



Avaliação histológica do intestino médio, do fígado e do pâncreas de girinos de rã-touro alimentados com rações comerciais formuladas com três níveis de proteína bruta

José Teixeira de Seixas Filho^{1, 2}, Leonardo Henrique Gomes¹, Delfim Vera Cruz Aguiar¹, Marcio Hipolito³, Ana Maria Cristina Rabello Pinto da Fonseca Martins³, Antônio Carlos Palermo Chaves¹

¹ Centro Universitário Augusto Motta - UNISUAM - Av. Paris, 72 - Bonsucesso - RJ - Grupo AQUÍSUAM - Laboratório de Pesquisa em Biologia.

² Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro - FIPERJ - Alameda São Boaventura, 770 - Fonseca - Niterói.

³ Centro de Pesquisa e Desenvolvimento em Sanidade Animal, Instituto Biológico de São Paulo.

RESUMO - Avaliou-se o desenvolvimento do intestino médio, do fígado e do pâncreas de girinos de rã-touro (*Rana catesbeiana*) alimentados com ração comercial com 22, 24 ou 28% de proteína bruta (PB). Utilizaram-se 360 girinos com 15 dias de vida, provenientes de mesma desova, distribuídos em caixas com 30 L de água, em densidade de 1 girino/L, mantidas a 25°C ($\pm 1^\circ\text{C}$), constituindo um delineamento experimental completamente casualizado, com quatro repetições. A partir do 9º dia e até o 48º dia de alimentação, os órgãos (intestino médio, fígado e pâncreas) de três girinos de cada grupo foram fixados em solução histológica de Bouin para coloração por hematoxilina e eosina. A presença de tecido conjuntivo extremamente frouxo nas alças intestinais dos girinos sugeriu situação provisória para a mudança da arquitetura intestinal após a metamorfose. Nesse período, observou-se aumento no número de células calciformes e de microvilosidades e, no 25º dia, verificou-se a presença de células hepáticas, com arranjo glandular mais compacto, o que sugere funcionalidade e confirma os melhores resultados de desempenho obtidos a partir desse período nos girinos alimentados com as rações com maior nível protéico. No 35º dia, observou-se a estrutura do fígado bilobado, com sinais de desorganização, o que indica rarefação celular protéica, decorrente de mau aproveitamento da proteína da ração. Novos estudos são necessários para continuidade aos esclarecimentos sobre as características fisiológicas de rãs-touro na fase de girino.

Palavras-chave: histologia, nutrição animal, ranicultura

Histological evaluation of midgut, liver and pancreas of bullfrog tadpoles fed commercial diets with three levels of crude protein

ABSTRACT - The development of midgut, liver and pancreas bullfrog tadpoles (*Rana catesbeiana*) fed commercial diets with 22, 24 or 28% of crude protein (CP) was evaluated. A total of 360 tadpoles, 15 days old, from the same spawning, was allotted to 30 L-boxes, using a density of 1 tadpole/L, kept at 25 °C ($\pm 1^\circ\text{C}$). A completely randomized experimental design with four replications was used. Three tadpoles of each group were collected from 9th to 48th day of feeding, and organs (midgut, liver and pancreas) were fixed in Bouin's solution and staining by Hematoxilyn and Eosine. The presence of extremely loose connective tissue in the intestinal loops of tadpoles suggested temporary situation for the change of the architecture after metamorphosis. During this period, there was an increase in goblet cells and microvilli numbers, and in the 25th day, it was observed presence of liver cells, with more compact glandular arrangement, suggesting functionality and confirms the best performance results obtained from that period in tadpoles fed diets with the highest protein level. On the 35th day, it was observed structure of bilobade liver, with signs of disorganization, which indicates rarefaction cell protein, due to poor use of dietary protein. Further studies are needed to continue the clarification of the physiological characteristics of bullfrogs during the tadpole phase.

Key Words: animal nutrition, frog culture, histology

Introdução

Na literatura são comuns relatos sobre a importância do conhecimento da morfologia do trato digestório das

diversas espécies animais, por serem muito variáveis, relacionando-as com a diversidade dos regimes alimentares e o modo de vida. Hidalgo & Alliot (1987) enfatizaram, por exemplo, que o comprimento do tubo digestório influencia

nos aspectos quantitativos da digestão e absorção de alimento.

