

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 22/08/2017.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

CAMPUS DE BOTUCATU

**APLICAÇÃO DAS TÉCNICAS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE
TRANSMISSÃO E HISTOLOGIA, PARA ANÁLISE DE MIXOZOÁRIOS
PARASITOS DE PEIXES PROVENIENTES DO RIO BATALHA, MÉDIO RIO
TIÊTE, SÃO PAULO, BRASIL.**

Diego Henrique Mirandola Dias Vieira

Botucatu

2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

CAMPUS DE BOTUCATU

**APLICAÇÃO DAS TÉCNICAS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE
TRANSMISSÃO E HISTOLOGIA, PARA ANÁLISE DE MIXOZOÁRIOS
PARASITOS DE PEIXES PROVENIENTES DO RIO BATALHA, MÉDIO RIO
TIÊTE, SÃO PAULO, BRASIL.**

Diego Henrique Mirandola Dias Vieira

Orientador: Prof. Dr. Rodney Kozlowiski de Azevedo

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biotecnologia – UNESP – Campus de Botucatu,
como parte dos requisitos exigidos para a
obtenção do título de Mestre em Ciências
Biológicas, Área de concentração: Zoologia.

Botucatu

2016

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

Vieira, Diego Henrique Mirandola Dias.

Aplicação das técnicas de microscopia eletrônica de transmissão e histologia, para análise de mixozoários parasitos de peixes provenientes do rio Batalha, médio rio Tietê, São Paulo, Brasil. / Diego Henrique Mirandola Dias Vieira. - Botucatu, 2016

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Rodney Kozlowiski de Azevedo
Capes: 21300003

1. Microscopia eletrônica - Técnica. 2. Peixe - Parasito.
3. Peixe - Morfologia. 4. Mixozoários. 5. Characiformes.

Palavras-chave: Characiformes; Henneguya; Morfologia; Myxobolus; Myxozoa.

Dedicatória

Dedico esse trabalho a todos os meus familiares e as pessoas que sempre estiveram comigo. Amo vocês!

Agradecimentos

Agradeço a Deus pela força e por todos os momentos de reflexão que ele me proporcionou ao longo desse trabalho.

Aos meus pais Antonio Carlos e Maria Aparecida por todo o esforço e amor para que eu conseguisse chegar até aqui.

A toda a minha família pelo carinho e por acreditarem em mim.

A minha namorada Priscila pelo companheirismo, força e compreensão que me dedicou todos os dias dessa caminhada.

Ao meu orientador e amigo Rodney por todos os ensinamentos, conversas, apoio e confiança que teve durante todos esses anos de convívio.

A Vanessa por todas as ideias, ajuda e apoio atuando informalmente como minha coorientadora.

Ao professor Reinaldo que abriu as portas do seu laboratório para que eu também pudesse desenvolver a pesquisa.

A professora Jerry Bartholomew e a Gema Alama que me acolheram nos Estados Unidos durante o trabalho e me proporcionaram uma experiência incrível.

Aos amigos do laboratório de Ictioparasitologia da USC e do LAPAS da Unesp, por todas as alegrias e preocupações compartilhadas.

A todos os meus amigos que não trabalham comigo mas foram imprescindíveis nos momentos de lazer e relaxamento.

A FAPESP (Processo: 2013/25623-0) pelo apoio científico e financeiro para a realização da pesquisa.

Enfim, agradeço a todas as pessoas que me apoiaram, incentivaram e ajudaram de alguma forma na concretização desse trabalho.

Sumário

Resumo.....	7
Abstract.....	9
Introdução geral.....	11
Referências bibliográficas.....	19
Objetivos.....	27
Artigo 1: Aplicação das técnicas de microscopia eletrônica de transmissão e histologia, para análise de mixozoários parasitos de peixes provenientes do rio Batalha, São Paulo, Brasil.	
Resumo.....	29
Abstract.....	30
Introdução.....	31
Material e métodos.....	32
Resultados.....	38
Discussão.....	60
Referências bibliográficas.....	69
Artigo 2: Insights sobre o parasitismo ovariano por <i>Myxobolus aureus</i> em <i>Salminus hilarii</i>	
Resumo.....	82
Abstract.....	83
Introdução.....	84
Material e métodos.....	85
Resultados.....	88
Discussão.....	93
Referências bibliográficas.....	97

