Multidisciplinary Sciences Reports

Artigo

Morfologia e histoquímica de células do fígado de fêmeas de *Steindachnerina sp.* (Teleostei: Characiformes)

1 Joana Figueiredo da Mata joana.mata@ufac.br
1 Rusleyd Maria Magalhães de Abreu rusleyd.abreu@ufac.br
1 Centro de Ciências Biológicas e da Natureza – CCBN, Universidade Federal do Acre – Ufac, Rio Branco, Acre, Brasil.

RESUMO

Peixes pertencentes à família Curimatidae são de grande relevância para o estudo da ecologia de ambientes aquáticos por serem animais de hábito detritívoro, tornando-se assim, peças fundamentais nas cadeias alimentares dos sistemas aquáticos por eles habitados. O objetivo do trabalho foi avaliar e comparar aspectos morfológicos, histológicos e histoquímicos de hepatócitos de fêmeas pertencentes ao gênero *Steindachnerina*, de dois sistemas aquáticos diferentes. Foram obtidas secções de 6µm de espessura e coradas com hematoxilina-eosina, azul de toluidina, xylidine ponceau e ácido periódico de Schiff. As lâminas foram montadas e analisadas em microscópio de luz Leica® DM750 e os resultados registrados com o sistema de captura de imagem Leica® ICC50 HD. Os hepatócitos dos peixes dos lagos Horta e Viveiro apresentaram núcleos esféricos, contendo nucléolo grande, ambos evidenciados pela hematoxilina apresentando cromatina dispersa e homogênea. Já a secreção presente no citoplasma de peixes do lago Horta apresentou-se levemente básica, quando comparada à dos peixes do Lago Viveiro que apresentou levemente ácida. RNAs mostraram-se mais homogêneos e uniformes no citoplasma dos peixes do Lago Viveiro. Observou-se maior acúmulo proteico no citoplasma correspondentes às fêmeas do Lago Viveiro. O PAS detectou a presença de glicogênio em maior quantidade nos peixes do Lago Horta. Pode-se concluir que as fêmeas de *Steindachnerina* no Lago Viveiro no geral, apresentaram maior peso, tamanho e metabolismo celular mais intenso ou seja, RNAs mostraram-se mais homogêneos e uniformes além de haver maior acúmulo proteico no citoplasma dos hepatócitos do que nos pertencentes ao Lago Horta.

PALAVRAS-CHAVE: Curimatidae. peixe. hepatócitos. hematoxilina-eosina. pas. azul de toluidina.

ABSTRACT

Fish from Curimatidae Family are of great relevance for the ecology study of aquatic environments as they are animals of detritivorous habit, thus becoming fundamental pieces in the food chains of the aquatic systems inhabited by them. The objective of this work was to evaluate and compare morphological, histological and histochemical aspects of hepatocytes from *Steindachnerina* females from two different aquatic systems. Sections of 6µm thickness were obtained and stained with hematoxylin-eosin, toluidine blue, xylidine ponceau and periodic acid-Schiff (PAS). The slides were mounted and analyzed under a Leica® DM750 light microscope and the results recorded with the Leica® ICC50 HD imaging system. Hepatocytes from Horta and Viveiro ponds presented spherical nuclei containing large nucleoli, both evidenced by hematoxylin and dispersed and homogeneous chromatin. The secretion present in the fish cytoplasm of Horta Pond was slightly basic, when compared to the fish of Viveiro Pond, which was slightly acidic. RNAs that were found are more homogeneous and uniform in the fishes cytoplasm from Viveiro Pond. Higher protein accumulation was observed in the cytoplasm corresponding to females from Viveiro Pond. The PAS detected the presence of glycogen in greater quantity in Horta Pond fish. It can be concluded that *Steindachnerina* females in Viveiro Pond in general presented higher weight, size and more intense cellular metabolism. It means the presence of RNAs were more homogeneous and uniform as well as a higher protein accumulation in the hepatocytes cytoplasm than in those belonging to the Horta Pond.

KEYWORDS: Curimatidae. fish. hepatocytes. Hematoxylin-eosin. pas. toluidine blue.

INTRODUÇÃO

A Bacia Amazônica, localizada na América do Sul, abriga a mais rica e diversificada fauna de peixes encontrada em água doce do planeta, chegando a milhares de espécies, dentre essas, muitas endêmicas e ainda desconhecidas pela ciência (1–3). Dos recursos aquáticos, a ictiofauna ainda é a principal fonte de proteína animal da dieta alimentar de populações que se alimentam deles, fazendo-se relevante dessa forma, o gerenciamento de nossas populações de peixes necessitando de estudos mais detalhados sobre a sua biologia (4).

Apresentando um pouco mais de 100 espécies, a família Curimatidae habita uma variedade de ecossistemas como riachos de correntezas rápidas, rios e lagos calmos, igapós, águas claras brancas e pretas (5). Seus representantes estão incluídos na classificação de pequeno porte, abrangendo cerca de 80 a 150 mm de comprimento, podendo, no entanto, alguns animais ultrapassarem os 200 mm (6–8).

Geralmente possuem boca pequena, em posição subterminal e as maxilas desprovidas de dentes quando adultos. A linha lateral é, na maioria das vezes, completa e as escamas cicloides, possuindo a borda posterior com aspecto liso, crenulado ou ainda dentado (6).

