

PREVALÊNCIA DE HEMOGREGARINA EM ARRAIAS DE
ÁGUA DOCE (POTAMOTRYGONIDAE) DA REGIÃO NORTE,
COM DESCRIÇÃO DE UMA NOVA ESPÉCIE DO GÊNERO
Cyrilia.

NATÁLIA MIZUHIRA MAGRO

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências, Campus de Botucatu, UNESP,
para obtenção do título de Mestre no Programa
de Pós-Graduação em Biologia Geral e
Aplicada, Área de concentração *Biologia de
Parasitas e Microorganismos*.

Orientadora: Prof^a Lucia Helena O'Dwyer de Oliveira

**BOTUCATU – SP
2013**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

PREVALÊNCIA DE HEMOGREGARINA EM ARRAIAS DE
ÁGUA DOCE (POTAMOTRYGONIDAE) DA REGIÃO NORTE,
COM DESCRIÇÃO DE UMA NOVA ESPÉCIE DO GÊNERO

Cyrilia.

NATÁLIA MIZUHIRA MAGRO

LUCIA HELENA O'DWYER DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências,
Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título
de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Biologia
Geral e Aplicada, Área de concentração *Biologia de
Parasitas e Microorganismos*

Orientadora: Lucia Helena O'Dwyer de Oliveira

BOTUCATU – SP
2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE - CRB 8/5651

Magro, Natalia Mizuhira.

Prevalência de hemogregarina em arraia de água doce (Potamotrygonidae) da região norte com a descrição de uma nova espécie do gênero *Cyrilia* / Natalia Mizuhira Magro. - Botucatu, 2013

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Lucia Helena O'dwyer de Oliveira

Capes: 21301026

1. Eritrócitos. 2. Morfologia (Animais). 3. Peixe - Pesquisa.. 4. Raia (Peixe).

Palavras-chave: *Cyrilia*; Haemogregarina; Morfologia; Potamotrygonidae; Prevalência.

NATÁLIA MIZUHIRA MAGRO

**PREVALÊNCIA DE HEMOGREGARINA EM ARRAIAS DE
ÁGUA DOCE (POTAMOTRYGONIDAE) DA REGIÃO NORTE,
COM DESCRIÇÃO DE UMA NOVA ESPÉCIE DO GÊNERO
Cyrilia.**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências de Botucatu
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre
Orientador: Prof(a). Dr (a) Lucia Helena O’Dwyer de Oliveira

Comissão examinadora

Prof^a. Adj. Lucia Helena O’Dwyer de Oliveira
Universidade Estadual “Júlio Mesquita Filho”

Prof. Adj. Reinaldo José da Silva
Universidade Estadual “Júlio Mesquita Filho”

Dr^a. Karina Paduan Rubini
Laboratório de Diagnóstico Moleculares VetDNA

Botucatu, 25 de Julho de 2013.

Dedico aos meus pais, Toshiko e Omir,
e à minha irmã Toyane.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço aos meus pais, Toshiko e Omir e à minha irmã, Toyane, por serem as pessoas mais importantes da minha vida. Sem o apoio, o carinho, o amor e a confiança deles jamais teria sido possível realizar este trabalho.

A minha orientadora Lúcia, por acreditar no meu potencial, pelos “puxões” de orelha, pelas dicas, pela paciência e conselhos.

Aos amigos de laboratório, Larissa, Denise, Tatiana e Betina, que me receberam de braços abertos e contribuíram muito para o crescimento dos meus conhecimentos durante esses anos.

Aos colegas e professores do departamento, que sempre estiveram dispostos a ajudar e colaborar sempre que necessário.

Ao Guilherme, por sempre estar ao meu lado, mesmo sem dizer uma palavra, tentando me confortar ou me ensinando a ser forte e realista. Obrigada por me aguentar e cuidar de mim!

Aos amigos pessoais, apesar de não citar nomes, todos sabem a importância e o carinho que tenho por cada um deles. Obrigada por me ajudarem com palavras positivas nas horas mais críticas de medo, de desespero, de carência, o apoio via rede sociais nas madrugadas frias e obrigada por compreenderem a minha falta de tempo!

Ao Adriano T. Oliveira, nosso colaborador, que nos disponibilizou todo o material, ajudou com as coletas e foi através dele, que a parceira com a UFAM foi firmada, logo tornou possível a realização deste trabalho.

Por fim, e não menos importante ao Flávio Otomura, pela amizade e pelo “empurrãozinho” no começo de tudo, pois, talvez sem ele, nada disso teria sido possível.

*“Nascer, morrer, renascer ainda e
progredir sem cessar,
tal é a lei” .
(Allan Kardec)*

SUMÁRIO

	Páginas
LISTA DE TABELAS	IX
LISTA DE FIGURAS	X
RESUMO	XII
ABSTRACT	XIII
CAPÍTULO 1	14
Hemogregarinas em peixes	14
1. Considerações iniciais	15
2. Família Potamotrygonidae.....	16
2.1. Principais aspectos biológicos	17
2.2. Diversidade parasitológica.....	18
3. Classificação	19
3.1. Filo Apicomplexa.....	19
3.2. Família: Haemogregarinidae Léger, 1911.	20
3.2.1 Gênero <i>Haemogregarina</i> Danilewsky, 1885.....	22
3.2.2 Gênero <i>Cyrlia</i> Lainson, 1981.....	26
3.2.3 Gênero <i>Desseria</i> Siddal, 1995.....	31
3.3. Família Hepatozoidae Wenyon, 1926	33
3.3.1. Gênero <i>Hepatozoon</i> Miller, 1908.....	33
4. Considerações finais.....	35
5. Referências	36
CAPÍTULO 02	43
Descrição de <i>Cyrlia</i> sp. (Apicomplexa: Adeleorina: Haemogregarinidae) em três espécies de arraias de água doce (Potamotrygonidae) da Região Amazônica, Brasil.....	43
1. Introdução.....	44
2. Material e Métodos	46
2.1. Áreas de estudo	46
2.2. Captura das arraias	48
2.3. Método de colheita, armazenamento do sangue, prepara e coloração das extensões sanguíneas ...	51
2.4. Identificação e quantificação dos parasitas.....	52
2.5. Análises Estatísticas	52
3. Resultados	53
4. Discussão.....	59

5. Conclusão	64
6. Referências	65

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2.

Descrição de *Cyrlia* sp. (Apicomplexa: Adeleorina: Haemogregarinidae) em três espécies de arraias de água doce (Potamotrygonidae) da Região Amazônica, Brasil.

Tabela 1. Análise morfométrica das diferentes fases do desenvolvimento de *Cyrlia* sp. encontrados em eritrócitos de arraias das espécies *Potamotrygon* sp., *Potamotrygon motoro* e *Paratrygon aiereba*.....55

Tabela 2. Análise morfométrica dos eritrócitos normais e parasitados por *Cyrlia* sp. em arraias das espécies *Potamotrygon* sp., *Potamotrygon motoro* e *Paratrygon aiereba*.....56

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 01

Hemogregarinas em Peixes

Figura 1. 20-39 – Projeção microscópica para ilustrar o ciclo de vida de *Haemogregarina bigemina*. 18- *Clinussuperciliosus*; 19- Larva de *Gnathia africana*; 20-26- Estágio no sangue periférico de *C. superciliosus*; 27-39 – Estágio em *G. africana*. As setas indicam a transferência do parasita de um hospedeiro para outro. 20 – Trofozoíto intraeritrocitário; 21-22. Merontes intraeritrocitários; 23 – Fissão binária prégamontica; 24- Gamontes intraeritrocíticos imaturos e pareados; 25- Gamontes intraeritrocíticos maduros e pareados; 26 – Gamontes maduros livres dos eritrócitos do hospedeiro; 27 – Gamontes livres como aqueles vistos no hospedeiro vertebrado; 28 – Micro e macrogamontes associados com três núcleos microgaméticos; 29-30 – Oocistos imaturos em diferentes estágios do desenvolvimento; 31 – Oocisto maduro; 32 – Esporogonia para a formação de cinco esporozoítos; 33 – Esporozoítos maduros e livres; 34 – Divisão da primeira geração de merontes; 35 – Primeira geração de merozoítos; 36 – Segunda geração de merontes produzindo imaturos merozoítos delgados; 37 – Segunda geração de merozoítos maduros; 38 – Divisão da terceira geração de merontes; 39 – Terceira geração de merozoítos (DAVIES et al, 2001). 26

Figura 2. Diagrama representando o ciclo de vida de *Cyrlia gomesi* (Neiva e Pinto, 1926) descrito por Lainson (1981) em *Synbranchus marmoratus* e na sanguessuga *Haementeria lutzi*. A. Trofozoíto inoculado pela sanguessuga nos eritrócitos. B-H Sucessivas gerações de merontes ou esquizontes nos eritrócitos, principalmente nos capilares do rim, mas também encontrados na circulação do sangue periférico. I-J. Desenvolvimento de gamontes nos eritrócitos. K. Microgamonte maduro no sangue periférico. L. Macrogamonte maduro no sangue periférico. M. Macrogamonte e Microgamonte livres no ceco intestinal da sanguessuga. N. Fixação e crescimento do macrogamonte na superfície do epitélio intestinal. O. Associação do microgamonte e do macrogamonte. P. Divisão do microgamonte dando origem a 4 microgametas: fertilização dos microgametas. Q. Macrogamonte fertilizado com microgametas residuais ainda fixados. R-U. Divisão do núcleo zigótico dando origem ao oocisto com 20-30 esporozoítos. V. Esporozoítos passando através do epitélio intestinal e migrando para a probóscide da sanguessuga, de onde serão inoculados no próximo peixe (LAINSON, 1981). 29

Figura 3. Macrogamontes e microgamonte de *Cyrlia lignieresii* observados no peixe *Synbranchus marmoratus*. Coloração em GIEMSA (Fonte. DINIZ et al, 2002) 30

Figura 4. Trofozoíto intraeritrocitário de *Cyrlia lignieresii* em *Synbranchus marmoratus*. PV: vacúolo parasitífero; Am: Grânulos de amilopectinas; DB: corpos densos; Er: eritrócito; MN: micronemas; N: Núcleo (Fonte. DINIZ et al, 2002). 30

Figura 5. Estágios de desenvolvimento de *Desseria* sp. em *Mugil cephalus*. A-B: Trofozoítos; C: Gamonte imaturo; D-F: Gamonte maduros. (Fonte. SMIT et al, 2002). 32

CAPÍTULO 02

Descrição de *Cyrlia* sp. (Apicomplexa: Adeleorina: Haemogregarinidae) em três espécies de arraias de água doce (Potamotrygonidae) da Região Amazônica, Brasil

Figura 1. Principais áreas de capturas de arraias de água doce dentro do Arquipélago de Mariuá, Amazonas, Brasil. 47

Figura 2. Local de captura de arraias de água doce no Lago Amapá, Rio Branco, Acre. 48

Figura 3. A. *Potamotrygon motoro*; B. *Potamotrygon* sp.; C. *Paratrygon aiereba* (Fonte: Adriano T. Oliveira). 49

Figura 4. Forma de captura das arraias com auxílio de rede de mão, lanterna de cabeça e remo (foto: Adriano T. Oliveira).	50
Figura 5. Colheita de sangue em arraias por punção do vaso branquial. (Fonte: Adriano T. de Oliveira).....	51
Figura 6. Trozoíto ou merozoíto de <i>Cyrilia</i> sp. infectando eritrócito de arraia <i>Potamotrygon</i> sp. (Foto: Natalia M. Magro).....	55
Figura 7. Meronte ou esquizonte de <i>Cyrilia</i> sp. infectando eritrócito <i>Potamotrygon</i> sp. (Fonte: Natalia M. Magro).....	57
Figura 8. Prégamonte ou gamonte imaturo de <i>Cyrilia</i> sp. infectando eritrócitos de <i>Potamotrygon</i> sp. (Família Potamotrygonidae). (Fonte: Natalia M. Magro).....	58
Figura 9. A - ➡ Macrogamonte intraeritrocitário de <i>Cyrilia</i> sp. infectando eritrócitos de <i>Potamotrygon motoro</i> . B - ➡ Microgamonte intraeritrocitário de <i>Cyrilia lainsoni</i> sp. nov. infectando eritrócito de <i>Potamotrygon</i> sp. (Fonte: Natalia M. Magro).....	59

MAGRO, N. M. **Prevalência de hemogregarina em arraias de água doce (potamotrygonidae) da Região Norte, com descrição de uma nova espécie do gênero *Cyrilia***. Botucatu, 2013. 61 p. Dissertação (Mestrado). Instituto de Biociências de Botucatu. Universidade Estadual Paulista, “Júlio Mesquita Filho”.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar a presença de hemogregarinas em arraias de água doce da Bacia Amazônica. Foram examinadas arraias pertencentes às espécies *Potamotrygon* sp., *Potamotrygon motoro* e *Paratrygon aiereba*, do Arquipélago de Mariuá, Rio Negro, Bacia Amazônica, e do Lago Amapá, Bacia do Rio Acre, Brasil. Os animais foram capturados com redes de mão e sedados com Eugenol (0,2 g/L) para a colheita de sangue, através da punção do capilar branquial. Foram confeccionadas extensões sanguíneas, que foram fixadas com metanol e coradas por May-Grünwald-Giemsa. Ao todo, foram capturados 93 animais sendo 34 *Potamotrygon* sp., 44 *P. motoro* e 15 *P. aiereba*. A prevalência total de animais positivos foi 49,46% e entre as espécies, *P. aiereba* foi de 23,91%, *P. motoro* de 26,08% e *Potamotrygon* sp. de 50%. A parasitemia variou de 0,1% a 10%, porém, na região do Lago Amapá, os animais capturados pertenciam apenas à espécie *P. motoro* (n = 25) e todos eram negativos para a presença de formas parasitárias nos eritrócitos. Os estágios evolutivos observados nas extensões sanguíneas incluíam trofozoítos ou merozoítos, merontes ou esquizontes, pré-gamontes ou gamontes imaturos e gamontes (microgamontes e macrogamontes). As diversas fases do desenvolvimento foram encontradas, com maior frequência, dentro dos eritrócitos, porém, formas extraeritrocitária também foram observadas. As formas intraeritrocitárias não causaram alterações significativas nos eritrócitos, exceto as fases consideradas merontes. As formas evolutivas observadas eram similares àquelas descritas na literatura como pertencentes ao gênero *Cyrilia*. Baseando-se nos dados morfológicos e morfométricos descrevemos uma espécie nova pertencente ao gênero *Cyrilia*. Este foi o primeiro estudo de prevalência e caracterização de hemogregarina em arraias de água doce no Brasil.

Palavras chaves: 1. *Haemogregarina*. 2. Arraias. 3. Potomotrygonidae. 4. hemoparasitas. 5. *Cyrilia*.

MAGRO, N. M. **Prevalence of hemogregarine in freshwater stingrays (Potamotrygonidae) North Region, with description of a new species of genus *Cyrilia*.** Botucatu, 2013. 61 p. Dissertação (Mestrado). Instituto de Biociências de Botucatu. Universidade Estadual Paulista, “Júlio Mesquita Filho”.

ABSTRACT

This research aimed to evaluate the presence of hemogregarinas in freshwater stingrays of the Amazon basin. Were examined stingrays belonging to the species *Potamotrygon* sp., *Potamotrygon motoro* e *Paratrygon aiereba*, from the Archipelago of Mariuá, Negro River, Middle Negro River Basin, and Lake Amapá, Acre River Basin, Brazil. The animals were captured with dipnets and sedated with Eugenol (0, 2 g/L) for blood sample, through capillary gill puncture. Blood smears were made and fixed with methanol and stained with May-Grünwald-Giemsa. Altogether 93 animals were captured being 34 *Potamotrygon* sp., 44 *P. motoro* and 15 *P. aiereba*. The Total prevalence of positive animals were 48.5% and between the species, *P. aiereba* was about 23.9%, *P. motoro* was 26.1% and *P. sp* was about 50%. The parasitaemia ranged from 0.1% to 10%, however, in the region of Amapá Lake, the animals that was captured belongs only to the *P. motoro* species (n = 25) and all the blood samples were negatives to parasitic forms. The evolutionary stages observed on the blood samples includes trophozoites or merozoites, schizonts or meronts, pregamonts or immature gamonts and gamonts (microgamonts and macrogamonts). The various evolutionary stages were found, with more frequency, inside the erythrocyte, however, extraerythrocyte forms were observed. The intraerythrocytic did not cause significant changes in the erythrocyte, except merontes stage. The evolutionary forms observed were similar to those described in the literature as belonging to the *Cyrilia* genus. Relying on the morphological data and morphometric we described a new species of genus *Cyrilia*. This is the first report of prevalence and characterization of hemogregarine in freshwater stingrays in Brazil.

Keywords: 1. *Haemogregarina*. 2. Freshwater stingray. 3. Potomotrygonidae. 4. Haemoparasites. 5. *Cyrilia*.