Resumo

Mixozoários são metazoários parasitos obrigatórios principalmente de peixes, sendo alguns dos mais importantes patógenos desses hospedeiros. Existem cerca de 2200 espécies descritas para a classe Myxosporea, porém no Brasil os estudos ainda continuam escassos. Nesse estudo foram coletados peixes de diferentes espécies entre março de 2014 e agosto de 2015, para ser verificado a presença de mixozoários parasitos. Foram encontrados mixozoários do gênero *Henneguya* e *Myxobolus* parasitando peixes das ordens Characiformes e Siluriformes. Os parasitos coletados foram processados visando uma análise morfológica através de microscopia de luz, histopatologia e análise ultraestrutural, observando-se ainda a relação parasito-hospedeiro. *Henneguya* sp. 1 foi encontrado parasitando as brânquias de *Astyanax altiparanae* e *Henneguya* sp. 2 parasitando as brânquias de *Leporinus friderici*. *Myxobolus prochilodus*, *Henneguya* sp. 3 e *Myxobolus* sp. 1 foram encontrados parasitando as brânquias de *Prochilodus lineatus* causando deformações nas lamelas primárias dos peixes. *Henneguya* sp. 4 foi encontrada parasitando as brânquias de *Cyphocharax modestus*, causando uma junção das lamelas secundárias e diminuindo a área de respiração útil do peixe. A análise ultraestrutural permitiu a compreensão da interface parasito-hospedeiro. Também foram observados *Henneguya guanduensis* parasitando o intestino de *Hoplosternum litoralle* e *Myxobolus* sp. 2 parasitando o intestino de *Rhamdia quelen*. *Myxobolus aureus* foi encontrado parasitando as gônadas e o fígado de *Salminus hilarii*. A análise histopatológica indicou a infertilidade dos ovócitos afetados. Foram comparadas as medidas morfológicas dos parasitos encontrados e aqui nomeados como sp., com as já registradas na literatura e

não foram encontradas espécies que se assemelhavam no tamanho. Concluiu-se que se tratam de espécies novas com a necessidade de análises moleculares para a confirmação do estudo.

Palavras-chave: Characiformes, *Henneguya*, *Myxobolus*, Myxozoa, Siluriformes.

Abstract

Myxozoans are metazoan parasites mainly on fish, with some of the most important pathogens of these hosts. There are about 2,200 described species for Myxosporea class, but in Brazil the studies are still scarce. In this study fish of different species were collected between March 2014 and August 2015 to be verified the presence of myxozoans parasites. The genera of myxozoans found were *Henneguya* and *Myxobolus* parasitizing fish of Characiformes and Siluriformes orders. The parasites collected were processed aiming a morphological analysis by light microscopy, histopathology and ultrastructural analysis, observing the host-parasite relationship. *Henneguya* sp. 1 was found parasitizing the gills of *Astyanax altiparanae* and *Henneguya* sp. 2 parasitizing the gills of *Leporinus friderici*. *Myxobolus lomi* (*Myxobolus prochilodus*), *Henneguya* sp. 3 and *Myxobolus* sp. 1 were found parasitizing the gills of *Prochilodus lineatus* causing deformities in fish primary lamellae. *Henneguya* sp. 4 was found parasitizing the gills of *Cyphocharax Modestus*, causing a junction of secondary lamellae and decreasing the useful breathing area of the fish. The ultrastructural analysis allowed the understanding of parasite-host interface. Also were observed *Henneguya guanduensis* parasitizing the intestine of *Hoplosternum littorale* and *Myxobolus* sp. 2 parasitizing the intestine of *Rhamdia quelen*. *Myxobolus aureus* was found parasitizing the gonads and liver of *Salminus hilarii*. Histopathological analysis indicated the infertility of the affected oocytes. Morphological measures of parasites found were compared with those reported in the literature and did not found species that were similar in size. It was concluded that these are new species with the necessity of molecular analysis to confirm the study.

Keywords: Characiformes, *Henneguya*, *Myxobolus*, Myxozoa,
Siluriformes.

Introdução Geral

Os peixes podem ser hospedeiros de uma grande diversidade de organismos que estão distribuídos dentro de diversos grupos, podendo ter o seu desenvolvimento afetado tanto em ambientes naturais como em ambientes de cultivo (Eiras et al., 2004). Entre os agentes responsáveis por doenças em peixes estão os mixozoários, como um dos grupos de parasitos de maior importância (Feist & Longshaw, 2006). Esses parasitos podem causar deformações em órgãos e estruturas dos peixes devido a formação de cistos, além de diminuir sua resistência, tornando-os suscetíveis a infecções secundárias e possivelmente a morte (Lom & Dyková, 1992; Woo, 2006).

