



## O que os meus olhos viram ao microscópio

Carlos Azevedo<sup>1\*</sup> 

Laboratório de Parasitologia e Patologia Animal, Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental, Universidade do Porto, Matosinhos, Portugal

Recebido 9 out 2025 / Aceito 4 nov 2025

### Resumo

Nesta exposição vamos tentar rever os principais aspetos morfológicos indicativos da identificação taxonómica encontrados em algumas microparasitas infetantes, coabitando na fauna aquática e que, na nossa atividade, foram observados ao microscópio. Procurámos os aspetos mais significativos da fase de esporo de algumas espécies de microparasitas, principalmente de Protistas, reportando particularidades histopatológica exercidas pelos microparasitas nos respetivos hospedeiros pertencentes aos grupos dos peixes, moluscos e crustáceos.

**Palavras-Chave:** fauna aquática, microscopia, protistas, microparasitas, ultraestrutura, histopatologia.

### Abstract - What my eyes saw under the microscope

In this presentation, we will attempt to review the main morphological aspects indicative of taxonomic identification found in infective microparasites cohabiting aquatic fauna, which, in our work, were observed under the microscope. We will examine the most significant aspects of the spore phase of some microparasite species, mainly of Protists, reporting histopathological peculiarities exerted by these microparasites on their respective hosts belonging to the groups of fishes, mollusks, and crustaceans.

**Keywords:** aquatic fauna microscopy, protists, microparasites, ultrastructure, histopathology.

### Resumen - Lo que mis ojos vieron al microscopio

En esta exposición intentaremos revisar los principales aspectos morfológicos indicativos para la identificación taxonómica observados en algunos microparásitos infectantes que cohabitan en la fauna acuática y que, en el ámbito de nuestra actividad, fueron examinados al microscopio. Buscamos destacar los rasgos más significativos de la fase de esporulación de algunas especies de microparásitos, principalmente de Protistas, señalando las particularidades histopatológicas ejercidas por estos microorganismos en sus respectivos hospedadores pertenecientes a los grupos de peces, moluscos y crustáceos.

**Palabras clave:** fauna acuática: microscopía, protistas, microparásitos, ultraestructura, histopatología.

## Introdução

O estudo de microparasitas, organismos de dimensões microscópicas, tem sido, geralmente, desenvolvido com o auxílio da sua observação ao microscópio. O grupo dos microparasitas constituíram o campo da investigação ao qual nos dedicamos nos últimos tempos da nossa atividade de pesquisa científica, baseado em variados grupos taxonómicos, todos eles, caracterizados pelas suas diferenças morfológicas e genéticas.

Não sendo possível fazer nesta apresentação uma reportagem detalhada, apresentaremos a morfologia descritiva dos aspetos específicos dos grupos com os quais estamos mais familiarizados e que foram objeto dos nos estudos.

Destacaremos os aspetos particulares dos seguintes Phyla:

- Pseudomonadota Garrity et al., 2021 (sin. Proteobacteria Carl Woese, 1940)
- Apicomplexa Levine, 1970
- Perkinsozoa Norén & Moestrup, 1999
- Microsporidia Balbiani, 1882
- Cnidaria Hatschek, 1888 - Sub-phylum Myxozoa Grassé, 1970

\*Autor Correspondente: C. Azevedo: azevedoc1934@gmail.com

## Material e Métodos

Este estudo foi baseado apenas na morfologia de diferentes fases do ciclo de vida de algumas espécies de microparasitas tendo como hospedeiros peixes, moluscos e crustáceos coletados em variadas regiões geográficas, aqui, citadas nas referências. As descrições são, na sua maioria, baseadas no estudo morfológico, citoquímico, ultrastructural e moleculares dos microparasitas que foram processados e observados em diferentes tipos de microscópios (microscópio de Luz (LM) e de contraste de interferência diferencial (DIC), microscópio eletrônico de transmissão (TEM) e microscópio eletrônico de varrimento ("Scanning") (SEM), seguindo o clássico processamento de dupla fixação, usando glutaraldeído e tetróxido de ósmio, ambos tamponados com uma solução aquosa de cacodilato de sódio 0,2 M. Todas as etapas foram efetuadas a 4 °C, seguido das etapas específicas de TEM e de SEM que se encontram reportadas nos artigos referenciados.

Considerando a grande variedade da morfologia dos microparasitas foram feitas pequenas alterações em algumas etapas do processamento (Para mais pormenores, ver artigos referenciados nos M&M dos artigos reportados na lista bibliográfica).

## Resultados

As descrições dos resultados aqui reportados foram observadas em aspetos microscópicos que os meus olhos viram obtidas reportadas nos artigos citados onde são citadas as colaborações de diferentes Colegas, nacionais e estrangeiros, referenciados na lista bibliográfica. Nesta "Revisão" foram reportados alguns aspetos ultrastruturais da morfologia de fases do ciclo de vida de alguns microparasitas pertencendo a determinados "Phyla", aqui reportados:

### a) Phylum Pseudomonadota (sinónimo "Proteobacteria")

Esta classificação que engloba Bactérias e Riquetsias não é consensual, variando entre autores, contudo, parecendo ser a mais consensual. Na sequência de sazonais ocorrências de mortalidade em bivalves, procurámos saber que eventuais microparasitas seriam os agentes biológicos que provocam tais ocorrências. Foram feitos estudos usando variadas tecnologias microscópicas, visando a sua morfologia, identificação e histopatologias resultantes da ação parasitária (Figuras 1 e 2).

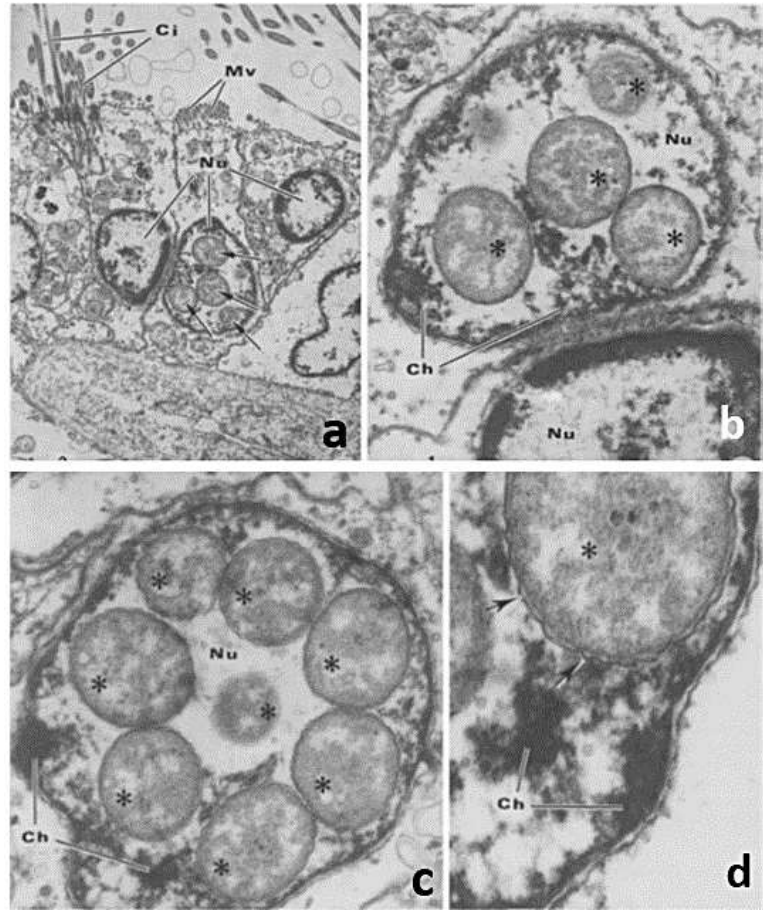
### Bactérias endonucleobiontes (Figura 1)

Na sequência da procura de microparasitária, foi observado ao microscópio de luz a presença de bactérias (Gram negativas) no interior dos núcleos das células branquiais de ameijoas *Ruditapes decussatus*, coletadas na Ria Formosa (Algarve, Portugal). Estes aspetos foram confirmados por meio da observação em TEM. Estas bactérias endonucleobiontes ocorriam em número variável no interior do núcleo de algumas bactérias que apresentavam aspetos de degradação nuclear com evidência da desorganização das massas de DNA e na morfologia nuclear. Esta ocorrência das bactérias dentro do núcleo, sugeriu ser a causa da mortalidade dos hospedeiros. Esta invulgar ocorrência foi muito discutida, mas, muitas dúvidas ficaram sobre o processo de penetração das bactérias através das membranas dos nucleos (Azevedo, 1989a).

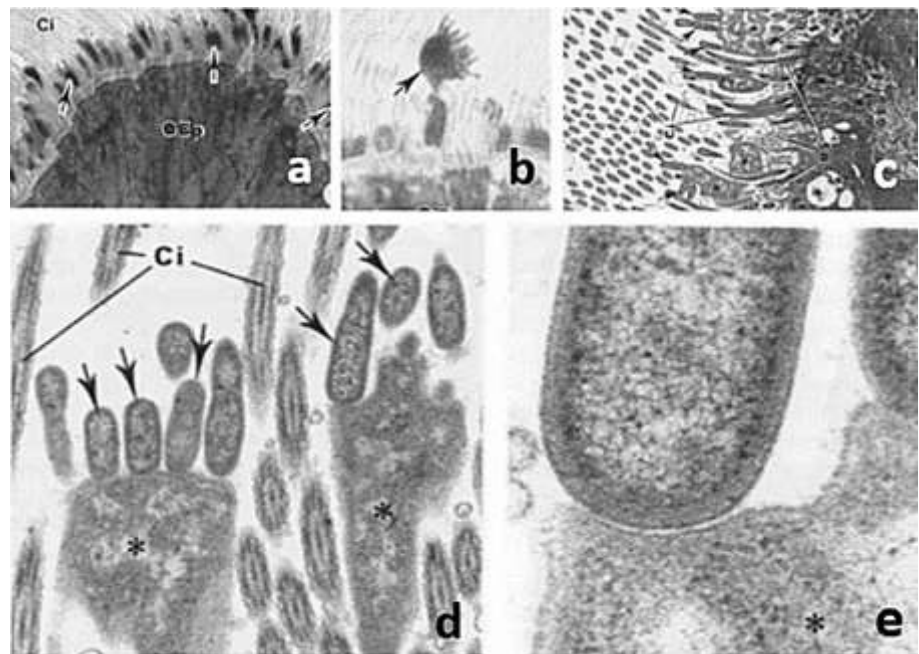
### Coinfecção de bactérias e riquetsias (Figura 2)

Esta invulgar ocorrência de coinfecção com bactérias aderentes à parede de riquetsias gigantes, ambas do tipo Gram negativas, foram encontradas entre os cílios das células epiteliais das brânquias de ostras, *Crassostrea gigas* coletadas nos estuários da Galiza (Espanha), nas quais foi observada a particularidade da ocorrência de riquetsias com dimensões da ordem de 7-9 µm), em relação á quase totalidade das riquetsias descritas na literatura medindo cerca de ~1-2 µm. As alterações histopatológicas de rutura do epitélio branquial do hospedeiro, sugerem que esta coinfecção é letal para os seus hospedeiros (Azevedo & Villalba, 1991).