CAPÍTULO 1

Hemogregarinas em peixes

1. Considerações iniciais

As arraias de água doce pertencem à família Potamotrygonidae Garman, 1877 e distribuem-se restritamente ao continente sul americano. Os potamotrigonídeos são elasmobrânquios que pertencem à ordem Myliobatiformes Compagno, 1973 (araias com ferrão) e têm como característica a vida exclusiva em água doce (COMPAGNO et al., 1995).

As espécies incluídas na Família Potamotrygonidae apresentam dentro da diversidade da ictiofauna amazônica importância ecológica e econômica, porém as arraias de água doce são animais ainda pouco estudados. As informações na literatura sobre esses elasmobrânquios limitam-se aos aspectos relacionados à ecologia, regulação de íons, reprodução, sistemática, citogenética, alimentação, descrição de habitat de espécie, parâmetros hematológicos, distribuição e abundância (ARAÚJO, 1998; LONARDONI et al., 2006; RINCÓN, 2006; VALENTIM et al., 2006; OLIVEIRA, 2008; ALMEIDA et al., 2009; ROSA et al., 2010; DUNCAN et al., 2010; DUNCAN et al., 2011; CARVALHO et al., 2011).

A parasitologia em peixes é uma área de pesquisa em expansão por ser de interesse econômico na piscicultura (THATCHER, 2006). Há uma grande concentração de pesquisas relacionadas a parasitas pertencentes aos grupos zoológicos: protozoa, mixozoa, monogenea, digenea, cestoda, nematoda, acontocephala, branchiura, copepoda, isopoda e crustáceos, porém, para peixes de vida livre (tanto Osteichthyes Huxley, 1880, quanto Chondrichthyes Huxley, 1880) ainda são escassos os relatos de identificações de hemoparasitas, principalmente aos pertencentes à família Haemogregarinidae Léger, 1911. Existem algumas espécies descritas de *Haemogregarina* Danilewsky 1885, porém, acredita-se haver alguns equívocos taxonômicos (DAVIES e JOHNSTON, 2000).

Em arraias de água doce da espécie *Potamotrygon* sp. foi identificada a presença de um parasita intraeritrocitário semelhante à hemogregarina, porém, sua classificação limitou-se apenas a caracterização da Família. A prevalência do parasita, assim como o número total nos

eritrócitos, parece ser influenciada pelas variações no nível do Rio Negro (OLIVEIRA et al., dados não publicados).

Devido à escassez de informações sobre hemogregarinas em arraia de água doce, estudos tornaram-se necessários para a identificação e descrição de novas espécies.

2. Família Potamotrygonidae

Durante muito tempo, a família Potamotrygonidae foi descrita como tendo três gêneros (*Potamotrygon* Garman, 1877, *Paratrygon* Dumério, 1865 e *Plesiotrygon* Rosa, 1987) e pelo menos 18 a 20 espécies (ROSA et al., 2010). Recentemente, Carvalho et al. (2011) caracterizaram mais um gênero, denominado *Heliotrygon* Carvalho e Lovejoy, 2011, no qual descreveram duas novas espécies *Heliotrygon gomesi* e *Heliotrygon rosai*. *Potamotrygon* e *Heliotrygon* são gêneros poliespecíficos, enquanto *Paratrygon* e *Plesiotrygon* são monoespecíficos com apenas uma espécie em cada um.

Apesar da descrição recente de novas espécies (ROSA et al., 2009) e também de um novo gênero (CARVALHO et al., 2011), as informações sobre o número de espécies em cada gênero ainda são confusas e controversas, especialmente para *Potamotrygon*. Essa problemática se sucedeu devido a descrições antigas e baseadas em poucos exemplares, bem como a sobreposição de caracteres morfológicos e padrões de cor (ROSA, 1985; CARVALHO et al., 2003).

Na região Amazônica encontra-se a maior diversidade de potamotrigonídeos, alguns com distribuição ampla como as arraia *Paratrygon aiereba* Muller & Henle, 1841, *Potamotrygon motoro* Muller & Henle, 1841, e *Potamotrygon orbignyi* Castelnau, 1855, e outras com distribuição restrita como *Potamotrygon* sp. (arraia cururu), *Potamotrygon* sp. (arraia jabuti), *Potamotrygon leopoldi* Castex & Castello, 1970, e *Potamotrygon henlei*

Castelnau, 1855, que são endêmicas das bacias dos Rios Negro, Tapajós, Xingu e Tocantins, respectivamente (ROSA, 1985; ARAÚJO, 1998; CARVALHO et al., 2003; ARAÚJO, 2004).

Em municípios das regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil, localizados às margens do Rio Paraná e à montante das Sete-Quedas de Guaíra/PR, os relatos da existência de espécies de arraias pertencentes à família Potamotrigonidae passou a ocorrer em meados da década de 70. As alterações ambientais causadas pelas construções de hidroelétricas como, por exemplo, a perda de barreiras geográficas e a existência de eclusas e escadas de peixes tem favorecido a colonização por diversas espécies, incluindo arraias, do Alto Rio Paraná (GARRONE NETO et al, 2007).

As arraias de água doce exploram diferentes habitats, que vão desde praias, pequenas enseadas de fundo rochoso ou barrento, folhiços, lagos até as florestas inundadas (CARVALHO et al., 2003).

2.1. Principais aspectos biológicos

Os potamotrigonídeos possuem fecundação interna com o desenvolvimento de trofonema, aspectos mais próximos aos observados em mamíferos do que ao próprio grupo dos peixes. Além disso, após o nascimento as fêmeas exibem cuidado parental sobre a prole, que pode durar até um mês após o parto (ARAÚJO, 1998).

Contudo, as arraias de água doce possuem algumas características comuns a outros elasmobrânquios, como crescimento lento e grande longevidade, padrões complexos de reprodução e maturação tardia, aspectos que determinam baixas taxas de renovação populacional e, conseqüentemente, maior vulnerabilidade aos impactos oriundos da exploração pesqueira a médio e longo prazo (ARAÚJO et al., 2004; CARRIER et al., 2004).

Nas arraias *Potomotrygon falkneri* Castex & Maciel, 1963e *P. motoro* da planície alagável do alto rio Paraná foram encontradas diferenças morfométricas relacionadas ao

tamanho relativo dos olhos, boca e à cavidade oro-branquial, possivelmente associadas a diferenças na obtenção de alimentos (SILVA, 2006) e ao habitat, fatores que podem se refletir nas propriedades sanguíneas, principalmente na bioquímica plasmática (OLIVEIRA et al., 2010).

Lonardoni et al. (2006) observaram variação sazonal na quantidade e frequência de ocorrência dos recursos alimentares entre o período de seca e cheia no alto rio Paraná para *P. falkneri* e *P. motoro*, demonstrando que o ambiente também pode ser um fator determinante nas distintas estratégias adotadas pelas arraias. De acordo com Almeida et al. (2009), as arraias de água doce apresentam preferências quanto à ocupação e uso de habitat associados às condições ambientais, assim como observados em outros elasmobrânquios.

Akemiet al. (2010), analisando os conteúdos estomacais entre as espécies *P. motoro*, *P. orbignyi*, *P. aiereba* e *Potamotrygon* sp. (arraia cururu), verificaram que *P. motoro*, *P. orbignyi* e *P. aiereba* possuem preferência alimentar por crustáceos, insetos e teleósteos, respectivamente, enquanto a arraia cururu possui uma dieta mais generalista entre insetos, crustáceos e teleósteos, sem demonstrar uma nítida preferência alimentar por quaisquer desses itens.

2.2. Diversidade parasitológica

Assim como outros peixes ornamentais, as arraias de água doce são capturadas na natureza e possuem uma diversidade de parasitos própria, ainda desconhecida. Estes parasitos raramente são fatais, pois no ambiente natural há um equilíbrio na relação parasito, hospedeiro e ambiente, evitando a manifestação de doenças (PAVANELLI et al., 2008).

A diversidade pode ser influenciada por fatores que interferem nesta relação, como a disponibilidade de hospedeiros, o estado fisiológico e nutricional do peixe e as qualidades físico-químicas da água (TAKEMOTO et al., 2004). Mudanças ambientais, como as sazonais,

que causam alterações nos fatores abióticos do ecossistema, também podem interferir nesta relação (KADLEC et al., 2003) e favorecer a multiplicação dos parasitos (PAVANELLI et al., 1997), interferindo nos índices parasitários (prevalência, intensidade e intensidade média).

A diversidade dos parasitos de peixes é bem ampla e abrange diferentes grupos zoológicos (protozoários, helmintos e crustáceos). A presença desses parasitos nos peixes ornamentais depende em grande parte das condições de manejo e da procedência dos peixes. As alterações que podem provocar variam de acordo com a intensidade da infestação, que direta ou indiretamente pode reduzir o crescimento, diminuição da resistência à pressão do ambiente, facilitar o surgimento de infecções secundárias por fungos e bactérias, podendo até causar a morte dos peixes (KABATA, 1985; PAVANELLI et al., 2008). Por isso, as infecções parasitárias são um desafio para o mercado de peixes ornamentais (TAVARES-DIAS et al., 2009), incluindo as arraia de água doce.

A respeito dos parasitos intraeritrocitários, eles, frequentemente, são encontrados em peixes (DAVIES et al., 2001; CLEWLEY et al., 2002; ARAGORT et al., 2005; HAYES et al., 2006; SMIT et al., 2006). Esses parasitos se aproveitam de flutuações de temperatura, estratégias de reprodução, padrões genéticos populacionais, como também hábitat e comportamento migratório para reproduzir e se proliferar no sangue dos hospedeiros (DAVIES et al., 2000). Dentre os principais hemoparasitos de peixes encontram-se espécies do Filo Euglenozoa (Família Trypanosomatidae) e do Filo Apicomplexa (Família Haemogregarinidae).

3. Classificação

3.1. Filo Apicomplexa Levine, 1970

O filo Apicomplexa inclui mais de 5000 espécies catalogadas, sendo todas parasitas obrigatórias, algumas são patogênicas, outras não causam nenhuma alteração clínica no seu hospedeiro (LEVINE, 1988; BOWMAN e LYNN, 1995).

Os membros do Filo Apicomplexa apresentam complexo apical em algum estágio de desenvolvimento, constituído de anéis polares, anel apical, roptrias, micronemas, e microtubos subpeliculares, o que facilita a entrada na célula do hospedeiro (DAVIES, 1995).

O ciclo de vida apresenta três estágios de desenvolvimento: merogonia, esporogonia e gamontogonia (ROHDE, 2005). A merogonia, no vertebrado, dará origem aos merozoítos e, posteriormente, aos gametas (gamontogonia) no hospedeiro vertebrado. Os gamontes formarão os gametas, masculinos e femininos. Os parasitas têm ontogenia proliferativa cíclica na qual os gamontes masculinos desenvolvem-se em um ou mais microgametas, em que cada um fecundará um macrogameta produzindo o zigoto, que se dividirá como oocisto em múltiplos esporozoítos (esporogonia) (SIDALL, 1995).

Apicomplexa de peixes estão divididos em dois grandes grupos: Coccidia (ROHDE, 2005) e Adeleorina (SIDALL, 1995). O primeiro agrupa parasitas intestinais com produção de oocistos resistentes, e o segundo, parasitas sanguíneos com a merogonia e a gamontogonia em peixes e a esporogonia ocorrendo nos hospedeiros invertebrados (ROHDE, 2005).

3.2. Haemogregarinidae Léger, 1911.

O termo hemogregarina é usado para descrever coletivamente parasitas sanguíneos pertencentes às subordens Adeleina Léger, 1911 e Eimeriina Léger, 1911 do Filo Apicomplexa (Levine et al., 1980). As principais famílias deste grupo são Hepatozoidae Wenyon, 1926 e Hemogregarinidae Léger, 1911, um único gênero em Hepatozoidae (Smith,

1996) e três gêneros em Haemogregarinae : *Haemogregarina* Danilewsky, 1885, *Cyrtia* Lainson, 1981 e *Desseria* Siddal, 1995 (BARTA, 1989; SIDDALL, 1995; DAVIES, 1995).

As espécies de Haemogregarinidae podem ser encontradas nas células sanguíneas da circulação periférica, assim como, outros tecidos do corpo do hospedeiro vertebrado (peixes, anfíbios e répteis). No hospedeiro definitivo invertebrado eles são encontrados na hemocele, no epitélio intestinal e no trato reprodutivo (DESSER, 1993).

Relatos indicam que os eritrócitos maduros do sangue periférico são as principais células dos hospedeiros vertebrados parasitadas por trofozoítos, esquizontes e gamontes. Os esquizontes são encontrados somente nas espécies em que há merogonia eritrocitária, e gamontes naquelas que fazem merogonia tecidual e eritrocitária (KHAN, 1978; DESSER, 1993; DAVIES, 1995).

Os trofozoítos ou merozoítos têm formato ovóide e deslocam o núcleo da célula hospedeira para um dos pólos. Eles são as menores formas intracelulares observadas e são consideradas as formas precursoras dos esquizontes. A presença dessa forma parasitaria em monócitos, linfócitos e em células do baço e fígado também foram detectadas em algumas espécies de peixes (KIRMSE, 1979; DAVIES, 1995).

Os esquizontes ou merontes foram descritos causando poucas alterações nas hemácias, deslocando o núcleo ou justaposto a ele. Assim como os trofozoítos, também há descrições de merontes em leucócitos (LAIRD, 1953; KIRMSE, 1979; DAVIES 1995).

Os gamontes apresentam uma das extremidades recurvada e o comprimento aproximadamente igual ao da célula hospedeira, o citoplasma é granuloso e foram observados deslocando os núcleos celulares para a lateral (KHAN, 1978; DESSER, 1993).

Formas livres do parasita foram reportadas, e segundo Davies (2000) isso ocorre logo após a inoculação pelo hospedeiro invertebrado.

A descrição de algumas hemogregarinas é incerta devido à dificuldade na diferenciação entre espécies e entre gêneros baseando-se somente nos gamontes (DESSER, 1993).

As hemogregarinas geralmente são diferenciadas pela formação dos seus oocistos, sendo eles pequenos, e a quantidade de esporozoítos varia entre os gêneros *Haemogregarina* e *Cyrilia*. Os oocistos são formados a partir de um único centro germinativo, sem formação de esporocisto. Apesar das classificações a partir dos gamontes e dos oocistos, há poucos relatos incluindo ciclo de vida, vetores e formas de transmissão (DESSER, 1993; DAVIES, 1995).

A sazonalidade tem sido apontada como um processo ecológico envolvido no desenvolvimento de hemogregarinas em peixes. Fatores como temperatura, comprimento do dia, migração entre outros estão envolvidos nesse desenvolvimento, em ambos os hospedeiros (DAVIES, 1995).

Há relatos de maior prevalência e de picos de parasitemia em baixas temperaturas e na presença de hirudíneos (sanguessugas), no entanto, algumas pesquisas apontam índices parasitêmicos constantes durante o ano todo (DAVIES, 1995).

3.2.1 *Haemogregarina* Danilewsky, 1885.

O gênero *Haemogregarina* incluía cerca de 400 espécies parasitas de vertebrados e com ciclo de vida heteroxeno (DESSER, 1993; SIDDAL, 1995).

Os parasitas desse gênero infectam vertebrados aquáticos além de répteis e anfíbios. Para esse último grupo, a classificação é incerta, pois, não há relato de ciclos de vida de nenhuma espécie de *Haemogregarina* nesses animais (DESSER, 1993). Apenas quatro espécies encontradas em peixes têm seu ciclo de vida descrito: *Haemogregarina balli* Paterson e Desser, 1976, *Haemogregarina bigemina* Laveran e Mesnil, 1901, *Haemogregarina myoxocephali* Fantham, Porter e Richardson, 1942, e *Haemogregarina*

uncinata Khan, 1978 (KHAN, 1978; SIDDALL et al., 1993; DESSER, 1993; DAVIES, 1995; DAVIES et al., 2001).

O ciclo de vida de espécies deste gênero é heteroxeno (Figura 1), sendo que o desenvolvimento assexuado ocorre no hospedeiro vertebrado e o sexuado, no hospedeiro invertebrado. Os oocistos são formados após a fecundação dos gametas, na microvilosidade da parede intestinal e são formados esporozoítos a partir de um único centro germinativo. As espécies de *Haemogregarina* são caracterizadas por apresentarem esquizogonia eritrocitária, com os merontes possuindo forma vermicular e a transmissão ocorrendo através do repasto sanguíneo (DESSER, 1993; DAVIES e SMIT, 2001; SIDDAL e DESSER, 2001).

Os vetores descritos são sanguessugas (hirudíneos) e isópodos. Entre os hirudíneos encontram-se espécies como *Oceanobdella blenni* Knight-Jones, 1940, *Placobdella ornata* Verrill, 1872 e *Oxytonostoma typica* Malm, 1863, sendo vetores de *H. bigemina*, *H. balli* e *H. myoxocephali* respectivamente, e isópodos do gênero *Gnathia* Leach, 1814 foram descritos transmitindo *H. bigemina* como demonstrado na Figura 1 (DESSER, 1993; DAVIES e JOHNSTON, 2000; DAVIES e SMIT., 2001, SIDDAL e DESSER, 2001).

