parasitas do Phylum Myxozoa (Sub-reino Protozoa) em peixes da região amazônica, com especial destaque para o gênero *Henneguya*. **Revista de Ciências Agrárias**, Belém, v.36, p.83- 99, 2001.
- MILANIN, Tiago et al. **Mixosporídeos em oligoquetas (actinosporos) e em peixes (mixosporos) de pisciculturas dos estados de São Paulo e Mato Grosso do Sul, Brasil**. 2015. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia.
- MOLNÁR, Kálmán et al. Taxonomic problems, seasonality and histopathology of *Henneguya creplini* (Myxosporea) infection of the pikeperch *Stizostedion lucioperca* in Lake Balaton. **Folia Parasitologica**, v. 45, n. 4, p. 261-269, 1998.
- MOREIRA, G. S. A. et al. The morphological and molecular characterization of *Henneguya rotunda* n. sp., a parasite of the gill arch and fins of *Salminus brasiliensis* from the Mogi Guaçu River, Brazil. **Parasitol Res**, Heidelberg, v. 113, p. 1703-1711, 2014.
- NALDONI J, MAIA AAM, CORREA LL, SILVA MRM, ADRIANO EA. New myxosporeans parasitizing *Phractocephalus hemiliopterus* from Brazil: morphology, ultrastructure and SSU-rDNA sequencing. **Diseases of Aquatic Organisms** 128: 37-49, 2018.
- OKAMURA B, GRUHL A, BARTOLOMEU JL. **Myxozoan Evolution, Ecology and Development**. Berlin. Springer. 2015. 440p.
- RODRIGUES, Raissa Nunes. Revisão de literatura das espécies de *Henneguya* e *Myxobolus* (Cnidaria, Myxosporea) descritas em peixes dulcícolas do Brasil. 2021.
- SILVA, Marcelo Francisco da et al. *Myxobolus* sp.(Myxozoa; Myxosporea) causing asymptomatic parasitic gill disease in *Astyanax* aff. *bimaculatus* (Characiformes; Characidae) in the Tocantins river basin, amazon region, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 28, p. 739-743, 2019.
- SILVA, MF., DE CARVALHO, AEFB., HAMOY, I. MATOS, ER. Coelozoic parasite of the family Ceratomyxidae (Myxozoa, Bivalvulida) described from motile vermiform plasmodia found in *Hemiodus unimaculatus* Bloch, 1794. **Parasitol Res** 119, 871–878. 2020.
- SILVA, MF, NEGREIROS-MENDES FG, LOPES-SILVA LE, Sindeaux-Neto JL, Giese EG, Hamoy IG, Matos ER. New species of Myxidiidae Thélohan, 1892 (Myxosporea: Bivalvulida) found in characiform fish from the basin of Tocantins River in eastern Brazilian Amazonia. **Parasitol Int**. 2021.
- STILWELL, Justin; YANONG, Roy PE. Myxosporidiosis (Myxozoan Infections) in Warmwater Fish: FA201, 5/2017. **EDIS**, v. 2017, n. 5, 2017.

- ÚNGARI, Leticia Pereira et al. Description of a new species of myxobolid parasite, *Henneguya pindaibensis* n. sp.(Cnidaria: Myxosporea), infecting the gills of *Boulengerella cuvieri* (Spix and Agassiz, 1829) from Brazil. **Parasitology International**, v. 83, p. 102319, 2021.
- VIDAL, Leticia Poblete; LUQUE, José Luis. New morphological data and molecular diagnostic of *Henneguya friderici* (Myxozoa: Myxobolidae), a parasite of *Leporinus friderici* (Osteichthyes: Anostomidae) from southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 26, p. 81-88, 2017.
- YAHATA, Y.; SUGITA-KONISHI, Y.; OHNISHI, T.; TOYOKAWA, T.; NAKAMURA, N.; TANIGUCHI, K.; OKABE, N. *Kudoa septempunctata* Induced Gastroenteritis in Humans after Flounder Consumption in Japan: a Case-Controlled Study. **Japanese Journal of Infectious Diseases**, 2015, Volume 68, Issue 2, Pages 119-123.
- YOKOYAMA HA, OGAWA K. The resurrection of *Myxobolus toyamai* with a validation of a stunted polar capsule based on morphological evidence. **Parasitology International**. **64**: 43-47, 2015.
- YOKOYAMA, Hiroshi; GRABNER, Daniel; SHIRAKASHI, Sho. Transmission biology of the Myxozoa. **Health and environment in aquaculture**, p. 3-42, 2012.