



Substratos para a postura de ovos de kinguios, *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758)

Substrates to spawning of goldfish, Carassius auratus (Linnaeus, 1758)

F. Queiróz-Silva^{1,4}, E. Romagosa¹, H. Amaral Júnior³, M.I. Borella⁴

¹Instituto de Pesca, APTA, São Paulo, SP, Brasil.

²Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), Florianópolis, SC, Brasil.

³Laboratório de Ciências Biomédicas, USP, São Paulo, SP, Brasil.

⁴Correspondência: fernanda.qs@hotmail.com

Resumo

Dez grupos (uma fêmea e dois machos) foram mantidos em caixas plásticas com substratos: natural, aguapé (A) e artificial, *kakaban* (K), obtendo-se 109 (A) e 70 (K) posturas ($P < 0,05$), fecundidade 4 a 97 (A) e 8 a 716 (K) ($P < 0,05$), 1 a 46 (A) e 1 a 86 (K) dias entre as posturas ($P < 0,05$). Quantificaram-se distintas fases de desenvolvimento dos ovócitos entre os substratos: cromatina-nucléolo, perinucleolar, alvéolo cortical, vitelogenese, maduro e folículos pós-ovulatórios, exceto atresia. A fecundidade foi superior nos peixes mantidos em *kakabans*, indicando-o como substrato ideal para desovas.

Palavras-chave: aguapé, desova parcelada, *kakaban*, ovos aderentes.

Abstract

Ten groups (one female and two males) were kept in plastic boxes with substrates: natural, aquatic vegetation (A) and artificial *kakaban* (K), obtaining 109 (A) and 70 (K) postures ($P < 0.05$), fecundity 4-97 (A) and 8-716 (K) ($P < 0.05$), 1 to 46 (A) and 1 to 86 (K) days between the postures ($P < 0.05$). It was quantified the different development stages of oocytes of the substrates in chromatin-nucleolus, perinucleolar, cortical alveoli, vitellogenesis, mature and post-ovulatory follicles, except atresia. Fertility was higher in fish kept in *kakabans*, indicating it as an ideal substrate for spawning.

Keywords: adherents eggs, aquatic vegetation, *kakaban*, parcel spawn.

Introdução

A piscicultura ornamental destaca-se como um valioso recurso, sendo uma atividade em constante crescimento, apesar das lacunas de informações sobre as variedades ainda existentes (Food and Agriculture Organization - FAO, 2009).

Um dos principais requisitos para o desenvolvimento da piscicultura industrial sustentável é a habilidade dos peixes em atingirem a gametogênese, a maturação e a desova quando mantidos em cativeiro (Mañanós et al., 2008). Em geral, nos ciprinídeos a liberação de gametas pode ocorrer de forma espontânea ou artificial por meio de indução hormonal, especialmente, em tanques ou corpos d'água naturais (Kobayashi et al., 2002; Li et al., 2008; Nadzialek et al., 2008).

Neste estudo, a espécie escolhida foi *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758), denominada popularmente como kinguio, peixe japonês ou dourado (português) e *goldfish* (inglês; FAO, 2009).

No momento da liberação dos ovócitos, os kinguios necessitam de substratos, pois seus ovos apresentam substância aderente que os fixa em plantas aquáticas de raízes longas, como *Eichhornia crassipes* (Vazzoler, 1996), ou em substratos artificiais, quando mantidos em cativeiro (Pereira, 1979), como ocorre com outras carpas (Kobayashi et al., 2002). Outro substrato também utilizado em unidades produtivas mais simples é o *kakaban*, fabricado manualmente com feixes de capim seco, galhos de *pinus* ou até mesmo de material sintético, apropriado por possuir maior durabilidade e, portanto, ser reutilizado em vários ciclos reprodutivos (Tamassia et al., 2004).

A procura por parte de pequenos criadores da região catarinense por informações viáveis de como criar peixes ornamentais e a escassez de relatos científicos referentes a sua produtividade despertaram o interesse deste estudo em kinguios em condições laboratoriais, tendo como objetivo verificar qual o substrato mais indicado (natural ou artificial) a ser utilizado para sua postura, bem como quantificar a sua fecundidade. Paralelamente, alterações morfológicas e o número de células germinativas nas distintas fases de desenvolvimento dos ovócitos foram caracterizados histologicamente e associados aos valores do índice gonadossomático ao final do período reprodutivo. Com base nas respostas, pretendeu-se subsidiar melhorias para a exploração comercial da espécie.

Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido com criadores de kinguios, *Carassius auratus*, com 12 meses de idade, cujos valores médios iniciais do comprimento padrão e peso total foram de $81,55 \pm 4,86$ mm e $41,21 \pm 4,43$ g, respectivamente. Estes foram mantidos no laboratório do Campo Experimental de Piscicultura de Camboriú, CEPC, sede da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural, EPAGRI, município de Camboriú, Santa Catarina, durante o período de setembro de 2007 a março de 2008.

Grupos de uma fêmea e dois machos de kinguios foram mantidos em caixas plásticas (70 x 55 x 40 cm, 100 L), perfazendo um total de dez grupos, individualizados. Dois tipos de substratos foram utilizados, sendo inserido em cinco caixas o natural, aguapé (A), e, nas outras cinco, o artificial, *kakaban* (K). O substrato (A) manteve-se restrito em círculos de borracha ($\sigma = 15$ cm), e o (K) foi confeccionado em uma grade de plástico (20 x 20 cm), ramos de dez fitilhos verdes (20 cm) distribuídos em três fileiras e colunas (Fig. 1A e B). A renovação da água, oriunda de poço artesiano, foi constante.

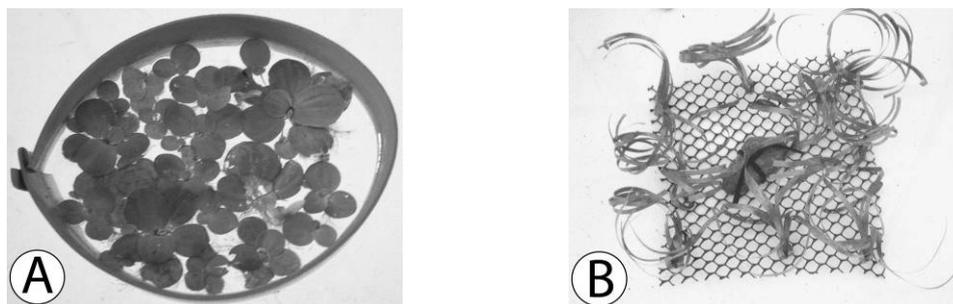


Figura 01: Caixas plásticas com substratos: (A) natural, aguapé e (B) artificial, *kakaban*.

Os kinguios foram alimentados com ração comercial triturada com 40% de proteína bruta, *ad libitum*, duas vezes ao dia (9 e 17 h).

Routineiramente, pelas manhãs, os peixes foram observados para verificar a ocorrência de desovas. Os ovos foram avaliados entre 12 e 24 horas após a liberação, sendo que estes se apresentavam transparentes, enquanto os ovócitos não fertilizados eram opacos.

Em novembro de 2007, após verificar a diminuição do número de desovas na primeira quinzena, os machos foram retirados até o final do mês para a recuperação (pausa) das fêmeas.

No final do experimento, março de 2008, os kinguios foram anestesiados em solução alcoólica de benzocaína (2 g:150 mL) em 20 L de água, abatidos e dissecados. As gônadas foram pesadas, fixadas em formol tamponado (24 h), e a porção mediana foi submetida a técnicas rotineiras de histologia. Os cortes (5 μ m) foram corados em hematoxilina-eosina, identificados e fotografados no Laboratório de Endocrinologia de Peixes, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, SP.

As distintas fases de desenvolvimento dos ovócitos foram identificadas segundo Romagosa (1998). Para a quantificação, foi padronizada uma pequena área circular (5,12 mm²) demarcada em uma lamínula, que era sobreposta à lâmina com o corte do ovário. O aumento utilizado para a contagem foi de 2,5X e as contagens foram feitas no próprio microscópio. O número total de campos selecionados foi de 40 para cada tipo de substrato, e para cada fêmea foram selecionadas aleatoriamente dez pequenas áreas, uma para cada fragmento dos ovários, perfazendo o total de quatro fêmeas por tipo de substrato (número total de campos = 80). Caso o ovócito não estivesse pelo menos 50% dentro do campo era excluído da contagem. Para evitar possíveis erros na quantificação, foi empregado o seguinte critério: ovócitos na fase I + II (cuja diferenciação não foi possível), fase I (cromatina-nucleólo), fase II (perinucleolar), fase III (alvéolo cortical), fase IV (início de vitelogênese), fase V (maduro), fase VII (folículo pós-ovulatório) e fase VII (atrésico). Nas duas primeiras fases (cromatina-nucleólo e perinucleolar), a estrutura visualizada foi o núcleo e a disposição dos nucleólos, entretanto, quando não foi possível observar estas estruturas, considerou-se ovócitos na “fase I + II”.

