



DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA ENDÓCRINO DIFUSO GASTROENTEROPANCREÁTICO (GEP) DAS LARVAS DE PIRACANJUBA, *Brycon orbignyanus*

Cláudia Maria Reis Raposo Maciel^{1,2}, Alair Maciel Júnior^{1,2}, Lidiane da Silva Nascimento², Eduardo Arruda Teixeira Lanna³

1 Docente da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), Itapetinga, BA;
2 Pesquisador do Núcleo de Estudos em Organismos Aquáticos (NEOAQUA),
UESB; 3 Docente da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG.
claudiaraposomaciel@yahoo.com.br

Recebido em: 22/09/2018 – Aprovado em: 23/11/2018 – Publicado em: 03/12/2018
DOI: 10.18677/EnciBio_2018B83

RESUMO

O conhecimento do surgimento de células endócrinas no trato digestório de larvas de peixes tem grande importância para a nutrição destes em cativeiro, a fim de reduzir a mortalidade nesta fase e aumentar a rentabilidade. Este estudo teve como objetivo identificar o surgimento das células endócrinas do sistema gastroenteropancreático (GEP) em larvas de piracanjuba, *Brycon orbignyanus*, no período de zero a 172 horas após eclosão. A fixação foi realizada por meio de solução de Bouin, por seis a oito horas, e posteriormente foram mantidos em álcool etílico 70% e submetidos ao processamento histológico de rotina. A identificação de células endócrinas argirófilas foi realizada pela técnica de Grimelius. No período de 148 horas (6º dia) até às 172 horas (7º dia) após a eclosão foi registrado o surgimento destas células, do tipo aberto, entremeadas aos enterócitos do epitélio simples prismático intestinal, em larvas com $11,94 \pm 0,8$ mm de comprimento-padrão (CP). A presença dessas células sugere que, a partir das 172 horas após a eclosão, a mucosa intestinal desta espécie está apta para o início dos processos digestivos, uma vez que há a organização do sistema de controle endócrino do trato digestório. Por meio destes resultados obteve-se conhecimento sobre a funcionalidade da mucosa intestinal. Sugere-se que entre o 6º e o 7º dia seja um momento ideal para implementação de dietas adequadas durante o cultivo, a fim de melhorar os índices produtivos desta espécie.

PALAVRAS-CHAVE: Characiformes, Ontogenia, Trato digestório

DEVELOPMENT OF GASTROENTEROPANCREATIC DIFFUSE ENDOCRINE SYSTEM OF PIRACANJUBA LARVAE, *Brycon orbignyanus*

ABSTRACT

Knowledge of the emergence of endocrine cells in the digestive tract of fish larvae is very important for the nutrition of those in captivity, in order to reduce mortality at this stage and increase profitability. This study aimed to identify the emergence of endocrine cells of the gastroenteropancreatic system (GEP) in piracanjuba larvae, *Brycon orbignyanus*, from zero to 172 hours after hatching. The fixation was carried

out by means of Bouin's solution for 6 to 8 hours, and then they were kept in 70% ethyl alcohol and submitted to routine histological processing. The identification of argiophil endocrine cells was performed by the Grimelius technique. The emergence of these open-type cells interspersed with enterocytes of the simple prismatic intestinal epithelium in larvae with 11.94 ± 0.8 mm of standard length (CP) was recorded between 148 hours (6th day) and 172 hours (7th day) after hatching. The presence of these cells suggests that, from the 172 hours after hatching, the intestinal mucosa is able to the beginning of the digestive processes, since there is the organization of the endocrine control of the digestive tract. By these results it was obtained knowledge about the functionality of the intestinal mucosa. It is suggested that between the 6th and the 7th day be a key moment for the implementation of adequate diets during the cultivation, in order to improve the productive indexes of this species.

KEYWORDS: Characiformes, ontogeny, digestive tube

INTRODUÇÃO

Aquicultura é a atividade comercial que mais cresce mundialmente, porém em paralelo ao seu avanço surgiu a carência de informações sobre a fisiologia da nutrição dos peixes (CASTRO, 2002) e os aspectos ontogênicos do trato digestório de larvas de peixes, dificultando o manejo adequado em cativeiro durante esta fase crítica de desenvolvimento (LUZ, 2007).

