

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

**YASMIM ALVES ARAÚJO DE OLIVEIRA**

**Análises morfológicas e histoquímicas da ontogenia do sistema  
digestório de *Pseudoplatystoma reticulatum*, *Leiarius marmoratus* e das  
progênes do cruzamento entre estas espécies**

Ilha Solteira

2020

**YASMIM ALVES ARAÚJO DE OLIVEIRA**

**Análises morfológicas e histoquímicas da ontogenia do sistema  
digestório de *Pseudoplatystoma reticulatum*, *Leiarius marmoratus* e das  
progênes do cruzamento entre estas espécies**

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia –  
Unesp, Câmpus de Ilha Solteira como parte das  
exigências para a obtenção do título de Mestra em  
Ciência e Tecnologia Animal.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Ninhaus Silveira  
Coorientadora: Profa. Dra. Renata Alari Chedid

Ilha Solteira

2020

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

O48a Oliveira, Yasmim Alves Araújo de.  
Análises morfológicas e histoquímicas da ontogenia do sistema digestório de *Pseudoplatystoma reticulatum*, *Leiarius marmoratus* e das progêneses do cruzamento entre estas espécies / Yasmim Alves Araújo de Oliveira. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2020  
71 f. : il.

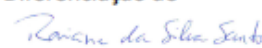
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Produção Animal, 2020

Orientador: Alexandre Ninhaus Silveira

Coorientador: Renata Alari Chedid

Inclui bibliografia

1. Híbrido. 2. Ontogenia. 3. Alimentação exógena. 4. Diferenciação de órgãos.

  
Raiane da Silva Santos

Supervisora Técnica de Seção

Seção Técnica de Referência, Atendimento ao usuário e Documentação  
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação  
CRB/8 - 9999

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE YASMIM ALVES ARAÚJO DE OLIVEIRA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA ANIMAL, DA FACULDADE DE ENGENHARIA-CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA.

Aos 20 dias do mês de fevereiro do ano de 2020, às 08:30 horas, no(a) Sala de reuniões do Campus II, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. ALEXANDRE NINHAUS SILVEIRA - Orientador(a) do(a) Departamento de Biologia e Zootecnia/ Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP, Prof. Dr. ALAN PERES FERRAZ DE MELO do(a) Departamento de Biologia e Zootecnia/ Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP, Prof. Dr. CLAUDEMIR KUHN FACCIOLI do(a) Instituto de Ciências Biomédicas / Universidade Federal de Uberlândia - UFU , sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de YASMIM ALVES ARAÚJO DE OLIVEIRA, intitulada ..... morfologia e histológicas da entomologia do sistema digestório de *Pseudoplatystoma reticulatum* (EIGENMANN & EIGENMANN, 1889), *Latesia marmorata* (GILL, 1870) e das pragas de ..... Após a exposição, a discente foi arguida oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final: APROVADA. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora:

Prof. Dr. ALEXANDRE NINHAUS SILVEIRA 

Prof. Dr. ALAN PERES FERRAZ DE MELO 

Prof. Dr. CLAUDEMIR KUHN FACCIOLI 

## **Dedicatória**

*Á minha avó Isaura, pelo carinho, apoio e dedicação. Á minha mãe e meu marido, pelo amor incondicional. Aos meus irmãos, por toda motivação e carinho apesar da distância e saudade. Á minha afilhada Ana Beatriz, por todo amor e por ser o motivo da minha felicidade. É para e por vocês que eu busco ser melhor a cada dia.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e a possibilidade de empreender esse caminho evolutivo, por propiciar tantas oportunidades de estudos e por colocar em meu caminho pessoas amigas e preciosas. E acima de tudo por sempre me ouvir em minhas orações.

Aos amigos e companheiros de trabalho do Laboratório de Ictiologia Neotropical (L.I.NEO), Maria Luiza, Crystal, Malbelys, Stella, Evellyn, Luciane, Laicia, Patrícia, Laís, Bruna, Yane, Naiara, Fabrício, Cristiane Bashyo e Bárbara. Obrigada por fazerem cada dia especial, mesmo aqueles que não estão presentes rsrs!

Aos Professores Dr. Alexandre Ninhaus Silveira e Dra. Rosicleire Verissimo Silveira, por terem me aceitado no programa e no laboratório e principalmente pelo acompanhamento, aconselhamento, orientações e pela amizade. A Geovana Zacheo Coelho, por disponibilizar o material que possibilitou a realização da minha pesquisa.

A UNIVESP pela concessão da bolsa de mestrado e a oportunidade de crescimento e desenvolvimento que me proporcionou.

Agradeço muito a equipe da secretária do Departamento de Biologia e Zootecnia, Meire e Júnior por toda ajuda, conversas, incentivo, amizade e carinho, durante todo esse período. Obrigada também aos vigilantes da guarita, sempre muito prestativos e com o tempo se tornaram amigos.

A Patrícia por toda a ajuda, compreensão, paciência, auxílio, orientação, ajuda, ajuda e ajuda rsrsrs...agradeço a Deus por você ser tão prestativa e por ter me ajudado tanto sempre, você é incrível!!! Não importa quantas vezes eu diga obrigada nunca será suficiente, mas, mesmo assim, Muito Obrigada Pati!

Ao meu grupo de pesquisa Laicia, Stella, Laís, Malbelys, Fabricio e Evellyn, por toda ajuda durante o período de qualificação e defesa, sem vocês não teria conseguido, obrigada por tudo.

Agradecimentos especiais ao meu querido orientador, Prof. Dr. Alexandre Ninhaus Silveira, obrigada por ter me aceitado no programa, ter me ensinado tanto, até em seus momentos de silêncio você nos ensina muito, obrigada por ser paciente comigo e entender minhas dificuldades, obrigada por ensinar e deixar eu aprender com meus erros, pois só assim eu realmente estou aprendendo. Enfim, te admiro e respeito muito, pela paciência e carinho que teve nos momentos mais difíceis, pelo incentivo e por acreditar em minha capacidade. Muito obrigada por você ser essa pessoa maravilhosa.... Agradecimentos eternos.

Agradecimentos especiais a minha querida orientadora, Profa. Dra. Renata Alari Chedid, obrigada por ter aceitado fazer parte deste trabalho e me orientar com tanta paciência e empenho, obrigada por corrigir o trabalho em finais de semana e feriados, por ser paciente comigo e entender minhas dificuldades, sempre me motivar e acreditar em mim em momentos que nem eu mesma acreditei. Obrigada pelas palavras de apoio nos momentos de desespero quando achava que tudo estava péssimo e você sempre dizia para continuar, que tudo daria certo e que você acreditava em mim.... Muito obrigada por você ser essa pessoa competente e brilhante.... Agradecimentos eternos.

As minhas amigas Lu, Evellyn, Laicia, Bruna e Yane por todos os momentos especiais, por todos os desabafos, abraços, conversas, risadas e lágrimas compartilhadas, vocês foram e são parte fundamental da minha vida e fazem minha vida muito mais feliz, não sei o que seria de mim sem vocês. Com vocês nunca me sinto sozinha, obrigada por me fazerem me sentir assim. AMO MUITO VOCÊS. Especialmente a Laicia e Bruna, sem palavras para descrever o amor, amizade e apoio de vocês AMO MUITO VOCÊS.

Obrigada a minha melhor e mais antiga amiga Mariana, por nunca me abandonar, me esquecer, e manter nossa amizade durante esses 14 anos rrsrrs, você é a pessoa mais dramática que existe e tem um coração enorme. Ao longo desses anos você sempre me escutou sobre meus problemas de todos os tipos, enxugou minhas lágrimas, esteve sempre ao meu lado em todos os meus momentos difíceis e felizes. Obrigada por transformar uma das minhas semanas mais tristes em uma semana de pura alegria e amor, com a notícia da sua gravidez, gêmeos!!! Apesar da distância você sempre seguiu me apoiando, especialmente em momentos difíceis, suportou meus desesperos, teve paciência para me acalmar e dizer que tudo daria certo. *Amizade é muito mais que laços de sangue, é ligação de alma.* Muito obrigada Mari pela sua amizade, AMO MUITO VOCÊS.

Agradeço a toda a minha família, mãe, pai, madrinha, padrinho, tias, tios, avós, avôs, primos e sogros por todo o apoio. Obrigada aos meus sogros Sônia e Arlindo, por todo apoio, incentivo e carinho. Obrigada aos meus padrinhos por serem tão maravilhosos e fazerem sempre o esforço de me visitar e saber como estou, AMO MUITO VOCÊS.

Agradeço imensamente a minha mãe por ser essa pessoa maravilhosa, forte, resistente, resiliente, honesta, trabalhadora... que sempre lutou muito para proporcionar a mim e aos meus irmãos uma vida digna e principalmente cheia de amor. Mãe você sempre fez e faz o impossível por mim, Yohanna e Ruiteer Filho, e nunca pediu nada em troca, a não ser que fossemos felizes e mesmo em momentos que não estamos felizes você sempre dá um jeito de tentar mudar a situação e nós fazer ficar bem. O mais importante é que sempre estaremos bem enquanto tivermos você, pois você é nossa segurança, nosso porto seguro e com certeza é a pessoa que NÓS MAIS AMAMOS. Obrigada por me ensinar a ter mais calma, ter mais paciência, a orar, confiar e ter fé... obrigada por acalmar meu coração nos dias que não estou bem, obrigada por todas as orações, conselhos, por nunca duvidar de mim, e por ser a pessoa que eu mais confio. Desculpa estar tão longe no dia a dia, mas lembre-se que sinto sua falta todos os dias. TE AMO DE TODO MEU CORAÇÃO.

Agradeço ao meu gato/filho Fred que amo incondicionalmente, razão da minha alegria ao retornar para casa, obrigada por fazer meus dias mais felizes e pelo seu amor incondicional. Ao meu marido, amor da minha vida Gustavo que sempre me apoia em todas as minhas decisões, agradeço toda sua paciência comigo em tentar me entender, especialmente em meus momentos de ansiedade. Obrigada por cada crítica construtiva que me fez crescer, ser melhor como pessoa e profissional. Sem dúvidas você é a minha base, me mantém firme e focada nos meus objetivos, minha principal fonte de inspiração de dedicação e sucesso e com certeza uma das pessoas mais importantes da minha vida. Obrigada por ser uma das pessoas que mais torce por mim, por me amar mesmo quando eu estou brava, calada, angustiada, por tentar me fazer me sentir bem, me fazer sorrir, me ajudar a resolver cada problema, por cada sacrifício que você faz por mim e pela nossa família para nos vê feliz...enfim obrigada por ser esse marido, companheiro, pai maravilhoso e por te colocado a Pietra em minha vida. TE AMO SEMPRE.

Agradeço especialmente a minha avó Isaura, por todo amor e apoio incondicional, por ser a pessoa que sempre vibra com a minhas conquistas e que sempre faz questão de celebrar cada momento importante e cada conquista minha, mesmo que seja pequena. Obrigada por ter ajudado a construir as melhores lembranças da minha infância e da minha vida adulta também. Obrigada por se preocupar comigo da mesma que você se preocupava quando eu era criança... quando eu chego de viagem e te chamo no portão da sua casa você me recebe com o mesmo amor e carinho que você me recebia de quando eu era pequena rrsrrs, eu acho ótimo e me sinto muito amada. Vó obrigada por ter me

ensinado tantas lições preciosas como: ter me ensinado que quando se tem algo para fazer pegue e faça, não fique enrolando; dê valor as pequenas coisas; dê valor nas coisas que você faz com amor; trabalhe arduamente e a recompensa virá naturalmente; dê valor na família é eles que sempre estarão do seu lado. Obrigado por tudo e por muito mais, pois não existem palavras para descrever tudo o que você me ensinou e o quanto eu te amo. TE AMO!!!

Agradeço aos meus irmãos Yohanna e Rüter Filho (meu gêmeo e minha metade) por todo o apoio e por sempre acreditarem em mim. Vocês são uma das melhores partes da minha vida, meus melhores momentos é quando estamos juntos, apesar das nossas brigas kkkk sem vocês me sinto incompleta e sozinha, agradeço a Deus todos os dias por ter vocês dois. Obrigada por sempre me escutarem, poder desabafar com vocês e poder falar sobre qualquer coisa. Não existem palavras para dizer o quanto amo vocês e o quanto são importantes para mim. AMO VOCÊS DE TODO MEU CORAÇÃO. Obrigada as minhas tias Cláudia e Rejane, vocês que sempre foram muito presentes na minha vida e ajudaram a me criar. Obrigada pelo exemplo de mulheres fortes e resistentes que sempre foram, por cada palavra de carinho, por cada abraço, apoio e acima de tudo pelo fato de que em vários momentos quando necessário vocês fizeram e fazem o papel de mãe. Obrigada a Deus pela existência da Ana Beatriz e da Pietra, vocês são a luz da minha vida, a melhor coisa que poderia ter me acontecido. AMO VOCÊS DE TODO MEU CORAÇÃO.

Agradeço a minha avó Dagmar e meu avô Toninho, por todo amor e carinho. Aos meus tios Sérgio, Cida e meus primos Bruna, Serginho, Douglas e Glacione, por serem os melhores tios e primos/irmãos do mundo, eu amo vocês imensamente, nossos momentos juntos são maravilhosos, nossos momentos em família são os melhores. Agradeço por todo o apoio e por nunca duvidarem de mim, não houve um momento em que eu dissesse que fosse fazer algo que vocês não me motivassem ou falassem que tinham certeza que eu era capaz de conquistar aquilo. E principalmente obrigada por colocar em nossas vidas o Heitor e Ana Flávia. AMO VOCÊS DE TODO MEU CORAÇÃO.



*Eu aprendi....*

*... que o AMOR, e não o TEMPO, é que cura todas as feridas;*

*... que ser gentil é mais importante do que estar certo;*

*... que a vida é dura, mas eu sou mais ainda;*

*... que não posso escolher como me sinto, mas posso escolher o que fazer a respeito;*

*.... que todos querem viver no topo da montanha, mas toda felicidade e crescimento;*

*ocorre quando você está escalando-a.*

**H. Jackson Brown JR.**

*“Estude a si mesmo, observando que o autoconhecimento traz humildade e sem humildade é impossível ser feliz. ”*

**Allan Kardec**

*“No mesmo instante em que recebemos pedras em nosso caminho, flores estão sendo plantadas mais longe. Quem desiste não as vê. ”*

**William Shakespeare**

## RESUMO

*Pseudoplatystoma reticulatum*, *Leiarius marmoratus* e o híbrido resultante do cruzamento entre essas espécies apresentam características zootécnicas interessantes e promissoras para o cultivo em piscicultura. Porém, a larvicultura dessas espécies apresentam altos índices de mortalidade, pois nesse período as larvas não estão totalmente desenvolvidas e não possuem o sistema digestório completamente formado. Pesquisas relacionadas ao desenvolvimento do sistema digestório de larvas tem sido uma ferramenta importante para o conhecimento sobre os períodos de alimentação endógena, exógena e mista. Neste sentido, este trabalho teve como objetivo analisar e comparar as características anatômicas, histológicas e histoquímicas do sistema digestório de *Pseudoplatystoma reticulatum*, *Leiarius marmoratus* e do híbrido, nas fases iniciais de desenvolvimento após eclosão. As amostras foram fixadas em solução de karnovsky (paraformaldeído 4% + glutaraldeído 2% + tampão fosfato Sorensen 0,1 M, pH 7,2), e processadas para análise anatômica, histológica e histoquímica. As larvas de *P. reticulatum*, *L. marmoratus* e híbrido eclodiram 24 horas após a fertilização. As larvas recém-eclodidas apresentaram-se pouco desenvolvidas e com escassez de cromatóforos. A cavidade bucofaríngea pôde ser observada, mas não foi possível diferenciar os componentes do tubo digestivo. As reservas de vitelo foram observadas até o 3º DPE em *P. reticulatum* e em *L. marmoratus* e no Híbrido até o 4º DPE. Para os três modelos biológicos, as primeiras células caliciformes do esôfago foram observadas ao 1º DPE. O epitélio de revestimento do esôfago foi caracterizado como estratificado pavimentoso e com a presença de células caliciformes. Com o desenvolvimento dos animais, as células caliciformes foram reativas ao PAS, AB, PAS+AB. Com relação ao estômago, em *P. reticulatum* e *L. marmoratus* as primeiras estruturas foram visualizadas no 3º DPE, a formação das glândulas gástricas foi observada a partir do 15º DPE e 14º DPE, respectivamente. No Híbrido as primeiras estruturas do estômago foram visualizadas ao 4º DPE e até o 12º DPE não foram observadas a formação de glândulas gástricas. O epitélio de revestimento do estômago foi caracterizado como simples colunar com ausência de células caliciformes. Foi observada intensa reação ao PAS no epitélio de revestimento do estômago ao 3º DPE para larvas de *P. reticulatum*, no 5º DPE para larvas de *L. marmoratus* e 4º DPE para o Híbrido, indicando a presença de mucosubstâncias neutras. Quanto ao intestino, este apresentou epitélio simples colunar e células caliciformes sendo mais concentradas na região posterior. As células caliciformes do intestino apresentaram reação positiva ao PAS e PAS+AB, indicando a presença de mucosubstâncias neutra e ácida. Sobre a formação das glândulas anexas, o fígado teve sua diferenciação observada no 1º DPE e o pâncreas ao 2º DPE. No início da alimentação exógena as glândulas anexas já se encontravam bem desenvolvidas.

**Palavras chave:** Híbrido. Ontogenia. Alimentação exógena. Diferenciação de órgãos.

## ABSTRACT

*Pseudoplatystoma reticulatum*, *Leiarius marmoratus* and the hybrid resulting from the cross between these species show interesting and promising zootechnical characteristics for fish farming. The main bottleneck of larviculture today is the high mortality rate in the early stages of life, because in this period the larvae are not fully developed and do not have a fully formed digestive system. Research related to the development of the digestive system of larvae, has been an important tool for understanding the periods of endogenous, exogenous and mixed feeding. In this sense, this work aimed to analyze and compare the anatomical, histological and histochemical characteristics of the digestive system of *Pseudoplatystoma reticulatum*, *Leiarius marmoratus* and the hybrid, in the early stages of development after hatching. The samples were fixed in a Karnovsky solution (paraformaldehyde 4% + glutaraldehyde 2% + phosphate buffer Sorensen 0.1 M, pH 7.2), and processed for anatomical, histological and histochemical analysis. The larvae of *P. reticulatum*, *L. marmoratus* and hybrid hatched 24 hours after fertilization. The newly hatched larvae were poorly developed, with a shortage of chromatophores. The buccopharyngeal cavity could be observed, but it was not possible to differentiate the components of the digestive tract. Yolk reserves were observed until the 3<sup>o</sup> DPE in *P. reticulatum* and in *L. marmoratus* and in the hybrid until the 4<sup>o</sup> DPE. For the three biological models, the first goblet cells of the esophagus were observed at the 1<sup>o</sup> DPE. The esophageal lining epithelium was characterized as a stratified pavement and with the presence of goblet cells. With the development of the animals, the goblet cells were reactive to PAS, AB, PAS + AB. Regarding the stomach, in *P. reticulatum* and *L. marmoratus* the first structures were seen on the 3<sup>o</sup>DPE, the formation of the gastric glands was observed from the 15<sup>o</sup> DPE and 14<sup>o</sup> DPE, respectively. In the hybrid, the first stomach structures were visualized at the 4<sup>o</sup> DPE and until the 12<sup>o</sup> DPE the formation of gastric glands was not observed. The stomach lining epithelium was characterized as a simple columnar with no goblet cells. An intense reaction to PAS was observed in the stomach lining epithelium at the 3<sup>o</sup> DPE for *P. reticulatum* larvae, at the 5<sup>o</sup> DPE for larvae of *L. marmoratus* and 4<sup>o</sup> DPE for the hybrid, indicating the presence of neutral mucosubstances. As for the intestine, it presented simple columnar epithelium and goblet cells being more concentrated in the posterior region. Goblet cells in the intestine showed a positive reaction to PAS and PAS + AB, indicating the presence of neutral and acid mucosubstances. Regarding a formation of the attached glands, the liver had its differentiation observed in the 1<sup>o</sup> DPE and increased the 2<sup>o</sup> DPE. At the beginning of exogenous feeding as attached glands are already being found well developed.

**Keywords:** Hybrid. Ontogeny. Exogenous feeding. Organ differentiation.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1** - A) Exemplar de fêmea adulta de *Pseudoplatystoma reticulatum* em fase reprodutiva (Fonte: Fishbase). B) Exemplar de macho adulto de *Leiarius marmoratus* em fase reprodutiva (Fonte: Fishbase). C) Exemplar adulto oriundo do cruzamento de *P. reticulatum* e *L. marmoratus* (Fonte: Fishbase). ..... 23

**Figura 2** - Desenvolvimento ontogenético de *Pseudoplatystoma reticulatum*, *Leiarius marmoratus* e híbrido: A) 0 dias após eclosão (DPE) do *P. reticulatum*, saco vitelino. B) 0 DPE do *L. marmoratus*, saco vitelino. C) 0 DPE do híbrido, saco vitelino. D) 1° DPE do *P. reticulatum*, evidenciando abertura da boca e formação dos barbilhões. E) 1° DPE DPE do *L. marmoratus*, evidenciando abertura da boca e formação dos barbilhões. F) 1° DPE do híbrido, evidenciando abertura da boca. Legendas: seta grossa (boca), n (notocorda), seta fina (ânus), sv (saco vitelino), b (barbilhão), ponta da seta (olho) e ne (nadadeira embrionária). ..... 27

**Figura 3** - Desenvolvimento ontogenético de *Pseudoplatystoma reticulatum*, *Leiarius marmoratus* e híbrido: A) 3° dia após eclosão (DPE) do *P. reticulatum*, ausência do saco vitelino. B) 4° DPE do *L. marmoratus*, ausência do saco vitelino. C) 3° DPE do híbrido, ausência do saco vitelino. D) 17° DPE do *P. reticulatum*, evidenciando nadadeiras bem desenvolvidas. E) 16° DPE DPE do *L. marmoratus*, evidenciando nadadeiras bem desenvolvidas. F) 12° DPE do híbrido, evidenciando nadadeiras bem desenvolvidas. Legendas: seta grossa (boca), n (notocorda), seta fina (ânus), b (barbilhão), ponta da seta (olho), c (cromatóforos), ne (nadadeira embrionária, nd (nadadeira dorsal), nad (nadadeira adiposa), nc (nadadeira caudal), np (nadadeira peitoral), npv (nadadeira peitoral pélvica) e na (nadadeira anal). ..... 28

**Figura 4** - Crescimento das larvas de *Pseudoplatystoma reticulatum*. Comprimento padrão desde o momento da eclosão até 17° DPE. Os valores acima das colunas representam os valores de comprimento padrão em milímetros referente a cada dia após eclosão. .... 29

**Figura 5** - Crescimento das larvas de *Leiarius marmoratus*. Comprimento padrão desde o momento da eclosão até 16° DPE. Os valores acima das colunas representam os valores de comprimento padrão em milímetros referente a cada dia após eclosão. .... 29

**Figura 6** - Crescimento das larvas de híbrido. Comprimento padrão desde o momento da eclosão até 16° DPE. Os valores acima das colunas representam os valores de comprimento padrão em milímetros referente a cada dia após eclosão. .... 29

**Figura 7** - Secções histológicas das larvas de *Pseudoplatystoma reticulatum*. A) larvas com 0 dias após eclosão (DPE) corte longitudinal, região da boca, primórdio do tubo digestivo, saco vitelino (Azul de toluidina). B) 1° DPE corte longitudinal, formação do lúmen esofágico (Azul de toluidina). C) larvas com 3° DPE, corte longitudinal, epitélio esofágico simples pavimentoso com a presença de células caliciformes (Azul de toluidina). D) 3° DPE corte longitudinal, células caliciformes do esôfago reativas ao PAS+AB (PAS+AB). E) 17° DPE corte longitudinal, evidenciando pregas longitudinais e das células caliciformes do esôfago que se mostraram reativas ao PAS (PAS). F) 17° DPE corte longitudinal, evidenciando pregas longitudinais e aumento das células

caliciformes do esôfago (Azul de toluidina). Legendas: asterisco (boca), esôfago (es), seta fina (primórdio do tubo digestivo), sv (saco vitelino), e (epitélio), sm (submucosa), ml (camada muscular longitudinal), mc (camada muscular circular), seta (células caliciformes), st (estômago) e seta grossa (ápice das células do epitélio gástrico). ..... 31

