

## Desarrollo embrionario del pez Ángel (*Pterophyllum scalare*)

M. C. Radael<sup>1</sup>, M. Vázquez Vidal Junior, L. D. Solis Murgas<sup>2</sup>, D. da C. Mattos, L. D. Cardoso, J. H. de Souza Motta, M. L. Corrêa Abreu, V. Oliveira Felizardo<sup>2</sup>, D. R. de Andrade

Centro de Ciencia y Tecnología Agrícola - Laboratorio de Ciencia Animal y Nutrición Animal - Universidad Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) - Campos de Goytacazes, RJ, Brasil.  
Recibido Mayo 16, 2013. Aceptado Agosto 07, 2013.

### Embryonic development of Angel fish (*Pterophyllum scalare*)

**Abstract.** The aim of this study was to describe the sequence of the ontogenetic process in *Pterophyllum scalare* and the time required (hours-degrees) for the development of morphophysiological events. The eggs used for this purpose were obtained from natural breeding angelfish (*P. scalare*) derived from brood stock. Samples of eggs were arranged on glass slides and observed under an optical microscope for characterization and identification of embryonic stage, the number of cell divisions and appearance of structures in the eggs. These observations were performed every half hour during the embryonic period and then every hour until hatching. *P. scalare* eggs presented in their entirety lipid droplets. The eggs have adhesive properties and an ovoid yellow coloration when fertilized as opposed to milky white when not fertilized. The standard segmentation observed in embryos of *P. scalare* was of the meroblastic type, and all stages of ontogeny were verified. Hatching occurred 42.5 h post-fertilization, when the incubation temperature was 28°C. The larva, upon hatching, has anus and mouth closed. The yolk reserve is large in newly hatched larvae. In conclusion, the embryonic development of *P. scalare* is similar to that observed in other species of the family Ciclidae.

**Key words:** Egg, Fish, Ontogeny

**Resumen.** El objetivo de este trabajo fue describir la secuencia del proceso ontogénico de *Pterophyllum scalare*, así como el tiempo necesario (horas-grado) para el desarrollo de los eventos morfofisiológicos. Se utilizaron huevos obtenidos por reproducción natural del pez ángel (*P. scalare*), provenientes de la existencia de reproductores. Muestras de los huevos se dispusieron en láminas de vidrio y se observaron bajo microscopio óptico para caracterización e identificación del estadio embrionario con relación al número de divisiones celulares y aparición de las estructuras en los huevos. La observación de la apariencia de los embriones se realizó cada media hora durante el período embrionario y luego cada hora hasta la eclosión. Los huevos de *P. scalare* son de forma ovoides y poseen características adhesivas, presentan en toda su extensión gotas lipídicas y su coloración es amarilla cuando fertilizados y blanco lechoso cuando no fecundados. El estándar de segmentación observado en embriones de *P. scalare* fue del tipo meroblastico, verificándose todos los estadios de su desarrollo ontogénico. La eclosión ocurrió 42.5 h post-fecundación, cuando la incubación se hizo a 28°C. La larva, en el momento de la eclosión, presenta ano y boca cerrados. La reserva de vitelo es grande en las larvas recién eclosionadas. En conclusión, el desarrollo embrionario de *P. scalare* es semejante al observado en las demás especies de la familia Ciclidae.

**Palabras clave:** Huevo, Ontogenia, Peces

### Introducción

El pez Ángel, *Pterophyllum scalare* Lichtenstein (1823), es una especie originaria de la cuenca amazónica y pantanal, y se distribuye entre Perú, Colombia, Guayanas y Brasil. Se destaca, entre las

<sup>1</sup>Autor para la correspondencia, e-mail: marcellaradael@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Departamento de Medicina Veterinaria de la Universidad Federal de Lavras, Lavras;MG, Brasil.

especies ornamentales de peces, por su belleza y popularidad, lo que hace que sea uno de los peces más vendidos (Chapman *et al.*, 1997). Diversas familias se pueden encontrar en el comercio y algunas de ellas fueron desarrollados por productores en Europa, Asia y Estados Unidos de América (Ribeiro y Fernandes, 2008).

En sistemas de producción, el proceso reproductivo del pez Ángel es semejante al natural. A los ocho meses se presentan gónadas desarrolladas y madurez sexual, en condiciones adecuadas de cultivo (Dias y Chellappa, 2003).