**Figura 1.** Aspectos ultraestruturais de bactérias Gram negativas endonucleobiontes (\*) encontradas, em número variável, dentro do núcleo de células epiteliais das brânquias, mostrando: **a, b)** aspectos da disposição das bactérias dentro núcleo; **c, d)** a degradação do DNA das células hospedeiras (Fonte: Azevedo, 1989a, *Marine Biol.*, 100: 139-141).



**Figura 2.** Coinfecção da associação de bactérias aderentes à parede de riquetsias gigantes encontradas entre os cílios (Ci) das células branquiais: **a, b)** observação em LM; **c-e)** pormenores observados entre cílios (Fonte: Azevedo & Villalba, 1991, *J. Invertebr. Pathol.*, 58: 75-81).



#### **b) Phylum: Apicomplexa** Levine, 1970

Neste grupo taxonômico são descritos alguns dos muitos microparasitas pertencendo a este complexo grupo taxonômico:

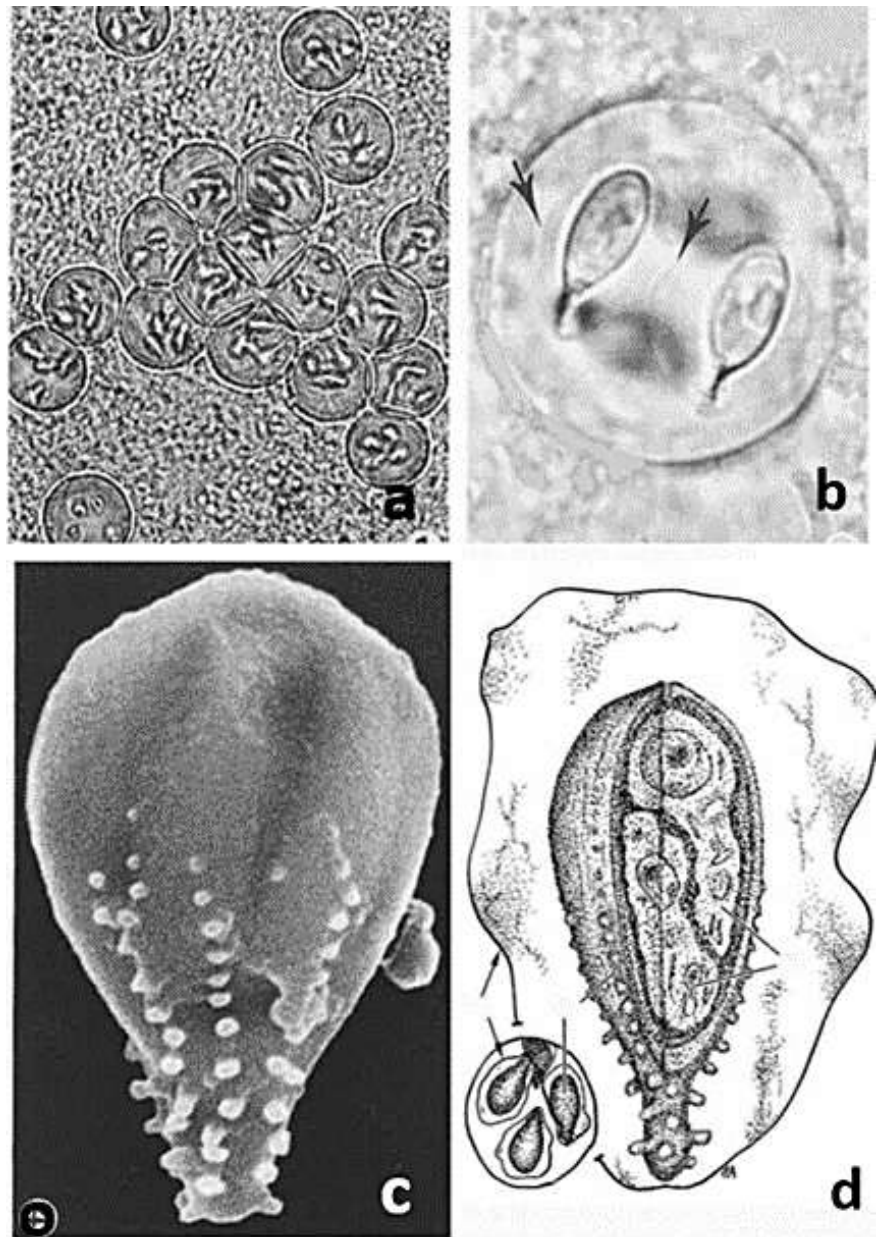
#### ***Calyptospora spinosa*** (Figura 3)

Este microparasita foi encontrado no tecido hepático, testículo e ovário do teleosteo *Crenecicla lepidota* coletado no Baixo Amazonas, perto da cidade de Belém do Pará, Brasil, onde ocorria mortalidade. A



morfologia dos seus oocistos facilitou a identificação, mostrando no seu interior a existência de 4 esporocistos, cada um contendo 2 esporozóitos uninucleados. O corpo dos esporocistos apresentava na sua porção externa numerosas pequenas saliências (espículas). O aspeto da degradação da histologia da infecção sugere que o parasita é patológico. (Azevedo et al., 1993).

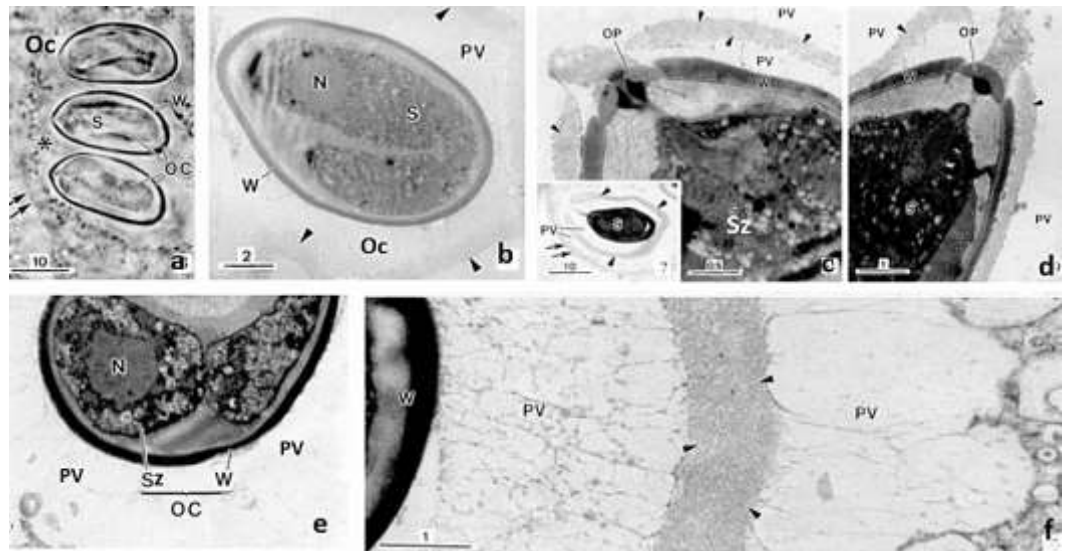
**Figura 3.** Oocistos do microparasita apicomplexo da espécie *Calyptospora spinosa* mostrando: **a, b)** no seu interior 4 esporocistos, cada um mostrando conter 2 esporozóitos em LM; **c)** Esporocisto observado em SEM; **d)** Esquema de esporocisto e 2 esporozóitos uninucleados (Fonte: Azevedo et al., 1993, *J. Fish Dis.*, 18: 475-479).



#### *Nematopsis gigas* (Figura 4)

Este microparasita foi descrito no gastrópode, *Nerita ascensionis* coletado na Ilha de Fernando de Noronha na costa Atlântica do Brasil, sob a forma de oocistos esféricos, isolados ou agrupados no tecido hepático. A morfologia do seu oocisto apresenta uma forma pseudo- periforme com parede espessa, contendo um orifício (micrópilo) coberto por um opérculo. Esta estrutura está dentro de um vacúolo parasitóforo. A parede do oocisto encerra um esporozoítio, célula vermiforme e uninuclear (Azevedo & Padovan, 2004).

**Figura 4.** Aspectos morfológicos de oocistos (Oc) de *Nematopsis gigas*, microparasita do mexilhão da foz do rio Amazonas: **a, b)** três oocistos observados em LM; **c-f)** Observação de particularidades ultraestruturais observadas em TEM; (Sz - esporozóito; W, parede, Op, opérculo; PV, vacúolo parasitóforo; Nu, núcleo) (Fonte: Azevedo & Padovan, 2004, *J. Eukaryot., Microbiol.*, 51: 214-219).

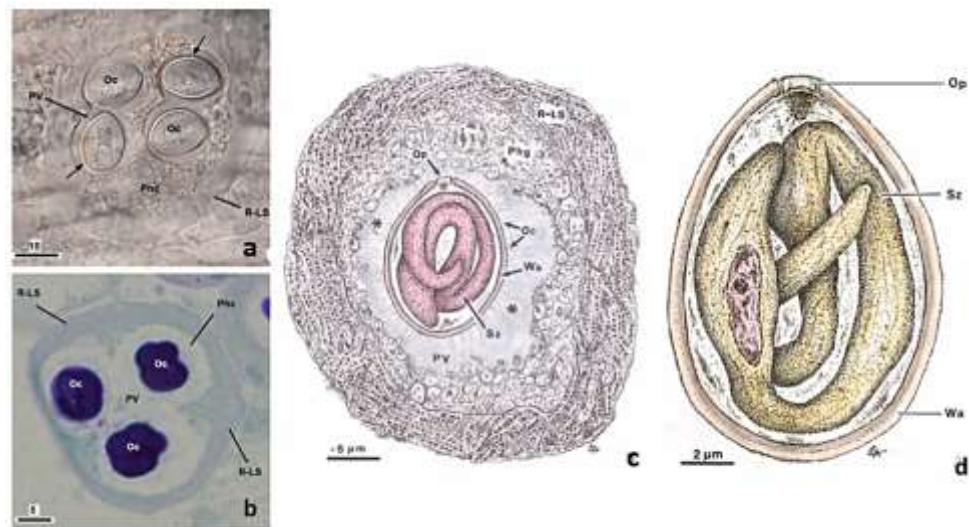


#### *Nematopsis spisula* (Figura 5)

Foi coletado na ameijoia branca (*Spisula solida*) da costa norte de Portugal, sob a forma de oocistos encontrados nas brânquias e manto e identificados como pertencendo ao género *Nematopsis*, mais tarde espécie designado *N. spisula*. Os oocistos tinham ~14 µm de comprimento e ~10 µm de largura e um único esporozóito vermiforme uninucleado. Oocistos individuais e agrupados, envolvidos por um vacúolo parasitóforo, ocorriam no interior de fagócitos do hospedeiro, rodeados por uma complexa estrutura reticular em forma de anel, formada por cisternas justapostas e paralelas. Estágios mais avançados da infecção apresentam degradação fagocítica caracterizada por vacuolarização citoplasmática e rotura da membrana do vacúolo parasitóforo. Algumas espécies deste género têm sido reportadas como causadoras de mortalidade dos hospedeiros (Azevedo et al., 2023).