O índice gonadossomático (IGS) foi expresso pelo percentual da razão entre o peso dos ovários (Po, g) e o peso total (Pt, g) de cada indivíduo e suas respectivas médias, em ambos os substratos, segundo metodologia de Bjerselius et al. (2001).

Para verificar se houve diferenças significativas entre os parâmetros estudados, foi utilizado o teste “t” de Student ($\alpha = 0,05$; Zar, 2009).

Resultados e Discussão

Neste estudo, foram constatadas as primeiras desovas durante o 14º ao 30º dias após a formação dos grupos experimentais. Provavelmente este longo período foi devido à adaptação dos peixes ao novo ambiente.

Para cada substrato, foram obtidas 109 posturas (A) e 70 (K), variando para cada fêmea de 18 a 26 (A) e de 7 a 20 (K; $P < 0,05$). Foram constatados aumentos no número de desovas em ambos os substratos, sendo superiores nos aguapés. O mês em que ocorreu a maior incidência de desovas foi janeiro de 2008, 5,8 (A) e 4,2 (K) desovas, e nos meses subsequentes, houve uma queda, indicando o final do ciclo reprodutivo. Em março de 2008, este número mostrou-se praticamente constante, 2,8 (A) e 2,4 (K) desovas, entretanto os ovos apresentavam-se inviáveis (não fertilizados). Evidenciou-se que o período reprodutivo dos kinguios ocorreu durante o período primavera-verão e, geralmente, a liberação de ovócitos ocorria durante a madrugada e o início da manhã. Estes resultados assemelham-se aos de Beach (1959) e Kobayashi et al. (2002), ambos em *goldfish*.

O número de ovócitos liberados por fêmea, a cada postura, variou de 4 a 97 (A) e 8 a 716 (K), e a fecundidade foi de 509 a 815 (A) e 326 a 3.240 (K), havendo diferenças significativas entre as características avaliadas ($P < 0,05$). Os maiores valores médios de fecundidade foram registrados em janeiro de 2008 para os dois sistemas, 167,4 (A) e 518 (K) ovócitos. No entanto, nos *kakabans*, notaram-se duas modas bem definidas, outubro de 2007, 314,4 ovócitos liberados e janeiro de 2008, acima citado. Pôde-se observar um aumento expressivo após o mês de novembro, provavelmente atribuído à recuperação dos peixes nos meses subsequentes.

É importante salientar que os kinguios alimentavam-se das raízes dos aguapés ou mesmo dos ovos, mascarando, assim, a contagem do número de ovócitos, pois, conforme Froese e Pauly (2009), as plantas aquáticas fazem parte da dieta desses peixes. Portanto, esporadicamente, houve necessidade da substituição dos aguapés.

O intervalo entre as desovas dos kinguios variou de um a 46 (A) e de um a 86 dias (K), mostrando diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os substratos, onde as fêmeas dos aguapés desovaram, em média, em oito dias, e as dos *kakabans* em 13. Segundo McEvoy e McEvoy (1992), pouco se sabe sobre a regulação do intervalo entre as ovulações, mas parece estar relacionada à temperatura da água e, também, ao comportamento de corte dos machos. Os machos de kinguios nos aguapés mostraram-se mais agressivos e com comportamento reprodutivo de perseguição mais evidente. Bessert et al. (2007) afirmaram, ainda, que a utilização de diferentes tipos de substrato tende a aumentar a competição entre os machos de *Pimephales promelas* (Cyprinidae). Bieniarz et al. (1979) mostraram que não existe relação entre a temperatura da água e o momento das ovulações em carpas. Neste experimento, parece não ter havido relação entre a temperatura da água e o número de desovas, bem como entre os intervalos de desovas que se mostraram distintos, pois a temperatura da água que abastece o laboratório, em ambos os sistemas, foi constante ($T = 23 \pm 2^\circ\text{C}$).

Exemplares de kinguios apresentaram padrões anatômicos e histomorfológicos dos folículos ovarianos similares aos de outros ciprinídeos (Beach, 1959; Selman et al., 1993). Observaram-se ovários pares, alongados e saciformes, presos à bexiga gasosa pelo mesovário, fundindo-se na região caudal, formando um único ducto, que se abre na papila urogenital. Na fase em que as fêmeas se encontravam, seus ovócitos eram de cor amarela, característica também descrita por McMillan (2007).