**Figura 8** - Secções histológicas das larvas de *Pseudoplatystoma reticulatum*. A) larvas no 3º dia após eclosão (DPE) corte longitudinal, visualização das primeiras estruturas do estômago (Hematoxilina e eosina). B) 6º DPE corte longitudinal, epitélio do estômago simples cúbico (Hematoxilina e eosina). C) 3º DPE corte longitudinal, células caliciformes e células apicais do epitélio gástrico reativas ao PAS (PAS+AB). D) 14º DPE corte longitudinal, células apicais do epitélio gástrico reativas ao PAS (PAS). E) 14º DPE corte longitudinal, mudança do epitélio gástrico de simples cúbico para simples colunar e formação das glândulas gástricas (Hematoxilina e eosina). F) 17º DPE corte longitudinal, estômago em forma sacular com a presença de glândulas gástricas (Azul de toluidina). Legendas: es (esôfago), st (estômago), e (epitélio), ia (intestino anterior), sm (submucosa), m (camada muscular), gg (glândulas gástricas), seta (células caliciformes) e seta grossa (ápice das células do epitélio gástrico). ..... 33

**Figura 9** - Secções histológicas das larvas de *Pseudoplatystoma reticulatum*. A) larvas com 0 dia após eclosão (DPE) corte longitudinal, primórdio do tubo digestivo, saco vitelino (Azul de toluidina). B) 1º DPE corte longitudinal, visualização do lúmen da região do intestino anterior e intestino posterior (Azul de toluidina). C) larvas com 3º DPE corte longitudinal, visualização de três regiões intestinais denominadas: intestino anterior, médio e posterior (Hematoxilina e eosina). D) 3º DPE corte longitudinal, epitélio do intestino anterior e médio (Hematoxilina e eosina). E) 3º DPE corte longitudinal, epitélio do intestino posterior simples colunar com a presença de células caliciformes. Legendas: seta fina (primórdio do tubo digestivo), sv (saco vitelino), es (esôfago), st (estômago), ia (intestino anterior), im (intestino médio), ip (intestino posterior) e seta (células caliciformes). ..... 35

**Figura 10** - Secções histológicas das larvas de *Pseudoplatystoma reticulatum*. A) larvas no 17º dia após eclosão (DPE) corte longitudinal, reação borda em escova na região do intestino anterior e médio (PAS). B) 17º DPE corte longitudinal, reação borda em escova na região do intestino posterior (PAS+AB). C) 15º DPE corte longitudinal, aumento dos enterócitos no intestino médio (Hematoxilina e eosina). D) 6º DPE corte longitudinal, reto com a presença de pregas longitudinais (Azul de toluidina). Legendas: ia (intestino anterior), ip (intestino posterior), im (intestino médio), seta (células caliciformes), seta grossa (ápice das células do epitélio intestinal), estrela (enterócitos) e r (reto). ..... 36

**Figura 11** - Secções histológicas das larvas de *Pseudoplatystoma reticulatum*. A) larvas no 1º dia após eclosão (DPE) corte longitudinal, evidenciando fígado em diferenciação (Azul de toluidina). B) 3º DPE corte longitudinal, pâncreas em diferenciação com a presença de ácinos pancreáticos (Hematoxilina e eosina). C) 5º DPE corte longitudinal, fígado com armazenamento de lipídios (Azul de toluidina). D) 5º DPE corte longitudinal, glicogênio presente no fígado apresentou reação ao PAS (PAS). E) 17º DPE corte longitudinal, evidenciando pâncreas extra-hepático (Hematoxilina e eosina). F) 17º DPE corte longitudinal, evidenciando pâncreas extra-hepático com a presença de ácinos

pancreáticos (Hematoxilina e eosina). Legendas: es (esôfago), f (fígado), p (pâncreas), st (estômago) e ap (ácinos pancreáticos). ..... 38

**Figura 12** - Secções histológicas das larvas de *Leiarius marmoratus*. A) Larvas no 1º dia após eclosão (DPE) corte longitudinal, evidenciando abertura da boca, desenvolvimento diferenciação do esôfago e intestino anterior (Azul de toluidina). B) 3º DPE corte longitudinal, epitélio esofágico estratificado pavimentoso com a presença de células caliciformes (Hematoxilina e eosina). C) larvas com 5º DPE corte longitudinal, aumento das pregas longitudinais do esôfago (Azul de toluidina). D) 5º DPE corte longitudinal, células caliciformes do esôfago reativas ao PAS (PAS+AB). E) 16º DPE corte longitudinal, células caliciformes do esôfago reativas ao AB (AB). F) 16º DPE corte longitudinal, células caliciformes do esôfago reativas ao PAS (PAS). Legendas: bf (bucofaringe), es (esôfago), st (estômago), seta (células caliciformes), seta grossa (ápice das células do epitélio gástrico), m (camada muscular), e (epitélio) e ia (intestino anterior). ..... 40

**Figura 13** - Secções histológicas das larvas de *Leiarius marmoratus*. A) larvas no 3º dia após eclosão (DPE) corte longitudinal, visualização das primeiras estruturas do estômago revestido por epitélio simples colunar (Azul de toluidina). B) 5º DPE corte longitudinal, células apicais do epitélio gástrico reativas ao PAS (PAS). C) larvas com 16º DPE corte longitudinal, estômago com forma sacular (PAS). D) 15º DPE corte longitudinal, evidenciando a formação das glândulas gástricas (Hematoxilina e eosina). E) 16º DPE corte longitudinal, células apicais do epitélio gástrico reativas ao PAS e presença de glândulas gástricas (PAS). Legendas: esôfago (es), st (estômago), e (epitélio), seta (células caliciformes), sm (submucosa), m (camada muscular), ia (intestino anterior), seta grossa (ápice das células do epitélio gástrico) e gg (glândulas gástricas)..... 42

**Figura 14** - Secções histológicas das larvas de *Leiarius marmoratus*. A) larvas com 1 dias após eclosão (DPE) corte longitudinal, primórdio do tubo digestivo (Hematoxilina e eosina). B) larvas com 4º DPE corte longitudinal, presença de alimento no intestino anterior (Azul de toluidina). C) B) 4º DPE corte longitudinal, células caliciformes do intestino anterior mostraram reação moderada ao PAS (PAS). Legendas: st (estômago), seta (células caliciformes), ia (intestino anterior), ip (intestino posterior) e f (fígado). . 44

**Figura 15** - Secções histológicas das larvas de *Leiarius marmoratus*. A) larvas no 8º dia após eclosão (DPE) corte longitudinal, visualização das três regiões intestinais bem delimitadas: intestino anterior, médio e posterior (Azul de toluidina). B) 8º DPE corte longitudinal, intestino anterior revestido por epitélio simples colunar com a presença de células caliciformes (Azul de toluidina). C) 8º DPE corte longitudinal, intestino médio revestido por epitélio simples colunar com a presença de células caliciformes e enterócitos (células absorptivas) (Azul de toluidina). D) 8º DPE corte longitudinal, visualização de alta concentração de células caliciformes e enterócitos (células absorptivas) no epitélio do intestino posterior (Azul de toluidina). E) 16º DPE corte longitudinal, intestino médio e posterior evidenciando borda em escova dos enterócitos (PAS). Legendas: ia (intestino anterior), im (intestino médio), ip (intestino posterior), f (fígado), p (pâncreas), seta (células caliciformes), seta grossa (ápice das células do epitélio intestinal) e estrela (enterócitos). ..... 45

**Figura 16** - Secções histológicas das larvas de *Leiarius marmoratus*. A) larvas no 1º dia após eclosão (DPE) corte longitudinal, evidenciando fígado em diferenciação (Hematoxilina e eosina). B) 2º DPE corte longitudinal, pâncreas em diferenciação com a presença de ácinos pancreáticos (Azul de toluidina). C) 4º DPE corte longitudinal, fígado reação positiva ao PAS de glicogênio presente no fígado (PAS). D) 5º DPE corte longitudinal, fígado com armazenamento de lipídios e pâncreas com ácinos pancreáticos (Hematoxilina e eosina). E) 8º DPE corte longitudinal, fígado com armazenamento de lipídios e pâncreas com presença ácinos pancreáticos (Azul de toluidina). F) 16º DPE corte longitudinal, evidenciando pâncreas extra-hepático com a presença de ácinos pancreáticos (Hematoxilina e eosina). Legendas: ia (intestino anterior), f (fígado), p (pâncreas), ap (ácinos pancreáticos) e seta pentágono (ducto biliar)..... 47

**Figura 17** - Secções histológicas das larvas de híbrido. A) larvas no 4º dia após eclosão (DPE), corte longitudinal, região do esôfago com a presença de células caliciformes (Azul de toluidina). B) 4º DPE corte longitudinal, epitélio do esôfago simples pavimentoso com células caliciformes (Azul de toluidina). C) 4º DPE corte longitudinal, alta concentração de células caliciformes no esôfago (Azul de toluidina). D) 4º DPE corte longitudinal, células caliciformes reativas ao PAS+AB (PAS+AB). E) 7º DPE corte longitudinal, células caliciformes do esôfago reativas ao PAS (PAS). F) 7º DPE corte longitudinal, evidenciando o aumento das pregas longitudinais do esôfago (Azul de toluidina). Legenda: es (esôfago), ia (intestino anterior), st (estômago), seta (células caliciformes), f (fígado), e (epitélio), sm (submucosa), ml (camada muscular longitudinal), mc (camada muscular circular). ..... 49

**Figura 18** - Secções histológicas das larvas de híbrido. A) larvas no 4º da após eclosão (DPE) corte longitudinal, visualização das primeiras estruturas do estômago (Azul de toluidina). B) 4º DPE corte longitudinal, epitélio do estômago simples colunar (Hematoxilina e eosina). C) 4º DPE corte longitudinal, células apicais do epitélio gástrico reativas ao PAS (PAS+AB). D) 7º DPE corte longitudinal, estômago em formação (Azul de toluidina). E) 7º DPE corte longitudinal, células apicais do epitélio gástrico reativas ao PAS (PAS). Legendas: bf (bucofaringe), es (esôfago), st (estômago), e (epitélio), seta grossa (ápice das células do epitélio gástrico), seta (células caliciformes), ia (intestino anterior), ip (intestino posterior), f (fígado), p (pâncreas), sm (submucosa) e m (camada muscular). ..... 51

**Figura 19** - Secções histológicas das larvas do híbrido. A) larvas no 1º dia após eclosão (DPE) corte longitudinal, visualização do intestino em diferenciação (Azul de toluidina). B) 4º DPE corte longitudinal, intestino anterior com lúmen extenso (Azul de toluidina). C) larvas com 7º DPE corte longitudinal, visualização de três regiões intestinais denominadas: intestino anterior, médio e posterior (Azul de toluidina). D) 7º DPE corte longitudinal, intestino anterior e médio revestidos por epitélio simples colunar com a presença de células caliciformes (Azul de toluidina). E) 7º DPE corte longitudinal, região do intestino posterior revestido por epitélio simples colunar com a presença de células caliciformes e enterócitos (células absorptivas) e região do reto evidenciando a presença de pregas longitudinais (Azul de toluidina). Legenda: asterisco (boca), bf (bucofaringe), es (esôfago), st (estômago), seta fina (primórdio do tubo digestivo), sv (saco vitelino), v (vitelo), n (notocorda), p (pâncreas), ia (intestino anterior), im (intestino médio), ip

(intestino posterior), r (reto), estrela (enterócitos), seta (células caliciformes), f (fígado) e p (pâncreas). ..... 53

**Figura 20** - Secções histológicas das larvas do híbrido. A) larvas no 12º dia após eclosão (DPE) corte longitudinal, visualizado borda em escova no intestino anterior e células caliciformes reativas ao PAS+AB (PAS+AB). B) 12º DPE corte longitudinal, visualizado borda em escova no intestino médio e células caliciformes reativas ao PAS+AB (PAS+AB). C) 12º DPE corte longitudinal, visualizado borda em escova no intestino posterior e células caliciformes reativas ao PAS+AB (PAS+AB). D) 12º DPE corte longitudinal, alta concentração de células caliciformes na região do intestino posterior (Hematoxilina e eosina). Legendas: ia (intestino anterior), im (intestino médio), ip (intestino posterior), estrela (enterócitos), seta (células caliciformes), seta grossa (ápice das células do epitélio intestinal). ..... 54

**Figura 21** - Secções histológicas das larvas do híbrido. A) larvas no 1º dia após eclosão (DPE) corte longitudinal, evidenciando fígado em diferenciação (Azul de toluidina). B) 4º DPE corte longitudinal, glicogênio presente no fígado apresentou reação positiva ao PAS (PAS). C) 4º DPE corte longitudinal, pâncreas com a presença de ácinos pancreáticos (Azul de toluidina). D) 12º DPE corte longitudinal, pâncreas exócrino, externo ao fígado (Hematoxilina e eosina). Legendas: in (intestino), f (fígado), p (pâncreas) e ap (ácinos pancreáticos)..... 56



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Principais eventos observados durante o desenvolvimento do sistema digestório de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> , <i>Leiarius marmoratus</i> e híbrido. Legendas: horas após a fertilização (HPF), dias após eclosão (DPE) .....	57
---	----

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	17
1.1	Modelos biológicos .....	18
1.2	Ontogenia do Sistema Digestório .....	20
2	OBJETIVOS .....	22
3	MATERIAL E MÉTODOS .....	23
3.1	Animais e cruzamentos: .....	23
3.2	Coletas: .....	24
3.3	Análises Morfológicas .....	24
3.3.1	Análises das características corpóreas externas .....	24
3.3.2	Análises morfométricas .....	25
3.3.3	Histologia e histoquímica .....	25
4	RESULTADOS .....	26
4.1	Características morfológicas externas .....	26
4.2	Histologia e histoquímica do desenvolvimento do sistema digestório de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> .....	30
4.2.1	Bucofaringe e esôfago .....	30
4.2.2	Estômago .....	32
4.2.3	Intestino .....	34
4.2.4	Glândulas anexas .....	37
4.3	Histologia e histoquímica do desenvolvimento do sistema digestório de <i>Leiarius marmoratus</i> .....	39
4.3.1	Bucofaringe e esôfago .....	39
4.3.2	Estômago .....	41
4.3.3	Intestino .....	43
4.3.4	Glândulas anexas .....	46
4.4	Histologia e histoquímica do desenvolvimento do sistema digestório de híbrido .....	48
4.4.1	Bucofaringe e esôfago .....	48
4.4.2	Estômago .....	50
4.4.3	Intestino .....	52
4.4.4	Glândulas anexas .....	55
5	DISCUSSÃO .....	58
6	CONCLUSÕES .....	64
	REFERÊNCIAS .....	65

## 1 INTRODUÇÃO

A piscicultura de água doce na América do Sul possui potencial para um crescimento forte e contínuo, principalmente no Brasil que se destaca como um dos países com maior potencial para a piscicultura, por possuir grande disponibilidade hídrica, clima favorável e ocorrência natural de espécies de interesse zootécnico e mercadológico (GOULDING, 1980; PEIXEBR, 2019, 2020). A piscicultura brasileira especialmente de peixes nativos vem apresentando um desempenho modesto, devido aos métodos de produção, tecnologias empregadas e a falta de informações biológicas sobre as espécies nativas com potencial zootécnico (BRABO *et al.*, 2016).

Apesar da introdução de novas tecnologias para o aprimoramento dos procedimentos no setor de produção de peixes, com vista ao melhor manejo alimentar e nutricional e nas técnicas de reprodução, o setor produtivo ainda enfrenta muitos desafios, principalmente em relação a larvicultura. Diversos fatores interferem na sobrevivência das larvas de peixes, dentre eles os principais fatores são: o canibalismo (espécies carnívoras) e, o tipo, a forma e o momento da oferta do alimento, o que torna a larvicultura uma das fases mais críticas na produção em escala comercial (ALVES *et al.*, 2014).

Como alternativa de superar desafios como os citados acima, muitos produtores têm utilizado a técnica de hibridação, que consiste no cruzamento de espécies de peixes de mesmo gênero ou de gêneros diferentes. O objetivo dessa técnica é agregar em um mesmo grupo genético características zootécnicas desejáveis apresentadas por espécies diferentes, com vistas à aumentar a taxa de crescimento, diminuir a exigência nutricional de proteína e tornar mais efetivo o desenvolvimento nas fases iniciais da ontogênese, fatores esses que estão diretamente relacionados a alimentação inicial das larvas, que inicia-se um pouco antes ou logo a absorção total do vitelo (BARTLEY *et al.*, 2001; ALVES *et al.*, 2014).

Na larvicultura, a alimentação tem se mostrado fator determinante para a sobrevivência e o bom desenvolvimento inicial das larvas (TESSER *et al.*, 2006; AYRES, 2006). Neste período o sistema digestório está em fase de diferenciação estrutural e funcional, desenvolvimento este que, na maioria das espécies, está diretamente relacionado ao momento da transição alimentar de alimentação endógena (vitelo) para exógena, composta por alimento vivo (fitoplâncton, zooplâncton, larvas, etc.), e/ou alimento inerte (ração seca) (KAMLER, 1992). A sobrevivência das larvas neste período de transição depende do desenvolvimento de órgãos necessários à deglutição e digestão dos alimentos e da disponibilidade do alimento adequado (GISBERT *et al.*, 2014).

Desta forma, o manejo alimentar deve estar coordenado com as alterações morfofisiológicas que ocorrem temporalmente no sistema digestório das larvas de peixes. Assim, faz-se necessário, a aquisição de conhecimento sobre o desenvolvimento do sistema digestório das espécies de peixes a serem criados, para que se possa embasar a escolha alimento adequado a ser fornecido em cada fase do desenvolvimento inicial destas espécies, contribuindo para a melhoria do desempenho e crescimento larval e, conseqüentemente, melhorando os índices de sobrevivência larval (RÖSCH; SEGNER, 1990; TESSER *et al.*, 2006).

### 1.1 Modelos biológicos

Os pimelodídeos representam um dos grupos mais diversificados de peixes, até o presente momento estão catalogadas 109 espécies, distribuídas em 33 gêneros. Em relação ao hábito alimentar, os pimelodídeos podem apresentar hábito carnívoro ou onívoro. São mais ativos a noite ou no crepúsculo, apresentam barbilhões sensitivos que tem um importante papel na busca por alimento (BALDISSEROTTO; CYRINO; URBINATI, 2014).

O gênero *Pseudoplatystoma* apresenta grande notoriedade, pois compreende os maiores peixes da família Pimelodidae, da ordem dos Siluriformes (LUNDSTEDT, 2003; INOUE *et al.*, 2009; REGO, 2002). Peixes do gênero *Pseudoplatystoma* são migradores e se reproduzem no leito dos rios na estação das chuvas. O período reprodutivo se estende de novembro a fevereiro, apresentando desova total e não proteção a prole. Habitam as principais bacias hidrográficas sul-americanas e florestas alagadas da região Neotropical (VAZZOLER, 1996; ABREU *et al.*, 2009).

*Pseudoplatystoma reticulatum*, conhecido popularmente como cachara, está entre os maiores peixes da família Pimelodidae, podendo pesar de 20 a 70 Kg, apresenta hábito alimentar carnívoro, predominantemente piscívoro, habita as principais bacias hidrográficas Sul-Americanas, como Amazônica, do Prata e do Paraguai, prefere as zonas bênticas dos corpos aquáticos, subindo à superfície para preda espécies de peixes forrageiros, possui cor acinzentado na região dorsal do corpo, com faixas pretas longitudinalmente alongadas e irregulares; região ventral esbranquiçada e desprovida de manchas; nadadeiras esbranquiçadas com pequenas manchas e pintas pretas; corpo baixo; cabeça deprimida; perfil ventral reto; olho médio; boca ampla e terminal ou levemente subterminal (BUITRAGO-SUÁREZ; BURR, 2007).

Peixes da espécie *Pseudoplatystoma reticulatum*, possuem um alto valor comercial nas regiões onde ocorre devido à qualidade de sua carne (coloração clara, sabor suave, com baixo teor de gordura e não apresenta espinhas intramusculares), sendo fonte importante de proteína de alto valor nutricional. Assim, possui grande relevância na pesca comercial e na piscicultura, além de serem apreciados na pesca esportiva (INOUE *et al.*, 2009; FAUSTINO *et al.*, 2007). Esta espécie apresenta ótimos aspectos zootécnicos para sua criação como, eficiente conversão alimentar, alta taxa de crescimento e ótimo rendimento de carcaça, o que torna a espécie atrativa para o produtor e ao mercado consumidor (VENTURA *et al.*, 2013).

*Leiarius marmoratus* é uma espécie pertencente à família Pimelodidae, conhecido popularmente como jandiá ou peixe onça, está presente nas bacias hidrográficas dos rios Amazonas e Orinoco. A espécie possui hábito alimentar piscívoro, com forte tendência ao comportamento onívoro e oportunista (camarões e insetos) em seu habitat natural. Pode atingir aproximadamente 1 metro de comprimento e chega a pesar 12 kg (SATO *et al.*, 1988; LAYMAN *et al.*, 2005; CRUZ-CASALLAS *et al.*, 2008, 2011).

Essa espécie tem se destacado no mercado pela qualidade de sua carne (cor clara, sabor suave e presença de poucas espinhas intramusculares) e, por apresentar características zootécnicas que favorecem sua criação em cativeiro como, cabeça pequena, alta adaptabilidade ao confinamento e à alimentação artificial, rusticidade e alto rendimento de carcaça. Estas características apresentadas pela espécie têm estimulado os produtores a utilizarem a espécie para produção de híbridos (LAZARIN *et al.*, 2016).

O cruzamento entre a fêmea de *P. reticulatum*, com o macho de *L. marmoratus* que origina o híbrido conhecido como pintado amazônico tem gerado grande interesse por parte dos piscicultores, tanto para produção de peixes ornamentais, devido à diversificação dos padrões de pigmentação (listras ou manchas), como para consumo, pela qualidade de sua carne e rendimento de carcaça. Estas características têm contribuído para o aumento da produção desse híbrido (SOUZA *et al.*, 2014).

O pintado amazônico além de expressar grande parte das características corpóreas do parental *P. reticulatum* (♀), apresenta forte tendência ao hábito alimentar onívoro, característica herdada do parental *L. marmoratus* (♂), o hábito alimentar desse híbrido interfere de forma drástica no sucesso da criação desses animais, tal característica diminui de forma significativa o canibalismo nas fases iniciais, como também as larvas demonstram maior facilidade de aceitação da alimentação inicial e uma melhor aproveitamento de proteínas vegetais, aumentando assim a taxa de sobrevivência larval (PRIETO-GUEVARA *et al.*, 2014).

## 1.2 Ontogenia do Sistema Digestório

Pesquisas sobre a alimentação e desenvolvimento inicial de peixes vêm aumentando nos últimos anos, dentre os diversos estudos destacam-se os realizados por Ferraris et al., (1987), com *Chanos Chanos*, Sarasquete e Yúfera (1994), com *Sparus aurata* L, Jomori et al., (2003) e Menossi et al., (2012) com *Piaractus mesopotamicus*, Tusuzuki et al., (2007) com *Centropomus parallelus*, Valverde-Chavarría et al. (2013), com *Parachromis dovii*, Gisbert et al., (2014) com *Pseudoplatystoma punctifer*, e Baconni et al., (2018), com o híbrido proveniente do cruzamento entre as espécies *Pseudoplatystoma fasciatum* × *Leiarius marmoratus*.

Apesar das pesquisas nessa área estarem recebendo maior atenção, muitos estudos ainda são necessários para fundamentar o sistema de criação de diversas espécies de peixes, para que assim seja possível sincronizar o estágio larval de desenvolvimento e maturação de seus órgãos digestivos com o protocolo de alimentação e as práticas de criação, bem como a identificação de outros fatores limitantes durante a criação larval.

Considerando a grande diversidade das espécies de peixes e a consequente diferenciação morfofisiológica, o estudo da ontogênese do sistema digestório desses animais é uma fonte de informações que tem por objetivo fundamentar as bases para possibilitar a sincronização do estágio larval de desenvolvimento e maturação de seus órgãos digestórios com os protocolos de manejo alimentar, bem como a identificação de fatores limitantes durante a criação das larvas importante para a superação do principal gargalo na produção de peixes carnívoros em cativeiro que é a larvicultura, devido ao alto índice de mortalidade neste estágio inicial do desenvolvimento. (GISBERT et al., 2014; AIEMSOMBOON et al., 2017).

Estudos morfológicos do desenvolvimento ontogenético do sistema digestório de peixes teleósteos de água doce são de grande importância para que, em conjunto com dados ecológicos sobre os diferentes hábitos alimentares desses animais, possa se determinar a ativação e função de cada órgão deste sistema temporalmente, em todas as fases deste período (RODRIGUES et al., 2008).

O desenvolvimento do sistema digestório tem grande importância prática na piscicultura, para determinar o tipo de alimentação a ser utilizado nessa fase (TENGGJAROENKUL et al., 2002). Antes da abertura da boca, as larvas nutrem-se do vitelo, que é particulado e transferido às células pela camada sincicial do vitelo (SHAHSAVARANI et al., 2002, NINHAUS-SILVEIRA et al., 2006).

