

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA-UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP**

**Transição alimentar precoce na larvicultura
do lambari (*Astyanax lacustris*): Impactos
no desempenho produtivo e
desenvolvimento do sistema digestório**

Hugo Leandro dos Santos

**Jaboticabal, São Paulo
2024**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA-UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP**

**Transição alimentar precoce na larvicultura
do lambari (*Astyanax lacustris*): Impactos
no desempenho produtivo e
desenvolvimento do sistema digestório**

Hugo Leandro dos Santos

Orientadora: Dra. Maria Célia Portella

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-graduação em Aquicultura do
Centro de Aquicultura da UNESP -
CAUNESP, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Mestre

**Jaboticabal, São Paulo
2024**

S237t Santos, Hugo Leandro
Transição alimentar precoce na larvicultura do lambari (*Astyanax lacustris*) : Impactos no desempenho produtivo e desenvolvimento do sistema digestório / Hugo Leandro Santos. -- Jaboticabal, 2024
80 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Centro de Aquicultura da Unesp, Jaboticabal
Orientadora: Maria Célia Portella

1. Anatomia do peixe. 2. Larvas de peixe. 3. Lambari (Peixe). 4. Weaning. 5. Fish larvae. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: *Transição alimentar precoce na larvicultura do lambari (Astyanax lacustris): Impactos no desempenho produtivo e desenvolvimento do sistema digestório*

AUTOR: HUGO LEANDRO DOS SANTOS
ORIENTADORA: MARIA CÉLIA PORTELLA


Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciências, área de Aquicultura, pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. MARIA CÉLIA PORTELLA (Participação Virtual)
Departamento de Biologia / FCAV/Unesp, Jaboticabal-SP

Prof. Dr. JOÃO BATISTA KOCHENBORGER FERNANDES (Participação Virtual)
Laboratório de Peixes Ornamentais / Centro de Aquicultura da UNESP, CAUNESP, Jaboticabal-SP

Dr THIAGO MENDES DE FREITAS (Participação Virtual)
Vice-reitoria de projetos de pós-graduação, pesquisa e inovação / Universidade Nilton Lins

Jaboticabal, 02 de agosto de 2024

Documento assinado digitalmente
 MARIA CÉLIA PORTELLA
Data: 14/08/2024 17:23:23 -0300
verifique em <http://verificar.gov.br>

Documento assinado digitalmente
 JOÃO BATISTA KOCHENBORGER FERNANDES
Data: 10/08/2024 22:14:23 -0300
verifique em <http://verificar.gov.br>

Documento assinado digitalmente
 THIAGO MENDES DE FREITAS
Data: 13/08/2024 08:29:34 -0300
verifique em <http://verificar.gov.br>

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	6
LISTA DE TABELAS	9
AGRADECIMENTOS	12
APOIO FINANCEIRO	13
INTRODUÇÃO GERAL	16
OBJETIVO GERAL	27
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
REFERÊNCIAS	28
MANUSCRITO 1- Transição alimentar precoce na larvicultura do lambari (<i>Astyanax lacustris</i>): Impactos no desempenho produtivo e desenvolvimento do sistema digestório	37
MANUSCRIPT 1- Early weaning in lambari (<i>Astyanax lacustris</i>) larviculture: Impacts on productive performance and digestive system development	38
INTRODUÇÃO	39
MATERIAL E MÉTODOS	40
Análise estatística	47
RESULTADOS	47
DISCUSSÃO	62

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Série histórica da produção de peixes de cultivo no Brasil (PeixeBR, 2024)	16
Figura 2. Exemplar adulto de <i>Astyanax lacustris</i>	17
Figura 3. Ilustração de um peixe adulto destacando os cecos pilóricos. Fonte: Rotta, 2003.....	23
Figura 4. Aplicação de extrato hipofisário de lambari em casais de lambari aptos para a reprodução.	41
Figura 5. Delineamento experimental. Onde: T3- 3 dias de alimentação com náuplios de artêmia; T6- 6 dias de alimentação com náuplios de artêmia; T9- 9 dias de alimentação com náuplios de artêmia; T12- 12 dias de alimentação com artêmia; T15- 15 dias de alimentação com náuplios de artêmia; CA- Controle de alimentação somente com náuplios de artêmia; CR- Controle de alimentação somente com ração; CJ- Larvas submetidas ao jejum; A/R - Representa o período de co-alimentação com náuplios de artêmia e dieta inerte.	43
Figura 6. Unidades experimentais utilizadas para o cultivo das larvas de lambari.	43
Figura 7. Incubadoras utilizadas para a eclosão dos náuplios de artêmia	44
Figura 8. Valores médios de sobrevivência e de fator de condição relativo das larvas de lambari submetidas a diferentes períodos de transição alimentar ao fim do período experimental.....	48
Figura 9. Valores médios de taxa de crescimento específico (% peso/dia) de larvas de lambari após início do experimento até 30 dias.	51
Figura 10. Distribuição de frequência do comprimento total das larvas de lambari de cada tratamento de diferentes períodos de transição alimentar em cinco classes de tamanho, ao fim do período experimental PP = super-pequena (< 13,96 mm); P = pequena (13,97 a 17, 74 mm); M = média (17,75 a 25,30 mm); G = grande (25,31a 29,07 mm); GG = extra-grande (> 29,07mm).	52
Figura 11. Canibalismo intraespecífico em larvas de lambari. Fonte: (o autor)	52
Figura 12. Valores gastos com uso de náuplios de artêmia por tratamento durante o período experimental de 30 dias de larvicultura de lambari (<i>Astyanax lacustris</i>).	53

- Figura 13.** Corte histológico de uma larva de lambari recém-eclodida, mostrando o tubo digestivo incipiente situado dorsalmente ao saco vitelino. A estrutura é composta por epitélio colunar monoestratificado. 54
- Figura 14.** (A) Larvas de lambari com 2 dias após a eclosão com trato digestório linear histologicamente indiferenciado e com abertura da boca e ânus e lúmen (L) no tubo digestivo. Notar a formação dos arcos branquiais (inserto) na cavidade bucofaríngea (CB) e a bexiga natatória inflada (BN). (B) Pâncreas exócrino, com células pancreáticas com núcleos basais e grânulos de zimogênio refringentes (seta). Colorações: HF (A); EOF (B)..... 55
- Figura 15.** (A) Larvas de lambari com 4 dias após a eclosão, exibindo trato digestório linear e histologicamente ainda indiferenciado, mas já apresentando dobras no epitélio. (B) Detalhe da cavidade bucofaríngea com quatro arcos branquiais, fígado diferenciado com aspecto vacuolizado (F), pâncreas diferenciado (seta curta) e presença de células mucosas no epitélio (seta). (C) Visão do fígado com depósitos de glicogênio. (D) Células pancreáticas com grânulos de zimogênio. Colorações: HF (A, B); PAS-H (C); EOF (D)..... 56
- Figura 16.** Larvas 6 dias experimentais (T6) antes da transição alimentar. (A) Formação da válvula ileorretal (seta pontilhada), intestino ainda retilíneo, exibindo vesículas absorptivas (inserto) nos enterócitos. (B) Presença de células caliciformes secretoras de polissacarídeos neutros e ácidos (seta) (C) Alargamento da região posterior ao esôfago, com a presença de células mucosas (círculo pontilhado). (D) Células pancreáticas com grânulos de zimogênio (seta longa), com vasos sanguíneos (seta curta). F: fígado. Colorações: HF (A); AB 2,5-PAS-H (B,C); EOF (D)..... 57
- Figura 17.** Secções histológicas de larvas de lambari do T9 ao início da transição alimentar. (A) Região de transição entre esôfago e estômago, evidenciando muitas glândulas gástricas na região glandular do estômago, próximo do esfíncter esofágico e células mucosas na região pilórica (seta curta). (A1) Estômago completo, pâncreas com granulações de zimogênio no tecido pancreático (inserto) e cecos pilóricos em formação (asterisco) (B) Hepatócitos com depósitos de glicogênio (seta). (C) Dobras intestinais com células caliciformes secretoras de polissacarídeos neutros (seta). Colorações HF(A); PAS-H (B), AB 2,5-PAS-H (C). 58

Figura 18. Secções histológicas de larvas de lambari do T12 ao início da transição alimentar. (A) Estômago completo com regiões pilórica (seta pontilhada) e cárdica (círculo pontilhado) diferenciadas e cecos pilóricos (asterisco).(B) Região final da bucofaríngea (quadrado pontilhado), com o início do esôfago (C) Cecos pilóricos formados com células caliciformes secretoras de polissacarídeos neutros (seta) (D) Fígado com depósitos de glicogênio intensamente corado pelo PAS. Colorações: AB 2,5-PAS-H (A,C), HF (B), PAS-H (D)..... 59

Figura 19. Secções histológicas das larvas de lambari que permaneceram em jejum. (A) Larvas com 3 dias em jejum com a formação do estômago presuntivo (seta pontilhada (B) Larvas 6 dias em jejum com estômago presuntivo e com a diminuição das dobras intestinais. (C) Larvas com 3 dias em jejum com o tecido pancreático com grânulos de zimogênio. (D) Larvas com 8 dias de jejum apresentam diminuição das dobras intestinais, e tubo digestivo plano (inserto).EP- Estômago presuntivo. Colorações: HF (A, B); EOF (C), AB 2,5-PAS-H (D)..... 61

Figura 20 .Secções histológicas das larvas de lambari que foram alimentadas exclusivamente com ração. (A) Larvas com 3 dias alimentadas com ração com formação do estômago presuntivo (EP) (B) Larvas 6 dias alimentadas com ração com estômago presuntivo, mas com diminuição das dobras intestinais (C) Larvas com 9 dias alimentadas com ração com estômago presuntivo, com diminuição das dobras intestinais e vacuolização no fígado. (D) Larvas com 9 dias alimentadas com ração apresentavam redução do arranjo estrutural acinar das células pancreáticas. Colorações: HF (A, B e C); EOF (D). 62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Taxa de alimentação diária de náuplios de artêmia fornecidos às larvas de lambari, protocolo adotado por Hiromoto (2021).	45
Tabela 2. Valores médios do comprimento total \pm desvio padrão (mm) de larvas de lambari ao longo do experimento.	49
Tabela 3. Valores médios do peso total úmido \pm desvio padrão (mg) de larvas de lambari ao longo do experimento.	50



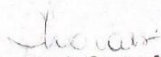
CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado “Estratégias alimentares na larvicultura do lambari (*Astyanax lacustris*)”, protocolo n.º 4794/23, sob a responsabilidade da Profa. Dra. MARIA CÉLIA PORTELLA, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 15 de agosto de 2023.

Vigência do Projeto	01/07/2023 a 31/12/2023
Espécie / Linhagem	Lambari (<i>Astyanax lacustris</i>)
Nº de animais	36.600
Peso / Idade	1 a 60 dias (fase larval e juvenil)
Sexo	Macho e Fêmea
Origem	CAUNESP

Jaboticabal, 15 de agosto de 2023.


Profa. Dra. Paola Castro Moraes
Vice-coordenadora em exercício – CEUA FCAV

DEDICATÓRIA

"Façam tudo com amor."
Paulo de Tarso, 1 Coríntios 16:14

Dedico esta dissertação à minha mãe, Rosimeire Narciso, que sob muito sol, me fez chegar até aqui, na sombra.

AGRADECIMENTOS

À medida que esta etapa se encerra, minha gratidão só cresce.

