

Desenvolvimento embrionário da carpa prateada, *Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes, 1844)

Embryonic development of silver carpa, *Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes, 1844)

Vinicius Pimenta Sividanes,* Fabrício Martins Dutra,** Pedro Pierro Mendonça***

Resumo

O estudo e o conhecimento dos primeiros dias de vida dos peixes são de extrema importância, especialmente para espécies selvagens e nativas, bem como para aquelas com potencial viáveis para a atividade aquícola. Desta forma o trabalho teve como objetivo acompanhar o desenvolvimento embrionário da *Hypophthalmichthys molitrix*. A temperatura média da água durante a realização do trabalho foi de $24,07 \pm 0,23^\circ\text{C}$. Os parâmetros de qualidade de água como: pH, alcalinidade, dureza e amônia permaneceram constantes e dentro da faixa ideal para o desenvolvimento inicial desta espécie. A primeira segmentação foi observada com 22 minutos após a fertilização. A formação da blástula ocorreu com 2 horas e 27 minutos e com 9 horas e 12 minutos observou-se a gástrula com 90% de formação. O fechamento do blastóporo se deu com 9 horas e 49 minutos e a diferenciação do embrião com 12 horas e 56 minutos após a fertilização. A eclosão ocorreu com 20 horas e 3 minutos após a fertilização, totalizando 482,6 horas/graus.

Palavras-chave: estágios embrionários, reprodução induzida, embriologia.

Abstract

The study and the knowledge of the first days of life of fish are of the utmost importance, especially for wild and native species, as well as for those with viable potential for aquícola activity. In this way the work aimed to follow the embryonic development of *Hypophthalmichthys molitrix*. The average temperature of the water showed little variation during the completion of the work of $24.07 \pm 0.23^\circ\text{C}$. The water quality parameters as: pH, alkalinity, hardness and ammonia remained constant and within the ideal range for the initial development of this species. The first segment was observed with 22 minutes. The formation of the blastula occurred with 2 hours and 27 minutes, with 9 hours and 12 minutes noted the gastrula with 90% of training, the closing of blastóporo came with 9 hours and 49 minutes and the differentiation of the embryo with 12 hours and 56 minutes. The outbreak occurred with 20 hours and 3 minutes after fertilization, totaling thus 482.6 hours/degrees.

Keywords: embryonic stages, induced reproduction, embryology.

Introdução

A aquíicultura, aparentemente, teve seu início há mais de 500 anos a.C. Os egípcios utilizavam tilápias visando ornamentação e consumo em ocasiões especiais. Os romanos construíram açudes destinados ao cultivo de peixes, dos quais alguns estão em uso até hoje na Europa (Proença e Bitencourt, 1994). A piscicultura brasileira teve seu início nas primeiras décadas do século XX, através do pioneiro Rodolpho Von Lhering, com o desenvolvimento da técnica de indução de desova (hipofisação) de espécies nativas e exóticas (Nomura, 1977). Porém, a aquíicultura só foi considerada atividade de produção na década de 1980, chegando a ser a atividade agrícola de maior crescimento (Landelli, 2007). Atualmente os sistemas de produção empregados no Brasil são

bastante diversificados em função de diversas variáveis como a disponibilidade de água, condições climáticas, tipo de tecnologia empregada etc. (Kubitza, 2000).

Com o crescimento significativo e acelerado da aquíicultura, algumas espécies se apresentam como grande destaque por serem economicamente exploráveis, obtendo bons valores de mercado e elevada produtividade, com baixos custos de produção.

Dentre as espécies recomendadas para a aquíicultura, a carpa é uma das que apresentam melhor destaque. Esse destaque é influenciado por sua rusticidade, rápido crescimento e ótimo desempenho em ganho de peso (Souza et al., 2006).

A carpa prateada (*Hypophthalmichthys molitrix*) pertence à família *Cyprinidae*, originária dos grandes rios da China. Apresenta

* Setor de Aquíicultura do Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Espírito Santo, Campus Alegre, 29520-000, Rive/Alegre, ES, Brasil.