As principais mudanças do sistema digestório de peixes acontecem durante o período larval, passando de tubo indiferenciado para um conjunto de órgãos, que ao final deste período estarão funcionando de maneira consonante, sendo que em algumas espécies, o sistema digestório pode estar em funcionalidade antes mesmo do vitelo estar completamente consumido (ANDRADE *et al.*, 2016).

Em experimentos realizados com *Hoplias malabaricus*, Mangetti (2006) observou ao sexto dia, o sistema digestório das larvas com curvatura dilatada e estômago repleto de alimento, ao fim de uma semana, o sistema digestório estava bem constituído, sendo possível distinguir o esôfago, estômago e intestino. Já em um estudo realizado por Neves (1996), sobre o desenvolvimento ontogenético do sistema digestório de *Hoplias cf. lacerdae*, observou com três dias de vida, a mucosa pregueada do estômago com epitélio prismático simples e aos 12 dias após eclosão (DPE) foram observados grânulos de secreção nas células glandulares e alimento no estômago. Em *Hemisorubim platyrhynchos*, o desenvolvimento do sistema digestório foi dividido em quatro etapas principais. Estágio I (endotrófico) em que o sistema digestório caracterizava-se como um sistema indiferenciado. O estágio II (período endo-exotrófico) abrangeu o período de abertura da boca até o esgotamento das reservas vitelínicas (quatro dias após a eclosão). No estágio III as larvas dependiam exclusivamente de alimentação exógena, mas ainda não apresentavam estômago funcional e o estágio IV foi um período exotrófico marcado pelo desenvolvimento de glândulas gástricas com 15 dias após a eclosão (FACCIOLI *et al.*, 2014).

Diante do exposto, fica evidente que existem diferenças morfológicas entre os gêneros e espécies de peixes, indicando a necessidade de cada espécie possuir sua descrição do desenvolvimento do sistema digestório de acordo com suas particularidades (GODINHO; GODINHO *et al.*, 2003). Considerando a grande diversidade de espécies de peixes e as diferenças entre elas, estudos relacionados ao desenvolvimento inicial do sistema digestório são de especial interesse para o sucesso da criação de peixes nativos.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Descrever o desenvolvimento do sistema digestório das espécies de peixes, *Pseudoplatystoma reticulatum*, *Leiarius marmoratus* e do híbrido proveniente do cruzamento entre estas espécies.

### **2.2 Objetivos Específicos**

a) Descrever o desenvolvimento morfológico dos órgãos do sistema digestório das três espécies e suas modificações;

b) Identificar as características histoquímicas do muco liberado pelas células epiteliais do sistema digestório das larvas, para detecção de mucosubstâncias neutras e ácidas;

c) Comparar as características anatômicas, histológicas e histoquímicas dos órgãos do sistema digestório em desenvolvimento de *Pseudoplatystoma reticulatum*, *Leiarius marmoratus* e do híbrido.

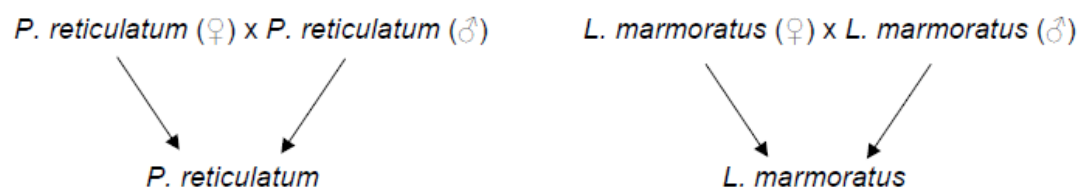


### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Animais e cruzamentos:

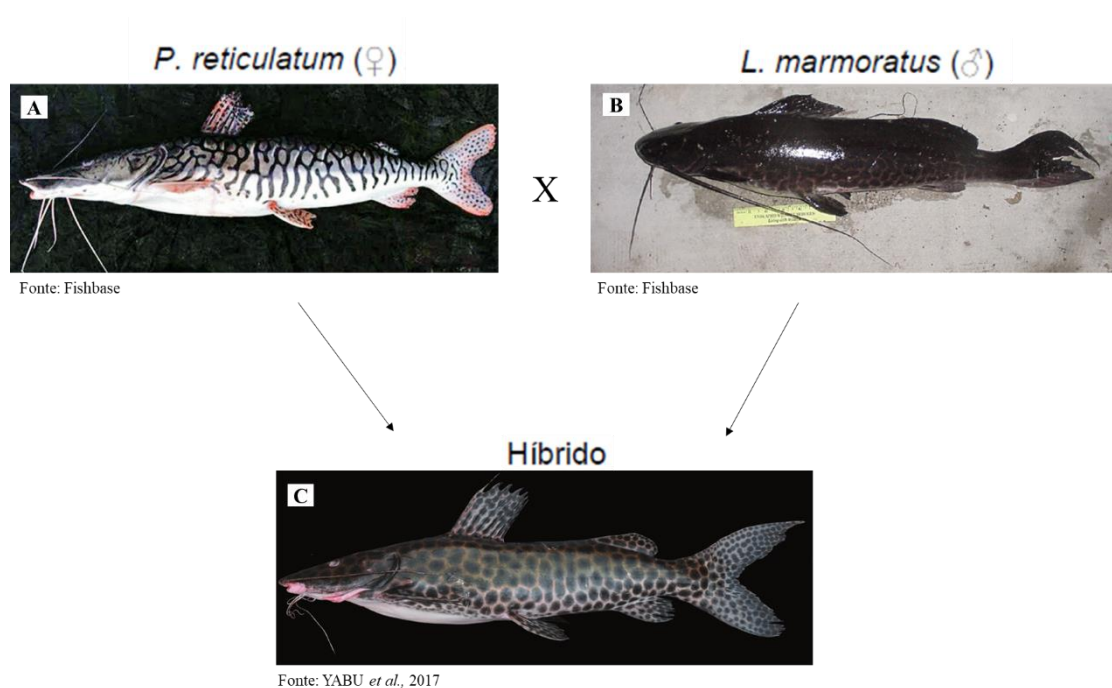
As coletas foram realizadas de dezembro de 2015 a fevereiro de 2016, que corresponde ao período reprodutivo dos parentais *Pseudoplatystoma reticulatum* e *Leiarius marmoratus*. Para obtenção das larvas foram realizadas reproduções induzidas, utilizando o plantel de reprodutores pertencentes à Colpani Piscicultura, localizada no município de Mococa/SP. As séries de desenvolvimento foram obtidas a partir de 3 cruzamentos, sendo eles:

Para obtenção de espécies puras:



Para obtenção do híbrido:

**Figura 1** - A) Exemplar de fêmea adulta de *Pseudoplatystoma reticulatum* em fase reprodutiva (Fonte: Fishbase). B) Exemplar de macho adulto de *Leiarius marmoratus* em fase reprodutiva (Fonte: Fishbase). C) Exemplar adulto oriundo do cruzamento de *P. reticulatum* e *L. marmoratus*.



Fonte: (Fishbas).

As larvas recém-eclodidas foram transferidas e mantidas no Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais – CEPTA/ICMBIO, em Pirassununga – SP.

As coletas, procedimentos e manejos foram autorizados pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) do CEPTA/ICMbio (Processo 02031.000034/2015-57).

### **3.2 Coletas:**

Foram analisadas séries de desenvolvimento, com início das coletas na eclosão até o 15º dia após eclosão para *Pseudplatystoma reticulatum*, 14º dia após eclosão para *Leiarius marmoratus* e 12º dia após eclosão para o híbrido. Para avaliação, as amostras foram coletadas em intervalos de seis em seis horas até a primeira alimentação exógena, em seguida de 12 em 12 horas por cinco dias e por fim as coletas aconteceram periodicamente a cada 24 horas. Para cada coleta foram amostrados de 10 a 15 larvas.

As larvas coletadas foram previamente anestesiadas e eutanasiadas em solução 0,5% de benzocaína e posteriormente fixadas em solução de karnovsky (paraformaldeído 4% + glutaraldeído 2% + tampão fosfato Sorensen 0,1 M, pH 7,2), por 24 a 48 horas, dependendo do tamanho das larvas. Após fixação, o material foi conservado em etanol 70%. O material testemunho referente às espécies utilizadas neste trabalho, bem como as séries de desenvolvimento ontogenética, ficaram depositadas no Laboratório de Ictiologia Neotropical (LINEO), Departamento de Biologia e Zootecnia vinculado à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEIS), UNESP, Câmpus de Ilha Solteira/SP.

### **3.3 Análises Morfológicas**

#### ***3.3.1 Análises das características corpóreas externas***

As análises das características corpóreas externas foram realizadas no Laboratório de Ictiologia Neotropical (L.I.NEO), UNESP – Ilha Solteira - SP. Para realização da análise os animais foram fotografados com o auxílio de estereomicroscópio Motic® SMZ – 168, acoplado a uma câmera digital para microscópios Moticom® 2300. Quando possível, as seguintes características corpóreas externas foram analisadas: pigmentação dos olhos, formação dos pares de barbilhões, abertura da boca, presença de cromatóforos e formação dos raios de todas as nadadeiras, sendo esta última característica baseada no trabalho de Buitrago-Suarez e Burr (2007).

### 3.3.2 *Análises morfométricas*

As análises morfométricas foram realizadas no Laboratório de Ictiologia Neotropical (L.I.NEO), UNESP – Ilha Solteira - SP. Para realização das análises foram utilizados 10 indivíduos de cada período de desenvolvimento, referente a cada modelo biológico. Os indivíduos foram fotografados para realização das medições do comprimento padrão que compreende da extremidade do focinho ao final da coluna vertebral. As medições foram realizadas com o auxílio de estereomicroscópio Motic<sup>®</sup> SMZ – 168, acoplado a uma câmera digital para microscópios Moticom<sup>®</sup> 2300, conectada a um computador, utilizando programa de medição Motic<sup>®</sup> Images Plus 2.0.

### 3.3.3 *Histologia e histoquímica*

As larvas foram submetidas a rotina de inclusão em historesina Leica<sup>®</sup> Biosystems Nussloch GmbH. Para isso, dois indivíduos de cada período de desenvolvimento foram desidratados em séries graduadas de etanol, com três repetições com duração de 30 minutos cada, sendo: três banhos em etanol 80%, em etanol 90%, em etanol 95% e em etanol absoluto. Após os banhos as amostras foram mantidas 24 horas em solução de pre-infiltração de resina e etanol absoluto, na proporção 1:1. Em seguida, as amostras permaneceram por 24 horas em solução de infiltração de resina para em seguida serem incluídas em histomoldes contendo resina com solução endurecedora. Estes foram mantidos por 48 horas em estufa, a 60°C, para completar a polimerização da resina.

Secções histológicas de 2-3 µm de espessura foram realizadas com navalhas de vidro, em micrótomo semiautomático Leica<sup>®</sup> RM2245, do Laboratório de Ictiologia Neotropical da Universidade Estadual Paulista, Campus Ilha Solteira. As secções foram submetidas a rotina de coloração com azul de toluidina a 1% (AT) pH 7 e hematoxilina de Harris e eosina (HE), para realização das análises histológicas. As lâminas foram analisadas com a utilização do microscópio Zeiss<sup>®</sup> modelo AX10 e fotografadas com câmera Axio cam<sup>®</sup> MRc5, para análise e identificação.

As análises histoquímicas foram realizadas a partir da utilização do reativo de Schiff (PAS) e Alcian blue (AB) pH 2,5, visando identificar células secretoras de glicoproteínas. O PAS revela a presença de muco substâncias neutras, enquanto o AB a presença de muco substâncias ácidas.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Características morfológicas externas

As larvas *P. reticulatum*, *L. marmoratus* e híbrido eclodiram 24 horas após a fertilização (HPF) e apresentaram as seguintes características: saco vitelino com formato oval, notocorda, olhos parcialmente pigmentados, boca em formação, tubo digestivo em formação e ânus fechado. A nadadeira embrionária estava presente contornando o corpo do animal, exceto a cabeça (Figuras 2A, 2B, 2C).

A abertura da boca das duas espécies parentais e do híbrido ocorreu no 1º dia após eclosão (DPE). Em *P. reticulatum* e híbrido, no 1º DPE foi nitidamente observado que o saco vitelino perdeu volume e apresentou forma afilada, diferente do parental *L. marmoratus* que permaneceu com saco vitelino em formato oval. Neste mesmo período foi observado a formação dos pares de barbilhão nas duas espécies parentais, enquanto que para híbrido a formação dos pares de barbilhão ocorreu a partir do 2º DPE (Figuras 2D, 2E, 2F).

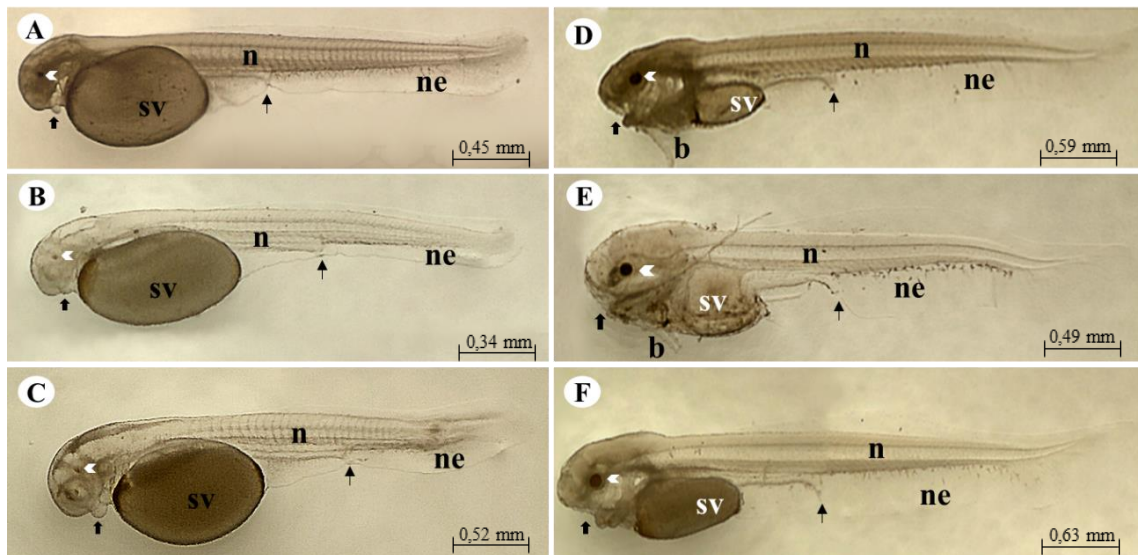
No 3º DPE o saco vitelino não era mais evidente em *P. reticulatum* e híbrido, no *L. marmoratus* o saco vitelino não foi mais observado a partir do 4º DPE. Também foi observado que os olhos estavam bem pigmentados para as duas espécies de parentais e para o híbrido a partir do 4º DPE (Figuras 3A, 3B, 3C).

*P. reticulatum* e híbrido apresentaram uma intensificação dos cromatóforos na região dorsal do corpo, na cabeça e próximo aos olhos a partir da 12º DPE. Para *L. marmoratus* a intensificação dos cromatóforos na região da cabeça e próximo aos olhos, foi observado a partir do 14º DPE.

As larvas de *P. reticulatum* apresentaram as nadadeiras dorsal, adiposa, anal, peitoral, pélvica e caudal bem desenvolvidas ao 17º DPE (Figura 3D). Para as larvas de *L. marmoratus* ao 16º DPE as nadadeiras adiposa e pélvica apresentaram-se totalmente formadas, enquanto que as nadadeiras dorsal, anal e caudal estavam em desenvolvimento (Figura 3E). Para o híbrido todas as nadadeiras já estavam bem desenvolvidas ao 12º DPE (Figura 3F).

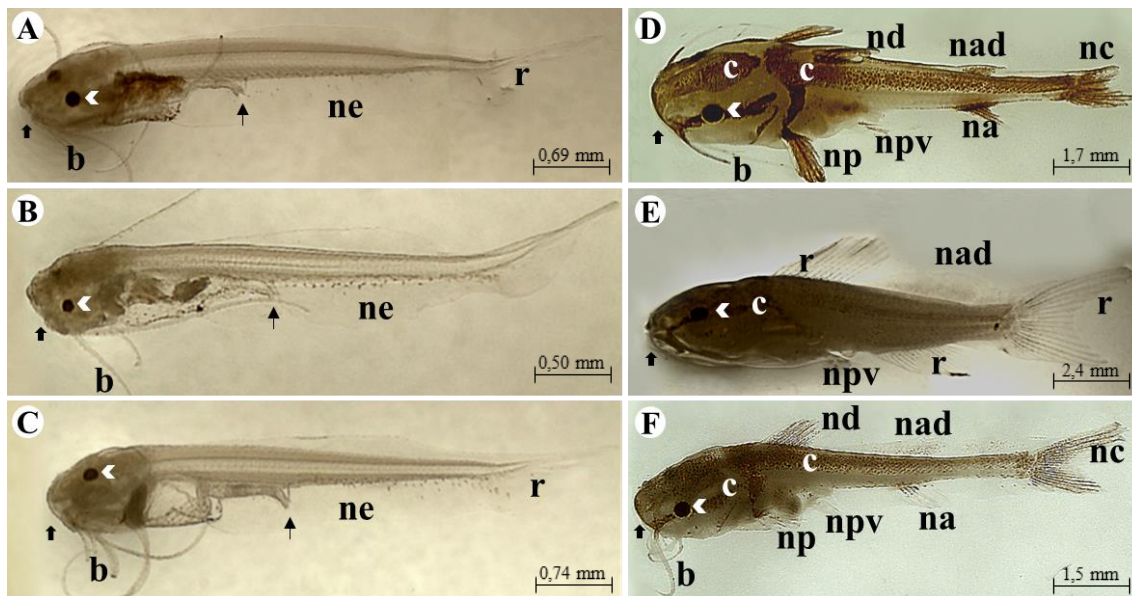
Em relação ao crescimento, no momento da eclosão as larvas de *P. reticulatum* apresentaram comprimento de  $3,10 \pm 0,3$  mm, *L. marmoratus*  $2,38 \pm 0,24$  mm e híbrido  $3,37 \pm 0,21$  mm. As larvas de *P. reticulatum* no 17º DPE apresentaram  $12,24 \pm 0,36$  mm de comprimento padrão, *L. marmoratus* no 16º DPE  $13,9 \pm 0,77$  mm e híbrido no 12º DPE  $9,16 \pm 0,79$  mm (Figuras 4, 5, 6).

**Figura 2** - Desenvolvimento ontogenético de *Pseudoplatystoma reticulatum*, *Leiarius marmoratus* e híbrido: A) 0 dias após eclosão (DPE) do *P. reticulatum*, saco vitelino. B) 0 DPE do *L. marmoratus*, saco vitelino. C) 0 DPE do híbrido, saco vitelino. D) 1º DPE do *P. reticulatum*, evidenciando abertura da boca e formação dos barbilhões. E) 1º DPE do *L. marmoratus*, evidenciando abertura da boca e formação dos barbilhões. F) 1º DPE do híbrido, evidenciando abertura da boca. Legendas: seta grossa (boca), n (notocorda), seta fina (ânus), sv (saco vitelino), b (barbilhão), ponta da seta (olho) e ne (nadadeira embrionária).



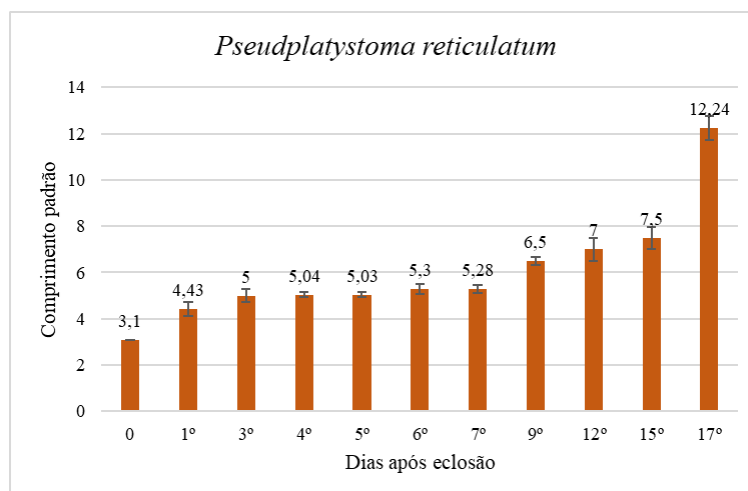
Fonte: Dados do próprio autor.

**Figura 3** - Desenvolvimento ontogenético de *Pseudoplatystoma reticulatum*, *Leiarius marmoratus* e híbrido: A) 3° dia após eclosão (DPE) do *P. reticulatum*, ausência do saco vitelino. B) 4° DPE do *L. marmoratus*, ausência do saco vitelino. C) 3° DPE do híbrido, ausência do saco vitelino. D) 17° DPE do *P. reticulatum*, evidenciando nadadeiras desenvolvidas e cromatóforos na região dorsal do corpo e olhos. E) 16° DPE DPE do *L. marmoratus*, evidenciando nadadeiras em desenvolvimento e cromatóforos na região dos olhos. F) 12° DPE do híbrido, evidenciando nadadeiras bem desenvolvidas e cromatóforos na região dorsal do corpo e olhos. Legendas: seta grossa (boca), n (notocorda), seta fina (ânus), b (barbilhão), ponta da seta (olho), c (cromatóforos), ne (nadadeira embrionária, nd (nadadeira dorsal), nad (nadadeira adiposa), nc (nadadeira caudal), np (nadadeira peitoral), npv (nadadeira peitoral pélvica) e na (nadadeira anal).



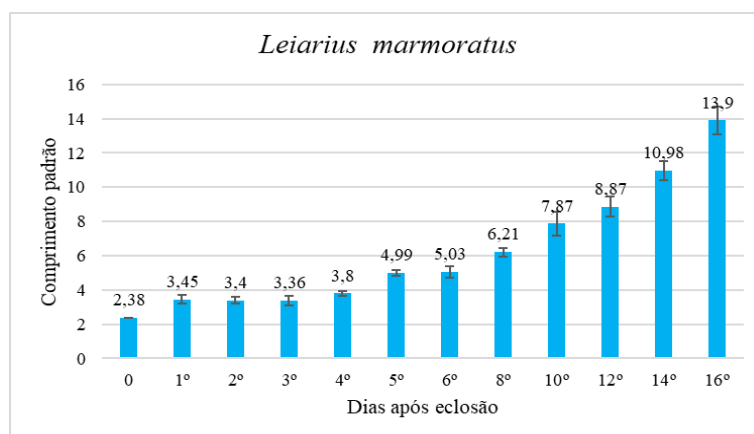
Fonte: Dados do próprio autor.

**Figura 4** - Crescimento das larvas de *Pseudoplatystoma reticulatum*. Comprimento padrão desde o momento da eclosão até 17° DPE. Os valores acima das colunas representam os valores de comprimento padrão em milímetros referente a cada dia após eclosão.



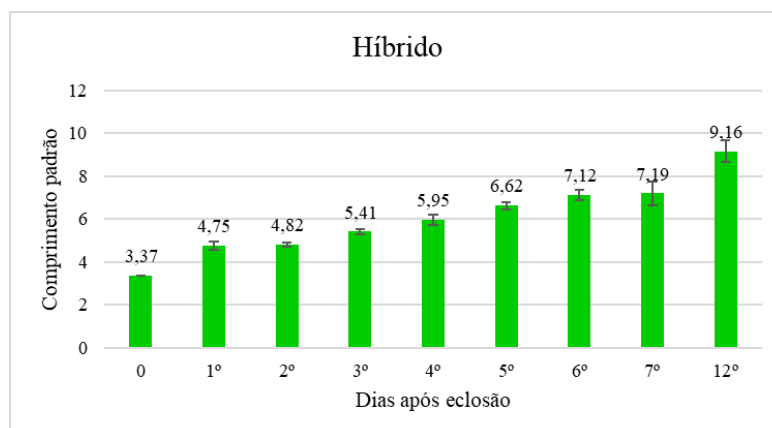
Fonte: Dados do próprio autor.

**Figura 5** - Crescimento das larvas de *Leiarius marmoratus*. Comprimento padrão desde o momento da eclosão até 16° DPE. Os valores acima das colunas representam os valores de comprimento padrão em milímetros referente a cada dia após eclosão.



Fonte: Dados do próprio autor.

**Figura 6** - Crescimento das larvas de híbrido. Comprimento padrão desde o momento da eclosão até 12° DPE. Os valores acima das colunas representam os valores de comprimento padrão em milímetros referente a cada dia após eclosão.



Fonte: Dados do próprio autor.