Numerosas espécies do género *Nematopsis* têm sido encontradas em várias regiões geográficas (Abdel-Baki et al., 2012; Azevedo & Cachola, 1992; Brito et al., 2010; Camilo et al., 2018); Silva et al., 2019; Tuntiwaranuruk et al., 2004).

**Figura 5.** Morfologia e aspectos ultraestruturais de oocistos de *Nematopsis spisula*, mostrando: **a)** observação em LM; **b)** observação de semi-fino em TEM; **c)** esquema dum oocisto rodeado dum fagócito (Phg) e de um vacúolo parasitóforo (PV); **d)** desenho esquemático de um oocisto mostrando a sua parede (Wa), com o opérculo (Op) e no interior um esporozóito vermiforme uninucleado (Sz) (Fonte: Azevedo et al., 2023, *Bull. Mar. Sci.*, (2023), 94: 547-557).



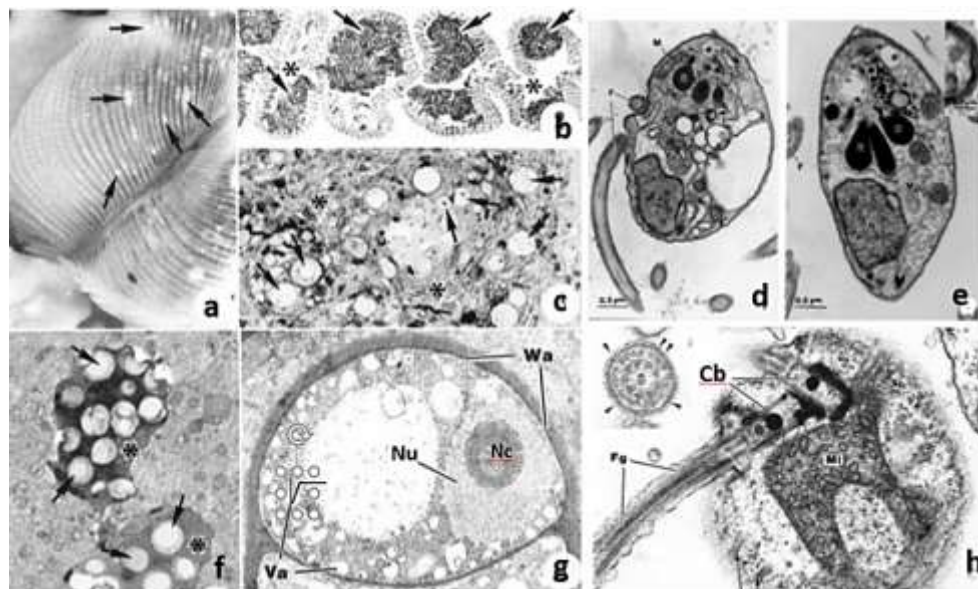


### c) Phylum Perkinsozoa Norén & Moestrup, 1999

#### *Perkinsus atlanticus* (Figura 6)

Este microparasita foi encontrado nas brânquias e no manto da ameijoia *Ruditapes decussatus* coletada na Ria Formosa (Algarve, Portugal), região onde ocorria mortalidade. Este parasita ocorre sob a forma de pequenos cistos esbranquiçados com numerosos trofozóitos. Mais tarde, foi sugerida como sinonímia de *Perkinsus olseni*. A fase infectora está presente sob a forma de trofozóitos, esféricos uninucleados, ocorrendo em grande número. Os trofozóitos colocados em cultura desenvolvem, sucessivamente, divisões binárias, as quais em 2-3 dias, originam 2000 a 4000 zoósporos biflagelados que se libertam para o meio ambiente, através dum tubo de descarga. Os zoósporos são células uninucleadas biflageladas com grande mobilidade devido à presença de dois flagelos (Azevedo, 1989b).

**Figura 6.** *Perkinsus atlanticus* observado na ameijoia da Ria Formosa, Algarve, Portugal, com particularidades morfológicas dos trofozóitos: **a-c, f** - observação em LM mostrando trofozóitos agrupados nas brânquias (**a**) e isolados (setas); **d, e** - dois aspectos de zoósporos (Flagelados); **g** - trofozóito mostrando um volumoso vacúolo (Va) e um núcleo (Nu) com um nucléolo; **h** - pormenor ultraestrutural da região apical de um zoósporo mostrando a zona de inserção dos dois flagelos (Fg) e o corpúsculo basal (Cb) (Fonte: Azevedo, 1989b, *J. Parasitol.*, 75: 627-635).



Nota: Foi feita uma gravação microscópica em vídeo, com a duração de 7 minutos, correspondente ao desenvolvimento do processo de zoosporulação das fases de multiplicação celular que será enviado por e-mail ([azevedoc1934@gmail.com](mailto:azevedoc1934@gmail.com)) a quem estiver interessado no assunto.

#### *Perkinsoide chabelardi* (Figura 7)

Este microparasita foi encontrado no saco vitelino da fase embrionária da sardinha, *Sardina pilchardus* coletada na Ria de Vigo (Galiza, Espanha). As diferentes fases do ciclo de vida originam numerosos esporos biflagelados que ocupam totalmente a matriz do saco vitelino. A histopatologia sugere que a diminuição do conteúdo nutricional do saco vitelino determina a morte do embrião (Gestal et al., 2006).

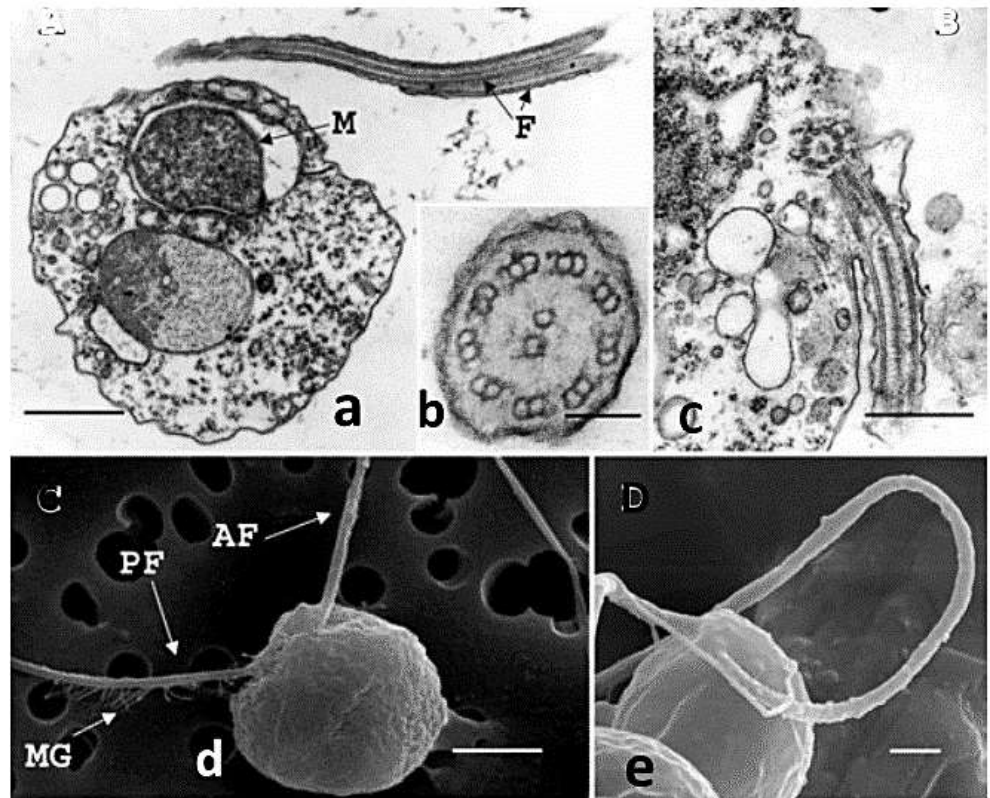
### d) Phylum Microsporidia Balbiani, 1882

#### *Glugea arabica* (Figura 8)

Este microsporídeo foi descrito a infetar a parede intestinal do teleósteo marinho *Epinephelus polyphekadion* coletado na costa do Mar Vermelho, na Arábia Saudita, e descrito com base em procedimentos microscópicos e moleculares. Xenomas esféricos formaram vacúolos parasitóforos completamente preenchidos com vários estados de desenvolvimento parasitário, incluindo esporos com núcleos monocarióticos em todos os estádios de desenvolvimento. Os esporos eram elipsoidais e mediam cerca de 6 µm comprimento e 3 µm de largura. O polaroplasto lamelar circundava a porção desenrolada do túbulo polar, que se estendia até ao pólo posterior do esporo e formava 27-29 espirais organizadas em três ou quatro fileiras.

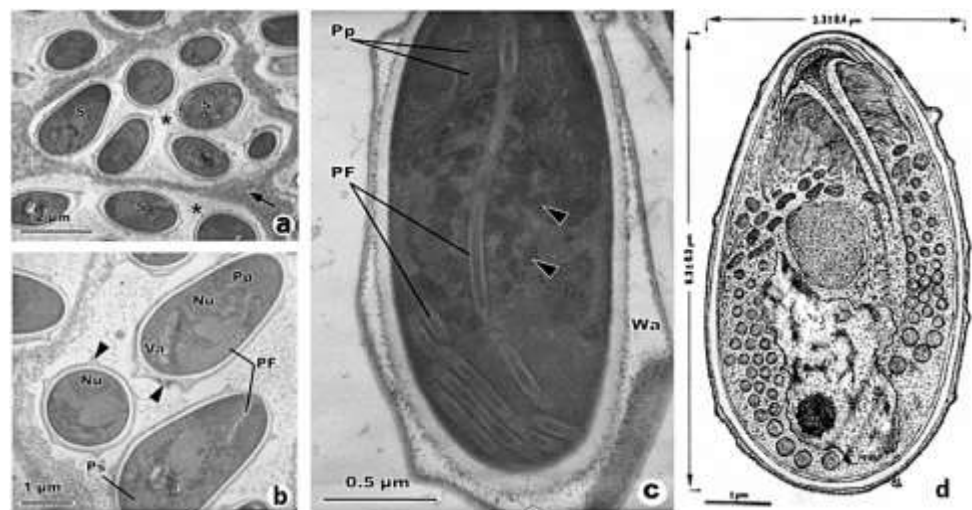
O vacúolo posterior, localizado no polo posterior do esporo, apresentava o posterossoma. Aspectos histopatológicos não foram observados (Azevedo et al., 2016).