Cada vez mais espécies desta família têm sido descritas na literatura aumentando assim, o conhecimento da riqueza ictiológica amazônica (9–11). Novas descobertas também tem sido feitas a nível gênero *Steindachnerina* registradas na região (7,12) e nas demais regiões da América do Sul, totalizando 23 descrições do gênero.

Aproximadamente 251 espécies de peixes foram catalogadas no estado do Acre. É a segunda categoria com maior diversidade de espécies registradas entre os vertebrados (21,6%), representando 10,7% da riqueza brasileira. No estado, os inventários são poucos expressivos, uma vez que a região é considerada como área de alta importância para a conservação da diversidade aquática (13,14). Porém há ocorrências da família Curimatidae e também do gênero *Steindachnerina* (15). Todavia estes dados implicam em uma baixa diversidade quando se compara à diversidade potencial que deve ocorrer na região, principalmente porque áreas que apresentam endemismos para outros grupos faunísticos devem apresentar também endemismos para esta categoria de animais (14).

Para entender sobre a biologia de um determinado grupo de seres vivos, é preciso caracterizá-lo descrevendo seus aspectos morfológicos microscópicos para chegar assim à compreensão macroscópica da sua complexidade. Sendo assim, várias técnicas histológicas e histoquímicas foram desenvolvidas, como por exemplo hematoxilina-eosina (16–19).

Dados morfométricos de peso e tamanho em peixes apresentam uma relação que os tornam importantes ferramentas para descrever aspectos biológicos significativos destes organismos. Fornece dados, por exemplo, para aproximar o peso com base na altura do animal e *vice-versa* (20,21).

Existem hoje alguns estudos filogenéticos (5), citogenéticos (22), análises moleculares e genéticas (23,24), estudos histoquímicos de células branquiais (25) e ovarianas(26) referentes ao gênero *Steindachnerina* mas pouco fala-se a respeito do tecido hepático em peixes no geral, caracterizando-o (27) ou mesmo comparando suas atividades funcionais a outros órgãos ou sistemas como, por exemplo, a forte relação entre a atividade hepática e a oogênese em outros gêneros de peixes (28,29), mostrando-se em outros casos a não relação entre estes mesmos aspectos fisiológicos no gênero *Steindachnerina* (30)**.**

O fígado é um órgão bastante vascularizado responsável por manter a reserva energética do corpo com o armazenamento de glicogênio. Cuida da distribuição e do processamento dos nutrientes, além de neutralizar e eliminar as toxinas do organismo (31). Devido a esta última função, alterações neste órgão podem indicar condições de poluição ambiental em animais aquáticos por exemplo, causando alterações morfofisiológicas não apenas no tecido hepático (32,33), como também em outros tecidos como o hematopoiético, por exemplo (34).

Nota-se assim, a escassez de trabalhos relacionados a estudos morfológicos e histoquímicos de peixes de pequeno porte, principalmente da família Curimatidae e do gênero *Steindachnerina*. Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar e comparar aspectos morfológicos e histoquímicos do tecido hepático de fêmeas pertencentes ao gênero *Steindachnerina,* oriundas de dois sistemas aquáticos localizados na área do *Campus* da Universidade Federal do Acre (Ufac), no Sudoeste da Amazônia brasileira.

MATERIAL & MÉTODOS

Foram feitas coletas de 10 fêmeas com redes de espera de malhas 3, 4, 5 e 6 ao meio-dia, em um intervalo de 6 em 6 horas nos meses de setembro, novembro e dezembro de 2006 no Lago Viveiro (19L 623504 8899391) e Lago Horta (19L 623872 8898920). Os mesmos localizados no campus sede da Universidade Federal do Acre na cidade de Rio Branco, Acre (26)**.**

Os lagos de coleta estão localizados no Parque Zoobotânico (PZ) que inclusive, denomina-se a maior área de fragmento florestal urbano na capital. Cerca de 90% da extensão destes corpos d'agua se localizam dentro da área preservada do parque. Os lagos escolhidos são represamentos de igarapés de área de cabeceira os quais não têm nome definido. Estes igarapés deságuam no igarapé Dias Martins, cuja margem esquerda dentro da mancha urbana está completamente ocupada por habitações e a margem direita, que integra a área do PZ, apresenta-se conservada. Ele se conecta ao igarapé São Francisco que é a principal drenagem hídrica desta região da cidade.

Os dois locais de estudo estão localizados onde existe probabilidade de impactos antropológicos, mas encontram-se distantes do local de despejo residuais do campus.