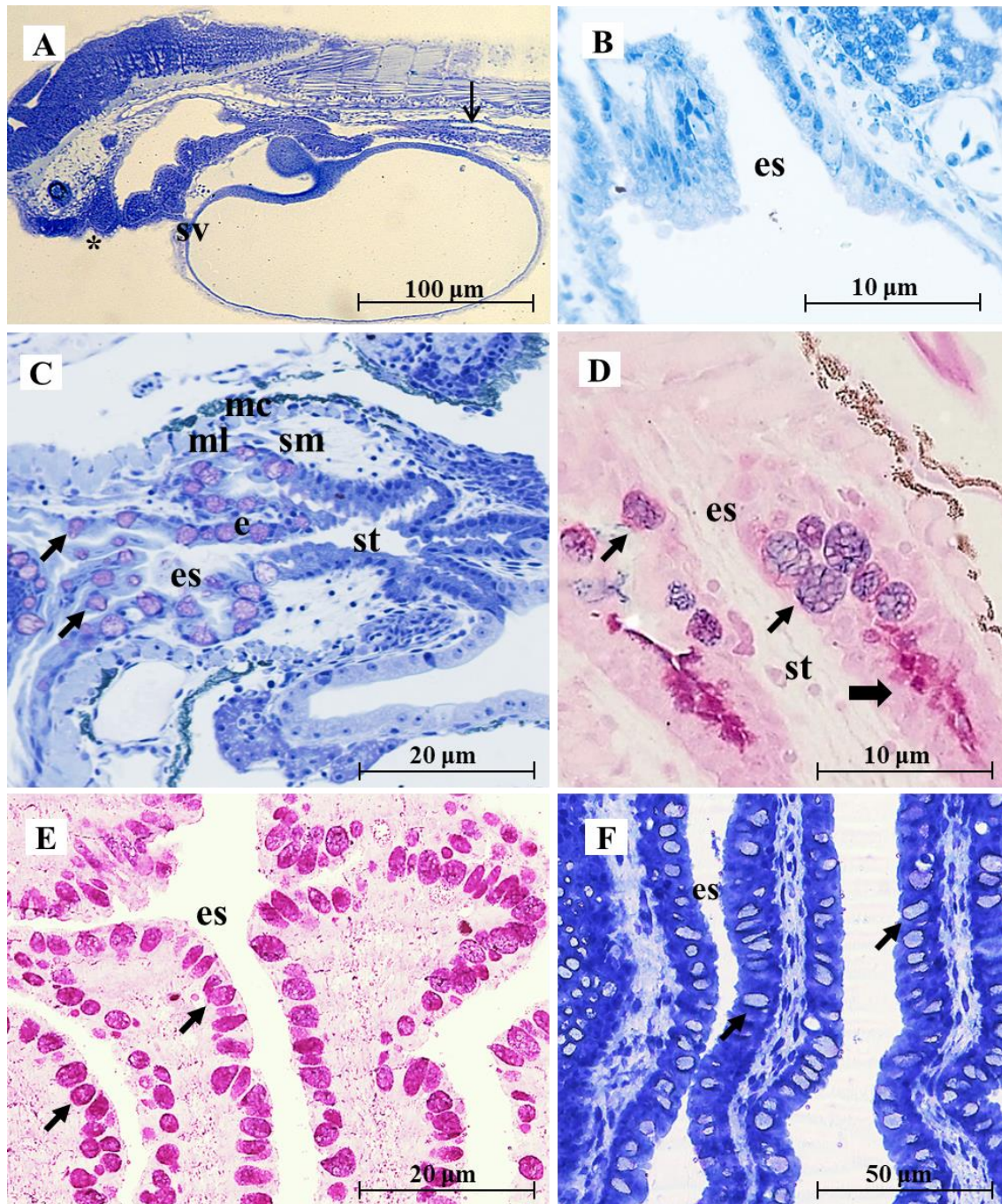
## **4.2 Histologia e histoquímica do desenvolvimento do sistema digestório de *Pseudoplatystoma reticulatum***

### **4.2.1 *Bucofaringe e esôfago***

Após a eclosão, a cavidade bucofaríngea e o esôfago não puderam ser diferenciadas dos demais componentes do tubo digestivo (Figura 7A). Com 1 DPE, foi observada a formação do lúmen esofágico (Figura 7B). No 3º DPE, o epitélio esofágico foi caracterizado como estratificado pavimentoso com a presença de células caliciformes (Figura 7C). A reação histoquímica revelou que as células caliciformes esofágicas foram PAS, AB e AB+PAS positivas a partir do 3º DPE (Figura 7D). Com o crescimento das larvas, o número de células epiteliais e células caliciformes aumentou, sendo evidenciadas e pregas longitudinais no esôfago (Figuras 7E, 7F). Abaixo da camada epitelial do esôfago, foi observada a lâmina própria que não pôde ser distinguida da submucosa pela ausência de camada muscular. Com o crescimento das larvas observou-se o aumento da espessura da submucosa que era composta por tecido conjuntivo. A camada muscular apresentou-se inicialmente delgada, sendo possível observar o aumento desta durante o crescimento dos animais, possibilitando a visualização de fibras estriadas com orientação longitudinal interna e circular externa. Abaixo da camada muscular observou-se a presença da camada serosa.



**Figura 7** - Seções histológicas das larvas de *Pseudoplatystoma reticulatum*. A) larvas com 0 dias após eclosão (DPE) corte longitudinal, região da boca, primórdio do tubo digestivo, saco vitelino (Azul de toluidina). B) 1º DPE corte longitudinal, formação do lúmen esofágico (Azul de toluidina). C) larvas com 3º DPE, corte longitudinal, epitélio esofágico simples pavimentoso com a presença de células caliciformes (Azul de toluidina). D) 3º DPE corte longitudinal, células caliciformes do esôfago reativas ao PAS+AB (PAS+AB). E) 17º DPE corte longitudinal, evidenciando pregas longitudinais e das células caliciformes do esôfago que se mostraram reativas ao PAS (PAS). F) 17º DPE corte longitudinal, evidenciando pregas longitudinais e aumento das células caliciformes do esôfago (Azul de toluidina). Legendas: asterisco (boca), esôfago (es), seta fina (primórdio do tubo digestivo), sv (saco vitelino), e (epitélio), sm (submucosa), ml (camada muscular longitudinal), mc (camada muscular circular), seta (células caliciformes), st (estômago) e seta grossa (ápice das células do epitélio gástrico).



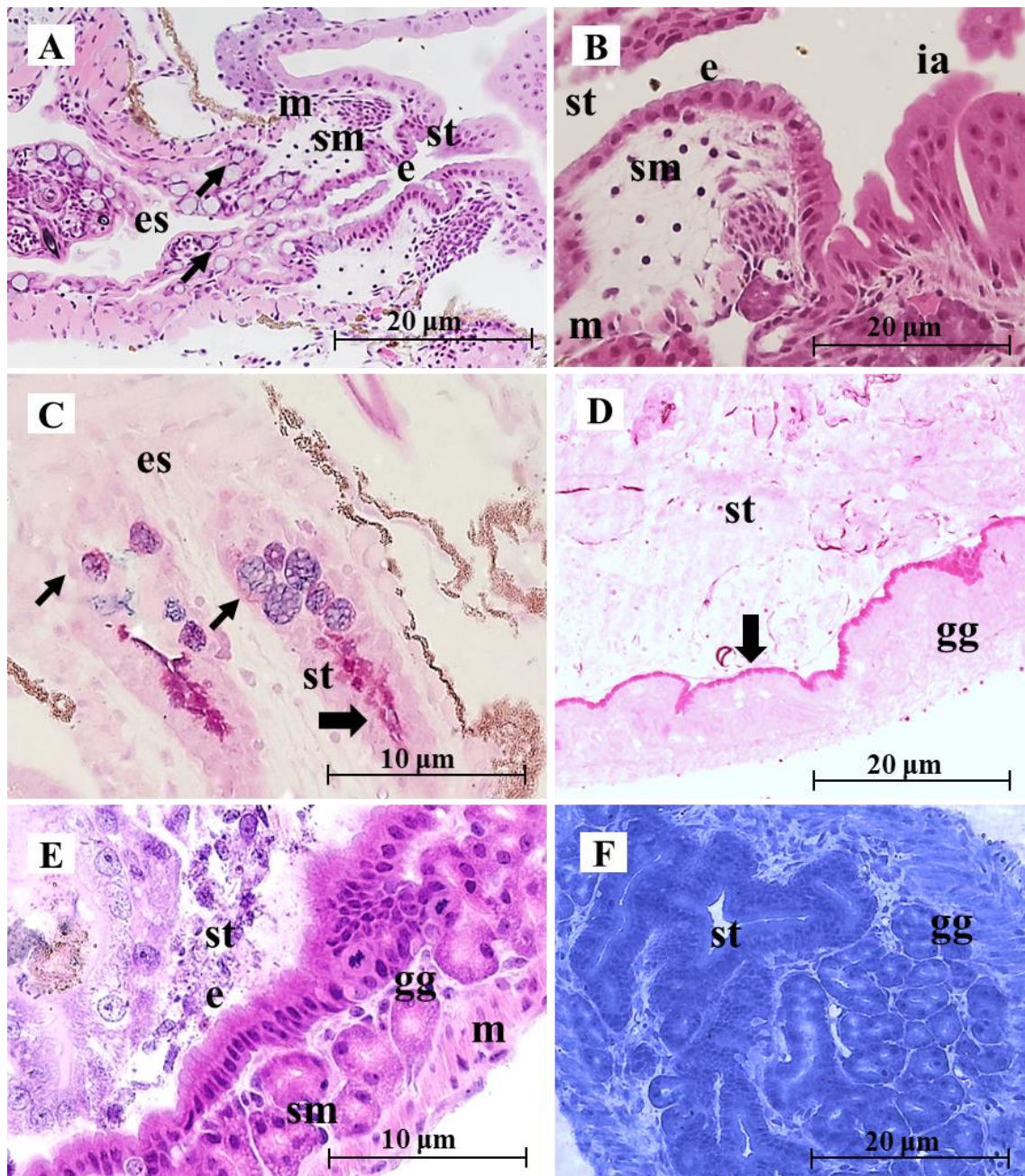
Fonte: Dados do próprio autor.

### **4.2.2 Estômago**

O primórdio do estômago foi observado no 3º DPE, sendo notado como uma extensão do esôfago, porém com epitélio de revestimento simples cúbico e lúmen mais amplo e com maior quantidade de pregas longitudinais quando comparadas ao esôfago (Figuras 8A, 8B). A partir do 3º DPE, as células do epitélio gástrico mostraram a região apical fortemente reativa ao PAS (Figuras 8C, 8D).

No 14º DPE foi evidenciado a presença de glândulas gástricas. Também foi observada a mudança do epitélio simples cúbico para simples colunar (Figura 8E). Apesar da região do primórdio do estômago ter sido observada precocemente, o estômago como estrutura sacular foi observado apenas no 17º DPE (Figura 8F). Abaixo da mucosa observou-se a camada submucosa delgada composta por tecido conjuntivo e externamente a esta observou-se a camada muscular, composta por músculo liso com orientação circular e longitudinal. Fazendo o revestimento externo do estômago observou-se a camada serosa.

**Figura 8** - Secções histológicas das larvas de *Pseudoplatystoma reticulatum*. A) larvas no 3º dia após eclosão (DPE) corte longitudinal, visualização das primeiras estruturas do estômago (Hematoxilina e eosina). B) 6º DPE corte longitudinal, epitélio do estômago simples cúbico (Hematoxilina e eosina). C) 3º DPE corte longitudinal, células caliciformes e células apicais do epitélio gástrico reativas ao PAS (PAS+AB). D) 14º DPE corte longitudinal, células apicais do epitélio gástrico reativas ao PAS (PAS). E) 14º DPE corte longitudinal, mudança do epitélio gástrico de simples cúbico para simples colunar e formação das glândulas gástricas (Hematoxilina e eosina). F) 17º DPE corte longitudinal, estômago em forma sacular com a presença de glândulas gástricas (Azul de toluidina). Legendas: es (esôfago), st (estômago), e (epitélio), ia (intestino anterior), sm (submucosa), m (camada muscular), gg (glândulas gástricas), seta (células caliciformes) e seta grossa (ápice das células do epitélio gástrico).



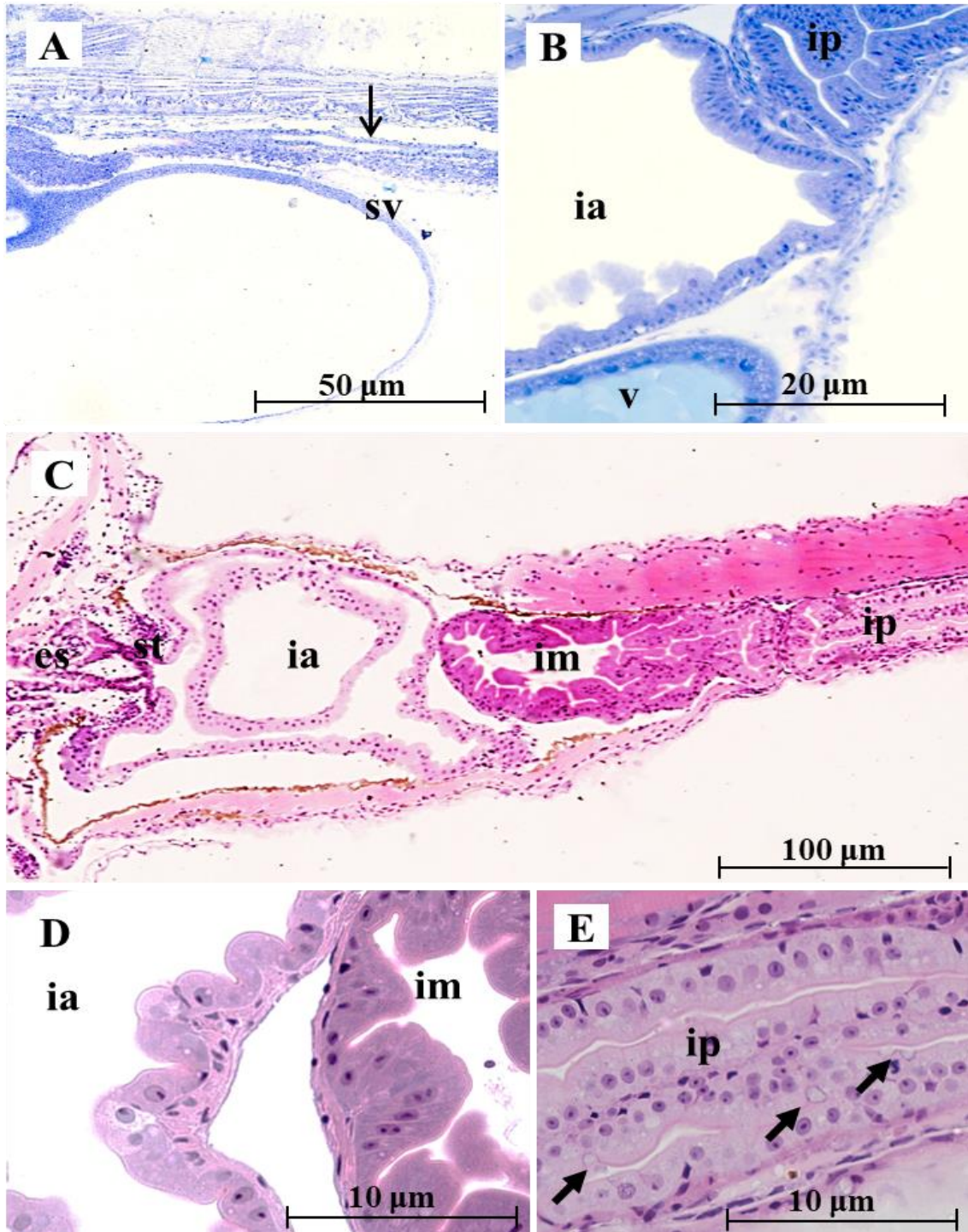
Fonte: Dados do próprio autor.

### 4.2.3 *Intestino*

Após a eclosão, o intestino primitivo era formado apenas por um tubo reto, com ânus fechado (Figura 9A). A partir do 1º DPE, foi possível observar a formação de pregas intestinais e o lúmen começou a ampliar-se, permitindo assim a visualização de duas regiões, anterior e posterior (Figura 9B). A alimentação exógena iniciou-se no 2º DPE e ao 3º DPE foi possível notar a presença de alimento no intestino anterior e presença de uma pequena quantidade de vitelo, este período foi considerado de alimentação mista. Também foi possível diferenciar três regiões intestinais bem delimitadas: anterior com lúmen amplo e aspecto sacular; médio com lúmen amplo e numerosas pregas e posterior com lúmen estreito e pregas longitudinais (Figura 9C).

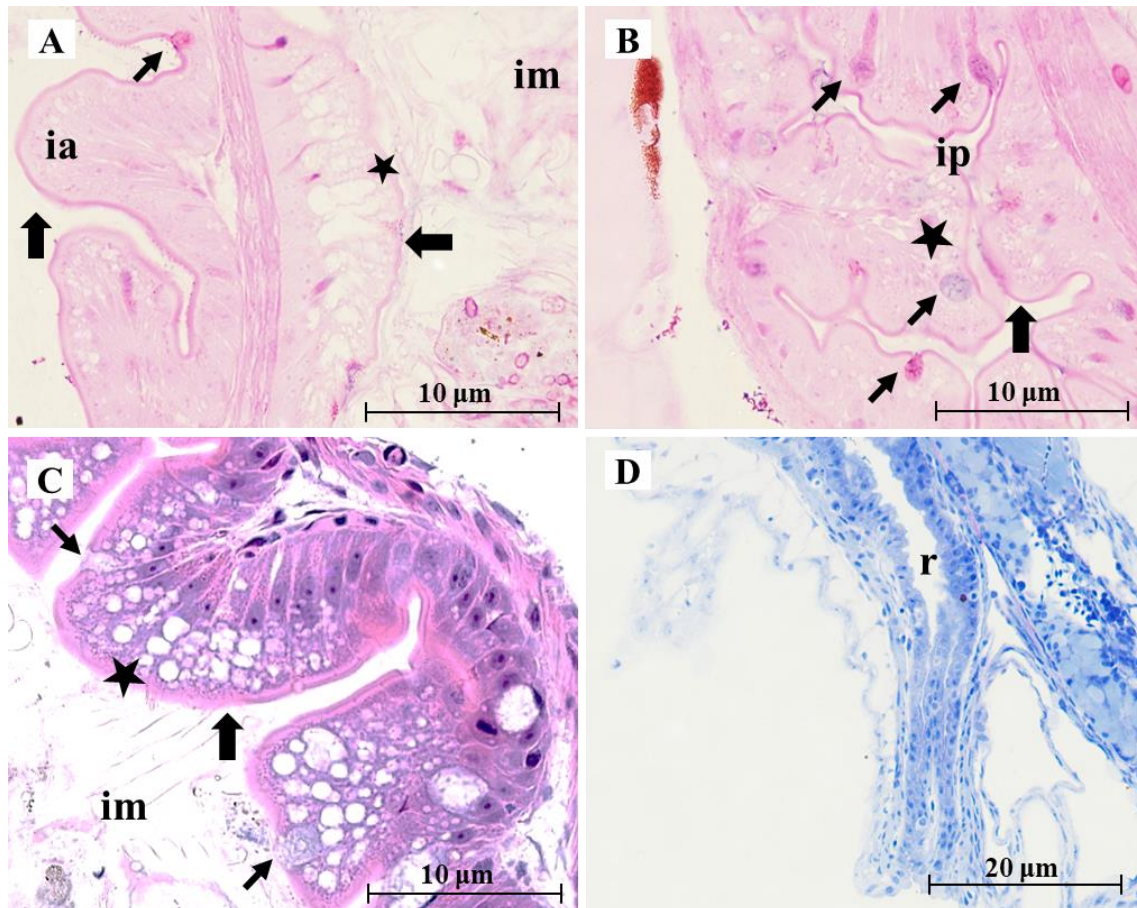
O intestino é revestido por epitélio simples colunar, formado por células absorptivas ou enterócitos e células caliciformes (Figuras 9D, 9E), sendo as primeiras células caliciformes visualizadas no 1º DPE. O número de células caliciformes aumentou com o desenvolvimento dos animais, sendo mais numerosas na região posterior. Estas células apresentaram reação positiva ao PAS e PAS+AB em todas as regiões intestinais. Além disso constatou-se reação PAS positiva na borda em escova dos enterócitos e grande quantidade de vacúolos de absorção na região apical dos enterócitos do intestino médio e posterior e a presença de pregas longitudinais no reto (Figuras 10A, 10B, 10C, 10D). Abaixo da camada mucosa observou-se uma fina camada submucosa, seguida por uma camada muscular também delgada e o revestimento externo do intestino foi formado pela camada serosa.

**Figura 9** - Secções histológicas das larvas de *Pseudoplatystoma reticulatum*. A) larvas com 0 dia após eclosão (DPE) corte longitudinal, primórdio do tubo digestivo, saco vitelino (Azul de toluidina). B) 1º DPE corte longitudinal, visualização do lúmen da região do intestino anterior e intestino posterior (Azul de toluidina). C) larvas com 3º DPE corte longitudinal, visualização de três regiões intestinais denominadas: intestino anterior, médio e posterior (Hematoxilina e eosina). D) 3º DPE corte longitudinal, epitélio do intestino anterior e médio (Hematoxilina e eosina). E) 3º DPE corte longitudinal, epitélio do intestino posterior simples colunar com a presença de células caliciformes. Legendas: seta fina (primórdio do tubo digestivo), sv (saco vitelino), es (esôfago), st (estômago), ia (intestino anterior), im (intestino médio), ip (intestino posterior) e seta (células caliciformes).



Fonte: Dados do próprio autor.

**Figura 10** - Secções histológicas das larvas de *Pseudoplatystoma reticulatum*. A) larvas no 17º dia após eclosão (DPE) corte longitudinal, reação borda em escova na região do intestino anterior e médio (PAS). B) 17º DPE corte longitudinal, reação borda em escova na região do intestino posterior (PAS+AB). C) 15º DPE corte longitudinal, aumento dos enterócitos no intestino médio (Hematoxilina e eosina). D) 6º DPE corte longitudinal, reto com a presença de pregas longitudinais (Azul de toluidina). Legendas: ia (intestino anterior), ip (intestino posterior), im (intestino médio), seta (células caliciformes), seta grossa (ápice das células do epitélio intestinal), estrela (enterócitos) e r (reto).

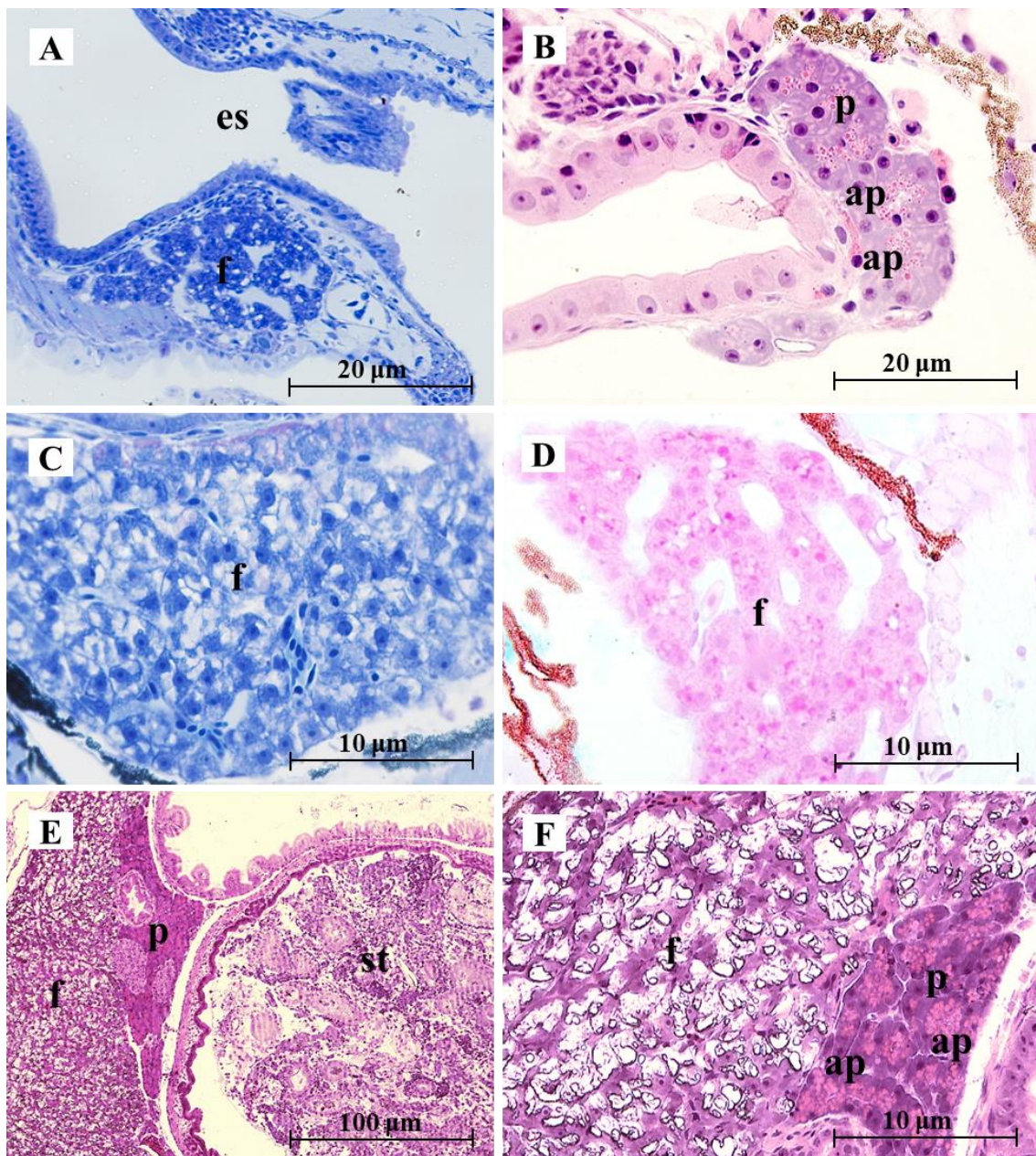


Fonte: Dados do próprio autor.