**Figura 7.** Diferentes aspectos ultraestruturais de zoósporos de *Perkinsoide chabelardi* encontrados no saco vitelino da sardinha: **a-c)** micrografia de um zoósporo com núcleo, mitocôndria (M) e dois flagelos (F); **d, e)** micrografias de zoósporos obtidos em SEM mostrando os seus dois flagelos (anteriores (AF) e posteriores (PF) com mastigonemas (MG) (Fonte: Gestal et al., 2006, *Environm. Microbiol.*, (2006), 8: 1105-1114).



Nota: Ocorrência deste parasita foi encontrada em embriões da mesma espécie coletados na costa atlântica da região de Peniche (Portugal).

**Figura 8.** Aspectos ultraestruturais do esporo do microspóidio, *Glugea arabica*, mostrando: **a-c)** os seus principais organelos; **d)** desenho esquemático de um esporo observado em corte mediano longitudinal. (Pp-Polaropasto. (Nu-Núcleo; Va-Vacúolo; PF-Túbulo polar; Ps-Posterossoma, Wa-Parede do esporo) (Fonte: Azevedo et al., 2016, *Europ. J. Protistol.*, 52: 11-21).



### *Spraguea gastrophysus* (Figura 9)

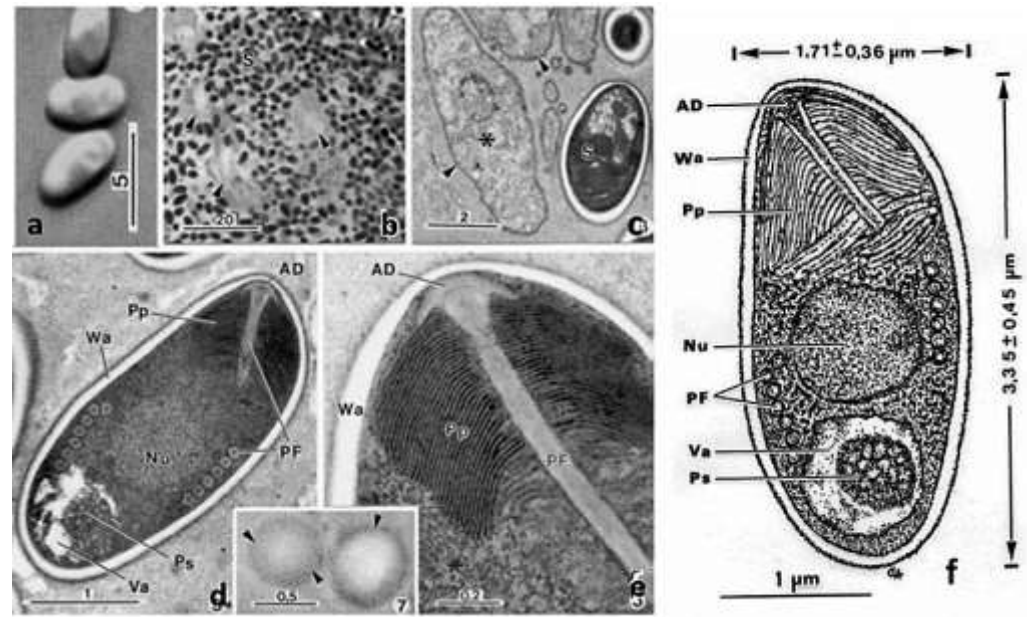
Foi encontrado nos gânglios dorsais e rins do tamboril, *Lophius gastrophysus* na costa Atlântica brasileira. Xenomas esbranquiçados (até  $3,1 \times 1,8$  mm) continham vários grupos de esporos monomórficos elipsoidais, ligeiramente curvados que mediam cerca de  $3,3 \times 1,7$   $\mu$ m. O esporo continha um túbulo polar isofilar com 5-6 espiras dispostas numa única fileira. O núcleo ocupava uma zona central do esporoplasma, onde também estavam presentes vários polirribossomas. O vacúolo posterior continha um posterossoma volumoso e esférico, medindo até  $\sim 0,6$   $\mu$ m de diâmetro (Casal et al., 2012).



**Figura 9.** Morfologia dos esporos de *Spraguea gastrophysus* mostrando:

**a, b)** aspectos microscópicos obtidos em LM; **c)** aspectos de duas fases do ciclo de vida; **d, e)** - dois aspectos de organização ultraestrutural dos esporos (AD-disco de ancoragem; Pp-polaroplasto; Wa-parede; PF-túbulo polar; Ps-posterossoma; Va-vacúolo); **f)** - desenho esquemático evidenciando a organização ultraestrutural interna

(Fonte: Casal et al., 2012, *Parasitol. Res.*, 111: 74-8).

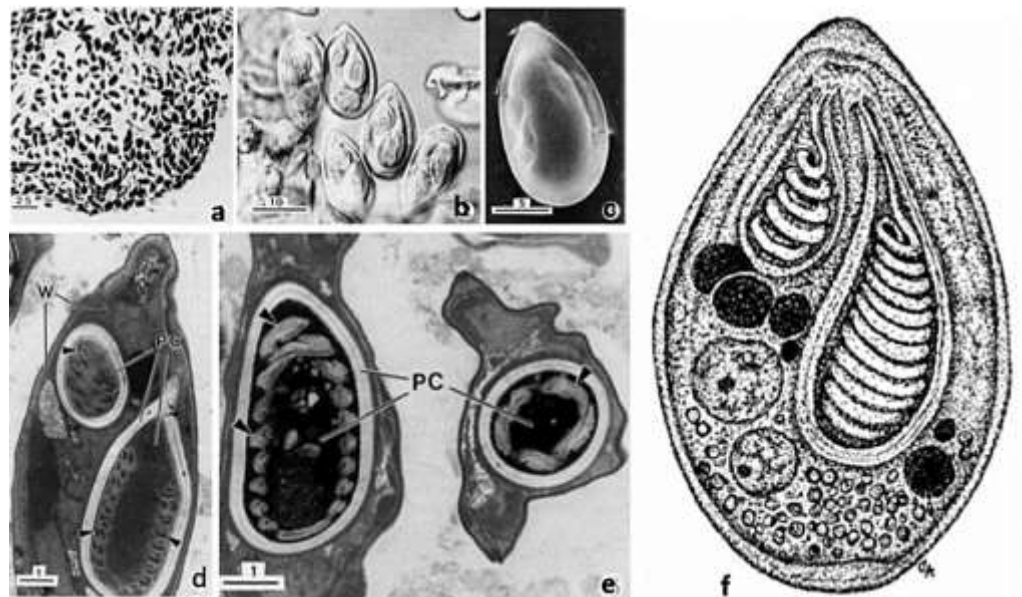


#### e) Phylum Cnidaria Hatschek, 1888, Sub-phylum Myxozoa Grassé, 1970

##### *Myxobolus desaequalis* (Figura 10)

Foi observado nas lamelas branquiais do peixe de água doce *Apteronotus albifrons*, coletado no Rio Amazonas, junto à cidade de Salvaterra, Brasil. Grandes plasmódios esféricos repletos de pansporoblastos diséricos e esporos, foram observados. Os esporos elipsoidais a piriformes tinham cerca de 18 μm de comprimento, 11 μm de largura e 4,4 μm de espessura. A extremidade anterior dos esporos continha duas cápsulas polares piriformes extremamente desiguais com: a maior medindo 1 μm de comprimento, 4,9 μm de largura e um túbulo polar isofilar com 11 - 12 voltas obliquas ao eixo longitudinal; a menor medindo 4,6 μm de comprimento, 2,8 μm de largura e um túbulo polar isofilar com 4 - 5 voltas, obliquas em relação ao eixo longitudinal (Azevedo et al., 2002).

**Figura 10.** Esporos de *Myxobolus desaequalis* mostrando esporos: **a)** observação com baixo aumento em LM; **b, c)** observação em DIC; **d, e)** aspectos ultraestruturais evidenciando, cápsulas polares (PC) e seus túbulos polares; **f)** desenho esquemático de um espora evidenciando os organelos internos, com especial destaque das cápsulas polares desiguais (Fonte: Azevedo et al., 2002, *J. Eukaryot. Microbiol.*, 49: 485-488).