Para *H. balli*, na fase assexuada, os merozoítos inoculados pelos vetores formam os merontes pré-eritrocíticos e produzem cerca de 10 a 25 merozoítos, que se desenvolvem em células de diversos órgãos como, por exemplo, rins, fígado e pulmões. Os merontes eritrocitários formam de seis a oito merozoítos, que infectam outros eritrócitos formando gamontes ou outros merontes. Os merozoítos que formam os gamontes diferenciam-se em macro e microgamonte dentro dos eritrócitos periféricos do hospedeiro (DESSER, 1993).

Durante o repasto sanguíneo, os vetores ingerem eritrócitos infectados. Os gamontes formam um complexo reprodutivo (sizígia) e através da gametogênese o microgamonte produz quatro microgametas aflagelados e, apenas um, fecundará o macrogameta associado. Essa fase é observada após seis dias da infecção do hospedeiro invertebrado. Através da

esporogonia, os oocistos são formados. Eles apresentam forma arredondada, citoplasma vacuolizado e núcleo central e são encontrados livres no tecido intestinal do hospedeiro até 19 dias após a infecção. Os oocistos maduros são ovais e com oito a 32 esporozoítos e migram para o somito anterior do hospedeiro invertebrado. Os esporozoítos originam merontes primários contendo os merozoítos. Estes merozoítos movem-se para a probóscide do vetor até serem inoculados no hospedeiro vertebrado (DESSER, 1993; DAVIES et al., 2001).

A formação de oocisto, a quantidade de esporozoítos formados durante o ciclo de vida e o local de formação de merontes varia entre algumas espécies.

Os oocistos em *H. uncinata*, por exemplo, tem formação no epitélio intestinal dos hospedeiros invertebrados. Em *H. myoxocephali* a esporogonia, logo após a formação de oocisto, ocorre de forma epitelial no intestino e em *H. bigemina* o oocisto é encontrado livre no sangue do repasto sanguíneo, na região anterior do intestino (KHAN, 1978; DAVIES, 1982).

O número de esporozoítos apresenta variações. Khan (1978) relatou a presença de oocisto com cerca de 100 esporozoítos em *H. uncinata*, porém essa espécie foi reclassificada para um gênero diferente devido à grande diferença no número de esporozoítos. Em *H. myoxocephali* a esporogonia resulta em 16-32 esporozoítos conforme descrito por Siddal e Desser (1991). Os mesmos autores (SIDDAL e DESSER, 2001), em estudos posteriores, descreveram a produção de 16 esporozoítos em *Haemogregarina delageie* Laveram e Mesnil, 1901 em *Raja erinacea* Mitchill, 1825. Para a *H. balli*, Desser (1993) descreveu a presença de oito esporozoítos em oocistos maduros.

A merogonia em *H. uncinata* ocorre em células dos rins, do fígado e dos pulmões (KHAN, 1978), enquanto que em *H. balli* ocorrem em células do epitélio intestinal (SIDDAL e DESSER, 1991), assim os merontes podem ser formados tanto em eritrócitos quanto nos tecidos.

A maioria das espécies de hemogregarinas encontradas em peixes é classificada sendo *Haemogregarina*, apesar de haver algumas sinonímias e equívocos quanto à classificação. Davies (1995) afirma que algumas espécies descritas são realmente pertencentes a esse gênero, porém, outras seriam classificadas, mais adequadamente, como *Cyrilia*.

No Brasil, *Haemogregarina platessae* Lebailly, 1904 foi descrita por Davies e colaboradores (2008) parasitando *Paralichthys orbignyanus* Valenciennes, 1839 (linguado) do Estuário da Lagoa dos Patos. Este parasita, anteriormente, era classificado como *Desseria platessae* Lebailly, 1904 (SIDDALL, 1995), porém, a presença da divisão intraeritrocitária o exclui deste gênero (Figura 2).

No Brasil os relatos de *Haemogregarina* sp, são raros. Além de *H. platessae* Eiras et al. (2012) relatam, em sua revisão, *Haemogregarina lepidosirenis* Jepps, 1927, em *Lepidosiren paradoxa* Fitzinger, 1837, (piramboia) e *Haemogregarina mugili* Carini, 1932, em *Mugil liza* Valenciennes, 1836 (tainha).

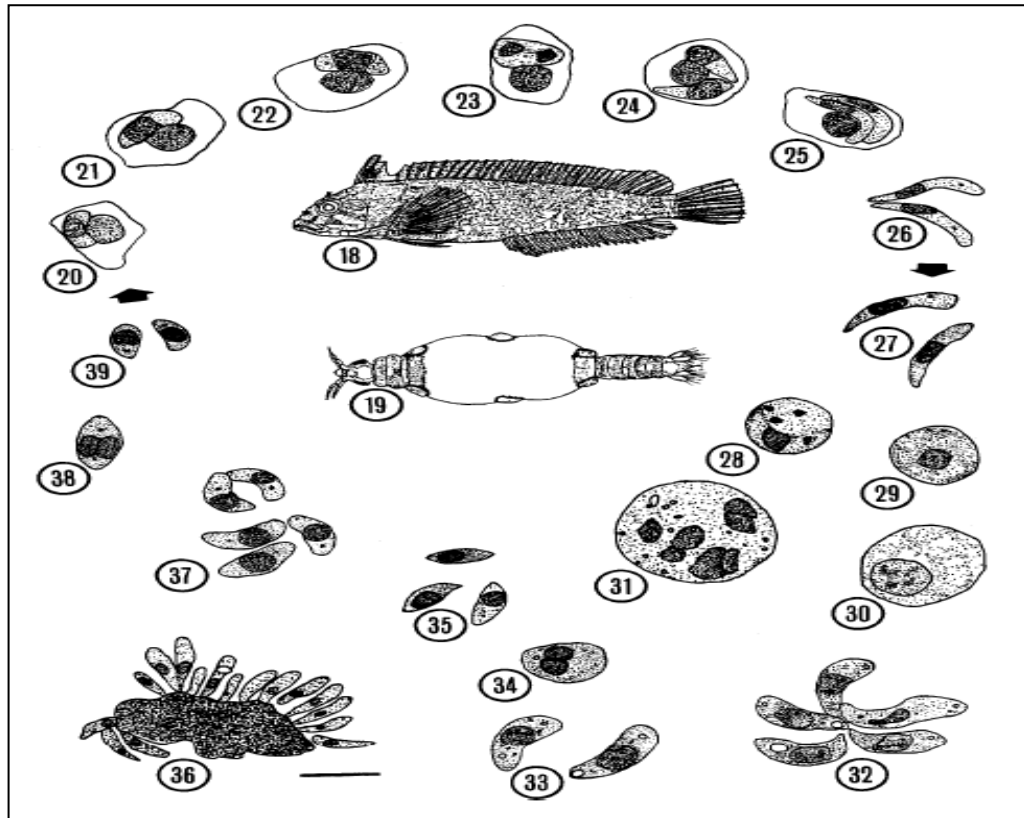


Figura 1. 20-39 – Projeção microscópica para ilustrar o ciclo de vida de *Haemogregarina bigemina*. 18- *Clinus superciliosus*; 19- Larva de *Gnathia africana*; 20-26- Estágio no sangue periférico de *C. superciliosus*; 27-39 – Estágio em *G. africana*. As setas indicam a transferência do parasita de um hospedeiro para outro. 20 – Trofozoíto intraeritrocitário; 21-22. Merontes intraeritrocitários; 23 – Fissão binária prégamontica; 24- Gamontes intraeritrocíticos imaturos e pareados; 25- Gamontes intraeritrocíticos maduros e pareados; 26 – Gamontes maduros livres dos eritrócitos do hospedeiro; 27 – Gamontes livres como aqueles vistos no hospedeiro vertebrado; 28 – Micro e macrogamontes associados com três núcleos microgaméticos; 29-30 – Oocistos imaturos em diferentes estágios do desenvolvimento; 31 – Oocisto maduro; 32 – Esporogonia para a formação de cinco esporozoítos; 33 – Esporozoítos maduros e livres; 34 – Divisão da primeira geração de merontes; 35 – Primeira geração de merozoítos; 36 – Segunda geração de merontes produzindo imaturos merozoítos delgados; 37 – Segunda geração de merozoítos maduros; 38 – Divisão da terceira geração de merontes; 39 – Terceira geração de merozoítos (DAVIES et al., 2001).

3.2.2. *Cyrlia*, Lainson 1981

Lainson (1981) reportou a infecção de uma espécie de peixe de água doce no Brasil, *Synbranchus marmoratus* Bloch, 1795, muçum, e analisando a morfologia das formas evolutivas encontradas nos peixes e em sanguessugas descreveu o novo gênero *Cyrlia*, dando o nome à espécie de *Cyrlia gomesi*. Porém, essa espécie foi reclassificada por Lainson (1992)

como *Cyrlia lignieresii*, devido aos estudos anteriores que descreviam a espécie *Haemogregarina lignieresii* em *Anguilla vulgaris* Shaw, 1803 (enguia do Velho Mundo) e que, erroneamente, era incluída no gênero *Haemogregarina*.

Existem poucas espécies descritas neste gênero, porém, assim como *Haemogregarina*, têm ciclo heteroxeno como demonstrado na Figura 3 (DAVIES, 1995).

A fase assexuada inicia-se quando o hospedeiro invertebrado inocula os esporozoítos no hospedeiro vertebrado por meio de repasto sanguíneo. Os esporozoítos penetram nos eritrócitos e por inúmeras divisões transformam-se em esquizontes, sendo visto com maior frequência em células nos capilares dos rins. Em contraste ao que ocorre em *Haemogregarina*, os esquizontes de *Cyrlia* não são encontrados em fígado, baço e intestino (LAINSON, 1981).

Os esquizontes de *Cyrlia* têm o núcleo localizado em um dos pólos, não apresentam nenhuma inclusão citoplasmática e uma das extremidades é fina e recurvada. Lainson (1981) descreveu duas formas de esquizontes de *C. lignieresii* presentes no hospedeiro, uma forma menor produzindo seis merozoítos, e uma forma esquizogônica maior, produzindo maior quantidade de merozoítos de tamanho inferior àqueles encontrados nos esquizontes menores.

Os gamontes formados a partir dos merozoítos eritrocitários são encontrados no sangue periférico. Eles ocupam quase toda a extensão dos eritrócitos e são envoltos por um vacúolo. Os micro e macrogamontes apresentam dimorfismo sexual aparente (Figura 4), sendo os microgamontes dobrados em forma de “U”, e os macrogamontes distinguem-se por conterem vários grânulos azurófilos e aumentarem de tamanho ao penetrarem nas células epiteliais do ceco intestinal (LAINSON, 1981; DAVIES, 1995).

A fase sexuada inicia-se após o hospedeiro invertebrado (sanguessuga) ingerir os eritrócitos infectados pelo parasita. Os microgamontes e macrogamontes foram encontrados livres após quinze horas, no intestino das sanguessugas. Lainson (1981) descreveu a

esporogonia sendo restrita ao ceco intestinal do hospedeiro vertebrado, que para *C. lignieresii* é *Haementeria lutzi* Pinto, 1920 (Lainson, 1981).

O microgamonte produz quatro microgametas, porém, nem todos os macrogamontes parecem ser fertilizados. A divisão do oocisto produz 20-30 esporozoítos e as migrações para a probóscide não foram descritas (LAINSON, 1981; DAVIES, 1995).

Diniz et al. (2002), em estudos com *S. marmoratus* e *C. lignieresii*, observaram parasitemia elevada em animais jovens, com gamontes, trofozoítos e merontes vistos em extensões sanguíneas, o que os autores descrevem ser infecção recente. Estes autores relatam, através de microscopia eletrônica, as características dos trofozoítos. Na porção apical intraeritrocitária é possível observar os conóides, as roptrias e vários micronemas preenchendo a região anterior do parasita e um núcleo central.

Três características incomuns aos Apicomplexa foram descritas em *Cyrlia* por Diniz et al. (2002), sendo elas, a presença de um vacúolo parasitóforo (Figura 5) com corpos esféricos e alongados e sem contato íntimo com a membrana do parasita, e a presença de invaginação membranosa, vista dividindo o parasita em compartimentos, e que segundo os autores devem atuar no aumento da absorção de alimentos.

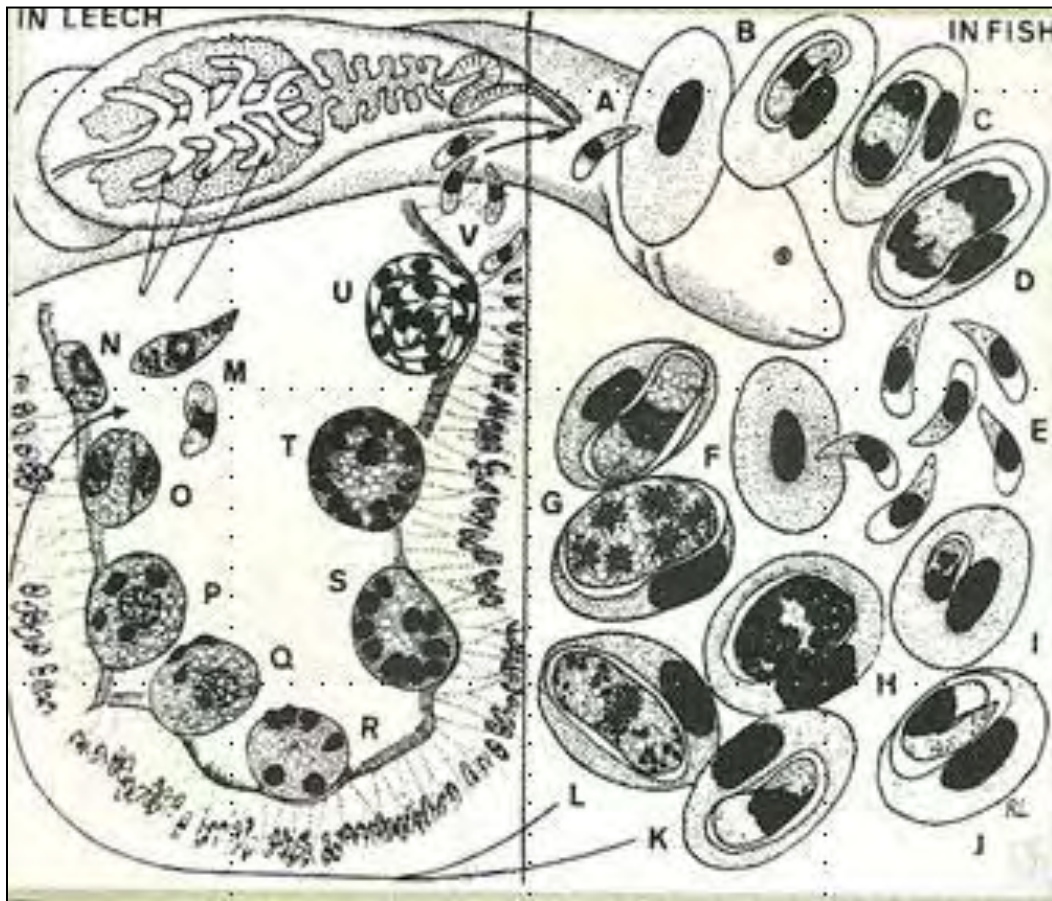


Figura 2. Diagrama representando o ciclo de vida de *Cyrilia gomesi* (Neiva e Pinto, 1926) descrito por Lainson (1981) em *Synbranchus marmoratus* e na sangressuga *Haementeria lutzi*. A. Trofozoítos inoculados pela sangressuga nos eritrócitos. B-H Sucessivas gerações de merontes ou esquizontes nos eritrócitos, principalmente nos capilares do rim, mas também encontrados na circulação do sangue periférico. I-J. Desenvolvimento de gamontes nos eritrócitos. K. Microgamonte maduro no sangue periférico. L. Macrogamonte maduro no sangue periférico. M. Macrogamonte e Microgamonte livres no ceco intestinal da sangressuga. N. Fixação e crescimento do macrogamonte na superfície do epitélio intestinal. O. Associação do microgamonte e do macrogamonte. P. Divisão do microgamonte dando origem a 4 microgametas: fertilização dos microgametas. Q. Macrogamonte fertilizado com microgametas residuais ainda fixados. R-U. Divisão do núcleo zigótico dando origem ao oocisto com 20-30 esporozoítos. V. Esporozoítos passando através do epitélio intestinal e migrando para a probóscide da sangressuga, de onde serão inoculados no próximo peixe (LAINSON, 1981)