** Programa de Pós-Graduação em Zoologia (Mestrado), Departamento de Ciências Biológicas, Setor de Aquíicultura, Laboratório de Aquíicultura, Aquariologia e Produção de Organismo Alimento da Universidade Federal do Paraná, Campus Palotina, Rua Pioneiro, 2153. Palotina, PR, 85950-000. Autor para correspondência: fabriciomd@ufpr.br.

*** Departamento de Tecnologia em Aquíicultura, Setor de Aquíicultura do Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Espírito Santo, Campus Alegre, 29520-000, Rive/Alegre, ES, Brasil.

hábito alimentar fitoplanctófico, tornando-a, desta forma, uma boa espécie para policultivos e criações de baixo custo. Possui capacidade de desenvolvimento bem vantajosa, sendo que um exemplar de 500g a 600g pode crescer mais de 10g por dia e atingir até 1,5kg em um ano (Proença e Bittencourt, 1994).

Um dos fatores importantes na exploração econômica de peixes é o controle da reprodução, que só será possível se houver conhecimentos adequados dos fatores que governam os ciclos reprodutivos (Moreira et al. 2001).

No Brasil, as pesquisas relacionadas com a biologia reprodutiva, desenvolvimento embrionário e larval, estão focadas em peixes de cativeiro. São baseadas principalmente em espécies comerciais (Anjos e Anjos. 2006).

Portanto, o estudo dos primeiros dias de vida dos peixes é de extrema importância, especialmente de espécies selvagens, potencialmente viáveis para a piscicultura (Pinto e Castagnolli. 1984; Luz et al. 2001). Santin et al. (2004) afirmaram que o conhecimento da ontogenia é útil como ferramenta para a descrição e conhecimento do início do desenvolvimento de diversas espécies, da classe Osteichyces, podendo contribuir para o desenvolvimento comercial em cativeiro de novos estoques e avaliação daqueles já explorados. Segundo Senhorini (1993), a descrição dos estágios embrionários dos teleósteos contribui para a avaliação precisa do seu desenvolvimento.

Segundo Snyder (1981); Orbolato et al. (2006), estudos no desenvolvimento embrionário e larval dos peixes, baseado na monitoração da evolução dos ovos produzidos no cativeiro, é uma ferramenta útil para a caracterização morfológica e cronológica dos eventos embrionários.

Assim, este trabalho teve como objetivo acompanhar o desenvolvimento embrionário da carpa prateada, *Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes, 1844), tendo como hipótese que o processo de indução hormonal nada interfere no processo de desenvolvimento embrionário, ocorrendo naturalmente.

Material e métodos

O experimento foi realizado, no setor de aquicultura do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo – *Campus* de Alegre (IFES-*Campus* Alegre), localizado no distrito de Rivee – Alegre/ES.

As matrizes selecionadas eram provenientes do plantel de reprodutores do IFES – *Campus* Alegre e eram mantidas em viveiros escavados. Do plantel foi retirado um casal que apresentava características reprodutivas favoráveis para desova, como: presença de abdome abaulado e papila urogenital intumescida nas fêmeas e liberação de sêmen sobre leve pressão abdominal para os machos. Foi selecionada uma fêmea de 10,664kg e um macho 10,320kg. O tratamento hormonal para induzir a maturação final foi realizado através de aplicações intramuscular de extrato de **pituitária** de carpa (EPC), de acordo com a metodologia desenvolvida por Lhering (1935). A fêmea recebeu uma dose de 0,5mg EPC/kg. Os animais foram acondicionados em tanques de alvenaria individuais com renovação de água constante. Após 10 horas, foi ministrada uma segunda aplicação de 5 mg EPC/kg, enquanto o macho recebeu uma aplicação de 1 mg EPC/kg após a segunda dose da fêmea.