Gosto sempre de refletir sobre o amor, pois é um dos maiores sentimentos que existem, e como mencionado na primeira epístola de Paulo à igreja de Coríntios: 'Assim, permanecem agora estes três: a fé, a esperança e o amor. O maior deles, porém, é o amor'. Com muita gratidão, agradeço a Deus que é a própria essência do amor, por cada passo dado, por todo cuidado e por renovar minhas forças a cada manhã.

Agradeço imensamente à minha mãe, Rosimeire Narciso, pelo amor, carinho e confiança que sempre me dedicou. Seu apoio incansável tem sido um estímulo fundamental em minha jornada acadêmica. Espero poder retribuir um dia tudo o que a senhora depositou em mim. Te amo, mãe. Agradeço ao meu pai, Gerson dos Santos, por seu amor, apoio constante e suporte, e que mesmo pela distância sempre esteve presente. Aos meus queridos tios, Gedalva dos Santos, Gildete dos Santos, Sinha e Quida, por todo o apoio inestimável e por sempre acreditarem em mim e apoiando as minhas decisões.

Agradeço à minha orientadora, Prof. Dra. Maria Célia Portella, que tem sido uma das minhas maiores inspirações acadêmicas desde a graduação. Sua confiança em meu trabalho e seu incentivo paciente têm sido fundamentais para o desenvolvimento desse trabalho.

Agradeço à Márcia pelo auxílio inestimável nas análises histológicas.

Agradeço aos meus amigos do CAUNESP, que estão guardados em meu coração. Sem a ajuda de vocês, este trabalho não teria sido realizado. Muito obrigado, Tomaz Ayres, Thalys Cruz, Thaís Silva, Weliton Vilhalba, Denis Johansen, Isabela Almeida.

Agradeço também em especial aos meus amigos, Douglas Graciano, Thaise Mota, Magdiel Oliveira e Vinícius Galante que estiveram ao meu lado durante toda a jornada do mestrado. Agradeço pelas boas risadas que tornaram essa caminhada mais leve e agradável. Amo vocês

Agradeço a Deborah Jacob, que ajudou durante todo o experimento, desde o nascer do sol até o entardecer. A sua companhia e trabalho foram essenciais para o sucesso do nosso trabalho. Amo você

Agradeço a Janaína Carvalho, que me ajudou incansavelmente em todas as biometrias e histologias, e também por todas as caronas no Kazinho. Você sempre esteve comigo, desde o emocional até um pacote de lâminas. Às vezes "paciente", mas sempre com bom humor, você foi fundamental para manter o ânimo e a energia ao longo de todo o processo. Amo você

Agradeço também aos meus amigos de Jaboticabal, Dália Ribeiro, Uedsson Eduardo e Mário Henrique. Sou muito grato por tê-los conhecido.

Agradeço também aos meus amigos de Sergipe, Hellen Mayra, Fagner Matos e Glória Mirelle, por tudo que vocês representam pra mim.

Agradeço também as minhas amigas, Dra. Lettícia D'Lucca e Roseane Souza, por todo amor e apoio.

E por fim, deixo um recado: nunca deixe de amar!

APOIO FINANCEIRO

CNPq, Bolsa de Mestrado, Processo n° 130948/2022-5

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

CAPES, Bolsa de Mestrado, Processo n° 461716/2019-01

RESUMO

O lambari (*Astyanax lacustris*) é uma das espécies de peixe de interesse comercial da América do Sul. No entanto, a larvicultura dessa espécie enfrenta desafios significativos, como a alta taxa de mortalidade, muitas vezes relacionada a fatores nutricionais. Entre esses fatores, a transição alimentar é crucial, pois impacta diretamente o processo de organogênese e a homeostase das larvas. Diante desse contexto, este estudo propôs analisar os efeitos da transição alimentar no desempenho produtivo e desenvolvimento morfológico do trato digestivo das larvas de lambari. Para isso, conduziu-se um experimento no qual as larvas foram submetidas a diferentes períodos de transição alimentar (3, 6, 9, 12, 15 dias), com três controles (com artêmia, em jejum, e com ração), visando entender como essas mudanças afetam o crescimento, a sobrevivência e a ontogenia digestiva das larvas. Foram realizadas análises histológicas do trato digestivo juntamente com avaliação de parâmetros zootécnicos. Observou-se que 12 dias de alimentação viva resultou em melhor desempenho em peso, semelhante ao fornecimento exclusivo de náuplios de artêmia. As análises histológicas mostraram que ao início da co-alimentação as larvas do T12 já possuíam estômago e cecos pilóricos formados e, enquanto no T3 e T6 ainda não tinham, afetando a digestão e o desempenho de crescimento. A distribuição de tamanho variou, com mais larvas extra grandes (GG) no controle com exclusivo com náuplios artêmia e larvas grandes (G) no T12. Observou-se canibalismo nos tratamentos com maior restrição alimentar e nos controles. Com isso, a transição alimentar iniciando em torno de 12 dias, quando as larvas apresentam $11,34 \pm 0,97$ mm de comprimento total, é uma estratégia adequada para o pleno desenvolvimento das larvas de lambari. Além disso, os resultados podem contribuir para a otimização dos protocolos de larvicultura, com impacto positivo direto aos produtores de lambari que poderão aplicar protocolos alimentares.

PALAVRAS-CHAVE:

Astyanax lacustris, Larvicultura, Transição alimentar, Trato digestório, Alimento vivo, Dieta formulada.

ABSTRACT

Lambari (*Astyanax lacustris*) is one of the commercial fish interesting for South American aquaculture. However, the larviculture of the species faces significant challenges, such as the high mortality rate often related to feeding and nutritional factors. Among these factors, the weaning is crucial, as it directly impacts the organogenesis process and homeostasis of the larvae. Therefore, this study proposed to study the effects of weaning on the productive performance and morphological development of the digestive tract of lambari larvae. To this end, an experiment was conducted in which the larvae was subjected to different periods of weaning to understand in what extend these changes affected growth and survival of the larvae. Histological analyzes of the digestive tract was carried out along with the evaluation of relevant zootechnical parameters. It was observed that 12 days of live feeding resulted in better performance in weight, similar to the treatment with exclusive supply of artemia nauplii. Histological analyses of the digestive tract were conducted along with an evaluation of relevant zootechnical parameters. The histological analyses revealed that at the beginning of co-feeding, the larvae in T12 already had a formed stomach and pyloric caeca, while those in T3 and T6 did not, affecting their digestion and growth. Size distribution varied with higher number of extra-large (GG) larvae in the control group fed exclusively with artemia and more large (G) larvae in T12. Cannibalism was observed in treatments with greater feed restriction and in the control groups. Therefore, the weaning starting around 12 days, when the larvae are 11.34 ± 0.97 mm in total length, is a suitable strategy for the full development of lambari larvae.. Furthermore, these results can contribute to the improvement of larviculture protocols, with a direct positive impact on lambari producers who will be able to apply feeding protocols.

KEYWORDS

Astyanax lacustris, Larviculture, Weaning, Digestive tract, Live feed, Formulated diet.

INTRODUÇÃO GERAL

A oferta mundial de pescado derivados da aquicultura cresceu exponencialmente nas últimas décadas. A produção de pescado atingiu quase 178 milhões de toneladas em 2020, sendo aproximadamente 88,5% desse total destinado ao consumo humano, enquanto o restante é utilizado para a produção de farinhas, óleos e outros produtos (FAO, 2022). Atualmente, a maior parte dos peixes utilizados para alimentação da população mundial provém da aquicultura (FAO, 2022), e nesse contexto, considerando a população mundial atual de 8 bilhões de pessoas, a produção de pescado destinado ao consumo humano representa aproximadamente 20 kg *per capita* ao ano (FAO, 2022), demonstrando a importância da atividade para a segurança alimentar mundial.

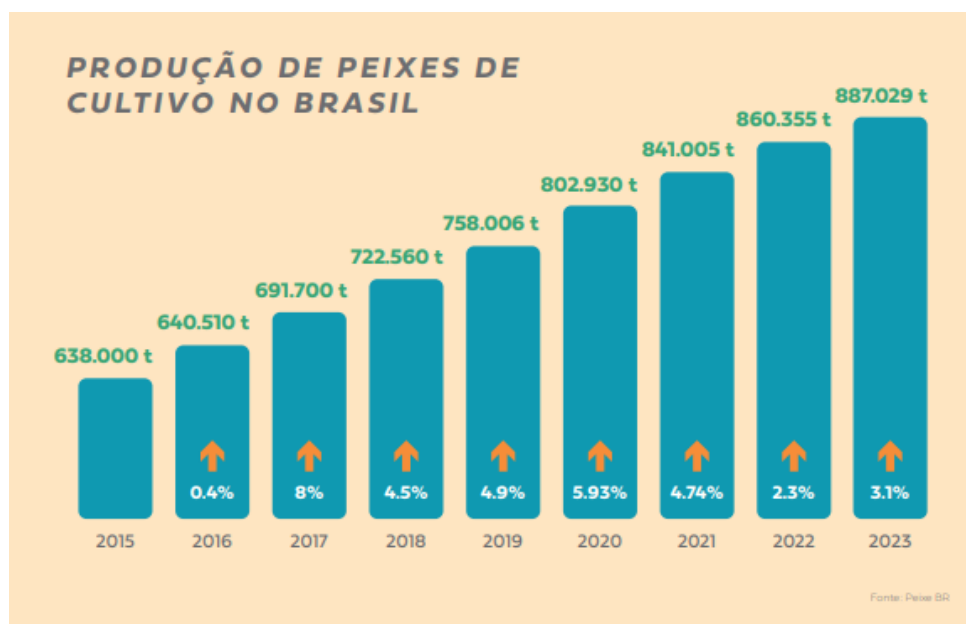


Figura 1. Série histórica da produção de peixes de cultivo no Brasil (PeixeBR, 2024) .

O Brasil é um dos maiores produtores de pescado do mundo e a aquicultura brasileira cresce acentuadamente no país, que já superou 880 mil toneladas em 2023 (Figura 1) (PeixeBR, 2024). No entanto, a elevada procura no mercado interno, aliada ao fato do país exportar parte da produção nacional, resulta em déficit comercial deste alimento (Barone et al., 2017). Além disso, a produção de pescado no Brasil é habitualmente focada em espécies de grande

porte e de alto valor, sendo grande parte da produção destinada às cidades, em detrimento das áreas rurais e da população de baixa renda onde os alimentos são produzidos, levando a déficits de consumo por parte da população (Naylor et al., 2000; Olaganathan et al., 2017). Com isso, para atender às demandas de consumo de pescado em todo o Brasil, a aquicultura tem se expandido nos mais diversos aspectos, principalmente relacionados à produção sustentável de pescado e melhoria da produção com melhor custo-benefício (Fonseca et al., 2017, Valenti et al., 2021). Um aspecto importante dessa expansão é a produção de peixes de pequeno porte, que tendem a ter preços mais baixos, tornando-os acessíveis para famílias de baixa renda. Além disso, essas espécies geralmente possuem ciclos de produção mais curtos em comparação com as espécies de alto valor comercial, o que significa que podem ser criadas e disponibilizadas no mercado em um período de tempo mais curto. Além disso, peixes de pequeno porte são altamente nutritivos, consumidos inteiros e contribuem para a segurança alimentar e desenvolvimento sustentável (WorldFish, 2017; Hasselberg et al., 2020).

A região neotropical abriga a maior ictiofauna de água doce do mundo, com mais de 5.000 espécies (Maggio, 2017), compreendidas principalmente nas ordens Characiformes e Siluriformes (Gardinal et al., 2021). Entre os Characiformes, o destaque é família Characidae, a maior e mais diversificada, abrigando mais de 1.192 espécies, sendo cerca de 90% de médio e pequeno porte (Santos et al., 2020).



