REVISTA DE CIÊNCIASAGRÁRIAS
Amazonian Journal
of Agricultural and Environmental Sciences
www.ajaes.ufra.edu.br

http://dx.doi.org/10.4322/rca.2012.063

NOTA CIENTÍFICA

Morfologia e nova ocorrência de um coccídio hepatopancreático parasita de peixe amazônico

Morphology and new occurrence of a hepatopancreatic coccidian parasite of the Amazonian fish

Michele Velasco[1]
Marcela Videira[2]
Patrícia Matos[3]
Sérgio Carmona São Clemente[4]
Osimar Sanches[5]
Edilson Matos[1]*

[1]Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, Av. Presidente Tancredo Neves, 2501, 66077-530, Belém, PA, Brasil
[2]Universidade do Estado do Amapá – UEAP, Av. Presidente Vargas, 650, 68906-970, Macapá, Amapá, Brasil
[3]Universidade Federal do Pará – UFPA, Av. Augusto Correa, 01, 66075-900, Belém, PA, Brasil
[4]Universidade Federal Fluminense – UFF, Rua Miguel de Frias, 9, Icaraí, 24220-900, Niterói, RJ, Brasil
[5]Universidade do Oeste do Pará, Rua Vera Paz, s/n, Salé, 68035-110, Santarém, PA, Brasil

Autor Correspondente:
*E-mail: edilson.matos9@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE
Calyptospora
Cichla temensis
Parasito
Amazônia

KEYWORDS
Calyptospora
Cichla temensis
Parasite
The Amazon

RESUMO: O gênero *Calyptospora* possui espécies parasitas de peixes de água doce e marinha, e são frequentemente encontrados no fígado do hospedeiro. Este trabalho relata uma nova ocorrência e aspectos morfológicos de um coccídio hepatopancreático, em *Cichla temensis* da região nordeste paraense. Setenta espécimes do peixe *C. temensis* foram coletados no Rio Tocantins (Cametá-PA) e transportados ao Laboratório de Pesquisa Carlos Azevedo, sendo anestesiados e necropsiados para pesquisa de parasitos. Os fragmentos de tecidos parasitados foram fixados e processados para microscopia de luz (ML) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os aspectos histológicos evidenciaram oocistos agrupados e isolados no parênquima hepático e pancreático. Diante dos achados macro e microscópicos da parasitose, apesar da grande carga parasitária presente na região hepatopancreática, não foi observado reação inflamatória significativa pelo hospedeiro. Este é o primeiro registro da ocorrência do parasitismo por *Calyptospora* sp. em hepatopâncreas de *C. temensis* no nordeste paraense.

ABSTRACT: *The genus Calyptospora comprises parasite species of freshwater and marine fish; they are often found in the liver of the host. This paper reports a new occurrence and morphological aspects of a coccidian hepatopancreatic Cichla temensis in the northeast region of the State of Para. Seventy specimens of C. temensis fish were collected from the Tocantins River in the municipality of Cameta and transported to "Carlos Azevedo" Research Laboratory, where they were anesthetized and necropsied for parasite investigation. The infected tissue fragments were fixed and processed for Light Microscopy (LM) and Scanning Electron Microscopy (SEM) performance. The histology showed oocysts isolated and grouped in pancreatic and hepatic parenchyma. Given the macroscopic and microscopic findings of parasitosis, despite the large parasite load present in hepatopancreatic region, there was no significant inflammatory response by the host. This is the first record of the occurrence of parasitism by Calyptospora sp. in hepatopancreas of C. temensis in the northeast region of the State of Para.*

Recebido: 13/07/2012
Aceito: 04/09/2012

1 Introdução

As espécies do gênero *Cichla,* Schneider, 1801, são conhecidas no Brasil como 'tucunarés', sendo naturais da Bacia Amazônica; representam o principal grupo de peixes piscívoros da família Cichlidae na América do Sul (SANTOS; GONZALEZ; ARAÚJO, 2001).

A espécie *Cichla temensis* Humboldt, 1821, é típica de ambientes lênticos, alimentando-se preferencialmente de peixes pequenos, camarões e insetos aquáticos. É de grande importância na alimentação e na fonte de renda de muitas populações, constituindo também apreciado alvo da pesca esportiva (ANDRADE et al., 2001).