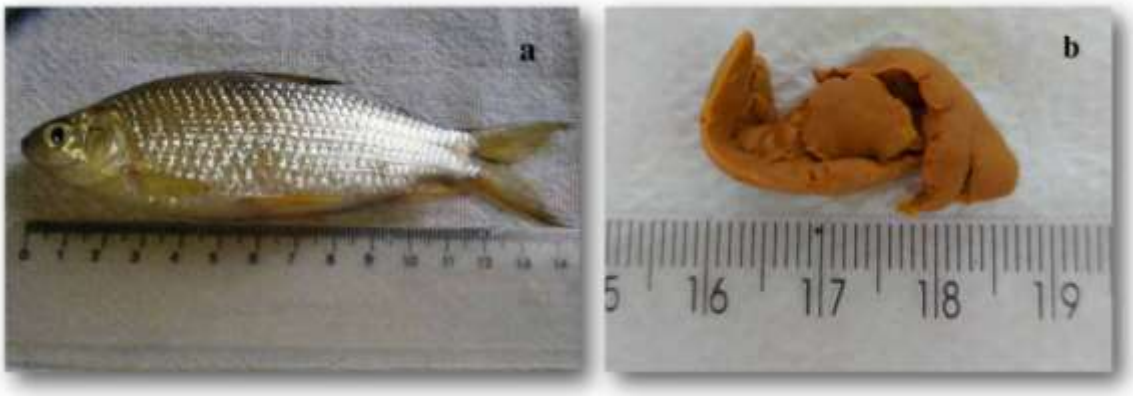
2. Processamento do Material Biológico

As fêmeas capturadas vivas foram pesadas e depois medidas, para a obtenção dos dados morfométricos (Figura 1a).

Os animais foram dissecados efetuando-se um corte longitudinal na região ventral para retirada do fígado (Figura 1b). Este foi fixado separadamente em vidro contendo bouin alcoólico, durante 72 horas. Após o processo de fixação, o material foi transferido para álcool 70% para procedimentos posteriores de inclusão em historesina Leica e cortes histológicos, em micrótomo Leica®, na espessura de 6µm.

Os peixes encontram-se armazenados no Laboratório de Ictiologia e Ecologia Aquática. Em razão de ter sido amostrado um total de 10 peixes, foi necessário realizar a dissecação de todos, não sendo possível realizar o tombamento dos animais na coleção ictiológica da universidade.

Figura 1: (a) Fêmea de *Steindachnerina sp.* capturada nas coletas. (b) Amostra de fígado utilizado para o processamento histológico.



3. Análise de microscopia de luz

Histologia

Foi utilizado a técnica de hematoxilina-eosina (HE) para observação de regiões ácidas e básicas das células, respectivamente (16).

Histoquímica

Para os estudos histoquímicos foram usadas mais três técnicas:

Azul de Toluidina (AT), para a evidenciação indireta de DNA e RNA. As lâminas foram hidratadas com água destilada, por um minuto e em seguida, coradas com azul de toluidina, durante cinco minutos, as quais foram lavadas para a retirada do excesso de corante (17).

Xylidine ponceau (XP). Para visualização indireta de proteínas totais. As lâminas foram coradas por 30 minutos e lavadas em água destilada (18).

Ácido Periódico de Schiff (PAS), para a evidenciação indireta de polissacarídeos básicos nas células**.** As lâminas foram rapidamente hidratadas com água destilada e depois imersas em solução de ácido periódico 1%, durante 5 minutos. Foram novamente lavadas e colocadas no reativo de Schiff, durante 1 hora, no escuro (19).

Após aplicação de cada técnica acima, as lâminas já secas foram montadas em bálsamo de canadá para serem analisadas em microscopia de luz com o auxílio

do microscópio Leica® DM750 e os resultados registrados com o sistema de captura de imagem Leica® ICC50 HD.

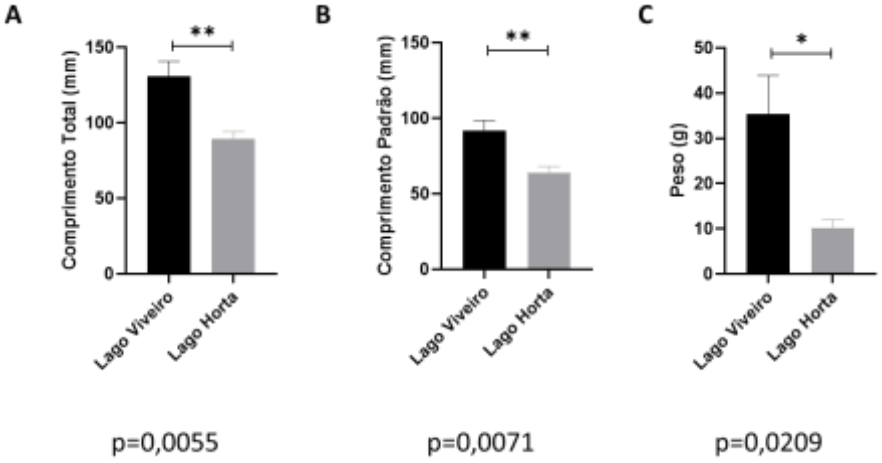
RESULTADOS

No Lago Viveiro a média do comprimento total (Lt) das fêmeas foi 130,8 ± 9,87mm, enquanto o comprimento padrão (Ls) apresentou média de 92,2 ± 6,53 mm e o peso dos peixes (Wt), foi 35,3 ± 8,56 g (Figura 2).

No Lago Horta a média do comprimento total (Lt) das fêmeas foi 89,2 ± 4,96 mm, o comprimento padrão (Ls) média de 64,0 ± 4,36 mm e a do peso dos peixes (Wt), foi 10,2 ± 1,84 g (Figura 2).

De maneira geral, os peixes coletados no Lago Viveiro apresentaram-se mais pesados e maiores do que os capturados no Lago Horta.

Figura 2: Dados morfométricos (média ± erro padrão) de fêmeas do gênero *Steindachnerina* capturadas no Lago Viveiro e Horta, localizados no *Campus* da Universidade Federal do Acre, em Rio Branco. Teste de t com significância p<0,05. Onde: A) comprimento total. B) comprimento padrão. C) peso dos animais.