Las características sexuales secundarias son evidentes; la hembra posee papila genital con diámetro dos veces mayor que la del macho y, en época reproductiva, el oviducto se proyecta para el exterior en forma de tubo, por donde los óvulos son expelidos. Esta especie presenta huevos adherentes y los reproductores hacen la postura en raíces y hojas sumergidas de plantas acuáticas (Baldisserotto y Gomes, 2005).

Previo a la postura, la hembra limpia con la boca las hojas de las plantas acuáticas o substrato siendo auxiliada por el macho. La postura es de tipo múltiple o parcelada, confirmada por medio de la

distribución de frecuencia relativa del diámetro de los ovocitos (Dias y Chellappa, 2003).

Según Dias y Chellappa (2003), la hembra libera, entre 20 hasta 500 óvulos, en intervalos de 5 a 10 min, los cuales son fecundados por el macho. Posteriormente las larvas quedan adheridas a las hojas. En la etapa de alevines los reproductores hacen otra postura. Generalmente, en un intervalo de 2 a 3 sem, la hembra realiza la postura nuevamente.

Estos estudios son de gran interés por contribuir a la comprensión de la fisiología de la célula germinativa, lo que facilita mejorar la preservación de los gametos, la conservación de la ictiofauna y las técnicas de cultivo (Godinho *et al.*, 2003).

El objetivo de este trabajo fue describir la secuencia del proceso ontogénico de la especie *Pterophyllum scalare*, durante el desarrollo de los embriones así como el tiempo (horas-grado) para el desarrollo de los eventos morfo-fisiológicos. Puesto que la fase inicial es una de las etapas más críticas en los peces, el conocimiento del desarrollo embrionario posibilita una mejor manipulación del tiempo de incubación de la especie y con ello la posibilidad de aumentar la sobrevivencia.

## Materiales y Métodos

Este estudio fue realizado en el Departamento de Acuicultura de la Universidad Estadual del Norte Fluminense - Darcy Ribeiro, en Campos dos Goytacazes - Estado de Rio de Janeiro-Brasil.

Se seleccionaron una pareja de reproductores de pez ángel mantenidos en un acuario de 40 L, con sistema de flujo continuo y filtros biológicos con entrada y salida de agua independiente, a una temperatura de  $28.5 \pm 0.1^\circ\text{C}$ .

Para la ovoposición se depositó en el acuario un substrato de PVC de 30 cm con ángulo de aproximadamente  $45^\circ$ . Se observaron los animales hasta el momento de la postura. Al final de la misma el substrato fue retirado del acuario y 100 huevos fueron colectados con ayuda de pinzas. Posteriormente se dispuso una muestra representativa de 10% de los huevos colectados en láminas de vidrio para ser analizados bajo un microscopio óptico con aumento de 40X y 100X para la caracterización e identificación del estadio embrionario.

Se determinó el estado de desarrollo según la metodología utilizada para *Brycon insignis* (Souza, 2004) y los criterios utilizados para *Misgurnus anguillicandulus* (Fujimoto *et al.*, 2006).

Después de la observación inicial los 100 huevos se transfirieron a un acuario de 40 L

semejante al de los reproductores, denominados incubadoras. Para mantener estable la temperatura, a  $28^\circ\text{C}$  se utilizó un calentador acoplado a un termostato automático. Después de la aclimatación, los huevos fueron acomodados en un colador flotante donde permanecieron durante el período de incubación hasta el momento de la eclosión.

Se observó la apariencia de los embriones cada media hora durante el período embrionario (0 a 24 h después de la fertilización) y cada hora después del período embrionario (24 h pos-fertilización) hasta el momento de eclosión. En dicho proceso, 10 huevos retirados del colador, se colocaron en láminas de vidrio y se observaron bajo microscopio óptico (40X y 100X). Posteriormente se tomaron imágenes con cámaras digital DSC P-200, marca SONY, acoplada a microscopio óptico. Se apuntaron las observaciones en una planilla y posteriormente se transfirieron a un archivo de Excel®. Al final de las observaciones, los huevos se devolvieron al colador. Cada observación fue acompañada del registro de horas-grado correspondiente y los huevos no fertilizados desechados y su cantidad anotada.

Los estadios de desarrollo embrionario se identificaron y caracterizaron a partir del momento en

que 50% de los huevos observados alcanzaron cada estadio.