A evolução da morfologia ovariana aqui descrita foi similar à descrita por Beach (1959) para *goldfish*, porém a classificação utilizada foi de Romagosa (1998), adaptada para kinguios. Foi possível visualizar que as lamelas ovulíferas dos kinguios apresentavam células germinativas nas diferentes fases de maturação (Fig. 2A), organizadas de maneira aleatória, em dois estágios: o primário: cromatina-nucleolar - Fig. 2B e perinucleolar - Fig. 2C; e o secundário: alveólo cortical - Fig. 2D e 2E, vitelogênese - Fig. 2F, maduro - Fig. 2G e 2H. A ovulação envolve ovócitos liberados, folículos pós-ovulatórios (FPO; Fig. 3), indicando a ocorrência de desova anterior, bem como folículos atrésicos (degeneração ovocitária; Fig. 4), fases típicas da maioria dos teleósteos de água doce que apresentam desenvolvimento assíncrono ou desova parcelada (Vazzoler, 1996).

Nos ovários observou-se, no estágio de crescimento primário, a presença de diminutos ovócitos poligonais (Fig. 2A, 2B, 2C), semelhantes aos descritos por Beach (1959). Em seguida, no estágio de crescimento secundário, caracterizado pelo aparecimento de inclusões citoplasmáticas, foram observados alveólos corticais na periferia da célula, de aspecto vacuolado, esféricos, não corados, como mencionado por Beach (1959; Fig. 2D e 2E). O citoplasma aumentou de tamanho consideravelmente, devido à incorporação do vitelo exógeno, denominada de vitelogênese (Fig. 1F), com a formação de grânulos de vitelo arredondados e estriações radiais (zona radiata) e uma camada mais desenvolvida (pelúcida ou granulosa; McMillan, 2007). A zona radiata de carpa comum, *C. carpio*, é sintetizada nos ovários, diferindo, portanto, da maioria dos teleósteos que a sintetizam no fígado, porém este mecanismo ainda é bastante discutido (Modig et al., 2007).

Nos ovócitos maduros, o núcleo se posiciona, geralmente, na parte central, a membrana nuclear desaparece e o material nuclear se dispersa pelo citoplasma, raramente encontrando-se fragmentos de nucléolos, similares às características descritas por Beach (1959). Segundo Beach (1959) e Yaron (1995), na carpa comum a maturação final dos ovócitos ocorre pouco tempo antes da ovulação, quando o núcleo ou vesícula germinativa migra para o polo animal. O mesmo fato foi observado neste estudo para kinguios (Fig. 2G). Podem-se, também, visualizar grânulos de vitelo de diferentes formas, arredondados, elípticos, semelhantes aos relatados por Selman et al. (1993) para ciprinídeos. A zona radiata torna-se mais espessa do que na fase anterior (Fig. 2H).

