

ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

CRITÉRIOS DE DESCRIÇÃO MORFOLÓGICA PARA DETERMINAÇÃO DO SEXO DE
Neoechinorhynchus buttnerae Golvan, 1956 (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae)

MORPHOLOGICAL DESCRIPTION CRITERIA FOR DETERMINING THE SEX OF
Neoechinorhynchus buttnerae Golvan, 1956 (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae)

Mayra da Silva Gonçalves¹; Sanny Maria de Andrade Porto²; Silmara Cristina Silva de
Aquino³; Germán Augusto Murrieta Morey^{4,5*}

¹ Acadêmica de Engenharia de Pesca/Universidade Federal do Amazonas (UFAM);


² Departamento de Ciências Pesqueiras, Laboratório de Sanidade de Animais Aquáticos (LASAA/UFAM);

³ Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual do Maranhão (PPGCA/UEMA);

⁴ Laboratorio de Parasitología y Sanidad Acuicola (LAPYSA). Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP).

* Autor correspondente: germantiss1106@gmail.com

Mayra da Silva Gonçalves:  <https://orcid.org/0000-0002-9389-0422>

Sanny Maria de Andrade Porto:  <https://orcid.org/0000-0002-1454-5197>

Silmara Cristina Silva de Aquino:  <https://orcid.org/0000-0001-7680-9699>

Germán Augusto Murrieta Morey:  <https://orcid.org/0000-0001-6244-2654>

RESUMO

O helminto *Neoechinorhynchus buttnerae* é um acantocéfalo que tem ocasionado problemas sanitários na região norte do país, gerando grandes perdas econômicas nas fazendas de *Colossoma macropomum* tambaqui da Amazônia. Em função desta problemática, o presente projeto teve como objetivo contribuir no conhecimento do ciclo de vida desse parasito, fornecendo informações básicas sobre dimorfismo sexual. Dos 20 peixes analisados 100% estavam parasitados com o *N. buttnerae*. Foram encontrados 878 parasitos, sendo 468 fêmeas e 410 machos. Os índices parasitários de abundância média na primeira e segunda coleta foram respectivamente; 38,3 e 49,5. Os critérios morfológicos identificados para diferenciação do sexo foram transparência do corpo, extremidade posterior do acantocéfalo e tamanho do parasito. As análises morfológicas nos permitiram concluir que este parasito apresenta dimorfismo sexual, com diferenças morfológicas marcantes entre macho e fêmea. O estabelecimento dos critérios de diferenciação sexual, contribuirão para futuros estudos que necessitem identificar no campo, de forma prática, a proporção sexual dos parasitos, sem a necessidade da preparação de amostras para microscopia. Portanto, os dados obtidos nesta pesquisa, são de grande relevância para o conhecimento do ciclo de vida desta espécie,

colaborando com o estabelecimento de medidas de biossegurança nos sistemas de produção do tabaqui na região.

Palavras-Chave: Sanidade, Parasitologia, Acantocefalose, Tabaqui, Dimorfismo sexual.

ABSTRACT

The helminth *Neoechinorhynchus buttnerae* is an acanthocephalan that has caused sanitary problems in the northern region of Brazil, generating several economic losses in *Colossoma macropomum* tabaqui farms in the Amazon. Due to this problem, this project aimed to contribute to the knowledge of the life cycle of this parasite, providing basic information on sexual dimorphism. Of the 20 fish analyzed 100% were parasitized with *Neoechinorhynchus buttnerae*. A total of 878 parasites were found, being 468 females and 410 males. The parasite indices of average abundance in the first and second collections were 38.3 and 49.5, respectively. The morphological criteria identified for sex differentiation were body transparency, posterior end of the acanthocephalan and size of the parasite. The results obtained in this research are unprecedented for *N. buttnerae*. Morphological analysis allowed us to conclude that this parasite has sexual dimorphism, with marked morphological differences between male and female. The establishment of the criteria of sexual differentiation will contribute to future studies that need to identify in the field, in a practical way, the sexual proportion of the parasites, without the need of the preparation of samples for microscopy. Therefore, the data obtained in this research are of great relevance for the knowledge of the life cycle of this species, and development of biosecurity measures in tabaqui production systems in the region

Keywords: Sanity, Parasitology, Acantocephalose, Tabaqui, Sexual dimorphism.