La determinación de los períodos iniciales de desarrollo siguieron las definiciones de Fujimoto *et al.* (2004), con la segmentación comprendiendo el período de 2 blastómeros hasta 64 blastómeros, alcanzando el periodo de blástula a partir de 128 blastómeros. Las definiciones para determinar los estadios de blástula fueron adaptadas de Fujimoto *et al.* (2006).

Se midió el oxígeno disuelto y la temperatura del agua por medio de un oxímetro y termómetro digitales; y el pH del agua con un medidor digital de pH, cuatro veces al día, a las 6:00, 12:00, 18:00 y 24:00 h.

Al final del experimento se usaron los datos para análisis descriptivo y los eventos descritos de acuerdo con la secuencia en que ocurrieron hasta el momento de la eclosión para determinar la hora-grado correspondiente al surgimiento de cada estructura embrionaria.

## Resultados

Los valores medios de oxígeno disuelto observados variaron de  $5.97 \pm 0.11$  a  $5.15 \pm 0.1032$  mg/L.

Los huevos de *P. scalare* presentaron en toda su extensión numerosas gotas lipídicas, lo que es natural para la familia *Cichlidae*, debido a su origen marino. Los huevos son adhesivos y tienen forma ovoidal, presentan coloración amarilla después de ser fecundados y blanco lechoso cuando no fecundados.

La ovoposición se realizó por la noche (entre las 22:00 y 23:00 h). El estándar de segmentación observada en embriones de *P. scalare* fue del tipo meroblástico, tal como ocurre en otros teleosteos. Los principales estadios observados se presentan en el Cuadro 1.

El período de segmentación es caracterizado por una intensa proliferación celular, seguido por el

período de blástula, en que las divisiones del blastodisco inicialmente deformes inician su organización y evolución de sus bordes sobre la vesícula vitelina. El periodo de gástrula se caracteriza por movimientos de epibolia, donde el movimiento de las células blastodérmicas recubre la masa vitelínica y por la migración de las células más internas del blastodermo que se desplazan dorsal y convergentemente, formando así el eje embrionario. La organogénesis, que se inicia al final del periodo de gástrula y se extiende hasta la pre-eclosión, es el período en el que los tejidos y órganos se diferencian. Entre los eventos de este período se observó la diferenciación de órganos visuales y auditivos, pigmentación del embrión y la circulación y latidos cardíacos.

La eclosión del pez ángel se realizó a las 42.5 horas posfecundación (hpf).

## Discusión

En el estudio presente el período equivalente a la fase oval se observó de 4.0 a 5.0 hpf. Según Radael *et al.*, (2013) en embriones de *Melanotaenia praecox* y otros melanotenideos, en la fase oval ocurre la evolución del borde del blastodisco sobre la vesícula vitelínica, así como la organización de los blastómeros, lo que confiere al embrión la forma elipsoidal, y la región de la lámina sincitial, asume forma plana. Por tener la morfología del huevo diferenciada, en *P. scalare*, se identificó la fase oval, pero la organización no fue tan notoria como en las otras especies. Fujimoto *et al.* (2006), evaluaron huevos esféricos de *Misgurnus anguillicaudatus*, y observaron que en ese estadio los embriones contaron con más de 2 mil blastómeros.

En el presente caso se observó la fase esférica a las 6.5 hpf. En dicho estadio los límites entre el blastodermo y la vesícula vitelínica se tornan continuos (Figura 1a). Ferreira (2007), observó en *Glossolepis incisus* en esa misma fase (6.33 hpf), que morfológicamente los dos ejes presentaban valores semejantes, dando al embrión la forma esférica. En

*P. scalare*, también se observó la fase esférica, pero debido a una morfología ovoide de los huevos, los ejes presentaron valores diferentes. Aun con esa diferencia morfológica evidente, fue posible identificar el último estadio de blástula, anterior a la gástrula.