O filo Apicomplexa Levine, 1970, é um grupo grande e heterogêneo de microrganismos, que engloba algumas formas patogênicas. São parasitos intracelulares obrigatórios, de importância médica e veterinária. Ocorrem em diversos grupos, incluindo os moluscos bivalves e peixes (MATOS et al., 2004).

Espécies do gênero *Calyptospora* Overstreet, Hawkins e Fournie, 1984, são parasitos apicomplexos de peixes teleósteos. Todas as espécies descritas têm os peixes como hospedeiro definitivo e parasitam principalmente o parênquima hepático. Apenas cinco espécies deste gênero foram descritas, sendo que três delas ocorrem em peixes de água doce do Brasil. O impacto das infecções por *Calyptospora* em espécies de peixes é, em grande parte, desconhecida (WHIPPS et al., 2012).

Os oocistos de *Calyptospora* sp., quando observados em Microscopia de Luz (ML), formam vacúolos parasitóforos com quatro esporocistos, cada um contendo em seu interior dois esporozoítos . Em muitos casos, são observadas células iniciais do ciclo de vida ou já formando vacúolos parasitóforos, quando se encontram diferentes fases do ciclo de vida, variando a forma dos esporocistos, de arredondada a elipsoide (AZEVEDO; MATOS; MATOS, 1995). Este trabalho tem por objetivo relatar uma nova ocorrência e a morfologia de um coccídio hepático e pancreático em espécimes de *C. temensis* da região nordeste do Pará.

2 Material e Métodos

Setenta espécimes do peixe de água doce *C. temensis* (Teleostei, Cichlidae), foram coletados no Rio Tocantins (2° 14' 13.36" S e 49° 29' 33,81" W), próximo à cidade de Cametá (Figura 1), Estado do Pará, no nordeste paraense, durante os anos de 2010 e 2011. Os peixes foram transportados vivos ao laboratório e mantidos em aquário com temperatura de 28 a 30 °C. Os animais foram anestesiados com tricaína metano sulfonato (MS222 SIGMA) na concentração de 50 $mg.L^{-1}$ e necropsiados para pesquisa de parasitos por meio de estereomicroscópio. Os parasitos foram identicados a partir das descrições de Lom e Dyková (1992). Pequenos fragmentos do hepatopâncreas foram retirados e examinados em microscópio de luz com o objetivo de verificar a presença do parasitismo por oocistos de *Calyptospora*.

Para ML, os fragmentos de tecidos parasitados foram fixados em solução de Davidson (formaldeído, acido acético, etanol 95% e água destilada) durante 24 h. Após a fixação, os fragmentos foram desidratados em série crescente de etanol, diafanizados e incluídos em parafina (TISSUE EMBEDDING CENTER MICRON EC350). Foram realizados cortes com 5 µm de espessura em micrótomo (ROTARY MICROTOME