Nove horas após a segunda dose (210 horas/grau), foi realizada a extrusão da fêmea e do macho, onde os ovócitos e o sêmen

foram homogeneizados dentro de uma bacia de polipropileno com auxílio de uma pena de ave, a fim de evitar injúrias nos ovos. Em seguida, os ovos fertilizados foram colocados em duas incubadoras artificiais de fibra de vidro, tipo funil, com capacidade de 240 litros e com renovação da água constante, de forma a garantir a movimentação constante dos ovos, evitando que estes se depositassem no fundo da incubadora.

Após 10 horas de incubação, foi realizada a mensuração da taxa de fecundação dos ovos, onde foram retiradas três amostras de ovos da incubadora e depositadas sobre uma placa de petri. Com o auxílio de um estereoscópio (40x) foi quantificado ao nível de ovos viáveis (translúcidos) e aos gorados (esbranquiçados). Posteriormente, se fez o uso da fórmula abaixo, para obter o resultado de fecundação.

$$TF = (N^{\circ} OF \times 100) / n^{\circ} OT$$

TF = Taxa de Fecundação

n° OF = Número da média do ovos fertilizados

n° OT = Número de ovos total

Os registros dos estágios embrionários foram realizados em intervalos de 10 minutos até atingir o estágio de gástrula; em intervalos de 25 minutos até o fechamento do blastóporo e em intervalos de 40 minutos até a eclosão. A cada observação eram coletadas três amostras contendo cinco ovos em cada placa de petri e com o auxílio de um estereoscópio (40x), equipado com uma ocular micrométrica, foram fotografados com câmera fotográfica digital, a fim de documentar e melhor visualizar as medições do diâmetro dos ovos realizada com a micrométrica, comparando posteriormente os estágios embrionários de acordo com Nakatani et al. (2001). Todos os embriões após analisados eram devolvidos para as incubadoras.

Para a caracterização dos parâmetros de qualidade de água, foram efetuadas as medições das seguintes variáveis físico-químicas: temperatura em intervalos de uma hora, utilizando termômetro digital. O pH a cada três horas, com auxílio de aparelho multiparâmetro digital. A amônia foi determinada segundo Korolef (1976) a cada três horas. Valores de alcalinidade e dureza foram tomados no início do experimento, conforme metodologia descrita por APHA (2005).

Resultados e discussão

Os parâmetros de qualidade de água (Tabela 1) permaneceram constantes no ambiente de incubação, tendo pequena variação apenas a temperatura.

Tabela 1: Parâmetros de qualidade de água medidos durante o experimento.

PARÂMETRO	MÉDIA ± EP
Temperatura	24,07 ± 0,23°C
pH	6,6 ± 0,5
Alcalinidade total	20 mg Caco3 / L
Dureza total	22 mg Caco3 / L
Amônia total	0,001 ± 0,001 mg / L

O resultado obtido para taxa de fecundação foi de 87%. Segundo Moreira et al. (2001), as carpas comuns e chinesas possuem taxa média esperada de 80% de fecundação. Kubtiza (2004) diz que a estimativa do percentual de ovos fecundados deve ser feita entre 4 e 8 horas após a desova.

A temperatura de incubação dos ovos foi de $24,07 \pm 0,23^{\circ}\text{C}$, não se mostrando como fator limitante na avaliação do desenvolvimento embrionário, por apresentar pouca variação e por se encontrar dentro da faixa de temperatura ideal para a espécie. Segundo Moreira et al. (2001), a temperatura ótima da água para que se proceda a reprodução induzida das carpas, tanto comuns e/ou chinesas, situa-se entre 22 a 28°C . No desenvolvimento embrionário dos peixes a temperatura é um importante fator para monitorar o tempo de incubação e má-formação nas larvas. Como se pode observar, a temperatura encontrada no presente trabalho está dentro dos padrões de outros estudos na área de desenvolvimento inicial de peixes. Os demais parâmetros de qualidade de água não foram limitantes por estarem dentro do preconizado por Lukowicz (1982).

Tabela 2: Diâmetro do ovo (mm), em relação ao tempo de ocorrência dos eventos embrionários.

