

HENNEGUYA INTRACORNEA N.SP. (MYXOZOA : MYXOSPOREA) PARASITA DO OLHO DO LAMBARI, *ASTYANAX SCABRIPINNIS* (JENYNS, 1842) (OSTEICHTHYES, CHARACIDAE)

ISMAEL GIOIA*, NELSON DA SILVA CORDEIRO** & PAULO DE TOLEDO ARTIGAS**

Descreve-se um novo mixosporídeo – Henneguya intracornea n.sp. – parasita da córnea de peixe de água doce, Astyanax scabripinnis (Jenyms, 1842) da região de Campinas, SP.

As sucessivas fases evolutivas são descritas. Assinalam-se os caracteres morfológicos e biológicos que distinguem H. intracornea n.sp. das demais espécies do gênero.

Destaca-se o parasitismo exclusivo da córnea do peixe parasitado e suas características morfológicas, com ênfase para sua típica cápsula polar, com a forma de garrafa e para os dois processos caudais, desiguais no comprimento.

Palavras-chave: *Henneguya intracornea* n.sp. – Myxosporidia – *Astyanax scabripinnis* – Characidae

Recentemente, relatamos o encontro de *Henneguya pisciforme* (Cordeiro et al., 1982, 1983/84) em brânquias do *Hyphessobrycon anisitsi* Eigenmann, 1907, (lambari), peixe de água doce, capturado no município de Campinas, SP.

Prosseguindo o estudo da fauna parasitária de peixes das bacias dos rios Atibaia e Jaguari, verificamos, em exemplares de *Astyanax scabripinnis* (Jenyms, 1842), a presença de protozoário mixosporídeo, em formações bem delimitadas, localizadas na córnea. Nestas formações, de aparência cistóide, foi encontrada toda a seqüência do processo evolutivo, até a diferenciação dos sucessivos estágios que caracterizam as espécies do gênero *Henneguya* Thélohan, 1892.

No presente trabalho estudamos a morfologia, a prevalência da infecção e identidade taxonômica deste protozoário, para o qual é proposta a denominação de *Henneguya intracornea* n.sp.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram examinados 475 exemplares de *Astyanax scabripinnis* (Osteichthyes, Characidae) provenientes de açudes de ribeirões tributários das bacias do rio Atibaia (Fazenda Alpes, no distrito de Joaquim Egídio e Unicamp, no distrito de Barão Geraldo) e do rio Jaguari (Sítio Tapera, no distrito de Joaquim Egídio), todos no município de Campinas, SP.

As coletas, sempre diurnas, entre abril e setembro de 1984, foram feitas com auxílio de covo lançado a, mais ou menos, cinco metros da margem. Utilizamos como isca ração de coelho granulada. A temperatura da água, no momento da captura, variou de 18°C a 23°C na Fazenda Alpes, de 18°C a 24°C na Unicamp e 15°C a 21°C no Sítio Tapera. Foram anotados o sexo e o comprimento padrão dos peixes examinados.

Os peixes recolhidos foram mantidos vivos em aquários sob aeração, no laboratório; foram examinados individualmente, para a verificação, a vista desarmada, de formações parasitárias na córnea. Exemplares parasitados foram conservados vivos e isolados, sob constante observação.

O exame parasitológico se desenvolveu em três etapas: a) exame macroscópico acompanhado de fotografia do olho parasitado; b) exame microscópico (contraste normal e de fase) para o estudo das formas de desenvolvimento do protozoário; observação de preparado a fresco entre lâmina e lamínula e esfregaços corados pelo método de Giemsa; c) exame de cortes histológicos de material fixado em Bouin e incluído em parafina; cortes de 4 µm, corados pela hematoxilina-eosina.

No exame a fresco não se demonstrou útil o uso de reagentes químicos como a uréia (Lom, 1964) e o hidróxido de potássio a 5% (Hoffman, Putz & Dunbar, 1965) como provocadores da extrusão do filamento polar. Esta resultou, facilmente, da compressão sobre o esporo, a fresco, entre lâmina e lamínula.

Universidade Estadual de Campinas, *Deptº de Zoologia e **Deptº de Parasitologia. Caixa Postal 6109, 13081 Campinas, SP, Brasil.

Recebido para publicação em 4 de março e aceito em 15 de maio de 1986.

As ilustrações foram obtidas com o auxílio de câmara clara e a morfometria foi feita com ocular micrométrica a partir de preparações a fresco e coradas pelo Giemsa.