As relações entre o regime alimentar e as características do aparelho digestório têm sido estudadas em vários grupos zoológicos e, em muitos, como o dos peixes, a tecnologia já possibilita o controle na formulação e manipulação de rações balanceadas, indispensável para obtenção de resultados produtivos satisfatórios (Menin, 1988; Logato, 1995; Gomide, 1996; Seixas Filho et al., 2000, 2001). Estes estudos são realizados com base em informações da literatura, como os de Gallego & Rus (1987), que consideraram imprescindível, antes do aprofundamento no estudo dos distintos mecanismos de absorção intestinal, o conhecimento das características anatomohistológicas do intestino dos peixes.

Contudo, na nutrição de anuros, principalmente de rã-touro (*Rana catesbeiana*), ainda não é possível estabelecer padrões de exigências que possam ser utilizados pelos nutricionistas, principalmente na fase essencialmente aquática, de girinos. Na ranicultura, a criação de girinos é fundamental, no entanto, a alimentação é um problema para o criador, pois são utilizadas rações comerciais formuladas geralmente considerando as exigências nutricionais de peixes, o que pode ocasionar desenvolvimento anormal ou mortalidade, prováveis sinais de desordens nutricionais (Albinati, 2000).

O fígado é o principal órgão envolvido e correlacionado ao metabolismo protéico e uma disfunção grave pode levar a um quadro irreversível (Guyton & Hall, 2002), com evidente diminuição da taxa de crescimento, e a morte do animal. Todo alimento, depois de metabolizado e digerido no trato intestinal, tem seus nutrientes processados no fígado, como a formação de uréia para remoção de amônia como efeito detoxificante e a síntese de certos aminoácidos (Hipólito et al., 2004).

Histologicamente, o intestino dos girinos é formado por um epitélio simples, com bordas em escova e células caliciformes. Observa-se também a presença dos tecidos muscular e conjuntivo e serosa. No fígado, as células hepáticas se apresentam em cordões. Por outro lado, o pâncreas é composto por células acinares e ilhotas de Langerhans.

Hipólito et al. (2001, 2004) relataram que todo o desempenho de rãs-touro depende da alimentação e qualquer alteração na função hepática pode causar sérias lesões no fígado. Desta forma, realizou-se este estudo com o objetivo de avaliar o desenvolvimento histológico do intestino médio, fígado e pâncreas de girinos de rã-touro (*Rana catesbeiana*) no início da alimentação exógena alimentados com rações comerciais contendo 22, 24 ou 28% de proteína bruta (PB).

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisas em Biologia do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da UNISUAM, Rio de Janeiro, RJ. Durante o período experimental, de 60 dias, foram utilizados 360 girinos de rã-touro (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802) com 15 dias de idade, no estágio 25 de Gosner (1960), provenientes de mesma desova.

Os girinos foram distribuídos em 12 caixas de polietileno (62,5 × 40 × 16 cm), com capacidade para 50 L, de coloração branca, com 30 L de água, cada uma com 30 animais, com 0,027 ± 0,009 g e 4,91 ± 0,45 mm de comprimento, resultando em densidade de 1 girino/L de água, como descrito por Arruda Soares et al. (1983).

A renovação da água nas caixas, mantidas a temperatura constante de 25°C (±1°C), foi de aproximadamente 200% do volume a cada 24 horas, segundo Seixas Filho et al. (1997). Em cada módulo experimental, houve aeração constante, por meio de soprador e mangueiras plásticas 3/16", provido de pedras porosas em suas extremidades e regulado por registro de mesmo calibre. A limpeza das caixas e o controle dos parâmetros físico-químicos da água foram realizados segundo metodologia descrita por Seixas Filho et al. (1998a).

Na alimentação dos girinos, foram utilizadas rações comerciais com três níveis de proteína bruta (PB), 22, 24 e 28% (Tabela 1), com granulometria de 0,5 mm, administradas na proporção de 5 a 10 g por unidade experimental, de acordo com o crescimento dos animais, diariamente, distribuídas uma vez ao dia, às 12 h, conforme descrito por Seixas Filho et al. (1998a).