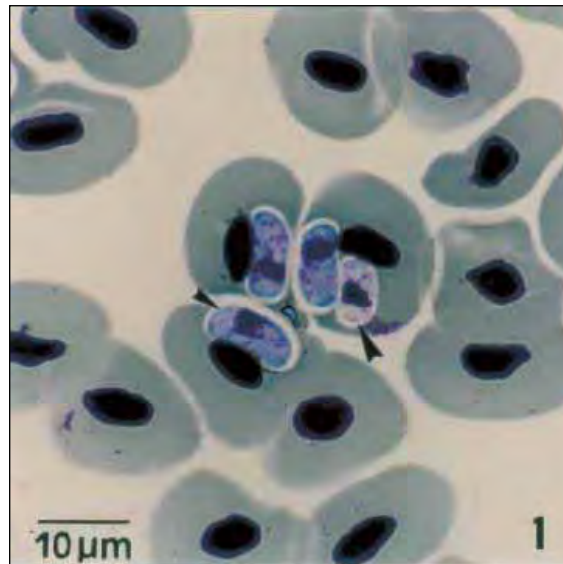


Figura 3. Macrogametes e microgamete de *Cyrilia lignieresii* observados no peixe *Synbranchus marmoratus*. Coloração em GIEMSA (Fonte: DINIZ et al., 2002)

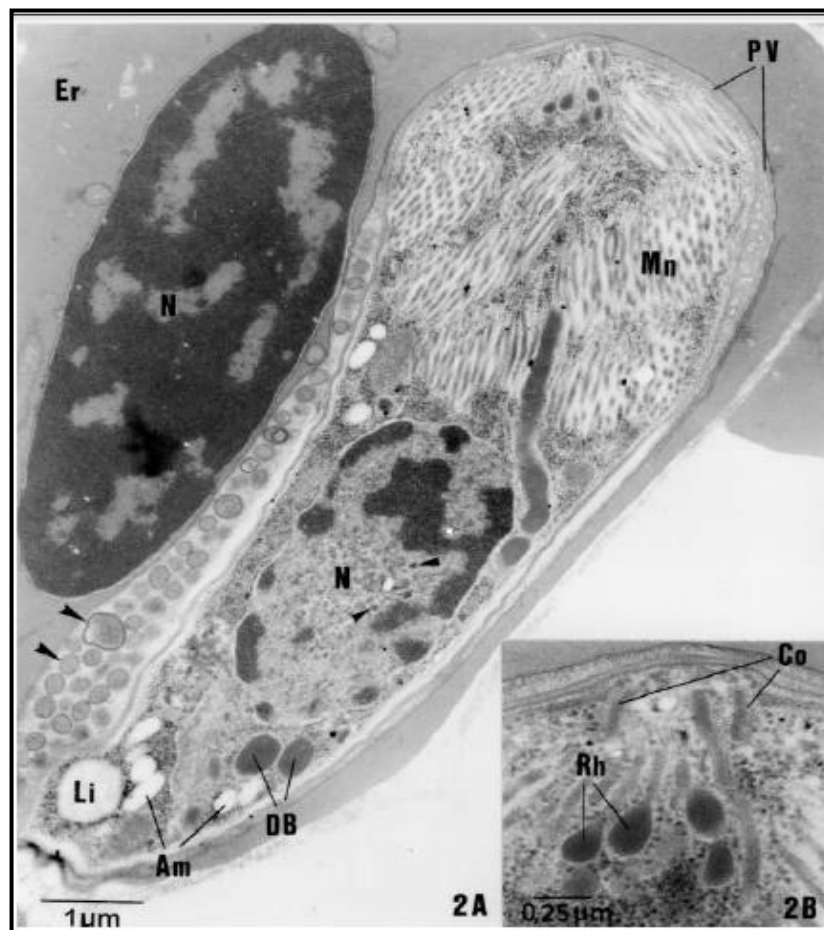


Figura 4. Trofozoíto intraeritrocitário de *Cyrilia lignieresii* em *Synbranchus marmoratus*. PV: vacúolo parasitóforo; Am: Grânulos de amilopectinas; DB: corpos densos; Er: eritrócito; MN: micronemas; N: Núcleo (Fonte: DINIZ et al., 2002).

3.2.3. *Desseria* Siddal, 1995

O gênero *Desseria* foi descrito a partir de estudos de análise filogenética feitos por Siddall (1995). Algumas características de espécies descritas como pertencentes aos gêneros *Hepatozoon* e *Haemogregarina*, como *Haemogregarina myoxocephali*, eram diferentes daquelas características típicas a estes gêneros, portanto, a criação do gênero *Desseria* foi necessária (SIDDALL, 1995).

A gametogênese e a esporogonia em *Desseria* ocorrem dentro das células epiteliais intestinais de hirudíneos (Psicicolidae). A gametogênese produz quatro microgametas aflagelados e a esporogonia (acística) com um único centro germinativo origina dezesseis ou mais esporozoítos intracelulares. A primeira merogonia ocorre, ainda, no hospedeiro definitivo resultando em quatro merozoítos. Estes merozoítos são transmitidos aos peixes através do repasto sanguíneo dos hirudíneos. A segunda merogonia ocorre somente nos órgãos internos do hospedeiro intermediário e não nos eritrócitos, como descrito para *Haemogregarina* e *Cyrtosporidia* (SIDDALL, 1995; DAVIES e JOHNSTON, 2000).

Em estudos com *Mugil cephalus* Linnaeus, 1758, Smit et al. (2002) relataram a presença de *Desseria* sp. no Sul da África. Eles descreveram pequenas formas intraeritrocitárias como trofozoítos, que apresentavam uma extremidade ligeiramente mais larga que a outra, e o núcleo, geralmente, central. Os gamontes imaturos ou pré-gamontes eram alongados com a extremidade anterior mais larga que a posterior e o núcleo central. No entanto, os gamontes maduros eram monomórficos, largos e alongados, com uma das extremidades curvada para o núcleo do eritrócito (Figura 6).

Ainda no Sul da África, Smit e Davies (2006) descreveram em *Zeus capensis* Valenciennes, 1835, a infecção por *Desseria zeii* Smit e Davies, 2006. Os estágios observados foram gamontes, geralmente, monomórficos. O comprimento e a largura variavam o que os autores sugeriram ser diferentes estágios de maturidade. Os gamontes eram observados

sozinhos ou em pares nos eritrócitos maduros, apresentando formas recurvadas, situados ao lado do núcleo dos eritrócitos, causando deformações celulares e deslocamento dos núcleos.

Davies et al. (2012) relataram a presença de dois estágios evolutivos de *Desseria harriottae* Davies et al., 2012, em eritrócitos de *Harriotta raleighana* Goode e Bean, 1895 (quimera) e denominaram como pré-gamontes as formas delgadas e gamontes as formas largas. Em *Halosauro psismacrochir* Günther, 1878 (holossauro abissal) eles observaram os gamontes intraeritrocitários de *Desseria mashalllairdi* (Khan, Threlfall & Whitty, 1992), Smith, 1996, estreitos com o polo anterior amplo e alongado, aparentemente, sem fase de divisão intracelular.

No Brasil, a espécie, anteriormente, descrita como sendo *Haemogregarina lepidosirenis* parasita de *Lepidosiren paradoxa* Fitzinger, 1837 (piramboia) foi reclassificada para *Desseria lepidosirenis* (SIDDALL, 1995).

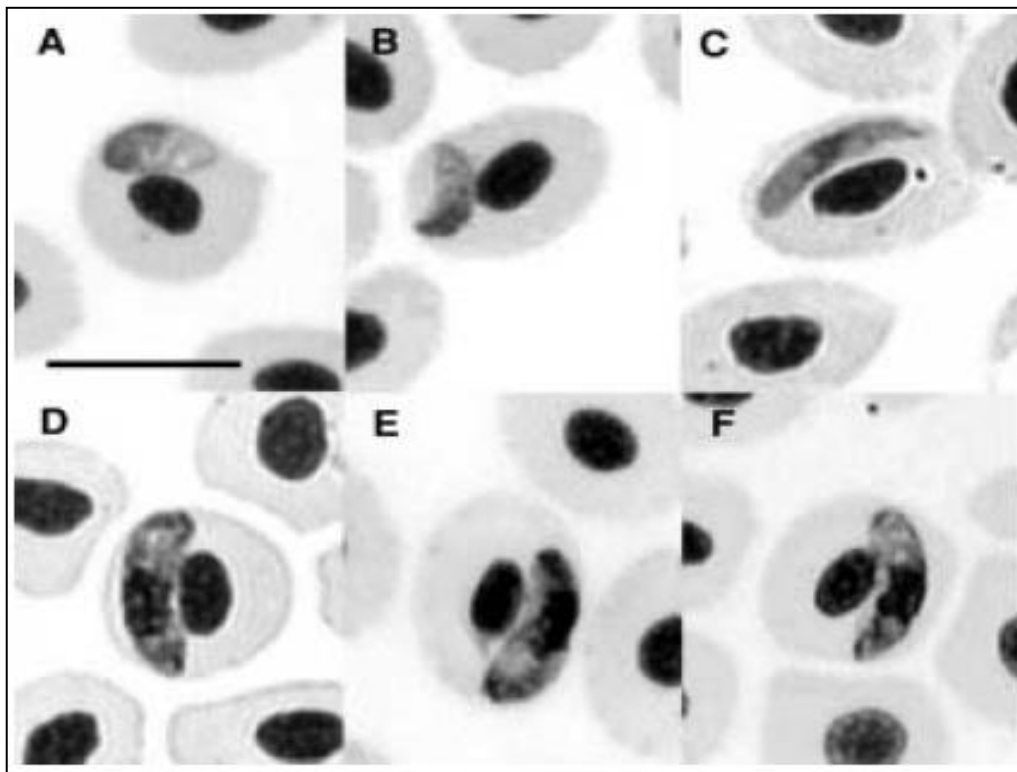


Figura 5. Estágios de desenvolvimento de *Desseria* sp. em *Mugil cephalus*. A-B: Trofozoítos; C: Gamonte imaturo; D-F: Gamonte maduros. (Fonte: SMIT et al., 2002).

3.3. Hepatozoidae, Wenyon, 1926

Os protozoários da família Hepatozoidae apresentam ciclo de vida heteroxeno, porém o gênero *Hepatozoon* diferencia-se de outros gêneros pela variação de hospedeiros, a forma de transmissão aos vertebrados e o número de esporozoítos formados nos oocistos, além de não haver relatos de merogonia eritrocítica (DESSER, 1993; SMITH, 1996).

Para hospedeiros invertebrados, além de hirudíneos, há relatos de esporogonia ocorrendo em mosquitos, em ácaros incluindo carrapatos, em pulgas, dentre outros e para hospedeiros vertebrados, os de maiores frequências são répteis, anfíbios, mamíferos e raramente, aves (BALL, et al., 1969; SMITH, 1996).

Somente o gênero *Hepatozoon* pertence a essa família (BARTA, 1989; DESSER, 1993).

3.3.1. Gênero *Hepatozoon*, Miller 1908

Espécies de *Hepatozoon*, a exemplo das demais hemogregarinas, foram, a maioria, descritas e nomeadas somente com base na descrição de suas formas intraeritrocitárias (DESSER, 1993).

A infecção por *Hepatozoon* spp. ocorre pela ingestão do hospedeiro invertebrado infectado e não mais durante o repasto sanguíneo como o descrito nos demais gêneros, além da infecção através da ingestão de hospedeiros facultativos, como por exemplo, anuros e roedores (LOWICHIK et al., 1987; SMITH, 1996; JOHNSTON et al. 2008).

Os oocistos em *Hepatozoon* formam quatro, 16 ou mais esporozoítos, dentro de centenas de esporocistos e não mais oito ou 20-30 esporozoítos livres como em *Haemogregarina* e em *Cyrlia* (DAVIES, 1995).

O ciclo de vida sexuado inicia-se após os gamontes serem ingeridos pelo vetor hematófago através do repasto sanguíneo. Nos vetores, os gamontes dão origem aos gametas, que após a fusão formarão os oocistos em diferentes localizações, de acordo com a espécie. Para *Hepatozoon catesbiana* Stebbins, 1903, parasita de *Rana catesbeiana* Shaw, 1802 (rã-touro-americana) os gamontes encaminham-se às células do trato intestinal ou do túbulo de Malpighi do vetor invertebrado e por gametogênese transformam-se em gametas masculinos e femininos. Posteriormente, há a fecundação com a formação de oocisto poliesporocístico, contendo quatro esporozoítos por esporocistos. Após ingerir um vetor hematófago contaminado, os anuros apresentam a formação de grandes merontes no fígado. Esses merontes liberam os merozoítos na corrente sanguínea, que infectam os eritrócitos e transformam-se em gamontes (BALL et al., 1967; LOWICHUK et al., 1987; SMITH, 1996).

Apesar das diferenças no ciclo, todas as espécies de *Hepatozoon* compartilham a mesma característica de formação de grandes oocistos multiesporocísticos, além de não apresentarem merogonia intraeritrocítica, mas sim em células teciduais (DESSER, 1993).

Os gamontes de *Hepatozoon* spp., assim como os de *Haemogregarina* spp., *Desseria* spp. e *Cyrtospora* spp. podem ser encontrados em eritrócitos, quando infectam anfíbios, répteis e, possivelmente, peixes, e em leucócitos, no caso de espécies que infectam mamíferos (DESSER, 1993).

Os relatos de *Hepatozoon* spp. infectando peixes são raros e controversos. Há poucas espécies mencionadas por Davies (1995), em revisão sobre hemogregarinas de peixes. Merontes de *Hepatozoon esoc* foram observados parasitando leucócitos de *Esox* sp., porém, são inexistentes estudos sobre seu ciclo de vida (BYKHOVSKAYA-PAVLOVSKAYA et al., 1962 apud DAVIES, 1995). Pode ser que esta espécie, com pesquisas aprofundadas, venha a ser trocada de gênero, visto que, *Hepatozoon* spp. não possuem merogonia em leucócitos, somente em células teciduais. É provável que *Hepatozoon* spp. não seja parasita de peixes.

4. Considerações finais

Os estudos relacionados as espécies da família Haemogregarinidae parasitas de peixes, tanto Osteichthyes, quanto Condrichthyes são escassos e, muitas vezes, apresentam equívocos ou são imprecisos quanto a sua classificação. Evidencias de tal fato foram as publicações de reclassificação e surgimento de novos gêneros para melhor classificação de alguns parasitas anteriormente descritos (LAINSON, 1981; SIDDALL, 1995).

Com exceção do gênero *Hepatozoon*, cujas pesquisas incluem, além de caracterização morfológica, também, caracterização molecular, principalmente para espécies de mamíferos e répteis (RUBINI et al., 2005; O'Dwyer et al., 2013), e que provavelmente não são parasitos de peixes, para as espécies de Haemogregarinidae os estudos limitam-se a caracterização morfológica e morfométrica, das formas teciduais e sanguínea, com raras descrições de hospedeiros invertebrados.

No Brasil existem 4035 espécies de peixes de água doce, que representam cerca de 31% das espécies conhecidas no mundo (LEVÊQUE et al., 2008), e somente três espécies de hemogregarinas foram descritas parasitando peixes dulciaquícolas. Desta forma, estudo de hemoparasitos em peixes dulciaquícolas é de suma importância, tanto para entendermos a relação parasita-hospedeiro quanto pelos aspectos biológicos e ecológicos desta interação.

5. Referências

- AKEMI, S. et al. Morphology of lateral line canals in Neotropical freshwater stingrays.(Chondrichthyes: Potamotrygonidae) from Negro River, Brazilian Amazon. **Neotropical Ichthyology**, Porto Alegre, v. 8, n.4, p. 867-876. 2010.
- ALMEIDA, M.P. et al. Factors affecting the distribution and abundance of freshwater stingrays (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) at Marajó Island, mouth of the Amazon River. **Pan-American journal of Aquatic Science**, v. 4, n. 1, p. 1-11. 2009.
- ARAGORT, W. et al. Blood protozoans in elasmobranchs of the family Rajidae from Galicia (NW Spain). **Disease of Aquatic Organism**, Oldendorf, v. 65, p. 65-68. 2005.
- ARAÚJO, M.L.G. **Biologia reprodutiva e pesca de *Potamotrygon* sp (Chondrichthyes - Potamotrygonidae) no médio Rio Negro**. 1998. 171 p. Dissertação (Mestrado) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Universidade Federal do Amazonas. Manaus, 1998.
- ARAÚJO, M.L.G. et al. Freshwater Stingrays (Potamotrygonidae): status, conservation and management challenges. **Information document AC 20 info**, v.8, p. 1-6. 2004.
- BARTA, J. R. Phylogenetic analysis of the Class Sporozoa (Phylum Apicomplexa Levine, 1970): Evidence for the independent evolution of heteroxenous life cycle. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 75, n. 2, p. 195-206, 1989.
- BOWMAN, D.D; LYNN, R. C. **Georgis' parasitology for veterinarians**: Protozoan. 6.ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1995. 429p.
- CARRIER, J.C.; MUSICK, J.A.; HEITHAUS, M.R. **Biology of sharks and their relatives**. CRC Press. 2004.p. 524-546.
- CARVALHO, M. R.; LOVEJOY, N. R.; ROSA, R. S.; Família Potamotrygonidae. In: REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS, C. J. J. **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre: EDIPURS. 2003. p. 22-28.