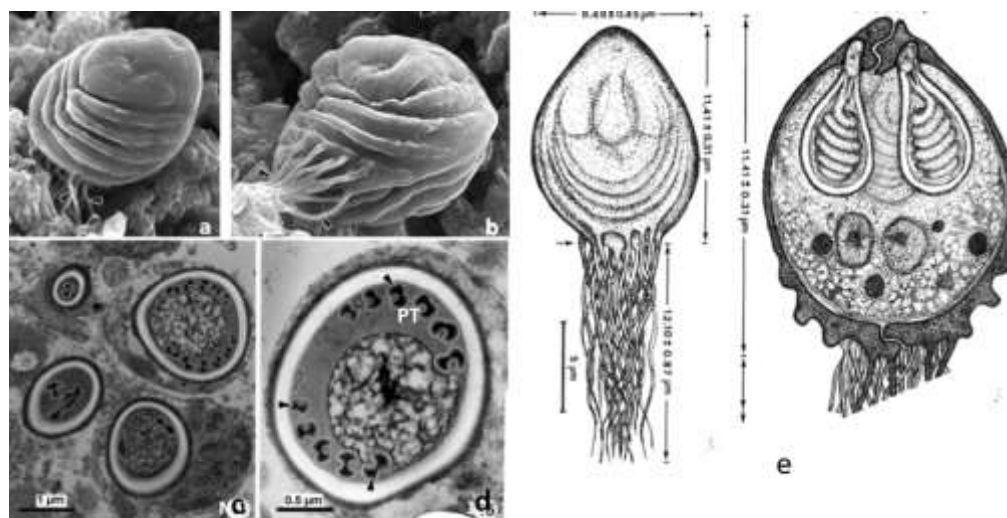




***Chloromyxum riorajum*** (Figura 11)

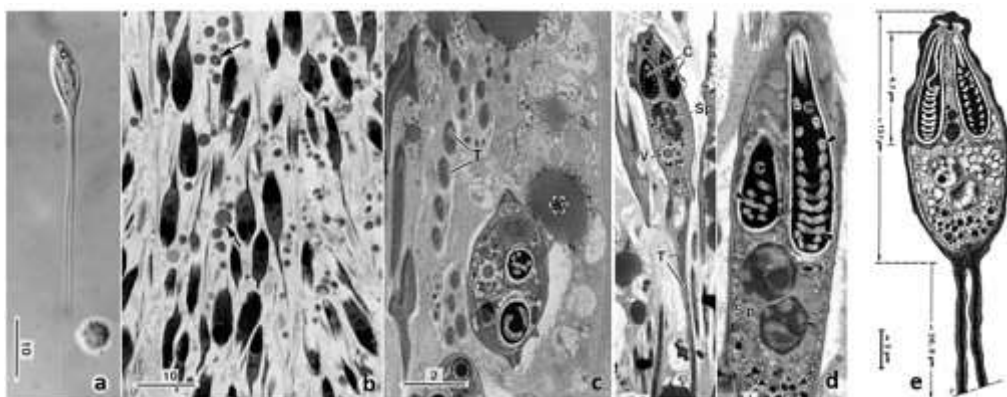
Este parasita mixozoário foi encontrado a infectar a vesícula biliar (bilis) do peixe cartilaginoso *Rioraja agassizii* da costa do Atlântico Sul do Brasil. A observação foi feita em LM, SEM e TEM, além de análises filogenéticas. Numerosos plasmódios polispóricos irregulares, externamente cobertos por numerosas microvilosidades contendo diferentes estádios de esporogonia, incluindo esporos livres, foram observados na biliar. Os esporos elipsoidais medindo  $\sim 11 \mu\text{m}$  de comprimento,  $\sim 8 \mu\text{m}$  de largura e  $7 \mu\text{m}$  de espessura, eram formados por duas valvas de tamanhos iguais, cada uma com 3 a 4 (raramente 5) cristas elevadas que se projetavam da porção basal do esporo. A porção basal das valvas apresentava um feixe de 33 a 37 filamentos caudais afilados e estendidos, fixos à porção basal da última crista e à porção basal do bordo sutural das duas valvas. Os esporos continham 4 cápsulas polares piriformes de igual tamanho ( $4,5 \times 2,4 \mu\text{m}$ ), localizadas ao mesmo nível, cada uma com um túbulo polar com 6 (raramente 7) espiras. As análises filogenéticas das sequências de SSU DNA ribossômico, facilitaram a identificação da espécie (Azevedo et al., 2009).

**Figura 11.** *Chloromyxum riorajum* mostrando: **a**, **b**) aspectos observados em SEM; **c**, **d**) cortes transversais mostrando a sua organização interna; **e**) particularidades dos feixes filamentos caudais, irradiando da porção basal dos esporos (Fonte: Azevedo et al., 2009, *Dis. Aquat. Org.*, 85: 41-51).

***Henneguya rhamdia*** (Figura 12)

Nos filamentos branquiais do peixe teleósteo *Rhamdia quelen* coletado no Rio Peixe Boi, Estado do Pará, Brasil, foram encontrados plasmódios esféricos a elipsoidais, com até  $300 \mu\text{m}$  de diâmetro, que continham estados de desenvolvimento, incluindo esporos. O corpo do esporo era elipsoidal ( $13 \mu\text{m}$  de comprimento,  $5 \mu\text{m}$  de largura e  $2 \mu\text{m}$  de espessura) e cada uma das duas valvas apresentava uma cauda afilada ( $\sim 36 \text{ mm}$  de comprimento). Estas valvas circundavam a célula do esporoplasma binucleada e duas cápsulas polares elipsoidais iguais ( $4,7 \times 1,1 \mu\text{m}$ ), que continham 10–11 (raramente 12) espiras do túbulo polar. O esporoplasma continha esporoplasmossomas com uma estrutura densa lateralmente excêntrica com uma secção em meia-lua. Com base nos dados obtidos por TEM e na especificidade do hospedeiro, os esporos identificados como sendo do gênero *Henneguya* (Matos et al., 2005).

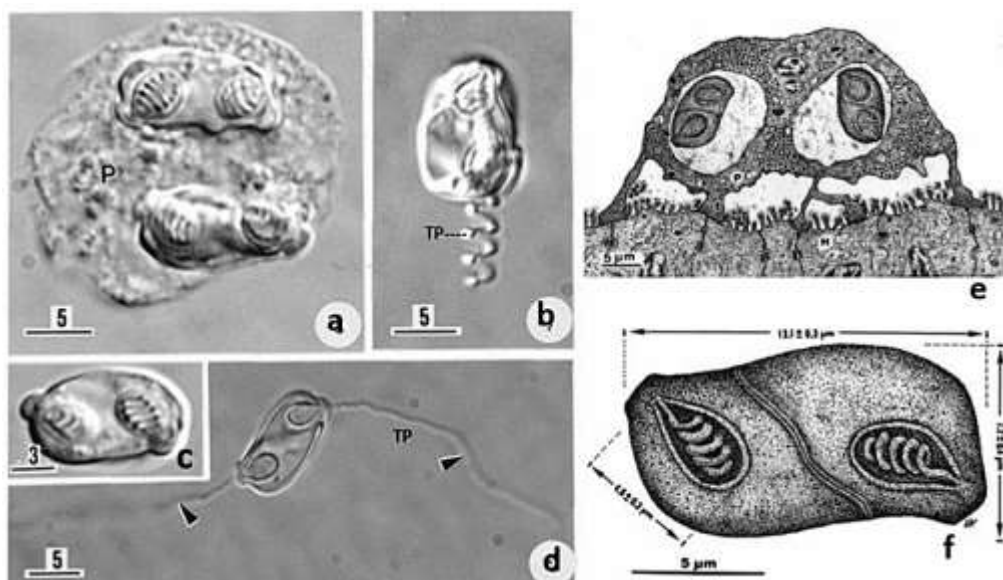
**Figura 12.** *Henneguya rhamdia* mostrando esporo: **a**) observado em DIC; **b**) grupo de esporos observados em corte semi-fino; **c**, **d**) cortes longitudinais de esporos mostrando dois núcleos, cápsulas polares e os seus túbulos polares; **e**) desenho esquemático observado em corte longitudinal (Fonte: Matos et al. 2005, *J. Eukaryot. Microbiol.*, 52: 533-537).



***Elipsomyxa gobioides* (Figura 13)**

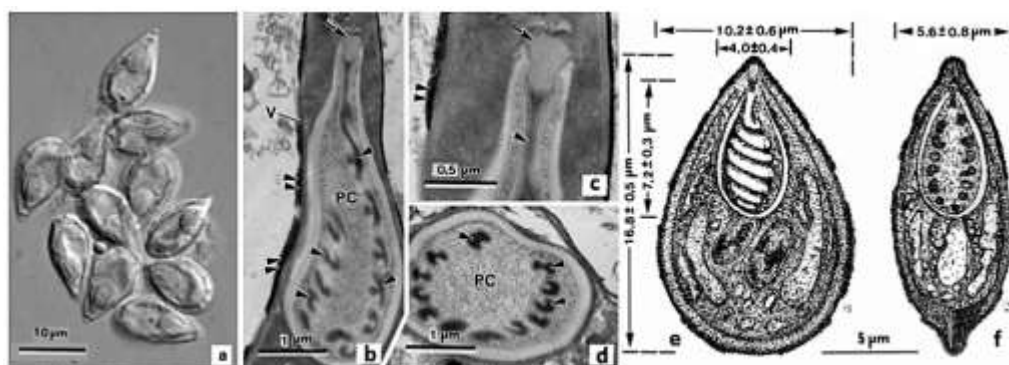
Este microparasita foi descrito na vesícula biliar do peixe-dragão amazônico *Gobioides broussonnetii* coletado no baixo Amazonas. Plasmódios irregulares e dispersos (até ~30 µm de diâmetro) com pseudópodes longos, ramificados e anastomosados foram encontrados aderidos à parede da vesícula biliar. Os mixosporos elipsoides maduros que flutuam na biliar mediam ~6 µm de comprimento, ~7 µm de largura e ~13 µm de espessura, apresentando valvas finas e lisas alongadas na direção perpendicular ao plano da linha sutural transversal central. As duas cápsulas polares elipsoidais (CP) abriam-se a alguma distância da linha sutural em lados opostos, cada uma medindo 4,6 µm de comprimento e ~2 µm de largura. A distância entre as CP era de ~3 µm em vista apical. O túbulo polar era isofilar e consistia numa única espiral com 5-6 espiras. Esta foi a primeira espécie do gênero *Ellipsomyxa* reportada entre a fauna sul-americana (Azevedo et al., 2013).

**Figura 13.** Plasmódios dispóricos de *Elipsomyxa gobioides* mostrando: **a)** dois esporos incorporados no seu citoplasma, observados em DIC; **b)** esporo observado em DIC, mostrando um túbulo polar parcialmente extrudido; **c, d)** esporo isolado observado em DIC e esporo mostrando dois túbulos polares extrudidos; **e, f)** esquema de um plasmódio dispórico e seus pseudópodes aderente ao hospedeiro e de um esporo mostrando a posição das cápsulas polares (Fonte: Azevedo et al. 2013, *J. Eukaryot. Microbiol.*, 50: 490-496).

***Thelohanellus rhabdalestus* (Figura 14).**

Este parasita encontrado em peixe de água doce da espécie *Rhabdalestes maunensis*, coletado no Rio Kwanza, Angola, foi descrito com base em estudos de LM e TEM. O parasita ocorria em plasmódios irregulares, leitosos esbranquiçados, semelhantes a quistos (até 0,8 mm de diâmetro) em contacto com o fígado e coração. Os esporos são piriformes, com as extremidades anteriores ligeiramente afiladas e extremidades posteriores arredondadas, e medem  $16,8 \pm 0,5$  µm de comprimento,  $10,2 \pm 0,6$  µm de largura e  $5,6 \pm 0,8$  µm de espessura. A periferia do coração mostra aspetos histopatológicos com evidentes pequenas hemorragias. Mantidos em cativeiro laboratorial, os peixes que morriam, mostravam grandes hematomas, ocorrências que sugeriam ser as causas da morte do hospedeiro (Azevedo et al., 2011b).