Después de una intensa proliferación celular, la camada de células somáticas comenzó a envolver el saco vitelino, siendo posible observar el proceso de gastrulación. A las 8.0 hpf se observó por primera vez el proceso de epibolia. El blastodermo formó al principio un pequeño arqueamiento sobre la vesícula vitelina, con cobertura de 10%. Ferreira (2007) observó inicio de la gastrulación en *G. incisus* (Melanotenideo) a las 7.33 hpf; para *Astyanax cf. bimaculatus* (Chacariforme), Ferreira *et al.* (2006) observaron inicio de la gastrulación en 2 hpf y duración alrededor de 3.5 hpf a 28°C. Referente a otros melanotenideos, Humphrey *et al.* (2003) relataron para *Melanotaenia splendida*, inicio de la gastrulación en torno de 10.0 hpf y Reid y Holdway (1995) la observaron alrededor de

Cuadro 1. Principales estadios embrionarios de *Pterophyllum scalare* y ocurrencia de acuerdo con hora posfecundación (HPF) (n= un par).

Estadio	HPF
2 blastómeros	0.5
4 blastómeros	1.0
8 blastómeros	1.5
16 blastómeros	2.0
32 blastómeros	2.5
64 blastómeros	3.0
Fase oval	4,0 - 5,0
Fase esférica	6,5
Gástrula 10%	8.0
Gástrula 15%	9.0
Gástrula 30%	10.0
Gástrula 50%	11.0
Gástrula 60%	12.5
Diferenciación del embrión	14.0
Diferenciación de cabeza y cola	16.0
Primordio óptico	19.0
Somitos	19.0
Primordio ótico	21.0
Somitos en V	25.5
Inicio de la pigmentación del embrión y del vitelo	27.5
Inicio del batimiento cardíaco	29.5
Formación del condrocraqueo	31.5
Circulación sobre o vitelo	34.5
Contracción del embrión	34.5
Otolitos	37.0
Melanóforos dendríticos	37.0
Pigmentación del sistema circulatorio	40.5
Eclosión	42.5

13.0 hpf *Melanotaenia fluviatilis*. El tiempo de desarrollo está relacionado a la familia en cuestión, aunque esto puede presentar disparidades, siendo por tanto, importante estudiar los animales individualmente.

El blastodermo cubría una región correspondiente al 15% de la vesícula vitelina en 9.0 hpf y 30% en 10.0 hpf. En ese estadio, Crowley e Ivantsoff (1982) observaron la diferenciación del tubo neural en *Melanotaenia nigrans* y *M. s. inornata*; Reid y Holdway (1995), la observaron en *M. fluviatilis* y Humphrey *et al.*, (2003) en *M. s. splendida*.

La mitad de la vesícula vitelina estaba cubierta con la evolución del blastodermo a las 11.0 hpf (gástrula 50%). Paes (2008), verificó este mismo estadio a las 6 hpf en *Astronotus ocellatus*. En el presente trabajo la gástrula 60% fue verificada a 12.5 hpf, pero no se observaron los demás períodos de gástrula.

En otros peces, se ha observado durante el período final de gástrula algunos eventos que no fueron evidentes en *P. scalare*. Reid y Holdway (1995) observaron la formación del eje embrionario en el desarrollo de *M. fluviatilis* durante la evolución del blastodermo. Según Humphrey *et al.* (2003) durante el desarrollo embrionario de *M. s. splendida*, en el estadio de gástrula 70%, fue posible observar la diferenciación del eje embrionario y del anillo germinativo. Ferreira (2007) observó en *G. incisus* la formación del blastoporo cuando la cobertura del blastodermo estaba sobre 90% de la vesícula vitelina, lo que ocurrió a 10.83 hpf.

Reid y Holdway (1995) observaron el cierre del blastoporo en *M. nigrans* y *M. s. inornata* próximo a 18 hpf y Humphrey *et al.* (2003), observaron el mismo evento para *M. s. splendida* próximo a 12.5 hpf, así como Ferreira (2007) para *G. incisus* a las 11.83 hpf. En peces migradores brasileños, se

observa un desarrollo embrionario más rápido. Embriones de *Brycon orbygnianus* muestran el cierre del blastoporo a las 6.5 hpf (Reynalte-Tataje *et al.*, 2004) y los de *Brycon insignis* a las 5.5 hpf (Souza, 2004). Ferreira *et al.* (2006) observaron el cierre del blastoporo en *Astyanax cf. bimaculatus* también a las 5.5 hpf.