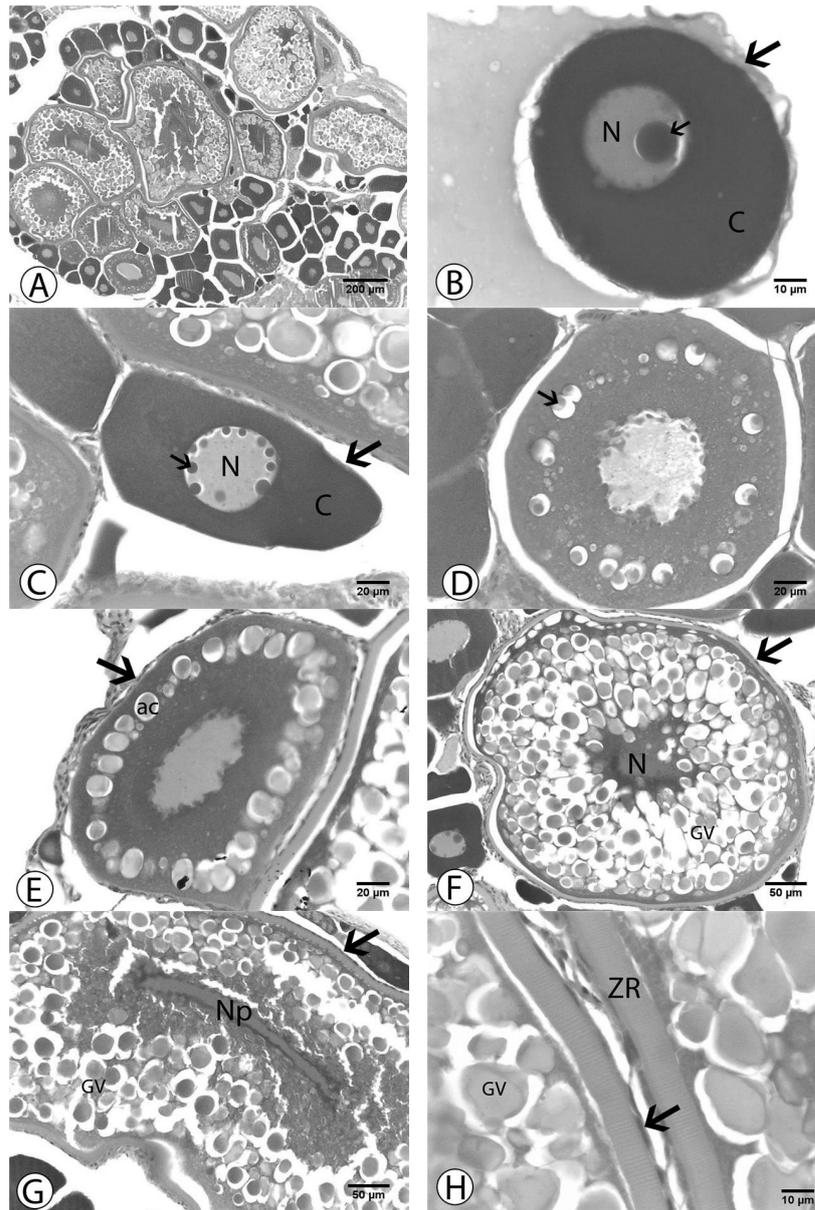


Figura 2: Ovócitos de *Carassius auratus*. A. Vista geral; B. Cromatina-nucleólo (nucleólo = seta; núcleo = N; citoplasma = C, membranas = seta maior); C. Perinucleolar (nucleólo = seta menor; núcleo = N; citoplasma = C; membranas = seta maior); D. Alvéolo cortical (seta); E. Alvéolo cortical (= ac; membranas = seta); F. Vitelogênese (núcleo = N; grânulos de vitelo = GV; membranas = seta); G. Maduro (núcleo periférico = Np; grânulos de vitelo = GV; membranas = seta); H. Envoltório folicular (grânulos de vitelo = GV; zona radiata = ZR; camada folicular = seta).

Os reprodutores de kinguios desovam espontaneamente mesmo quando mantidos em laboratórios, tanques, viveiros ou represas (Mañanós et al., 2009). É possível identificar se ocorreu a ovulação pela presença de FPO, cujas membranas das células foliculares (granulosa) encontram-se dobradas e contorcidas, e observa-se, também, a presença do lume (Fig. 3). Esta camada se contrai e, segundo Romagosa (1998), será invadida por células fagocitárias do estroma ovariano, sendo então absorvida.

Durante o processo acima descrito, pode ocorrer a degeneração dos folículos imaturos, sendo, geralmente, bastante rápida, com hipertrofia da zona granulosa, comum em kinguios durante todo o ano, porém mostrando-se mais evidente ao final do verão (Beach, 1959). Tal degeneração pode ocorrer também em folículos nas fases de vitelogênese ou madura, caracterizadas por alterações no volume e na coloração dos ovários. Além disso, pode haver presença de grânulos de vitelo disformes ou alongados, contorno celular irregular, invaginações ou liquefação do citoplasma e fusão das camadas do envoltório folicular (Fig. 4), características

constatadas também por Volodin et al. (1974) e Blazer (2002). Entretanto, neste trabalho, optou-se pela classificação preconizada por Andrade (1992), caracterizando esses ovócitos nas seguintes fases: (1) inicial, ondulado e grânulos de vitelo disformes ou alongados, contorno celular irregular, invaginações ou liquefação do citoplasma e fusão das camadas do envoltório folicular (Fig. 4); (2) intermediária, células foliculares atrofiadas, zona radiata fragmentada sem estriações radiais e (3) final, células foliculares desaparecem, restando um aglomerado de grânulos de vitelo com pigmentos castanho-amarelados, caracterizados pela presença de núcleos picnóticos.