**Figura 14.** *Thelohanellus rhabdalestus* coletado em teleosteo de Angola, mostrando: **a)** grupo de esporos observados em DIC; **b)** cápsula polar e seu túbulo polar em corte longitudinal, observado em TEM; **c)** região apical do esporo observado em TEM; **d)** corte transversal de cápsula polar (PC); **e, f)** desenhos esquemáticos de esporos observados, respetivamente, de frente e de perfil (Fonte: Azevedo et al. 2011, *Syst. Parasitol.*, 78: 19-25).



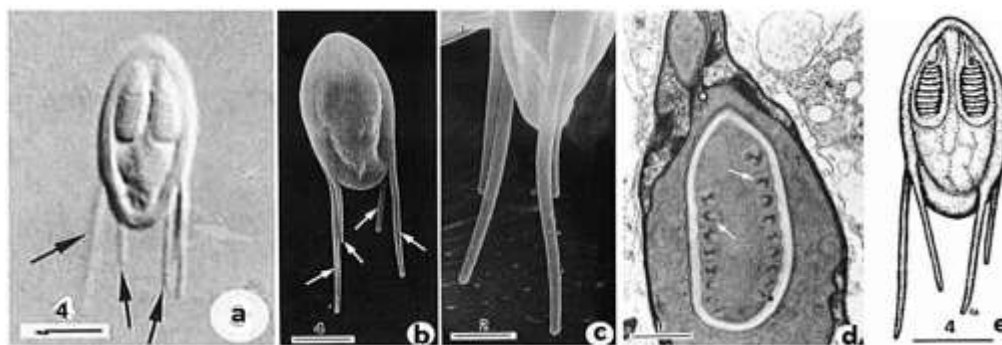


***Tetrauronema desaequalis*** (Figura 15)

Esta espécie foi descrita a partir das bases das barbatanas ventrais do teleósteo *Hoplias malabaricus*, coletado numa região estuarina do rio Amazonas perto de Belém, Brasil. Este mixosparasita produzia grande quistos (1-2 mm de diâmetro) que representavam plasmódios contendo todas as fases do ciclo de vida, incluindo os esporos. Os esporos tinham em média  $\sim 22 \mu\text{m}$  de comprimento total e possuíam 2 pares de projeções (caudas) postero-laterais desiguais que se estendiam junto às cristas suturais, perto do término das valvas da concha. O corpo do espora era elipsoidal e comprimido lateralmente. Os corpos dos esporos mediam  $\sim 13,6 \mu\text{m}$  de comprimento,  $6,5 \mu\text{m}$  de largura e  $3,7 \mu\text{m}$  de espessura. As 4 projeções tinham em média cerca de 13, 12, 7 e  $5 \mu\text{m}$  de comprimento. As cápsulas polares elipsoidais ( $7,0 \times 2,6 \mu\text{m}$ ) possuíam um túbulo polar com 9-11 voltas helicoidais (Azevedo & Matos, 1996).

**Figura 15.** Esporo de *Tetrauronema desaequalis*

mostrando: **a)** a sua morfologia com a evidência das quatro caudas desiguais observada em DIC; **b), c)** observação em SEM; **d)** cápsula polar com os cortes do seu túbulo polar; **e)**



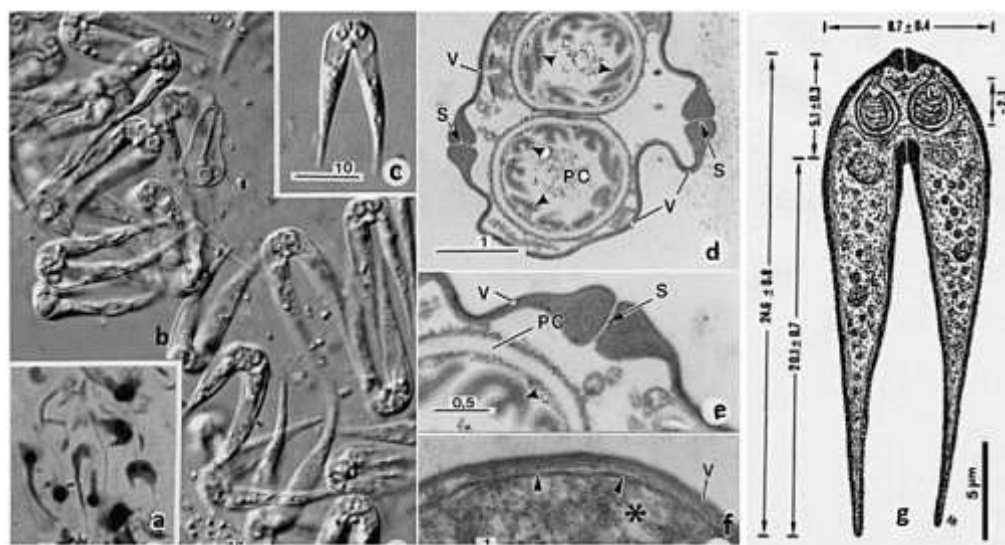
desenho esquemático (Fonte: Azevedo & Matos, 1996, *J. Parasitol.*, 82: 288-291).

***Meglitschia mylei*** (Figura 16)

Esta espécie foi encontrada na vesícula biliar do peixe teleósteo *Myleus rubripinnis* da região central da Amazônia brasileira e foi descrita baseada em observação em LM e TEM. Os esporos observados na bÍlis tinham  $\sim 24 \mu\text{m}$  de comprimento,  $\sim 8 \mu\text{m}$  de largura e  $\sim 5 \mu\text{m}$  de espessura, sendo fortemente furcados e arqueados, compostos por duas valvas iguais simétricas, com  $\sim 70 \text{ nm}$  de espessura. Cada valva possuía um apêndice afilado oposto, com  $20 \mu\text{m}$  de comprimento, orientado paralelamente à ponta basal dos apêndices e unidos ao longo de uma linha de sutura direita, formando um cordão espesso. O filamento circundava a parte central do espora, que por sua vez envolvia duas cápsulas polares esféricas (CP) iguais e simétricas, com  $\sim 2 \mu\text{m}$  de diâmetro, localizadas ao mesmo nível. Cada cápsula continha um túbulo polar com cinco (raramente seis) espiras. O esporoplasma binucleado tinha uma forma irregular, continha vários esporoplasmosomas, com  $175 \text{ nm}$  de diâmetro que preenchiam todo o espaço dos dois apêndices caudais. Foi a segunda espécie deste gênero a ser descrita (Azevedo et al., 2011a).

**Figura 16.** Espécie *Meglitschia mylei*, encontrada em teleósteo do rio Amazonas, mostrando:

**a)** morfologia de esporos observados em LM; **b)** grupo de esporos observados em DIC; **c)** espora isolado observado em DIC; **d)** cápsulas polares (PC) observadas em corte transversal; **e), f)** aspectos ultraestruturais de diferentes organelos; **g)** desenho esquemático de um espora mostrando a sua morfologia (Fonte: Azevedo et al., 2011, *J. Eukaryot. Microbiol.*, 58: 525-528).

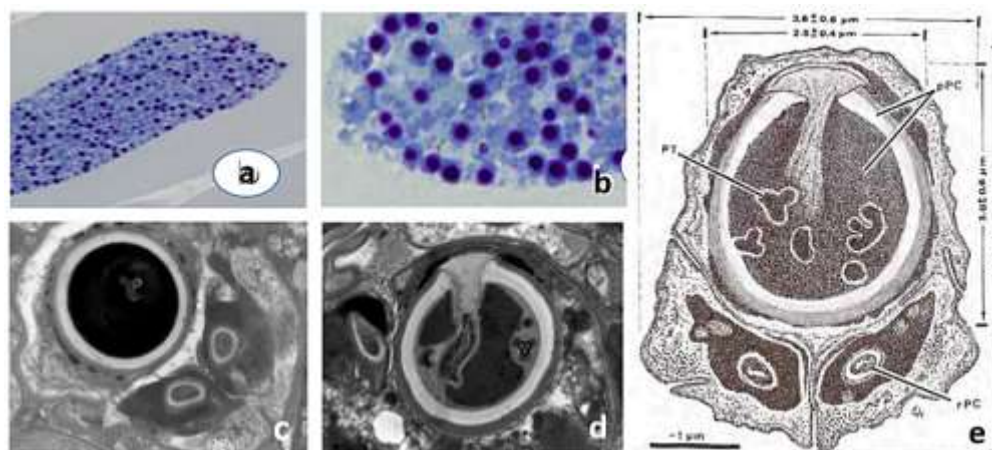




### *Unicapsula pflugfelderi* (Figura 17)

Esta espécie foi encontrada no tecido muscular do teleósteo marinho, *Pagellus bellottii* coletado no Atlântico Sul, na costa de Luanda, Angola. Na pesquisa microparasitária da fauna aquática foram coletados alguns exemplares do teleósteo nos quais foram encontrados pseudocistos com mixosporos localizados no tecido muscular e identificados ao microscópio de luz, como pertencendo à reportada espécie do filo Cnidaria (Myxozoa). As observações detalhadas das particularidades morfológicas dos mixosporos ao TEM mostravam a particularidade da presença de uma cápsula polar prominente e duas cápsulas polares rudimentares, confirmando a identificação do género reportado. A análise da morfologia ultrastructural dos mixosporos em comparação aos dados anteriormente publicados, bem como a análise da sequência SSU rDNA permitiram confirmar que o microparásita, aqui descrito, pertencia ao género reportado, sendo o primeiro parasita deste género observado e descrito na fauna de Angola (Azevedo et al., 2025) “submetido”).

**Figura 17.** *Unicapsula pflugfelderi*. Vários aspectos do esporo, mostrando: **a, b)** morfologia observada em LM; **c, d)** observação em TEM, mostrando os principais organelos da sua organização interna: (PT); **e)** esquema da morfologia ultrastructural. (Túbulo polar; pPC, Cápsula polar prominente; rPC, Cápsula polar rudimentar) (Fonte: Azevedo et al. submetido).