CARVALHO, M.R.; LOVEJOY, N.R. Morphology and phylogenetic relationships of a remarkable new genus and two new species of Neotropical freshwater stingrays from the Amazon basin (Chondrichthyes: Potamotrigonidae). **Zootaxa**, Auckland, v. 5, p. 13-48. 2011.

CLEWLEY, A.; KOCAN, R. M.; KOCAN, A. A. An intraerythrocytic parasite from the spiny dogfish, *Squalusacanthias* L., from the Pacific Northwest. **Journal of fish diseases**, Oxford, v. 25, p. 693-696. 2002.

COMPAGNO, L.J. V.; COOK, S.F. The exploitation and conservation of freshwater elasmobranchs: status of taxa and prospects for the future. In: OETINGER, M.I.; ZORZI, G. D.(Eds.). **The biology of freshwater elasmobranchs**. Journal of Aquaculture & Aquatic Sciences, v. 7, 1995. p. 62-90.

DAVIES, A. J.; HOSEIN, S.; MERRETT, N. R. Haematozoans from deep water fishes trawled off the Cape Verde Islands and over the Porcupine Seabight, with a revision of species within the genus *Desseria* (Adeleiorina: Haemogregarinidae). **Folia Parasitologica**, Prague, v. 59, p. 1-11, 2012.

DAVIES, A.J. Further Studies on *Haemogregarina bigemina* Laveran e Mesnil, the marine fish *Blenniuspholis* L., and the isopod *Gnathia maxillaris* Montagu. **The Journal of Protozoology**, Lawrence, v. 29, n. 4, p.576-583, 1982.

DAVIES, A.J. The biology of fish Haemogregarines. **Advances in Parasitology**, London, v. 36, p. 118-202, 1995.

DAVIES, A.J.; JOHNSTON, M.R.L. The biology of some intraerythrocytic parasites of fishes, amphibian and reptiles. **Advances in Parasitology**, London, v. 45, p. 1-107, 2000.

DAVIES, A.J.; SMIT, N.J. The life cycle of *Haemogregarina bigeima* (Adeleina: Haemogregarineidae) in South African hosts. **Folia Parasitologica**, Prague, v.48, p. 169-177, 2001.

DAVIES, A.J.; SMIT, N.J. The life cycle of *Haemogregarina bigeima* (Adeleina: Haemogregarineidae) in South African hosts. **Folia Parasitologica**, Prague, v.48, p. 169-177, 2001.

DESSER, S.S. The Haemogregarinidae and Lankesterellidae. In: J.P. KREIER (ed.). **Parasitic protozoa**, New York: Academic Press, p. 247-272. 1993.

DESSER, S.S. The **Haemogregarinidae and Lankesterellidae**. In: KREIER, J. P. 2.ed. 4.v. Parasitic Protozoa. Califórnia: Academic Press, 1993. 247-272 p.

DINIZ, J.A. et al. Some observation on the fine structure of trophozoites of the haemogregarine *Cyrtia ligniriesi* (Adeleiorina: Haemogregarinidae) in erythrocytes of the fish *Synbranchus marmoratus* (Synbranchidae). **Parasitology Research**, Berlin, v. 88, p. 593-597, 2002.

DUNCAN, W.P., INOMATA, S.A.; FERNANDES, M.N. Comércio de raias de água doce na região do Médio Rio Negro, Estado do Amazonas, Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, São Luís v. 5, n. 2, p. 13- 22, 2010.

DUNCAN, W.P.; SILVA, N.F.; FERNANDES, M.N.; Mitochondrion-rich cells distribution, Na⁺/K⁺-ATPase activity and gill morphometry of the Amazonian fresh water stingrays (Chondrichthyes: Potamotrygonidae). **Fish Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v 37, n.3, p.523-531, 2011.

EIRAS, J.C. et al. Checklist of Protozoan parasites of fishes from Brazil. **Zootaxa**, Auckland, v. 3221, p. 1-25, 2012.

GARRONE NETO, D. et al. Registro de ocorrência de duas espécies de potamotrigonídeos na região do Alto Rio Paraná e algumas considerações sobre sua biologia. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 7, n. 1, p. 205-208, 2007.

HAYES, P. M. et al. A new fish haemogregarine from South Africa and its suspected dual transmission with trypanosomes by a marine leech. **Folia Parasitologica**, Prague, v.53, p. 241-248. 2006.

KABAT A. Z. **Parasites and diseases of fish cultured in the tropics**. London: Taylor & Francis, 1985, 318 p.

KADLEC, D. et al. Parasite communities of freshwater fish under flood conditions. **Parasitology Research**, Berlin, v. 89, n. 2, p. 272-283, 2003.

KHAN, R. A. A New Hemogregarine from Marine Fishes. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 64, n.1, p. 35-44, 1978.

KIRMSE, P. D. **Haematoproteozoan parasites of marine fishes with special reference to mariculture**. 1979. 404 f. Tese (Doutorado) Phylosophy Unit of Aquatic Pathobiology) - Univerity of Stirling, Easter, 1979.

LAINSON, R. A protozoologist in Amazonia: neglected parasites, with particular reference to members of the Coccidia (Protozoa: Apicomplexa). **Journal of the Brazilian Association for the Advancement of Science**, v. 44, p. 81-93, 1992.

LAINSON, R. On *Cirilia gomesi* (Neiva e Pinto, 1926) gen. nov. (Haemogregarinidae) and *Trypanossomabourouli* Neiva e Pinto, in the fish *Synbranchus marmoratus*: Simultaneous transmission by the leech *Haementeria lutzi*. In: CANNING, E.U. (Ed.), **Parasitological Topics Special publication**. Society of Protozoologists, n. 1, p. 150-158, 1981.

LAIRD, M. The protozoa of New Zealand Intertidal Zone Fishes. **Transactions and Proceedings of the Royal Society of New Zealand**, v. 81, n.1, p. 79-143, 1953.

LÉVÊQUE, C. et al. Global diversity of fish (Pisces) in freshwater. **Freshwater Animal Diversity Assessment Developments in Hydrobiology**, v.198, p. 545-567, 2008.

LONARDONI, A. P. et al. Hábitos alimentares e sobreposição trófica das raias *Potamotrygon falkneri* e *Potamotrygon motoro* (Chondrichthyes: Potamotrigonidae) na planície alagável do Rio Paraná, Brasil. **Acta Scientiarum-Biological Sciences**, Maringá, v. 28, n. 3, p. 195-202. 2006.

OLIVEIRA, A. T. **Caracterização hematológica de *Potamotrygon cf. hystrix*: Subsídios para o manejo e conservação da espécie**. 2008. 118p. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2008.

OLIVEIRA, A. T. et al. Parâmetros sanguíneos da arraia de água doce *Potamotrygon orbignyi* Castelnau, 1855 (Potamotrygonidae) da bacia do Rio Negro, Amazonas, Brasil. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, 62, 2010, Natal. **Anais de Congresso**.

O'DWYER, L. H. et al. Description of three new species of *Hepatozoon* (Apicomplexa, Hepatozoidae) from Rattlesnake (*Crotalus durissus terrificus*) based on molecular, morphometric and morphologic characters. **Experimental Parasitology**, New York, v. 135, n. 2, p. 200-207, 2013.

PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. 3ª edição. Maringá: EDUEM, 2008.

PAVANELLI, G.C., MACHADO, M.H., TAKEMOTO, R.M., Fauna helmíntica de peixes do rio Paraná, região de Porto Rico, Paraná. In VAZZOLER, A.E.A.M., AGOSTINHO, A.A.; HAHN, N.S. (Eds.). **A Planície de inundação do Alto Rio Paraná: aspectos físicos, biológicos e sócioeconômicos**. Maringá: EDUEM. 1997. p. 307-329.

RINCÓN, G. F.; **Aspectos taxonômicos, alimentação e reprodução da raia de água doce *Potamotrygon orbignyi* (Castelnau) (Elasmobranchii: Potamotrygonidae) no Rio Paraná-Tocantins**. 2006. 145 p. Tese (Doutorado) Ciências Biológicas (Zoologia), Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2006.

ROHDE, K. **Ecology of marine parasites**. New England, University of New England: CSIRO Publishing, 2005. 592f.

ROSA, R. S.; Further comment on the nomenclature of the freshwater stingray *Elipesus spinicauda* Schomburgk, 1843 (Chondrichthyes: Potamotrygonidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, São Paulo, v. 3, n. 1, p. 27-31. 1985.

ROSA, R. S.; CHARVET-ALMEIDA, P.; QUIJADA, C. C. D.; Biology of the South American Potamotrygonid stingray. In: CARRIER, J.C.; MUSICK, J.A.; HEITHAUS, M.R. (Eds.). **Biology of shark and their relatives: Biodiversity, adaptive physiology, and conservarion**. Nova York: CRC Press, 2010. p. 241-281.

SIDDAL, M. E.; DESSER, S. S. Cytopathological changes induced by *Haemogregarina myoxocephali* in its fish host and leech vector. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 79, n. 2, p. 297-301, 1993.

SIDDALL, M. E.; DESSER, S. S. Developmental stages of *Haemogregarina delagei* in the leech *Oxytonostoma typica*. **Canadian Journal of Zoology**, v.79, p. 1897-1900, 2001.

SIDDALL, M. E. Phylogeny of Adeleid blood parasites with a partial systematic revision of the *Haemogregarine complex*. **The Journal of Eukaryotic Microbiology**, Lawrence, v.42, n.2, p.116-125, 1995.

SILVA, A. G. C. **Morfometria e ecologia de *Potamotrygon motoro* (Natterer e Henle, 1841) e *Potamotrygon falkneri* Castex e Maciel, 1963 (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) da planície alagável do alto Rio Paraná**. 2006. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2006.

SMIT, N. J.; GRUTTER, A. S.; ADLARD, R. D.; DAVIES, A. J. Hematozoa of teleosts from Lizard Island, Australia, with some comments on their possible mode of transmission and the description of a new hemogregarine species. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 92, p. 778-788, 2006.

SMIT, N.J. et al. A *Desseria* sp. from flathead mullet in South Africa. **Journal of the Marine Biological Association of the UK**, Cambridge, v. 82, p. 675 -676, 2002.

SMIT, N. J.; DAVIES, A.J. *Desseria zeii* sp. nov. (Adeleorina: Haemogregarinidae) infecting *Zeus capensis* from deep waters of the south and west coasts of South Africa. **Journal of Marine Biology**, Berlin, v. 86, p. 1477-1480, 2006.

SMITH T. G. The genus *Hepatozoon* (Apicomplexa: Adeleina). **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v.82, n.4, p. 565-85, 1996.

TAKEMOTO, R. M. et al. Parasitas de peixes de águas continentais. In: RANZANI-PAIVA, M.J.T.; TAKEMOTO, R.M.; LIZAMA, M.A.P. **Sanidade de Organismos Aquáticos**. 1ª edição. São Paulo: Editora Varela, 2004, p.179-197.

TAVARES-DIAS, M.; BRITO, M. L. S.; LEMOS, J. R. G.; Protozoários e metazoários parasitos do cardinal *Paracheiro donaxelrodi* Schultz, 1956 (Characidae), peixe ornamental proveniente de exportador de Manaus, Estado do Amazonas, Brasil. **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, Maringá, v. 31, n. 1, p. 23-28, 2009.

THATCHER, V. E. **Aquatic Biodiversity in LatinAmerica Biodiversidad Acuática en América Latina: Amazon Fish Parasites**. 2. ed. 1.v. Sofia: Pensoft, 2006. 497 p.

VALENTIM, F.C.S. et al. Chromosomes of three freshwater stingrays (Rajiformes Potamotrygonidae) from the Rio Negro basin, Amazon, Brazil. **Genética**, Dordrecht, v. 128, n. 1, p. 33-39. 2006.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Coordenadoria Geral de Bibliotecas. Grupo de Trabalho Normalização Documentária da UNESP. **Normalização documentária para a produção científica da UNESP: normas para apresentação de referências segundo a NBR 6023:2002 da ABNT**. São Paulo, 2003. Disponível em: <http://www.biblioteca.unesp.br/pages/normalizacao.pdf> >. Acesso em: 21 maio. 2013.

CAPÍTULO 02

Descrição e prevalência de *Cyrtilia* sp. (Apicomplexa: Adeleorina: Haemogregarinidae) em três espécies de arraias de água doce (Potamotrygonidae) da Região Amazônica, Brasil

1. Introdução

Hemogregarinas são protozoários sanguíneos que parasitam um grande número de vertebrados, incluindo peixes (DAVIES e JOHNSTON, 2000). Para a maioria das espécies descritas em peixes marinhos e dulciaquícolas são descritos apenas estágios de desenvolvimentos no sangue (DINIZ et al, 2002; SMIT e DAVIES, 2006) e a correta classificação apresenta diversas controvérsias. No entanto, hemogregarinas de peixes são frequentemente classificadas pertencendo aos gêneros *Haemogregarina* Danilewsky, 1885, *Cyrilia* Lainson, 1981 ou *Desseria* Siddal, 1995. Os dois últimos gêneros são os únicos descritos apenas em peixes, enquanto que *Haemogregarina* ocorre também em répteis. Os membros destes três gêneros diferenciam-se tanto pelo desenvolvimento no hospedeiro vertebrado, quanto no hospedeiro invertebrado (SIDDALL 1995; LEE et al, 2000). *Haemogregarina* spp. e *Cyrilia* spp. são caracterizadas por apresentarem merogonia tecidual e intraeritrocitária no hospedeiro vertebrado, enquanto que em *Desseria* spp. nenhuma divisão intraeritrocitária foi detectada no sangue dos hospedeiros (LAINSON, 1981; SIDDALL, 1995; DAVIES 1995; DAVIES e SMIT, 2001).

O ciclo de vida de hemogregarinas de peixes é pouco conhecido, sendo que para espécies dos três gêneros da família Haemogregarinidae Léger, 1911, os hirudíneos são considerados hospedeiros definitivos, porém, *Haemogregarina* spp. apresentam isópodos como hospedeiro definitivo (LAINSON, 1981; SIDDALL, 1995; DAVIES e SMIT, 2001; HAYES et al, 2006).

Arraias Sul americanas da ordem Myliobatiformes são elasmobrânquios pertencentes à família Potamotrygonidae Garman, 1877 com quatro gêneros descritos: *Paratrygon* Walbaum 1792, *Potamotrygon* Walbaum 1877, *Plesiotrygon* Rosa, Castello e Thorson, 1987 e *Heliotrygon* Carvalho e Lovejoy, 2011, com pelo menos 23 espécies dentro destes gêneros (CARVALHO e LOVEJOY, 2011). Essas arraias são exclusivamente dulciaquícolas e

distribuem-se pelas bacias hidrográficas da região Neotropical. São adaptadas a diferentes habitats, sendo a maioria encontrada na Bacia Amazônica (ROSA, 1985; CARVALHO et al., 2003; ARAÚJO et al., 2004).

Na Bacia do Médio Rio Negro, Barcelos – Amazônia há pelo menos cinco das 23 espécies relatadas de potamotrigonídeos. Há relatos de *Potamotrygon* sp., conhecida como arraia cururu (segundo DUNCAN et al. 2012 esta espécie está sendo reclassificada), *Potamotrygon motoro* Müller e Henle, 1841, *Potamotrygon orbignyi* Castelnau, 1855, *Potamotrygon schroederi* Fernández-Yépez, 1958, e *Paratrygon aiereba* Walbaum, 1792.

Os potamotrigonídeos têm sido explorados há décadas nos rios das Bacias Amazônica e Araguaia-Tocantins, tanto para o comércio quanto para ornamentação. No canal principal do Rio Amazonas, o grande número de espécies, como *Potamotrygon* sp., *P. aiereba* e *P. motoro* são, geralmente, usadas para o consumo humano (IBAMA, 2008; DUNCAN et al., 2010). Entretanto, a Bacia do Médio Rio Negro é considerada o maior centro de exportação de peixes ornamentais do Brasil (CHAO et al., 2001) incluindo arraias. As arraias de água doce não são apenas capturadas para o consumo e para abastecer o mercado de peixes ornamentais, mas sofrem com a chamada pesca preventiva, onde os animais são abatidos para prevenir acidentes em humanos no período de seca (ARAÚJO, 2004). Pescadores e ribeirinhos temem as arraias por terem ferrões com toxinas que podem causar graves acidentes (GARRONE-NETO et al., 2010).

Apesar da importância ecológica e econômica das arraias da família Potamotrygonidae, pouco se conhece sobre parasitas sanguíneos e os possíveis impactos que estes podem causar ao hospedeiro. Poucas hemogregarinas são descritas em peixes de água doce na América do Sul, sendo elas *Cyrtia lignieresii* (Laveran, 1906) Lainson, 1981, em *Synbranchus marmoratus*, e sanguessuga *Haementeria lutzi* (Lainson, 1992) e *Desseria lepidosirens* (Jepps, 1927) Siddall, 1995 em *Lepidosiren paradoxa* (see Siddall, 1995).

Além disso, Eiras et al. (2012) em sua revisão sobre protozoários parasitas de peixes do Brasil, relataram um membro da família Haemogregarinidae em *Potamotrygon* sp. o qual eles, erroneamente, atribuíram a Lainson, 1986, mas foi citado em Oliveira et al. (2008)..