INTRODUÇÃO

A expansão da piscicultura pode ocasionar o aparecimento de fatores de risco à saúde dos peixes, pois o elevado adensamento populacional e o manejo intenso dos animais potencializam o estresse, predispondo-os as enfermidades (ANDRADE-PORTO, 2015). As pisciculturas, particularmente as intensivas, assim como todas as grandes concentrações de animais, tendem a serem ambientes favoráveis a surtos epizooticos devido a diversos fatores que favorecem o aparecimento de doenças. A alta densidade de estocagem aliada ao manejo de rotina que os animais sofrem são fatores causadores de estresse. SAKABE et al. (2013) afirmam que o manejo inadequado, a má qualidade de água e o adensamento populacional favorecem o surgimento de patógenos oportunistas.

As infecções parasitárias representam fatores limitantes para o cultivo de organismos aquáticos. Em altas infestações os parasitos podem reduzir o desempenho produtivo, ocasionando alterações comportamentais, anorexia e emagrecimento (PAVANELLI et al., 2008; ANDRADE-PORTO 2014 e MALTA, 2014). As condições de criação intensiva favorecem o parasitismo massivo, causando em certos casos, graves consequências aos hospedeiros (ONAKA, 2009).

Dentre os helmintos parasitos, destacamos o grupo dos acantocéfalos, os quais vêm chamando a atenção dos produtores em razão das altas infestações, e perdas econômicas registradas nos cultivos regionais do tabaqui (AQUINO-PEREIRA et al., 2014; JERÔNIMO et al., 2017). Os acantocéfalos são animais de simetria bilateral, sistema digestório ausente, cilíndricos, alongados, com uma probóscide, retrátil, portadora de ganchos, que os adultos utilizam para fixar-se na parede do intestino do hospedeiro (THATCHER et al., 2006; ONAKA, 2009, MOLINARO et al., 2012; TAVARES-DIAS et al., 2013).

São helmintos que apresentam dimorfismo sexual, sendo o tamanho do corpo, terminação da região posterior, presença ou ausência de órgãos internos, os caracteres mais importantes para diferenciar machos de fêmeas. Estas diferenças morfológicas podem estar relacionadas às necessidades reprodutivas dos vermes (BULLOCK, 1962).

No grupo dos acantocéfalos destaca-se o gênero *Neoechinorhynchus*, o qual infecta os vertebrados aquáticos, especialmente os peixes (THATCHER, 2006). Na região amazônica, houve o primeiro relato de acantocefalose causada por *N. buttnerae* GOLVAN, 1956 em cultivo de tabaqui foi feito no final da década de 90 no município de Itacoatiara (AM), no qual os peixes cultivados pararam de se alimentar e começaram a morrer (MALTA et al., 2001). Desde então, a acantocefalose tornou-se mais frequentes a ocorrência nas pisciculturas causando grandes perdas na produção. (CHAGAS et al., 2015)

Estudos vem sendo realizados para suprir a carência de conhecimentos básicos sobre etapa do ciclo de vida desta espécie de acantocéfalo, portanto o fornecimento de informações quanto ao dimorfismo sexual e principalmente estabelecer critérios para diferenciação do sexo, podem auxiliar nas identificações em campo, em proporções sexuais da espécie e quantificação de parasitos em relação ao sexo. Assim, o presente estudo teve como objetivo, contribuir no conhecimento do ciclo de vida desse parasito, fornecendo informações básicas sobre dimorfismo sexual de *N. buttnerae*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Delineamento experimental e coleta dos peixes

Em dezembro de 2016, dois lotes com 20 juvenis de tabaquis provenientes de uma propriedade de piscicultura regional foram adquiridos para busca ativa de acantocéfalos da espécie *N. buttnerae*. Os animais foram acondicionados por 24 horas em quatro (4) aquários

de 120 L com aeração constante, na densidade de cinco (5) peixes por aquário no Laboratório de Sanidade de Animais Aquáticos da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Amazonas/LASAA/FCA/UFAM. Este estudo foi submetido no Comitê de Ética para o Uso Animais (CEUA), da Universidade Federal do Amazonas, apresentando número de protocolo 017/2017.