Mixozoários são parasitos pertencentes ao filo Myxozoa (Grassé, 1970), sendo microscópicos, unicelulares e formadores de esporos. Eles podem ser encontrados tanto em ambiente marinho quanto em água doce, infectando répteis, anfíbios e principalmente peixes. Esses parasitos possuem um diferencial morfológico chamado de cápsula polar, que são estruturas análogas aos nematocistos dos cnidários (Atkinson, 2011). Quando nos peixes, os organismos são endoparasitos podendo infectar qualquer órgão ou tecido, podendo ser histozóicos (intracelular ou intercelular) e celozóicos (cavidade dos órgãos).

O filo Myxozoa possui atualmente mais de 2200 espécies descritas (Lom & Dykova, 2006) e é formado pelas classes Malacosporea (Canning et al., 2000) e Myxosporea (Buetschli, 1881). Dentro da classe Myxosporea (Buetschli, 1881), os mixozoários estão divididos em 62 gêneros, sendo os dois principais *Myxobolus* (Bütschli, 1882) e *Henneguya* (Thélohan, 1892) (Griffin et al., 2008). No Brasil, são conhecidas cerca de 100 espécies de mixozoários (Naldoni et

al., 2011), sendo dessas cerca de 58 pertencentes ao gênero *Myxobolus* e 55 pertencentes ao gênero *Henneguya*.

Em um passado recente os parasitos do filo Myxozoa eram divididos erroneamente em duas classes: Myxosporea e Actinosporea. A classe Myxosporea era composta por parasitos de vertebrados enquanto que a classe Actinosporea era composta por parasitos de invertebrados, principalmente anelídeos (Lom & Noble, 1984; Kent et al., 2001). Essa classificação foi alterada em por Wolf e Markiw (1984) que conseguiram elucidar o ciclo de vida de *Myxobolus cerebralis* (Hofer, 1903) e mostraram que o parasito alterna entre um hospedeiro vertebrado, no caso o peixe, e um hospedeiro invertebrado, sendo este o oligoqueta *Tubifex tubifex* (Muller, 1774). Com a complementação de outros estudos, foi constatado que os parasitos das duas classes citadas anteriormente na verdade se tratavam de diferentes estágios do ciclo de vida dos parasitos do filo Myxozoa. Assim todos os parasitos foram unidos dentro da classe Myxosporea. Segundo Atkinson (2011), somente 52 espécies de mixozoários tiveram os estágios de seus ciclos biológicos demonstrados. Isso representa apenas 3% de todas as espécies conhecidas atualmente. Desse total, 47 ciclos são indiretos, com esporos morfologicamente distintos alternando entre hospedeiros vertebrados (mixosporos) e invertebrados (actinosporos), e nos outros cinco ocorrem à transmissão horizontal ou vertical direta.

O filo Myxozoa sempre foi alvo de estudos para identificar a sua posição dentre os metazoários, e até os dias atuais esse tema é causa de debates. Dados morfológicos e moleculares sugerem que eles sejam membros altamente degenerados do filo Cnidaria (Hatschek, 1888) (Jiménez-Guri et al.,

2007). A classificação dos mixosporídeos vem sendo debatida por vários autores em relação a quais parâmetros são os mais confiáveis para determinar a correta taxonomia do grupo. Recentemente, Fiala e Bartošová (2010), através de um amplo estudo envolvendo a análise de vários marcadores moleculares, como 28S rDNA, 18S rDNA e o gene codificante de proteína EF-2, bem como dados morfológicos, demonstraram que as inferências filogenéticas baseadas unicamente no sequenciamento do gene 18S rDNA representam dados consistentes para estimar a relação evolutiva dos mixosporídeos, não tratando-se apenas da história evolutiva do gene em si. A correta determinação taxonômica é um fator essencial para que se possa chegar às generalizações e conclusões confiáveis a respeito da ecologia, patogenicidade e epidemiologia relacionados a qualquer patógeno.