#### **4.2.4 *Glândulas anexas***

O fígado foi observado no 1º DPE, como um aglomerado de células, localizados na região cranial ao saco vitelino e abaixo do primórdio do esôfago (Figura 11A). Ao 2º DPE observou-se a diferenciação do pâncreas e ao 3º DPE já era possível visualizar a presença de ácinos pancreáticos (Figura 11B). Com o desenvolvimento dos animais e ampliação do lúmen intestinal, o pâncreas e fígado passaram a ocupar uma posição cranial ao intestino anterior. No início da alimentação exógena as glândulas anexas já se encontravam bem desenvolvidas. Ao 5º DPE observou-se o armazenamento de lipídios no fígado e reação positiva ao PAS nos hepatócitos, indicando a presença de glicogênio (Figuras 11C, 11D). O pâncreas exócrino encontrava-se externo ao fígado, caracterizando assim a presença de um pâncreas difuso extra-hepático (Figuras 11E, 11F).

**Figura 11** - Secções histológicas das larvas de *Pseudoplatystoma reticulatum*. A) larvas no 1º dia após eclosão (DPE) corte longitudinal, evidenciando fígado em diferenciação (Azul de toluidina). B) 3º DPE corte longitudinal, pâncreas em diferenciação com a presença de ácinos pancreáticos (Hematoxilina e eosina). C) 5º DPE corte longitudinal, fígado com armazenamento de lipídios (Azul de toluidina). D) 5º DPE corte longitudinal, glicogênio presente no fígado apresentou reação ao PAS (PAS). E) 17º DPE corte longitudinal, evidenciando pâncreas extra-hepático (Hematoxilina e eosina). F) 17º DPE corte longitudinal, evidenciando pâncreas extra-hepático com a presença de ácinos pancreáticos (Hematoxilina e eosina). Legendas: es (esôfago), f (fígado), p (pâncreas), st (estômago) e ap (ácinos pancreáticos).



Fonte: Dados do próprio autor.

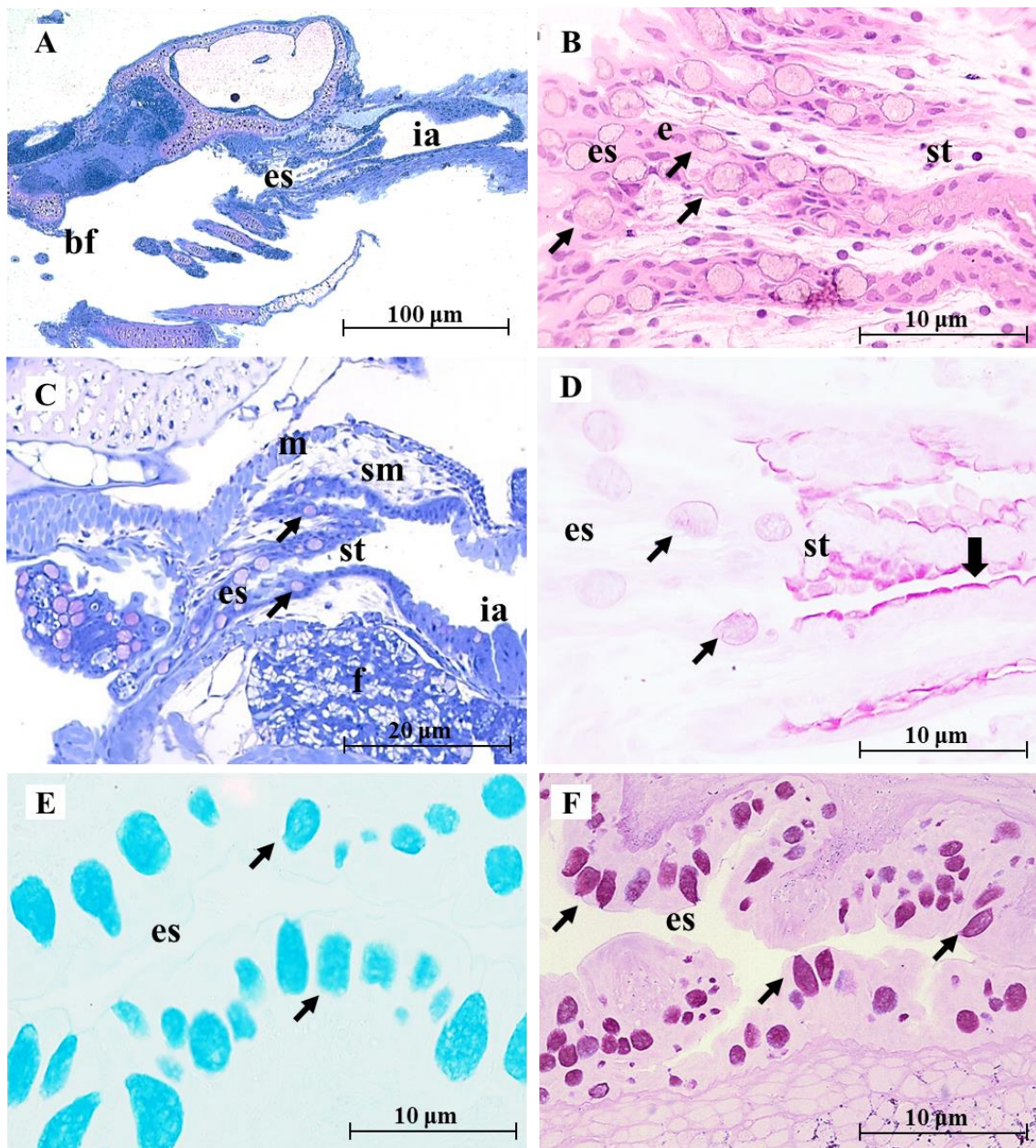


### **4.3 Histologia e histoquímica do desenvolvimento do sistema digestório de *Leiarius marmoratus***

#### **4.3.1 Bucofaringe e esôfago**

Após a eclosão, a cavidade bucofaríngea e o esôfago não puderam ser diferenciadas dos demais componentes do tubo digestivo. Com 1 DPE, foi observada a diferenciação da bucofaringe, abertura da boca e a formação do lúmen esofágico (Figura 12A). No 3º DPE, o epitélio esofágico foi caracterizado como estratificado pavimentoso e com a presença de células caliciformes (Figura 12B). Com o crescimento das larvas, o número de células epiteliais e células caliciformes aumentou e pregas longitudinais foram evidenciadas no esôfago (Figura 12C). A reação histoquímica revelou que a partir do 5º DPE as células caliciformes esofágicas foram PAS, AB e AB+PAS positivas (Figuras 12D, 12E, 12F). Abaixo da camada epitelial do esôfago, foi observada a lâmina própria que não pôde ser distinguida da submucosa pela ausência de camada muscular. Com o crescimento das larvas observou-se o aumento de espessura da submucosa que era composta por tecido conjuntivo. A camada muscular apresentou-se inicialmente delgada, sendo possível observar o aumento desta durante o crescimento dos animais, possibilitando a visualização de fibras estriadas com orientação longitudinal interna e circular externa. Abaixo da camada muscular observou-se a presença da camada serosa.

**Figura 12** - Secções histológicas das larvas de *Leiariius marmoratus*. A) Larvas no 1º dia após eclosão (DPE) corte longitudinal, evidenciando abertura da boca, desenvolvimento diferenciação do esôfago e intestino anterior (Azul de toluidina). B) 3º DPE corte longitudinal, epitélio esofágico estratificado pavimentoso com a presença de células caliciformes (Hematoxilina e eosina). C) larvas com 5º DPE corte longitudinal, aumento das pregas longitudinais do esôfago (Azul de toluidina). D) 5º DPE corte longitudinal, células caliciformes do esôfago reativas ao PAS (PAS+AB). E) 16º DPE corte longitudinal, células caliciformes do esôfago reativas ao AB (AB). F) 16º DPE corte longitudinal, células caliciformes do esôfago reativas ao PAS (PAS). Legendas: bf (bucofaringe), es (esôfago), st (estômago), seta (células caliciformes), seta grossa (ápice das células do epitélio gástrico), m (camada muscular), e (epitélio) e ia (intestino anterior).



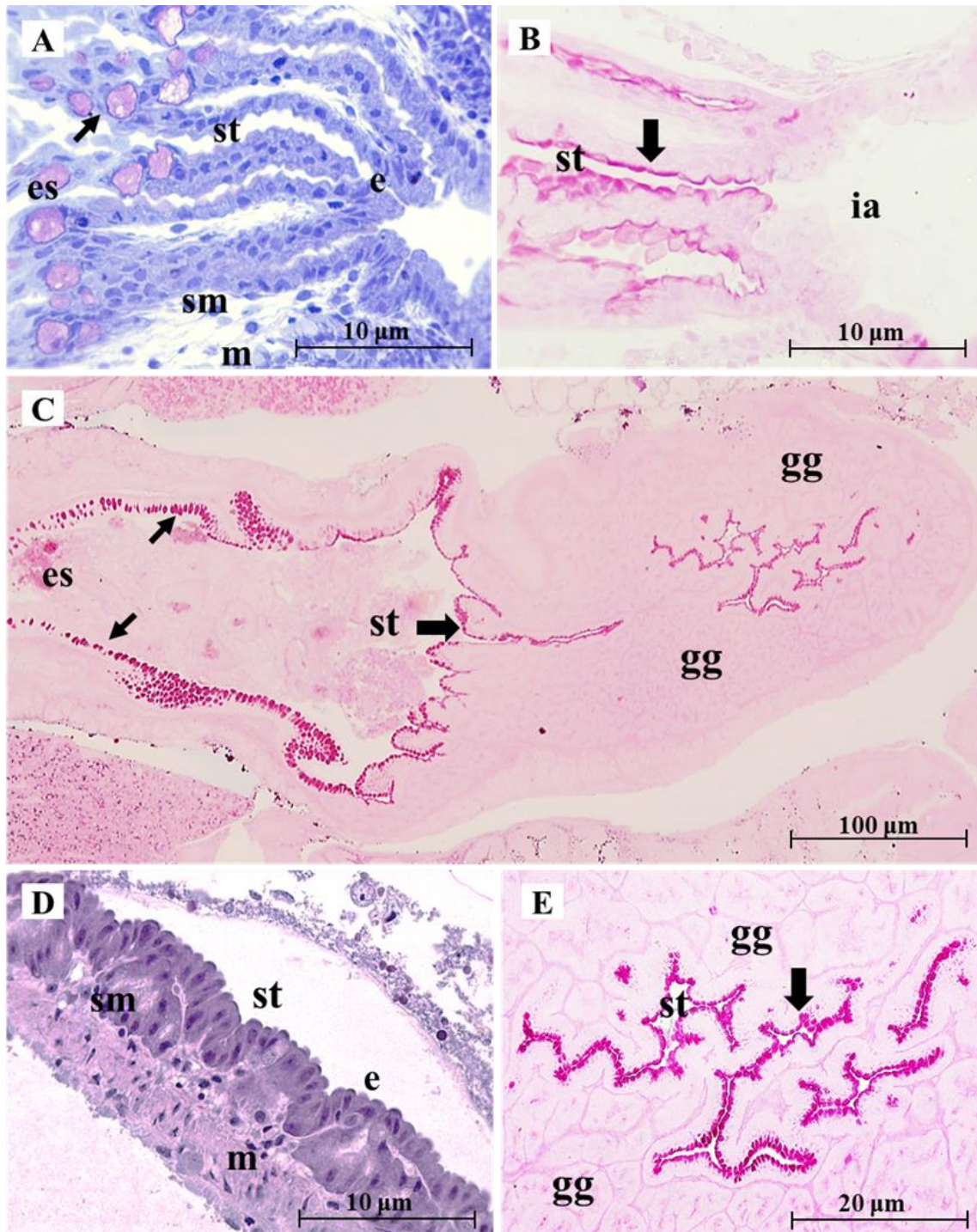
Fonte: Dados do próprio autor.

### **4.3.2 Estômago**

O primórdio do estômago foi observado no 3º DPE, sendo notado como uma extensão do esôfago, porém com epitélio de revestimento simples colunar. A região do primórdio do estômago apresentou lúmen estreito e com maior quantidade de pregas longitudinais quando comparadas ao esôfago (Figura 13A). A partir do 5º DPE o lúmen do estômago ampliou e a região apical das células epiteliais apresentou forte reação ao PAS positiva (Figura 13B).

Com a diferenciação gástrica, foi evidenciado a presença de glândulas gástricas em indivíduos a partir do 15º DPE (Figuras 13D, 13E). Apesar da região do primórdio do estômago ter sido observada precocemente o estômago como estrutura sacular foi identificado apenas ao 16º DPE (Figura 13C). Abaixo da mucosa observou-se a camada submucosa delgada composta por tecido conjuntivo e externamente a esta observou-se a camada muscular, composta por uma camada interna de fibras circulares e uma camada externa de fibras longitudinais. Fazendo o revestimento externo do estômago observou-se a camada serosa.

**Figura 13** - Secções histológicas das larvas de *Leiarius marmoratus*. A) larvas no 3º dia após eclosão (DPE) corte longitudinal, visualização das primeiras estruturas do estômago revestido por epitélio simples colunar (Azul de toluidina). B) 5º DPE corte longitudinal, células apicais do epitélio gástrico reativas ao PAS (PAS). C) larvas com 16º DPE corte longitudinal, estômago com forma sacular (PAS). D) 15º DPE corte longitudinal, evidenciando a formação das glândulas gástricas (Hematoxilina e eosina). E) 16º DPE corte longitudinal, células apicais do epitélio gástrico reativas ao PAS e presença de glândulas gástricas (PAS). Legendas: es (esôfago), st (estômago), e (epitélio), seta (células caliciformes), sm (submucosa), m (camada muscular), ia (intestino anterior), seta grossa (ápice das células do epitélio gástrico) e gg (glândulas gástricas).



Fonte: Dados do próprio autor.

### 4.3.3 *Intestino*

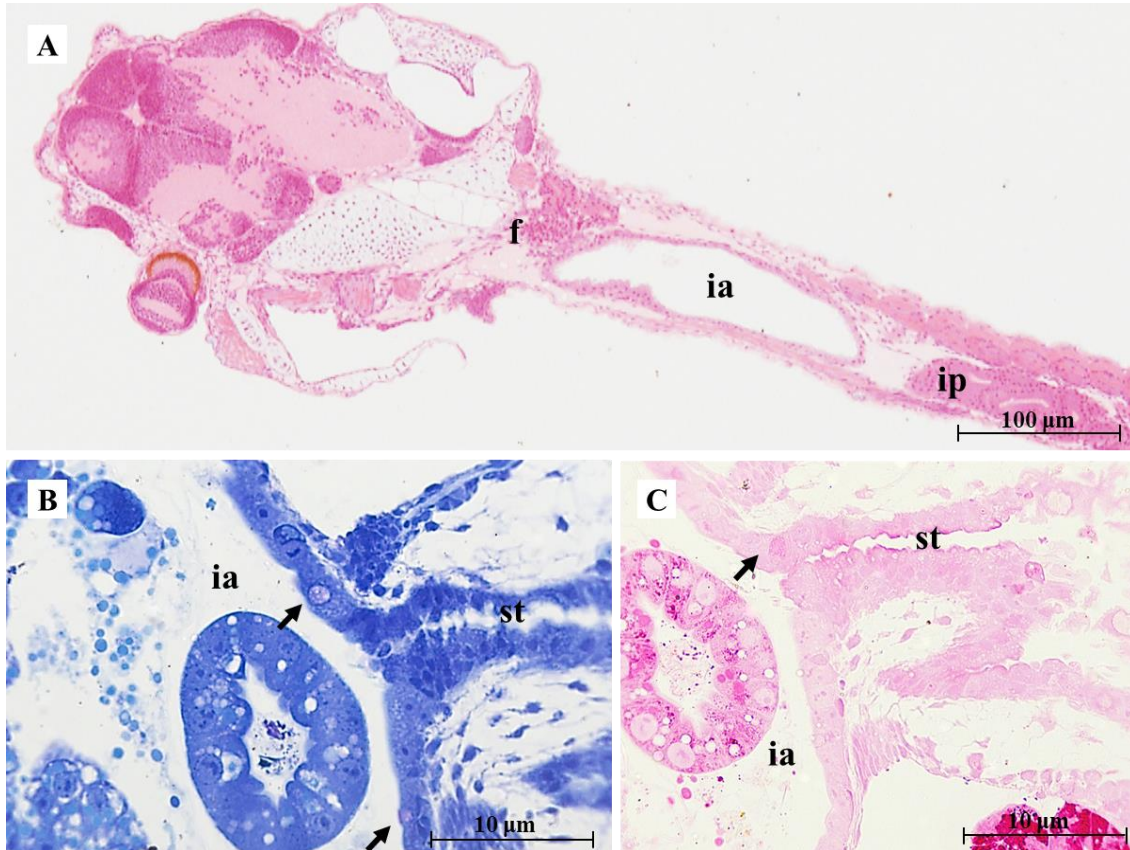
Após a eclosão, o intestino primitivo era formado apenas por um tubo reto, com ânus fechado. A partir do 1º DPE, foi possível observar a formação de pregas intestinais e o lúmen começou a ampliar-se, permitindo assim a visualização de duas regiões, anterior e posterior. O lúmen do intestino anterior apresentou-se mais amplo que a do intestino posterior (Figura 14A).

A alimentação exógena iniciou ao 4º DPE, sendo possível observar a presença de alimento no intestino anterior (Figura 14B). Esta espécie não apresentou período de alimentação mista, uma vez que a alimentação exógena iniciou após a absorção completa das reservas de vitelo. As primeiras células caliciformes foram visualizadas com 1 DPE. Ao 4º DPE as células caliciformes do intestino anterior apresentaram reação positiva moderada ao PAS (Figura 14C). Ao 8º DPE, foi possível diferenciar três regiões intestinais bem delimitadas: a anterior com lúmen amplo e aspecto sacular; médio com lúmen amplo e numerosas pregas e posterior com lúmen estreito e pregas longitudinais (Figura 15A).

O intestino foi revestido por epitélio simples colunar, formado por células absorptivas ou enterócitos e células caliciformes (Figuras 15B, 15C). O número de células caliciformes aumentou com o desenvolvimento dos animais, sendo mais numerosas na região posterior (Figura 15D). Estas células apresentaram reação positiva ao PAS e PAS+AB em todas as regiões intestinais. Além disso constatou-se reação PAS positiva na borda em escova dos enterócitos e grande quantidade de vacúolos de absorção na região apical dos enterócitos do intestino médio e posterior (Figura 15E).

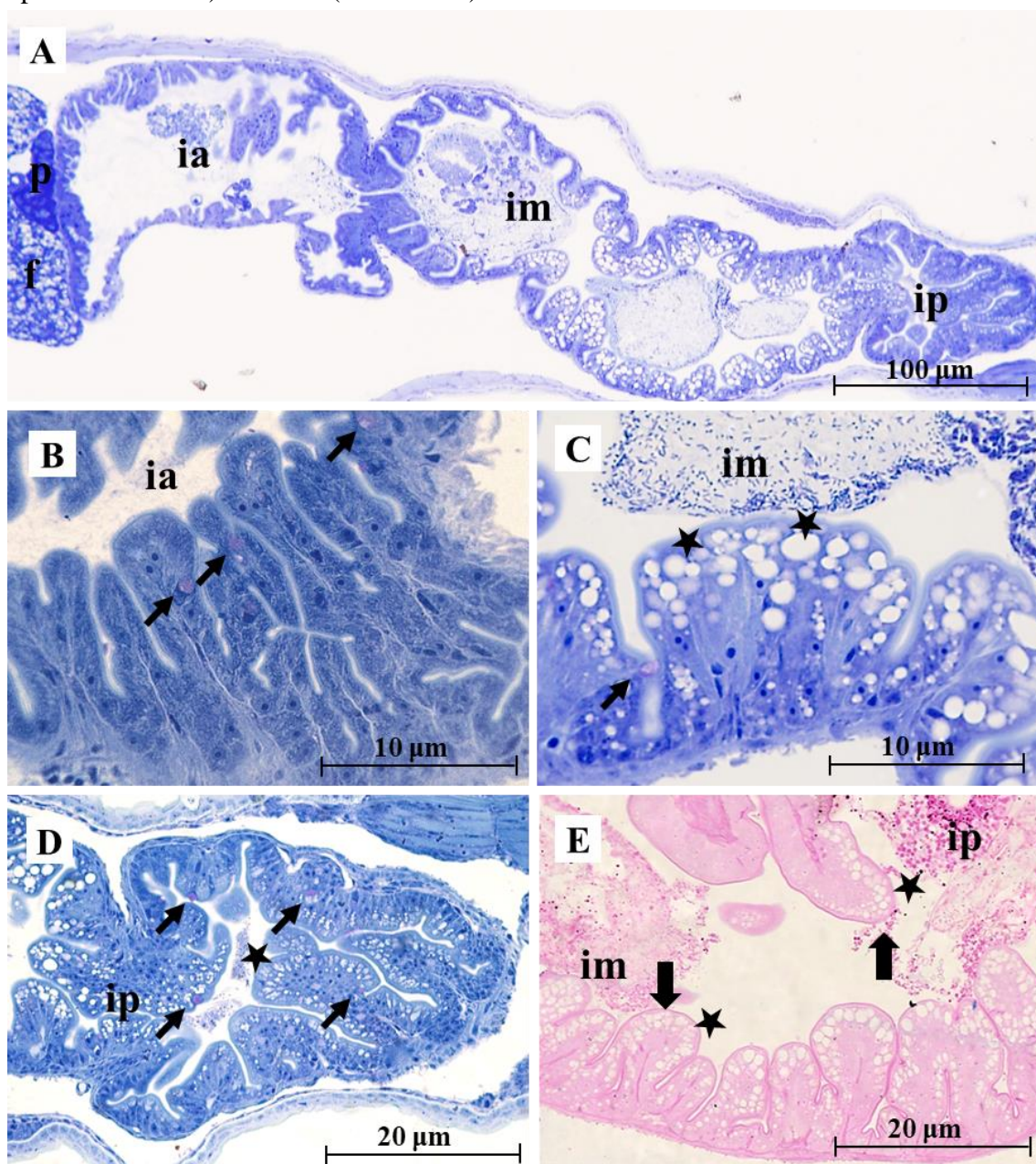
Abaixo da camada mucosa observou-se uma fina camada submucosa, seguida por uma camada muscular também delgada e o revestimento externo do intestino foi formado pela camada serosa.

**Figura 14** - Secções histológicas das larvas de *Leiarius marmoratus*. A) larvas com 1 dias após eclosão (DPE) corte longitudinal, primórdio do tubo digestivo (Hematoxilina e eosina). B) larvas com 4º DPE corte longitudinal, presença de alimento no intestino anterior (Azul de toluidina). C) B) 4º DPE corte longitudinal, células caliciformes do intestino anterior mostraram reação moderada ao PAS (PAS). Legendas: st (estômago), seta (células caliciformes), ia (intestino anterior), ip (intestino posterior) e f (fígado).



Fonte: Dados do próprio autor.