Necropsia dos peixes

Os peixes foram medidos e eutanasiados, conforme as recomendações do CONCEA (2013). No exame macroscópico foram observados a ocorrência de sinais clínicos, sendo as anormalidades quando identificadas, registradas em uma tabela de frequência absoluta. As necropsias foram realizadas conforme o protocolo do Laboratório de Sanidade de Animais Aquáticos da Universidade Federal do Amazonas (LASAA/UFAM) descrito por ANDRADE-PORTO (2014).

Coleta e processamento dos parasitos

O intestino foi excisado, acondicionado em placas de Petri com água destilada, dissecado e analisados em microscópio estereoscópico (Coleman ST30-2L). Os acantocéfalos soltos no lúmen ou aderidos na mucosa intestinal foram coletados individualmente com uso de pinças e estiletos, para evitar o rompimento do tegumento e probóscide. Os parasitos foram transferidos para placas de Petri menores com água destilada e resfriados em refrigerador por 3 horas para que a probóscide se mantivesse extrovertida (THATCHER, 2006). O estudo anatômico dos acantocéfalos foi realizado de acordo com AMIN (1969). Os exemplares foram fixados em glutaraldeído (GTA) 2% por 24h e armazenados no refrigerador, conforme recomendações do Laboratório Temático de Microscopia Ótica e Eletrônica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) para captação das imagens e estudos posteriores com Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

Análise morfológica e morfométrica dos parasitos

As amostras foram analisadas em microscópio estereoscópico para estudo de diferenciação sexual dos exemplares. A descrição morfológica das principais estruturas foi realizada conforme AMIN (1987). As imagens foram registradas por Software BEL Photonics Microimage Analyser 2.3 no Laboratório Temático de Microscopia Ótica e Eletrônica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (LTMOE/INPA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise morfológica e morfométrica dos parasitos

As análises morfológicas dos parasitas foram feitas utilizando alguns critérios como: transparência do corpo, extremidade posterior do corpo, tamanho dos parasitas.