A grande heterogeneidade encontrada nos rios e bacias hidrográficas da América do Sul reflete a mais rica e diversificada fauna de peixes do mundo, exibindo uma grande diversidade morfológica, fisiológica, de atributos ecológicos e reprodutivos (Aguiar, 2008). O número de espécies de peixes dulcícolas no mundo é estimado em 13.000 espécies, cerca de 28 a 31% desta diversidade, pode ser encontrada na região Neotropical (Crispim & Stevaux, 2003). No entanto, várias ações antrópicas nestes ecossistemas dulcícolas, como o represamento e construção de usinas hidroelétricas, destruição de matas ripárias, assoreamento, contaminação por pesticidas agrícolas, dragagem e/ou afogamento das lagoas marginais e poluição, levam a drástica redução da biodiversidade de peixes (Carvalho, 2009). Os grandes rios do Sudeste do Brasil estão sofrendo um aumento contínuo destes processos de degradação (Pinto et al., 2006), um exemplo é o rio Batalha. O rio Batalha

(Figura 1) percorre cerca de 167 quilômetros. Este rio abrange total ou parcialmente os municípios de Agudos, Bauru, Piratininga, Avaí, Duartina, Gália, Presidente Alves, Reginópolis e Uru. Sua nascente está localizada na Serra da Jacutinga (Agudos-SP) desaguardo no rio Tietê, no município de Uru-SP. A má utilização e ocupação do solo pelas atividades antrópicas desenvolvidas em sua área de drenagem (monocultura, reflorestamento e pecuária) tem reduzido a mata nativa e ripícola, desencadeando alterações da qualidade de suas águas e exposição das áreas das nascentes a crescentes processos de erosão de áreas terrestres adjacentes ao rio, que conduzem ao assoreamento de seu leito, além da poluição das suas águas (Silva et al., 2009). Além disso, existem grandes indústrias na maioria das cidades que margeiam o rio Batalha, que contribuem para a poluição deste rio, além do fato de algumas cidades não tratarem seu esgoto ou tratarem somente uma porcentagem do mesmo, sendo o restante jogado no rio "in natura". Este rio é o responsável pelo abastecimento de 45% da população bauruense e, segundo classificação da CETESB, sua água é considerada de boa qualidade. A água é proveniente da lagoa de captação de água do DAE (Departamento de Água e Esgoto) (Santos & Heubel, 2008). O reservatório no qual é feita a captação das águas do rio Batalha está situado no limite entre os municípios de Bauru (22°18'54"S e 49°03'39"O) e Piratininga (22°24'46"S e 49°08'05"O), na região CO do Estado de São Paulo. O reservatório foi construído em 1943 e sua ampliação data de 1967, tendo havido uma nova expansão da área alagada em agosto de 2004. Com uma capacidade média diária de captação de 500L/seg e vazão de exploração de 1800m³/h, o reservatório atualmente possui formato irregular com comprimento que pode variar de 200 a 700 m, largura de 15 a

200 m e profundidade de 0,60 a 2,0m. O sistema em questão possui formato irregular, com vegetação ciliar apenas em um pequeno trecho de margens (Silva et al., 2009).

A aquicultura é o setor de produção de alimento que mais cresce atualmente, sendo responsável atualmente por 50% de toda a produção de peixe destinada a alimentação. Em escala global, a aquicultura produz 9,41 Kg de peixes preparados para consumo, por pessoa. Isso se deve ao fato de peixes serem a principal fonte de proteínas na América do Sul e também muito importante em todos os outros continentes. A alta demanda por peixe, resultou na necessidade de extensos estudos da fisiologia, comportamento e sanidade de espécies com potencial para serem comercializados (Eiras et al., 2010).

Algumas espécies de mixozoários infectam peixes que são economicamente importantes como recurso pesqueiro e outras infectam peixes cultiváveis, podendo causar grandes prejuízos econômicos, com altas razões de mortalidade (Barassa et al., 2003). *Myxobolus* é o maior gênero dentro da classe Myxosporea e a espécie mais estudada deste gênero é *M. cerebralis*, que provoca a “doença do rodopio” ou “doença da cauda negra”. A doença manifesta-se nos exemplares jovens e se os esporos estiverem localizados na cartilagem, perto da cápsula auditiva provocam distúrbios natatórios característicos. Os esporos quando estão localizados na cartilagem da coluna vertebral, numa zona posterior a 26^o vértebra, exercem pressão sobre os nervos caudais que controlam a pigmentação da cauda, ficando esta intensamente enegrecida (Feist & Longshaw, 2006). Esta doença está incluída na lista de doenças de peixes de declaração obrigatória nos países em que existe legislação sobre as mesmas (Eiras, 1994).