Análises histológicas e histoquímicas

Os resultados dos testes histológico e histoquímico aplicados nas células do fígado dos exemplares analisados apresentaram diferenças entre lagos diferentes, conforme descrições a seguir:

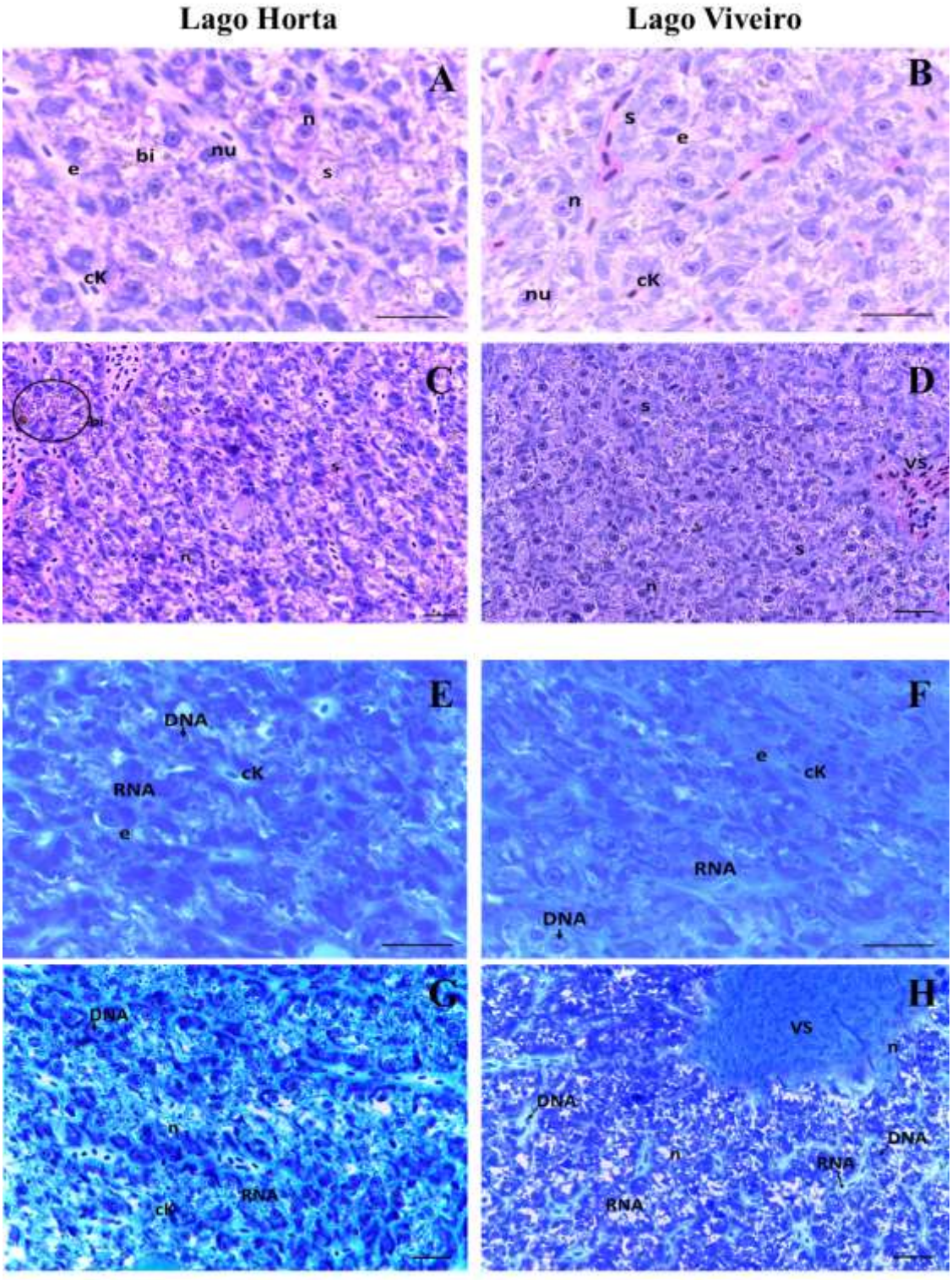
Através da técnica com HE observou-se de maneira geral, que os hepatócitos dos peixes pertencentes aos lagos Horta (Figuras 3A e C) e Viveiro (Figuras 3B e D) apresentaram núcleos esféricos, contendo nucléolo grande, ambos evidenciados pela hematoxilina (Figuras 3A-D), apresentando cromatina dispersa e homogênea (Figuras 3A-D).

A secreção presente no citoplasma das células do fígado dos exemplares do Lago Horta (Figuras 3A e C) apresentou-se levemente básica, enquanto que a localizada no citoplasma dos hepatócitos dos peixes do Lago Viveiro apresentou-se levemente ácida (Figuras 3B e D).

Os resultados obtidos com AT confirmaram aqueles observados com a coloração simultânea de HE, no que se refere ao formato esférico do núcleo, contendo nucléolo grande e cromatina dispersa, tanto nos animais coletados do Lago Horta (Figuras 3E e G) quanto nos do Lago Viveiro (Figuras 3F e H).

No citoplasma das células dos exemplares pertencentes aos dois lagos foi possível observar, através da evidenciação indireta do corante, a presença de RNAs (Figuras 3E-H). Estes mostraram-se mais homogêneos e uniformes no citoplasma das células dos peixes do Lago Viveiro (Figuras 3F e H).