A observação de Oliveira et al. (2008) levou-nos a realizar este estudo. Descrevemos, então, uma hemogregarina presente no sangue periférico de *P. motoro*, *P. aiereba* e *Potamotrygon* sp.. Os estágios de desenvolvimento observados assemelham-se aqueles relatados por Lainson (1981) no sangue de *S. marmoratus* (Figura 1) e, portanto, possivelmente trata-se de uma nova espécie de *Cyrtia*.

2. Material e Métodos

2.1. Áreas de estudo

A maior parte do estudo foi conduzida no Rio Negro, Arquipélago de Mariuá, Barcelos no Estado do Amazonas, Brasil, de Outubro de 2011 à Dezembro de 2012 (Figura 2), em parceria com a Universidade Federal do Amazonas. Apenas uma coleta foi realizada no Lago Amapá no município de Rio Branco, Estado do Acre em Agosto de 2011 (Figura 3), em parceria com o Departamento de Morfologia, do Instituto de Biociências de Botucatu.

O Arquipélago de Mariuá é considerado o maior conjunto de ilhas de água doce com aproximadamente 1600 ilhas catalogadas, situada na Bacia do médio Rio Negro, Amazonas, suas águas são negras e ácidas (pH: 3,4 – 4,5) com elevada concentração de ácido e carbono orgânico dissolvidos (CHAO et al., 2001).

Este Arquipélago abriga uma considerável diversidade de peixes ornamentais incluindo varias espécies de arraias da Família Potamotrygonidae, como *Potamotrygon* sp. (arraia cururu), *P. motoro* e *P. aiereba*. As arraias foram capturadas nas principais áreas de pesca desse Arquipélago e as áreas visitadas nas excursões de campo variaram de acordo com dinâmica de flutuação do Rio Negro e da disponibilidade de animais.

O Lago Amapá é um lago pertencente à Bacia do Rio Acre, localizado no município de Rio Branco, Acre, na Amazônia Ocidental. Ele é caracterizado por suas águas alcalinas, formado há 40 anos e permanentemente ligado ao Rio Acre. O Lago apresenta grande quantidade de matéria orgânica, pois na época das cheias, as florestas ao seu redor são inundadas pelas águas (KEPPELER et al., 1999; KEPPELER e HARDY, 2004).

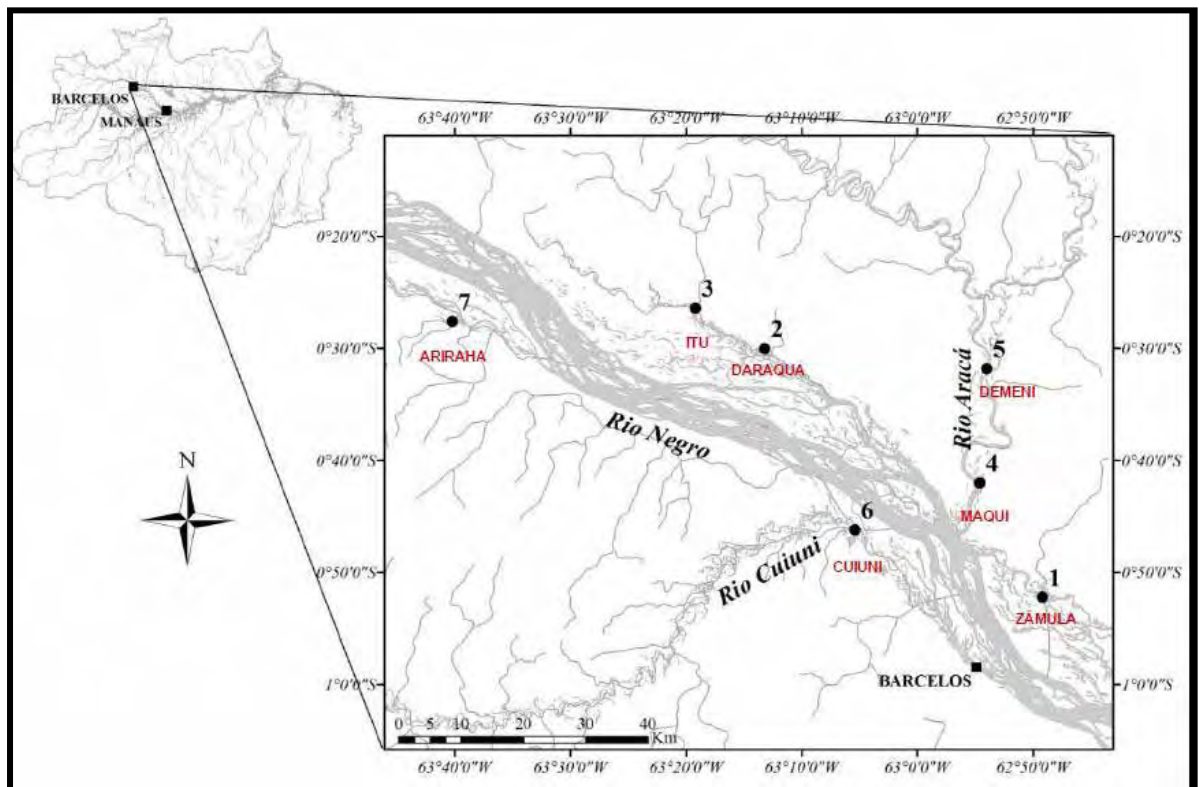


Figura 1. Principais áreas de capturas de arraias de água doce dentro do Arquipélago de Mariuá, Amazonas, Brasil.

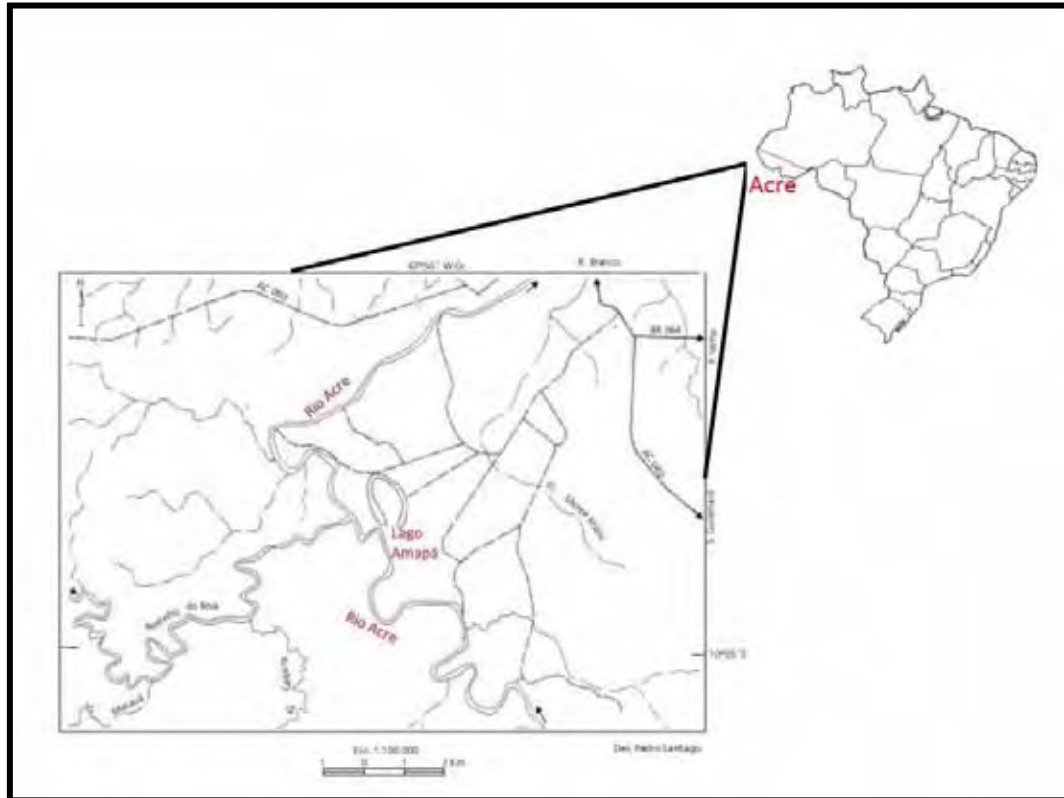


Figura 2. Local de captura de arraia de água doce no Lago Amapá, Rio Branco, Acre.

2.2. Captura das arraia

As arraia *Potamotrygon* sp., *P. motoro* e *P. aiereba* (Figura 4) foram capturadas no período noturno nas margens dos lagos, igarapés, igapós e praias.

O deslocamento até as áreas de coleta ocorreu em barcos com motor de rabeta e em canoas. Após chegada aos locais adequados, a locomoção foi pela água com profundidade de até 1,5m. A busca pelos animais realizou-se de forma ativa com auxílio de lanternas e remo.

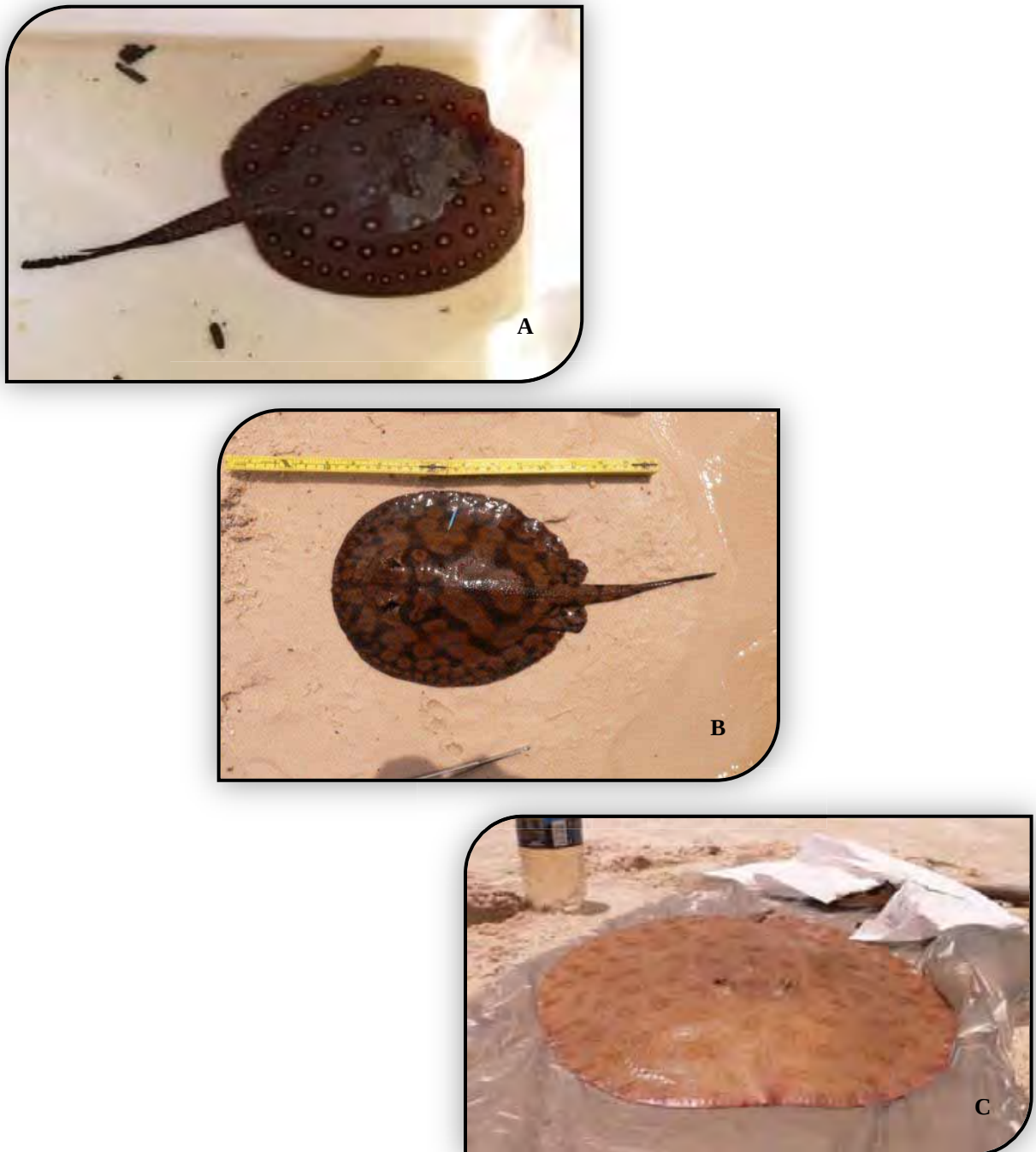


Figura 3. A. *Potamotrygon motoro*; B. *Potamotrygon* sp.; C. *Paratrygon aiereba* (Fonte: Adriano T. Oliveira, 2008).

A captura das arraias foi realizada com puçá de mão, também conhecido como “rapiché” (Figura 5) na Amazônia central, malhadeiras, espinhel e arpão, conhecido também como zagaia. Após serem capturados os animais foram transferidos para recipientes de caixa plástica (tipo caçapa) com capacidade de até 30L de água. Em cada recipiente, os animais foram mantidos e estocados com densidade máxima de dois animais por recipiente contendo cerca de 2-3L de água (OLIVEIRA et al., 2012).



Figura 4. Métodos de captura das arraias com auxílio de rede de mão, lanterna de cabeça e remo (foto: Adriano T. Oliveira, 2008).

As arraias pertencentes à família Potamotrygonidae apresentam ferrões com toxinas em suas caudas, que podem causar ferimentos graves (GARRONE-NETO, et al. 2010). Desta forma o manuseio para colheita de sangue destes animais exigem procedimentos adequados a fim de se evitar quaisquer acidentes (OLIVEIRA, et al. 2012).

Para a contenção mecânica dos animais, como medida preventiva de acidentes, usou-se pinça Foster para prender o ferrão, luva de couro e um pano umedecido. Para a contenção química das arraias utilizou-se Eugenol (0,2 g/L), sedando os animais imediatamente, após contenção mecânica.

Foram realizadas três coletas: Outubro de 2010, Janeiro e Novembro de 2012, totalizando 68 arraias capturadas na região do Arquipélago de Mariuá, e uma coleta em Agosto de 2011, no lago Amapá, meandro do Rio Acre, totalizando 25 animais. Sendo 34 exemplares de *Potamotrygon* sp., 44 de *Potamotrygon motoro* e 15 de *Paratrygon aiereba*.

O monitoramento do nível hidrológico do Rio Negro foi acompanhado para auxiliar o planejamento das coletas para que coincidisse com os períodos de vazante, seca e enchentes, pois são os períodos em que há maior facilidade de captura das arraias. Este

monitoramento foi realizado junto à Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais (CPRM) em Manaus, órgão responsável pela verificação dos níveis hidrológicos do Brasil.

Todas as coletas foram previamente autorizadas (nº 29676-1) pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio).

2.3. Método de colheita, armazenamento do sangue, prepara e coloração das extensões sanguíneas

Após os animais serem anestesiados, o sangue foi coletado através da punção no vaso branquial com auxílio de seringas descartáveis contendo EDTA a 10% (Figura 6). Em seguida o sangue foi transferido para tubos de eppendorf e mantido em caixas de isopor com gelo. As extensões sanguíneas foram confeccionadas logo após o sangue ser coletado, fixadas com metanol durante três minutos e coradas com GIEMSA por período de 30 minutos.



Figura 5. Colheita de sangue em arraias por punção do vaso branquial. (Fonte: Adriano T. de Oliveira, 2012)

As análises das extensões sanguíneas foram feitas em microscópios ópticos no Departamento de Parasitologia do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho – Botucatu – São Paulo.

2.4. Identificação e quantificação dos parasitas

Os parasitas encontrados foram analisados quanto à sua localização (intra ou extracelular), ao formato do corpo, presença de cápsula e de pigmentos citoplasmáticos, formato e posição de seu núcleo e tipo de célula hospedeira.

A análise morfométrica foi realizada através de um sistema computadorizado de análise de imagens, capturadas através de um sistema de vídeo acoplado ao computador e medidas através do software Qwin Lite 2.5 (Leica).

As variáveis estudadas foram área, comprimento e largura, tanto das formas sanguíneas quanto de seus núcleos. Para cada animal foram pesquisadas cerca de 100 formas parasitárias de cada tipo ou, alternativamente, o número máximo de parasitas encontrados nas lâminas.

A parasitemia foi calculada observando o número de células parasitadas em 1000 células não parasitadas.

2.5. Análise Estatística

Todos os dados registrados foram analisados utilizando-se o software “SigmaStat 3.1” (Jandel Scientific Corporation).

Como as formas parasitárias encontradas foram consideradas como pertencentes à mesma espécie, foram determinadas as médias entre os tamanhos de cada fase de desenvolvimento do parasita, bem como o desvio padrão.

A comparação entre eritrócitos normais e parasitados foi realizada empregando-se Teste t ou Mann Whitney, de acordo com a distribuição dos dados. As variáveis comprimento, largura e área do núcleo e dos eritrócitos foram estudadas conjuntamente,

empregando-se o mesmo teste de análise multivariada (PCA), realizado pelo *software* “PAST” (Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis). O nível de significância adotado foi de 5 %.