Figura 2. Exemplar adulto de *Astyanax lacustris*

Na família dos caracídeos, o lambari (*Astyanax lacustris*) desempenha um papel relevante na aquicultura continental. Trata-se de uma espécie de pequeno porte, caracterizada por altas taxas de crescimento e desova durante todo o ano, com maior sucesso reprodutivo no verão, conforme relatado por Suárez et al. (2017) e Bastian et al. (2021). Segundo o IBGE (2022), em 2021, o estado de São Paulo foi o segundo maior produtor de lambari, com produção total de 132.202 kg, ficando atrás apenas de Goiás, que registrou 135.974 kg. Além de ser importante como alimento humano, o lambari é amplamente utilizado como isca viva para pesca esportiva, constituindo outro segmento de mercado na cadeia produtiva da espécie.

O lambari é um peixe com hábito alimentar onívoro e oportunista, encontrando sua nutrição em uma variedade de fontes, incluindo insetos, algas, pequenos crustáceos, detritos e ovos de peixes e insetos (Vidotto-Magnoni, 2021). Além disso, a espécie apresenta um claro dimorfismo sexual quando adulto, com as fêmeas exibindo corpos mais arredondados e maiores em tamanho em comparação aos machos. As fêmeas geralmente mostram uma forte irrigação de vasos sanguíneos na região ventral do corpo, além de papila urogenital avermelhada (Suárez et al., 2017). Por outro lado, os machos tendem a ser menores, com corpos mais retilíneos e, durante a fase reprodutiva, desenvolvem espículas na nadadeira anal, proporcionando uma textura áspera (Daniel et al., 2012).

No contexto de piscicultura, a reprodução do lambari é frequentemente realizada por meio da indução hormonal, utilizando extrato bruto de hipófise de carpa (EBHC) (Figueiredo-Ariki, 2019). Para as fêmeas, é administrada uma dose de 5 mg por kg de peso corporal, dividida em duas aplicações com um intervalo de seis horas. Na primeira aplicação, 20% da dose é administrada como preparação, enquanto os restantes 80% são aplicados na última dose. Para os machos, é aplicada uma dose única de 3 mg por kg de peso corporal, simultaneamente à segunda dose administrada às fêmeas. Segundo Lira et al. (2018) a desova ocorre espontaneamente em 145 horas-graus após a aplicação da segunda dose hormonal; no entanto Yasui et al. (2020) indicaram 180 a 250 horas-grau a 25-28°C.

Apesar de ser uma espécie importante na produção aquícola, ainda existem gargalos mais preponderantes na larvicultura do lambari (*Astyanax lacustris*), pois são larvas altriciais (Santos et al., 2020). As larvas altriciais possuem reservas vitelinas escassas e iniciam a alimentação exógena com o sistema digestório em estado morfo-fisiológico relativamente imaturo, com algumas estruturas ainda não diferenciadas e funcionais, como as glândulas gástricas (Dabrowski, 1984) e, com isso, a contribuição do alimento vivo nessa fase de desenvolvimento é crucial (Kolkovski, 2001). Estudos sobre o papel das enzimas digestivas aumentaram muito nas últimas décadas e várias funções foram elucidadas. Dabrowski e Glogowski (1977) realizaram estudos que mostraram a atividade proteolítica de enzimas semelhantes à tripsina e pepsina em invertebrados, como rotíferos, moluscos e artêmia, que servem de alimento para larvas de peixes. Eles identificaram níveis elevados de atividade proteolítica, variando entre 102–103 µg de tirosina por mg de proteína. Comparando enzimas exógenas e endógenas em várias espécies de peixes, incluindo *Cyprinus carpio*, *Coregonus larvaretus* e *Ctenopharyngodon idella*, os resultados mostraram que 40–80% da atividade enzimática nessas espécies era fornecida pelos organismos alimentares vivos. No entanto, outros estudos apresentaram resultados contrastantes. Pesquisas realizadas por Zambonino-Infante et al. (1996) e Cahu e Zambonino-Infante (1997) indicaram que a contribuição direta do alimento vivo para as enzimas digestivas pode ser insignificante e Kurokawa et al. (1995) demonstraram inequivocadamente que a contribuição das enzimas dos rotíferos contribuíam com cerca de apenas 0,5% da atividade enzimática total das larvas. Outros estudos demonstraram que as larvas já apresentam atividade de enzimas proteolíticas alcalinas no início da alimentação exógena (Martinez et al., 1999). Assim, o insucesso na utilização de dietas na transição alimentar precoce parece não se dever apenas à falta de um estômago funcional e à baixa produção de enzimas digestivas, mas também à baixa taxa de ingestão e à ineficácia das dietas em estimular a secreção enzimática endógena das larvas (Kolkovski, 2001).

Visando contornar esses problemas, a maioria dos produtores no Brasil praticam a larvicultura das espécies altriciais nativas em sistemas semi-

intensivos (Portella et al., 2014; Samir et al., 2015; Arbeláez-Rojas et al. 2023). Nesses sistemas, as larvas permanecem nas incubadoras até o momento da abertura da boca e enchimento da bexiga natatória, quando então são transferidas diretamente a viveiros pré-fertilizados, onde uma população planctônica se desenvolve e serve de alimento às larvas (Rezende et al., 2021). As larvas permanecem nos viveiros por cerca de 30 a 60 dias, até atingirem a fase juvenil. As taxas de sobrevivência nestas condições geralmente são baixas e sua produção depende exclusivamente das condições ambientais (Jomori et al. 2003, Kojima et al. 2015). Alternativamente, existe a estratégia de larvicultura intensiva *indoors*, onde as larvas são mantidas em ambiente controlado, na maioria das vezes em sistema de recirculação, e são alimentadas com alimento vivo por alguns dias, até que estejam aptas à ingestão e assimilação eficiente da dieta inerte, próximo à metamorfose (Jomori et al., 2003).

Assim, o uso de alimentos vivos é uma prática comum e rotineira para a larvicultura de larvas altriciais (Treece, 2000; Léges et al., 1987; Portella et al., 2014), devido às características atrativas deste alimento para as larvas e para o ambiente de cultivo, como a menor deterioração da água, melhor distribuição na coluna d'água, maior atratividade por meio de estímulos químicos e visuais (Tesser e Portella, 2006) e pela maior digestibilidade quando comparados à utilização da dieta formulada (Tesser et al., 2005). Os náuplios de artêmia constituem um dos alimentos mais utilizados na aquicultura mundial, desempenhando um papel como presas vivas para a larvicultura de peixes (Luz et al., 2002; Reis et al., 2021) e de outros animais aquáticos cultivados comercialmente, como os camarões. A artêmia é um microcrustáceo de águas salgadas que sob determinadas condições ambientais produzem cistos de resistência. Esses são comercializados secos e, postos para eclodir nos laboratórios de larvicultura, produzem facilmente os náuplios, prontamente disponíveis para alimentação das larvas (El-Dahhar et al., 2024). Os náuplios de artêmia possuem tamanho adequado para a abertura bucal de muitas espécies de larvas de peixes, com comprimento variando de 400 a 600 μm e coloração em tons de laranja, atraindo os peixes através de estímulos químicos e visuais (Kolkovski et al. 1997; Tesser e Portella, 2006; Madkour et al., 2023). Além disso, apresentam elevado valor nutricional, sendo fontes de 23 aminoácidos, minerais,

vitaminas e lipídeos (Bengtson et al., 2018), auxiliando também na maturação e no funcionamento do sistema digestivo das larvas (Léger et al., 1987; Sorgeloos et al., 1993; Kolkowski et al. 2000; Portella et al., 2014).

Um dos principais entraves para o uso dos náuplios de artêmia na larvicultura de peixes é o alto custo econômico relacionado ao preço de aquisição dos cistos, elevados custos para produção e fornecimento do alimento vivo, que demanda mão de obra (Jomori et al., 2005, 2012; Lipscomb et al., 2020). Como observado por Jomori et al. (2005), há um aumento progressivo nos custos de produção à medida que o tempo de fornecimento de náuplios de artêmia aumenta.

Dessa forma, torna-se necessário o emprego de estratégias que visem a retirada do alimento vivo da dieta e a inserção de dieta inerte, sem causar prejuízos para a sobrevivência, desempenho zootécnico e qualidade das larvas (Rosenlund et al., 1997; Canavante et al., 1999; Woche et al., 2012; Kotani et al., 2016). Na aquicultura, o momento em que as larvas começam a aceitar o alimento formulado (ração) em substituição ao alimento vivo é denominado transição alimentar (Govoni et al., 1986; People Le Ruyet et al., 1993; Portella et al., 2008; Portella et al., 2012). Assim, a transição alimentar é um processo para substituir gradualmente alimentos vivos por dietas inertes para as larvas de peixes. Porém, a introdução precoce de uma dieta formulada pode ter efeitos deletérios para o crescimento e a sobrevivência dos peixes (Matuha et al., 2024), uma vez que as larvas podem não ter ainda plena capacidade de digerir uma dieta formulada (Portella et al., 2014). Um protocolo na larvicultura para auxiliar a superar a dificuldade de ingestão, digestão e assimilação dos alimentos formulados pelas larvas de peixes na fase inicial de desenvolvimento é o esquema de co-alimentação com alimentos vivos e inertes (Rosenlund et al., 1997; Canavate et al., 1999; Tesser et al., 2005; Jomori et al. 2008; Djellata et al., 2021).

A estratégia de co-alimentação ajuda a pré-condicionar nutricionalmente as larvas para aceitarem a dieta inerte quando a alimentação viva é gradualmente retirada durante o período de transição. Para garantir o sucesso da co-alimentação, é crucial que as larvas consumam a dieta formulada mesmo

quando estão recebendo alimentação viva simultaneamente. Fernández-Díaz (1994) constatou que larvas de dourada (*Sparus aurata*), após terem sido previamente alimentadas com alimentos vivos, gradualmente reduziram a seleção por alimentos vivos durante a transição alimentar. Jomori et al. (2008) observaram que larvas de pacu iniciam a escolha voluntária de alimento inerte quando estão com cerca de 40 mg (18 dias pós primeira alimentação, dppa); no entanto, se forem induzidas à transição alimentar aos 12 dppa (10 mg), não há prejuízo de desempenho de crescimento e sobrevivência.

Tendo em vista as larvas altriciais, verifica-se que a ontogenia do trato digestivo é de certa forma semelhante entre as larvas de peixes marinhos e de água doce, com algumas poucas variações interespecífica (Infante e Cahu, 2001; Portella et al., 2014).

Dabrowski (1984) e Person-Le Ruyet (1989) detalharam mudanças críticas no trato digestivo durante a ontogenia das larvas. Na eclosão o trato digestivo desenvolve-se gradualmente a partir de um tubo curto, reto e indiferenciado histologicamente. Este tubo permanece com formato curto e retilíneo até a abertura da boca e ânus e a finalização da absorção do vitelo, momento em que começa a se segmentar em bucofaringea, intestino anterior, intestino médio e intestino posterior (Infante e Cahu, 2001). O período larval termina com o desenvolvimento de um estômago com glândulas gástricas e, por vezes dos cecos pilóricos nas espécies que apresentam essas estruturas (Kendall et al., 1984). O fígado e o pâncreas se formam na eclosão e já são funcionais na primeira alimentação (Chakrabarti e Sharma, 2005). Muitas dessas estruturas são de suma importância como por exemplo os cecos pilóricos. A formação do cecos pilóricos indica a última grande alteração do sistema digestivo nas larvas de peixes (Bisbal e Bengtson, 1995 Pedersen e Falk-Petersen, 1992; Mai et al., 2005; Freitas, 2015). Os cecos pilóricos aumentam a área de digestão e absorção sem aumentar o tamanho do intestino e fortalecem as funções intestinais em um espaço limitado da cavidade celomática (Lipscomb et al., 2023). Os cecos pilóricos e o intestino anterior (Figura 3) são estruturalmente semelhantes e têm a mesma função na digestão (Lima et al., 2013).