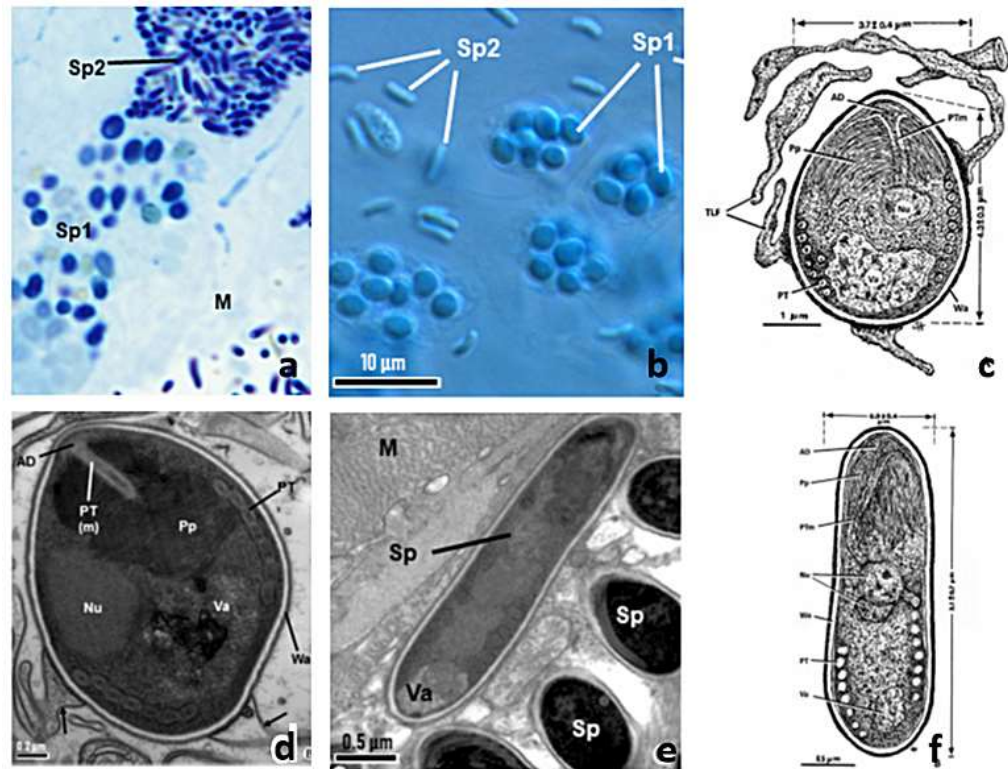
### Coinfecção de *Inodosporus* e *Myospora* (Figura 18)

Esta coinfecção com duas espécies de parasitas do filo Microsporidia dos géneros, *Inodosporus* e *Myospora* foram encontradas no músculo abdominal do camarão-do-rio-Amazonas *Macrobrachium amazonicum*, detetada por LM e TEM e análise histopatológica. A análise morfológica ultrastructural evidenciou as diferenças morfológicas entre os dois tipos de esporos, permitindo fazer a sua identificação. Os seus estágios merogogónico e esporogónico ocorreram dentro do sarcoplasma das células musculares em contacto próximo com as miofibrilas. A base da organização ultrastructural destes dois morfotipos de esporos da coinfecção sugeriu que estes parasitas se englobavam na morfologia de géneros diferentes, inicialmente, designados por Sp1 e Sp2, e identificados, respetivamente, por apresentarem, tipicamente, morfologia dos géneros reportados, apresentavam projeções filamentosas aderentes à parede dos esporos e os outros esporos apresentavam uma forma alongada sem projeções da sua parede (Paschoal et al., 2021).

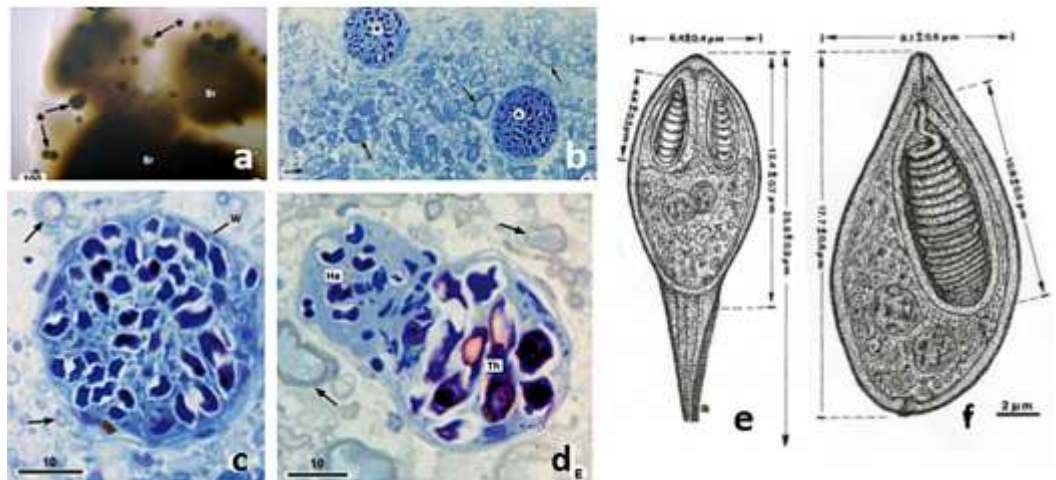
### Coinfecção *Henneguya* e *Thelohanellus* (Figura 19)

Duas espécies de mixosporídeos, *Henneguya lepturus* e *Thelohanellus lepturus*, infectaram, simultaneamente, o cérebro e a medula espinal de *Hypopygus lepturus* (Teleostei) da Amazônia brasileira (Estado de Roraima). Foram observados microscopicamente vários quistos esféricos de dimensões (até cerca de 135 µm). Os mixosporos de *H. lepturus* mediam ~25 µm de comprimento total, com um corpo elipsoidal (~12 × 6 × 2 µm) e duas caudas afiladas iguais (~13 µm de comprimento). Cada uma das duas cápsulas polares piriformes media 4,4 × 1,6 µm e possuía um túbulo polar enrolado em 8–9 espiras. Os mixosporos de *T. lepturus* eram piriformes, formados por duas valvas iguais (~17 × 9 × 4 µm) rodeando uma única cápsula polar (~10 × 3,5 µm) que possuía um túbulo polar enrolado com 13–16 espiras e um esporoplasma binucleado contendo vários esporoplasmosomas circulares. A análise molecular das sequências do gene rRNA da subunidade pequena (SSU) destas duas espécies estava de acordo com a classificação taxonómica derivada da ultraestrutura dos mixosporos. A histopatologia do tecido hospedeiro mostrou degradação dos axónios mielinizados que rodeiam os quistos de ambas as espécies, com os hospedeiros a apresentarem alterações comportamentais e movimentos erráticos quando observados num aquário (Azevedo et al., 2018).

**Figura 18.** Coinfecção com esporos de dois gêneros: **a, b)** gêneros *Inodosporus* (Sp1) e *Myospora* (Sp2) observado em LM; **c, d)** aspectos ultraestruturais dos dois esporos observados em TEM; **e, f)** desenhos esquemáticos dos esporos (Fonte: Paschoal et al., 2021, *Nauplius*, e20211046; 1-12).



**Figura 19.** Coinfecção com esporos do gênero *Henneguya* e *Thelohanellus* coletados num teleosteo do Estado da Roraima (Brasil): **a)** mostrando cistos (\*) observados em LM "in toto", onde se localizam os parasitas; **b, c)** cistos contendo parasitas observados em TEM; **d)** - dois cistos aderentes: um com esporos de *Henneguya* (He) e o outro com *Thelohanellus* (Th) (Fonte: Azevedo et al., 2018, *Dis. Aquat. Org.*, 131: 143-156).

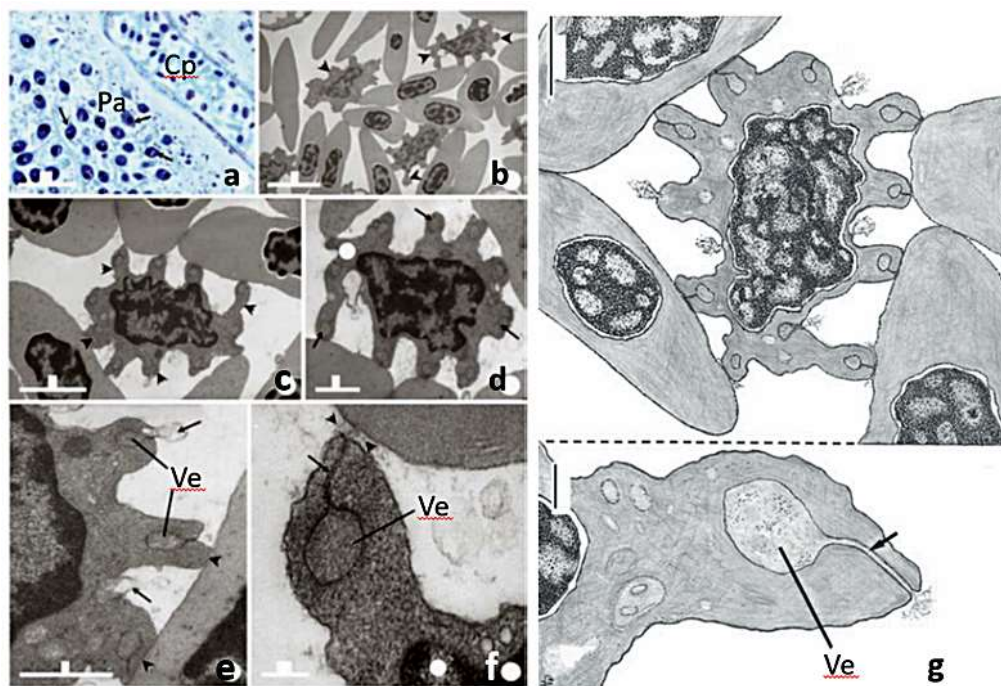


### Trombócitos e *Henneguya* (Figura 20)

Observação em aquário, mostrou aparente estado de irregular mobilidade do teleosteo *Lutjanus jocu* coletado na costa Atlântica, perto da cidade de Algodual (Estado do Pará), Brasil. Observação microscópica mostrou a presença de formas anormais dos eritrócitos, identificados como trombócitos. Os trombócitos foram encontrados situados entre vários eritrócitos aglutinados em capilares, situados junto de cistos com esporos de gênero *Henneguya*. Os trombócitos apresentavam cerca de 18 a 25 prominentes projeções citoplasmáticas (tipo curtos apêndices) distribuídos à volta da célula, cada um dos apêndices apresentava uma vesícula electrolucente com um túbulo excretor que a ligava ao exterior. Algumas imagens mostram aspectos de secreção através do seu túbulo excretor. Esta situação da coexistência dos microparasitas na proximidade dos vasos capilares sugere que a ocorrência das projeções dos trombócitos, pode ter sido influência desta invulgar ocorrência (Azevedo et al., 2014).



**Figura 20.** Trombócitos associados à presença de uma espécie do género *Henneguya*: **a)** observação em LM; **b)** – aspeto ultraestrutural de vários trombócitos entre eritrócitos; **c, d)** – dois aspetos mostrando a morfologia ultraestrutural de trombócitos; **e, f)** morfologia ultraestrutural de pseudópodes com vesícula e seu túbulo excretor; **g)** desenhos esquemáticos de detalhes morfológicos de esporos, pondo em evidência a vesícula (Ve) e seu túbulo excretor (Fonte: Azevedo et al, 2014, *J. Fish Biol.*, 84: 865-871).