RESULTADOS

Henneguya intracornea n.sp. (Figs. 1 a 15; Tabela I)

Fase vegetativa – Formações brancas, aparentemente cistóides, visíveis a olho desarmado (Fig. 1). Aparecem isoladamente, ou em número que varia de 1 a 9 ($\bar{x} = 2,5$) no OE ou no OD; 1 a 16 ($\bar{x} = 3,9$) em ambos os olhos, em um mesmo hospedeiro, em 49% dos peixes parasitados. Tais formações se localizam abaixo da córnea, entre as lamelas anistas subcorneanas; não se observa reação tissular inflamatória, ou qualquer tipo de reação anormal (Figs. 2 e 3). Em cortes histológicos (Figs. 4 a 11) verifica-se que, envoltos por tênue membrana, entre as lamelas subcorneanas, o protozoário se multiplica ativamente; observam-se elementos polispóricos com numerosas configurações evolutivas e pansporoblastos dispóricos e, na zona central, numerosos esporos imaturos e maduros.

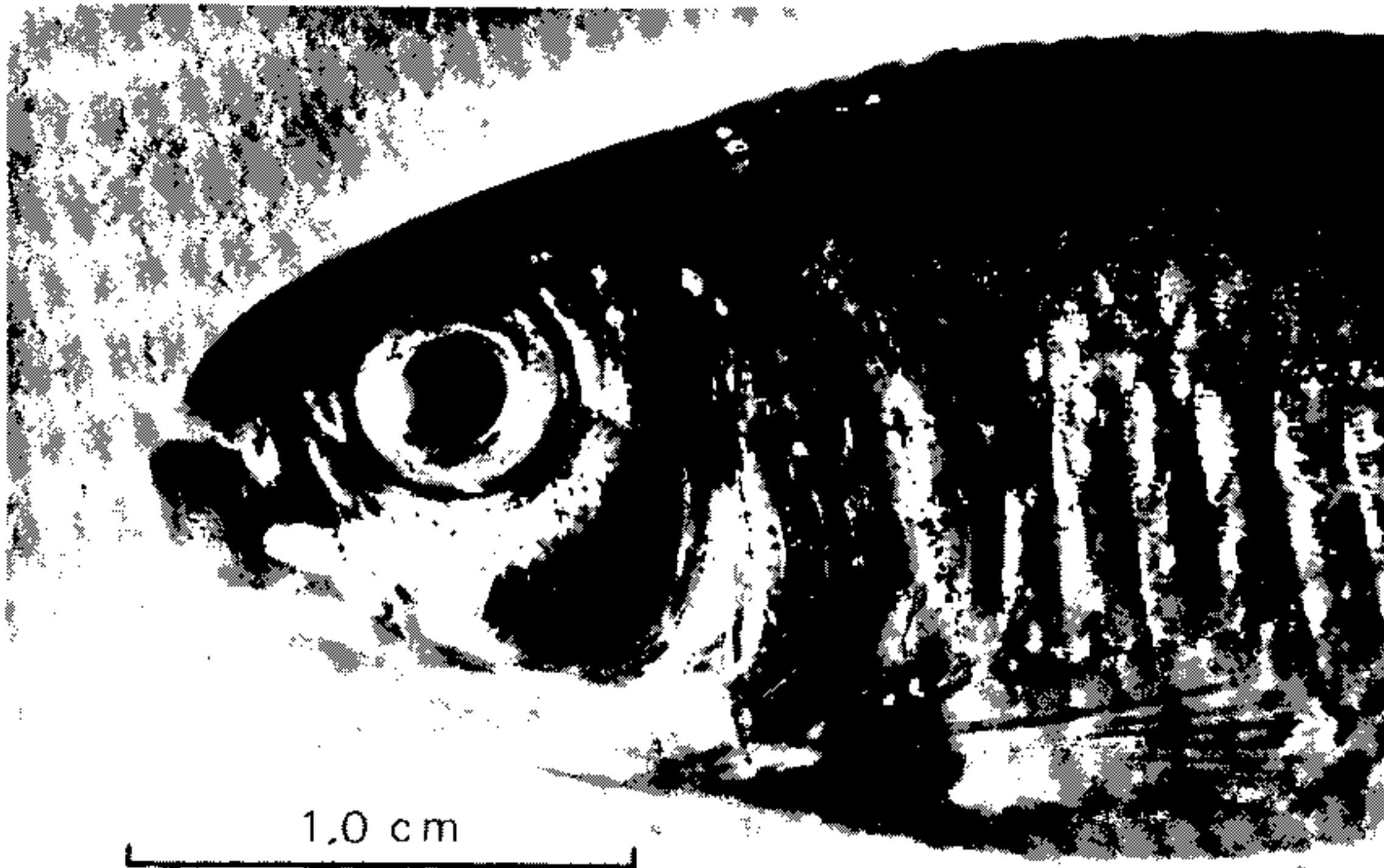


Fig. 1: aspecto característico do lambari, *Astyanax scabripinnis* infectado com *Henneguya intracornea* n.sp.

Fase esporular – Os esporos apresentam contorno piriforme, com cápsulas polares de tamanho desigual semelhantes a uma garrafa. O processo caudal quando o esporo é pressionado, apresenta dois ramos assimétricos. Por compressão, provoca-se a extrusão dos filamentos polares, espiralados e com 8-9 espiras. O esporoplasma é bem delimitado e mostra, na porção distal, um pequeno vacúolo iodófilo, corado em castanho pela ação do Lugol. No exame a fresco é difícil a observação, no esporoplasma, dos dois núcleos que se tornam distintos no material corado pelo Giemsa (Figs. 12 a 15).