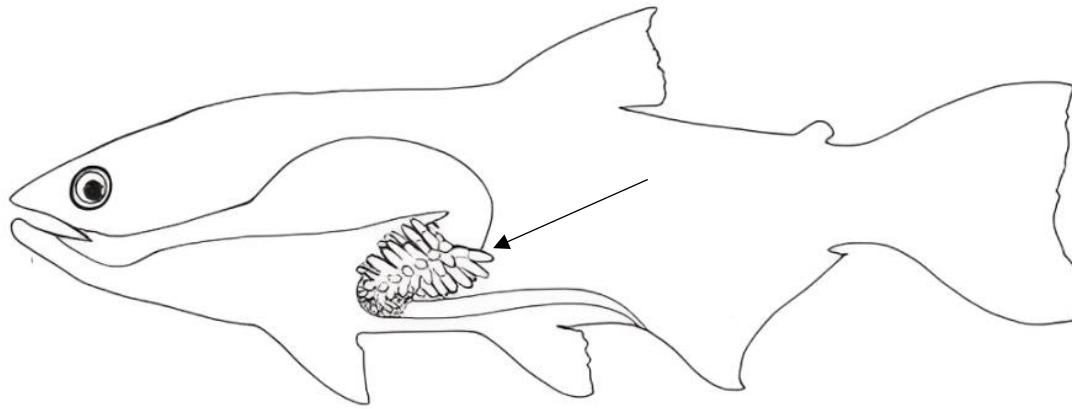


Figura 3. Ilustração de um peixe adulto destacando os cecos pilóricos (seta).
Fonte: Rotta, 2003.

Uma outra importante estrutura presente no trato digestivo é conhecida como borda em escova. As células que revestem as paredes do intestino, chamadas enterócitos, possuem pequenas vilosidades em sua membrana apical, denominadas microvilosidades. Estas microvilosidades se agrupam formando a borda em escova, que entra em contato direto com o interior do intestino. Essa estrutura desempenha um papel essencial na produção de enzimas digestivas (Ribeiro et al., 1999; Zambonino-Infante et al., 1996) e absorção dos nutrientes, especialmente na digestão das proteínas da dieta. Os oligopeptídeos, produtos da digestão proteica, são prontamente digeridos e absorvidos através da borda em escova (Joly et al., 2021; Imentai et al., 2022).

De acordo com Zambonino-Infante et al. (2001), as larvas de rabalo-europeu (*Dicentrarchus labrax*) apresentaram desenvolvimento considerável do epitélio intestinal durante os estágios iniciais de vida. No terceiro dia após a eclosão (dpe), o epitélio intestinal exibe uma superfície regular, e os enterócitos começam a diferenciar-se apicalmente, formando uma membrana com borda em escova. No 7º dpe, observou-se um espessamento e ondulações no epitélio intestinal, indicando um processo contínuo de desenvolvimento. Ao atingirem o 15º dpe, as larvas possuem estômago completamente formado, com surgimento das glândulas gástricas ocorrendo no 25º dpe, juntamente com a atividade de pepsina nessa mesma fase de desenvolvimento.

As larvas de linguado (*Solea solea*) também demonstram um padrão semelhante de desenvolvimento intestinal. A diferenciação do intestino, com formação da borda em escova, é iniciada ao 3º dpe. No 22º dpe, observa-se o surgimento das primeiras glândulas gástricas. No entanto, a atividade da pepsina não é detectada durante as primeiras cinco semanas de vida dessas larvas (Boulhic et al., 1992). Esses resultados destacam a complexidade e a temporalidade dos processos de desenvolvimento do trato digestivo na fase larval dos peixes, fornecendo elementos importantes para compreender a fisiologia nutricional e direcionamento para manejo adequado em condições de cultivo. No contexto das larvas altriciais de água doce, é importante destacar que existem variações entre as espécies, como é o caso do trairão (*Hoplias lacerdae*), cujo desenvolvimento larval difere dos demais peixes neotropicais estudados até o momento. Luz e Portella (2005) descreveram algumas características do sistema digestivo do trairão, enfatizando a presença de um tubo indiferenciado alinhado com epitélio cúbico em larvas com 2 dias de idade (com 8,7 mm de comprimento total). Após 3 dias (quando as larvas atingem 8,8 mm de comprimento total), foram observadas as primeiras glândulas gástricas no estômago. No entanto, a primeira alimentação foi registrada apenas no 7º dia após a eclosão (quando as larvas atingiram 9,5 mm de comprimento total), momento em que o pâncreas também estava bem desenvolvido, apresentando estruturas exócrinas e endócrinas. Apesar do avanço na morfogênese dos órgãos digestivos, as tentativas de criar larvas de trairão exclusivamente com alimento seco falharam (Luz e Portella, 2002).

De maneira geral, a larvicultura de lambari é realizada seguindo protocolos de espécies nativas com proximidade filogenética e mesmo hábito alimentar na fase larval, como o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (Portella et al., 2014). Um estudo conduzido por Tesser et al. (2005) avaliou o efeito da co-alimentação e do fornecimento abrupto de ração em larvas de pacu, observando que o tratamento com co-alimentação resultou em larvas com maior comprimento e peso médio. Mesmo com resultados de desempenho inferiores às larvas do tratamento controle que não passaram pela transição alimentar, os pesquisadores sugeriram que os náuplios de artêmia influenciaram a ingestão, digestão e absorção da dieta inerte durante a co-alimentação, por meio de

estímulos químicos. Esses estímulos desencadearam a liberação de aminoácidos livres, ativando receptores larvais e estimulando o apetite (Tesser e Portella, 2006).

Por outro lado, Jomori (2005) conduziu um estudo abordando diversos protocolos de co-alimentação utilizando diferentes formulações de dietas. Os resultados mostraram que, na transição alimentar, a qualidade da ração desempenha um papel fundamental no desenvolvimento das larvas. Larvas de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) alimentadas com rações nutricionalmente inadequadas, acarretam em prejuízo do crescimento quando a transição ocorreu tanto aos 12 como aos 21 dias após a primeira alimentação. Por outro lado, quando receberam dieta de excelente qualidade (Kyowa B Fry Feed, Japão), as que transicionaram tanto aos 12 como aos 21 dias apresentaram peso final de mais que 200 % em relação ao controle. Isso destaca não apenas a importância da transição alimentar, mas também da qualidade da dieta, o qual influencia significativamente no desempenho zootécnico larval.

Por meio da técnica de isótopos estáveis, Jomori et al. (2008) também observaram que as larvas de pacu, submetidas à transição alimentar aos 12 dias de experimento e com 10 mm e 10 mg começaram a reter nutrientes da dieta formulada eficientemente e não apresentaram diferenças significativas de peso, comprimento e sobrevivência ao final do experimento, em relação às larvas que tinham a sua disposição tanto alimento vivo como o formulado e apresentaram indícios de incorporação dos nutrientes da dieta formulada somente a partir dos 18 dias de experimento, com cerca de 15 mm e 38 mg. Após a transição, houve uma notável melhora na capacidade das larvas de metabolizarem a dieta seca, conforme indicado por mudanças significativas nos valores dos isótopos estáveis analisados ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$), aproximando-se da assinatura isotópica das larvas alimentadas exclusivamente com dieta formulada.

Resultados indiretos, como os observados por Tesser (2002) e Jomori (2005), revelaram que larvas de pacu com idade entre 16 e 18 dias, e pesando aproximadamente 12 mg, já possuem um estômago morfologicamente diferenciado, apresentando regiões glandulares e aglandulares, sugerindo que nesse estágio ocorra o início da digestão ácida. Além disso, Jomori. (2005)

observou o aparecimento das primeiras glândulas gástricas em larvas de pacu com peso de cerca de 7 mg.

Em um estudo subsequente conduzido por Freitas (2015), foi observado que aos 2 dpe já é perceptível a diferenciação das células do epitélio intestinal e do fígado em larvas de pacu. O surgimento do pâncreas ocorre entre 3 e 4 dpe, embora inicialmente não apresente o arranjo acinar descrito anteriormente por Tesser (2002). No entanto, aos 5 dpe, as larvas alcançaram o final da fase larval vitelina, marcada pelo desenvolvimento da cavidade bucofaríngea, do esôfago e por um intestino em estágio avançado de maturação. Nesse estágio, surgiram as primeiras células caliciformes e enterócitos com borda em escova. Além disso, o pâncreas difuso aumentou de tamanho, com suas células organizadas em ácinos, evidenciando um progresso significativo no desenvolvimento do sistema digestório das larvas de pacu.

Esses resultados fornecem informações valiosas sobre o desenvolvimento do sistema digestivo em larvas de peixes nativos, sendo cruciais para compreender a transição da nutrição larval para a alimentação independente. Tal conhecimento tem grande relevância na larvicultura de espécies nativas filogeneticamente próximas, incluindo o lambari, permitindo o desenvolvimento de estratégias eficazes para a alimentação, nutrição e criação sustentável dessas espécies.

OBJETIVO GERAL

O presente estudo teve como objetivo avaliar o desempenho zootécnico e o desenvolvimento morfológico do trato digestório durante os estágios iniciais de vida do lambari *A. lacustris* cultivados em diferentes protocolos de transição alimentar.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a sobrevivência, o crescimento em peso e em comprimento e outros indicadores de desempenho zootécnico das larvas de lambari submetidas a diferentes protocolos de transição alimentar com alimento vivo e dieta comercial;
- Caracterizar o desenvolvimento das estruturas do sistema digestório em larvas de lambari durante a fase endotrófica e após o período de início da transição do alimento vivo para a dieta comercial, por meio de técnicas histológicas.

REFERÊNCIAS

- Chakrabarti, R., & Sharma, J. G. (2005). Digestive physiology of fish larvae during ontogenic development: A brief overview. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 75 (11).
- Arbeláez-Rojas, G. A., & Melão, M. D. G. G. (2023). Larviculture of *Brycon amazonicus* under Different Food and Farming Systems. *Aquaculture Journal*, 3, 209-226.
- Barone, R. S. C., Lorenz, E. K., Sonoda, D. Y., & Cyrino, J. E. P. (2017). Fish and fishery products trade in Brazil, 2005 to 2015: A review of available data and trends. *Scientia Agrícola*, 74, 417-424.
- Bastian, R., Massaro, M. V., Felden, J., da Luz Soares, M., Siveris, S. E., & Reynalte-Tataje, D. A. (2021). Daily variation feeding of *Astyanax lacustris* (Lütken 1875) in a subtropical river. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 43, e54516-e54516.
- Bengtson, D. A., Léger, P., & Sorgeloos, P. (2018). Use of Artemia as a food source for aquaculture. In *Artemia biology* (pp. 255-286). CRC Press.
- Boulhic, M., & Gabaudan, J. (1992). Histological study of the organogenesis of the digestive system and swim bladder of the Dover sole, *Solea solea* (Linnaeus 1758). *Aquaculture*, 102, 373-396.
- Cahu, C. L., & Zambonino Infante, J. L. (1997). Is the digestive capacity of marine fish larvae sufficient for compound diet feeding?. *Aquaculture international: journal of the European Aquaculture Society*.
- Canavate, J. P., & Fernández-Díaz, C. (1999). Influence of co-feeding larvae with live and inert diets on weaning the sole *Solea senegalensis* onto commercial dry feeds. *Aquaculture*, 174, 255-263.
- Dabrowski, K. J. R. N. D. (1984). The feeding of fish larvae: present «state of the art» and perspectives. *Reproduction Nutrition Développement*, 24(6), 807-833.