Estágio	Diâmetro do ovo (mm)	Tempo dos eventos (horas/ $^{\circ}\text{C}$)	n
Primeira segmentação	$5,72 \pm 0,03$	9,05	15
Estágio com 4 a 36 células	$5,27 \pm 0,5$	10,3	15
Mórula	$5,82 \pm 0,1$	42,4	15
Blástula	$5,82 \pm 0,2$	60,5	15
Gástrula (início)	$5,83 \pm 0,2$	144,08	15
Gástrula 50%	$5,83 \pm 0,4$	159,72	15
Gástrula 80%	$5,83 \pm 0,09$	189,00	15
Gástrula 90%	$5,84 \pm 0,07$	225,50	15
Fechamento do blastóporo	$5,84 \pm 0,06$	242,47	15
Diferenciação do embrião	$5,85 \pm 0,02$	311,89	15

Os registros embrionários apresentaram os seguintes valores: com 22 minutos ou 9,05 horas/grau após a fertilização, observou-se uma migração de células dando origem à primeira segmentação e após a formação da divisão de 4 a 32 células (Fig.1 A e B). Sado e Kimura (2004) afirmam que a primeira segmentação em *Chela dadiburjori* ocorreu com 24 minutos em temperatura média de $27,4^{\circ}\text{C}$. Sado e Kimura (2005a) visualizaram que a primeira segmentação dos ovos de *Horadandia atukorali* ocorreu com 25 minutos em temperatura média de $27,5^{\circ}\text{C}$. Sado e Kimura (2005b) observaram que a primeira segmentação dos ovos de *Tanichthys albonubes* se deu com 30 minutos em temperatura média de $26,9^{\circ}\text{C}$. Portanto, o tempo da primeira segmentação em *H. molitrix*, se manteve próximo à de outras espécies da família Cyprinidae.

O estágio de mórula ocorreu com 1 hora e 43 minutos ou 42,4 horas/grau pós-fertilização (Figura1 C). Segundo Sado e Kimura (2004), o tempo do estágio de mórula em *C. dadiburjori* se dá em 3 horas em temperatura média de $27,4^{\circ}\text{C}$. Sado e Kimura (2005a), o estágio de mórula ocorreu com 2 horas e 12 minutos em temperatura média de $27,5^{\circ}\text{C}$, na espécie *H. atukorali*. Sado e Kimura (2005b), o estágio de mórula ocorreu com 2 horas e 15

minutos para a espécie *T. albonubes* em temperatura média de $26,9^{\circ}\text{C}$. Andrade-Talmelli et al. (2001) observaram este estágio em *Brycon insignis*, com 2 horas e 30 minutos, em temperatura de $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$. O tempo para a fase de mórula seguiu o mesmo padrão quando observada a média de temperatura com os autores citados.

Observou-se, após 2 horas e 27 minutos ou 60,5 horas/grau, a formação da blástula (Figura1 D). Para Sado e Kimura (2004) a formação da blástula se dá em 3 horas e 56 minutos para *C. dadiburjori*. Sado e Kimura (2005a) o estágio de formação da blástula se dá em 3 horas e 30 minutos na espécie *H. atukorali*. Sado e Kimura (2005b) visualizaram o estágio de blástula para *T. albonubes* com 2 horas e 50 minutos, a uma temperatura média de $26,9^{\circ}\text{C}$.