Material examinado – Síntipos: lâminas permanentes, nºs 4004 a 4010, coradas pelo Giemsa; cortes histológicos seriados nºs 4011 a 4017, tratados pela hematoxilina-eosina. Hospedeiros parasitados, fixados em formol a 10% e conservados em álcool 70%, estão incorporados, para confronto, à coleção do Departamento de Parasitologia, Instituto de Biologia da Unicamp.

Prevalência – Entre abril e setembro de 1984, 475 exemplares de *A. scabripinnis* foram coletados e examinados. Desse total verificamos que 7,8% de 256 indivíduos colhidos na Fazenda Alpes, 11,5% dos 121 colhidos no Sítio Tapera e 2,0% dos 98 colhidos na Unicamp, eram portadores de formações cistóides de *H. intracornea* n.sp. Esta espécie foi encontrada, indistintamente, em todos os grupos de tamanho (23 a 85 mm de comprimento padrão) e ambos os sexos dos peixes examinados.

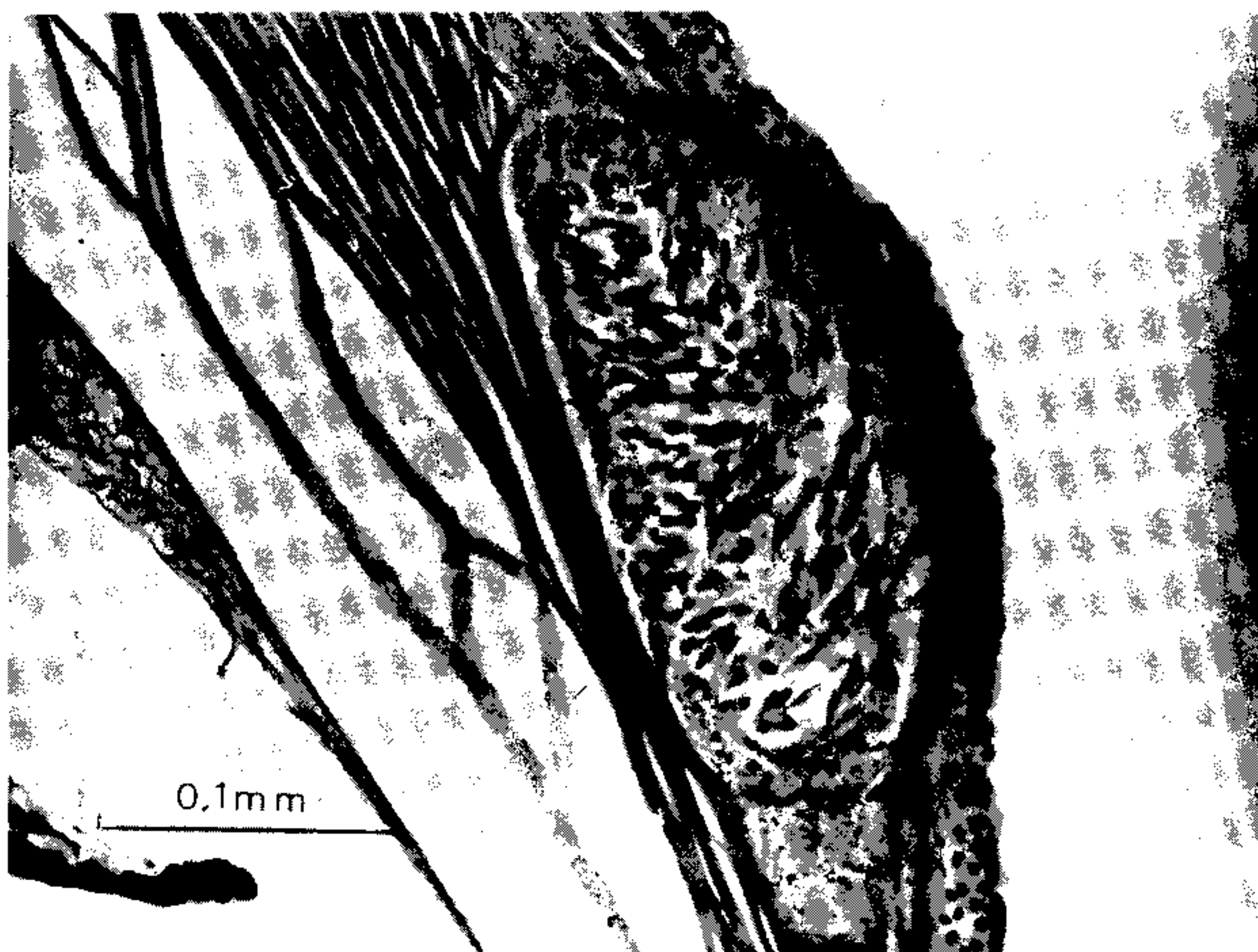
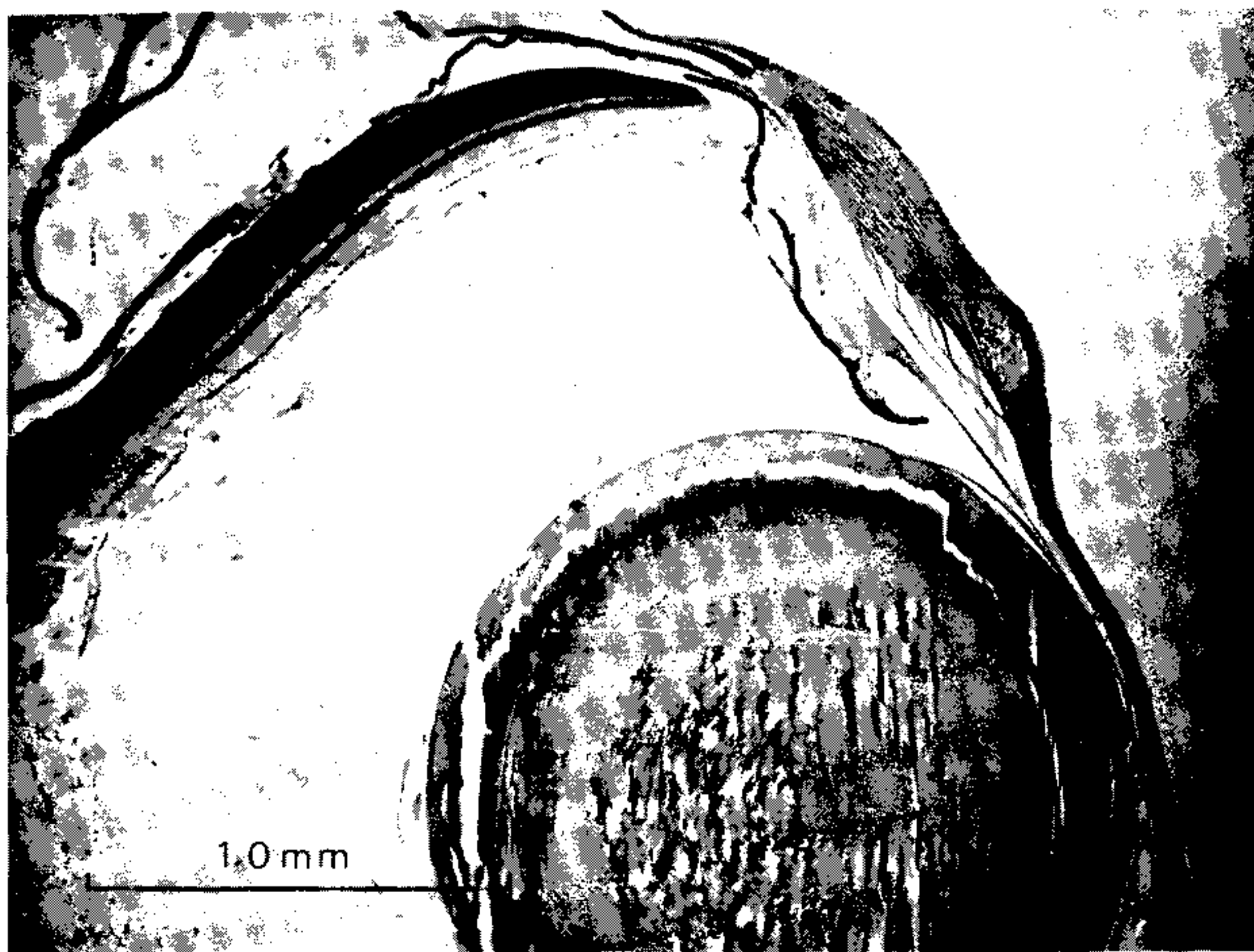
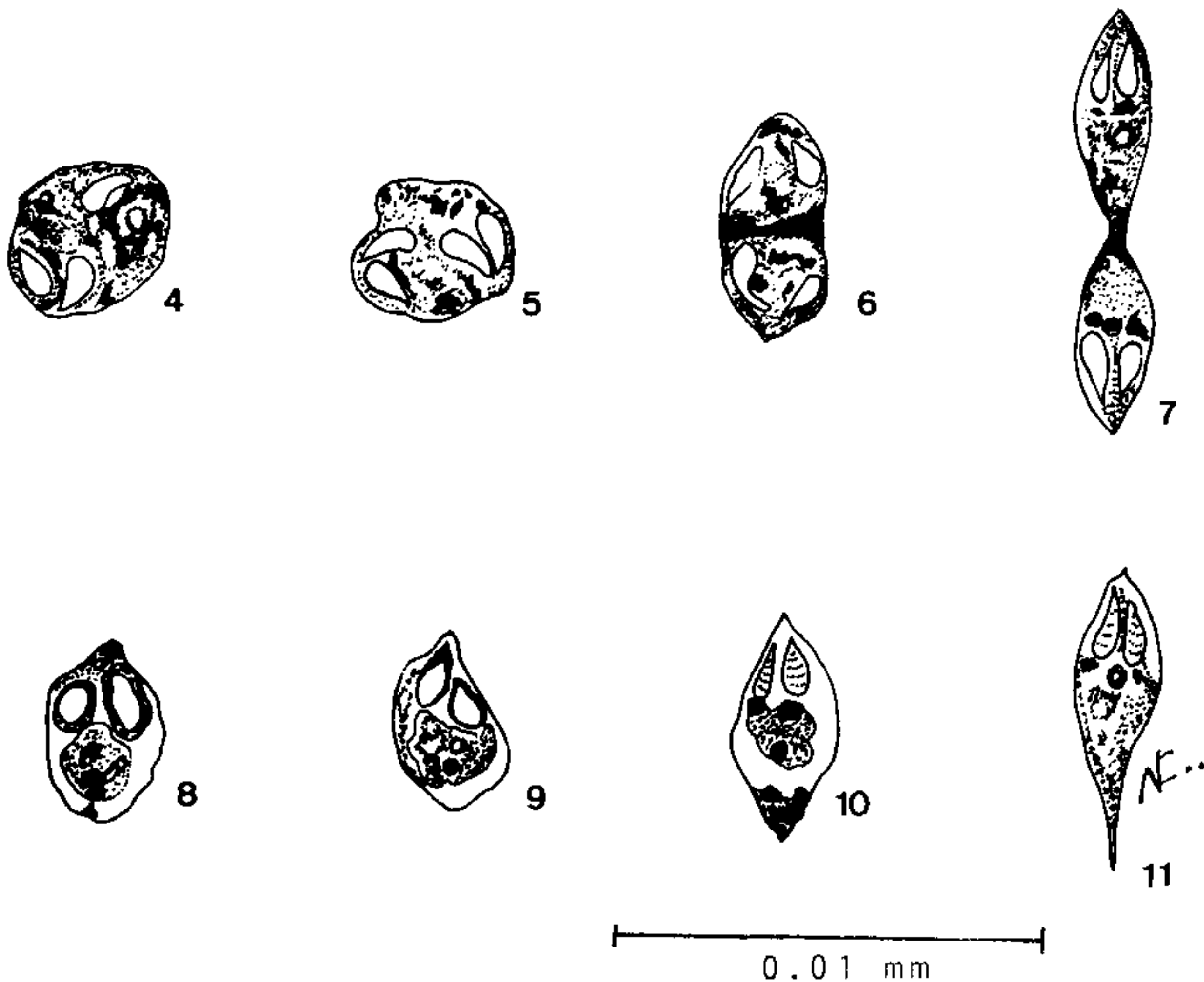