Dabrowski, K., & Glogowski, J. (1977). Studies on the proteolytic enzymes of invertebrates constituting fish food. *Hydrobiologia*, 52(2), 171-174.

Dabrowski, K., & Glogowski, J. (1977). Studies on the role of exogenous proteolytic enzymes in digestion processes in fish. *Hydrobiologia*, 54(2), 129-134.

Daniel, S. N., Hashimoto, D. T., Pansonato-Alves, J. C., Foresti, F., & Porto-Foresti, F. (2012). Cytogenetic characterization of distinct B chromosomes in a population of the fish *Astyanax bockmanni* (Teleostei, Characiformes). *Caryologia*, 65, 229-233.

Djellata, A., Sarih, S., Hernández-Cruz, C. M., Martínez-Rodríguez, G., Gilannejad, N., & Roo, J. (2021). The effect of different co-feeding protocols on greater amberjack (*Seriola dumerili*, Risso 1810) larvae. *Aquaculture Nutrition*, 27, 1761-1776.

El-Dahhar, A. A., Rashwan, R. S., EL-Zaeem, S. Y., Shahin, S. A., Mourad, M. M., & El Basuini, M. F. (2024). Evaluation of the nutritional value of *Artemia* nauplii for European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) larvae. *Aquaculture and Fisheries*, 9, 78-84.

Fernández-Díaz, C., Pascual, E., & Yúfera, M. (1994). Feeding behaviour and prey size selection of gilthead seabream, *Sparus aurata*, larvae fed on inert and live food. *Marine Biology*, 118, 323-328.

Figueiredo-Ariki, D. G. (2019). Protocolos de indução hormonal com extrato bruto de hipófises de carpa e o perfil da prostaglandina F2 α durante a maturação final e ovulação em *Astyanax altiparanae* 90f. (Tese de Doutorado, Centro de Aquicultura da Unesp. Universidade Estadual Paulista)

Fisheries, F. A. O. (2022). Aquaculture Division. *Rome*: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Fonseca, T., Costa-Pierce, B. A., & Valenti, W. C. (2017). Lambari aquaculture as a means for the sustainable development of rural communities in Brazil. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 25, 316-330.

Gardinal, M. V. B., Benine, R. C., & Dal Pai, M. (2021). Estudo comparativo da morfologia ventricular em teleósteos das ordens Characiformes e Siluriformes (Teleostei: Otophysi) 90f. (Tese de Doutorado, Pós graduação em Zoologia. Universidade Estadual Paulista).

Govoni, J. J., Boehlert, G. W., & Watanabe, Y. (1986). The physiology of digestion in fish larvae. *Environmental Biology of fishes*, 16(1), 59-77. Bisbal, G. A., & Bengtson, D. A. (1995). Development of the digestive tract in larval summer flounder. *Journal of Fish Biology*, 47(2), 277-291.

Hasselberg, A. E., Aakre, I., Scholtens, J., Overå, R., Kolding, J., Bank, M. S., ... & Kjellekvold, M. (2020). Fish for food and nutrition security in Ghana: Challenges and opportunities. *Global food security*, 26, 100380.

Imentai, A., Gilannejad, N., Martínez-Rodríguez, G., López, F. J. M., Martínez, F. P., Pěnka, T. & Polícar, T. (2022). Effects of first feeding regime on gene expression and enzyme activity in pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. *Frontiers in Marine Science*, 9, 864536.

Infante, J. Z., & Cahu, C. L. (2001). Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 130, 477-487.

Infante, J. Z., Cahu, C. L., Peres, A., Quazuguel, P., & Le Gall, M. M. (1996). Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae fed different Artemia rations: growth, pancreas enzymatic response and development of digestive functions. *Aquaculture*, 139(1-2), 129-138.

Joly, L. J., Loots, C., Meunier, C. L., Boersma, M., Collet, S., Lefebvre, V. & Giraldo, C. (2021). Maturation of the digestive system of Downs herring larvae (*Clupea harengus*, Linnaeus, 1758): identification of critical periods through ontogeny. *Marine Biology*, 168, 82.

Jomori, R. K. (2005). Organismos vivos e dietas secas na larvicultura do pacu *Piaractus mesopotamicus* e o uso dos isótopos estáveis de carbono e nitrogênio como indicadores naturais da incorporação do alimento no tecido larval 121f. (Tese de Doutorado, Centro de Aquicultura da Unesp. Universidade Estadual Paulista).

Jomori, R. K., Carneiro, D. J., Malheiros, E. B., & Portella, M. C. (2003). Growth and survival of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) juveniles reared in ponds or at different initial larviculture periods indoors. *Aquaculture*, 221, 277-287.

Jomori, R. K., Carneiro, D. J., Martins, M. I. E. G., & Portella, M. C. (2005). Economic evaluation of *Piaractus mesopotamicus* juvenile production in different rearing systems. *Aquaculture*, 243, 175-183.

Jomori, R. K., Luz, R. K., & Célia Portella, M. (2012). Effect of salinity on larval rearing of pacu, *Piaractus mesopotamicus*, a freshwater species. *Journal of the World Aquaculture Society*, 43, 423-432.

Kojima, J. T., Leitão, N. J., Menossi, O. C. C., Freitas, T. M., Silva, M. D. P., & Portella, M. C. (2015). Short periods of food restriction do not affect growth, survival or muscle development on pacu larvae. *Aquaculture*, 436, 137-142.

Kolkovski, S. (2001). Digestive enzymes in fish larvae and juveniles—implications and applications to formulated diets. *Aquaculture*, 200(1-2), 181-201.

Kolkovski, S., Yackey, C., Czesny, S., & Dabrowski, K. (2000). The effect of microdiet supplementation of dietary digestive enzymes and a hormone on growth and enzyme activity in yellow perch juveniles. *North American Journal of Aquaculture*, 62(2), 130-134.

Kolkovski, S.; Arieli, A.; Tandler, A. Visual and chemical cues stimulate microdiet ingestion in sea bream larvae. *Aquaculture International*, v.5, p.527-536, 1997.

Kotani, T., Imari, H., Miyashima, A., & Fushimi, H. (2016). Effects of feeding with frozen freshwater cladoceran *Moina macrocopa* on the performance of red sea bream *Pagrus major* larviculture. *Aquaculture international*, 24, 183-197.

Kurokawa, T., Kagawa, H., Ohta, H., Tanaka, H., Okuzawa, K., & Hirose, K. (1995). Development of digestive organs and feeding ability in larvae of Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 52(5), 1030-1036.

Léger, P., Bengtson, D. A., Sorgeloos, P., Simpson, K. L., & Beck, A. D. (1987). The nutritional value of *Artemia*: a review. *Artemia research and its applications*, 3, 357-372.

Léger, P., Bengtson, D. A., Sorgeloos, P., Simpson, K. L., & Beck, A. D. (1987). The nutritional value of *Artemia*: a review. *Artemia research and its applications*, 3, 357-372.

Lima, A. F. D., Makrakis, M. C., Gimenes, M. D. F., Makrakis, S., Silva, P. S. D., & Assumpção, L. D. (2013). Mudanças morfológicas no trato digestório e composição da dieta de larvas e juvenis do linguado *Catathyridium jenynsii* no reservatório de Itaipu, rio Paraná, Brasil. *Iheringia. Série Zoologia*, 103, 214-221

Lipscomb, T. N., Patterson, J. T., Wood, A. L., Watson, C. A., & DiMaggio, M. A. (2020). Larval growth, survival, and partial budget analysis related to replacing *Artemia* in larval culture of six freshwater ornamental fishes. *Journal of the World Aquaculture Society*, 51, 1132-1144.

Lipscomb, T. N., Yanong, R. P., Ramee, S. W., & DiMaggio, M. A. (2023). Larval digestive system ontogeny and early weaning in neon tetra *Paracheirodon innesi*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 49, 1241-1255.

Lira, L. V. G., Kuradomi, R. Y., de Souza, T. G., Hainfellner, P., & Batlouni, S. R. (2018). Maturação ovariana de *Astyanax altiparanae* após desova em sistema de recirculação de água. *Boletim do Instituto de Pesca*, 44.

Luz, R. K., & Portella, M. C. (2002). Larvicultura de trairão (*Hoplias lacerdae*) em água doce e água salinizada. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 31, 829-834.

Luz, R. K., & Portella, M. C. (2005). Freqüência alimentar na larvicultura do trairão (*Hoplias lacerdae*). *Revista brasileira de Zootecnia*, 34, 1442-1448.

Madkour, K., Dawood, M. A., & Sewilam, H. (2023). The use of artemia for aquaculture industry: An updated overview. *Annals of Animal Science*, 23, 3-10.

Maggio, D. H. (2017). Distribuição potencial e impacto das mudanças climáticas nas espécies pragas de Pentatomidae na Região Neotropical 95f. (Dissertação

de Mestrado, Pós graduação em Ecologia e Evolução. Universidade Federal de São Paulo)

Mai, K., Yu, H. A. I. R. U. I., Ma, H., Duan, Q., Gisbert, E. N. R. I. C., Infante, J. Z., & Cahu, C. L. (2005). A histological study on the development of the digestive system of *Pseudosciaena crocea* larvae and juveniles. *Journal of Fish Biology*, 67(4), 1094-1106.

Martinez, I., Moyano, F. J., Fernández-Díaz, C., & Yúfera, M. (1999). Digestive enzyme activity during larval development of the Senegal sole (*Solea senegalensis*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 21, 317-323.

Matuha, M., Oliver, L. P., Bruce, T. J., & Cain, K. D. (2024). Optimizing early weaning protocols for Burbot larvae. *North American Journal of Aquaculture*, 86(1), 141-153.

Naylor, R. L., Goldberg, R. J., Primavera, J. H., Kautsky, N., Beveridge, M. C., Clay, J., & Troell, M. (2000). Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature*, 405, 1017-1024.

Olaganathan, R., & Kar Mun, A. T. (2017). Impact of aquaculture on the livelihoods and food security of rural communities. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 5, 278.

Pedersen, T., & Falk-Petersen, I. B. (1992). Morphological changes during metamorphosis in cod (*Gadus morhua* L.), with particular reference to the development of the stomach and pyloric caeca. *Journal of Fish Biology*, 41(3), 449-461.

PEIXE BR. Associação Brasileira da Piscicultura. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/>. Acesso em 03 de Março de 2024.

People Le Ruyet, J., Alexandre, J. C., Thébaud, L., & Mugnier, C. (1993). Marine fish larvae feeding: formulated diets or live prey?. *Journal of the world aquaculture Society*, 24(2), 211-224.

Person, L. (1989, February). Early weaning of marine fish larvae onto microdiets: constraints and perspectives. In *Advances in Tropical Aquaculture, Workshop at Tahiti, French Polynesia, 20 Feb-4 Mar 1989*.

Portella, M. C., & Dabrowski, K. (2008). Diets, physiology, biochemistry and digestive tract development of freshwater fish larvae. Feeding and digestive functions of fishes. Enfield: Science Publishers, 227-279.