Figura 3: (A - H) Secções histológicas do fígado de fêmeas de *Steindachnerina sp* oriundas do Lago Viveiro e Lago Horta localizados no campus da Universidade Federal do Acre submetidas às técnicas hematoxilina-eosina (HE) e azul de toluidina (AT). Escala: 20µm. Aumento: 400x e 1000x.
s= secreção; n= núcleo; VS= vaso sanguíneo; bi= bile intracelular; cK= célula de Kupffer; nu= nucléolo; e= espaço extracelular.



Os resultados referentes à coloração com xylidine ponceau mostraram a presença de proteínas totais no núcleo e no citoplasma de todas as células hepáticas analisadas (Figuras 4A-H), mais notadamente no citoplasma das células de fêmeas do Lago Viveiro (Figuras 4B e D), do que naquelas do Lago Horta, que apresentaram citoplasma mais vacuolizado (Figuras 4A e C).

Observou-se maior concentração de proteínas no citoplasma quando se comparou a concentração das mesmas observadas entre células de exemplares do Lago Viveiro com o Lago Horta, no qual apresentou no geral, um maior acúmulo proteico nos hepatócitos correspondentes às fêmeas do primeiro lago (Figuras 4B e D).

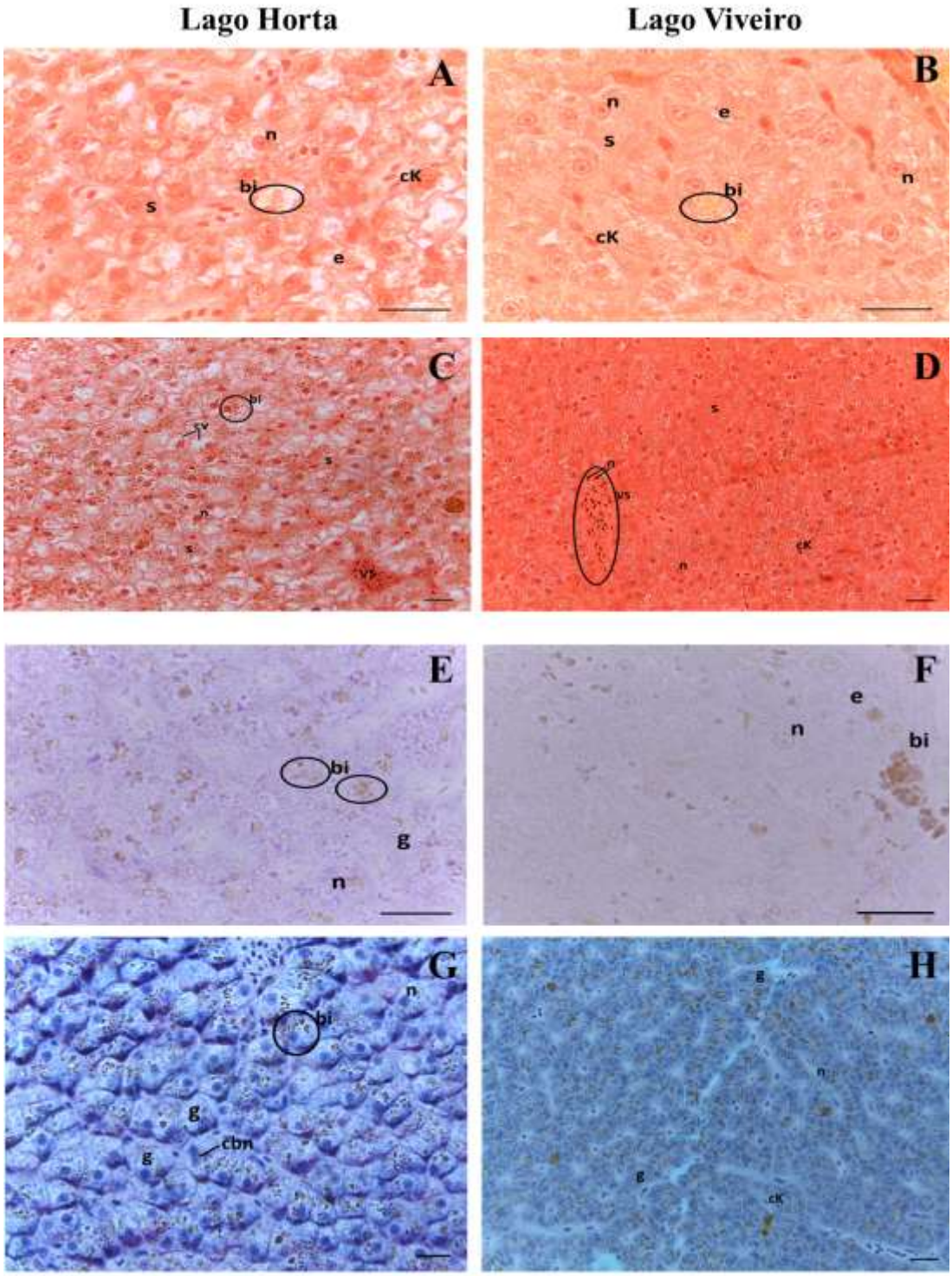
As fêmeas do Lago Horta por sua vez, em decorrência da vacuolização do citoplasma dos hepatócitos, apresentaram pouca secreção proteica em suas células (Figuras 4A e C).