Fig. 2: aspecto do corte histológico do olho de *Astyanax scabripinnis* infectado com *Henneguya intracornea* n.sp. Fig. 3: detalhe do cisto de *Henneguya intracornea* n.sp. na córnea de *Astyanax scabripinnis*.

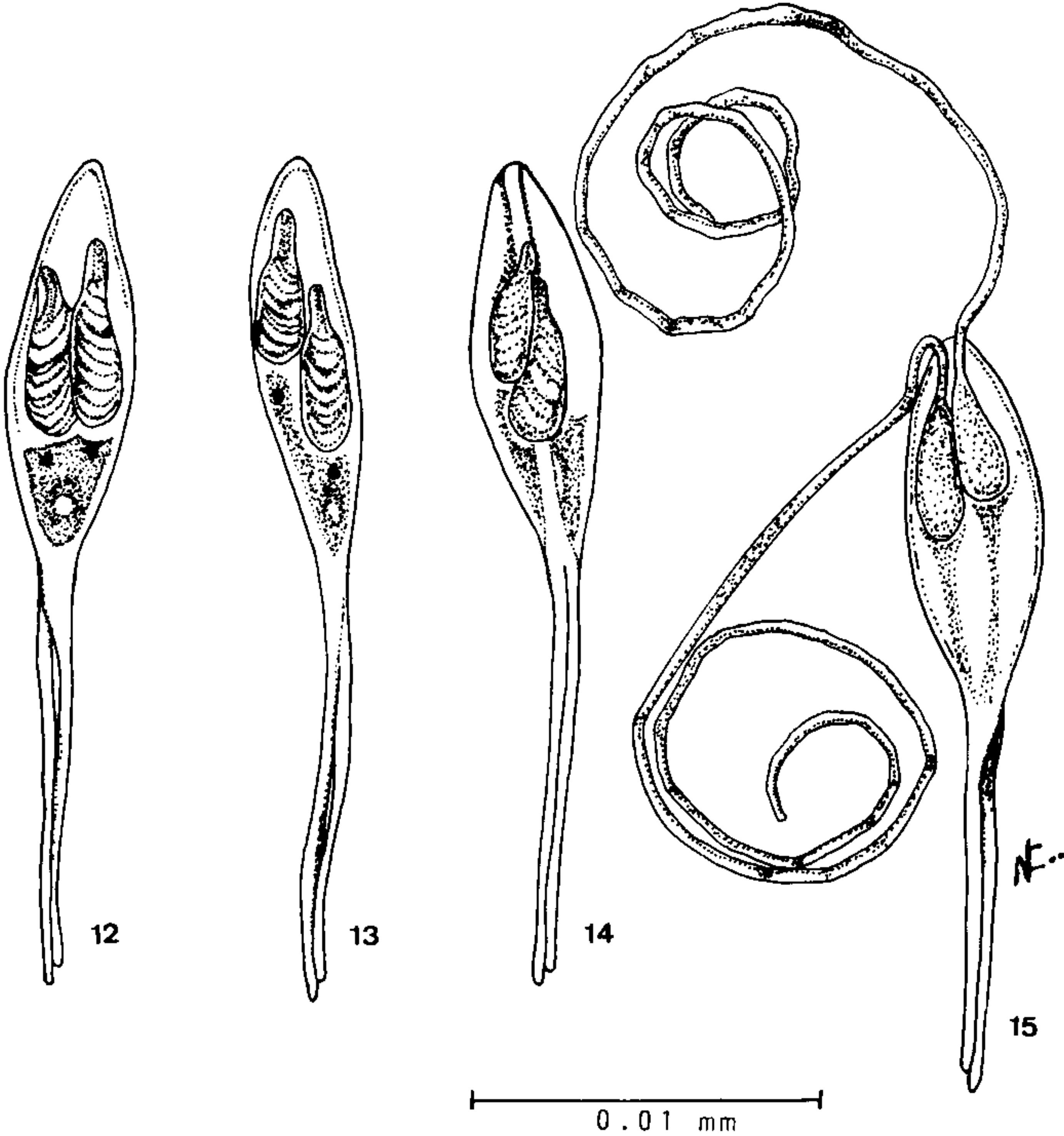
TABELA I

Dimensões (em μm) de *Henneguya intracornea* n. sp., parasita de *Astyanax scabripinnis*.

Especificação	Amplitude total	Média	Desvio padrão	Elementos medidos
Espero:				
Comprimento	36,53 – 45,94	42,41	2,28	60
Largura	5,64 – 9,90	6,65	0,67	60
Distância da extremidade anterior à cápsula polar:				
Menor	1,98 – 5,94	3,46	0,98	60
Maior	3,17 – 9,11	5,30	1,29	60
Processo caudal:				
Maior comprimento	17,82 – 28,91	24,27	2,15	60
Cápsula polar:				
Comprimento	6,93 – 9,90	8,57	0,57	60
Largura	1,88 – 3,96	2,37	0,30	60
Vacúolo iodófilo:	2,43 – 5,34	3,92	0,88	30
Filamento polar:				
Comprimento	75,25 – 134,60	101,88	14,48	20
Largura	0,60 – 1,49	0,96	0,22	20
Cisto:				
Maior diâmetro	117,1 – 707,3	356,65	130,56	60



Henneguya intracornea n.sp. Estágios de formação dos esporos. Fig. 4: esporoblasto com três cápsulas polares completamente desenvolvidas e outra em formação. Fig. 5: pansporoblasto dispórico. Figs. 6 e 7: pansporoblastos dispóricos com divisão citoplasmática. Figs. 8 e 9: esporos imaturos com as cápsulas polares desenvolvidas e valvas em formação. Figs. 10 e 11: esporos imaturos com extensão subterminal da valva, originando o processo caudal.



Esporos maduros de *Henneguya intracornea* n.sp. Figs. 12 e 13: esporos maduros vistos de perfil, mostrando o filamento polar espiralado e esporoplasma. Fig. 14: espora maduro visto de perfil mostrando a região de sutura das valvas. Fig. 15: espora maduro visto de frente, mostrando o filamento polar extrudado.

DISCUSSÃO

São em pequeno número as referências bibliográficas de espécies de *Henneguya*, parasitando o globo ocular de peixes.

Houve ensejo de tomar conhecimento do seguinte: — Espécies que se localizam na esclerótica: *H. schizura* (Gurley, 1893) parasitando *Esox lucius* (apud Kudo, 1920); *H. episclera* Minchew & Sleight, 1977, parasitando *Lepomis gibbosus*. — Espécies que se localizam na córnea: *H. zika-weiensis* Sikama, 1938, parasita de *Carassius auratus* (apud Van Duijn, 1967); *Henneguya* sp. Bara & Upegui, 1985, parasita do *Astyanax fasciatus*.

As espécies de *Henneguya* parasitando peixes, no Brasil, já são numerosas (Cunha & Fonseca, 1918; Guimarães, 1931; Cordeiro et al., 1983/84). A distinção das espécies deste gênero tem apoio nas características morfológicas verificadas no decurso do processo evolutivo, principalmente dos esporos, e, também, no órgão parasitado.