Assim como nos demais vertebrados, as funções do trato digestório dos peixes são moduladas pelo sistema neuroendócrino difuso. Este sistema é formado por uma diversidade de células endócrinas presentes de forma difusa ao longo da mucosa e no pâncreas, formando o sistema endócrino gastroenteropancreático (GEP), uma parte do sistema endócrino difuso (HERNÁNDEZ et al., 2012). Nestes animais, tal sistema compõe cerca de 1% das células que revestem o epitélio gastrointestinal (SCHONHOFF et al., 2004).

O sistema endócrino GEP participa da regulação do metabolismo dos carboidratos; medeia os processos ligados à digestão e absorção do alimento, tais como a secreção das glândulas extrínsecas ou intrínsecas do sistema gastrointestinal; controla ou modula o peristaltismo, a irrigação sanguínea e o ciclo celular do epitélio gastrointestinal (GRUBE, 1986; ÇINAR; DILER, 2002; HERNÁNDEZ et al., 2012; CARDOSO, 2013). Conforme Min et al. (2009), este sistema regula e controla o curso fisiológico do organismo, desempenhando papel importante na atividade de vida do animal.

Células endócrinas no trato digestório de Teleostei de água doce adultos e de variados hábitos alimentares foram estudadas por Seixas Filho (2001), Youson et al. (2001), Castro (2002), Pereira (2012), Cardoso (2013), dentre outros. Contudo, ainda há escassez de estudos sobre células endócrinas do sistema GEP em larvas de peixes de muitas espécies de interesse comercial, como a piracanjuba. O conhecimento do surgimento de tais células no trato digestório de larvas de peixes propicia subsídios morfofisiológicos para o manejo em cativeiro (CASTRO et al., 2003), uma vez que o início da alimentação larval está correlacionada com a funcionalidade da mucosa gastrointestinal mediados pelas células endócrinas GEP e neurônios (RAY; RINGO, 2014).

Brycon orbignyanus (Valenciennes, 1849), conhecida como piracanjuba, é uma das espécies de peixes ameaçada de extinção, MMA N° 445/2014 (BRASIL, 2014; HONJI et al., 2017), uma vez que apresentou um declínio populacional drástico nos

últimos anos em função de interferências antrópicas (ZARDO, 2018), tais como alterações na qualidade da água, devido a poluição industrial e urbana, desmatamento de mata ciliar e construção de barragens hidrelétricas, que são barreiras artificiais impedindo a migração reprodutiva da espécie (FORNARI et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2017). Piracanjuba é uma espécie reofílica, da família Bryconidae (ESCHMEYER; FONG, 2017), onívora e altamente valorizada no mercado devido a qualidade da carne, sendo também uma espécie bastante utilizada na pesca desportiva devido ao comportamento arisco e agressivo (LOPERA-BARRERO et al., 2014; SILVA CARMO et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2017; ROTILI, 2018).

Desta forma, estudos sobre as características zootécnicas, a biologia do desenvolvimento e dinâmica populacional dessa espécie são primordiais para aprimorar o manejo em cativeiro, o que eleva seu valor de mercado, e desse modo a criação é incentivada com fins comerciais e ecológicos (HONJI et al., 2017). Com isto, esse trabalho teve por finalidade a descrição do aparecimento das células endócrinas do sistema gastroenteropancreático em larvas de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*), no período entre zero a 172 horas após eclosão.

MATERIAL E MÉTODOS

As larvas de piracanjuba, *Brycon orbignyanus* Valenciennes (1849) (Characiformes, Bryconidae, Bryconinae) foram provenientes da Estação de Pesquisa e Desenvolvimento Ambiental de Volta Grande-CEMIG/EPDA-VG, localizada na Usina Hidrelétrica de Volta Grande, em Conceição das Alagoas, Minas Gerais, em novembro de 2004. Para obtenção dos exemplares, reprodutores (machos e fêmeas) foram hipofisados duas vezes a 27°C, produzindo uma desova aproximada de 73.000 ovos. Posteriormente estes ovos foram conduzidos até o Laboratório de Reprodução Induzida da referida Estação para serem submetidos ao processo de eclosão em incubadoras, que ocorreu 18 horas após a desova.

A partir de zero até 172 horas após a eclosão foram coletados 15 a 20 exemplares a cada meia hora. A medida em que ocorriam as coletas, procedeu-se a fixação em solução de Bouin durante seis a oito horas. Posteriormente, os exemplares foram colocados em solução de álcool etílico 70% e, após, submetidos ao processamento histológico de rotina.