A secreção detectada pelo PAS no citoplasma caracteriza a presença de polissacarídeos básicos (glicogênio) em maior quantidade nos hepatócitos dos peixes do Lago Horta (Figuras 4E e G) quando comparados com os exemplares do Lago Viveiro, que evidenciaram pouca ou quase nenhuma presença desses compostos (Figuras 4F e H).

Foi observado em todas as técnicas que a bile estava presente no tecido hepático dos peixes, permanecendo com sua cor em tons de amarelo (Figuras 5A-D) ao marrom (Figuras 3A-D e 4E-H). Não foi observada apenas na técnica AT (Figuras 3E-H).

Os núcleos das células de Kupffer (cK) foram observados nos espaços intercelulares, localizados entre os cordões hepáticos, nos exemplares pertencentes aos dois lagos (Figuras 3 e 4) bem como as células binucleadas (cbn) presentes no tecido hepático (Figura 4G).

Figura 4: (A - H) Secções histológicas do fígado de fêmeas de *Steindachnerina sp* oriundas do Lago Viveiro e lago da Horta localizados no campus da Universidade Federal do Acre submetidas às técnicas (A - D) xylidine ponceau e (E – H) ácido periódico de Shiff (PAS) e azul de alcian oriundas do Lago Viveiro e do Lago Horta. Escala: 20µm. Aumento: 400x e 1000x.
s= secreção; n= núcleo; VS= vaso sanguíneo; cv= citoplasma vacuolizado; bi= bile intracelular; g= glicogênio cbn= célula binucleada; cK = célula de Kupffer; e= espaço extracelular.



DISCUSSÃO

As médias das variáveis, comprimento padrão (130,8 ± 9,87mm e 89,2 ± 4,96 mm), comprimento total (92,2 ± 6,53 mm e 64,0 ± 4,36 mm) e peso (35,3 ± 8,56 g e 10,2 ± 1,84 g), obtidas respectivamente para os representantes do Lago Viveiro e Horta apresentaram-se de acordo com os padrões para a família Curimatidae, inclusive para o gênero *Steindachnerina* (5,8).

Apesar da não identificação exata de espécie, os indivíduos apresentaram características semelhantes. Nesse sentido, comparando os peixes de acordo com os respectivos habitats pertencentes, e sabendo que aspectos ambientais podem modificar características do ciclo de vida entre organismos da mesma espécie, foi observado uma diferença fenotípica dos animais. Verificou-se assim, a relação diretamente proporcional entre peso e comprimento com destaque para os peixes coletados no Lago Viveiro, que apresentaram estes aspectos morfométricos maiores que os do outro lago (20,21).

A cromatina menos compactada e citoplasma mais basófilos observados nas células do fígado dos peixes de ambos os lagos refletem aspectos de intenso metabolismo celular, concordando com Oliveira e colaboradores (2016), no qual seus resultados também observaram essa característica mais basófila no citoplasma e aspectos nucleares semelhantes em células hepáticas de fêmeas de *Danio rerio (27).*

O contrário também foi observado em outros exemplares, com uma frequência um pouco maior nos peixes do Lago Horta. Eles apresentaram citoplasma vacuolizado, secreção levemente corada com eosina e núcleos mais periféricos, principalmente quando essa vacuolização se apresentou bem acentuada. Tais características observadas nas células desses peixes refletem baixo metabolismo celular, em decorrência principalmente de cromatina condensada e citoplasma vacuolizado. Pereira e colaboradores (2014) descreveram aspectos semelhantes para *Astyanax altiparanae* e *Prochilodus lineatus* bem como Oliveira e colaboradores (2016) para D*anio rerio* (27,32).

Foi observada ainda a presença de células binucleadas no tecido hepático desses peixes em ambos os ambientes, concordando ainda com Oliveira e colaboradores (2016) que também perceberam que a maioria dos hepatócitos de *Danio rerio* apresentaram apenas um único núcleo (27).

Já na técnica azul de toluidina os nucléolos grandes e cromatina dispersa refletiram atividade de síntese de RNA ribossômico e síntese de RNA mensageiro, respectivamente (17).

A intensidade da coloração evidenciada no núcleo e no citoplasma dos hepatócitos dos peixes em ambos os lagos, permitiu especular intensa síntese de RNA no núcleo e presença de RNA no citoplasma visto que ambos compartimentos celulares apresentaram coloração azul escuro. Em outros peixes essa coloração foi observada azul claro(Lago Horta e Lago Viveiro), refletindo menor atividade de síntese de RNA, em hepatócitos das fêmeas de ambos ambientes aquáticos estudados (17).

De maneira geral, a evidenciação indireta de proteínas totais pela técnica XP no núcleo e no citoplasma dos hepatócitos de *Steindachnerina sp* analisados, confirmam os resultados da técnica HE apresentados anteriormente.

Citoplasmas vacuolizados demonstram, através da coloração, uma baixa produção proteica da célula de acordo com Vidal e Mello (1987). As fêmeas do Lago Horta por sua vez, em decorrência da vacuolização do citoplasma dos hepatócitos, apresentaram mínima secreção proteica no mesmo (18). Consequência disso, observou-se leve deslocamento do núcleo para a região mais periférica da célula, novamente, como nas secções coradas com HE acima, corroborado com *Astyanax altiparanae* e *Prochilodus lineatus* por Pereira e colaboradores (2014) e em *Danio rerio* por Oliveira e colaboradores (2016) (27,32).