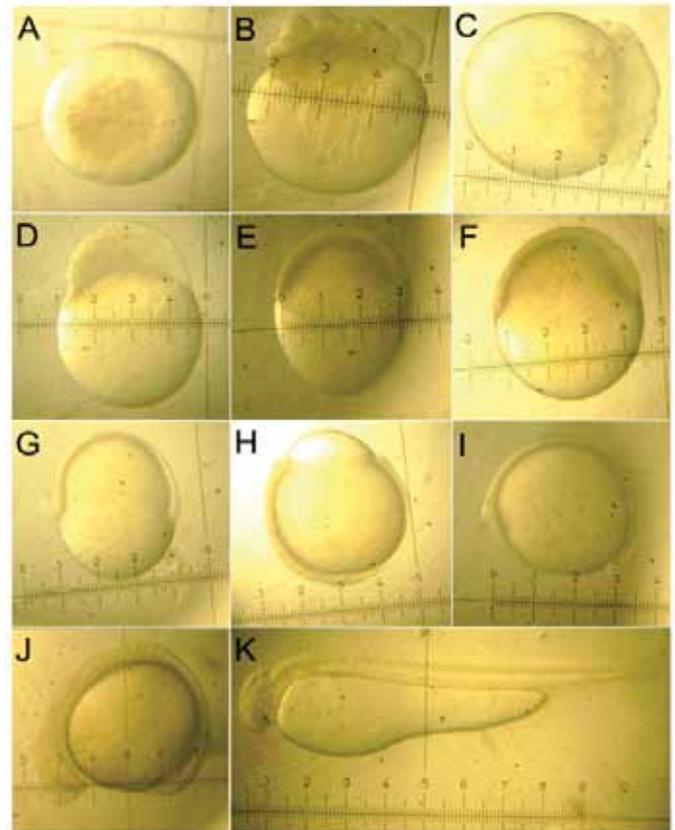


Figura 1: Estágio inicial de desenvolvimento, iniciando com a primeira segmentação (A), estágio intermediário da divisão de 4 a 32 células (B), formação de mórula (C), formação de blástula (D), gástrula com formação de 40% (E), 50% gastrulação (F), 80% de gastrulação (G) e 90% de gastrulação realizada (H), fechamento do blastóporo (I), diferenciação do embrião (J). Embrião eclodido (K).

A fase de gástrula foi observada com 5 horas e 50 minutos ou 144,08 horas/grau após fertilização (Figura1 E). Após 6 horas e 28 minutos a gástrula apresenta 50% de sua formação celular (Figura1 F). Com 7 horas e 41 minutos já era possível observar a formação de 80% da gastrulação formada (Figura1 G) e com 9 horas e 12 minutos, o processo de formação da gástrula já se apresentava com 90% formado (Figura1 H). Neumann (2008), em estudo com *Brycon* sp, observou que 50% da gástrula se apresentava formada em 4 horas e 30 minutos aproximadamente e após 2 horas já apresentava o anel germinativo. Segundo Anjos

e Anjos (2006) observaram que depois de intensa proliferação celular, a camada de células somáticas começou a envolver o saco vitelínico, sendo possível observar o processo de gastrulação (aproximadamente 180 minutos após a fertilização) do *Paracheirodon axelrodi*.

O fechamento do blastóporo ocorreu após 9 horas e 49 minutos ou 242,47 horas/grau após fertilização (Figura 1 I). De acordo com Sado e Kimura (2004), o fechamento do blastóporo em *C. dadiburjori* se deu com 10 horas e 33 minutos em temperatura média de 27,4 ° C. Sado e Kimura (2005a) em estudo com *H. atukorali*, observou que o fechamento do blastóporo se deu em 10 horas em temperatura média de 27,5 °C. Para Sado e Kimura (2005b) o fechamento do blastóporo na espécie *T. albonubes* se deu com 8 horas e 55 minutos, em temperatura média de 26,9°C. Andrade-Talmelli et al. (2001) visualizaram esta fase no *Brycon insignis*, com 7 horas após a fertilização.

A diferenciação do embrião ocorreu com 12 horas e 56 minutos ou 311,89 horas/grau pós-fertilização (Figura 1 J). Sado e Kimura (2004) em estudos realizados com *C. dadiburjori* observaram que a diferenciação do embrião se deu em 11 horas e 45 minutos. Sado e Kimura (2005a) observaram a diferenciação do embrião em 10 horas e 2 minutos, para *H. atukorali*, a uma temperatura média de 27,5°C. Sado e Kimura (2005b) visualizaram a diferenciação do embrião de *T. albonubes* com 9 horas e 15 minutos, em temperatura média de 26,9°C. Segundo Andrade-Talmelli et al. (2001) observaram esta fase no *Brycon insignis*, com 13 horas.