As biometrias foram realizadas quinzenalmente avaliando-se o peso, o comprimento total e a taxa de sobrevivência, segundo Seixas Filho et al. (1998 a,b). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente ao acaso, em esquema de parcela subdividida, com quatro repetições. Nas parcelas foram testados os teores de proteína bruta (22, 24 e 28%) das rações e, nas subparcelas, as cinco biometrias, realizadas na instalação do experimento (dia 0) e aos 15, 30, 45 e 60 dias.

Para a realização do estudo histológico, foram coletados três girinos de cada repetição (22, 24 e 28% de PB), diariamente, a partir do 9º dia até o 48º dia do início da alimentação, quando os animais estavam com 19 e 58 dias de idade, respectivamente. Optou-se pela contagem em dias por ser a prática habitual na criação comercial. Os girinos escolhidos aleatoriamente foram acondicionados em recipientes com água a 4°C com o objetivo de promover a redução do metabolismo e, em seguida, foram anestesiados em solução de mentol, sacrificados e fixados por inteiro em solução

Tabela 1 - Composição das rações comerciais utilizadas na alimentação de girinos de rã-touro

	Nível de proteína bruta (%)		
	22	24	28
Umidade máxima	13,0	13,0	13,0
Proteína bruta (PB)	22,0	24,0	28,0
Estrato etéreo (mínimo)	4,0	4,0	4,0
Matéria fibrosa (máximo)	10,0	10,0	10,0
Cinzas (máximo)	14,0	14,0	14,0
Cálcio - Ca (máximo)	3,0	2,5	3,0
Fósforo - P (mínimo)	1,0	1,0	0,6

Composição básica: farelo de soja; farinha de peixe; farelo de trigo; farelo de glúten de milho 60%; farinha de carne e osso; milho; farinha de sangue; óleo de peixe; carbonato de cálcio; fosfato bicálcico; sal suplemento vitamínico¹ e mineral²; antioxidante³.

¹ Composição por kg: vit. A - 12.000 UI; vit. D₃ - 4.000 UI; vit. E - 150 UI; vit. K - 10 UI; ácido fólico - 10 mg; biotina - 0,8 mg; colina - 500 mg; niacina - 150 mg; pantotenato de cálcio - 50 mg; tiamina - 30 mg; riboflavina - 30 mg; piridoxina B6 - 30 mg; vit. B12 - 35µg; vit. C - 300 mg.

² Composição por kg: Mg - 700 mg; Mn - 30 mg; Zn - 200 mg; Cu - 15 mg; Fe - 100 mg; I - 1 mg; Se - 0,3 mg.

³ Etoxiquina - 250 mg.

fixadora de Bouin, durante 12 a 24 horas, em temperatura ambiente. Os girinos, depois de fixados, foram desidratados em séries crescentes de álcool etílico, clarificados com xilol e incluídos em parafina, segundo técnicas de rotina descritas por Humason (1972). Durante a inclusão em parafina, realizou-se orientação para cortes transversais. Os cortes seriados, de 5µm de espessura, obtidos com o auxílio de micrótomo Spencer, foram montados em lâminas de vidro e processados para a coloração por hematoxilina e eosina.

Resultados e Discussão

A média das máximas e mínimas da temperatura do ar foram 30 e 25°C, respectivamente. A média da temperatura da água observada variou de 24 a 26°C e o pH manteve-se na faixa de 7,0 a 8,9. Os valores de temperatura e do pH mantiveram-se nos limites aceitáveis para girinos e foram semelhantes aos reportados por Fontanello et al. (1982, 1988) e Seixas Filho et al. (1998 a,b), uma vez que, segundo Tavares (1994), a boa qualidade da água em tanques e viveiros é a chave do sucesso da produção racional da aquicultura.

Os cortes histológicos do intestino médio, sob microscopia de luz comum, apresentaram tecido conjuntivo extremamente frouxo (Figura 1) durante todo o período de observação, com considerável diferença em comparação a outras espécies animais, o que sugere situação provisória. Este tecido conjuntivo auxiliaria na mudança da arquitetura intestinal após a metamorfose.