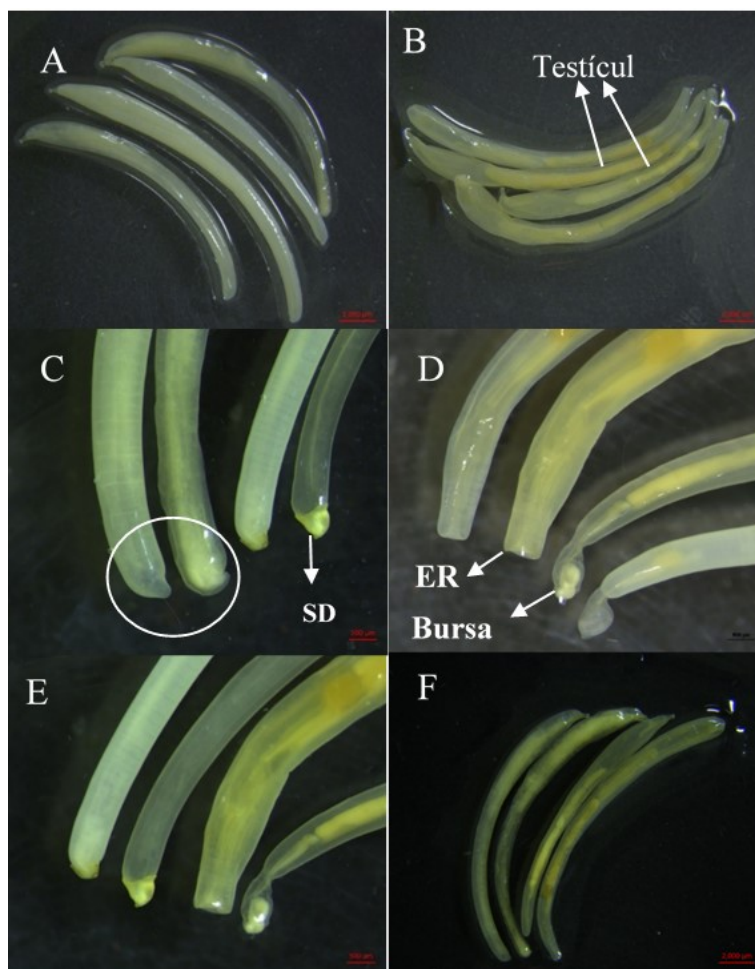
a) Transparência do corpo

Em contraste com a luz microscópio estereoscópico as fêmeas apresentam uma coloração opaca sendo difícil de visualizar as estruturas internas (Figura 1A). As fêmeas fecundadas possuem a cavidade pseudocelomática totalmente preenchida por ovos enquanto que as não fecundadas apresentam apenas bolas ovarianas. Os machos normalmente são mais transparentes, sendo possível observar os órgãos internos, assim como, os testículos (Figura 1B).

b) Extremidade posterior do Acantocéfalo:

O poro genital é terminal em machos e sub-terminal em fêmeas (Figura 1E). As fêmeas apresentam na extremidade posterior do corpo uma curvatura que se adere ao macho na cópula, além disso, em alguns casos pode-se observar a presença de uma secreção de cimento na parte posterior da fêmea (Figura 1C) e uma bursa copulatória no macho (Figura 1D). Os machos na região posterior podem apresentar a extremidade reta (Figura 1E e 1D). Durante a cópula, a bursa masculina evertida é selada ao redor do gonóporo (abertura genital) feminino pelas secreções das glândulas de cimento do macho. A secreção persiste como uma tampa de copulação castanho duro durante algum tempo após os vermes foram separados.

Figure 1. Diferenciação sexual de *Neoechynorrhynchus buttnerae*. **A-F.** **A)** Fêmeas com coloração opaca. **B)** Machos com os testículos visíveis. **C)** Região posterior do corpo das fêmeas com uma curvatura e a presença de uma secreção de cimento (**SD**). **D)** Região posterior dos machos com Extremidade Reta (**ER**) e a bursa copulatória. **E)** A esquerda fêmea e a direita machos. **F)** Fêmeas a esquerda e machos a direita. As fêmeas medem 1,69 ($\pm 0,05$) cm. e os macho 1,25 ($\pm 0,065$) cm.



Fonte: Autor (2016).

Tamanho do parasito e carga parasitaria

Nesse estudo foram medidos 20 exemplares, sendo 10 fêmeas e 10 machos, as fêmeas apresentaram comprimento de 1,69 ($\pm 0,05$)cm e os macho: 1,25 ($\pm 0,065$)cm. A análise parasitológica revelou que dos 20 peixes examinados, 100% estavam parasitados com o acantocéfalo *N. buttnerae*. Os índices parasitários de abundância média na primeira e segunda coleta foram respectivamente, 38,3 e 49,5. Os dados da carga parasitária por peixe e a quantidade de machos e fêmeas do parasito (Tabela 1). Não foram observados sinais clínicos ou alterações anatomopatológicas nos peixes necropsiados.

Tabela 1. Carga parasitária de *Neoechinorhynchus buttnerae* em juvenis de tambaqui de uma piscicultura no Estado do Amazonas.