Portella, M. C., Jomori, R. K., Leitão, N. J., Menossi, O. C. C., Freitas, T. M., Kojima, J. T. & Carneiro, D. J. (2014). Larval development of indigenous South American freshwater fish species, with particular reference to pacu (*Piaractus mesopotamicus*): A review. *Aquaculture*, 432, 402-417.

Portella, M. C., Leitão, N. D. J., Takata, R., & Lopes, T. S. (2012). Alimentação e nutrição de larvas. *Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira*. Florianópolis, Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 185-216.

Reis, R. G. A., Alves, P. C. J., Abe, H. A., da Costa Sousa, N., Paixao, P. E. G., Palheta, G. D. A. & Takata, R. (2021). Feed management and stocking density for larviculture of the Amazon ornamental fish L333 king tiger pleco *Hypancistrus* sp. (Siluriformes: Loricariidae). *Aquaculture Research*, 52(5), 1995-2003.

Rezende, F. P., Motta, J. D. S., Ramos, F. M., Fujimoto, R. Y., Polese, M. F., Fernandes, G. & PEIXE, P. C. (2021). Sistemas e infraestrutura de produção. Peixes ornamentais no Brasil: mercado, legislação, sistemas de produção e sanidade, Brasília, 297.

Ribeiro, L., Zambonino-Infante, J. L., Cahu, C., & Dinis, M. T. (1999). Development of digestive enzymes in larvae of *Solea senegalensis*, Kaup 1858. *Aquaculture*, 179, 465-473.

Rosenlund, G., Stoss, J., & Talbot, C. (1997). Co-feeding marine fish larvae with inert and live diets. *Aquaculture*, 155(1-4), 183-191.

Rotta, M. A. (2003). Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura. Embrapa Pantanal, 48.

- Samir, M., & Banik, S. (2015). Production and application of live food organisms for freshwater ornamental fish larviculture. *Advances in Bio Research*, 6, 159-167.
- Santos, J. A., Soares, C. M., & Bialetzki, A. (2020). Early ontogeny of yellowtail tetra fish *Astyanax lacustris* (Characiformes: Characidae). *Aquaculture Research*, 51, 4030-4042.
- Santos, J. A., Soares, C. M., & Bialetzki, A. (2020). Effects of pH on the incubation and early development of fish species with different reproductive strategies. *Aquatic Toxicology*, 219, 105382.
- Sorgeloos, P., Lavens, P., Leger, P., & Tackaert, W. (1993). The use of Artemia in marine fish larviculture. In *Finfish Hatchery in Asia. Proc. Finfish Hatchery in Asia'91. TML Conference Proc., Taiwan*, 1, 73-86.
- Súarez, Y. R., Silva, E. A., & Viana, L. F. (2017). Reproductive biology of *Astyanax lacustris* (Characiformes: Characidae) in the southern Pantanal floodplain, upper Paraguay River basin, Brazil. *Environmental Biology of Fishes*, 100, 775-783.
- Tesser, M. B. (2002). Desenvolvimento do trato digestório e crescimento de larvas de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) em sistemas de co-alimentação com náuplios de Artemia e dieta microencapsulada 59f. (Dissertação de Mestrado, Centro de Aquicultura da Unesp. Universidade Estadual Paulista).
- Tesser, M. B., & Portella, M. C. (2006). Diet ingestion rate and pacu larvae behavior in response to chemical and visual stimuli. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35, 1887-1892.
- Tesser, M. B., Carneiro, D. J., & Portella, M. C. (2005). Co-feeding of pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg (1887), larvae with Artemia nauplii and a microencapsulated diet. *Journal of Applied Aquaculture*, 17(2), 47-59.
- Treece, G. D. (2000). *Artemia production for marine larval fish culture* (Vol. 702). Stoneville, Mississippi: Southern Regional Aquaculture Center.

Valenti, W. C., Barros, H. P., Moraes-Valenti, P., Bueno, G. W., & Cavalli, R. O. (2021). Aquaculture in Brazil: past, present and future. *Aquaculture Reports*, *19*, 100611.

Vidotto-Magnoni, A. P., Kurchevski, G., De Lima, F. P., Nobile, A. B., Garcia, D. A., Casimiro, A. C., & Orsi, M. L. (2021). Population biology of *Astyanax lacustris* (Pisces, Characiformes) in a Neotropical reservoir and its tributaries. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, *93*, e20190565.

Woche, H., Harsányi, A., & Schwarz, F. J. (2012). Larviculture of burbot (*Lota lota* L.): larval rearing using *Artemia* and weaning onto dry feed. *Aquaculture Research*, *44*, 106-113.

WorldFish. (2017). Fish-based recipes: Promoting the consumption of nutrient-rich small fish species in Zambia. Penang, Malaysia. Retrieved from <https://www.worldfishcenter.org/content/fish-based-recipes>

Yasui, G. S., Porto-Foresti, F., Castilho-Almeida, R. B., Senhorini, J. A., & Foresti, F. (2020). Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). *Espécies Nativ. Piscic. no Bras*, *3*, 101-116.

Zambonino-Infante, J. Z., Cahu, C. L., Peres, A., Quazuguel, P., & Le Gall, M. M. (1996). Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae fed different *Artemia* rations: growth, pancreas enzymatic response and development of digestive functions. *Aquaculture*, *139*(1-2), 129-138.

MANUSCRITO 1- Transição alimentar precoce na larvicultura do lambari (*Astyanax lacustris*): Impactos no desempenho produtivo e desenvolvimento do sistema digestório

Resumo- Este estudo teve como objetivo avaliar o desempenho e desenvolvimento do trato gastrointestinal de larvas de lambari submetidas a diferentes protocolos de transição alimentar. Larvas com 3 dpe ($2,91 \pm 0,45$ mm e $0,02 \pm 0,00$ mg) foram distribuídas em aquários de 30L na densidade de 20 larvas.L⁻¹, em sistema de recirculação de água dotado de aeração e controle de temperatura constantes. Foram avaliados cinco diferentes períodos de transição alimentar, consistindo em alimentação viva por 3, 6, 9, 12 e 15 dias, seguido por 3 dias de co-alimentação e posteriormente de alimentação inerte. Utilizaram-se três controles, sendo: fornecimento exclusivo de dieta viva (CA) ou dieta inerte (CR) e jejum (CJ), com um período experimental de 30 dias. Observou-se que 12 dias de alimentação viva resultou em melhor desempenho em peso semelhante ao fornecimento exclusivo de náuplios de artêmia. A distribuição de frequência de classes de tamanho mostrou padrões distintos entre os tratamentos, destacando o CA com maior frequência de larvas de tamanho extra grande (GG) e o T12 com larvas na classe grande (G). Nesses tratamentos e em T15 foram observados os maiores valores dos indicadores de crescimento. Foi observado canibalismo nos tratamentos sem nenhum fornecimento de alimento vivo, no controle com apenas dieta inerte (CR). Os resultados indicam a importância de protocolos que atendam às exigências das larvas para evitar comportamento canibalístico. O custo associado ao uso de náuplios de artêmia aumentou com a duração do período de oferta de alimento vivo, destacando a necessidade de otimizar o uso desse recurso. As análises histológicas mostraram desenvolvimento inicial do sistema digestório semelhante ao de outras espécies de caracídeos já estudadas. Ao iniciar a alimentação com dieta formulada, as larvas do tratamento T12, já possuíam estômago formado e cecos pilóricos desenvolvidos. Em comparação, no início da transição das larvas do T3 e T6, em que as larvas ainda não possuíam estômago formado. Essa diferença estrutural influenciou significativamente a eficiência na digestão e absorção de nutrientes. Em geral, a transição alimentar iniciando em torno de 12 dias, quando as larvas apresentaram $11,34 \pm 0,97$ mm de comprimento total, é uma estratégia adequada para o pleno desenvolvimento das larvas de lambari.

Palavras-chave: Larvicultura, transição alimentar, lambari, alimento vivo, sistema digestório.

MANUSCRIPT 1- Early weaning in lambari (*Astyanax lacustris*) larviculture: Impacts on productive performance and digestive system development

Abstract- This study aimed to evaluate the performance of lambari larvae subjected to different weaning protocols. Three-day-old larvae (2.91 ± 0.45 mm and 0.02 ± 0.00 mg) were distributed in 30L aquariums at a density of 20 larvae.L⁻¹ in water recirculation system equipped with constant aeration and temperature control. Five different weaning periods were evaluated consisting of live feeding for 3, 6, 9, 12 and 15 days, followed by 3 days of co-feeding and inert diet afterwards. Three controls were used, namely only live diet (CA) or only inert diet (CR) and fasting (CJ). The experiment last 30 days. It was observed that 12 days of live feeding resulted in better performance in weight, similar to the treatment exclusively fed by artemia nauplii. The frequency distribution of larval size classes showed distinct patterns between treatments, highlighting CA with a higher frequency of extra-large larvae (GG) and T12 with larvae in the large class (G). In these treatments and in T15, the highest values of growth indicators were observed. Cannibalism was observed in treatments with shorter time of live food supply and in the control with only inert diet (CR). The results indicate the importance of protocols that meet the larval requirements to avoid predatory behavior. The cost associated with the use of artemia nauplii increases with the duration of the live food supply period highlighting the need to optimize the use of this resource. Histological analyses showed initial development of the digestive system similar to that of other characid species already studied. When starting to feed with formulated diet, larvae of treatment T12 already had a differentiated stomach and developed pyloric caeca. In comparison, at the beginning of weaning of T3 and T6 larvae, the larvae did not yet have a formed stomach. This structural difference significantly influenced the efficiency in digestion and absorption of nutrients between treatments. In general, the results suggested that the weaning starting around 12 days, when the larvae are 11.34 ± 0.97 mm in total length, is an adequate strategy for the full development of lambari larvae.

Keywords: Larviculture, weaning, lambari, live food, inert food, digestive system

INTRODUÇÃO

O lambari (*Astyanax lacustris*) é uma espécie de pequeno porte considerada atualmente de grande potencial para aquicultura no Brasil, devido ao seu hábito alimentar onívoro, maturação sexual precoce, ciclo de vida curto com altas taxas de crescimento e desovas ao longo do ano (Guaiume, 2022). No entanto, ainda apresenta gargalos na larvicultura relacionados a alta mortalidade, decorrente da alimentação e nutrição e transição alimentar inadequada, entre outros fatores (Samir et al., 2015; Santos et al., 2021; Ferreira et al., 2023).

O período de transição alimentar das larvas, isto é, a mudança de alimento vivo para o inerte, é considerado crítico para a maioria das espécies de peixes, afetando significativamente o crescimento e a sobrevivência (Canavate et al., 1999; Kestemont et al., 2007; Celik, 2020). A razão para este cenário é que as larvas de algumas espécies com características altriciais eclodem com o sistema digestório ainda em estágio rudimentar de desenvolvimento, e sem habilidade para a ingestão, digestão e absorção de nutrientes presentes em alimentos formulados comerciais durante os primeiros dias de vida (Portella e Dabrowski 2008).

A exemplo de peixes marinhos, em que a larvicultura intensiva é amplamente estudada e praticada usando protocolos em que são usados rotíferos e posteriormente náuplios de artêmia e copépodes como alimento vivo (Infante e Cahu, 2001), os estudos sobre a alimentação inicial para larvicultura intensiva de peixes de água doce tem aumentado nos últimos anos (Zaniboni Filho, 2000; Portella et al. 2012; Abe et al., 2016; Fabregat et al., 2017; Reis et al., 2021; Dantas et al., 2022) . Isso porque, a quantidade e a qualidade do alimento a ser fornecido aos peixes é de suma importância para o sucesso da larvicultura tanto em termos produtivos como econômicos (Jomori et al. 2003, Jomori et al. 2005; Ferreira et al., 2023).