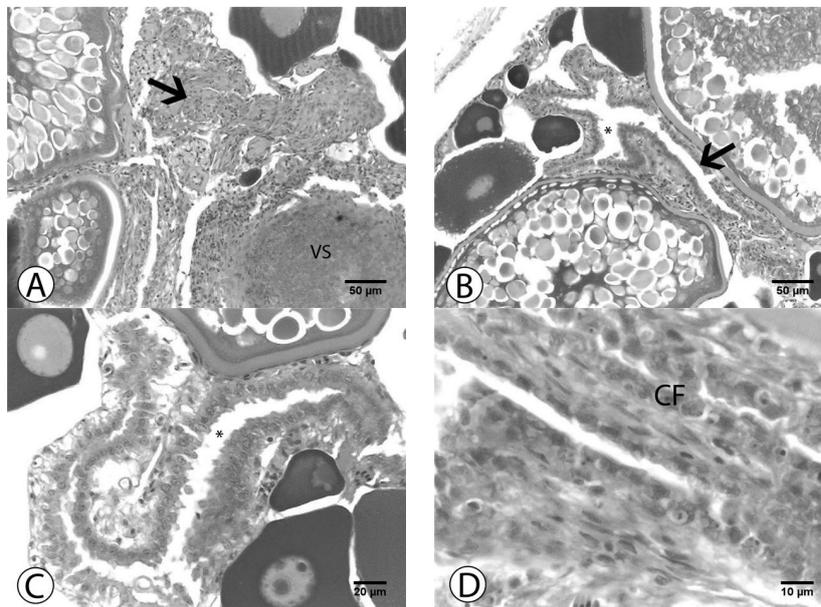


Figura 3: Folículos pós-ovulatórios (FPO) de *Carassius auratus*. A. enovelados (setas; vaso sanguíneo = VS); B. cordão irregular de células foliculares (seta) e lume vazio (*); C. reentrâncias e redução do lume (lume = *); D. camadas foliculares (= CF)

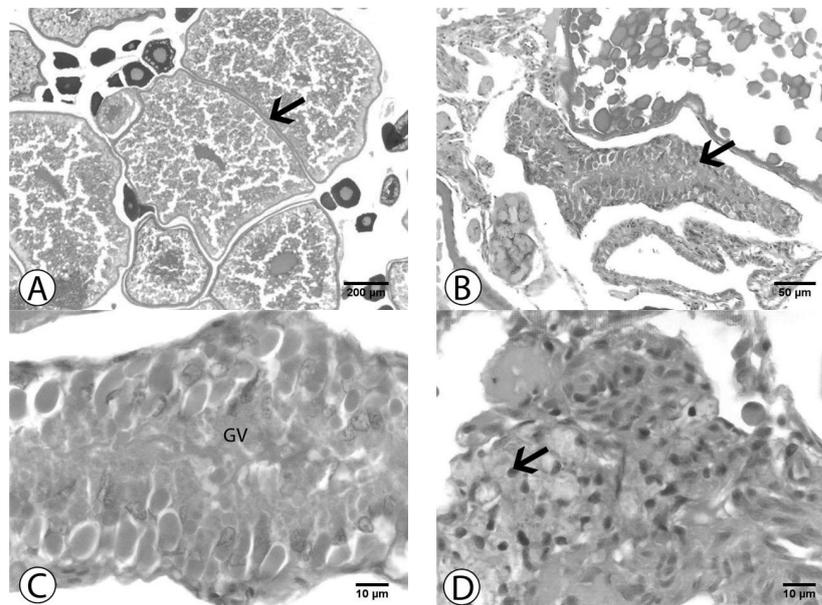


Figura 4: Ovócitos atréticos de *Carassius auratus*. A. Inicial (seta); B. Intermediária (seta); C. Detalhe da figura anterior; D. Final, presença de núcleos picnóticos (seta)

Por meio da quantificação das fases de desenvolvimento dos ovócitos, foi possível constatar que houve diferença significativa ($P < 0,05$), exceto para os ovócitos atréticos ($P > 0,05$; Fig. 5).

As duas primeiras fases (cromatina-nucleolar e perinucleolar), quando somadas, representaram valores superiores à metade dos ovócitos quantificados, 64% (A) e 58% (K). De acordo com Bieniarz et al. (1979), em

carpas, há um desenvolvimento gradual no processo de reabsorção dos ovócitos depois de completa a vitelogênese, no qual o estoque de ovócitos vai sendo progressivamente substituído por ovócitos nos estádios menos avançados de desenvolvimento.

As diferenças encontradas entre o número de FPOs nos diferentes substratos ($P < 0,05$) eram esperadas, pois, durante o experimento, as fêmeas que se encontravam no substrato natural (A) desovaram com maior frequência do que a dos *kakabans*.

Os ovócitos atrésicos nos dois substratos não mostraram diferença significativa ($P > 0,05$; Fig. 5), pois, conforme Beach (1959), o processo de reabsorção dos folículos se mostra evidente no final do verão em *Carassius auratus*. Segundo Glasser et al. (2003), em experimentos realizados com carpa-capim, *Ctenopharyngodon idella*, no estágio final de vitelogênese foi constante a presença de ovócitos atrésicos.

No final do experimento, as taxas de fertilização diminuíram, provavelmente devido ao fato de as fêmeas já se encontrarem no início do processo de regressão ovariana. Pode-se observar, também, que não ocorria mais a fertilização dos ovócitos, o que, a princípio, pareceu significar que a produção de espermatozoides havia cessado. Porém, histologicamente, os testículos apresentavam-se ainda repletos de espermatozoides (março de 2008), confirmando, portanto, que os ovócitos se encontravam na fase de atresia, sendo, assim, impossível de serem fertilizados. Segundo Cole et al. (1999), os machos de *goldfish* estão aptos à fertilização, uma vez que as fêmeas estejam receptivas, e Mañanós et al. (2009) acreditam que a espermição em carpas ocorre o ano inteiro.