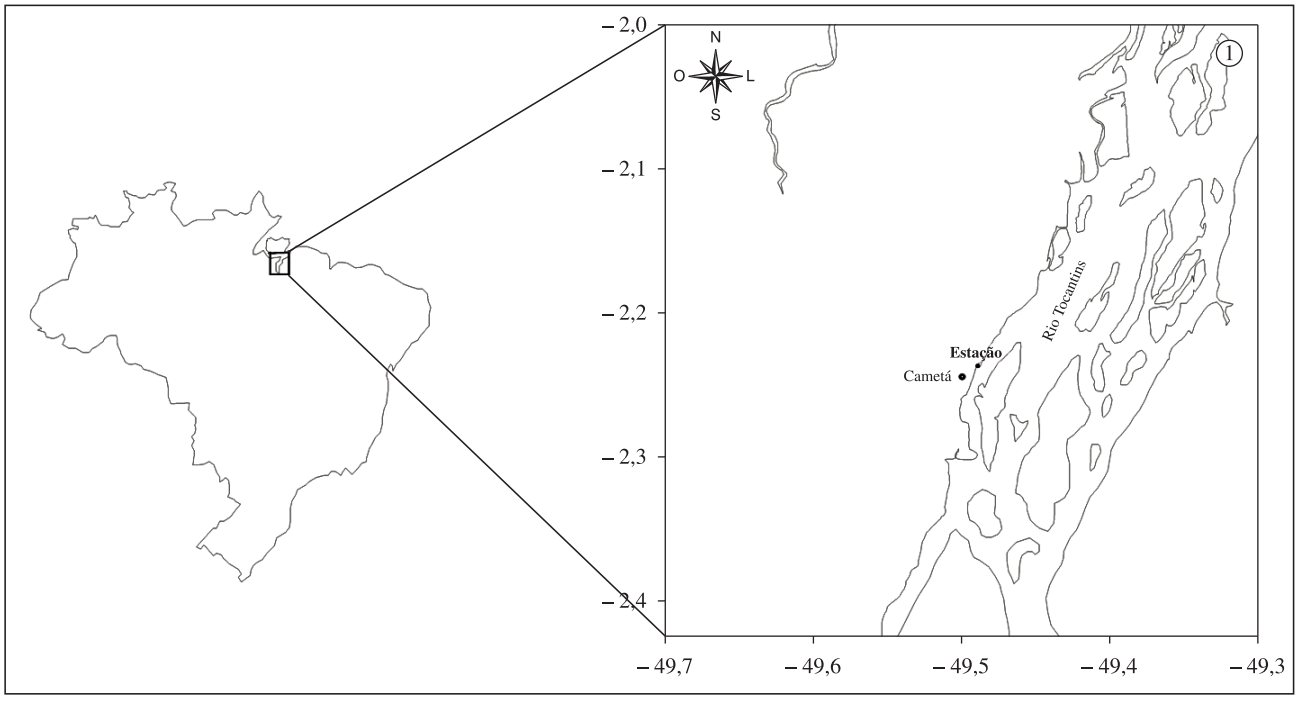


Figura 1. Localização geográfica do município de Cametá, na mesorregião nordeste do Pará.

MICRON HM315) com lâminas de aço descartáveis e então corados por Hematoxilina-Eosina e Tricrômico de Gutierrez. Os cortes corados foram documentados por meio de microscópio de luz ZEISS PRIMO STAR com um adaptador CANON A610/A620 52 mm.

Para a microscopia eletrônica de varredura (MEV), pequenos fragmentos de tecido hepático parasitado (1,0 cm de espessura) foram fixados em glutaraldeído 5% tamponado com cacodilato de sódio (pH 7,2) por 12 h a 4 °C; foram lavados durante a noite no mesmo tampão e pós-fixados em OsO_4 a 2% tamponado na mesma solução, por 3 h na mesma temperatura. Em seguida, foi realizada a desidratação em uma série crescente de etanol. Os fragmentos foram submetidos à secagem até o ponto crítico, metalizados com uma fina película de ouro de 20 nm e fotografados em equipamento MEV (LEO 1459 VP) operando a 80 kV.

3 Resultados e Discussão

A partir da necropsia dos exemplares, foi possível observar que o fígado (hepatopâncreas) apresentava regiões de coloração esbranquiçada, ocupando grandes áreas do órgão; por meio da ML, foi possível confirmar que as lesões correspondiam a agregações parasitárias causadas por oocistos de coccídios. Além da forma em aglomerados, os oocistos apresentavam-se também isolados, distribuídos por todo o parênquima.

Os oocistos foram identificados como pertencentes ao gênero *Calyptospora* por causa da morfologia esférica, formando vacúolos parasitóforos com quatro esporocistos, de formato elipsoidal (Figura 2), cada um com dois esporozoítos. Os esporocistos apresentavam na região apical estruturas granulares conhecidas como esporopódio (Figura 3). Achados semelhantes foram descritos por Albuquerque e Brasil-Sato (2010), Casal et al. (2007), Bonar et al. (2006), Azevedo, Matos e Matos (1993) e Békési e Molnar (1991).

Os aspectos histológicos evidenciaram oocistos agrupados no parênquima hepático (Figuras 6 e 7) e pancreático (Figura 4). Oocistos isolados foram observados na região pancreática (Figuras 5). Os oocistos raramente provocaram resposta inflamatória no órgão, observando-se apenas leves compressões dos hepatócitos adjacentes à localização do parasito; dados semelhantes foram descrito por Santiago et al. (2012).

A coccidiose hepática e pancreática causada por *Calyptospora* sp. estava presente em todo período de coleta (Tabela 1), com prevalência de 40%.