Admite-se, no momento, que várias espécies de mixosporídeos sejam parasitas com destacada especificidade em relação ao hospedeiro e aos seus tecidos (Mitchell, 1977). Análises da variabilidade intraespecífica de esporos e trofozoítas ainda são insuficientes e o verdadeiro grau de especificidade de muitos mixosporídeos não é conhecido. É possível que tal aspecto venha sofrer alterações, com estudos mais profundos. Não obstante, o hospedeiro e, no hospedeiro, e a localização do parasita são elementos de importância na taxonomia destes protozoários.

H. intracornea n.sp. possui características morfológicas específicas bem evidentes e que permitem seja considerada uma nova espécie: a — Especificidade parasitária: só tem sido encontrada em *A. scabripinnis*; nas outras espécies de caracídeos compartilhantes do mesmo habitat (*Hyphessobrycon anisitsi*, *Astyanax bimaculatus*, *Aphyocheirodon hemigrammus* e *Odontostilbe microcephala*) este mixosporídeo não foi encontrado. Verificamos parasitismo por *Henneguya* sp. nas córneas de *Astyanax fasciatus* (possivelmente *Henneguya* sp. Bara & Upegui, 1985) e em *Astyanax eigenmanniorum*; b — Localização do parasita: exclusivamente entre as lamelas da córnea; c — As cápsulas polares do esporo de *H. intracornea* n.sp. se distinguem por uma conformação semelhante à de uma garrafa, por sua situação subterminal e pela disposição oblíqua de uma cápsula em relação à outra no interior do esporo; d — Os ramos caudais do esporo, desiguais no comprimento, constituem-se em outro valioso elemento de diferenciação.

As espécies de *Henneguya* Thélohan, 1892 (Davis, 1944), mixosporídeos parasitas de peixes de água doce e marinhos, são morfológicamente muito afins. Apesar disso, é possível, com bastante segurança, separar as várias espécies já conhecidas por suas características biomorfológicas, o que é apreciado a seguir.

H. salminicola Ward, 1919 (apud Fish, 1939) e *H. doori* Guilford, 1963 (apud Cone, 1963) apresentam uma característica semelhante à *H. intracornea* n.sp.: o comprimento desigual dos ramos caudais do esporo. Todavia, *H. intracornea* n.sp. tem sua localização parasitária na córnea do hospedeiro vertebrado, ao passo que *H. salminicola* se localiza na zona hipodérmica do revestimento cutâneo e no conectivo de músculos corporais (Zschokke & Heitz, 1914 e Ward, 1919 apud Kudo, 1920). *H. doori* se localiza nas brânquias do peixe hospedeiro (Guilford, 1963). Conforme nossa verificação, *H. intracornea* n.sp. se situa e se multiplica entre as lamelas da subcórnea ocular (Fig. 3).

H. schizura (Gurley, 1893), (apud Kudo, 1920) e *H. episclera* Minchew & Sleight, 1977 são parasitas da esclerótica ocular, além de que, possuem esporos de aspecto ovalado. *H. intracornea* n.sp. tem esporos com contorno piriforme.

Das espécies reconhecidas como parasitas da córnea (*H. zikaweiensis* Sikama, 1938 e *Henneguya* sp. Bara & Upegui, 1985), *H. intracornea* n.sp. se diferencia pela presença de ramos caudais assimétricos do esporo e pela presença de nítida cápsula polar com configuração semelhante a uma garrafa.

Finalmente, *H. pisciforme* Cordeiro, Artigas, Gioia & Lima, 1982, que foi encontrada em peixes da mesma área fluvial, se separa pelo esporo que apresenta um botão mamilar e apêndice caudal espesso, condições inexistentes em *H. intracornea* n.sp., além de que aquela espécie é verificada nas brânquias do peixe parasitado.

Exemplares de *Astyanax scabripinnis* parasitados com *H. intracornea* n.sp. mantidos sob observação em cativeiro somente apresentaram formações cistóides por, no máximo, 14 dias. Decorrido o desenvolvimento completo do parasitismo a córnea, aparentemente de imediato, se restabeleceu. Este aspecto nos sugere ser a relação parasita-hospedeiro efêmera por estar um órgão vital do peixe (predador visualmente orientado) comprometido.

SUMMARY

A new myxosporidian, *Henneguya intracornea* n.sp., parasitizing the ocular cornea of a freshwater characidian fish *Astyanax scabripinnis* (Jenyns, 1842), is described.

The parasitized hosts have been collected from water reservoirs. These aquatic environments were constructed at small natural branches of Atibaia and Jaguari rivers, near Campinas, SP, Brazil.

The different developmental stages of *H. intracornea* n.sp., as well as their morphological and biological characteristics are studied. In all cases examined it was observed that the myxosporidian only occurred in the cornea. The most important morphological characteristics of this new species are its bottle-shaped polar capsules and their unequal caudal processes.