Para a medição do comprimento padrão (CP) foram selecionados 10 exemplares de cada coleta, utilizando-se paquímetro digital. No Laboratório de Biologia Estrutural do Departamento de Biologia Geral, DBG/UFV, os 10 exemplares de cada coleta (utilizados na morfometria) foram processados seguindo as técnicas usuais de rotina para impregnação em parafina e corados pela técnica de Grimelius (GRIMELIUS; WILANDER, 1980), para a identificação de células argirófilas. Como controle positivo foram utilizadas lâminas de intestino de ratos conforme sugerido por Castro (2002). As imagens foram obtidas por fotomicroscópio de luz, conectado a um microcomputador contendo um *software* de análise de imagens (Image-Pro Plus, 4.0) do Departamento de Zootecnia, DZO/UFV.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O sistema endócrino difuso gastroenteropancreático é um dos principais elos para o entendimento da fisiologia da nutrição em peixes, uma vez que os processos digestivos são mediados pela interação entre o sistema nervoso e o sistema endócrino difuso presentes ao longo da mucosa gastrointestinal (TAKEI; LORETZ, 2011). Neste estudo utilizou-se a técnica de Grimelius, coloração de amplo uso na

identificação de maior parte das células endócrinas do trato gastrointestinal de peixes e mamíferos. Devido à precipitação de sais de prata pelas células endócrinas nesta técnica, as mesmas são denominadas de células argirófilas (GRIMELIUS; WILANDER, 1980).

Entre zero a 148 horas após a eclosão, as larvas de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) não apresentaram células endócrinas do sistema difuso gastroenteropancreático (GEP) no trato digestório. No período de 148 horas (6º dia) até às 172 horas (7º dia) após a eclosão, em larvas com $11,94 \pm 0,8$ mm de comprimento-padrão (CP), foi registrado o surgimento destas células entremeadas aos enterócitos do epitélio simples prismático intestinal. As células argirófilas estavam concentradas principalmente na região anterior do intestino médio (Figura 1A, 1B, 1E), sendo escassas nas regiões: média (Figura 1C) e posterior (Figura 1D) deste órgão.

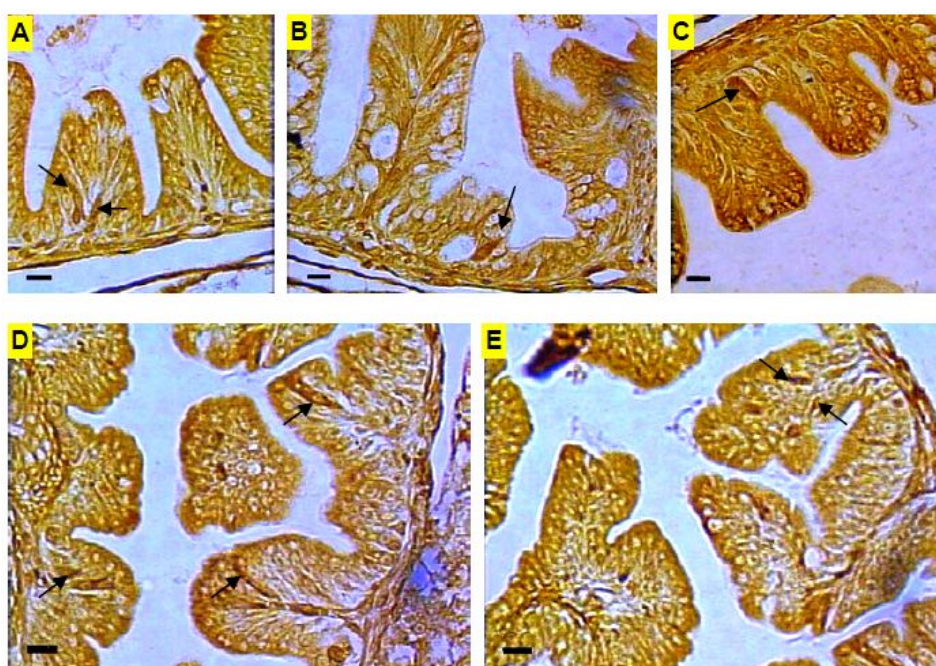


FIGURA 1. Intestino médio das larvas de piracanjuba *Brycon orbignyanus*, 172h após eclosão. Secções sagitais, Grimelius. (A,B,E) Porção anterior; (C) Porção mediana; (D) Porção posterior do intestino médio. Setas = Células endócrinas argirófilas. Barras = 10µm. Fonte: Autores (2018)

Conforme Helander e Fandriks (2012) e Vigliano et al. (2011), as células endócrinas possuem uma morfologia típica, formato triangular, com núcleo arredondado ou oval que pode estar posicionado no centro ou na base da célula. Resultados semelhantes foram também constatados no intestino de robalo (*Dicentrarchus labrax*) na fase larval entre cinco aos 15 dias após a eclosão (GARCIA HERNANDEZ et al., 1994). O aparecimento precoce de tais células, juntamente com a estruturação do controle nervoso, é essencial para o início da regulação dos processos digestivos nesta fase inicial de desenvolvimento (CASTRO et al., 2002; TAKEI; LORETZ, 2011).