La organogénesis tuvo inicio al final del período de gástrula y fue observada hasta el momento de preeclósión. Esta es la fase en que se observa la diferenciación de los órganos y tejidos. En *P. scalare*, la diferenciación del embrión comenzó a observarse a las 14.0 hpf. Paes (2008) verificó que en *Astronotus ocellatus*, la formación del embrión se inició 12 h después de la colecta inicial y en *Paracheirodon axelrodi* el embrión comenzó a formarse aproximadamente a las 5 hpf, con intensa segmentación somática, cuando se observó el inicio de la formación de la cola y la diferenciación de la cabeza (Anjos y Anjos, 2006).

En *P. scalare* la diferenciación de la cabeza y otras partes no se observó hasta las 16.0 hpf (Figura 1b), un poco más tarde de lo otros autores han descrito. Ferreira (2007) observó esta diferenciación en *G. incisus* a las 12.83 hpf cuando uno de los extremos inició a diferenciarse en la porción anterior del cuerpo, dando origen a la región cefálica del embrión.

El primordio óptico se notó a las 19.0 hpf, con la envaginación de un par de vesículas ópticas rudimentarias que surgieron en la región cefálica del embrión (Figura 1c y d). En este mismo momento, se pudo observar siete pares de somitos. A las 21.00 hpf el primordio óptico también estaba visible y se contaron nueve pares de somitos. Tres horas después, el número de somitos aumentó a 14 pares y a las 25.5 hpf presentaron forma de V.

Fujimoto *et al.* (2006) y Ferreira (2007) informaron que en embriones con 13 pares de somitos fue posible observar la diferenciación de la retina en el primordio óptico, dando inicio a la diferenciación de la vesícula óptica y a la del condrocraáneo, en la región cefálica. Las vesículas ópticas se vieron en *Paracheirodon axelrodi* 15 h después de la fertilización y a la vez la formación de las aletas caudal y pectoral. En *P. scalare* la diferenciación de la retina no fue observada y el inicio de la formación del condrocraáneo sino hasta las 31.5 hpf cuando había 20 pares de somitos identificados.

La pigmentación del embrión y del vitelo comienza a verificarse a las 27.5 hpf (Figura 1e). A las 29.5 hpf la pigmentación se torna más evidente a lo largo del eje embrionario y en este mismo

momento, se observa el corazón embrionario que es inicialmente una simple región de la vena axial en el mesodermo, que promueve lentamente la circulación de la sangre con movimientos peristálticos dando inicio a los batimientos cardíacos. Según Reid y Holdway (1995) *M. fluviatilis* inició sus batimientos cardíacos con 46 hpf; Ferreira (2007) describió dicho evento en *G. incisus* a las 27.0 hpf y Crowley e Ivantsoff (1982) observaron inicio de batimiento cardíaco en *M. niigrans* y *M. s. inornata* a las 47 hpf a 25°C.

A las 34.5 hpf se observó la circulación sanguínea con mayor velocidad y ramificaciones de los vasos sanguíneos sobre la vesícula vitelina promoviendo la irrigación sanguínea sobre la región periférica del vitelo. Ferreira (2007) describió este evento en *G. incisus* a las 34.0 hpf y en *Rhamdia sapa*, Matkovic *et al.* (1985) identificaron el mismo estándar. En *M. s. splendida* se observó el inicio de la circulación sobre la vesícula a las 30.5 hpf (Humphrey *et al.*, 2003) y en *M. fluviatilis* un poco más tarde, a las 50 hpf (Reid y Holdway, 1995).

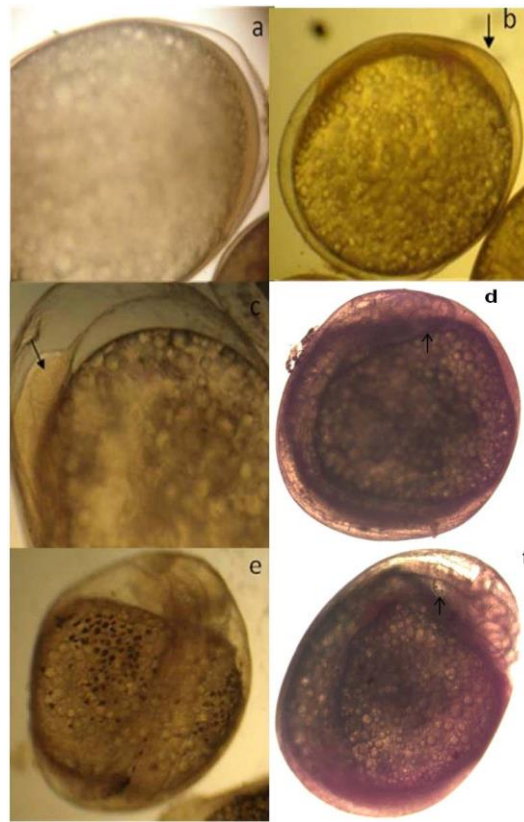
Sobre la vesícula vitelina se observó el inicio de las contracciones del embrión, siendo los espasmos poco frecuentes al principio y luego aumentándose gradualmente. Este evento, en general, indica que el momento de eclosión está próximo.