Key words: *Henneguya intracornea* n.sp. — Myxosporidia — *Astyanax scabripinnis* — Characidae

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Dr. Roberto Abdalla (Fazenda Alpes) e Sr. Gilberto Romano (Sítio Tapera) pela franquia de suas propriedades. As Srtas. Ivani Callado de Souza, Daniela A. Soares de Oliveira e Erika Navarro Zamora pelo auxílio no trabalho de campo e ajuda na pesquisa bibliográfica e medidas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARA, M.A. & UPEGUI, M.J.G., 1985. Ocorrência de Mixosporídeos do gênero *Henneguya* Thélohan no olho de lambaris (Osteichthyes, Characidae). Resumo 685, *XII Cong. Bras. Zoo.* (Campinas-SP), pág. 327-328.
- CONE, D.K., 1979. *Henneguya doori* Guilford, 1963 (Mixosporidia) of *Perca flavescens* in New Brunswick. *Canad. J. Zool.*, 57 :1785-1788.
- CORDEIRO, N.S.; ARTIGAS, P.T.; GIOIA, I. & LIMA, R.S., 1983/84. *Henneguya pisciforme* n.sp., mixosporídeo parasito de brânquias do lambari *Hyphessobrycon anisitsi* (Pisces, Characidae). No prelo, *Mem. Inst. Butantan*, 47/48.
- CORDEIRO, N.S.; GIOIA, I.; ARTIGAS, P.T. & LIMA, R.S., 1982. Sobre *Henneguya pisciforme* n.sp. (Protozoa : Myxosporidia), parasito de brânquias de *Hyphessobrycon anisitsi* Eigenmann, 1907 (Pisces, Characidae). 34ª Reunião Anual S.B.P.C. (Campinas-SP), pág. 808-809.
- CUNHA, A.M. da & FONSECA, O. da, 1918. Sobre os Mixosporídeos dos peixes brasileiros. *Brasil-Médico* Ano 32, nº 52 :414.
- DAVIS, H.S., 1944. Revision of the genus *Henneguya* (Myxosporidia) with description of two new species. *Trans. Amer. Microsc. Soc.*, 63 (4) :311-320.
- FISH, F.F., 1939. Observations on *Henneguya salminicola* Ward, a myxosporidian parasite in Pacific salmon. *J. Parasitol.*, 25 (2) :169-172.
- GUILFORD, H.G., 1963. New species of Myxosporidia found in percid fishes from Green Bay (Lake Michigan). *J. Parasitol.*, 49 (3) :474-478.
- GUIMARÃES, J.R.A., 1931. *Myxosporídeos da Ichtiofauna brasileira*. Tese, 150p. Faculdade de Medicina de São Paulo.
- GURLEY, R.R., 1893. On the classification of Myxosporidia, a group of protozoan parasites infesting fishes. *Bull. U.S. Fish Comm.*, 11 :407-420.
- HOFFMAN, G.L.; PUTZ, R.E. & DUNBAR, C.L., 1965. Studies on *Myxosoma cartilaginis* n.sp. (Protozoa : Myxosporidia) of centrarchid fish and a synopsis of the *Myxosoma* of North American fresh-water fishes. *J. Protozool.*, 12 (3) :319-332.
- KUDO, R.R., 1920. Studies on Myxosporidia. A synopsis of genera and species of myxosporidia. *III. Biol. Monogr.*, 5 (3-4) :1-265.
- LOM, J., 1964. Notes on the extrusion and some other features of myxosporidian spores. *Acta Protozool.*, 2 :321-327.
- MINCHEW, C.D. & SLEIGHT, B.H.III, 1977. *Henneguya episclera* sp.n. (Protozoa : Myxosporidia), a new myxosporidian from the eye of the Pumpkinseed Sunfish. *J. Parasitol.*, 63 :667-668.
- MITCHELL, L.G., 1977. Myxosporida. In *Parasitic Protozoa*. IV. *Babesia, Theileria, Myxosporidia, Microsporidia, Bartonellaceae, Anaplasmataceae, Ehrlichia* and *Pneumocystis*. Ed. Kreier, J.P. Academic Press, 115-154.
- SIKAMA, Y., 1938. On a new species of *Henneguya* found in a freshwater fish in China. *Jour. Shangai Sci. Inst. Sect. III*, 4 :135-138.
- THÉLOHAN, P., 1892. Observation sur les myxosporidies et essai de classification des ces organismes. *Bull. soc. philom.*, 4 :165-178.
- VAN DUIJN, Jnr. C., 1967. *Diseases of Fishes*, 2nd ed. Thomas Springfield, Illinois.
- WARD, H.B., 1919. Notes on North American Myxosporidia. *J. Parasitol.*, 6 :49-64.
- ZSCHOKKE, F. & HEITZ, A., 1914. Endoparasiten aus Salmoniden von Kamatschatka. *Rev. Suis. Zool.*, 22 :195-256.