As células endócrinas argirófilas são classificadas morfológicamente em “abertas”, devido ao contato com a superfície do epitélio intestinal, e “fechadas”, porque seu ápice não alcança a superfície deste epitélio (SANTOS; ZUCOLOTO, 1996; CARDOSO, 2013). As células endócrinas presentes no epitélio intestinal das larvas de piracanjuba foram consideradas do tipo aberto, pois atingiram o lume intestinal através de um prolongamento citoplasmático (Figura 1B, 1C, 1D). Estes achados iniciais estão de acordo com os encontrados nos intestinos médio e posterior em exemplares adultos de piracanjuba (SEIXAS FILHO et al., 2001). A presença de grânulos dispersos no citoplasma das células endócrinas e o contato citoplasmático com o lume intestinal permitem inferir que há estimulação química específica provinda do lume intestinal necessária para a produção e liberação e, ou inibição das secreções presentes nos grânulos (TAKEI; LORETZ, 2011). Dessa forma, pode-se inferir que a mucosa intestinal de piracanjuba nos estágios entre o sexto e sétimo dia após a eclosão, era capaz de produzir peptídeos necessários para a regulação dos processos digestivos.

Por outro lado, até às 172 horas após a eclosão, ainda não haviam sido encontradas células argirófilas no estômago, reto e cecos pilóricos, pâncreas e fígado das larvas de piracanjuba. A ausência destas células nas demais regiões do tubo digestório e órgãos anexos está relacionada aos diferentes padrões morfológicos de desenvolvimento (BEERLI et al., 2004; NASCIMENTO et al., 2010), que no caso da espécie *B. orbignyana*, ainda não houve metamorfose completa necessária para a funcionalidade da mucosa gástrica e os demais outros órgãos relacionados ao trato digestório.

CONCLUSÃO

O surgimento de células endócrinas no intestino de larvas de piracanjuba demonstrou funcionalidade inicial do trato digestório entre 148 horas (6º dia) e 172 horas (7º dia) após a eclosão, indicando ser este um momento chave para interferências nutricionais durante cultivo, o que pode contribuir com a redução na mortalidade, o aumento da produtividade e consequentemente diminuição dos custos de produção.

AGRADECIMENTOS

À Companhia Energética de Minas Gerais (CEMIG) e sua equipe técnica, pela essencial colaboração com a doação do material biológico, primando pela preservação da fauna e do ecossistema aquático. Aos professores, Clóvis Andrade Neves, Sérgio da Mata e Sirlene Rodrigues, do Laboratório de Biologia Estrutural do DBG/UFV, pelo auxílio na confecção das lâminas histológicas. À Prof^a Dra Rita Flávia Miranda de Oliveira do Departamento de Zootecnia da UFV, pelo empréstimo de seu laboratório e equipamentos para a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

BEERLI, E.L.; LOGATO, P.V.R.; FREITAS, R.T.F. Alimentação e comportamento de larvas de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 1, p. 149–155, 2004. DOI: 10.1590/S1413-70542004000100020.

BRASIL, 2014. Portaria MMA nº 445/2014. Brasília: Ministério do Meio Ambiente. 2014.

CARDOSO, N.N. **Aspectos histológicos, histoquímicos e imunohistoquímicos do tubo gastrointestinal de *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758) nos Reservatórios: do Funil, Santa Cecília e Ilha dos Pombos**. 62f. Dissertação de Mestrado em Biologia Animal. Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013. Disponível em: <<http://www.ufrrj.br/posgrad/cpgba/teses.html>>.

CASTRO, E.F. **Estudos histológico, histoquímico e histoquantitativo de células endócrinas do estômago e intestino médio de peixes (Teleostei) de água doce, com diferentes hábitos alimentares**. 103f. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, MG, 2002. Disponível em: <<http://www.locus.ufv.br/handle/123456789/10592>>.