O índice gonadossomático (IGS) foi utilizado como indicador quantitativo da atividade reprodutiva durante o ciclo reprodutivo de fêmeas de kinguios potencialmente ativas (Romagosa, 1998). As fêmeas apresentaram valores médios do IGS de $7,07 \pm 1,73\%$ (A) e $8,26 \pm 2,34\%$ (K), respectivamente. Bjerselius et al. (2001) mostraram valores médios de IGS inferiores ($6,03 \pm 1,05$ e 24 meses de idade), quando comparados aos descritos neste estudo. Constatou-se que os valores do IGS dos *kakabans* foram ligeiramente superiores quando comparados aos dos aguapés, podendo estar relacionados com o maior número de ovócitos presentes na fase madura (K; $P > 0,05$).

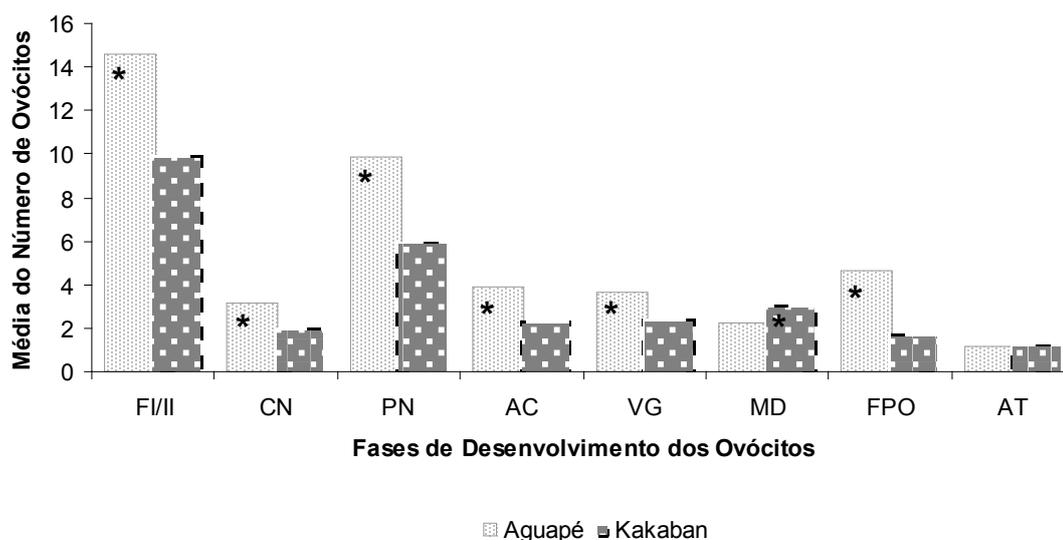


Figura 5: Quantificação das diferentes fases de ovócitos de *Carassius auratus* nos substratos, aguapé e *kakabans*, durante o experimento (FI/II = fase de cromatina-núcleo e perinucleolar, CN = cromatina-núcleo, PN = perinucleolar, AC = alvéolo cortical, VG = vitelogênese, MD = maduro, FPO = folículo pós-ovulatório e AT = atrésico), * $P < 0,05$.

Conclusão

Para *Carassius auratus*, mantidos em condições laboratoriais, foi possível observar que o substrato artificial do tipo *kakaban* mostrou-se mais eficiente do que o natural, aguapé, pois a fecundidade foi superior. A quantificação dos ovócitos nas diferentes fases de desenvolvimento, no final do período de desova, mostrou que os kinguios estão aptos à reprodução de setembro a fevereiro.

Agradecimentos

À Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural, EPAGRI, por ceder as instalações laboratoriais, e ao técnico de apoio à pesquisa, *Leandro Bortoli*, pelo apoio na execução do experimento.