Levando ainda em consideração que hepatócitos que apresentam seus citoplasmas vacuolizados também podem indicar ainda fatores estresse ambiental por excesso de toxinas (32).

Através da técnica PAS observou-se que os peixes do Lago Horta apresentaram por fim, maior concentração de glicogênio no citoplasma dos seus hepatócitos do que os pertencentes ao outro ambiente analisado. Provavelmente a disponibilidade de alimento no Lago Horta era mais rica em carboidratos ou ainda devido ao diferente nível de maturação ovariana em que se encontravam essas fêmeas, pois de acordo com Ribeiro e colaboradores (2006) em estudo com a espécie *Steindachnerina insculpta*, encontraram uma quantidade glicogênio disponível no citoplasma dos hepatócitos das fêmeas em estágio de maturação ovariana (30).

A presença de bile no tecido hepático de amostras dos dois locais, tanto no meio intracelular como no meio extracelular, também foi observada no fígado de

Prochilodus lineatus em Campos e colaboradores (2017), caracterizando aspecto normal do tecido (33).

CONCLUSÃO

Em virtude dos resultados descritos acima, pode-se afirmar que os testes realizados nas fêmeas de *Steindachnerina sp.* apresentaram características teciduais hepáticas diferentes nos dois ambientes. Os hepatócitos dos peixes pertencentes aos lagos Horta e Viveiro continham núcleos esféricos, nucléolo grande, evidenciados pela hematoxilina apresentando cromatina dispersa e homogênea. Já a secreção presente no citoplasma dessas células de peixes do Lago Horta mostrou-se levemente básica, quando comparada ao dos peixes do Lago Viveiro, levemente ácida.

As fêmeas de *Steindachnerina sp.* no Lago Viveiro de modo geral, apresentaram metabolismo celular mais intenso: RNAs mostraram-se mais homogêneos, uniformes e um maior acúmulo proteico no citoplasma dos hepatócitos dessas fêmeas também foi observado.

Verificou-se ainda, através do teste estatístico, que os animais do lago do Viveiro apresentaram maiores e mais pesados em comparação aos do segundo lago.

Foi detectado ainda a presença de glicogênio, em níveis diferentes entre as fêmeas, nos peixes dos dois lagos, porém com maior concentração no citoplasma dos hepatócitos dos peixes do Lago Horta.

Em resposta à grande diversidade na fauna de peixes neotropicais e sua importância ecológica e econômica, torna-se necessário um investimento futuramente maior em pesquisas sobre a biologia desses animais, principalmente nas áreas de morfologia e histoquímica, cujos estudos permitem evidenciar, principalmente, a natureza química dos produtos secretados por esses animais, que podem indicar até mesmo a qualidade do meio em que se encontram, que é fundamental tanto para os aspectos ecológicos dessas espécies e de outras que coabitam com os mesmos.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq/Capes pela bolsa de estudos concedida e a todos os colegas e professores que ajudaram na lapidação deste estudo.

REFERÊNCIAS

1. Lévêque C, Oberdorff T, Paugy D, Stiassny MLJ, Tedesco PA. Global diversity of fish (Pisces) in freshwater. In: Freshwater Animal Diversity Assessment. Springer Netherlands; 2008. p. 545–67.
2. Albert JS, Reis RE. Historical biogeography of neotropical freshwater fishes. Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes. University of California Press; 2011.
3. Reis RE, Albert JS, Di Dario F, Mincarone MM, Petry P, Rocha LA. Fish biodiversity and conservation in South America. J Fish Biol. julho de 2016;89(1):12–47.
4. Santos G, Ferreira E, Zuanon J. Peixes comerciais de Manaus. Manaus: Ibama/AM; 2006. 144 p.
5. Vari RP. A Phylogenetic Study of the Neotropical Characiform Family Curimatidae (Pisces: Ostariophysi). Press SI, organizador. Washington, D.C.; 1989. 80 p.
6. Reis RE, Kullander SO, Ferraris CJ. Check list of the freshwater fishes of South and Central America. EDIPUCRS; 2003. 729 p.
7. Netto-Ferreira AL, Vari RP. New Species of Steindachnerina (Characiformes: Curimatidae) from the Rio Tapajós, Brazil, and Review of the Genus in the Rio Tapajós and Rio Xingu Basins. The American Society of Ichthyologists and Herpetologists. 2011;523–9.
8. Corrêa F, Fontes De Oliveira E, Pouey J, Piedras S. Length-weight relationships of four fish species from the Curimatidae family, Patos-Mirim system, southern Brazil. J Appl Ichthyol. 2015;31(1):250–1.
9. Richard P. Vari, Angela M. Zanata and PC. New Species of Cyphocharax (Ostariophysi: Characiformes: Curimatidae) from the Rio de Contas Drainage, Bahia, Brazil. Copeia. setembro de 2010;(3):382–7.
10. Melo BF, Vari RP. New species of Cyphocharax (Characiformes: Curimatidae) from the upper rio Negro, Amazon basin. Neotrop Ichthyol. 2014;12(2):327–32.
11. Melo BF, Oliveira C. Three new species of Curimatopsis (Characiformes: Curimatidae) from the Amazon basin. J Fish Biol. agosto de 2017;91(2):528–44.
12. Paulo H. F. Lucinda and Richard P. Vari. New Steindachnerina Species

(Teleostei: Characiformes: Curimatidae) from the Rio Tocantins Drainage. Source: Copeia. 2009;(1):142–7.