Outros parasitos do gênero *Calyptospora* já foram descritos em tucunarés de outras regiões do Estado do Pará e do Brasil, como o *Calyptospora* sp. em *C. temensis*, no município de Ponta de Pedras da mesorregião do Marajó-PA (Santiago et al., 2012), e o *Calyptospora tucunarensis* em *Cichla ocellaris*, no Estado do Ceará (BÉKÉSI; MOLNAR, 1991).

A partir dos achados macro e microscópicos da parasitose, foi possível observar que, apesar da grande carga parasitária presente na região hepatopancreática, não foi observada reação inflamatória significativa pelo hospedeiro. Este é o primeiro registro da ocorrência do parasitismo por *Calyptospora* sp. em hepatopâncreas de *C. temensis* no nordeste paraense.

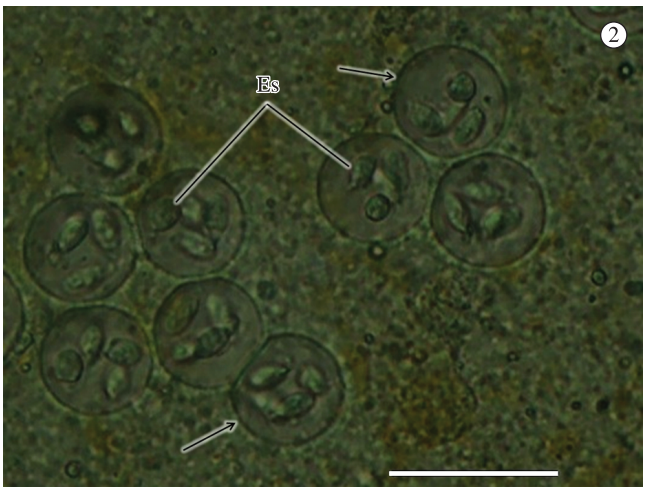


Figura 2. Observação a fresco de oocistos de *Calyptospora* (seta), contendo quatro esporocistos (Es), parasitando fígado de *C. temensis*. Barra de escala: 20 µm.