Além disso, devido ao maior tamanho das larvas de peixes de água doce ao eclodir e no início da alimentação exógena em comparação com larvas de peixes marinhos, os náuplios de artêmia têm sido oferecidos como primeiro

alimento, demonstrando boa aceitação por diversas espécies dulcículas (Dabrowski e Bardega, 1984; Houde et al., 2009; Portella et al., 2014). Embora eficaz, o fornecimento prolongado de alimentos vivos pode criar barreiras econômicas significativas para a produção comercial de larvas (Rocha et al., 2008; Jomori et al., 2005). Estratégias de substituição precoce de alimentos vivos já foram testadas em várias espécies, visando determinar o período mínimo de fornecimento que não afete negativamente o crescimento e a sobrevivência das larvas (Cahu & Infante, 1994; Kolkovski et al., 2009; McKay e Jeffs, 2023). Com isso, a estratégia de co-alimentação pode melhorar a nutrição larval e ajudar as larvas a aceitar a dieta formulada com mais facilidade quando os alimentos vivos são retirados (Munilla-Moran et al., 1990; Person le Ruyet et al., 1993; Rosenlund et al., 1997, Canavante et al., 1999).

Tanto a quantidade quanto a qualidade das dietas vivas e formuladas são cruciais para o crescimento, sobrevivência e sucesso durante a transição alimentar (Bromley e Howell, 1983; Person le Ruyet et al., 1993). A combinação desses fatores pode levar ao desenvolvimento de procedimentos eficazes para aumentar a produção. O desenvolvimento de protocolos adequados de manejo alimentar e o conhecimento das concentrações ideais de presas para serem oferecidas diariamente na larvicultura de peixes garantem um sistema de produção eficiente, podendo reduzir o custo operacional da produção (; Jomori et al. 2005; Jomori et al. 2012; Abe et al., 2016; Abe et al., 2019).

Pelo exposto, fica demonstrada a importância de se conhecer o momento ideal para realizar a transição alimentar para cada espécie produzida comercialmente em sistema de criação intensiva. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho zootécnico e o desenvolvimento histomorfológico do sistema digestório de larvas de lambari submetidas a diferentes protocolos de transição alimentar.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biologia de Organismos Aquáticos (LABOA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (nº 4794/23,

CEUA/FCAV/UNESP). As larvas de lambari foram obtidas por meio de reprodução induzida de vários casais, utilizando extrato hipofisário de lambari (*Astyanax lacustris*), no Laboratório de Reprodução de Peixes do Caunesp (Figura 4). Após a eclosão, as larvas foram imediatamente transportadas ao LABOA onde permaneceram na temperatura de 28 °C até o início do experimento.



Figura 4. Aplicação de extrato hipofisário de lambari em casais de lambari aptos para a reprodução. (Fonte: O autor)

Durante o período experimental, as condições da água foram monitoradas mantendo-se a temperatura em torno de $29,0 \pm 0,5$ °C, pH em $8,2 \pm 0,4$, oxigênio dissolvido em $4,3 \pm 0,4$ mg.L⁻¹ e a amônia tóxica em $0,02 \pm 0,01$ mg. L⁻¹. A idade das larvas é indicada em dias pós-eclosão (dpe), utilizando a terminologia proposta por Kendall et al. (1984) para descrever as diferentes fases de desenvolvimento.

Durante o período larval, que se estende desde a eclosão até a completa transformação em juvenil, ocorrem rápidas e marcantes mudanças morfológicas e fisiológicas. Assim, optou-se por utilizar larvas com 3 dpe (comprimento total $2,91 \pm 0,45$ mm e peso úmido $0,02 \pm 0,00$ mg), uma vez que nesse estágio já

apresentavam boca e ânus abertos, bexiga natatória inflada e ainda um pequeno volume de vitelo, que atenderia à fase mixotrófica e garantiria a energia necessária para suportar o estresse de manipulação para contagem e transferência aos aquários experimentais.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente ao acaso com cinco tratamentos e três controles (larvas alimentadas com náuplios de artêmia (CA), com ração (CR) e larvas em jejum durante todo período experimental (CJ), com cinco repetições cada, com duração de 30 dias.

Os tratamentos foram constituídos por diferentes tempos de fornecimento de alimento vivo após a abertura da boca (3, 6, 9, 12 e 15) dias recebendo náuplios de artêmia). Após cada período de alimentação com náuplios de artêmia, foi iniciada a redução gradual (75, 50 e 25%) da quantidade de náuplios ofertada, junto com o fornecimento de alimento formulado por três dias consecutivos, até a retirada completa dos náuplios e manutenção apenas da ração (Figura 5). O alimento formulado fornecido nos tratamentos foi a dieta Royal Seafood (BERNAQUA, Bélgica), oferecida em excesso para garantir que sempre houvesse sobra de alimento. De acordo com o fabricante, essa dieta apresenta composição de 54% de proteína bruta, 8% de lipídios, 2% de fibras, 12% de matéria mineral e 8% de umidade, com granulometria variando entre 300-500 μm .

O ensaio experimental foi conduzido em aquários de vidro com volume útil de 30 litros de água com salinidade de 2 g.L^{-1} , utilizando 24.000 larvas de lambari, na densidade de 20 larvas. L^{-1} . Os aquários estavam acoplados a um sistema de circulação de água, contendo filtro mecânico (perlon acrílico), filtro biológico (*bioballs*) e filtro físico (luz ultravioleta) (Figura 6). O fornecimento de alimento vivo ou inerte foi realizado na frequência de cinco vezes ao dia (7:00, 9:00, 11:00, 14:00 e 17:00).

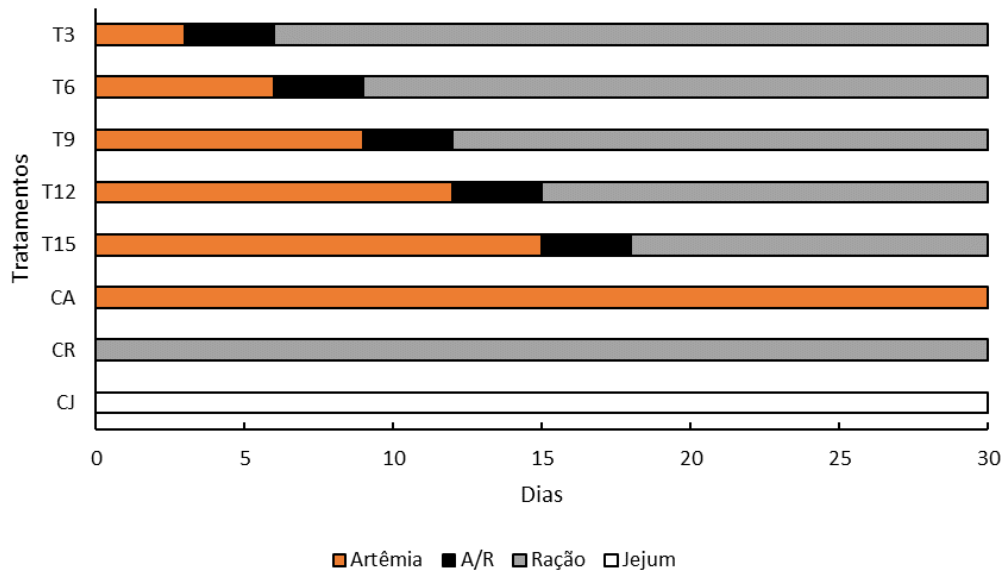


Figura 5. Delineamento experimental. Onde: T3- 3 dias de alimentação com náuplios de artêmia; T6- 6 dias de alimentação com náuplios de artêmia; T9- 9 dias de alimentação com náuplios de artêmia; T12- 12 dias de alimentação com artêmia; T15- 15 dias de alimentação com náuplios de artêmia; CA- Controle de alimentação somente com náuplios de artêmia; CR- Controle de alimentação somente com ração; CJ- Larvas submetidas ao jejum; A/R - Representa o período de co-alimentação com náuplios de artêmia e dieta inerte.



Figura 6. Unidades experimentais utilizadas para o cultivo das larvas de lambari. (Fonte: O autor)

Diariamente, os resíduos acumulados no fundo dos aquários foram removidos por sifonamento, seguido de substituição de cerca de 30-40% do volume de água dos aquários. A eclosão dos náuplios de *Artemia franciscana* (INVE High 5) ocorreu em incubadoras com capacidade de 25 litros de água, utilizando-se 1 g de cistos para cada litro de água salinizada com sal grosso comum (20 g.L^{-1}), mantendo-se temperatura constante de 28°C (Figura 7). A verificação da eclosão dos náuplios de artêmia foi feita após 24 horas, quando foram recolhidos, concentrados e mantidos em nova solução com a mesma salinidade das incubadoras. Uma amostra dos náuplios foi contada sob estereoscópio para determinação da densidade. Com base nessa análise, foram estabelecidas os volumes que deveriam ser oferecidos nos aquários de cada tratamento considerando protocolos de alimentação específicos para garantir que cada larva recebesse uma quantidade adequada de alimento ao longo do tempo, conforme as necessidades estabelecidas por Hiromoto (2021) (Tabela 1).



Figura 7. Incubadoras utilizadas para a eclosão dos náuplios de artêmia.
(Fonte: O autor)

Tabela 1. Taxa de alimentação diária de náuplios de artêmia fornecidos às larvas de lambari, protocolo adotado por Hiromoto (2021).

DPE	Náuplios.larva ⁻¹
1	50
2	75
3	100
6-7	150
8-10	300
11-12	600
13	900
14	1000
15	1200
16	1500
17	1800
18	2100
19	2400
20	2700
21	3000

DPE = Dia pós-eclosão

Foram realizadas sete biometrias ao longo do experimento (aos 3, 6, 9, 12, 15, 18 e 30 dias), quando foram retiradas 20 larvas por unidade experimental, elas foram previamente eutanasiadas em solução de benzocaína (200 mg/L), 15 larvas fixadas em paraformaldeído 4% para determinação do comprimento total (mm) e peso úmido (mg) e 5 larvas fixadas em karnovsky (2,5% de paraformaldeído e 2,5% de glutaraldeído) para análise histológica. Ao fim do período experimental, 50% de cada parcela experimental foi amostrada, com a finalidade de avaliar a distribuição de frequência de tamanho em comprimento total em cada tratamento (Figura 8). Para tanto, as larvas foram classificadas em muito-pequena (PP, < 13,96 mm), pequena (P, de 13,97 a 17,74 mm), média (M, de 17,75 a 25,30 mm), grande (G, de 25,31 a 29,07 mm) e extra-grande (GG, >

29,08 mm). A amplitude de cada classe foi definida pelo desvio padrão, onde: PP = (Média – (2* DP)); P= (Média-DP); G= (Média+DP); GG= (Média+ (2*DP)).

Posteriormente, foi avaliada a sobrevivência final das larvas (Eq. 1), além dos parâmetros desempenho zootécnico peso (mg) e comprimento total (mm). Com os dados de peso e comprimento foram calculados os seguintes índices: taxa de crescimento específico (Eq.2) e fator de condição relativo (Eq. 3).

$$(1) \text{Sobrevivência (\%)} = \frac{\text{Número final de larvas por tratamento}}{\text{Número inicial de larvas por tratamento}} \times 100;$$

$$(2) \text{TCE (\%)} = \frac{(\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial})}{\text{intervalo experimental (Dias)}} \times 100$$

$$(3) \text{Kn} = \frac{\text{Peso observado}}{\text{Peso estimado}}$$

Para o cálculo de Kn (Le Cren, 1951) foi estabelecida uma relação peso-comprimento reunindo os dados biométricos de todas as larvas de todos os tratamentos ao longo do tempo para cálculo do peso estimado, a partir da equação: $P = a.C^b$, em que as constantes (a e b) foram estimadas por regressão linear da curva de peso-comprimento a partir da transformação logarítmica em: $\text{Log } P = \text{Log } a + b \text{ Log } C$, onde P = peso; C = comprimento; a = intercepto; b = coeficiente angular. O valor de Kn foi calculado para cada peixe. Em seguida, foram calculados a média aritmética e o desvio padrão para cada tratamento, de acordo com Portella et al. (2000).