Além destes achados, observou-se grande número de circunvoluções formando várias alças no intestino médio (Figura 2), assim como aumento no número de células

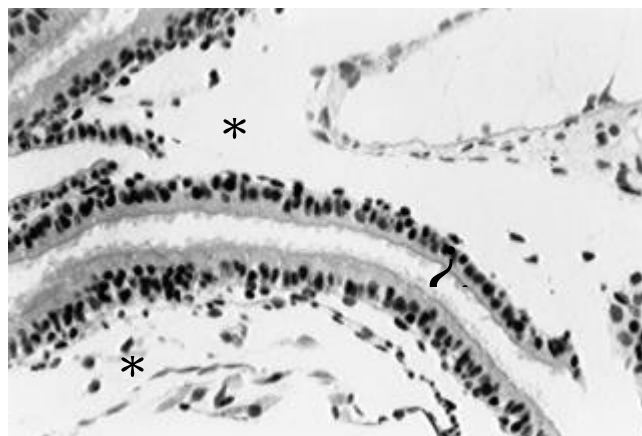


Figura 1 - Fotomicrografia do intestino médio de girinos de rã-touro.

Presença de tecido conjuntivo frouxo (*) e epitélio com microvilosidades (↵) (Borda em escova) no 25º dia do período experimental. Coloração por HE 100X.

caliciformes e de microvilosidades, também observado por Oliveira-Bahia (2007).

Essas variações resultaram em acentuada curvatura nas alças intestinais (Figura 2) logo após cada circunvolução, estrutura relacionada à absorção dos nutrientes. Resultados semelhantes foram observados por Seixas Filho et al. (2000), que estudaram a topografia do trato gastrointestinal do peixe neotropical *Brycon orbignyanus*, de hábito alimentar onívoro. Considerando a topografia do intestino médio desses animais, pode-se inferir que a opção pela utilização das rações comerciais com granulometria de 0,5 mm contribuiu para que não houvesse interferência no desempenho dos animais, conforme recomendação de Seixas Filho et al. (1998b), facilitando o englobamento da ração e a utilização de nutrientes.

No 11º dia após o início da alimentação exógena, ou seja, no 21º dia após a fecundação do ovo, observaram-se o surgimento de esboços, a partir do epitélio intestinal, que originam o fígado e a diferenciação das células hepáticas, ainda em formação do arranjo glandular. O pâncreas apareceu neste mesmo período, com o início da formação dos ácinos serosos pancreáticos, e se desenvolveu na mesma velocidade do fígado (Figura 3), como observado por Oliveira-Bahia (2007).

No 25º dia de experimento, ou seja, no 35º dia de vida dos girinos, observou-se, pela primeira vez, a presença de células hepáticas, com arranjo glandular mais compacto e formação dos ácinos pancreáticos (Figura 4), o que sugere funcionalidade.

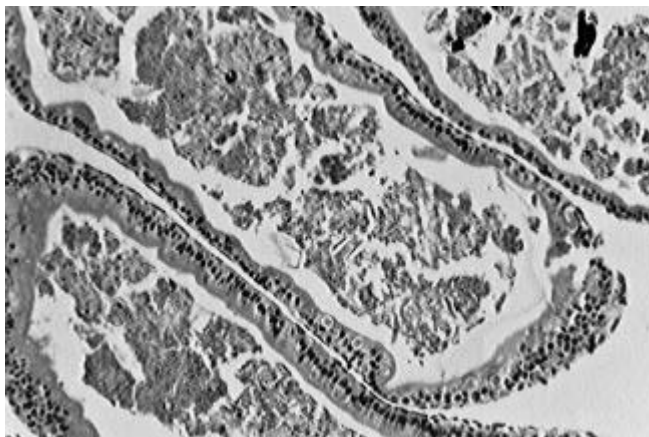


Figura 2 - Fotomicrografia da sinuosidade das alças do intestino médio de girinos de rã-touro no 25^o dia do período experimental. Coloração por HE, 100X.

No 35^o dia do início da alimentação exógena e 45^o de vida dos animais, observou-se a estrutura do fígado bilobado e do pâncreas (Figura 5), entretanto, o fígado apresentava sinais de desorganização, degeneração e vacuolização celular, indicando possível rarefação de células protéicas, podendo ser um indicativo de mau aproveitamento da ração, que pode estar relacionado à sua estrutura física e, ou, ao seu balanceamento nutricional. Situação diferente do observado em animais considerados saudáveis e semelhante à de animais de engorda e adultos com graves lesões hepáticas (Hipolito et al, 2001 e 2004).