Amostra 1ª coleta	Comp. Padrão	Fêmeas	Machos	Nº de parasitos
1	26,6	14	20	34
2	22,2	11	09	20
3	27,9	16	19	35
4	25,0	08	09	17
5	19,0	50	44	94
6	10,0	15	11	26
7	13,0	16	09	25
8	15,0	25	23	48
9	14,0	24	33	57
10	14,0	15	12	27
Total	18,7±6,36*	194	189	383
Percentual	-	50,65	49,35	100
Amostra 2ª coleta	Comp. Padrão	Fêmeas	Machos	Nº de parasitos
11	28,6	29	21	50
12	32,0	42	45	87
13	29,9	22	17	39
14	28,0	47	31	78
15	11,2	17	16	33
16	13,9	23	19	42
17	11,0	27	24	51
18	14,8	21	18	39
19	15,0	17	11	28
20	18,3	29	19	48
Total	20,3±8,36*	274	221	495
Percentual	-	55,35	44,65	100

Legenda: *Média±Desvio Padrão.

Fonte: Autor (2016).

As duas coletas totalizaram 878 indivíduos, sendo 410 machos e 468 fêmeas, que em termos percentuais correspondem respectivamente 46,70% e 53,30%. A proporção sexual de fêmea para macho nesse estudo foi de uma fêmea para um macho (1:1) com tendência a duas fêmeas para um macho (2:1). Entre os espécimes fêmeas, foi possível observar que houve um número maior de fêmeas fecundadas em ambas as amostras de coleta. Sendo assim, podemos inferir que a taxa de fecundação de fêmeas é relativamente alta, pois de cada 10 fêmeas, 7 são fecundadas.

O parasito *N. buttnerae* não é uma espécie nova, no entanto, não há registros na literatura de informações que permitam diferenciar o sexo do parasito sem a preparação de lâminas. Os estudos de descrição da espécie realizados por GALVAN (1957) relatam apenas

descrições morfológicas de estruturas internas e externas, porém, não estabelecem parâmetros específicos de diferenciação. Segundo PARSHAD e CROMPTON (1982) o dimorfismo sexual de acantocéfalos pode ser frequentemente observado no tamanho e forma do corpo, na distribuição dos espinhos no corpo, no tamanho, na presença ou ausência do pescoço, forma e ganchos da probóscide, na ocorrência de papilas e na posição das aberturas genitais, porém, para esse tipo de análise é necessário um estudo mais detalhado.

Durante esta pesquisa foram descritos critérios morfológicos para observação dos exemplares através de microscópio estereoscópio, devido os parasitos não poderem ser comprimidos entre lâmina e lamínula para diferenciação do sexo por visualização do poro genital. A utilização destes critérios facilita os procedimentos no campo, trazendo praticidade, e otimizando o tempo das análises.

PARSHAD e CROMPTON (1982) especularam que pequenas diferenças morfológicas nas extremidades posteriores do corpo, onde a cópula ocorre, são mais propensas a facilitar o reconhecimento sexual do que qualquer outro caráter morfológico. De fato, essa especulação pode ser observada e confirmada neste trabalho na espécie *N. buttnerae*, sendo uma das características marcantes e precisa na diferenciação sexual.

Segundo PARSHAD e CROMPTON (1982) a diferença mais marcante entre os sexos de acantocéfalos é a do tamanho corporal. Em 76 das 79 descrições taxonômicas, YAMAGUTI (1963) relata que os acantocéfalos fêmeos são mais longos do que os machos. Nesse estudo foram medidos 20 exemplares, sendo 10 fêmeas e 10 machos, as fêmeas apresentaram comprimento de 1,69 ($\pm 0,05$) cm e os machos: 1,25 ($\pm 0,065$) cm, os dados corroboram com os descritos por MALTA et al, 2001 em seu estudo o comprimento dos parasitos variaram de 1,6 a 2,55 cm, confirmando o registro de YAMAGUTI (1963). Nas espécies *Moniliformis dubius* (MEYER 1933), *Heteroplus grandis* (VAN CLEVE, 1916) e *Hexaspiro nigericum* (DOLLFUS e GOLVAN, 1956), as fêmeas maduras são consideradas cerca de cinco vezes maiores que os machos maduros. Enquanto que CROMPTON (1974) observou que o macho e a fêmea *M. dubius* cresciam a uma taxa similar, e continham aproximadamente a mesma quantidade de nitrogênio (proteína) até um momento que provavelmente coincidia com o início da cópula.