13. Souza MB, Silveira M, Lopes MR., Vieira LJS, Guilherme E, Calouro AM, et al. a Biodiversidade No Estado Do Acre : Conhecimento Atual , Conservação E. Rev T&C Amaz. 2003;1(3):45–56.
14. Acre. Zoneamento Ecológico-Econômico do Acre Fase II - Documento Síntese - Escala 1:250.000 11. 2006.
15. Claro-García A, Vieira LJS, Jarduli LR, Abrahão VP, Shibatta OA. Fishes (Osteichthyes: Actinopterygii) from igarapés of the rio Acre basin, Brazilian Amazon. Check List. 2013;9(6):1410–38.
16. Junqueira LCU, Jnqueira LMMS. Técnicas básicas de citologia e histologia. São Paulo: Santos Editora; 1983. 123 p.
17. MELLO ML, VIDAL BC. Práticas de Biologia Celular. São Paulo: Edgard Blucher; 1980. 71 p.
18. Vidal BC, Mello ML. Biologia Celular. São Paulo: Atheneu; 1987. 347 p.
19. MCMANUS J. F. A. Histological demonstration of mucin after periodic acid. Nature. 1946;158(202).
20. Froese R. Cube law, condition factor and weight-length relationships: history, meta-analysis and recommendations. J Appl Ichthyol. 2006;22(4):241–53.
21. Freitas TM da S, Souza JB de S e, Prudente B da S, Montag LF de A. Length-weight relationship in ten fish species from the Nhamundá River, the Amazon Basin, Brazil. Acta Amaz. 2017;47(1):75–8.
22. Brassesco MS, Pastori MC, Roncati HA, Fenocchio AS. Comparative cytogenetic studies of Curimatidae (Pisces, Characiformes) from the middle Paraná River (Argentina). Genet Mol Res Genet Mol Res. 2004;3(32):293–301.
23. A.V. Oliveira, A.J. Prioli, S.M.A.P. Prioli, C.S. Pavanelli HFJJ and RSP. Diversity and genetic distance in populations of Steindachnerina in the upper Paraná river floodplain of Brazil. Genetica. 2002;115:259–67.
24. Sampaio TR, Gouveia JG, da Silva CRM, Dias AL, da Rosa R. Molecular Analysis of the B Microchromosome in Steindachnerina insculpta (Characiformes: Curimatidae) by Microdissection. Cytogenet Genome Res. 2015;146:51–7.
25. Díaz AO, García AM, Blauth De Lima F, Pinheiro Junior C, Braccini MC, Galarça

Guimarães AC. Glycoproteins in the branchial mucous cells of Steindachnerina brevipinna (Characiformes, Curimatidae): A histochemical study. Rev Real Acad Galega Ciencias. 2010;29:35–48.

26. Mata JF da, Abreu RMM de. Histoquímica de oócitos de peixes do gênero Steindachnerina (Characiformes: Curimatidae). Multidiscip Sci Reports. 2023;3(1):1–15.
27. Oliveira LB de, Leonardo AS, Lima EMM de. Macro- and microstructural descriptions of the zebrafish (Danio rerio) liver. Folia Morphol (Warsz). 31 de agosto de 2016;75(3):382–7.
28. Rinchard J, Kestemont P. Liver Changes Related to Oocyte Growth in Roach, a Single Spawner Fish, and in Bleak and White Bream, Two Multiple Spawner Fish. Int Rev Hydrobiol. 1 de janeiro de 2003;88(1):68–76.
29. Thomé RG, de Oliveira Cardoso IC, de Oliveira SE, Santos HB dos. Oogenesis is accompanied by cyclic morphological changes in hepatocytes of Neotropical freshwater fish Piabina argentea. Anat Histol Embryol. 2018;47(5):466–74.
30. Ribeiro VMA, Bazzoli N, Maria TA, Santos GB, Bazzoli N. Ultrastructural changes in female hepatocytes during ovarian maturation of Steindachnerina insculpta (Pisces: Curimatidae). Brazilian J Biol. 2006;66(4):957–62.
31. Junqueira LC, Carneiro J. Histologia Básica - Texto e Altlas. 13º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2017. 568 p.
32. Pereira BF, Alves RM da S, Alves AL, Senhorini JA, Rocha R de CG de A, Scalize PH, et al. Effects of Biodegradable Detergents in Morphological Parameters of Liver in Two Neotropical Fish Species (Prochilodus lineatus and Astyanax altiparanae). Microsc Res. 2014;02(02):39–49.
33. Campos VEW, Pereira BF, Pitol DL, Alves RM da S, Caetano FH. Analysis of the Liver of Fish Species Prochilodus lineatus Altered Environments, Analyzed with ImageJ. Microsc Res. 2017;05(01):1–9.
34. Pereira BF, Alves RM da S, Pitol DL, Senhorini JA, Rocha R de CG de A, Caetano FH. Effects of exposition to polluted environments on blood cells of the fish Prochilodus lineatus. Microsc Res Tech. 2012;75(5):571–5.