Los melanóforos, que inicialmente son dendríticos, surgieron aleatoriamente a lo largo del eje embrionario pasando después a la vesícula vitelina. Al mismo momento (37.0 hpf), dos otolitos estaban visibles (Figura 1f).

El sistema circulatorio inicia su pigmentación pasando de incoloro a rojizo. El corazón presenta dos cámaras trabajando en movimientos antagónicos de sístole y diástole, representando el atrio y el ventrículo.

La eclosión de los embriones se inició a partir de las 42.5 hpf, con duración hasta las 44.0 hpf, lo que representa un tiempo dentro de los límites normales de desarrollo de los peces tropicales (Nakatani *et al.*, 2001; Reynalte-Tataje *et al.*, 2004) (Figura 2).

En conclusión, el desarrollo de *P. scalare* es semejante al observado en las demás especies de la familia Ciclidae. La eclosión ocurre 42.5 hpf con incubación a 28°C. La larva en el momento de la eclosión está precariamente formada (larva no altricial), con boca e ano cerrados. Las larvas poseen una estructura de fijación en la cabeza, semejante a una ventosa, que permite su fijación al sustrato. Al nacer no toman alimento exógeno y su tubo digestivo que aún no está totalmente formado, pero su reserva de vitelo es abundante.



Figuras 1. **a.** Fase esférica en el huevo; **b.** Diferenciación de cabeza y cola en embrión de *P. scalare*. Región cefálica indicada por la flecha; **c.** y **d.** Surgimiento del primordio y vesícula óptica; **e.** Aparecimiento de melanóforos pigmentando el vitelo; **f.** Otolitos indicados por la flecha.

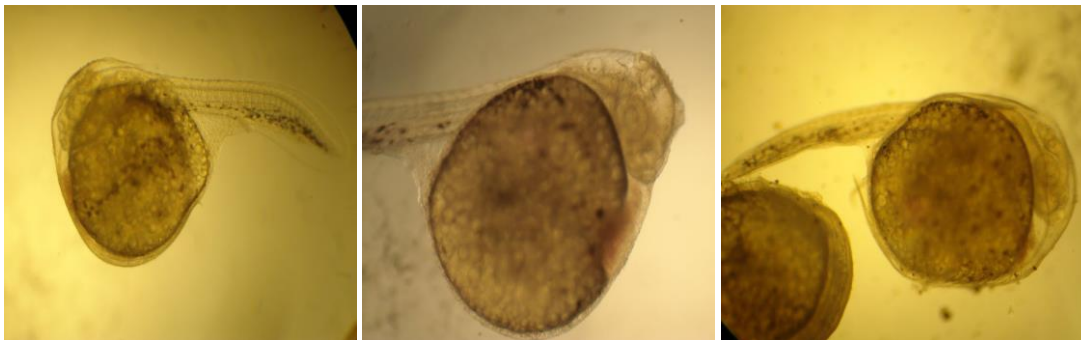


Figura 2. Larva recién eclosión de *P. scalare*.