Nesta fase também foram observados nos hepatócitos indícios de reservas lipídicas em vacúolos, situação considerada normal (Sheridan & Kao, 1998; Oliveira-Bahia, 2007).

O fígado e o pâncreas estavam completamente formados entre o 33^o e o 35^o dia do período experimental em comparação aos estágios anteriores (Figura 6). Contudo, observou-se rarefação de deposição protéica no citoplasma dos hepatócitos.

Os dados histológicos foram comparados ao desempenho dos girinos alimentados com as rações de cada nível protéico (Tabelas 2 e 3).

Entre as rações testadas, aquela com 22% de PB promoveu o maior percentual de sobrevivência, diferindo em apenas 8,33% no final do experimento da ração com 28% de PB (Tabela 2). Este achado diverge dos resultados observados por Barbosa et al. (2005), que relataram, em estudo semelhante, sem controle dos fatores físico-químicos da água, que a ração comercial contendo 22,5% de PB provocou cerca de 50% de mortalidade dos girinos alimentados com essa dieta após 45 dias de experimentação.

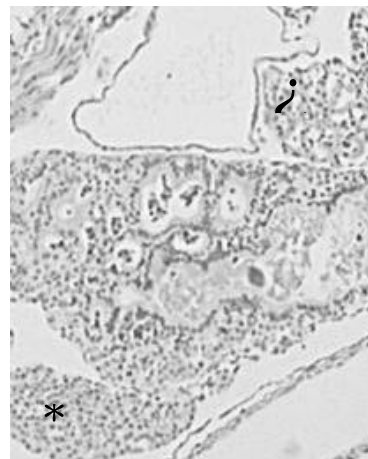


Figura 3 - Fotomicrografia do fígado (*) e do pâncreas (↙) dos girinos de rã-touro, em formação, com início do arranjo glandular no 11^o dia do período experimental. Coloração por HE, 200X.

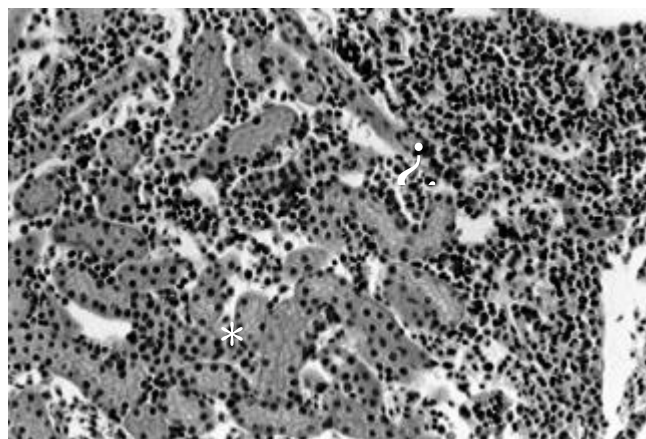


Figura 4 - Fotomicrografia do fígado (*) e do pâncreas (↙) dos girinos de rã-touro, em formação, com arranjo glandular no 25^o dia do período experimental. Coloração por HE, 200X.

Apesar de a sobrevivência dos animais alimentados com 22% de PB ter sido alta, provavelmente por estarem sob condições de conforto, seu peso médio ao final do experimento foi o menor (2,845 g) entre as rações comerciais testadas. O melhor desempenho em peso médio foi obtido com a ração contendo 28% de PB (5,279 g), seguido da ração com 24% (3,558 g). Comportamento semelhante foi observado por Barbalho (1991), Stéfanie & Crivelenti (1992), Carmona-Osalde et al. (1996), Braga & Lima (2001) e Hayashi et al. (2004), que relataram maior desempenho em animais que recebiam ração com maior teor protéico.