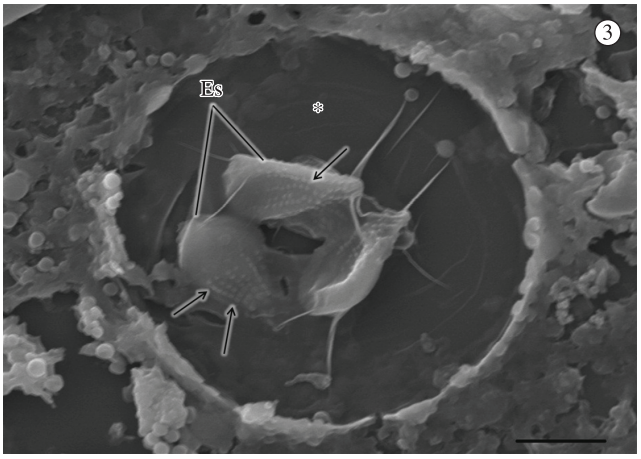
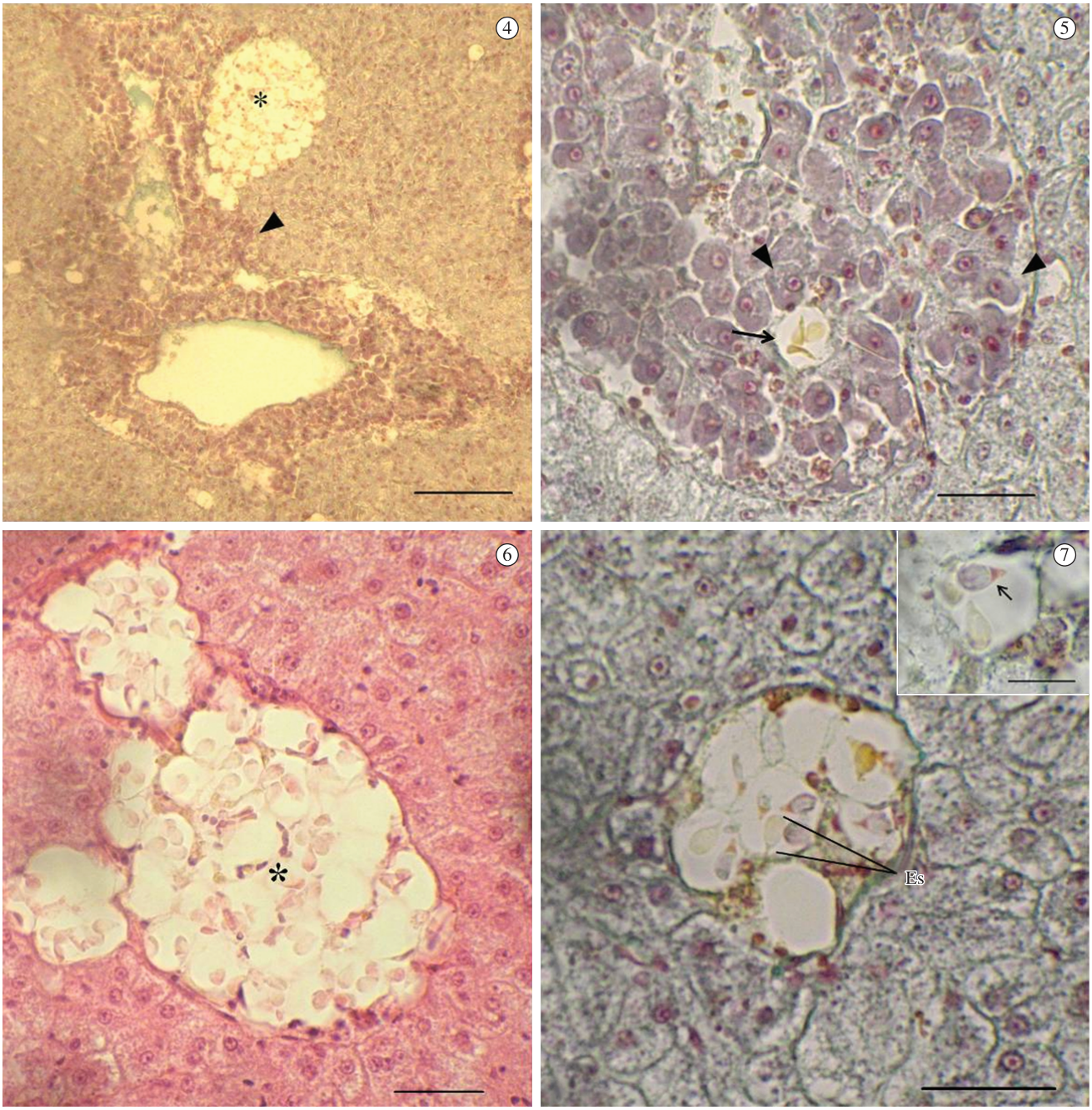


Figura 3. Microscopia eletrônica de varredura de um oocisto de *Calyptospora* (*) com esporocistos (Es) e esporopódio (setas). Barra de escala: 5 µm.

Tabela 1. Prevalência (%) da infecção por *Calyptospora* sp., parasito de hepatopâncreas de *C. temensis*, entre o período de Janeiro de 2010 e Setembro de 2011.

Mês/Ano	Prevalência (%)
Janeiro/2010	24,8
Abril/2010	50,6
Junho/2010	35,4
Setembro/2010	54,1
Novembro/2010	39,0
Janeiro/2011	30,6
Abril/2011	52,1
Setembro/2011	33,4



Figuras 4-7. Parasitismo por *Calyptospora* sp. em região hepática e pancreática de *C. temensis* 4. Aglomerados de oocistos de *Calyptospora* sp. (*) parasitando a região pancreática (cabeça de seta). Gutierrez. Escala: 100 µm. 5. Oocisto de *Calyptospora* (seta) entre as células pancreáticas (cabeças de setas). Gutierrez. Escala: 50 µm. 6. Aglomerados de oocistos de *Calyptospora* (*) parasitando a região hepática. HE. Escala: 25 µm. 7. Fígado com oocistos de *Calyptospora* com 4 esporocistos (Es). Gutierrez. Escala: 25 µm. Detalhe: esporocisto (seta). Gutierrez. Escala: 10 µm.