**Figura 15** - Secções histológicas das larvas de *Leiarius marmoratus*. A) larvas no 8º dia após eclosão (DPE) corte longitudinal, visualização das três regiões intestinais bem delimitadas: intestino anterior, médio e posterior (Azul de toluidina). B) 8º DPE corte longitudinal, intestino anterior revestido por epitélio simples colunar com a presença de células caliciformes (Azul de toluidina). C) 8º DPE corte longitudinal, intestino médio revestido por epitélio simples colunar com a presença de células caliciformes e enterócitos (células absorptivas) (Azul de toluidina). D) 8º DPE corte longitudinal, visualização de alta concentração de células caliciformes e enterócitos (células absorptivas) no epitélio do intestino posterior (Azul de toluidina). E) 16º DPE corte longitudinal, intestino médio e posterior evidenciando borda em escova dos enterócitos (PAS). Legendas: ia (intestino anterior), im (intestino médio), ip (intestino posterior), f (fígado), p (pâncreas), seta (células caliciformes), seta grossa (ápice das células do epitélio intestinal) e estrela (enterócitos).



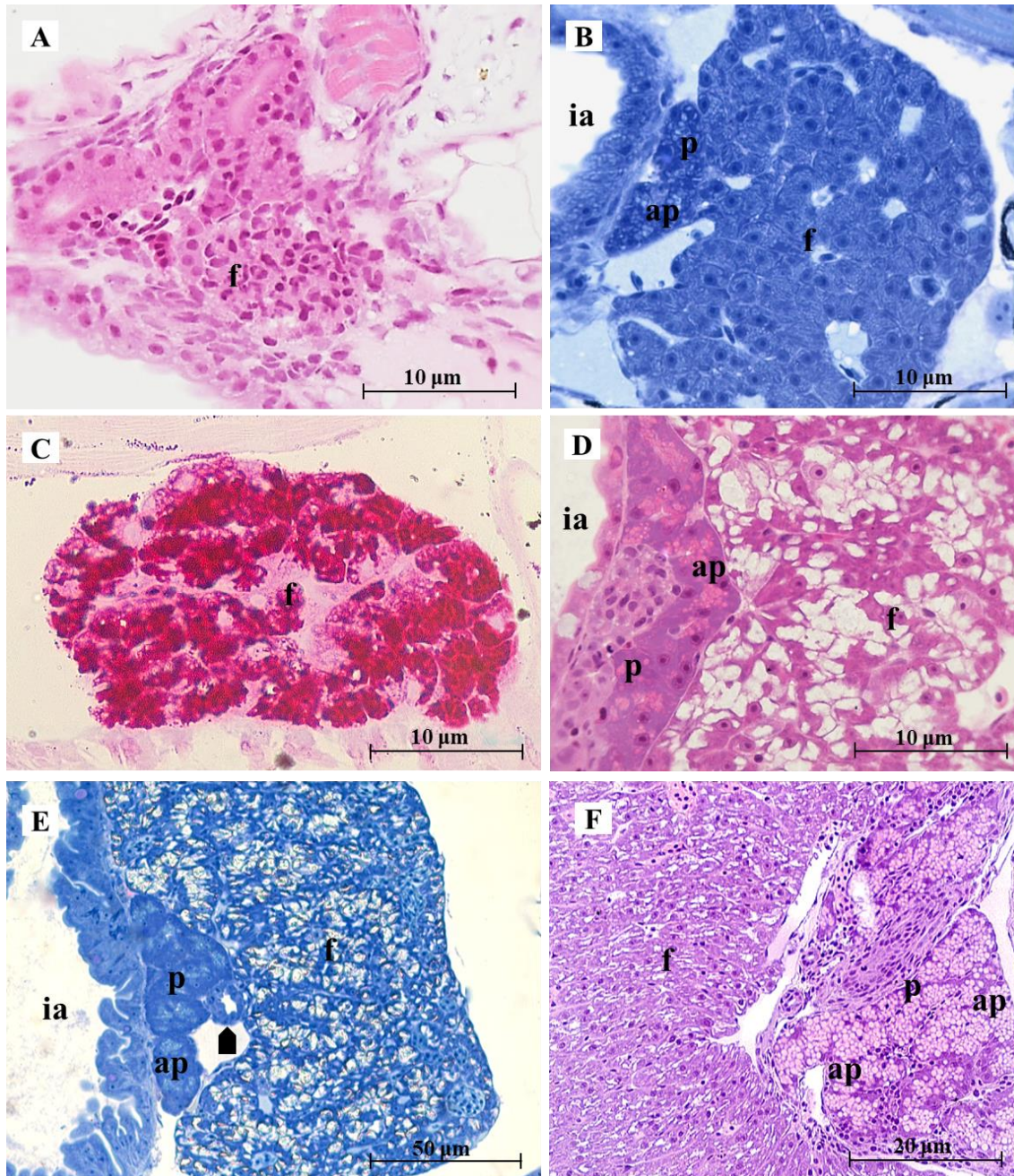
Fonte: Dados do próprio autor.

#### **4.3.4 *Glândulas anexas***

O fígado foi observado no 1º DPE, como um aglomerado de células localizadas na região cranial ao saco vitelino e abaixo do primórdio do esôfago (Figura 16A). Com o desenvolvimento dos animais e ampliação do lúmen intestinal, o fígado e pâncreas passaram a ocupar uma posição cranial ao intestino anterior. A diferenciação do pâncreas foi observada a partir do 2º DPE (Figura 16B). No início da alimentação exógena as glândulas anexas já se encontravam bem desenvolvidas. A partir do 4º DPE, observou-se o armazenamento de lipídios e reação positiva ao PAS nos hepatócitos, indicando a presença de glicogênio (Figura 16C). Cabe destacar que o armazenamento de lipídios iniciou momentos após o animal iniciar a alimentação exógena. No pâncreas foram observados a presença de ácinos pancreáticos a partir do 2º DPE (Figuras 16D, 16E). O pâncreas exócrino encontrava-se externo ao fígado, caracterizando assim a presença de um pâncreas difuso extra-hepático (Figura 16F).



**Figura 16** - Secções histológicas das larvas de *Leiarius marmoratus*. A) larvas no 1º dia após eclosão (DPE) corte longitudinal, evidenciando fígado em diferenciação (Hematoxilina e eosina). B) 2º DPE corte longitudinal, pâncreas em diferenciação com a presença de ácidos pancreáticos (Azul de toluidina). C) 4º DPE corte longitudinal, fígado reação positiva ao PAS de glicogênio presente no fígado (PAS). D) 5º DPE corte longitudinal, fígado com armazenamento de lipídios e pâncreas com ácidos pancreáticos (Azul de toluidina). E) 8º DPE corte longitudinal, fígado com armazenamento de lipídios e pâncreas com presença ácidos pancreáticos (Azul de toluidina). F) 16º DPE corte longitudinal, evidenciando pâncreas extra-hepático com a presença de ácidos pancreáticos (Hematoxilina e eosina). Legendas: ia (intestino anterior), f (fígado), p (pâncreas), ap (ácidos pancreáticos) e seta pentágono (ducto biliar).



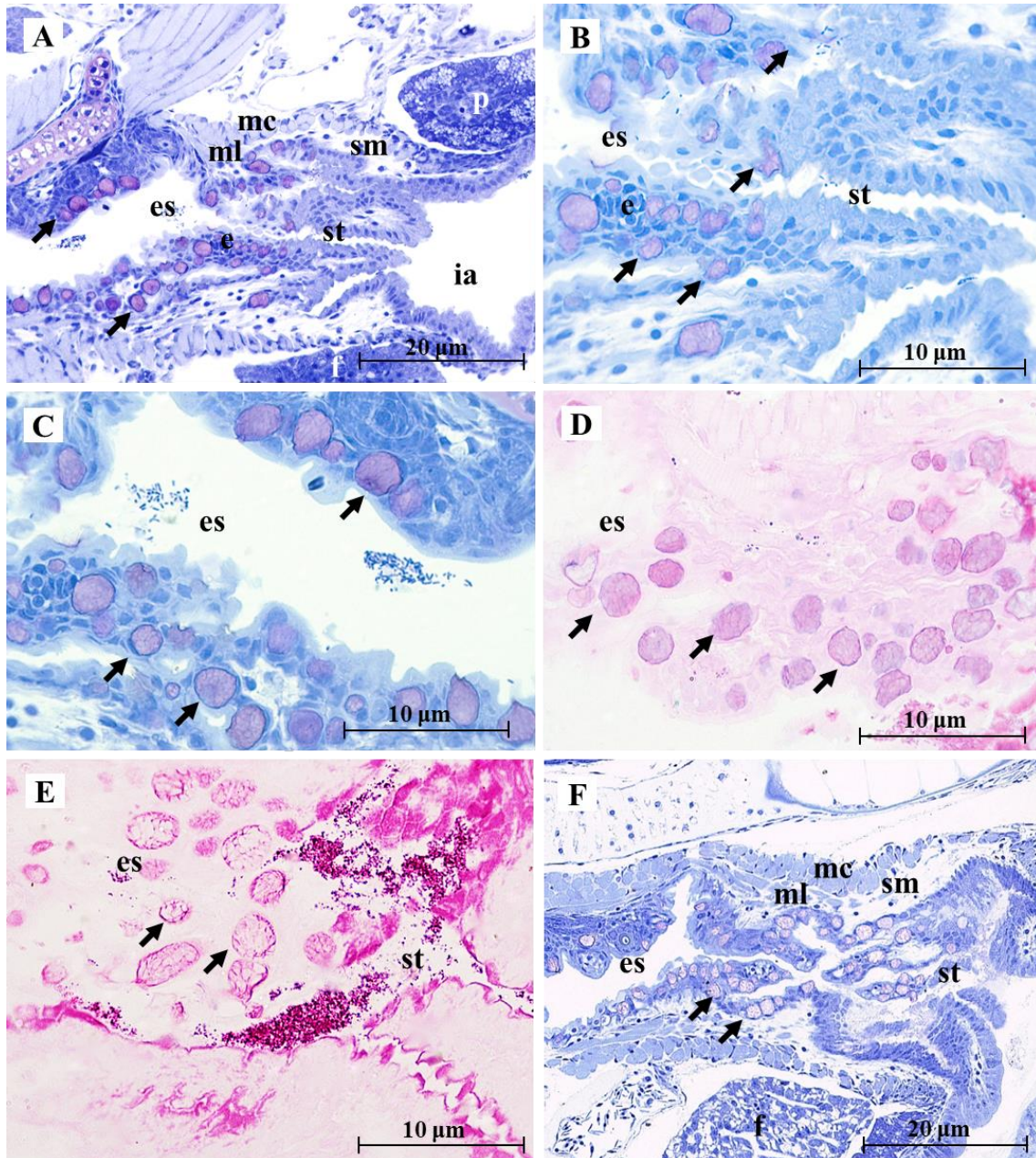
Fonte: Dados do próprio autor.

#### **4.4 Histologia e histoquímica do desenvolvimento do sistema digestório de híbrido**

##### ***4.4.1 Bucofaringe e esôfago***

Após a eclosão, a cavidade bucofaríngea e o esôfago não puderam ser diferenciadas dos demais componentes do tubo digestivo. Com 1 DPE, foi observada a abertura da boca e a formação do lúmen esofágico. No 4º DPE, o epitélio esofágico foi caracterizado como estratificado pavimentoso com a presença de células caliciformes (Figuras 17A, 17B, 17C). A reação histoquímica revelou que as células caliciformes esofágicas foram PAS, AB e AB+PAS positivas a partir do 4º DPE (Figuras 17D, 17E). Com o crescimento das larvas, ocorreu o aumento das células epiteliais e células caliciformes do esôfago propiciando o aumento de pregas longitudinais (Figura 17F). Abaixo da camada epitelial do esôfago, foi observada a lâmina própria que não pôde ser distinguida da submucosa pela ausência de camada muscular. Com o crescimento das larvas observou-se o aumento de espessura da submucosa que era composta por tecido conjuntivo. A camada muscular apresentou-se inicialmente delgada, sendo possível observar um aumento desta durante o crescimento dos animais, formada por fibras estriadas com orientação longitudinal interna e circular externa. Abaixo da camada muscular observou-se a presença da camada serosa.

**Figura 17** - Secções histológicas das larvas de híbrido. A) larvas no 4º dia após eclosão (DPE), corte longitudinal, região do esôfago com a presença de células caliciformes (Azul de toluidina). B) 4º DPE corte longitudinal, epitélio do esôfago simples pavimentoso com células caliciformes (Azul de toluidina). C) 4º DPE corte longitudinal, alta concentração de células caliciformes no esôfago (Azul de toluidina). D) 4º DPE corte longitudinal, células caliciformes reativas ao PAS+AB (PAS+AB). E) 7º DPE corte longitudinal, células caliciformes do esôfago reativas ao PAS (PAS). F) 7º DPE corte longitudinal, evidenciando o aumento das pregas longitudinais do esôfago (Azul de toluidina).  
 Legenda: es (esôfago), ia (intestino anterior), st (estômago), seta (células caliciformes), f (fígado), e (epitélio), sm (submucosa), ml (camada muscular longitudinal), mc (camada muscular circular).

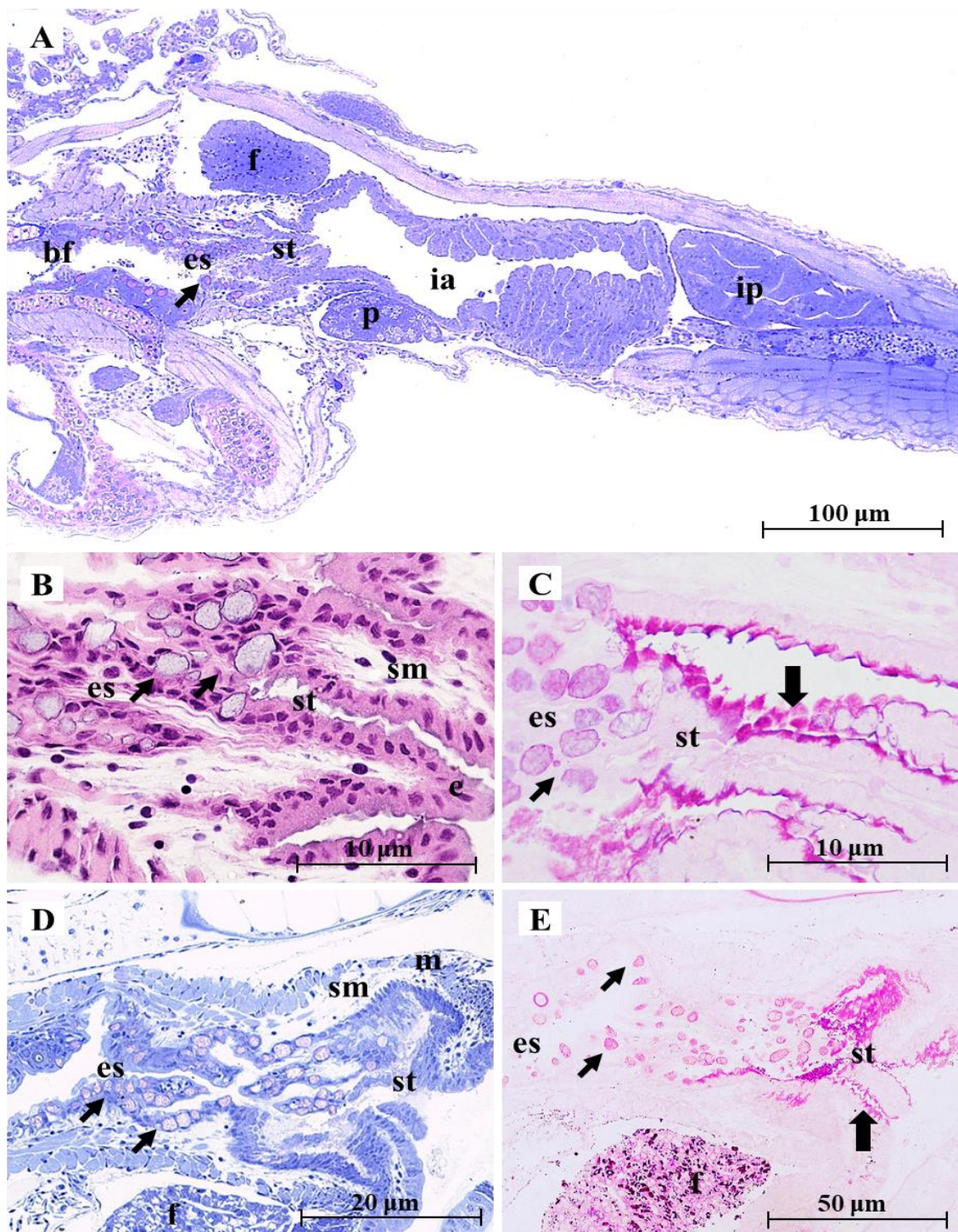


Fonte: Dados do próprio autor.

#### **4.4.2 Estômago**

O primórdio do estômago foi observado no 4º DPE, sendo notado como uma extensão do esôfago, porém com epitélio de revestimento simples colunar. A região do primórdio do estômago apresentou lúmen mais estreito e com maior quantidade de pregas longitudinais quando comparadas ao esôfago (Figuras 18A, 18B). A partir do 4º DPE as células do epitélio gástrico mostraram a região apical fortemente reativa ao PAS (Figuras 18C, 18E). Com o crescimento das larvas, a região do estômago apresentou aumento nas pregas longitudinais (Figura 18D). Apesar da região do primórdio do estômago ter sido observada precocemente, até o 12º DPE não foi possível visualiza-lo como estrutura sacular, nem a presença de glândulas gástricas. Abaixo da mucosa observou-se a camada submucosa delgada composta por tecido conjuntivo e externamente a esta observou-se a camada muscular, composta por uma camada de fibras estriadas circulares e uma camada externa de fibras longitudinais. Fazendo o revestimento externo do estômago observou-se a camada serosa.

**Figura 18** - Secções histológicas das larvas de híbrido. A) larvas no 4º da após eclosão (DPE) corte longitudinal, visualização das primeiras estruturas do estômago (Azul de toluidina). B) 4º DPE corte longitudinal, epitélio do estômago simples colunar (Hematoxilina e eosina). C) 4º DPE corte longitudinal, células apicais do epitélio gástrico reativas ao PAS (PAS+AB). D) 7º DPE corte longitudinal, estômago em formação (Azul de toluidina). E) 7º DPE corte longitudinal, células apicais do epitélio gástrico reativas ao PAS (PAS). Legendas: bf (bucofaringe), es (esôfago), st (estômago), e (epitélio), seta grossa (ápice das células do epitélio gástrico), seta (células caliciformes), ia (intestino anterior), ip (intestino posterior), f (fígado), p (pâncreas), sm (submucosa) e m (camada muscular).



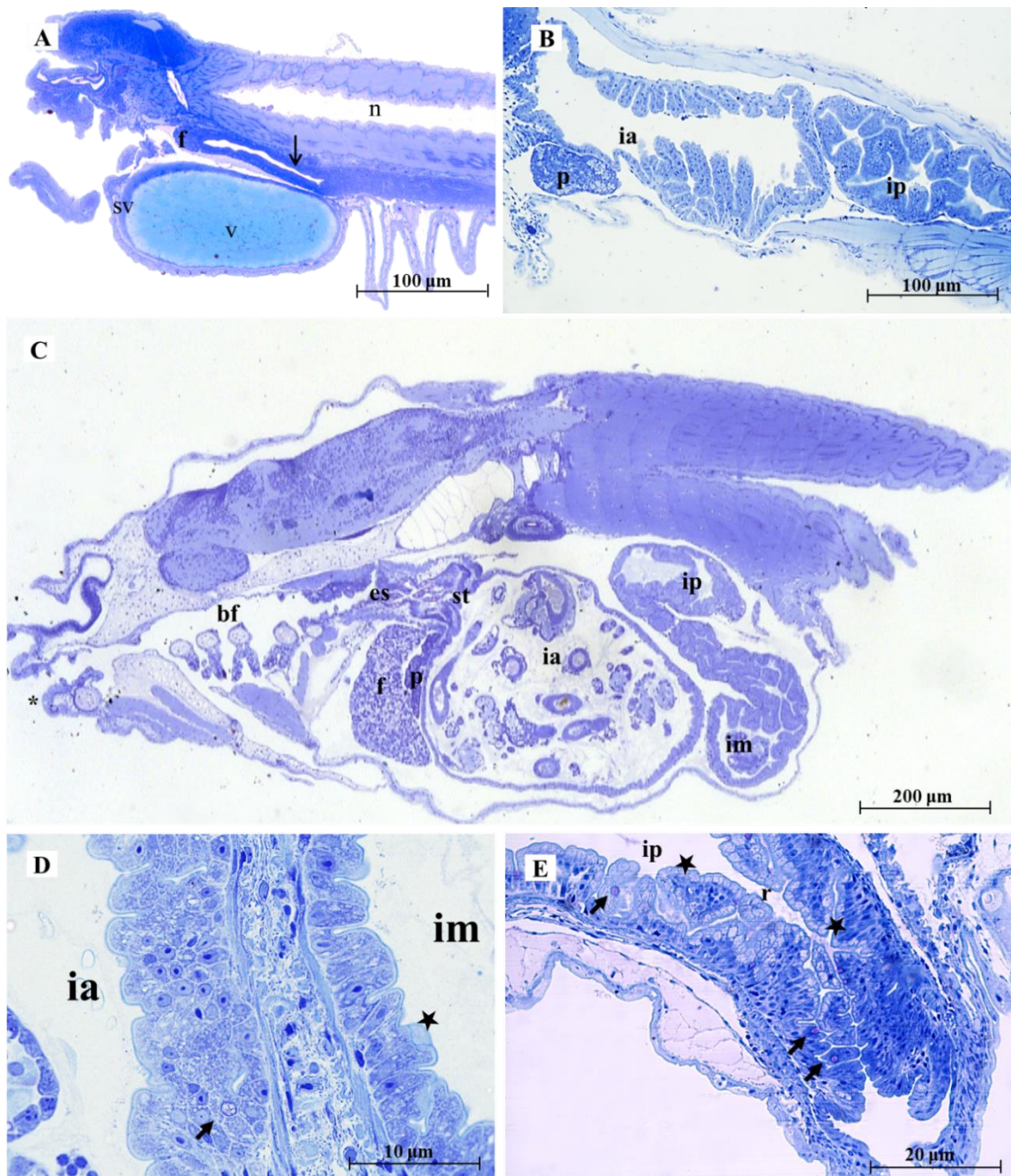
Fonte: Dados do próprio autor.

#### 4.4.3 *Intestino*

Após a eclosão, o intestino primitivo era formado apenas por um tubo reto, com ânus fechado. A partir do 1º DPE, foi possível observar a formação de pregas intestinais e o lúmen começou a ampliar-se, permitindo assim a visualização de duas regiões, anterior e posterior. O lúmen do intestino anterior apresentou-se mais amplo que a do intestino posterior (Figura 19A). A alimentação exógena iniciou-se no 2º DPE, havendo ainda a presença de pequena quantidade de vitelo, sendo este período caracterizado como alimentação mista. Ao 4º DPE, a alimentação mista finalizou-se, não sendo mais possível observar reservas de vitelo (Figura 19B).