Contudo, os resultados das biometrias demonstraram que os girinos, nas primeiras medições (Tabelas 2 e 3), independentemente da ração comercial utilizada, apresen-

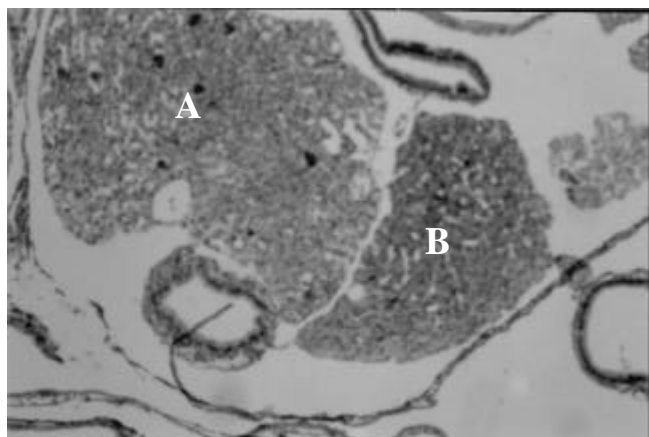


Figura 5 - Corte histológico do fígado (A) e pâncreas (B), em formação, de girinos de rã-touro aos 35 dias do período experimental, com formação de dois lóbulos no fígado. Coloração HE (20X).

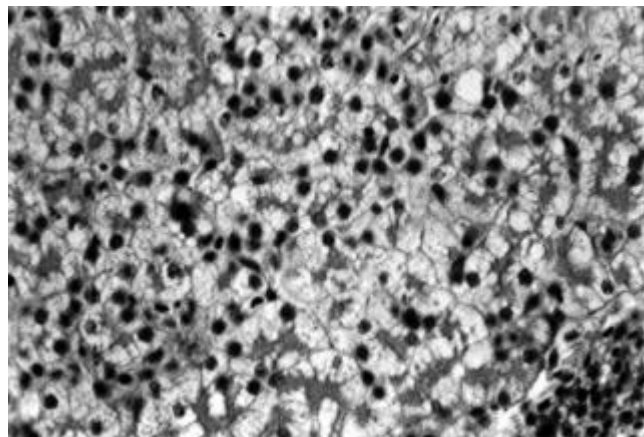


Figura 6 - Fotomicrografia do fígado formado de girinos de rã-touro aos 35 dias do período experimental, com sinais gerais de desorganização, degeneração e vacuolização celular. Coloração HE, 400X.

taram peso e crescimento sem diferença significativa ($P>0,05$). A partir da 3ª biometria, com 30 dias de vida, e pela histologia já com o fígado com aspecto funcional, os animais alimentados com rações com maior nível de PB cresceram mais, com diferenças significativas entre si ($P<0,05$). O grupo alimentado com a ração de 28% de PB apresentou crescimento maior e com resultados significativos ($P<0,05$) em relação aos demais. Resultados semelhantes foram relatados por Barbosa et al. (2005).

Sem ação efetiva, quantitativa e qualitativamente, das glândulas anexas, na liberação de enzimas para o trato gastrointestinal, ocorrem prejuízos na absorção de nutrientes do alimento e, conseqüentemente, no desenvolvimento do animal, o que pode esclarecer os resultados semelhantes

obtidos no desempenho dos girinos alimentados com rações comerciais com níveis diferentes de proteína bruta, antes da formação das glândulas anexas, ou seja, a partir do 25º dia de alimentação.

Este fato indica que, até ao 25º dia, os girinos podem ser alimentados com qualquer uma das três rações, sem que haja interferência em seu peso médio, o que permite inferir que existem limitações fisiológicas neste período que influenciam na utilização dos nutrientes das rações testadas.

A hipótese da funcionalidade corrobora os resultados de desempenho obtidos a partir do 25º dia, quando os animais alimentados com as rações de maior nível de PB se destacaram dos demais, com diferenças significativas ($P<0,05$) no desempenho.

Tabela 2 - Sobrevivência e peso médio de girinos de rã-touro alimentados com rações comerciais contendo diferentes teores de proteína bruta (PB) durante 60 dias

Proteína bruta (%)	Biometria (dias)					Média
	0	15	30	45	60	
	Sobrevivência (%)					
22	100,00	95,00	95,00	93,33	90,83	94,83
24	100,00	86,67	85,83	85,00	78,33	87,17
28	100,00	85,83	85,00	84,17	77,50	86,50
	Peso (g)					
22	0,026a	0,327a	1,111b	1,668c	2,845c	1,195
24	0,026a	0,354a	1,311b	2,301b	3,558b	1,510
28	0,028a	0,316a	1,834a	3,257a	5,279a	2,143

Em cada biometria (coluna), médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem ($P>0,05$) entre si pelo teste Newman-Keuls.