Foram feitas análises estatísticas aplicando-se o Test z entre as prevalências dos três grupos amostrais (espécies de arraias) a fim de determinar se houve diferenças estatísticas significativas quanto ao número de animais positivos em relação às espécies capturadas. A Análise de variância (ANOVA) foi realizada entre a parasitemia dos animais de cada grupo amostral a fim de se verificar se houve diferenças estatísticas significativas entre as espécies.

3. Resultados

Durante os períodos de coletas (Tabela1) foram capturadas 93 animais: 68 oriundos da Bacia do Rio Negro, Amazonas e 25, do Lago Amapá, Acre. A prevalência foi de 49,46%, sendo a Região de Barcelos (região 1) o único local de coleta com animais positivos ($n = 46$). A prevalência obtida por espécies coletadas em ambos os locais, foi: *P. aiereba* 73,33%, *P. motoro* de 27,27% e *Potamotrygon* sp. de 69,69%. Se considerarmos somente a região 1, onde foram encontrados animais positivos, a prevalência foi de 67,6%. A prevalência entre as espécies analisadas da Região 1 (*Paratrygon* sp. e *Potamotrygon* sp.; *Paratrygon* sp. e *P. motoro*; *Potamotrygon* sp. e *P. motoro*) foram semelhantes ($p > 0,05$).

A parasitemia variou de 0,1% a 10% dos eritrócitos, porém, não houve diferença significativa entre os valores da parasitemia das espécies analisadas ($p > 0,05$) na Região 1. Os exemplares de *P. aiereba* capturadas em Outubro de 2010 ($n = 5$) apresentaram parasitemia entre 0,1% a 0,3%, enquanto que os exemplares capturados em Dezembro de 2012 ($n = 10$), de 0,1% a 1,8%. Para os exemplares de *Potamotrygon* sp. capturados em Outubro de 2010 ($n = 11$), a parasitemia foi entre 0,2% a 1,2%; em Janeiro de 2012 na região 1 ($n = 12$) tiveram

os maiores índices de parasitemia, de 0,7% a 10%, enquanto que os exemplares capturados em Dezembro de 2012 a parasitemia variou de 0,2% a 0,9% . A parasitemia dos exemplares *P. motoro* capturados em Outubro de 2010 variou de 0,3% à 07% enquanto que os capturados em Dezembro de 2012 variou de 0,6% à 2,0%. Todas as arraias *P. motoro* capturadas na região 2 (n = 25) eram negativas. Todos os eritrócitos parasitados eram aparentemente, maduros e nenhum outro tipo de célula sanguínea foi observado infectado.

Uma variedade de estágios de desenvolvimento da hemogregarina foi encontrada e estas, em sua maioria, eram intraeritrocitários, com formas extraeritrocitárias observadas com menor frequência.

A descrição dos estágios segue abaixo.

Trofozoítos ou *merozoítos*: Este estágio foi relativamente pouco encontrado, era pequeno, delgado, alguns apresentaram uma cauda curvilínea, com formas intraeritrocíticas e extraeritrocíticas. Eles foram observados em 14 das 46 arraias positivas. O citoplasma foi corado em azul escuro, sem a presença de vacúolos, o núcleo foi corado em magenta e localizado no centro ou próximo aos polos (Figura. 7). Os valores das variáveis estão indicados na Tabela 2. A presença desta forma parasitária não ocasionou nenhuma alteração morfológica aparente e nenhuma alteração morfométrica estatisticamente significativa ($p>0,05$) nos eritrócitos (Tabela 3). Não houve alterações que separassem o grupo normal de parasitado, quando submetidos à análise multivariada dos principais componentes de comparação entre tais grupos.

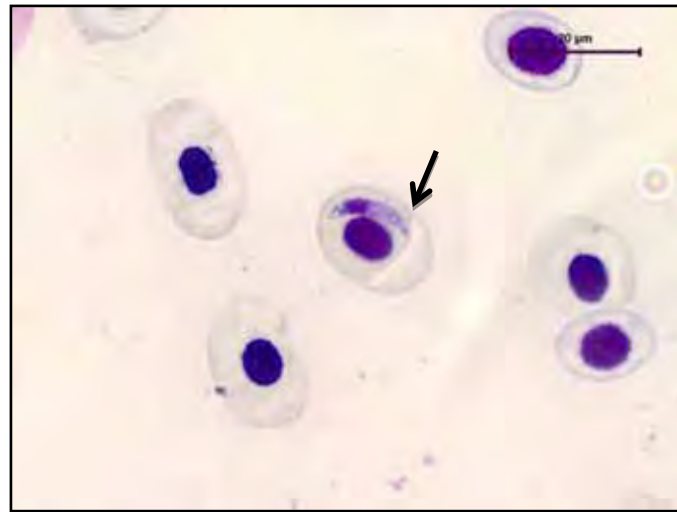


Figura 6. Trozoíto ou merozoíto de *Cyrilia* sp. infectando eritrócito de arraia *Potamotrygon* sp. (Foto: Natalia M. Magro)

Tabela 1. Análise morfométrica das diferentes fases do desenvolvimento de *Cyrilia* sp. encontrados em eritrócitos de arraias das espécies *Potamotrygon* sp., *Potamotrygon motoro* e *Paratrygon aiereba*

FASES	CNP (μm)	LNP (μm)	ANP (μm ²)	CP (μm)	LP (μm)	AP (μm ²)
PARASITÁRIAS	Méd (DP) Máx-mín	Méd (DP) Máx-mín	Méd (DP) Máx-mín	Méd (DP) Máx-mín	Méd (DP) Máx-mín	Méd (DP) Máx-mín
TROFOZOÍTO	4,3 (0,84) 1,52 – 6,05	2,25 (0,56) 1,57 – 3,69	12,41 (2,17) 6,13 – 16,27	12,78 (1,67) 10,26 – 17,33	2,48 (0,74) 1,6 – 4,24	30,26 (4,02) 23,14 – 40,00
MERONTE	4,45 (1,06) 1,9 – 7,64	4,39 (0,71) 2,76 – 5,94	17,62 (3,08) 11,77 – 28,75	12,59 (2,24) 3,85 – 17,25	4,87 (0,71) 3,12 – 6,31	33,34 (4,29) 26,69 – 44,88
PRÉGAMONTE	4,43 (1,01) 2,33 – 7,00	4,21 (0,76) 1,71 – 5,91	15,55 (2,02) 10,22 – 21,36	17,12 (2,18) 13,06 – 23,44	4,71 (0,61) 2,55 – 6,66	42,67 (3,17) 35,86 – 50,45
MACROGAMONTE	4,33 (0,89) 2,46 – 7,84	5,21 (0,95) 2,83 – 7,70	17,79 (3,20) 12,19 – 28,71	15,89 (1,71) 12,31 – 20,65	5,72 (0,87) 3,13 – 8,00	42,91 (3,80) 34,11 – 46,79
MICROGAMONTE	4,09 (0,65) 2,81 – 5,85	4,32 (1,20) 2,07 – 6,05	16,51 (3,48) 10,03 – 24,93	13,72 (2,15) 10,04 – 18,92	5,02 (1,32) 1,92 – 6,33	33,62 (6,17) 23,14 – 46,79

AP = área do parasita, CP = comprimento do parasita, LP = largura do parasita, ANP = área do núcleo do parasita, CNP = comprimento do núcleo do parasita, LNP = largura do núcleo do parasita, N = hemácias normais, PA = hemácias parasitadas. Méd = Média. DP = Desvio Padrão. Má x= máximo. Mín = mínimo.

Tabela 2. Análise morfométrica dos eritrócitos normais e parasitados por *Cyrlia* sp. em arraia das espécies *Potamotrygon* sp., *Potamotrygon motoro* e *Paratrygon aiareba*

ERITRÓCITOS		CNE (µm)	LNE (µm)	ANE(µm ²)	CE(µm)	LE(µm)	AE (µm ²)
TROFOZOÍTO	ENP	8,63 (0,95) ^a	5,40 (1,15) ^a	25,93 (3,12) ^a	21,56 (2,03) ^a	14,54 (1,47) ^a	63,92 (4,70) ^a
	EP	8,69 (1,14) ^a	5,55 (0,92) ^a 5,55	25,74 (2,89) ^a 19,67	19,67 (2,24) ^a 13,85	13,85 (1,35) ^a 60,71	60,71 (5,78) ^a
MERONTE	ENP	8,79 (1,13) ^b	5,83 (0,80) ^b	26,68 (3,29) ^b	21,26 (2,09) ^b	14,05 (1,53) ^b	63,49 (5,22) ^b
	EP	8,44 (1,23) ^b	5,56 (0,88) ^b	25,92 (3,00) ^b	19,78 (2,03) ^b	14,41 (1,45) ^b	62,20 (5,04) ^b
PRÉGAMONTE	ENP	8,53 (1,27) ^a	5,66 (1,07) ^a	25,34 (3,32) ^a	21,42 (1,81) ^a	14,46 (1,21) ^a	63,36 (4,64) ^a
	EP	8,58 (1,23) ^a	5,10 (0,90) ^a	25,24 (2,95) ^a	21,46 (1,81) ^a	14,22 (1,09) ^a	64,41 (3,63) ^a
MACROGAMONTE	ENP	9,20 (1,07) ^a	6,38 (0,77) ^a	28,43 (2,40) ^a	22,47 (2,10) ^a	14,19 (1,73) ^a	66,00 (4,51) ^a
	EP	9,11 (1,16) ^a	5,49 (0,78) ^a	27,05 (2,62) ^a	21,64 (2,31) ^a	14,88 (1,80) ^a	66,69 (4,94) ^a
MICROGAMONTE	ENP	8,60 (0,97) ^a	5,65 (0,92) ^a	26,38 (2,15) ^a	21,53 (1,54) ^a	14,40 (1,68) ^a	64,61 (4,30) ^a
	EP	8,58 (1,51) ^a	5,47 (0,90) ^a	24,87 (3,11) ^a	21,57 (2,88) ^a	14,16 (3,00) ^a	64,04 (8,83) ^a

Letras iguais = $p > 0,05$; letras distintas = $p < 0,05$. AE = área do eritrócito, CE = eritrócito do parasita, LE = largura do eritrócito, ANE = área do núcleo do eritrócito, CNE = comprimento do núcleo do eritrócito, LNE = largura do núcleo do eritrócito ENP = eritrócitos não parasitados; EP = eritrócitos parasitados; Estatística analítica, dados correspondem às medianas e suas respectivas amplitudes semi –interquartílicas.

Meronte ou *esquizonte*: este estágio de desenvolvimento foi observado em 14 das 46 arraia parasitadas, sendo encontradas formas intraeritrocíticas e extraeritrocíticas. Possuía tanto formato oval, quanto alongado e nenhum meronte maduro foi visto nas extensões sanguíneas (Figura. 8). A coloração do citoplasma foi azul claro, vacuolizado e ocasionalmente, com grânulos espalhados. O núcleo era único ou, às vezes, aparentando dividir-se, e era normalmente róseo e granular. Os valores das variáveis deste estágio estão indicados na Tabela 2. Os merontes foram observados deslocando o núcleo eritrocitário ou justapondo-se a ele, e alterando significativamente ($p < 0,05$) a morfometria dos eritrócitos parasitados (Tabela 3). Houve alterações que separaram o grupo normal de parasitado, quando submetidos à análise multivariada dos principais componentes de comparação entre tais grupos.



Figura 7. Meronte ou esquizonte de *Cyrilia* sp. infectando eritrócito *Potamotrygon* sp. (Fonte: Natalia M. Magro)

Prégamontes: O estágio que consideramos como sendo prégamontes (gamontes imaturos) foi relativamente abundante e intracelular, presente em 30 das 46 arraias positivas. Eram alongados com a porção anterior arredondada, apresentavam uma cauda curvilínea, com citoplasma corado em azul escuro e o núcleo localizado centralmente ou anteriormente e corado em magenta (Figura 9). Os valores obtidos das variáveis desta fase estão indicados na Tabela 2. Estas formas parasitárias foram observadas deslocando o núcleo dos eritrócitos para a periferia da célula, porém não houve nenhuma alteração morfométrica significativa ($p > 0,05$) e não houve alterações que separassem o grupo normal de parasitado, quando submetidos à análise multivariada dos principais componentes de comparação entre tais grupos (Figura 12). Os valores das variáveis obtidas para ambos os grupos de eritrócitos estão indicados na Tabela 3.

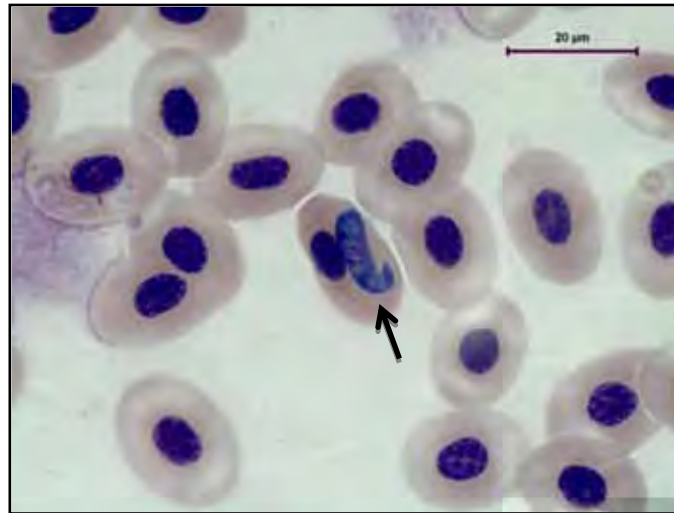


Figura 8. Prégamonte ou gamonte imaturo de *Cyrilia* sp. infectando eritrócitos de *Potamotrygon* sp. (Família Potamotrygonidae). (Fonte: Natalia M. Magro)

Gamontes: Os gamontes encontrados eram maduros e grandes, quando comparados a outras fases do desenvolvimento, possivelmente encapsulados ou dentro de estreitos vacúolos parasitóforo e sem nenhuma cauda visível. Foram encontrados dois tipos de gamontes, os macrogamontes e os microgamontes. Os estágios interpretados como macrogamontes foram os estágios mais frequentes, com o citoplasma corado em azul escuro e um ou dois vacúolos citoplasmáticos. O núcleo corado em magenta, com cromatina condensada e localizado centralmente (Figura 13 A). Os estágios interpretados como microgamontes foram menos comuns, com o citoplasma corado em azul claro e com poucos vacúolos citoplasmáticos. O núcleo foi corado em magenta, com cromatina condensada e localizado centralmente (Figura 13B.). Os valores obtidos para as variáveis destes estágios estão indicados na Tabela 2. Ambas as formas parasitárias foram observadas deslocando o núcleo dos eritrócitos para a periferia da célula, porém, não ocasionaram nenhuma alteração morfométrica significativa ($p > 0,05$). Não ocorreram alterações que separassem o grupo de eritrócitos normais de parasitados, quando submetidos à análise multivariada dos principais componentes de

comparação entre tais grupos, para ambas as fases. As variáveis obtidas para os grupos de eritrócitos normais e parasitados estão indicados na Tabela 3.

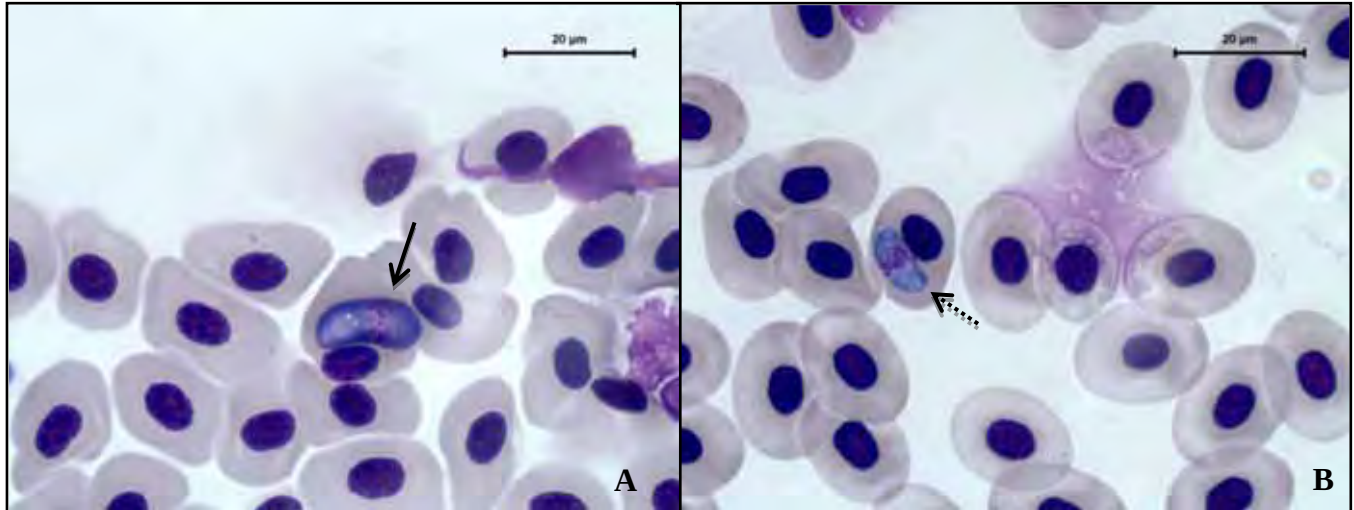


Figura 9. A - → Macrogamonte intraeritrocitário de *Cyrilia* sp. infectando eritrócitos de *Potamotrygon motoro*. B - ---→ Microgamonte intraeritrocitário de *Cyrilia lainsoni* sp. nov. infectando eritrócito de *Potamotrygon* sp. (Fonte: Natalia M. Magro)

A morfologia dos parasitos encontrados, quando comparados com os dados da literatura, indica que estamos lidando com uma nova espécie de *Cyrilia*.