## Literatura Citada

- Anjos, H. D. B. e C. R. Anjos. 2006. Biología reprodutiva e desenvolvimento embrionário e larval do cardinal tetra, *Paracheirodon axelrodi*, SCHULTZ, 1956 (Characiformes:Characidae), em laboratório. Bol. Instit. Pesca 32: 151.
- Baldisserotto, B. e L. C. Gomes. 2005. Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria 1:149.
- Chapman, F. A., S. Fitz-Coy, and J.T. Thunberg. 1997. United States of America Internacional Trade in ornamental fish. J. World Aquac. Soc. 28:1.
- Chellapa, A. 2005. Acará Bandeira, *Pterophyllum scalare*. Em: Baldisserotto B, e Gomes L. C. (Eds). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. UFSM, Santa Maria. p. 393.
- Crowley, L. E. L. M. and W. Ivantsoff. 1982. Reproduction and early stages of development in two species of Australian rainbow fishes, *Melanotaenia nigrans* (Richardson) and *Melanotaenia splendida inornata* (Castelnau). Aust. Zool. 21:85-95.
- Dias, R. L. e S. Chellapa. 2003. Desenvolvimento gonadal do ciclídeo ornamental acará-bandeira, *Pterophyllum scalare*. Resúmenes del Simpósio Brasileiro de Aqüicultura do Brasil, p. 135.
- Ferreira, A. V. 2007. Ontogenia inicial e consumo de vitelo em embriões de melanotênia maça (*glossolepis incisus*, Weber, 1907). Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil.
- Ferreira, A.V., M. V. Vidal Junior, D. R. Andrade, G. Souza, P. P. Mendonça, e G. S. Yasui. 2006. Eventos morfo-fisiológicos da ontogenia em ovos de lambari-do-rabo-amarelo *Astyanax* aff. *A. bimaculatus*, Linnaeus, 1758. Resúmenes del Congresso AQUACIÊNCIA, Brasil.
- Fujimoto, T., K. Kotake, S. Yamada, M. Hashimoto, and Y. Sato. 2006. Developmental stages and germ cell lineage of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). Zool. Soc. Japan 23:977-989.
- Fujimoto, S., M. Hashimoto, O. Koike, K. Arai, and R. Matsuba. 2004. Nucleo synthesis inside an accretion disk and disk winds related to Gamma-ray bursts. J. Astrophys. 614:847.
- Godinho, H. P., J. E. Santos e Y. Sato. 2003. Ontogênese larval de cinco espécies do São Francisco. Em: Godinho, H. P., Godinho A. L. (Eds). Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais. Editora PUC Minas, Belo Horizonte: Brasil, p. 133.
- Humphrey, C., D. W. Klumpp and R. Pearson. 2003. Early development and growth of the east rainbow fish, *Melanotaenia splendida splendida* (Peters I). Morphogenesis and ontogeny. Mar. Freshwater Res. 54:17-25.
- Matkovic, M., V. E. Cussac e M. Cukier. 1985. Desarrollo embrionario de *Rhamdia sapo* (Valenciennes, 1840) Eigenmann y Eigenmann, 1888 (*Pisces*, *Pimelodidae*). I. Segmentacion, morfogenese y organogenesis temprana. Rev. Brasil. Biol. 1:40.
- Nakatani, K., A. A. Agostinho, G. Baumgartner, A. Bialecki, P. V. Sanches, M. C. Makrakis e C. S. Pavanelli. 2001. Ovos e larvas de peixes de água doce:desenvolvimento e manual de identificação. UEM, Maringá: Brasil, p.24.
- Paes, M.C.F. 2008. Indução à reprodução e desenvolvimento embrionário e larval do ciclídeo acará-açu *Astronotus ocellatus* (Agassiz, 1831). Dissertação de Mestrado, CAUNESP, Universidade do Estado de São Paulo, Brasil.
- Radael M. C., L. D. Cardoso, D. R. Andrade, D. Mattos, J. H. Motta, J. V. Manhães, and M. V. Vidal, Jr. 2013. Morphophysiological and characterization of the embryonic development of *Melanotaenia praecox* (Weber and de Beaufort, 1922). *Zygote*, Cambridge, 1-7.
- Reid, H. P. and D. A. Holdway. 1995. Early development of the Australian crimson-spotted rainbow fish, *Melanotaenia fluviatilis* (*Pisces: Melanotaeniidae*). Mar. Freshwater Res. 46:475.
- Reynalte-Tataje, D. R., E. Zaniboni-Filho and J. R. Esquivel. 2004. Embryonic and larvae development of piracanjuba, *Bryconorbignyanus Valenciennes*, 1849 (*Pisces*, *Characidae*). Acta. Scient. 26:67.
- Ribeiro, F.A.S. e J. B. K. Fernandes. 2008. Sistemas de Criação de Peixes Ornamentais. Panor. Aqüic. 18:34.
- Souza, G. 2004. Reprodução induzida, ontogenia inicial, etologia larval e alevinagem da piabanha (*Brycon insignis*, STEIDACHNER, 1877). Dissertação de Mestrado, Curso de Produção Animal, Departamento de Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidad Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, Brasil.