Tabela 3 - Comprimento médio de girinos de rã-touro alimentados com rações comerciais com três teores de proteína bruta (PB) durante 60 dias

Proteína bruta (%)	Biometria (dias)					Média
	0	15	30	45	60	
	Comprimento (mm)					
22	5,00a	11,05a	16,29b	19,42c	24,28b	15,21
24	4,93a	10,88a	17,17b	22,47b	24,77b	16,04
28	4,80a	10,83a	18,70a	25,12a	29,10a	17,71

Em cada biometria (coluna), médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem ($P>0,05$) entre si pelo teste de Newman-Keuls.

Conclusões

Nas condições experimentais a que foram submetidos, independentemente das rações comerciais utilizadas, os girinos de rã-touro apresentaram desenvolvimento homogêneo do 1^o ao 25^o dia do período experimental, quando o fígado e o pâncreas apresentam-se histologicamente pouco estruturados. A partir do início da estruturação do fígado e pâncreas, no 35^o dia de experimento, os girinos alimentados com a ração comercial com maior nível de proteína se destacaram, com maior peso e comprimento, o que indica uso de ração de menor nível de proteína nos primeiros dias de criação dos girinos, que diminui a possibilidade de alteração da qualidade da água pela adição de menor quantidade de compostos nitrogenados, assim como a redução de processos tóxicos no metabolismo dos animais. Esse trabalho deve ser complementado com futuros estudos para esclarecimento dos fenômenos morfofisiológicos da fase de girino e associação dos resultados ao gerenciamento de custos.

Literatura Citada

- ALBINATI, R.C.B.; LIMA, S.L.; TAFURI, M.L. et al. Digestibilidade aparente de dois alimentos protéicos e três energéticos para girinos de rã-touro (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, p.2151-2156, 2000.
- ARRUDA SOARES, H.; FONTANELLO, D.; MANDELLI JR., J. et al. Efeito da densidade de população no ganho de peso de girinos da rã-touro (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802). **Boletim Instituto de Pesca**, v.10 (único), p.47-51, 1983.
- BARBALHO, O.J.M. **Exigência de proteína bruta de rã-touro (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802), na fase de terminação**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1991. 55p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1991.
- BARBOSA, J.M.; SILVEIRA, A.M.; GOMIDE, C.A. Crescimento heterogêneo de girinos de rã-touro alimentados com diferentes rações. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, n.10, p.1015-1019, 2005.
- BRAGA, L.G.T.; LIMA, S.L. Influência da temperatura no desempenho da rã-touro, *Rana catesbeiana* (Shaw, 1802) na fase de recria. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1659-1663, 2001.
- CARMONA-OSALDE, C.; OLIVERA-NOVOA, M.A.; RODRÍGUEZ-SERNA, M. et al. Estimation of the protein requirement for bullfrog (*Rana catesbeiana*) tadpoles, and its effect on metamorphosis ratio. **Aquaculture**, v.141, p.223-231, 1996.
- DODD, M.H.I.; DODD, J.M. The biology of metamorphosis. In: LOFTS, B. (Ed.) **Physiology of the Amphibia**. New York: Academic Press, 1976. v.3, p.467-599.
- DUELLMAN, W.E.; TRUEB, L. Integumentary, sensory and visceral systems. In: DUELLMAN, W.E.; TRUEB, L. (Eds.) **Biology of amphibians**. New York: McGraw-Hill, 1986. 670p.
- FONTANELLO, D.; ARRUDA SOARES, H.; MANDELLI JR., J. et al. Manejo alimentar de rãs. In: ENCONTRO NACIONAL DE RANICULTURA, 6., 1988, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: ARERJ, 1988. p.125-132.
- FONTANELLO, D.; ARRUDA SOARES, H.; MANDELLI JR., J. et al. Crescimento de girinos de *Rana catesbeiana*, SHAW, 1802 (rã-touro) criadas com rações de diferentes níveis protéicos. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.9 (único), p.125-129, 1982.
- GALLEGO, M.G.; RUS, A.S. Absorción intestinal en peces. In: ESPINOSA DE LOS MONTEROS, J.; LABARTA, U. (Eds.). **Nutrición en acuicultura I** Madrid: Plan de Formación de Técnicos Superiores en Acuicultura, 1987. p.123-171.
- GOMIDE, A.T.M. **Anatomia funcional, e morfometria comparativas do tubo digestivo de trairão (*Hoplias cf. lacerdae* RIBEIRO, 1908) (CHARACIFORMES, ERYTHRINIDAE), em diferentes classes de tamanho**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1996. 76p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1996.
- GOSNER, K.L. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. **Herpetologica**, v.16, p.183-190, 1960.
- GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de fisiologia médica**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2002. 972p.
- HAYASHI, C.; SOARES, C.M.; GALDIOLI, E.M. et al. Desenvolvimento de girinos de rã-touro (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802) cultivados em diferentes densidades de estocagem em tanques-rede. **Aquaculture**, v.1, p.14-20, 2004.
- HIDALGO, F.; ALLIOT, E. La digestión en los peces. In: ESPINOSA DE LOS MONTEROS, J.; LABARTA, Y.U. (Eds.). **Nutrición en acuicultura I** Madrid: Plan de Formación de Técnicos Superiores en Acuicultura, 1987. p.85-107.
- HIPOLITO, M.; LEME, M.C.M.; BACH, E.E. Lesões anátomo-histopatológicas em rãs-touro (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802) associadas à deterioração da ração. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.68, n.1, p.111-114, 2001.
- HIPOLITO, M.; MARTINS, A.M.C.R.P.F.; BACH, E.E. Aspectos bioquímicos em fígado de rãs -touro (*Rana catesbeiana* SHAW, 1802) sadias e doentes. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.71, n.2, p.147-153, 2004.
- HUMASON, G.L. **Animal tissue techniques**. 3.ed. São Francisco: W.H. Freeman and Company, 1972. 641p.
- LOGATO, P.V.R. **Anátomo-histologia funcional do aparelho digestivo do pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg**,