Henneguya é o segundo gênero com maior número de espécies dentro da classe Myxosporidia, apresentando uma ampla distribuição geográfica e infecta peixes marinhos e dulcícolas. Os cistos podem estar localizados no coração, cérebro, músculo, vesícula biliar, olhos, gônadas, sistema nervoso e outros locais, mas o local preferencial para a localização dos cistos são as brânquias nas formas intra e interlamelar. *Henneguya ictaluri* (Pote et al., 2000) ocasiona a doença proliferativa da brânquia (PGD) no peixe *Ictalurus punctatus* (Rafinesque, 1818) gerando grandes perdas para pisciculturas. *Henneguya lateobracis* (Yokohama, 2003) e *Henneguya pagri* (Yokohama, 2005), podem causar mortalidade em *Lateobrax* sp. (Bleeker, 1855) e *Pagrus major* (Temminck & Schlegel, 1843), respectivamente, por infecções no coração levando a cardiomiopatias degenerativas. *Henneguya pseudoplatystoma* (Naldoni et al., 2009) causou importante redução da área funcional do epitélio respiratório de exemplares de pintado híbrido, procedente de pisciculturas dos Estados de São Paulo e Mato Grosso do Sul (Naldoni et al., 2009). Em exemplares de pacu de pisciculturas do Estado de São Paulo, *Henneguya piaractus* (Martins & Souza, 1997), foi encontrada causando compressão dos capilares, hemorragia e focos inflamatórios nas brânquias (Adriano et al., 2005a).

Algumas espécies pertencentes a outros gêneros também podem causar sérios danos em peixes de ambientes naturais ou em pisciculturas como os do gênero *Kudoa* (Meglitsch, 1947), que se alojam nos músculos de peixes marinhos e após a morte do hospedeiro, ocasionam a liquefação da carne tornando-a assim inviável para o consumo (Woo, 2006). *Ceratomyxa shasta* (Noble, 1950), um parasito de intestino, ocasiona uma alta taxa de mortalidade

em salmões juvenis do rio Klamath, localizado no Oregon-Califórnia, EUA (Foott et al., 2004).

A utilização de microscopia eletrônica de transmissão (MET) é de extrema importância no estudo dos mixozoários, pois fornece informações muito relevantes sobre a morfologia dos esporos, principalmente o número de voltas do filamento polar. Existem vários trabalhos no Brasil que utilizaram a MET como uma ferramenta para a descrição de novas espécies, entre eles podemos citar: Azevedo & Matos (1996), Azevedo & Matos (2003), Casal et al. (2003), Vita et al. (2003), Adriano et al. (2005b,c), Matos et al. (2005), Tajdari et al. (2005), Adriano et al. (2006), Casal et al. (2006), Feijó et al. (2008), Azevedo et al. (2008), Adriano et al. (2009), Azevedo et al. (2009), Azevedo et al. (2010), Azevedo et al. (2011).

Parasitas têm inúmeras estratégias para evitar a detecção dentro do hospedeiro. Os mixozoários só são observados quando é possível ser realizado um rompimento de seus cistos. Na maioria dos casos, um equilíbrio evolutivo foi alcançado entre o hospedeiro e o parasito e, mesmo quando a histopatologia é evidente, é necessário um exame detalhado, pois o órgão afetado não demonstra estar excessivamente prejudicado. Exemplos incluem inflamação crônica, formação de granulomas e fibrose central (Feist, 2008). Sendo assim um estudo histopatológico é de grande importância para a identificação de parasitos, bem como os efeitos por eles causados.

Os estudos feitos com mixozoários muitas vezes são prejudicados em sua eficiência devido à falta de material para processamento e estudo, além da dificuldade no domínio de etapas das técnicas de MET e histologia. Não existe nenhum estudo sobre mixozoários parasitos de peixes realizado no rio Batalha,

Estado de São Paulo, Brasil. Com base nesta perspectiva, pretende-se neste estudo avaliar a biodiversidade dos mixozoários parasitos, aprimorar a metodologia para diagnosticá-los e minimizar os possíveis problemas ocorridos na preparação de material com as técnicas MET e histologia. Em síntese, com base nos estudos anteriores, o uso conjunto das técnicas morfológicas e as análises moleculares são complementares e juntas elas aumentam a qualidade dos resultados.