Referências

- ANDRADE-TALMELLI, E. F.; KAVAMOTO, E. T.; ROMAGOSA, E.; FENERICH-VERANI, N. Embryonic and larval development of the "piabanha", *Brycon insignis*, Steindachner, 1876 (Pisces, Characidae). *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, v. 27, n.1, p. 21-28, 2001.
- ANJOS, H. D. B.; ANJOS, C. R. Biologia reprodutiva e desenvolvimento embrionário e larval do cardinal tetra, *Paracheirodon axelrodi* Schultz, 1956 (Characiformes: Characidae), em laboratório. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, v. 32, n.2, p.: 151-160, 2006.
- APHA. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 21st ed. Washington: American Public Health Association, 2005.
- CASTAGNOLLI, N. *Criação de peixes de água doce*. Jaboticabal: FUNEP, 1992, 189 p.
- HALLARE, A.V.; SCHIRLING, M.; LUCKENBACH, T.; KÖHLER, H.R.; TRIEBSKORN, R. Combined effects of temperature and cadmium on developmental parameters and biomarker responses in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Journal of Thermal Biology*, v. 30, p. 7-17, 2005.
- KUBITZA, F. *Tecnologia e Planejamento na Produção Comercial*. São Paulo, 2000.
- KUBITZA, F. *Reprodução, Larvicultura e Produção de Alevinos de Peixes Nativos*. Jundiaí, São Paulo, 2004.
- KOROLEFF, F. *Determination of nutrients*. In: GRASSHOFF, K. (Ed.). *Methods of seawater analysis*. Weinheim: Verlag, p. 117-181, 1976.
- LANDELL, M.C. *Avaliação do desempenho de tilápias (*Oreochromis niloticus*, Trewavas, 1983) em tanques – rede na represa de Jurumirim/Alto Rio Paranapanema*. 2007. Dissertação (Mestrado). Centro de aquicultura da Universidade Estadual Paulista (CAUNESP), Jaboticabal. 2007.

A eclosão das larvas se deu após 20 horas e 3 minutos da fertilização (Figura 1 K). Sado e Kimura (2004) observaram a eclosão das larvas de *C. dadiburjori* em 30 horas e 38 minutos. Segundo Sado e Kimura (2005a), as larvas de *H. atukorali* eclodiram em 23 horas e 3 minutos, a uma temperatura média de 27,5°C. Sado e Kimura (2005b) presenciaram a eclosão de *T. albonubes* com 22 horas e 31 minutos, em temperatura média de 26,9°C. Landines (2003) observou que a eclosão em *Pseudoplatystoma coruscans* ocorria em aproximadamente 17 horas.

Portanto, o estudo acima do desenvolvimento embrionário em peixes é uma ferramenta extremamente valiosa, sobretudo para a taxonomia. A grande semelhança entre diferentes grupos taxonômicos é o principal obstáculo à identificação de ovos e larvas. Análises embrionárias e larvais nos permitem comparar as diferentes fases de desenvolvimento dentro e entre espécies e, em conjunto com outras características, permite a identificação correta (Sanchez et al., 1999).

Conclusões

Através do presente trabalho foi possível observar e registrar os estágios principais do desenvolvimento embrionário da carpa prateada *Hypophthalmichthys molitrix*, contribuindo dessa forma para o melhor conhecimento da biologia desta espécie.

Na temperatura de incubação de 24,07 ± 0,23°C a eclosão das larvas ocorre após 20 horas e 3 minutos ou 482,6 horas/grau,.