- 1887 (Characiformes, Characidae, Myelinae).** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1995. 118p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1995.
- MENIN, E. **Anátomo-histologia funcional comparativa do aparelho digestivo de seis Teleostei (Pisces) de água doce.** São Paulo: Universidade de São Paulo, 1988. 557p. Tese (Doutorado em Anátomo-Fisiologia) - Universidade de São Paulo, 1988.
- OLIVEIRA-BAHIA, V.R.L. **Morfologia e enzimologia do sistema digestório dos girinos da rã-touro (*Rana catesbeiana*) durante o desenvolvimento e metamorfose.** Jaboticabal, 2007. 130p. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, 2007.
- SEIXAS FILHO, J.T.; BRÁS, J.M.; GOMIDE, A.T.M. et al. Anatomia funcional e morfometria dos intestinos e dos cecos pilóricos do teleostei (Pisces) de água doce *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849). **Revista Brasileira de Zootecnia**, 29, n.2, p.313-324, 2000.
- SEIXAS FILHO, J.T.; FONSECA, C.C.; OLIVEIRA, M.G.A. et al. 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.
- SEIXAS FILHO, J.T.; ROSTAGNO, H.S.; QUEIROZ, A.C. et al. Avaliação do desempenho de pós-larvas no camarão-de-água-doce *Macrobrachium rosenbergii*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.4, p.629-637, 1997.
- SEIXAS FILHO, J.T.; MELLO, S.C.R.P.; SILVA, J.M.F. et al. Efeito dos níveis de energia e proteína bruta no desempenho de girinos (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, p.664-669, 1998a.
- SEIXAS FILHO, J.T.; MELLO, S.C.R.P.; VEIGA, R.C.A. et al. Efeito da granulometria da ração sobre o desempenho de girinos de *Rana catesbeiana*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, p.224-230, 1998b.
- SHERIDAN, M.A.; KAO, Y. Regulation of metamorphosis-associated changes in the lipid metabolism of selected vertebrates. **American Zoology**, v.38, p.350-368, 1998.
- STÉFANI, M.V.; CRIVELANTI, G. Níveis protéicos e proporções de proteína de origem animal em dietas artificiais para girinos de rã-touro (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 7., 1992, Perúfibe. **Anais...** Perúfibe: Simbraq, 1992. p.183-190.
- TAVARES, L.H.S. **Limnologia aplicada à aquicultura.** Jaboticabal: FUNEP, 1994. 70p.