Referências

- Andrade EF.** Fases de degeneração ovocitária e absorção dos folículos pós-ovulatórios de curimatã *Prochilodus scrofa* (Steindachner, 1881), mantido em confinamento. 1992. 49f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) - Fundação Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, 1992.
- Beach AW.** Seasonal changes in the cytology of the ovary and of the pituitary gland of the goldfish. *Can J Zool*, v.37, p.615-625, 1959.
- Bessert ML, Brozek J, Orti G.** Impact of nest substrate limitations on patterns of illegitimacy in the fathead minnow, *Pimephales promelas* (Cypriniformes: Cyprinidae). *J Hered*, v.98, p.716-722, 2007.
- Bieniarz K, Epler P, Thuy L, Kogut E.** Changes in ovaries of adult carp. *Aquaculture*, v.17, p.45-68, 1979.
- Bjerselius R, Lundsted-Enzel K, Olsén H, Mayer I, Dimberg K.** Male goldfish reproductive behavior and physiology are severely affected by exogenous exposure to 17 β -estradiol. *Aquat Toxicol*, v.53, p.139-152, 2001.
- Blazer VS.** Histopathological assessment of gonadal tissue in wild fishes. *Fish Physiol Biochem*, v.26, p.85-101, 2002.
- Cole B, Kotel P, Haring M.** Spawning and production of the lemon tetra *Hyphessobrycon pulchripinnis*. Manoa, HI: Center for Tropical and Subtropical Aquaculture, 1999.
- Food and Agriculture Organization (FAO).** El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Roma: FAO, 2009.
- Froese R, Pauly D.** FishBase. Disponível em: <<http://www.fishbase.org/Summary/speciesSummary.php?ID=271&genusname=Carassius&speciesname=auratus+auratus/>> Acesso em: 26 mar. 2009.
- Glasser F, Cauty C, Mourot B, Braton B.** Disrupted sexual cycles in female grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) raised in tropical conditions. *Aquaculture*, v.220, p.857-868, 2003.
- Kobayashi M, Sorensen PW, Stacey NE.** Hormonal and pheromonal control of spawning behavior in the goldfish. *Fish Physiol Biochem*, v.26, p.71-84, 2002.
- Li CR, Lee SH, Kim SS, Kim A, Lee KW, Lu M, Kim HE, Kwak IJ, Lee YJ, Kim DK, Lee JS, Kang SW, Huh MD, Chung KH, Park JS.** Environmental estrogenic effects and gonadal development in wild fish goldfish (*Carassius auratus*). *Environ Monit Assess*, v.150, p.397-404, 2008.
- Mañanós E, Duncan N, Mylonas C.** Reproduction and control of ovulation, spermiation and spawning in cultured fish. In: Cabrita E, Robles V, Herraes P (Ed.). *Methods in reproductive aquaculture: marine and freshwater species*. Boca Raton, FL: CRC Press, 2008. p.3-80.
- McEvoy LA e McEvoy J.** Multiple spawning in several commercial fish species and its consequences for fisheries- management, cultivation and experimentation. *J Fish Biol*, v.41, p.125-136, 1992
- McMillan DB.** Fish histology: Female reproductive systems. Amsterdam: Springer Verlag, 2007. 598p.
- Modig C, Westerlund L, Olsson PE.** Oocyte zona pellucida proteins. In: Babin PJ, Cerdá J, Lukzens E (Ed.). *The fish oocyte: from basic studies to biotechnological applications*. Amsterdam: Springer Verlag, 2007. p.113-140.
- Nadzialek S, Spanó L, Mandiki SNM, Kestemont P.** High doses of atrazine do not disrupt activity and expression of aromatase in females gonads of juvenile goldfish (*Carassius auratus* L.). *Ecotoxicology*, v.17, p.464-470, 2008.
- Pereira R.** Como cuidar de seu aquário. Rio de Janeiro: TecnoPrint, 1979. 158p.
- Romagosa E.** Desenvolvimento gonadal (morfologia; ultraestrutura) e indução da reprodução do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) em cativeiro Vale do Ribeira, São Paulo. 1998. 212f. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, 1998.
- Selman K, Wallace RA, Sarka A, Qi X.** Stages of oocyte development in the zebrafish, *Brachydanio rerio*. *J Morphol*, v.218, p.203-224, 1993.
- Tamassia STJ, Graeff STJ, Schappo CL, Appel H, Amaral J, Casaca J, Kniess V, Tomazelli J.** Ciprinicultura: o modelo de Santa Catarina. In: Cyrino JEP, Urbinati EC, Fracalossi DM, Castagnolli N (Ed.). *Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva*. São Paulo: TecArt, 2004. p.267-308.
- Vazzoler AEAM.** Biologia da reprodução de peixes teleosteos: teoria e prática. Maringá: EDUEM, 1996. 169p.
- Volodin VM, Mezhnin FI, Kuz'mina VV.** An experimental study of egg resorption in the bream (*Abramis brama*). *J Ichthyol*, v.14, p.219-229, 1974.
- Yaron Z.** Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. *Aquaculture*, v.129, p.49-73, 1995.
- Zar JH.** Biostatistical analysis. 5.ed. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 2009. 944p.
-