CASTRO, E.F.; FONSECA, C.C.; MENIN, E.; NEVES, M.T.D. Caracterização histológica e detecção de células endócrinas no estômago de peixes de água doce, com diferentes hábitos alimentares. **Biotemas**, v.16, n.2, p.105-130, 2003. Disponível em: < <https://periodicos.ufsc.br/index./biotemas/article/view/22037/19977>>.

CASTRO, E.F.; FONSECA C.C.; MENIN E. Identificação de células endócrinas do aparelho digestório de *Prochilodus marggravii* Walbaum, 1792 (Pisces, Teleostei, Characiformes, Prochilodontidae). **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar**, v.5, n.1, p.71-78, 2002. DOI: <https://doi.org/10.25110/arqvet.v5i1.2002.749>.

ÇINAR, K.; DILER, A. Immunohistochemical localization of glucagon, substance-P and vasoactive intestinal peptide in gastrointestinal tract mucosa of zander. **Journal of Fish Biology**, v.60, n.2, p. 319-327, 2002. DOI: 10.1111/j.1095-8649.2002.tb00282.x

ESCHMEYER, W.N.; FONG, J.D. **Catalog of Fishes**. <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp> (hlavní strana katalogu) <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp> (po ty durh vjednotlivých eledích). Acesso em: Online Version, Updated 1 March 2017.

FORNARI, D.C.; STREIT JR, D.P.; BOTTA TONISSI, L.; APARECIDO POVH, J.; NARDEZ SIROL, R.; PEREIRA RIBEIRO, R. Crioprotetores para o resfriamento de embriões de piracanjuba *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1850) **Semina: Ciências Agrárias**, v.35, n.4, p.2809-2816, 2014. DOI: 10.5433/1679-0359.2014v35n4Suplp2809.

GARCIA HERNANDEZ, M.P.; LOZANO, M.T.; AGULLEIRO, B. Ontogeny of some endocrine cells of the digestive tract in sea bass (*Dicentrarchus labrax*): An immunocytochemical study. **Cell and Tissue Research**, v.277, n.2, p.373-38, 1994. DOI: 10.1007/BF00327785.

GRIMELIUS, L.; WILANDER, E. Silver stains in the study of endocrine cells of the gut and pancreas. **Investigative & Cell pathology**, v.3, n.1, p.3-12, 1980.

GRUBE, D. The endocrine cells of the digestive system: amines, peptides, and modes of action. **Anatomy and Embryology**, v.175, n.2, p.151-162, 1986. DOI: 10.1007/BF00389591.

HELANDER, H.F.; FANDRIKS, L. The enteroendocrine “letter cells”-time for a new nomenclature? **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v.47, n.1, p.3-12, 2012. DOI: 10.3109/00365521.2011.638391.

HERNÁNDEZ, D.R.; VIGLIANO, F.A.; SÁNCHEZ, S.; BERMÚDEZ, R.; DOMITROVIC, H.A.; QUIROGA, M.I. Neuroendocrine system of the digestive tract in *Rhamdia quelen* juvenile: An immunohistochemical study. **Tissue and Cell**, v.44, n., p.220-226, 2012. DOI: 10.1016/j.tice.2012.03.005.

HONJI, R.M.; TOLUSSI, C.E.; CANEPPELE, D.; POLAZ, C.N.M.; SILVA, A.W.; HILSDORF, A.W.S.; MOREIRA, R.G. Biodiversidade e conservação da ictiofauna ameaçada de extinção da bacia do rio Paraíba do Sul. **Revista da Biologia**, v. 17, n. 2, p. 18-30, 2017. DOI: 10.7594/revbio.17.02.05.

LOPERA-BARRERO, N.M.; REYES ALVAREZ, C.A.; RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, M.P.; APARECIDO POVH, J.; VARGAS, L.; STREIT JÚNIOR, D.P.; NARDEZ SIROL, R.; PEREIRA RIBEIRO, R. Diversidade genética e paternidade de progênes de *Brycon orbignyanus* obtidas por diferentes sistemas reprodutivos **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p.541-554, 2014. DOI: 10.5433/1679-0359.2014v35n1p541.

LUZ, R.K. Resistência ao estresse e crescimento de larvas de peixes neotropicais alimentadas com diferentes dietas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 1, p. 65–72, 2007. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/pab/v42n1/09.pdf> >.

MIN, H.E.; KAI-YU, W.; YU, Z. Immunocytochemical Identification and Localization of Diffuse Neuroendocrine System (DNES) Cells in Gastrointestinal Tract of Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*). **Agricultural Sciences in China**, v.8, n.2, p. 238-243, 2009. DOI: 10.1016/S1671-2927(09)60032-8.