Figura 1. Trecho do rio Batalha na cidade de Reginópolis.

Referências Bibliográficas

Adriano, E.A.; Arana, S.; Cordeiro, N.S. Histology, ultrastructure and prevalence of *Henneguya piaractus* (Myxosporea) infecting the gills of *Piaractus mesopotamicus* (Characidae) cultivated in Brazil. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 64, p. 229-235, 2005a.

Adriano, E.A.; Arana, S.; Cordeiro, N.S. Histopathology and ultrastructure of *Henneguya caudalongula* sp. n. infecting *Prochilodus lineatus* (Pisces: Prochilodontidae) cultivated in the state of São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, p. 177-181, 2005b.

Adriano, E.A.; Arana, S.; Cordeiro, N.S. An ultrastructural and histopathological study of *Henneguya pellucida* n. sp. (Myxosporea: Myxobolidae) infecting *Piaractus mesopotamicus* (Characidae) cultivated in Brazil. **Parasite**, v. 12, p. 221-227, 2005c.

Adriano, E.A.; Arana, S.; Cordeiro, N.S. *Myxobolus cuneus* n. sp. (Myxosporea) infecting the connective tissue of *Piaractus mesopotamicus* (Pisces: Characidae) in Brazil: histopathology and ultrastructure. **Parasite**, v. 13: p. 137-142, 2006.

Adriano, E.A.; Arana, S.; Carriero, M.M.; Naldoni, J.; Ceccarelli, P.S.; Maia, A.A. Light, electron microscopy and histopathology of *Myxobolus salminus* n. sp., a parasite of *Salminus brasiliensis* from the Brazilian Pantanal. **Veterinary Parasitology**, v. 165, p. 25-29, 2009.

Aguiar, K.D. Influência de uma barragem sobre atributos ecológicos da comunidade e biologia reprodutiva de peixes do rio Paraíba do Sul, UHE Ilha dos Pombos, Rio de Janeiro, Brasil. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação)-UFPR. 2008.

Atkinson, S.D. Diversity, life cycles and population genetics of freshwater Myxozoa from the Pacific Northwest of North America. PhD Thesis, School of Chemistry & Molecular Bioscience, The University of Queensland, Australia, 220 p., 2011.

Azevedo C., Matos E. *Henneguya malabarica* sp. nov. (Myxozoa, Myxobolidae) in the Amazonian fish *Hoplias malabaricus*. **Parasitology Research**, v. 82, p. 222-224, 1996.

Azevedo, C.; Matos, E. Fine structure of *Henneguya pilosa* sp. n. (Myxozoa: Myxosporea), parasite of *Serrasalmus altuvei* (Characidae), in Brazil. **Folia Parasitologica**, v. 50, p. 37-42, 2003.

Azevedo, C.; Casal, G.; Matos, P.; Matos, E. A new species of Myxozoa, *Henneguya rondoni* n. sp. (Myxozoa), from the peripheral nervous system of the Amazonian fish, *Gymnorhamphichthys rondoni* (Teleostei). **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 55, p. 229-234, 2008.

Azevedo, C.; Casal, G.; Mendonça, I.; Matos, E. Fine structure of *Henneguya hemiodopsis* sp. n. (Myxozoa), a parasite of the gills of the Brazilian teleostean fish *Hemiodopsis microlepes* (Hemiodontidae). **Mémoires do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 975-979, 2009.

Azevedo, C.; Casal, G.; Mendonça, I.; Carvalho, E.; Matos, P.; Matos, E. Light and electron microscopy of *Myxobolus sciades* n. sp. (Myxozoa), a parasite of the gills of the Brazilian fish *Sciades herzbergii* (Block, 1794) (Teleostei: Ariidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, p. 203-207, 2010.

Azevedo, C.; Casal, G.; Matos, P.; Matos, E. *Henneguya torpedo* sp. nov. (Myxozoa), a parasite from the nervous system of the Amazonian teleost

Brachyhypopomus pinnicaudatus (Hypopomidae). **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 93, p. 235-242, 2011.

Barassa, B.; Adriano, E.A.; Arana, S.; Cordeiro, N.S. *Henneguya curvata* sp. n. (Myxosporea: Myxobolidae) parasitizing the gills of *Serrasalmus spilopleura* (Characidae: Serrasalmidae), a South American freshwater fish. **Folia Parasitologica**, v. 50, p. 151-153, 2003.