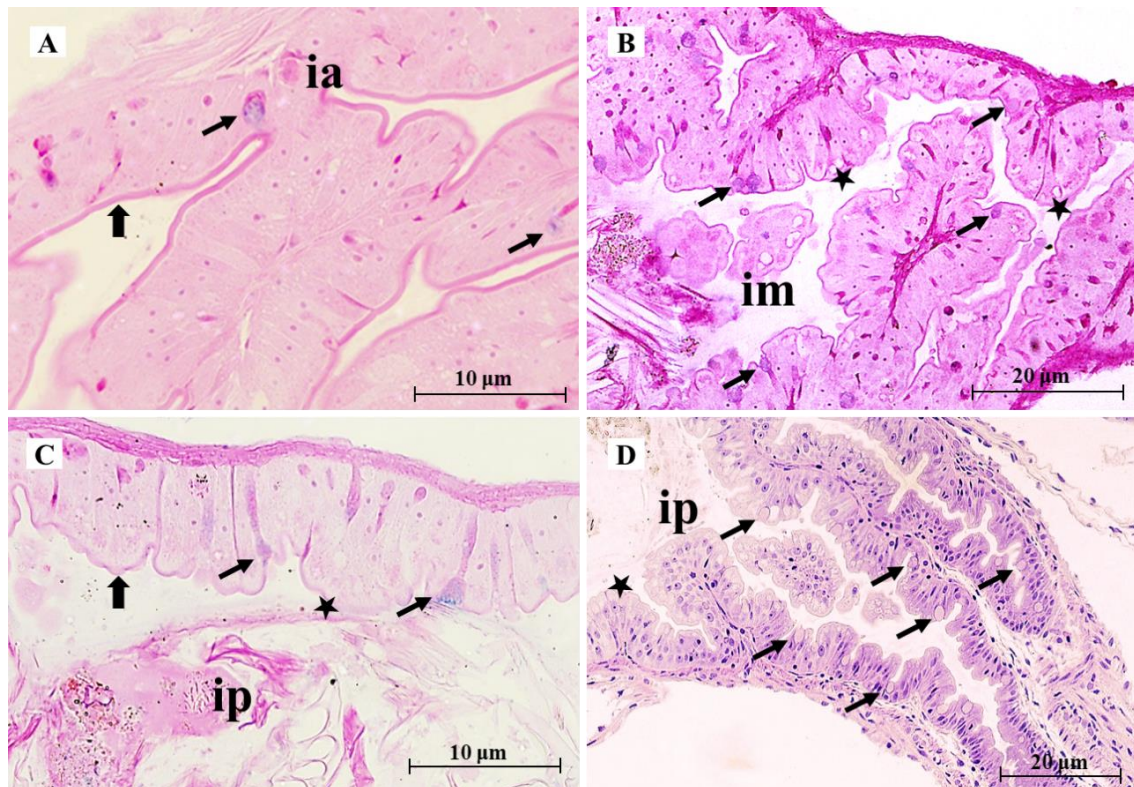
Com 7 DPE, foi possível visualizar três regiões intestinais bem delimitadas: anterior com lúmen amplo e aspecto sacular; médio com lúmen amplo e numerosas pregas e posterior com lúmen estreito e pregas longitudinais (Figura 19C). O intestino foi revestido por epitélio simples colunar, formado por células absorptivas ou enterócitos e células caliciformes. O número de células caliciformes aumentou com o desenvolvimento dos animais, sendo mais numerosas na região posterior (Figuras 19D, 19E). Estas células apresentaram reação positiva ao PAS e PAS+AB em todas as regiões intestinais. Além disso constatou-se reação PAS positiva na borda em escova dos enterócitos e grande quantidade de vacúolos de absorção na região apical dos enterócitos do intestino médio e posterior (Figuras 20A, 20B, 20C, 20D). Abaixo da cama mucosa observou-se uma fina camada submucosa, seguida por uma camada muscular também delgada e o revestimento externo do intestino foi formado pela camada serosa.

**Figura 19** - Secções histológicas das larvas do híbrido. A) larvas no 1º dia após eclosão (DPE) corte longitudinal, visualização do intestino em diferenciação (Azul de toluidina). B) 4º DPE corte longitudinal, intestino anterior com lúmen extenso (Azul de toluidina). C) larvas com 7º DPE corte longitudinal, visualização de três regiões intestinais denominadas: intestino anterior, médio e posterior (Azul de toluidina). D) 7º DPE corte longitudinal, intestino anterior e médio revestidos por epitélio simples colunar com a presença de células caliciformes (Azul de toluidina). E) 7º DPE corte longitudinal, região do intestino posterior revestido por epitélio simples colunar com a presença de células caliciformes e enterócitos (células absortivas) e região do reto evidenciando a presença de pregas longitudinais (Azul de toluidina). Legenda: asterisco (boca), bf (bucofaringe), es (esôfago), st (estômago), seta fina (primórdio do tubo digestivo), sv (saco vitelino), v (vitelo), n (notocorda), p (pâncreas), ia (intestino anterior), im (intestino médio), ip (intestino posterior), r (reto), estrela (enterócitos), seta (células caliciformes), f (fígado) e p (pâncreas).



Fonte: Dados do próprio autor.

**Figura 20** - Secções histológicas das larvas do híbrido. A) larvas no 12º dia após eclosão (DPE) corte longitudinal, visualizado borda em escova no intestino anterior e células caliciformes reativas ao PAS+AB (PAS+AB). B) 12º DPE corte longitudinal, visualizado borda em escova no intestino médio e células caliciformes reativas ao PAS+AB (PAS+AB). C) 12º DPE corte longitudinal, visualizado borda em escova no intestino posterior e células caliciformes reativas ao PAS+AB (PAS+AB). D) 12º DPE corte longitudinal, alta concentração de células caliciformes na região do intestino posterior (Hematoxilina e eosina). Legendas: ia (intestino anterior), im (intestino médio), ip (intestino posterior), estrela (enterócitos), seta (células caliciformes), seta grossa (ápice das células do epitélio intestinal).



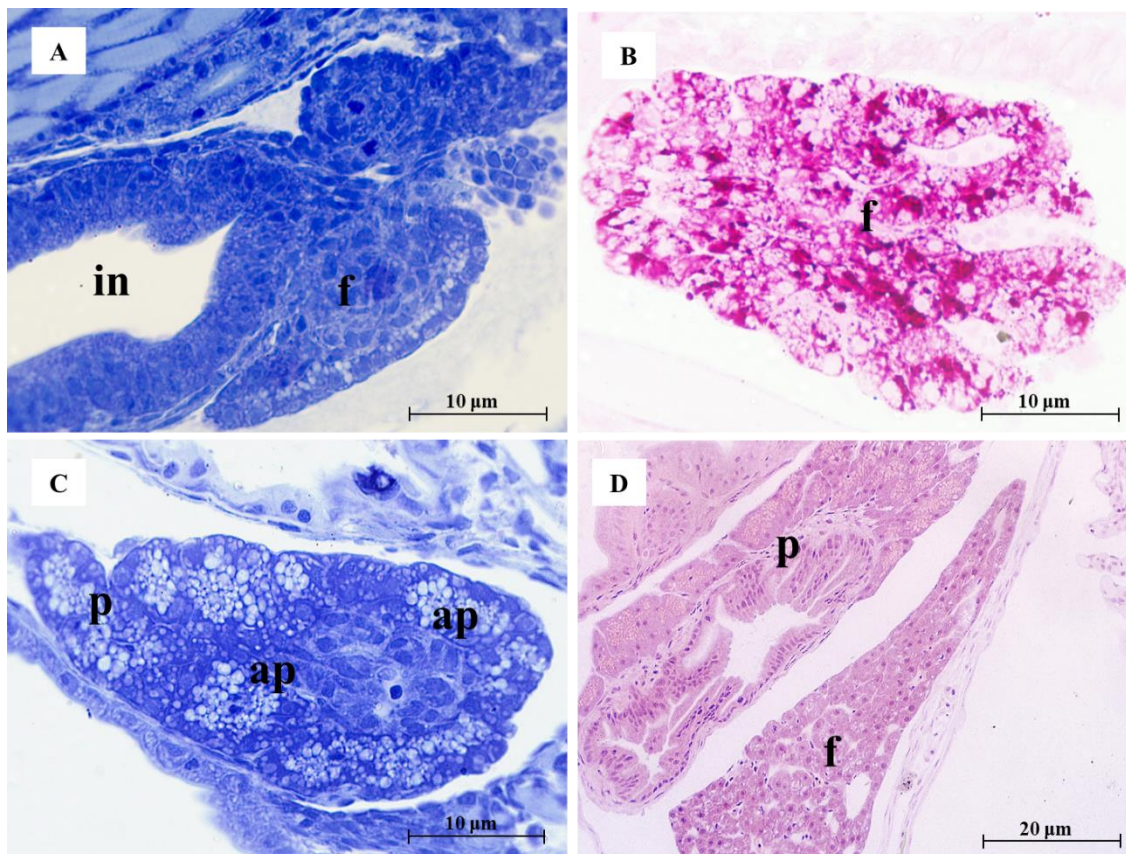
Fonte: Dados do próprio autor.



#### **4.4.4 *Glândulas anexas***

O fígado foi observado no 1º DPE como um aglomerado de células localizados na região cranial ao saco vitelino, abaixo do primórdio do intestino (Figura 21A). Com o desenvolvimento dos animais e ampliação do lúmen intestinal, o fígado e pâncreas passaram a ocupar uma posição cranial ao intestino anterior. No início da alimentação exógena as glândulas anexas já se encontravam bem desenvolvidas. A partir do 4º DPE, observou-se reação positiva ao PAS nos hepatócitos, indicando a presença de glicogênio. Também foi possível observar o armazenamento de lipídios e a presença de ácinos pancreáticos no pâncreas (Figuras 21B, 21C). Cabe destacar que ao 12º DPE, o pâncreas exócrino encontrava-se externo ao fígado, caracterizando assim a presença de um pâncreas extra-hepático (Figura 21D).

**Figura 21** - Secções histológicas das larvas do híbrido. A) larvas no 1º dia após eclosão (DPE) corte longitudinal, evidenciando fígado em diferenciação (Azul de toluidina). B) 4º DPE corte longitudinal, glicogênio presente no fígado apresentou reação positiva ao PAS (PAS). C) 4º DPE corte longitudinal, pâncreas com a presença de ácidos pancreáticos (Azul de toluidina). D) 12º DPE corte longitudinal, pâncreas exócrino, externo ao fígado (Hematoxilina e eosina). Legendas: in (intestino), f (fígado), p (pâncreas) e ap (ácinos pancreáticos).



Fonte: Dados do próprio autor.

**Tabela 1** - Principais eventos observados durante o desenvolvimento do sistema digestório de *Pseudoplatystoma reticulatum*, *Leiarius marmoratus* e híbrido. Legendas: Horas após a fertilização (HPF), dias após eclosão (DPE).

<b>Modelos biológicos</b>			
Eventos do desenvolvimento	<i>Pseudoplatystoma reticulatum</i>	<i>Leiarius marmoratus</i>	Híbrido
Temperatura (° C)	26-29	26-29	26-29
Eclosão (HPF)	24	24	24
Absorção do vitelo (DPE)	3	3	4
Início da alimentação exógena (DPE)	2	4	2
Diferenciação Hepática (DPE)	1	1	1
Diferenciação do pâncreas (DPE)	2	2	2
Ápice das células epiteliais do estômago positivo ao PAS (DPE)	3	5	4
Glicogênio nos hepatócitos (DPE)	5	4	4
Presença de glândulas gástricas (DPE)	14	15	-

Fonte: Dados do próprio autor.

## 5 DISCUSSÃO

No presente estudo foram descritas as características anatômicas, histológicas e mudanças ocorridas durante o desenvolvimento do sistema digestório das espécies de *Pseudoplatystoma reticulatum*, *Leiarius marmoratus* e do híbrido resultante do cruzamento dessas espécies. As larvas de *P. reticulatum*, *L. marmoratus* e do híbrido, eclodiram 24 horas após a fertilização, neste momento as larvas eclodiram apresentando olhos parcialmente pigmentados, boca fechada, tubo digestivo indiferenciado e saco vitelino grande. Características estas também observadas para outras larvas de teleósteos como *Epinephelus fuscoguttatus* (AIEMSOMBOON *et al.*, 2017) e *Trachelyopterus galeatus* (SANTIN *et al.*, 2015). Segundo Nakatani *et al.*, (2001), é comum nessa fase a escassez de pigmentação nos olhos, além da boca e tubo digestivo indiferenciados, sendo essas características observadas na maioria das larvas de peixes de água doce.

Após a eclosão, as larvas de *P. reticulatum*, *L. marmoratus* e híbrido apresentaram comprimento padrão de 3,1 mm  $\pm$  0,3; 2,38 mm  $\pm$  0,24 e 3,37 mm  $\pm$  0,21, respectivamente, podendo assim, ser consideradas como altriciais. As larvas altriciais são aquelas que apresentam tamanho pequeno ao eclodir, reservas de vitelo que se esgotam logo nos primeiros dias após a eclosão, o que faz com que as larvas iniciem a alimentação exógena ainda sem o sistema digestório completamente diferenciado (NAKATANI *et al.*, 2001; HOLT; WEBB; RUST, 2011).

Dentre os três modelos biológicos analisados, as larvas que apresentaram maior comprimento padrão no momento da eclosão foram as larvas do *P. reticulatum* e híbrido, possivelmente este fato está relacionado à espécies estritamente carnívoras apresentarem crescimento acelerado (RESENDE *et al.*, 1995).

As larvas de *L. marmoratus* apresentaram crescimento mais lento quando comparado com os demais modelos biológicos, possivelmente devido ao seu hábito alimentar onívoro. Segundo Resende *et al.*, (1995), espécies onívoras ou com forte tendência ao hábito alimentar onívoro, podem apresentar crescimento mais lento.

Apesar do híbrido apresentar hábito alimentar onívoro, característica herdada do parental *L. marmoratus* (♂), as larvas do híbrido apresentaram o padrão de crescimento das larvas de *P. reticulatum* (♀), indicando que o híbrido pode ter herdado características de crescimento acelerado, fato que atribui o grande interesse para produção desse animal em cativeiro.

Com 1 dia após eclosão (DPE), foi observada a abertura da boca e diferenciação do fígado, para os três modelos biológicos. Essas características também observadas em

larvas de *Trachelyopterus galeatus* (SANTIN *et al.*, 2015). De acordo com Shavsavarani *et al.*, (2002), antes da abertura da boca, as larvas nutrem-se somente do vitelo, sendo este a única fonte de alimento até que ocorra a abertura da boca e início da alimentação exógena.

A alimentação exógena em algumas espécies de peixes inicia quando ainda há a presença das reservas de vitelo e este período é caracterizado como o momento de alimentação mista (HEMING; BUDDINGTON, 1988; GISBERT; WILLIOT, 1997). Considerando que as larvas de *P. reticulatum* iniciaram a alimentação exógena a partir do 2º DPE e tiveram as reservas de vitelo completamente absorvidas no 3º DPE, pode-se afirmar que estas apresentam um período de alimentação mista de um dia. As larvas do híbrido também iniciaram a alimentação exógena a partir do 2º DPE, no entanto, tiveram a absorção completa do saco vitelino no 4º DPE, totalizando dois dias de alimentação mista. As características relatadas para as larvas de *P. reticulatum* e híbrido corroboram com os estudos de Andrade *et al.*, (2016), com larvas de *P. reticulatum*, em que observaram o início da alimentação exógena no 2º DPE, estando o saco vitelino absorvido completamente no 4º DPE. Este padrão de transição alimentar também foi observado em Caraciformes, Atencio-García *et al.*, (2003) relataram que larvas de *Brycon siebenthalae* iniciaram a alimentação exógena entre o 1º e 2º DPE, enquanto ainda possuíam abundante reservas de vitelo.

Já as larvas de *L. marmoratus*, iniciaram a alimentação exógena no 4º DPE, momento em que foram observadas partículas de alimento no intestino e isso, somente ocorreu, após a absorção completa do vitelo (3º DPE), aparentemente não foi possível observar um momento de alimentação mista como nas outras espécies estudadas. Algumas espécies de peixes iniciam a alimentação exógena somente quando há a absorção completa das reservas de vitelo (HEMING; BUDDINGTON, 1988; GISBERT; WILLIOT, 1997). Nossas observações corroboram os dados levantados por Zacheo-Coelho *et al.*, (2017), trabalhando com larvas da mesma espécie, como também é comparado ao que é relatado por Aiemsomboon *et al.*, (2017) para larvas de *Epinephelus fuscoguttatus*, em que o período de absorção do vitelo ocorre durante do 1º ao 2º DPE e, só inicia a alimentação exógena no 3º DPE, após a finalização da alimentação endógena.

As mudanças morfológicas que ocorrem na alimentação dos peixes são direcionadas para aumentar a absorção e digestão de nutrientes exógenos. Desta forma para que as larvas sejam capazes de ingerir e assimilar os primeiros alimentos exógenos após a absorção completa das reservas de vitelo, o fígado e o pâncreas precisam estar em

funcionamento, sendo eles responsáveis pela produção das enzimas digestivas (MICALE *et al.*, 2006; QU *et al.*, 2012).

Após a eclosão, o sistema digestório das espécies estudadas estava indiferenciado, não sendo possível distinguir bucofaringe e esôfago. Ao 1º DPE, o esôfago apresentou-se curto e posteriormente foi aumentando com o desenvolvimento dos animais. De acordo com Luizi *et al.*, (1999), a proliferação celular do esôfago é importante para que o órgão execute sua principal função, de conduzir o alimento até o estômago. A partir do 3º DPE as pregas longitudinais foram visualizadas. Com o crescimento dos animais e a proliferação das células esofágicas, ocorreu o aumento de pregas longitudinais na mucosa. Estas pregas que se desenvolvem durante o crescimento das larvas, permitem a distensão durante a deglutição, estando relacionadas também com o aumento da superfície de contato com o alimento, que irá auxiliar na digestão (MURRAY *et al.*, 1994; FERRARIS *et al.*, 1987).

As primeiras células caliciformes esofágicas foram observadas em *P. reticulatum*, a partir do 1º DPE, para *L. marmoratus* e híbrido isso foi observado a partir do 2º DPE. As células caliciformes de *P. reticulatum* foram reativas ao PAS e PAS+AB a partir do 3º DPE, enquanto que para *L. marmoratus* e híbrido esta característica foi observada a partir do 4º DPE. De acordo com Gisbert *et al.*, (2014), as células caliciformes esofágicas em *Pseudoplatystoma punctifer* começaram a secretar mucosubstâncias neutras e ácidas ao 6º DPE. A presença dessas células na região esofágica, indica que o esôfago está morfológicamente preparado para se proteger contra a ação abrasiva de alimentos. Essas células têm como função a liberação de muco que além de facilitar o transporte de alimentos, irá proteger a mucosa digestiva contra danos físico-químicos e contra-ataque bacteriano e viral (HACHERO-CRUZADO *et al.*, 2009; ANDERSON, 1986; GALVÃO *et al.*, 1997). O esôfago dos três modelos biológicos foi revestido por epitélio estratificado pavimentoso. O epitélio em associação a secreção de mucosubstâncias proporciona maior proteção ao esôfago, esta mesma característica foi observada em *Paralichthys californicus* (GISBERT; PIEDRAHITA; CONKLIN, 2004).

O primórdio do estômago foi observado em *L. marmoratus* e *P. reticulatum* ao 3º DPE e no híbrido ao 4º DPE. Em *L. marmoratus* e híbrido o início da formação do órgão foi notado pelo revestimento epitelial simples colunar e pela presença de mucosubstâncias neutras na região apical das células epiteliais. Em *P. reticulatum*, o epitélio de revestimento observado foi simples cúbico com a presença de mucosubstâncias neutras na região apical das células epiteliais e após o 6º DPE o epitélio passou a ser simples colunar. De acordo com Gisbert *et al.* (2013), as propriedades histoquímicas da região apical das

células epiteliais (positivas para PAS: secreção de mucosubstâncias neutras) que revestem as regiões gástricas podem ser consideradas como um sinal indireto da funcionalidade do estômago. Estas mucosubstâncias neutras, tem como função proteger o estômago do suco gástrico, impedindo assim danos ao tecido epitelial, contribuindo para que o processo de digestão ocorra normalmente (CHEN *et al.*, 2006; DÍAZ *et al.*, 2008; HERNÁNDEZ *et al.*, 2009).

A partir do 16º DPE, o estômago era visto como uma estrutura sacular, contendo várias glândulas gástricas em *L. marmoratus*. Essas características foram observadas a partir do 15º DPE em *P. reticulatum*, mas não foram observadas no híbrido até o 12º DPE. O aparecimento de glândulas gástricas varia de acordo com a espécie de peixes. (STROBAND; KROON, 1981; WILSON; CASTRO, 2011). Em estudos realizados por Portella *et al.*, (2014) em larvas de *Piaractus mesopotamicus*, a formação das glândulas gástrica iniciou-se a partir do 12º DPE, em *P. fasciatum* a partir do 10º DPE (DABROWSKI; PORTELLA, 2006), e *Cichlasoma urophthalmus* a partir do 9º DPE (CUENCA-SORIA *et al.*, 2013). A presença dessas glândulas, que são formadas por células oxintopépticas e secretam ácido clorídrico e enzimas digestivas, indica a formação de um estômago funcional (STROBAND; KROON, 1981; WILSON; CASTRO, 2011).

Em relação ao intestino dos três modelos biológicos, inicialmente observou-se que este era um tubo reto com a porção final dobrada ventralmente. O epitélio de revestimento das regiões intestinais foi identificado como simples colunar. Este epitélio era formado por células caliciformes e enterócitos (células absorptivas). Porém, nos estágios iniciais de desenvolvimento poucas células caliciformes foram observadas entre os enterócitos. Estas características corroboram com os estudos realizados em larvas de *Hemisorubim platyrhynchos* em estágios iniciais de desenvolvimento (FACCIOLI *et al.*, 2016).

De acordo com o crescimento do animal e o início da alimentação exógena o lúmen do intestino anterior expandiu drasticamente assumindo forma sacular para acomodar os alimentos ingeridos. Para *P. reticulatum* estas características foram observadas ao 3º DPE, *L. marmoratus* e híbrido ao 4º DPE. Em pesquisas realizadas em larvas de *Pseudoplatystoma punctifer*, observou-se a dilatação drástica da região do intestino anterior para acumular as presas ingeridas a partir do 2º DPE (GISBERT *et al.*, 2014).

Os vacúolos de absorção foram observados com maior concentração na região média e posterior do intestino. O acúmulo de lipídios na mucosa intestinal logo após o início da alimentação exógena pode ser interpretado como um indicador de digestão e absorção luminal e armazenamento de lipídios, refletindo o desenvolvimento funcional

do intestino (GISBERT *et al.*, 2008, 2014). Estes vacúolos estão relacionados à digestão intracelular de lipídios, proteínas e carboidratos, pois nos estágios iniciais de vida o sistema digestivo enzimático é pouco desenvolvido, sendo a assimilação de nutrientes dependente parcialmente da digestão intracelular (TANAKA, 1972; GOVONI *et al.*, 1986). Em estudos realizados por Mangetti (2006) com larvas de *Pseudoplatystoma corruscans*, os vacúolos de absorção nos enterócitos ocorreram com 3 DPE, em *Plectropomus leopardos* ao 3º DPE (QU *et al.*, 2012), *Rhamdia quelen* ao 4º DPE (SILVEIRA, 2012), *Parachromis dovii* ao 6º DPE (VALVERDE-CHAVARRÍA *et al.*, 2013).

Em todas as regiões intestinais dos três modelos biológicos, observou-se reação borda em escova nas células absorptivas do intestino, constituído por microvilos. Devido a reação positiva à coloração de PAS, constatou-se que estas estruturas continham mucosubstâncias neutras. O mesmo foi observado para larvas de *Hemisorubim platyrhynchos* (FACCIOLI *et al.*, 2016) e *Plectropomus leopardos* (QU *et al.*, 2012). A borda em escova nas células absorptivas do intestino forma uma superfície absorptiva em que estão localizadas enzimas envolvidas na degradação final do alimento, a reação PAS na borda em escova ocorre nesta região devido a presença de glicoconjugados neutros que formam o glicocálice (MURRAY *et al.*, 1996; KUZ'MINA; GELMAN, 1997).

Com relação as glândulas anexas do sistema digestório dos três exemplares, o fígado iniciou a diferenciação a partir do 1º DPE e o pâncreas a partir do 2º DPE. As glândulas anexas se localizavam na parte ventral ao intestino em desenvolvimento e foram identificadas como uma massa de tecido não lobular. O mesmo padrão de diferenciação dos órgãos acessórios foi descrito para o siluriforme *Pelteobagrus fulvidraco* (YANG *et al.*, 2010).

As glândulas anexas, fígado e pâncreas, iniciam a diferenciação cedo nas larvas, apresentando-se funcionais antes da absorção total do vitelo. Isso ocorre devido a importância destes órgãos na digestão de alimentos ingeridos pelas larvas. Nos estágios iniciais de vidas as larvas dependem do pâncreas e intestino para digestão de nutrientes e do fígado para assimilação de substâncias nutritivas, armazenamento de glicogênio e vitaminas (PEÑA *et al.*, 2003).

O armazenamento de lipídios no fígado foi identificado a partir do 4º DPE, nas larvas de *L. marmoratus*, momento em que havia iniciado a alimentação exógena. Para *P. reticulatum* e híbrido isso foi observado mais tardiamente a partir do 5º e 4º DPE, respectivamente, após iniciarem a alimentação exógena. Conforme relatado por Gisbert *et al.*, (2014), o acúmulo de gordura no fígado de *Pseudoplatystoma punctifer* coincidiu



com o início da alimentação exógena. No entanto, tais características não foram identificadas para as larvas de *P. reticulatum* e híbrido. Para as larvas de *Pelteobagrus fulvidraco* a incorporação de lipídios no fígado também só teve início após a alimentação exógena iniciar (YANG *et al.*, 2010).