- LANDINES, M. A.; SENHORINI, J. A.; SANABRIA, A. I.; URBINATI, E.C. Desenvolvimento embrionário do pintado (*Pseudoplatystoma coruscans* Agassiz, 1829). *Boletim Técnico do CEPTA*, Pirassununga, v. 16, p. 1-13, 2003.
- HERING R. V. Die wirkung von Hypophyseinjektion auf den Laichakt von Fischen. *Zool Anz*, v. 111, p. 273-279, 1935.
- LUKOWICZ, M.V. Intensive carp *Cyprinus carpio* L. rearing in a farm pond in southern Germany and its effects on water quality. *Aquaculture Engineers*, v. 1, n. 2, p. 121-137, 1982.
- LUZ, R. K.; REYNALTE-TATAJE D. A.; FERREIRA, A. A.; ZANIBONI FILHO E. Desenvolvimento embrionário e estágios larvais do mandi-amarelo *Pimelodus maculatus*. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 49-55, 2001.
- MOREIRA, H. L. M.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R. P.; ZIMMERMANN, S. *Fundamentos da moderna aquicultura*. Canoas: ULBRA, 2001, 200 p.
- NAKATANI, K.; AGOSTINHO, A.A.; BAUMGARTNER, G.; BIALETZKI, A.; SANCHES, P.V.; MAKRAKIS, M.C. VANELLI, C.S. *Ovos e larvas de peixes de água doce*. Maringá: EDUEM, 2001, 378 p.
- NOMURA, H. *Ictiologia e piscicultura*. 2. ed. São Paulo: Nobel, 1977, 118 p.
- NEUMANN, E. *Desenvolvimento embrionário de jatuarana *Brycon* sp. (Teleostei, Characidae)*. 2008. 108 f. Tese (Doutorado) – Centro de Aquicultura da UNESP/CAUNESP – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.
- ORBOLATO, T.S.; AQUINO SILVA, M. R.; MITTMANN, J.; DE OLIVEIRA, M. A.; FIORINI, M. P. Desenvolvimento embrionário da piabanha, (*Brycon insignis*, (Steindachner, 1876). In: X ENCONTRO LATINO- AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E VI ENCONTRO LATINO- AMERICANO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 2006. *Anais...* Vale do Paraíba, 2006.

- PINTO, M.L.G. e CASTAGNOLLI, N. Desenvolvimento inicial do pacu *Colossoma mitrei* (Berg, 1895). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 1984. *Anais...* São Carlos: UFSCar, 1983. p. 523-535.
- PROENÇA, C. E. M.; BITTENCOURT, P. R. L. *Manual de piscicultura tropical*. Brasília: Ibama, 1994. 196 p.
- SANCHES, P. V.; NAKATANI, K., BALETZKI, A. Morphological description of the developmental stages of *Parauchenipterus galeatus* on the floodplain of the upper Paraná river. *Revista Brasileira de Biologia*, v. 59, n. 3, p. 429-438. 1999.
- SADO, T.; KIMURA, S. Developmental morphology of the cyprinid fish *Chela dadiburjori*. *Ichthyological Research*. v. 52, p.20-26, 2004.
- SADO, T.; KIMURA, S. Developmental morphology of the cyprinid fish *Horadandia atukorali*. *Ichthyological Research*. v. 52, p. 152-157, 2005a.
- SADO, T.; KIMURA, S. Developmental morphology of the cyprinid fish *Tanichthys albonubes*. *Ichthyological Research*. v. 52, p.386-391, 2005b.
- SANTIN, M.; BIALETZKI, A.; NAKATANI, K. Mudanças ontogênicas no trato digestório e dieta de *Apareiodon affinis*. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*. Maringá, v. 26, n. 3, p. 291-298, 2004.
- SENHORINI, J. A. *Procedimento para criação de larvas de peixes*. IBAMA-CEPTA. Pirassununga, São Paulo. Apostila . 21 p. 1993.
- SOUZA, M. L. R.; GODOY, L. C.; KOZUKI, H.T.; CASACA, J. M.; DOURADO, D. M.; JACINTO, M. A. C. Histologia de pele de carpa prateada (*Hypophthalmichthys molitrix*) e testes de resistência do couro. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 35, n. 4, p. 1265-1272, 2006.
- SNYDER, D.E. *Contributions to a guide to the cypriniform fish larvae of the upper Colorado river system in Colorado*. Denver: United States Bureau of Land Management, 1998.