NASCIMENTO, L.S.; MACIEL, C.M.R.R.; CORREIA, M.A.; MACIEL JÚNIOR, A. Desenvolvimento da região cefálica de *Piaractus mesopotamicus* (holmberg, 1887) e *Brycon orbignyanus* (valenciennes, 1849) (characiformes, characidae). **Enciclopédia Biosfera**, v.6, n.11; p. 1-10, 2010. Disponível em: < <http://www.conhecer.org.br/enciclop/2010c/desenvolvimento%20da%20regiao.pdf>>.

OLIVEIRA, D.J.; ASHIKAGA, F.Y.; FORESTI, F.; SENHORINI, A. Conservation Status of the “Piracanjuba” *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1850) (Characiformes, Bryconidae): Basis for Management Programs. **Biodiversidade Brasileira**, v.7, n.1, p. 18-33, 2017. ISSN: 2236-2886. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/veristaeletronica/index.php/BioBR/issue/view/44>>.

PEREIRA, R.T. **Características imunofenotípicas de gastrina, colecistoquinina, neuropeptídeo Y e peptídeos relacionados ao gene da calcitonina no sistema digestório do dourado *Salminus brasiliensis***. 96f. Dissertação (Mestrado) –

Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras, MG. 2012. Disponível em: <<http://repositorio.ufla.br/jspui/handle/1/1141>>.

RAY, A.K.; RINGØ, E. The Gastrointestinal Tract of Fish. In: Merrifield, D.; Ringø, E. (Eds), **Aquaculture Nutrition** The multifunctional gut of fish. San Diego: Elsevier Inc., p. 1–55, 2014.

ROTILI, D.A. **Esteróides sexuais em piracanjuba (*Brycon orbignyanus*)**. 2018. 110f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. 2018. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10183/17925>>.

SANTOS, G.C.; ZUCOLOTO, S. Células endócrinas gastrointestinais. **Arquivos de Gastroenterologia**, v.33, p.36-44, 1996.

SCHONHOFF, S.E.; GIEL-MOLONEY, M.; LEITER, A.B. Minireview: development and differentiation of gut endocrine cells. **Endocrinology**, v.145, n.6, p.2639-2644, 2004. DOI: 10.1210/en.2004-0051.

SEIXAS FILHO, J.T.; FONSECA, C.C.; OLIVEIRA, M.G.A.; DONZELE, J.L.; MENIN, E. Determinação do sistema endócrino difuso nos intestinos de três Teleostei (Pisces) de água doce com hábitos alimentares diferentes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1403-1408, 2001. DOI:10.1590/S1516-35982001000600003.

SILVA CARMO, F.M.; POLO, E.M.; SILVA, M.A.; YAZBECK, G.M. Optimization of heterologous microsatellites in piracanjuba. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.50, n.12, p.1236-1239, 2015. DOI: 10.1590/S0100-204X2015001200015

YOUSSON, J.H.; AL-AHROUKI, A.A.; NAUMOVSKI, D.; CONLON, J.M. The endocrine cells in the gastroenteropancreatic system of the bowfin, *Amia calva* L.: An immunohistochemical, ultrastructural, and immunocytochemical analysis. **Journal of Morphology**, v. 250, n. 3, p. 208–224, 2001. Doi:10.1002/jmor.1066.

TAKEI, Y.; LORETZ, C.A. The gastrointestinal tract as endocrine/ neuroendocrine/ paracrine organ: organization, chemical messengers and physiological targets. In: M. GROSELL, A. P. FARRELL, & C. J. BRAUNER (Eds). **The multifunctional gut of fish**. San Diego: Elsevier Inc., p. 261–317,2011.

VIGLIANO, F.A.; MUÑOZ, L.; HERNÁNDEZ, D.; CERUTTI, P.; BERMÚDEZ, R.; QUIROGA, M.I. Immunohistochemical study on the gut neuroendocrine system of juvenile pejerrey (*Odontesthes bonariensis*). **Journal of Fish Biology**, v. 78, p. 901-911, 2011. DOI:10.1111/j.1095-8649.2011.02912.x.

ZARDO, E.L. **Diferenciação sexual, estrutura populacional e ciclo reprodutivo de piracanjubas (*Brycon orbignyanus*) sob condições de cultivo**. 118 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. 2018. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10183/179266>>.