As variações nos comprimentos ou tamanhos corporais dos sexos de algumas espécies são associadas à idade, ao estado reprodutivo a estrutura populacional e a outros fatores que estão relacionados ao tipo de hospedeiro e sua dieta e ambiente em que vive. NESHEIM et al. (1978) e PARSHAD et al. (1980) demonstraram que os comprimentos do corpo e as massas

do corpo de machos e fêmeas *M. dubius* poderiam ser afetados pela qualidade e quantidade de carboidratos ingeridos pelo hospedeiro e pelo número de vermes presentes no intestino delgado.

A diferenciação de machos e fêmeas ocorre através da preparação de lâminas temporárias e/ou permanentes conforme recomendada na literatura (THATCHER, 2006; PAVANELLI et al. 2008). Esses critérios são de fácil execução, não havendo a necessidade de elaboração de procedimentos para microscopia, tornando o processo de identificação mais prático, facilitando os estudos direcionados a um dos sexos do parasito.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados alcançados nesta pesquisa são inéditos para o acantocéfalo *N. buttnerae*. As análises morfológicas nos permitem concluir que este parasito apresenta dimorfismo sexual, com diferenças morfológicas marcantes entre macho e fêmea. O estabelecimento dos critérios de diferenciação sexual, através da coloração do corpo, presença do órgão sexual masculino, bursa copulatória no macho e tamanho do parasito, contribuirão nos estudos que necessitem identificar no campo, de forma prática, a proporção sexual dos parasitos, sem a necessidade da preparação de amostras para microscopia. Apesar destas informações serem básicas no estudo morfológico da espécie, ainda não haviam sido descritas na literatura. Sendo assim, os critérios estabelecidos apresentam grande relevância para pesquisas futuras, que necessitem de identificação prévia do sexo com o parasito a fresco.

REFERÊNCIAS

- AMIN, O. M. Key to the families and subfamilies of acanthocephala with the erection of a new class (Polyacanthocephala) and a new order (Polyacanthorhynchida). **Journal of Parasitology**, v. 73, n. 6, p. 1216-1219, 1969.
- ANDRADE-PORTO, S. M. Formalina no controle de *Dawestrema cycloancistrum* (Monogenoidea) do pirarucu *Arapaima gigas* (Schinz, 1822) (Arapaimidae) e seus efeitos toxicológicos, histopatológicos, fisiológicos e residuais. 141f. **Tese de Doutorado** (Doutorado em Aquicultura). Manaus: UNINILTONLINS, 2015.
- ANDRADE-PORTO; MALTA, J. C. O. **Sanidade do Matrinxã *Brycon amazonicus***. In: Tiago Marinho Pereira. (Ed.). *Brycon amazonicus*: produção, reprodução artificial, transporte, sanidade e perspectivas. Alemanha: Verlag/Novas Edições Acadêmicas. p. 92-121, 2014.
- AQUINO PEREIRA, S. L.; CHAGAS, E. C.; BOIJINK, C.; MAJOLO, C.; BRANDÃO, F. R.; FUJIMOTO, R. Y. Levantamento parasitário de tambaqui (*Colossoma macropomum*) criado em pisciculturas do município de Rio Preto da Eva (AM) no período das chuvas. In:

XIII Encontro brasileiro de patologistas de organismos aquáticos, 2014. Aracaju. **Anais**. Aracaju: Associação Brasileira de Patologistas de Organismos Aquáticos, p. 244. 2014.

BULLOCK, W. L. A new species of *Acanthocephalus* from New England fishes, with observations on variability. **Journal of Parasitology**, v. 48, p. 442-451, 1962.