4. Discussão

Durante as análises dos materiais obtivemos na região 1 (Bacia do Médio Rio Negro) animais parasitados pertencentes as três espécies estudadas ($n = 46$), enquanto que na região 2 (Bacia do Rio Acre) foram coletados apenas animais pertencentes a espécie *P. motoro* e todos foram negativos a infecção, enquanto que os animais da espécie *P. motoro*, capturada na região 1, representou 27,95% do total dos animais coletados nesta região, com prevalência igual a 63,15%.

Tais diferenças podem ter ocorrido devido à geografia dos locais de estudo. A região 1, o Rio Negro no Arquipélago de Mariuá é um dos maiores afluentes do Rio Amazonas e considerado um dos maiores rios do mundo em volume de água. Enquanto a região 2 é considerada um meandro isolado do Rio Acre de aparente ligação com a drenagem principal.

Além das marcantes diferenças físicas entre os locais onde foram realizadas as coletas, podemos destacar os períodos nos quais elas foram realizadas. Entre os meses de Junho a Novembro é considerado o período das vazantes ou secas dos rios na região Norte, e foi neste período que a coleta da região 2 foi realizada, enquanto que as coletas da região 1 foram realizadas no período de cheias (ZEIDEMANN, 2001).

Essas diferenças geográficas e os períodos nos quais as coletas foram realizadas podem ter influenciado na quantidade de hospedeiros definitivos e na biologia dos animais, o que, possivelmente, resultou na ausência de parasitas nos animais da região 2.

Os relatos de hemogregarinas em elasmobrânquios concentram-se, em sua maioria, em arraias marinhas, incluindo *Haemogregarina delagei* Laveram e Mesnil, 1901 em *Raja erinacea* Mitchill, 1825; *Desseria dasyatis* Saunders, 1958 em *Dasyatis americana* Hildebrand & Schoreder e *Desseria torpedinis* Neumann, 1909 em *Torpedo* spp. (DAVIES et al., 2012). No entanto, há apenas um relato de haemogregarina em arraias de água doce (OLIVEIRA et al., 2008) que nos levou a iniciar o atual estudo.

Para identificar o parasita descrito neste trabalho foi necessário examinar os registros anteriores. Primeiramente, a hemogregarina parece produzir merontes no sangue, ao contrário do descrito em *Desseria* spp. onde há relatos de formação de merontes no hospedeiro definitivo e em órgãos do hospedeiro intermediário. Segundo, as formas interpretadas como gamontes são maiores que as descritas para *H. delagei* $11 \pm 1 \mu\text{m} \times 2 \pm 1 \mu\text{m}$; (ARAGORT et al, 2005) e são morfologicamente diferentes.

Aragort et al. (2005) descreveram os trofozoítos ou merozoítos como formas semelhantes morfologicamente e morfometricamente aos gamontes maiores, descritos aqui com macrogamontes, porém, em análise estatística essas formas tiveram diferenças significantes ($p < 0,05$) quanto a medida de suas áreas, sendo os trofozoítos o estágio menor

(Tabela 2). Assim, a espécie descrita neste trabalho é diferente da espécie de hemogregarina conhecida em arraias marinhas.

As únicas espécies de hemogregarinas descritas em peixes de água doce no Brasil são *D. lepidosirens*, *C. lignieresi* e um membro da família Haemogregarinidae em *Potamotrygon* cf. *histris*, na Amazônia, como mencionado anteriormente (EIRAS et al., 2012). Essa espécie encontrada nas arraias é improvável que seja alguma espécie de *Desseria* devido à merogonia eritrocítica, podendo ser *Cyrlia* sp. ou *Haemogregarina* sp.

Lainson (1981, 1992) descreveu *C. lignieresi* em muçuns, *S. marmoratus*, no Estado do Pará, Brasil, transmitida pelo hospedeiro definitivo, a sanguessuga *H. lutzi*. No peixe hospedeiro, o parasita foi observado produzindo estágios em divisão no sangue periférico, principalmente em capilares dos rins e apenas eritrócitos foram infectados por estes estágios, e gamontes de dois tipos (macro e microgamontes) encontrados nos esfregaços sanguíneos; estágios esporogônicos foram descritos no intestino das sanguessugas, com os esporozoítos migrando para a glândula salivar.

Examinando as formas parasitárias encontradas nos esfregaços sanguíneos das três espécies de arraias de água doce, material de estudo desta pesquisa, nós notamos semelhanças a estágios descritos para *C. lignieresi*, nomeados de merontes no sangue periférico e gamontes de dois tipos – microgamonte e macrogamonte. No entanto, não encontramos merontes maduros nas extensões sanguíneas. Além disso, cortes histológicos não foram avaliados neste estudo, portanto não podemos afirmar se as fases de divisão deste parasita ocorrem nos órgãos desses animais.

As formas observadas e interpretadas como merontes ou esquizontes eram semelhantes às descritas por Lainson (1981) como sendo os merontes maiores. Enquanto a forma descrita em *C. lignieresi* mediu $12,4 \times 6,6 \mu\text{m}$, a forma similar encontrada neste estudo mediu $12,59 \times 4,87 \mu\text{m}$, valores relativamente, parecidos.

Os estágios interpretados como gamontes maduros eram maiores que os descritos por Lainson (1981). Os macrogamontes de *C. lignieresii* mediam, aproximadamente, $11,00 \times 5,00 \mu\text{m}$ variando $8,70 \times 5,00 - 12,50 \times 5,6 \mu\text{m}$ (comprimento x largura), e os microgamontes $8,80 \times 4,70 \mu\text{m}$ variando $7,50 \times 4,40 - 10,00 \times 4,40 \mu\text{m}$, enquanto que as formas interpretadas como macrogamontes mediram $15,90 \times 5,72 \mu\text{m}$ variando de $12,30 \times 3,13 - 20,65 \times 8,00 \mu\text{m}$ e microgamontes $13,70 \times 5,02 \mu\text{m}$ variando $10,04 \times 1,90 - 18,90 \times 6,33 \mu\text{m}$.

Embora os gamontes imaturos das arraia apresentassem uma das extremidades semelhantes a caudas curvilíneas e citoplasmas vacuolizado, não foram observados os grânulos azurófilos descritos por Lainson, (1981). Além disso, nenhum ectoparasita hematófago (sanguessugas ou isópodos) foi registrado ou capturado parasitando as arraia durante as coletas, assim, o hospedeiro definitivo dessa hemogregarina mantém-se desconhecido.

As análises morfológicas e morfométricas dos eritrócitos normais e parasitados foram realizadas pela primeira vez em casos de infecção por hemogregarina em peixes de água doce. Os estágios descritos como trofozoítos foram os únicos que não causaram nenhuma alteração significativa, tanto morfológica quanto morfométrica nos eritrócitos. Os demais estágios foram observados deslocando o núcleo dos eritrócitos para um dos polos ou para lateral, bem como se justapondo a ele, porém, nenhuma alteração morfométrica significativa foi observada, exceto para o estágio denominado meronte, que apresentou variação estatística entre as medidas dos eritrócitos normais e parasitados.

Análises comparativas semelhantes foram realizadas por O'Dwyer et al. (2013), porém, para uma espécie de *Hepatozoon* em *Crotalus durissus terrificus*, Linnaeus, 1758, serpente cascavel. Ao contrário do observado em nosso estudo, a presença de gamontes de *Hepatozoon* nos eritrócito de *C. durissus* ocasionou alterações significativas entre os eritrócitos normais e parasitados na maior parte das suas amostras.

Apesar da presença do parasita e as possíveis alterações morfológicas e morfométricas observados neste trabalho e em pesquisas como as de O'Dwyer e colaboradores (2013) não sabemos ao certo quais as consequências desta infecção para animais positivos. Estes parasitas raramente são fatais, pois no ambiente natural há um equilíbrio na relação parasito, hospedeiro e ambiente, evitando manifestação de doenças ou aumento do consumo energético (BROWN et al., 2006; PAVANELLI et al., 2008;). Porém, é prematuro afirmar que a presença destes hemoparasitas não causa nenhum tipo de alterações nos hospedeiros.

5. Conclusão

- ✓ Todas as arraias positivas estavam parasitadas por uma mesma espécie de hemogregarina, que é provavelmente uma nova espécie de *Cyrtia*.
- ✓ O parasitismo variou de acordo com as Regiões estudadas durante o período da pesquisa.
- ✓ Na região 1 onde foram encontrados animais infectados a prevalência da infecção foi alta, nas três espécies de arraias estudadas.

6. Referências

- ARAGORT, W. et al. Blood protozoans in elasmobranchs of the family Rajidae from Galicia (NW Spain). **Disease of Aquatic Organism**, Oldendorf, v. 65, p. 65-68. 2005.
- ARAÚJO, M.L.G.; CHARVET-ALMEIDA, P.; ALMEIDA, M. P.; PEREIRA, H. Freshwater Stingrays (Potamotrygonidae): status, conservation and management challenges. **Information document AC 20 info**, v. 08, p. 1-6. 2004.
- BROWN G.P.; SHILTON, C.M. SHINE, R. Do parasites matter? Assessing the fitness consequences of haemogregarine infection in snakes. **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 84, p. 668–676, 2006.
- CARVALHO, M. R.; LOVEJOY, N. R.; Morphology and phylogenetic relationships of a remarkable new genus and two new species of Neotropical freshwater stingrays from the Amazon basin (Chondrichthyes: Potamotrygonidae). **Zootaxa**, Auckland, v. 2776, p. 13-48. 2011.
- CARVALHO, M.R.; LOVEJOY, N.R.; ROSA, R.S.; Família Potamotrygonidae. In: REIS, R.E.; KULLANDER, S.O.; FERRARIS, C.J.J. (Eds.). **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre: EDIPURS. P. 22-28. 2003.
- CHAO, N.L.; PETRY, P.; PRANG, G.; SONNESCHIEN, L.; TLUSTY, M.; **Conservation and Management of Ornamental Fish Resources of the Rio Negro Basin, Amazonia, Brazil - ProjectPiaba**, Manaus: EDUA, 2001.p.309.
- DAVIES, A.J.; HOSEIN, S.; MERRETT, N.R. Haemotozoans from deep water fishes trawled off the Cape Verde Islands and over the Porcupine Seabight, with a revision of species within the genus *Desseria* (Adeleiorina: Haemogregarinidae). **Folia Parasitologica**, Prague, v. 59, p. 1-11, 2012.
- DAVIES, A.J.; JOHNSTON, M.R.L. The biology of some intraerythrocytic parasites of fishes, amphibian and reptiles. **Advances in Parasitology**, Lawrence, v. 45, p. 2-89, 2000.

DAVIES, A.J.; SMIT, N.J. The life cycle of *Haemogregarina bigeima* (Adeleina: Haemogregarineidae) in South African hosts. **Folia Parasitologica**, Prague, v.48, p. 169-177, 2001.

DAVIES, A.J. The biology of fish Haemogregarines. **Advances in Parasitology**, London, v. 36, p. 118-202, 1995.

DINIZ, J. A.; SILVA, E. O.; SOUZA, W.; LAINSON, R. Some observations on the fine structure of trophozoites of the haemogregarine *Cyrtia ligniriesi* (Adeleiorina: Haemogregarinidae) in erythrocytes of the fish *Synbranchus marmoratus* (Synbranchidae). **Parasitology Research**, Berlin, v. 88, p. 593-597, 2002.

DUNCAN, W. P.; FERNANDES, M. N. Physicochemical characterization of the white, black and clearwater rivers of the Amazon Basin and its implications on the distribution of freshwater stingrays (Chondrichthyes, Potamotrygonidae). **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v. 5, n. 3, p. 454- 464. 2010

EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R.M.; PAVANELLI, G.C.; LUQUE, J.L. Checklist of Protozoan parasites of fishes from Brazil. **Zootaxa**, Auckland, v. 3221, p. 1–25, 2012.

GARRONE NETO, D.; HADDAD-JUNIOR, V. Arraias em rios da região Sudeste do Brasil: locais de ocorrência e impactos sobre a população. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 43, n. 1, p 82-88. 2010.

HAYES, P.M.; SMIT, N.J.; SEDDON, A.M., WERTHEIM, D.F.; DAVIES, A.J.; A new fish haemogregarine from South Africa and its suspected dual transmission with trypanosomes by a marine leech. **Folia Parasitologica**, Prague, v.53, p. 241-248. 2006.

IBAMA – **Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis**. 2008. Instrução Normativa N°. 204/2008.

KEPPELER, E.C.; HARDY, E.R. Abundance and composition of Rotifera in an abandoned man-made lake (Lago Amapá) in Rio Branco, Acre, Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, n. 2, v. 21, p. 233-241, 2004.

KEPPELER, E.C.; LOPES, M.R.M.; LIMA, C.S. Ficoflórula do Lago Amapá em Rio Branco, Acre, I: Euglenophyceae. **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, n. 4, v. 59, p. 679-686, 1999.

LAINSON, R. On *Cirilia gomesi* (Neiva e Pinto, 1926) gen. nov. (Haemogregarinidae) and *Trypanossoma bourouli* Neiva e Pinto, in the fish *Synbranchus marmoratus*: Simultaneous transmission by the leech *Haementeria lutzi*. In: CANNING, E.U. (Ed.), **Parasitological Topics Special publication**. Society of Protozoologists, n. 1, p. 150-158, 1981.

LAINSON, R.; SHAW, J.J.; LANDAU, I. Os Coccídios (Coccidia: Eucoccidia). In: **Instituto Evandro Chagas; 50 anos de contribuição às ciências biológicas e à medicina tropical**, v. 1, p 243-262. Belém, Fundação Serviços de Saúde Pública, 1986.

LAINSON, R.A protozoologist in Amzonia: neglected parasites, with particular reference to members of the Coccidia (Protozoa: Apicomplexa). **Journal of the Brazilian Association for the Advancement of Science**, v. 44, p. 81-93, 1992.

LEE, J.J. LEEDALE, G.F. AND BRADBURY, P. (Eds.). **An Illustrated Guide to the Protozoa**. 2. ed. v. 1 & 2 Lawrence, Kansas: Society of Protozoologists, 2000. 1432 p.

O'DWYER, L. H. et al. Description of three new sepcies of *Hepatozoon* (Apicomplexa, Hepatozoidae) from Rattlesnake (*Crotalus durissus terrificus*) based on molecular, morphometric and morphologic characters. **Experimental Parasitology**, New York, v. 135, n. 2, p. 200-207, 2013.

OLIVEIRA, A.T. **Caracterização hematológica de *Potamotrigon* cf. *histris*: Subsídios para o manejo e conservação da espécie**. 2008. 118p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2008.

OLIVEIRA, A.T. et al. **Procedimentos de manuseios e de colheita de sangue em arraiais de água doce**. Embrapa Amapá, 2012. p. 1-17.

SAUNDERS, D.C. *Haemogregarina bigemina* Laveran & Mesnil from Marine Fishes of Bermuda. **Transactions of the American Microscopical Society**, Lawrence, v. 78, n. 4, p. 374-379, 1959.

SIDDALL, M.E. Phylogeny of Adeleid blood parasites with a partial systematic revision of the *Haemogregarine* complex. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v.42, n.2, p.116-125, 1995.

SMIT N.J., DAVIES A.J. *Desseria zei* sp. nov. (Adeleorina: Haemogregarinidae) infecting *Zeus capensis* from deep waters off the south and west coasts of South Africa. **Journal of the Marine Biological Association of the UK**, Cambridge, v. 86, p. 1477- 1480, 2006.

ZEIDEMANN, V.K. O Rio das Águas Negras. In: OLIVEIRA, A. A. et al. (Eds.). **Florestas do Rio Negro**. São Paulo: Companhia das Letras, 2001. p. 63-87.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Coordenadoria Geral de Bibliotecas. Grupo de Trabalho Normalização Documentária da UNESP. Normalização documentária para a produção científica da UNESP: normas para apresentação de referências segundo a NBR 6023:2002 da ABNT. São Paulo, 2003. Disponível em: <http://www.biblioteca.unesp.br/pages/normalizacao.pdf> >. Acesso em: 21 maio. 2013. **s de arraia de água doce (Família Potamotrygonidae).**