Agradecimentos

Nossos agradecimentos à Universidade Federal Rural da Amazônia, à CAPES, ao CNPq e à Universidade Federal do Pará; ao Prof. Dr. Wolmar Wosiacki do MPEG, pela identificação do espécime hospedeiro; ao Prof. Hilton Túlio do centro de Microscopia Eletrônica de Varredura do MPEG e aos editores e revisores associados, pelas importantes contribuições.

Referências

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. PMid:20163938.

ANDRADE, F.; SCHNEIDER, H.; FARIAS, I, FELDBERG, E.; SAMPAIO, I. Análise filogenética de duas espécies simpátricas de tucunaré (*Cichla*, Perciformes), com registro de hibridização em diferentes pontos da bacia amazônica. *Revista Virtual de Iniciação Acadêmica da UFPA*, v. 1, n. 1, 2001.

AZEVEDO, C.; MATOS, P.; MATOS, E. Ultrastructural data on sporogony of the coccidian parasite *Calyptospora spinosa* from the liver of the Amazonian fish, *Crenicichla lepidota* Heckel. *Journal of Fish Diseases*, v. 18, p. 475-79, 1995. http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2761.1995.tb00351.x

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. http://dx.doi.org/10.1016/S0932-4739(11)80270-1

BÉKÉSI, L.; MOLNAR, K. *Calyptospora tucunarensis n.* sp. (Apicomplexa: Sporozoea) from the liver of tucunare *Cichla ocellaris* in Brazil. *Systematic Parasitology*, v. 18, p. 127-13, 1991. http://dx.doi.org/10.1007/BF00017665

BONAR, C. J.; POYNTON, S. L.; SCHULMAN, F. Y.; RIETCHECK, R. L.; GARNER, M. M. Hepatic *Calyptospora* sp. (Apicomplexa) infection in a wild-born, aquarium-held clutch of juvenile arapaima *Arapaima gigas* (Osteoglossidae). *Disease of Aquatic Organisms*, v. 70, p. 81-92, 2006. http://dx.doi.org/10.3354/dao070081

CASAL, G.; PADOVAN, I.; MATOS, E.; PADOVAN, P.; MATOS, P.; GUIMARÃES, A.; AZEVEDO, A. Morphological and ultrastructural redescription of *Calyptospora serrasalmi* Cheung, Nigrelli & Ruggieri, 1986 (Apicomplexa: Calyptosporidae), a parasite found in two new host species of the genus *Serrasalmus. Brazilian Journal of Morphological Sciences*, v. 24, n. 1, p. 11-16, 2007.

LOM, J.; DYKOVÁ, I. *Protozoan Parasites of Fishes*. Amsterdam: Elsevier, 1992. 315 p.

MATOS, E.; CASAL, G.; MATOS, P.; CORRAL, L.; AZEVEDO, C. Microrganismos Parasitos de Animais Aquaticos da Amazonia. In: RANZANI-PAIVA, M. J. T.; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. A. P. *Sanidade de organismos aquáticos*. São Paulo: Editora Varela, 2004. p.158-178.

SANTIAGO, H.; CORRÊA, J. L.; TORTELLY, R.; MENEZES, R. C.; MATOS, P.; MATOS, E. Morphology and histopathology of *Calyptospora* sp. (Apicomplexa: Calyptosporidae) in speckled peacock bass, *Cichla temensis* Humboldt, 1821 (Perciformes: Cichlidae), from the Marajó-Açu River, Marajó Island, Brazil. *Parasitology Research*, v. 110, p. 2569-2572, 2012. http://dx.doi.org/10.1007/s00436-011-2770-0

SANTOS, L. N.; GONZALEZ, A. F.; ARAÚJO, F. G. Dieta do tucunaré-amarelo *Cichla monoculus* (Bloch & Schneider) (Osteichthyes, Cichlidae), no Reservatório de Lajes, Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 18, p. 191-204, 2001. http://dx.doi.org/10.1590/S0101-81752001000500015

WHIPPS, C. M.; FOURNIE, J. W.; MORRISON, D. A.; AZEVEDO, C.; MATOS, E.; THEBO, P.; KENT, M. L. Phylogeny of fish-infecting *Calyptospora* species (Apicomplexa: Eimeriorina). *Parasitology Research*, v. 111, p. 1331-1342, 2012. http://dx.doi.org/10.1007/s00436-012-2969-8