Carvalho, E.D. Ações antrópicas e a biodiversidade de peixes: status da represa de Jurumirim (Alto Paranapanema). Tese (Livre Docência), UNESP. 2009.

Casal, G.; Matos, E.; Azevedo, C. Light and electron microscopic study of the myxosporean *Henneguya friderici* n. sp. from the Amazonian teleostean fish, *Leporinus friderici*. **Parasitology**, v. 126, p. 313-319, 2003.

Casal, G.; Matos, E.; Azevedo, C. A new myxozoan parasite from the Amazonian fish *Metynnis argenteus* (Teleostei, Characidae): light and electron microscope observations. **Journal of Parasitology**, v. 92, p. 817-82, 2006.

Crispim, J.Q.; Stevaux, J.C. Alterações na Hidrologia do Canal do rio Paraná após a Construção do Reservatório de Porto Primavera. In: Universidade Estadual de Maringá. Nupélia/PELD. A planície de inundação do alto rio Paraná: Site 6 PELD/CNPq – Relatório anual 2002.2003.

Eiras, J.C., 1994. In: Elementos de ictioparasitologia. Fundação Eng. António de Almeida, Portugal. 339p.

Eiras, J.C.; Malta, J.C.; Varela, A.; Pavanelli, G.C. *Henneguya schizodon* n. sp. (Myxozoa, Myxobolidae), a parasite of the Amazonian teleost fish *Schizodon fasciatus* (Characiformes, Anostomidae). **Parasite**, v. 11, p. 169-173, 2004.

Eiras, J.C.; Monteiro, C.M.; Brasil-Sato, M.C. *Myxobolus franciscoi* sp. nov. (Myxozoa: Myxozporea: Myxobolidae) a parasite of *Prochilodus argenteus* (Actinopterygii: Prochilodontidae) from the Upper São Francisco River, Brazil, with a revision of *Myxobolus* spp. from South America. **Zoologia**, v. 27, p. 131-137, 2010.

Feijó, M.M.; Arana, S.; Cecarrelli, P.S.; Adriano, E.A. Light and scanning electron microscopy of *Henneguya arapaima* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae) and histology of infected sites in pirarucu (*Arapaima gigas*: Pisces: Arapaimidae) from the Araguaia River, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 157, p. 59-64, 2008.

Feist, S.W.; Longshaw, M. Phylum Myxozoa. **In: Fish Diseases and Disorders. Volume 1: Protozoan and Metazoan Infections Second Edition.** UK: CAB international, p. 230-296, 2006.

Feist, S.W.; Longshaw, M. Histopathology of fish parasite infections – importance for populations. **Journal of Fish Biology**, v. 73, p. 2143–2160, 2008.

Fiala, I.; Bartošová, P. History of myxozoan character evolution on the basis of rDNA and EF-2 data. **BMC Evolutionary Biology**, v. 10, n. 1, p. 228, 2010.

Foott J.S., Harmon, R.; Stone, R. Effect of water temperature on non-specific immune function and Ceratomyxosis in juvenile Chinook salmon and steelhead from the Klamath River. **California Fish and Game**, v. 90, n. 2, p. 71-84, 2004.

Griffin, M.J.; Pote, L.M.; Wise, D.J.; Greenway, T.E.; Mael, M.J.; Camus, A.C. A novel *Henneguya* species from channel catfish described by

morphological, histological, and molecular characterization. **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 20, p. 127-135, 2008.

Jiménez-Guri, E.; Philippe, H.; Okamura, B.; Holland, P.W. H. *Buddenbrockia* is a cnidarian worm. **Science**, v. 317, p. 116–118, 2007.

Kent, M.L.; Andree, K.B.; Bartholomew, J.L.; El-Matbouli, M.; Desse, S.S.; Devlin, R.H.; Feist, S.W.; Hedrick, R.P.; Hoffmann, R.W.; Khattra, J.; Hallett, S.L.; Lester, R.J.G.; Longshaw, M.; Palenzeula, O.; Siddall, M.E.; Xiao, C.X. Recent advances in our knowledge of the Myxozoa. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 48, p. 395–413, 2001.

Lom, J.; Noble, E.R. Revised classification of the class Myxosporea Buetschli, 1881. **Folia Parasitologica**, v. 31, n. 3, p. 193-205, 1984.