Com relação às nadadeiras, para *P. reticulatum*, *L. marmoratus* e híbrido a primeira a surgir foi a embrionária, observada momentos após a eclosão e responsável pelo suporte para formação das ímpares. Ao 17º DPE as larvas de *P. reticulatum* apresentavam todas as nadadeiras formadas (nadadeira peitoral, anal, dorsal, pélvica e adiposa). Em *L. marmoratus* e híbrido isso foi observado ao 16º DPE e 12º DPE, respectivamente. As nadadeiras atuam na orientação e equilíbrio dos peixes, não permitindo que eles girem em torno do seu eixo longitudinal e também como propulsoras. Esse mesmo padrão de desenvolvimento das nadadeiras é semelhante para outras espécies de Siluriformes (ANDRADE *et al.*, 2014, 2016).

## 6 CONCLUSÕES

Com base na análise dos resultados obtidos neste trabalho pode-se concluir que:

- a) As larvas de *Pseudoplatystoma reticulatum* e do híbrido apresentaram um período de alimentação mista, enquanto que para as larvas de *L. marmoratus* não foi observado período.
- b) O padrão morfo-temporal do desenvolvimento do sistema digestório apresentado nos estágios ontogenéticos iniciais, foi similar entre o híbrido e suas espécies parentais.
- c) O surgimento das células caliciformes esofágicas, bem como o aumento da concentração destas e da reação positiva ao PAS, AB e PAS+AB, indica que o esôfago está se preparando para receber alimentos, devido a presença de mucosubstâncias responsáveis pela proteção do epitélio.
- d) Como o desenvolvimento do epitélio gástrico, pôde ser observado na região em contato com a luz do estômago, uma reação positiva ao PAS, indicando o início da secreção de mucosubstâncias neutras, que protegerão o estômago da autodigestão.
- e) O intestino apresentou-se revestido por epitélio simples colunar com microvilosidades composto por células caliciformes e enterócitos (células absorptivas). As células caliciformes foram mais abundantes na região posterior do órgão. A reação positiva ao PAS e PAS+AB, indicou a presença de mucosubstâncias neutras e ácidas responsáveis pela proteção do epitélio e por facilitar a passagem do alimento.
- f) A região do intestino anterior apresentou lúmen amplo, pregas longitudinais mais espessas e com menor concentração de células caliciformes.
- g) As glândulas anexas iniciaram a diferenciação a partir do 1º DPE e no início da alimentação exógena já se encontravam bem desenvolvidas.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, M. M.; PEREIRA, L. H. G.; VILA, V. B.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. Genetic variability of two populations of *Pseudoplatystoma reticulatum* from the Upper Paraguay River Basin. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 32, 4. p. 868-873, 2009.
- AIEMSOMBOON, K.; KHAMMEE, W.; BUNLIPATANON, P.; NA-NAKORN, U. Ontogenetic development of the digestive tract and ultrastructure of the anterior intestinal epithelia in tiger grouper *Epinephelus fuscoguttatus* (Forsskål, 1775) larvae. **Agriculture and Natural Resources**, Bangkok, v. 51, p. 445-453, 2017.
- ALVES, A. L.; VARELA, E. S.; MORO, G. V.; KIRSCHNIK, L. N. G. **Riscos Genéticos da Produção de Híbridos de Peixes Nativos**. Palmas: Embrapa Pesca e Aquicultura, 2014. 60 p. (Embrapa Pesca e Aquicultura).
- ALVES, D. E. O.; SILVA, M. F. M.; MOLINA, W. F.; GAVILAN, S. A.; COSTA, L.; NASCIMENTO, R. S. S. Desenvolvimento ontogenético inicial de *Prochilodus brevis* (Steindachner, 1875) (Characiformes). **Biota Amazônia**, Natal, v. 6, p. 70-75, 2016.
- ANDERSON, T. A. Histological and cytological structure of the gastrointestinal tract of the luderick, *Girella tricuspidata* (Pisces, Kyphosidae), in relation to diet. **European Journal of Morphology**, Sydney, v. 190, p. 109-119, 1986.
- ANDRADE, F. F.; LIMA, A. F.; ASSUMPÇÃO, L.; MAKRAKIS, S.; KASAI, R.; MAKRAKIS, M. C. Characterization of the early development of *Pseudoplatystoma reticulatum* Eigenmann & Eigenmann, 1889 (Siluriformes: Pimelodidae) from the Paraguay River Basin. **Neotropical Ichthyology**, Maringá, v. 14, p. 1-14, 2016.
- ATENCIO-GARCÍA, V.; ZANIBONI-FILHO, E.; PARDO-CARRASCO, S.; ARIAS-CASTELLANOS, A. Influência da primeira alimentação na larvicultura e alevinagem do yamú *Brycon siebenthalae* (Characidae). **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Villavicêncio v. 25, p. 61-72, 2003.
- BALDISSEROTTO, B.; CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C. **Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce**. FUNEP-UNESP, São Paulo, 2014. 336 p.
- BARTLEY, D. M.; RANA, K.; IMMINK, A. J. The use of inter-specific hybrids in aquaculture and fisheries. **Fish Biology and Fisheries**, Roma, v. 10, p. 325–337, 2001.
- BRABO, M. F.; PEREIRA, L. F. S.; SANTANA, J. V. M.; CAMPELO, D. A. V.; VERAS, G. C. Cenário atual da produção de pescado no mundo, no Brasil e no estado do Pará: ênfase na aquicultura. **Acta Fish**, Acaraú, v. 4, p. 50-58, 2016.
- BUITRAGO-SUÁREZ, U.; BURR, B. M. Taxonomy of the catfish genus *Pseudoplatystoma* Bleeker (Siluriformes: Pimelodidae) with recognition of eight species. **Zootaxa**, Illinois, v. 1512, p. 1-38, 2007.
- CESTAROLLI, M. A. **Larvicultura do pintado (*Pseudoplatystoma coruscans* (Agassiz, 1892): Aspectos da alimentação inicial e o desenvolvimento de estruturas sensoriais**. 2005. 137 f. Tese (Doutorado em Aquicultura), Centro de Aquicultura, Universidade do Estado de São Paulo, Jaboticabal, 2005.

- CHEN, B. N.; QIN, J. G.; KUMAR, M. S.; HUTCHINSON, W.; CLARKE, S. Ontogenetic development of the digestive system in yellowtail kingfish *Seriola lalandi* larvae. **Aquaculture**, Adelaide, v. 256, p. 489-501, 2006.
- COELHO, G. C. Z.; COSTA, R. S.; BASHIYO-SILVA, C.; SOUZA, F. M. S.; RIBEIRO, D. C.; SENHORINI, J. A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R.; NINHAUS-SILVEIRA, A. Characterization of the initial ontogeny of *Leiarius marmoratus* (GILL, 1870): larvae to juvenile. **Journal Applied Ichthyology**, Pirassununga, v. 35, p. 719-727, 2019.
- CRUZ-CASALLAS, N. E.; CARO, L. J. M.; OLARTE, J. J. D.; PACHECO, R. M.; ROBLES, V. M. M.; CRUZ-CASALLAS, P. E. Desempeño productivo del yaque (*Leiarius marmoratus* Gill, 1870) bajo diferentes densidades de siembra en estanques en tierra. **Revista Colombiana de Ciências**, Villavicencio, v. 23, n. 3, 2010.
- CRUZ-CASALLAS, N. E.; DÍAZ-OLARTE, J. J.; MARCIALES-CARO, L. J.; PABÓN-PENÑA, F. J.; MEDINA-ROBLES, V. M.; CRUZ-CASALLAS, P. F. Acondicionamiento a dieta seca de larvas de yaque (*Leiarius marmoratus*) obtenidas por reproducción artificial. **Revista Colombiana de Ciências**, Villavicencio, v. 21, p. 455-522, 2008.
- CUENCA-SORIA, C. A.; ÁLVAREZ-GONZÁLEZ, C. A.; ORTIZ-GALINDO, C. A.; TOVAR-RAMÍREZ, D.; GUERRERO-ZÁRATE, R.; AGUILAR-HERNÁNDEZ, S.; PERERA-GARCÍA, M. A.; HERNÁNDEZ-GÓMEZ, R.; GISBERT, E. Histological development of the digestive system of Mayan cichlid *Cichlasoma urophthalmus* (Günther 1862). **Journal Applied Ichthyology**, Tabasco, v. 29, p. 1304-1312, 2013.
- DÍAZ, A.; O.; GARCÍA, A.; M.; GOLDEMBERG, A. L. Glycoconjugates in the mucosa of the digestive tract of *Cynoscion guatucupa*: a histochemical study. **Acta Histochem**, Mar del Plata, v. 110, p. 76-85, 2008.
- DRABROWSKI, K.; PORTELLA, M. C. Feeding plasticity and nutritional physiology in tropical fishes. In: VAL, A.; ALMEIDA, V. M. F. de; RANDALL, V. D. **The Physiology of tropical fishes**. Cambridge: Academic, 2006.
- FACCIOLI, C. K.; ALARI-CHEDID, R.; MORI, R. H.; AMARAL, A. C.; BELMONT, R. A. F.; VICENTINI, I. B. F.; VICENTINI, C. A. Organogenesis of the digestive system in neotropical carnivorous freshwater catfish *Hemisorubim platyrhynchos* (Siluriformes: Pimelodidae). **Aquaculture**, Bauru, v. 451, p. 205 – 212, 2016.
- FACCIOLI, C. K.; CHEDID R. A.; AMARAL, A. C.; VICENTINI, I. B. F.; VICENTINI, C. A.; Morphology and histochemistry of the digestive tract in carnivorous freshwater *Hemisorubim platyrhynchos* (Siluriformes: Pimelodidae). **Micron**, Bauru, v. 64, p. 10-19. 2014.
- FAUSTINO, F.; NAKAGHI, L. S. O.; MARQUES, C.; MAKINO, L. C.; SENHORINI, J. A. Fertilização e desenvolvimento embrionário: morfometria e análise estereomicroscópica dos ovos dos híbridos de surubins (pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* x cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum*). **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Jaboticabal, v. 29, p. 49-55, 2007.

- FERRARIS, R. P.; TAN, J. D.; DE LA CRUZ, M. C. Development of the digestive tract of milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal): histology and histochemistry. **Aquaculture**, Tigbauan, v. 61, p. 241-257, 1987.
- GALVÃO, M. S. N.; FENERECH-VERANI, N.; YAMANAKA, N.; OLIVEIRA, I. R. Histologia do sistema digestório da tainha *Mugil platanus* (Gunther, 1880) (*Osteichthyes, Mugilidae*) durante as fases larval e juvenil. **Boletim do Instituto de Pesca**, Santos, v. 24, p. 91-100, 1997.
- GISBERT, E.; CASTILHO, M.; SKALLI, A.; ANDREE, K. B.; BADIOLA, I. *Bacillus cereus* var. promotes growth, affects the histological organization and microbiota of the intestinal mucosa in rainbow trout fingerlings. **Journal of Animal Science**, Sant Carles de la Ràpita, v. 91, p. 2766-2774, 2013.
- GISBERT, E.; MOREIRA, C.; CASTRO-RUIZ, D.; ÖZTÜRK, S. Desenvolvimento histológico do sistema digestório do bagre pimelodídeo da Amazônia *Pseudoplatystoma punctifer*. **Animal**, Sant Carles de la Ràpita, v. 8, p. 1765-1776, 2014.
- GISBERT, E.; ORTIZ-DELGADO, J. B.; SARASQUETE, C. Nutritional cellular biomarkers in early life stages of fish. **Histology and Histopathology**, Cádiz, v. 23, p. 1525–1539, 2008.
- GISBERT, E.; PIEDRAHITA, R. H.; CONKLIN, D. E. Ontogenetic development of the digestive system in California halibut (*Paralichthys californicus*) with notes on feeding practices. **Aquaculture**, Plouzané, v. 232, p. 455-470, 2004.
- GISBERT, E.; WILLIOT, P. Larval behaviour and effect of the timing of initial feeding on growth and survival of Siberian sturgeon (*Acinipenser baeri*) larvae under small scale hatchery production. **Aquaculture**, Barcelona, v. 156, p. 63-76, 1997.
- GODINHO H. P.; GODINHO A. L. **Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais**. Belo Horizonte: PUCMinas. 2003.
- GOULDING, M. **The fishes and forest: exploration in Amazonian Natural History**. Los Angeles: Editora University of California Press, 1980.
- GOVONI, J. J.; BOEHLERT, G. W.; WATANBE, Y. A fisiologia da digestão em larvas de peixes. **Environmental Biology of Fishes**, Corumbá, v. 16, p. 59-57, 1986.
- HACHERO-CRUZADO, I.; ORTIZ-DELGADO, J. B.; BORREGA, B.; HERRERA, M.; NAVAS, J. I.; SARASQUETE, C. Larval organogenesis of flatfish brill *Scophthalmus rhombus* L: Histological and histochemical aspects. **Aquaculture**, Huelva, v. 286, p. 138-149, 2009.
- HEMING, T. A.; BUDDINGTON, R. K. Yolk absorption in embryonic and larval fishes. In: HOAR, W.S. e RANDAL, D.J. (Eds). The physiology of developing fish. **Fish Physiology**, Galveston, v. XI, p. 407- 446, 1988.
- HERNÁNDEZ, D.; R.; PÉREZ-GIANESELLI, M.; DOMITROVIC, H. A. Morphology, histology and histochemistry of the digestive system of south american catfish (*Rhamdia quelen*). **International Journal of Morphology**, Corrientes, v. 27, p. 105–111, 2009.

INOUE, L. A. K. A.; HISANO, H.; ISHIKAWA, M. M.; ROTTA, M. A.; SENHORINI, J. A. **Princípios Básicos para Produção de Alevinos de Surubins (Pintado e Cachara)**. Dourados: Embrapa, 2009. 29 p. (Embrapa Pantanal).

KAMLER, E. **História inicial de peixes: uma abordagem energética**. London: Chapman & Hall, 1992. 267 p.

LAYMAN, C. A.; WINWILLER, K. O.; ARRINGTON, D. A.; JEPESSEN, D. B. Body size and trophic position in a diverse tropical food web. **Ecology**, Connecticut, v. 86, p. 2530-2535, 2005.

KUZ'MINA, V.V.; GELMAN, A.G. Membrane-linked digestion in fish. **Reviews in Fisheries Science**, Nekouz, v. 5, p. 99-129, 1997

LAZARIN, M.; RITTER, D. O.; NOVAES, S. F.; MONTEIRO, M. L. G.; ALMEIDA-FILHO, E. S.; MÁRSICO, E. T.; FRANCO, R. M.; CONTE-JR, C. A.; FREITAS, M. Q. Quality index method (QIM) for ice stored gutted Amazonian Pintado (*Pseudoplatystoma fasciatum* x *Leiarius marmoratus*) and estimation of shelf life. **LWT - Food Science and Technology**, Niterói, v. 65, p. 363-370, 2016.

LUIZI, F. S.; GARA, B.; SHIELDS, R. J.; BROMAGE, N. R. Further description of the development organs in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) larvae, with notes on differential absorption of copepod and Artemia prey. **Aquaculture**, Stirling, v. 176, p. 101-116, 1999.

LUNDSTEDT, L. M. **Aspectos adaptativos dos processos digestórios e metabólico de juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*)**. 2003. 153 f. Tese (Doutorado em Genética e Evolução), Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, 2003.

MANGETTI, A. J. **Desenvolvimento histomorfológico do sistema digestório de larvas de Pintado *Pseudoplatystoma corruscans* (Agassiz, 1849)**. 2006. 95f. Dissertação (Especialização em Anatomia dos animais domésticos e silvestres) – Faculdade de medicina veterinária e zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

MELO, P. H. **Alterações metabólicas ao longo da ontogenia das larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum* Siluriformes, Pimelodidae, Linnaeus, 1777) e do híbrido**. 2010. 223 f. Dissertação (Mestrado em Ciências), Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 2010.

MICALE, V.; GARAFFO, M.; GENOVESE, L.; SPEDICATO, M. T.; MUGLIA, U. A ontogenia do trato alimentar durante o desenvolvimento larval da Pandora comum *Pagellus erythrinus* L. **Aquaculture**, São Paulo, v. 251, p. 354-365, 2006.

MURRAY, H. M.; WRIGTH, G. M.; GOFF, G. P. A comparative histological and histochemical study the stomach from three species of pleuronectid, the Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*, the yellowtail flounder, *Pleuronectes ferrugínea*, and the winder flounder, *Pleuronectes americanos*. **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 72, p. 1199-1210, 1994.

- NEEDHAM, A. E. The growth process in animals. **Revista da Associação Biológica Marinha do Reino Unido**, Londres, v. 45, p. 563, 1964.
- NEVES, C. A. **Estudo morfológico e histoenzimológico do desenvolvimento ontogenético do sistema digestório de larvas e alevinos de trairão (*Hoplias cf. lacerdae*) e de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*)**. 1996. Dissertação (Mestrado em Morfologia), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1996.
- NINHAUS-SILVEIRA, A.; FORESTI, F.; AZEVEDO, A. Structural and ultrastructural analysis of embryonic development of *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) (Characiforme, Prochilodontidae). **Zygote**, Cambridge, v.14, p. 217-229, 2006.
- PEDREIRA, M. M.; LUZ, R. K.; SANTOS, J. C. E.; MATTIOLI, C. C.; SILVA, C. L. Larvicultura de matrinxã em tanques de diferentes cores. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, p. 1365-1369, 2008.
- PEÑA, R.; DUMAS, S.; VILLALEJO-FUERTE, M.; ORTÍZ-GALINDO, J.L. Ontogenetic development of the digestive tract in reared spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* larvae. **Aquaculture**, Playa Palo de Sta Rita, La Paz, v. 219, p. 633-644, 2003.
- PORTELLA, M. C.; JOMORI, R. K.; LEITÃO, N. J.; MENOSSI, O. C. C.; FREITAS, T. M.; KOJIMA, J. T.; LOPES, T. S.; CLVIJO-AYALA, J. A.; CARNEIRO, D. J. Larval development of indigenous South American freshwater fish species, with particular reference to pacu (*Piaractus mesopotamicus*): A review. **Aquaculture**, Joticabal, v. 432, p. 402-417, 2014.
- PEIXE BR. **Anuário da Piscicultura**. São Paulo, 2019. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/Anuario2019/AnuarioPeixeBR2019.pdf>. Acesso em: 07 de abril de 2020.
- PEIXE BR. **Anuário da Piscicultura**. São Paulo, 2020. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario-2020/>. Acesso em: 07 de abril de 2020.
- PRIETO-GUEVARA, M. J.; SILVA, R. F.; COSTA, L. S.; PEREIRA, R. T.; ROSA, P. V. Effect of fixed feeding time on growth, body composition, and hepatic histology of hybrid catfish (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus*) fed with carbohydrates and lipids ratios. **Revista Colombiana de Ciências Pecuárias**, Medellín, v. 28, p. 83-92, 2014.
- QU, M.; DING, S.; XU, X.; SHEN, M.; YOU, Y.; SU, Y. Ontogenetic development of the digestive system and growth in coral trout (*Plectropomus leopardus*). **Aquaculture**, Fujian, v. 334-337, p. 132-141, 2012.
- REGO, A. A. Cestóides proteocefalídeos parasitas de *Pseudoplatystoma* (Pisces, Pimelodidae) da América do Sul. **Revista Brasileira Zootecias**, Rio de Janeiro, v. 4, p. 269 – 282, 2002.

RESENDE, E. K.; CATELLA, A. C.; NASCIMENTO, F. L.; PALMEIRA, S. S.; PEREIRA, R. A. C.; LIMA, M. S.; ALMEIDA, V. L. L. **Biologia do curimatá (*Prochilodus lineatus*), pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) e cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*) na Bacia Hidrográfica do Rio Miranda, Pantanal do Mato Grosso do Sul, Brasil. Cuiabá: Embrapa Pantanal, 1995. 75 p. (Boletim de Pesquisa, 2)**

RODRIGUES, S. S.; NAVARRO, R. DIANA.; MENIN, E. Anatomia do sistema digestório de *Leporinus macrocephalus* Garavello & Britski, 1988 (Characiformes, Anostomidae) em relação ao seu hábitat alimentar. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 24, p. 86-95, 2008.

RÖSCH, R.; SEGNER, H. Development of dry food for larvae of *Coregonus lavaretus* L. I Growth, food digestion and fat absorption. **Aquaculture**, Langenargen, v. 91, p.101-115, 1990.

SANTIN, M.; LOPES, T. M.; BAGGIO, M. M.; AGOSTINHO, A. A.; BIALETZKI, A. Mudanças ontogênicas no sistema digestório e na dieta de *Trachelyopterus galeatus*. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 41, p. 57 – 68, 2015.

SHAHSAVARANI, I. A.; THOMAS, Z. C.; BALLANTYNE, J. S.; WRIGHT, P. A. A novel technique for the separation of yolk from the developing embryonic tissue in a teleost fish, *Oncorhynchus mykiss*. **Fish Physiology and Biochemistry**, Ottawa, v. 24, p. 321–326, 2002.

SILVEIRA, J. **Ontogenia do sistema digestório das larvas de Jundiá, *Rhamdia quelen*, determinada através de estudos bioquímicos e histológicos**. 2012. 63 f. Dissertação (Especialização em Aquicultura), Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2012.

SOUZA, S. A.; SOUZA, R. C.; CAMPECHE, D. F. B.; CAMPOS, R. M. L.; MELO, J. F. B. Relação proteína: carboidrato no desempenho e no metabolismo de híbridos de *Pseudoplatystoma fasciatum* (fêmea) x *Leiarius marmoratus* (macho). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 66, p. 879-886, 2014.

STROBAND, H.W.J.; MEER, H.V.D.; TIMMERMANS, L.P.M. Regional functional differentiation in the gut of the grass carp *Ctenopharyngodon idella*. **Histochemical Journal**, Wageningen, v.64, p.235-249, 1979.

STROBAND, H. W. J.; KROON, A. G. O desenvolvimento do estômago em *Clarias lazera* e a absorção intestinal de macromoléculas de proteínas. **Cell and Tissue Research**, Amsterdam, v. 215, p. 397-415, 1981.

TANAKA, M. Studies on the structure and functions of the digestive systems in teleost larvae - II. Characteristics of the digestive system in larvae at the stage of first feeding. **Japanese Journal of Ichthyology**, Quioto, v. 16, p. 41–49, 1969.

TENGJAROENKUL, B.; SMITH, B. J.; SMITH, S. A.; CHATREEWOGSIN, U. Ontogenic development of the intestinal enzymes of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. **Aquaculture**, Khon Kaen, v. 211, p. 241-251. 2002.



- TESSER, M. B.; CARNEIRO, D. J.; PORTELLA, M. C. Co-Feeding of Pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg (1887), Larvae with Artemia Nauplii and a Microencapsulated Diet. **Journal of Applied Aquaculture**, Jaboticabal, v. 17, p. 14, 2005.
- VALVERDE-CHAVARRÍA, S.; ÁLVAREZ-GONZÁLEZ, C.A.; ULLOA-ROJAS, J.B.; FRÍAS-QUINTANA, C.A.; GUERRERO-ZÁRATE, R., QUIRÓS-ORLICH, J.R.; BRAIS MEDINA, M.; CALVO-ELIZONDO, E.; ALVARADO-GUZMÁN, L. Ontogenia del Sistema digestório del Guapote *Lagunero Parachromis dovii* durante el periodo larval y selección de ingredientes para su alimentación. **Nutrición Acuícua**, Neuvo León, p. 320-355, 2013.
- VAZZOLER, A. E. A. M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá: EDUEM, 1996. 169 p.
- VENTURA, A. S.; JERÔNIMO, G. T.; GONÇALVES, E. L. T.; TAMPOROSKI, B. R. F.; MARTINS, M. L.; ISHIKAWA, M. M. Fauna parasitária dos híbridos siluriformes cachapinta e jundiara nos primeiros estágios de desenvolvimento. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, p. 943-949, 2013.
- WILSON J. M.; CASTRO L. F. C. Morphological diversity of the gastrointestinal tract in fishes. In: GROSSELL, M.; FARRELL, P. A.; BRAUNER, J. C. (ed.) **The Multifunctional gut of fish**. New York: Elseiver, 2011. p. 2-44.
- YABU, M. H. S.; VIDOTTO-MAGNONI, A. P.; CASIMIRO, A. C. R.; GARCIA, D. A. Z.; COSTA, A. D. A.; PRADO, F. D. D.; PORTO-FORESTI, F.; ORSI, M. L. First record of non-native hybrid catfish *Pseudoplatystoma reticulatum* × *Leiarius marmoratus* in the Upper Paraná River basin, Brazil. **Journal of Fish Biology**, Londrina, v. 92, p. 3-8, 2017.
- YANG, R.; XIE, C.; FAN, Q.; GAO, C.; FANG, L. Ontogeny of the digestive tract in yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* larvae. **Aquaculture**, Wuhan, v. 302, p. 112-123, 2010.