## Discussão

Esta sinopse corresponde à descrição de particularidades morfológicas de alguns esporos de microparasitas observados pós-morte, pertencentes a vários grupos taxonómicos, assim como observação do comportamento de alguns hospedeiros infetados, mantidos em aquários. Os dados morfológicos foram obtidos em LM, DIC, SEM e TEM, permitindo observar pormenores das suas organizações histológicas que estas tecnologias permitem.

Estes resultados evidenciam as diferentes morfologias ultraestruturais dos órgãos específicos de cada uma das espécies, complementados com minuciosos desenhos esquemáticos. A importância da investigação dirigida para o estudo do estado de sanidade da fauna de interesse económico tem sido reportada de grande interesse, principalmente, pelo facto de causar incalculáveis prejuízos em grande número de aquaculturas em todo o mundo.

## Agradecimentos

Gostaria de expressar os meus agradecimentos à Fundação Eng<sup>o</sup>. António de Almeida, Porto, pelo apoio que, ao longo de vários anos, nos concedeu para desenvolvimento dos nossos projetos, dos quais resultaram algumas destas publicações. Agradeço também a colaboração dos colegas Co-autores destes trabalhos aqui reportados, nomeadamente, à Prof<sup>a</sup> Doutora Graça Casal (CESPU e ICBAS/UP) e Prof<sup>a</sup> Doutora Sónia Rocha (ICBAS/UP).

## Referências

- Abdel-Baki, A-A., Al-Quraishy, S., Dkhil, M. A., Al-Nasr, I., Oliveira, E., Casal, G. & Azevedo, C. (2012). Ultrastructural characteristics of *Nematopsis* sp. oocysts (Apicomplexa: Porosporidae), a parasite of the clam *Meretrix meretrix* (Veneridae) from the Arabian Gulf, Saudi Arabia. *Folia Parasitol.* (Praha), 59(2): 81–86. <https://doi.org/10.14411/fp.2012.012>
- Azevedo, C. (1989a). Fine structure of endonucleobiotic bacteria in the gill epithelium of *Ruditapes decussatus* (Mollusca, Bivalvia). *Marine Biol.*, 100: 339-341.
- Azevedo, C. (1989b). Fine structure of *Perkinsus atlanticus* n. sp. (Apicomplexa, Perkinsea) parasite of the clam *Ruditapes decussatus* from Portugal. *J. Parasitol.*, 75(4): 627-63.



- Azevedo, C., Abdel-Baki, A.S., Rocha, S., AL-Quraishy, S. & Casal, G. (2016). Ultrastructure and phylogeny of *Glugea arabica* n. sp. (Microsporidia), infecting the marine fish *Epinephelus polyphemadion* from the Red Sea. *Europ. J. Protistol.*, 52: 11-21.
- Azevedo, C., Andrade, N., Rocha, S. & Casal, G. (2025) Description of a new occurrence of the myxosporean *Unicapsula pflugfelderi* (Cnidaria, Myxozoa) infecting the skeletal muscle of the teleost *Pagellus bellottii* (Sparidae) off the Atlantic coast of Angola. *Afric. J. Marin. Sci.*, (Submetido)
- Azevedo, C. & Cachola, R. (1992). Fine structure of the Apicomplexa oocyst of *Nematopsis* sp. of two marine bivalve molluscs. *Dis. Aquat. Org.*, 14: 69-73.
- Azevedo, C., Casal, C., Garcia, P., Matos, P., Teles-Grilo, L. & Matos, E. (2009). Ultrastructural and phylogenetic data of *Chloromyxum riorajum* sp. nov. (Myxozoa), a parasite of the stingray *Rioraja agassizii* in Southern Brazil. *Dis. Aquat. Org.*, 85: 41-51.
- Azevedo, C., Corral, L. & Matos, E. (2002). *Myxobolus desaequalis* n. sp. (Myxozoa, Myxosporea), parasite of the Amazonian freshwater fish, *Apteronotus albifrons* (Teleostei, Apteronotidae). *J. Eukaryot. Microbiol.*, 49: 485-488.
- Azevedo, C. & Matos, E. (1996). Light and electron microscopic study of a myxosporean, *Tetrauronema desaequalis* n. sp. (Fam. Tetrauronematidae) from an Amazonian fish. *J. Parasitol.*, 82(2): 288-291.
- Azevedo, C. & Padovan, I. (2004). *Nematopsis gigas* n. sp. (Apicomplexa), a parasite of *Nerita ascencionis* (Gastropoda, Neritidae) from Brazil. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 51(2): 214-219.
- Azevedo, C. & Villalba, A. (1991). Extracellular giant rickettsiae associated with bacteria in the gill of *Crassostrea gigas* (Mollusca, Bivalvia). *J. Invertebr. Pathol.*, 58: 75-81.
- Azevedo, C., Feltran, R., Rocha, S., Matos, E., Maciel, E., Oliveira, E., AL-Quraishy, S. & Casal, G. (2018). Simultaneous occurrence of two new myxosporean species infecting the central nervous system of *Hypopygus lepturus* (Teleostei, Hypopomidae) from Roraima State, Brazil. *Dis. Aquat. Org.*, 131: 143-156. <https://doi.org/10.3354/dao03283>
- Azevedo, C., Matos, P., Casal, G., Oliveira, E., Videira, M., Al-Quraishy, S. & Matos, E. (2013). Fine structure of the plasmodia and myxospore of *Ellipsomyxa gobioides* n. sp. (Myxozoa) found in the gallbladder of *Gobioides broussonneti* (Teleostei: Gobiidae) from the lower Amazon River. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 60: 490-496.
- Azevedo, C., Matos, P. & Matos, E. (1993). Morphological data of *Calypptospora spinosa* n. sp. (Apicomplexa, Calypptosporidae) parasite of *Crenicichla lepidota* Heckel, 1840 (Teleostei) from Amazon River. *Europ. J. Protistol.*, 29: 171-175.
- Azevedo, C., Matos, P., Rocha, S., Matos, E., Oliveira, E., Al-Quraishy, S. & Casal, G. (2014). Ultrastructure of novel thrombocytes in the dog snapper *Lutjanus jocu*. *J. Fish Biol.*, 84: 865-871.
- Azevedo, C., Ribeiro, M., Clemente, S. C. S., Casal, G., Lopes, L. M. S., Matos, P., Al-Quraishy, S. & Matos, E. (2011a). Light and ultrastructural description of *Meglitschia mylei* n. sp. (Myxozoa) from *Myleus rubripinnis* (Teleostei: Serrasalminidae) in the Amazon River System. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 58: 525-528.
- Azevedo, C., Rocha, S. & Casal, G. (2023). Morphological and ultrastructural description of *Nematopsis spisula* sp. nov. (Apicomplexa) inhabiting *Spisula solida* (Bivalvia) on the Portuguese Atlantic coast. *Bull. Mar. Sci.*, 99(4): 547-557.
- Azevedo, C., Samuel, N., Saveia, A. P., Delgado, F. & Casal, G. (2011b). Light and electron microscopical data on the spores of *Thelohanellus rhabdalestus* n. sp. (Myxozoa: Myxosporea), a parasite of a freshwater fish from the Kwanza River, Angola. *Syst. Parasitol.*, 79: 19-25.

- Brito, L. O., Barros, J. C. N., Gálvez, A. O. & Barros, F. N. (2010). Presence of *Nematopsis* sp. (Protozoa, Apicomplexa) in the oyster, *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828), cultivated in the State of Pernambuco, Brazil. *World Aquac.*, 41(1): 60–62.
- Camilo, V. M. A., Souza, J. C., Freitas, F., Miranda, F. S., Campiolo, S. & Boehs, G. (2018). Parasitism by *Nematopsis* sp. (Apicomplexa: Eugregarinida) in *Mytella guyanensis* at the Marine Extractive Reserve Baía do Iguape, Bahia, Brazil. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 55(4): 1–10. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2018.145204>
- Casal, G., Clemente, S. C. S., Matos, P. & Azevedo, C. (2012). Redefining the genus *Spraguea* based on ultrastructural and phylogenetic data from *Spraguea gastrophysus* n. sp. (Phylum Microsporidia), parasite found in *Lophius gastrophysus* from Brazil. *Parasitol. Res.*, 111: 79–88.
- Gesta, L. C., Novoa, B., Posada, D., Figueras, A. & Azevedo, C. (2006). *Perkinsoide chabelardi* n. gen., n. sp. a protozoan parasite with an intermediate evolutionary position: possible cause of the decrease of sardine fisheries? *Environm. Microbiol.*, 9: 1105–1114.
- Matos, E., Tajdari, J. & Azevedo, C. (2005). Ultrastructural studies of *Henneguya rhamdia* n. sp. (Myxozoa) a parasite from the Amazonian teleost fish, *Rhamdia quelen* (Pimelodidae). *J. Eukaryot. Microbiol.*, 52: 532–537.
- Padovan, I. P., Corral, L., Tavares, L. A., Padovan, P. A. & Azevedo, C. (2003). Fine structure of the oocyst of *Nematopsis mytella* (Apicomplexa, Porosporidae), a parasite of the mussel *Mytella falcata* and of the oyster *Crassostrea rhizophorae* (Mollusca, Bivalvia) from the northeastern Atlantic coast of Brazil. *Braz. J. Morphol. Sci.*, 20:121– 124.
- Paschoal, L. R. P., Zara, F. J., Rocha, S., Alves, Â., Casal, G. & Azevedo, C. (2021). Ultrastructure of two of microsporidians *Inodosporus* sp. and *Myospora* sp. co-infecting muscles of the Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862). *Nauplius*, 29: e2021046.
- Silva, T. J., Soares, E. C., Casal, G., Rocha, S., Santos, E. L., Nascimento, R., Oliveira, E. and Azevedo, C. (2019). Ultrastructure of phagocytes and oocysts of *Nematopsis mytella* (Apicomplexa, Porosporidae) infecting *Crassostrea rhizophorae* in Northeastern Brazil. *Braz. J. Vet. Parasitol.*, 28(1): 97–104.
- Tuntiwaranuruk, C., Chalermwat, K., Upatham, E. S., Kruatrachue, M. & Azevedo, C. (2004). Investigation of *Nematopsis* spp. oocysts in 7 species of bivalves from Chonburi Province, Gulf of Thailand. *Dis. Aquat. Org.*, 58: 47–53. <https://doi.org/10.3354/dao05804S7>

Como citar o artigo:

Azevedo, C. (2026). O que os meus olhos viram ao microscópio. *Actapesca*, 24, 1-16.