Lom, J.; Dykova, I. Fine structure of triactinomyxon early stages and sporogony: Myxosporean and actinosporean features compared. **Journal of Protozoology**, v. 39, p. 16-27, 1992.

Lom, J.; Dyková, I. Myxozoan genera: definition and notes on taxonomy, life-cycle terminology and pathogenic species. **Folia Parasitologica**, vol. 53, n. 1, p. 1-36, 2013.

Luque, J.L. Biologia, Epidemiologia e Controle de parasitos de peixes. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, p. 161-164, 2004.

Matos, E.; Tajdari, J.; Azevedo, C. Ultrastructural studies of *Henneguya rhamdia* n. sp.(Myxozoa) a parasite from the Amazon teleost fish, *Rhamdia quelen* (Pimelodidae). **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 52, n. 6, p. 532-537, 2005.

Naldoni, J., Arana, S., Maia, A.A.M., Ceccarelli, P.S. Tavares, L.E.R., Borges, F.A., Pozo, C.F., Adriano, E.A. *Henneguya pseudoplatystoma* n. sp.

causing reduction in epithelial area of gills in the farmed pintado, a South American catfish: Histopathology and ultrastructure. **Veterinary Parasitology**, v. 166, p. 52–59, 2009.

Naldoni, J.; Arana, S.; Maia, A.A.M.; Silva, M.R.M.; Carriero, M.M.; Ceccarelli, P.S.; Tavares, L.E.R.; Adriano, E.A. Host-parasite-environment relationship, morphology and molecular analyses of *Henneguya eirasi* n. sp. parasite of two wild *Pseudoplatystoma* spp. in Pantanal Wetland, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 177, p. 247-255, 2011.

Pinto, B.C.T.; Peixoto, M.G.; Araújo, F.G. Effects of the proximity from an industrial plant on fish assemblages in the rio paraíba do Sul, southeastern Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 4, p. 269-278, 2006.

Pote, L.M.; Hanson, L.A.; Shivaji, R. Small subunit ribosomal RNA sequences link the cause of proliferative gill disease in channel catfish to *Henneguya* n. sp. (Myxozoa: Myxosporea). **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 12, p. 230-240, 2000.

Santos, F.S.; Heubel, M.T.C.D. General Composição da comunidade ictilógica e biometria taxológica na lagoa de captação de água do DAE no rio Batalha (Bauru-SP). **Salusvita**, v. 27, p. 29-44, 2008.

Silva, F.L.; Talamoni, J.L.B.; Bochini, G.L.; Ruiz, S.S.; Moreira, D.C. Macroinvertebrados aquáticos do reservatório do rio Batalha para a captação das águas e abastecimento do município de Bauru, SP, Brasil. **Revista Ambiente e Água**, v. 4, p. 66-74, 2009.

Tajdari, J.; Matos, E.; Mendonça, I.; Azevedo, C. Ultrastructural morphology of *Myxobolus testicularis* sp. n., parasite of the testis of

Hemiodopsis microlepis (Teleostei: Hemiodontidae) from the NE of Brazil. **Acta Protozoologica**, v. 44, p. 377–384, 2005.

Wolf, K.; Markiw, M.E. Biology contravenes taxonomy in the Myxozoa: new discoveries show alternation of invertebrate and vertebrate hosts. **Science**, v. 225, p. 1449–1452, 1984.

Woo, P.T.K. **In: Fish Diseases and Disorders. Volume 1: Protozoan and Metazoan Infections Second Edition.** UK: CAB International, 791 p., 2006.

Vita, P.; Corrah, L.; Matos, E.; Azevedo, C. Ultrastructural aspects of the myxosporean *Henneguya astyanax* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae), a parasite of the Amazonian teleost *Astyanax keithi* (Characidae). **Diseases of Aquatic Organisms** v. 53, p. 55-60, 2003.

Yokoyama, H.; Kawakami, H.; Yasuda, H.; Tanaka, S. *Henneguya lateolabracis* n. sp. (Myxozoa: Myxosporea), the causative agent of cardiac henneguyosis in Chinese sea bass *Lateolabrax* sp. **Fisheries Science**, v. 69, p. 1116-1120, 2003.

Yokoyama, H.; Itoh, N.; Tanaka, S. *Henneguya pagri* n. sp. (Myxozoa: Myxosporea) causing cardiac henneguyosis in red sea bream, *Pagrus major* (Temminck & Schlegel). **Journal of Fish Diseases**, v. 28, p. 479-487, 2005.