CHAGAS, E. C.; AQUINO-PEREIRA, S. L.; BOIJINK, C.; MAJOLO, C.; MORAIS, M. S.; SOUZA, K. L.; BRANDÃO, F. R.; MACIEL, P.; FUJIMOTO, R. Y. Ocorrência de acantocéfalos em tambaqui (*Colossoma macropomum*) criado em pisciculturas do município de rio preto da Eva (AM). In: FENACAM & LACQUA/SARA(WAS). **Anais**: Fortaleza. /Fenacam. 2015.

GOLVAN, Y. J. Et description de *Neoechinorhynchus buttnerae* n. sp. (Neocanthocephala-Neoechinorhynchidae). **Annales de Parasitologie Humaine et Comparée**, v. 31, n. (5-6), p. 508-511, 1956.

JERÔNIMO, G. T.; PÁDUA, S.B; ANDRADE BELO, M. A.; CHAGAS, E. C.; TABOGA, S. R.; MACIEL, P. O.; MARTINS, M. L. *Neoechinorhynchus buttnerae* (Acanthocephala) infection in farmed *Colossoma macropomum*: A pathological approach. **Aquaculture**, v. 469, p. 124-127, 2017.

MALTA, J. D. O.; GOMES, A. L. S.; ANDRADE, S. M. S.; VARELLA, A. M. B. Infestações maciças por acantocéfalos, *Neoechinorhynchus buttnerae* GOLVAN, 1956, (EOACANTHOCEPHALA: NEOECHINORHYNCHIDAE) em tambaquis jovens, *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1818) cultivados na Amazônia central. **Acta Amazonica**, v. 31, p. 133-143, 2001.

MOLINARO, E. M.; CAPUTO, L. F. G.; AMENDOEIRA, M. R. R. **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde**. Rio de Janeiro: EPSJV; IOC, v. 5, p. 265, 2012.

NESHEIM, M. C.; CROMPTON, D. W. T.; ARNOLD, S.; BARNARD, D. Host dietary starch and *Moniliformis* (Acanthocephala) in growing rats. **Proceedings of the Royal Society of London Ser. B** 202, p. 399408, 1978.

ONAKA, E. M.; TAVARES-DIAS, M. Manejo e sanidade de peixes em cultivo. In: **Principais parasitoses em peixes de água doce no Brasil**. Macapá: Embrapa Amapá, 2009.

PARSHAD, V. R.; CROMPTON, D. W. T.; MARTIN, J. Observations on the surface morphology of the ovarian balls of *Moniliformis* (Acanthocephala). **Parasitology**, v. 81, n. 41, p. 3431, 1980.

PARSHAD, V. R.; CROMPTON, D. W. T. Aspects of Acanthocephalan Reproduction. In: PARSHAD, V. R.; CROMPTON, D. W. T.; LUMSDEN, W. H. R.; MULLER, R.; BAKER, J. R. **Advances in Parasitology**. New Your: Academic Press; v. 19, 1982. p. 73-138.

PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C. TAKEMOTO, R. M. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. 3. ed. Maringá: EDUEM, p. 311, 2008.

SAKABE, R.; MORAES, F. R.; BELO, M. A. A.; PILARSKI, F.; MORAES, J. R. E. Kinetics of chronic inflammation in Nile tilapia fed n-3 and n-6 essential fatty acids. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, p. 313-319, 2013.

TAVARES-DIAS, M.; ARAÚJO, C. S. O.; PORTO, S. M. A.; VIANA, G. M.; MIURA, E. M. Y.; BINOTTI, M. A. R.; CAMARGO, D. S.; MIZUBUTI, I. Y.; IDA, E. I. Sanidade do tambaqui *Colossoma macropomum* nas fases de larvicultura e Avaliação biológica de linhagem de soja com baixa atividade de inibidores alevinagem. **Série Documentos**, v. 78, 2013.

THATCHER, V. E. **Amazon fish parasites**. 2 ed. Sofia, Moscow: Pensoft Publishers, p. 508, 2006.

YAMAGUTI, S. Systema Helminthum. V. Acanthocephala. Interscience, **John Wiley and Sons**, New York and London, v. 5, p.vii+423, 1963.