Morfologia, histologia e histoquímica do trato digestório

Inicialmente, antes de iniciar o procedimento de inclusão em Historesina® (Leica, Germany), as amostras foram lavadas três vezes em solução tampão fosfato Sorensen 0,2 M.L-1 (pH 7,2). Para as análises histológicas, as larvas foram desidratadas em série alcoólica (70, 80, 90 e 95%) e solução 1:1 (álcool 95% + resina pura), e posteriormente incluídas em resina histológica Historesina®, segundo as instruções do fabricante. Posteriormente, com a utilização do micrótomo Leica modelo RM 2245 e navalhas de vidro de 6,4 e 10 mm foram feitas secções sagitais com espessura de 4 µm e montadas as lâminas histológicas. Para a observação da estrutura geral dos tecidos e morfologia do

trato digestório as lâminas foram coradas com Hematoxilina de Harris e-Floxina B 0,5% (HF).

Os polissacarídeos neutros no trato digestório e o glicogênio hepático foram detectados pelo método do ácido periódico de Schiff (PAS), com contracoloração com Hematoxilina de Harris; a presença de polissacarídeos ácidos foi determinada pela coloração com Azul de Alcian pH 2,5, com contracoloração com Floxina B. Os grânulos de zimogênio no pâncreas foram identificados pelo método Eosina-Orange G-Floxina B (EOF).

A visualização e captura de imagens das estruturas digestórias foram realizadas utilizando um microscópio Olympus BX43, acoplado a uma câmera digital Olympus DP73. As imagens foram analisadas com o software de análise de imagem CellSens Standart 1.8

Análise estatística

As variáveis do experimento foram testadas quanto à normalidade e homoscedasticidade das variâncias pelos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente. Como foram cumpridos esses pressupostos da análise de variância, a ANOVA foi realizada, utilizando-se o teste de Tukey para verificar a significância estatística dos tratamentos (Zar, 2010). A análise estatística considerou um delineamento inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdivididas ao tempo, com cinco tratamentos principais e três controles (3, 6, 9, 12, 15 dias, CA, CR e CJ) e períodos de avaliação como tratamentos secundários (3, 6, 9, 12, 15, 18 e 21 dias). Para todos os testes foi adotado um nível de significância de 0,05. As análises foram realizadas com o software R versão 4.0.5 (R Development Core Team 2021).

RESULTADOS

As maiores taxas de sobrevivência foram observadas nas larvas dos tratamentos T12 e T15 que foram significativamente diferentes ($P < 0,05$) dos tratamentos T3, T6 e CR (Figura 8). Os tratamentos T9 e CA apresentaram taxas de sobrevivência intermediária, e não diferiram do T12 e T15 ($P > 0,05$). A taxa de sobrevivência mais alta foi observada no tratamento T12 (79%) e a mais baixa

no tratamento CR (10%). As larvas que permaneceram em jejum apresentaram mortalidade total ao 9º dia de experimento.

Os valores do fator de condição relativo das larvas dos tratamentos T3, T6, T9 e T12 ficaram próximas a de 1,0 (0,98, 0,96, 0,96, 0,99), enquanto no tratamento CA apresentou valor $>1,0$ (1,23) e nos tratamentos CR e CJ $<1,0$ (0,86 e 0,72, respectivamente) (Figura 8).

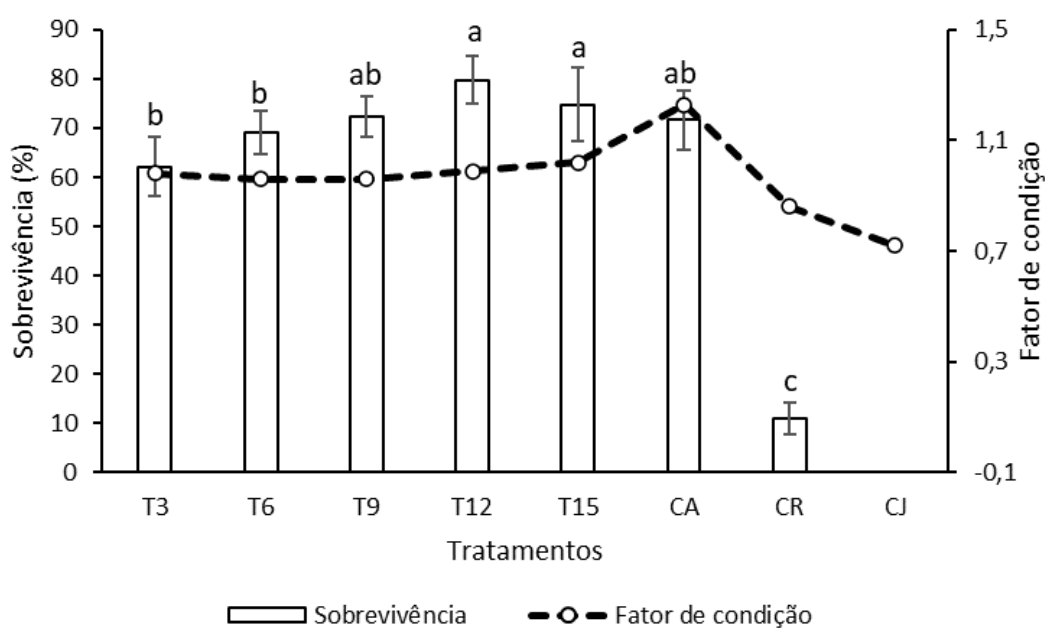


Figura 8. Valores médios de sobrevivência e de fator de condição relativo das larvas de lambari submetidas a diferentes períodos de transição alimentar ao fim do período experimental.

Em geral, as larvas de todos os tratamentos que estavam recebendo alimento vivo apresentaram crescimento contínuo em comprimento total (Tabela 2) e em peso total úmido (Tabela 3) ao longo do experimento. Até a avaliação realizada no 9º dia, não houve diferença de comprimento entre as larvas de todos os tratamentos, exceto as do CJ e CR, que foram menores que as demais ($P < 0,05$) (Tabela 2).

A partir do 12^o dia de avaliação, os resultados de crescimento em comprimento começaram a refletir os efeitos da transição alimentar antecipada, com as larvas do T3 e T6 apresentando médias inferiores que as demais (P<0,05). Essa tendência continuou nas biometrias seguintes e, ao final do experimento, as larvas do controle CA apresentavam-se maiores que as do T15 que eram maiores que as do T12 (P<0,05), e assim sucessivamente, de acordo com o menor tempo de oferecimento de alimento vivo (i.e., da transição alimentar). Pelo número reduzido de larvas nos tratamentos CR e CJ, as biometrias parciais terminaram no 9^o dia, coincidindo com a mortalidade total das larvas no tratamento CJ. No último dia do experimento, as poucas larvas remanescentes do tratamento CR foram avaliadas biometricamente. A mesma tendência de diminuição do peso de acordo com o menor tempo de oferecimento de alimento vivo foi observada em relação ao peso das larvas (Tabela 3), porém observou-se que as larvas do T3 começaram a demonstrar peso inferior que as demais larvas dos tratamentos de transição e do controle já no 9^o dia de avaliação. No final do experimento, o peso das larvas dos tratamentos T12, T15 e CA eram estatisticamente semelhantes (P>0,05).

Tabela 2. Valores médios do comprimento total \pm desvio padrão (mm) de larvas de lambari ao longo do experimento.

Tratamentos	Dias de avaliação							
	3	6	9	12	15	18	21	30
T3	5,8 \pm 0,2 ^{Ha}	7,6 \pm 0,1 ^{Ga}	8,7 \pm 0,2 ^{Fa}	9,5 \pm 0,7 ^{Eb}	11,0 \pm 0,8 ^{Dc}	11,9 \pm 0,5 ^{Cd}	13,4 \pm 0,4 ^{Be}	18,8 \pm 0,9 ^{Ae}
T6	5,6 \pm 0,3 ^{Ga}	7,4 \pm 0,2 ^{Fa}	9,3 \pm 0,3 ^{Ea}	10,1 \pm 0,3 ^{Db}	11,5 \pm 0,2 ^{Cc}	12,8 \pm 1,0 ^{Bc}	12,2 \pm 0,9 ^{Bf}	19,1 \pm 0,7 ^{Ae}
T9	5,5 \pm 0,3 ^{Ha}	7,9 \pm 0,3 ^{Ga}	9,6 \pm 0,6 ^{Fa}	11,4 \pm 0,3 ^{Ea}	12,8 \pm 0,5 ^{Db}	13,7 \pm 0,9 ^{Cc}	15,3 \pm 0,5 ^{Bd}	20,2 \pm 0,8 ^{Ad}
T12	5,8 \pm 0,2 ^{Ha}	7,4 \pm 0,4 ^{Ga}	9,7 \pm 0,3 ^{Fa}	11,3 \pm 0,0 ^{Ea}	13,1 \pm 0,4 ^{Db}	15,1 \pm 1,0 ^{Cb}	16,4 \pm 0,9 ^{Bc}	21,7 \pm 0,8 ^{Ac}
T15	6,0 \pm 0,3 ^{Ha}	7,8 \pm 0,1 ^{Ga}	9,8 \pm 0,3 ^{Fa}	11,6 \pm 0,3 ^{Ea}	14,8 \pm 0,7 ^{Da}	16,9 \pm 0,5 ^{Ca}	18,3 \pm 0,6 ^{Bb}	22,9 \pm 0,4 ^{Ab}
CA	6,0 \pm 0,3 ^{Ha}	7,8 \pm 0,5 ^{Ga}	9,8 \pm 0,2 ^{Fa}	11,7 \pm 0,5 ^{Ea}	14,6 \pm 0,5 ^{Da}	17,1 \pm 1,0 ^{Ca}	19,3 \pm 1,2 ^{Ba}	25,8 \pm 0,4 ^{Aa}
CR	4,5 \pm 0,1 ^{Cb}	5,2 \pm 0,7 ^{Bb}	5,6 \pm 0,5 ^{Bb}	-	-	-	-	16,1 \pm 2,1 ^{Af}
CJ	4,0 \pm 0,2 ^{Ab}	4,1 \pm 0,3 ^{Ac}	4,5 \pm 0,28 ^{Ac}	-	-	-	-	-

Valores médios apresentados com letras diferentes (maiúscula na horizontal e minúscula na vertical) diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

Tabela 3. Valores médios do peso total úmido \pm desvio padrão (mg) de larvas de lambari ao longo do experimento.

Tratamentos	Dias de avaliação							
	3	6	9	12	15	18	21	30
T3	1,8 \pm 0,3 ^{Ga}	3,6 \pm 0,2 ^{Fa}	6,8 \pm 2,3 ^{Eb}	10,5 \pm 1,9 ^{Dc}	13,5 \pm 3,4 ^{Cc}	16,5 \pm 4,3 ^{Cd}	30,8 \pm 4,2 ^{Be}	99,9 \pm 14,0 ^{Ad}
T6	1,9 \pm 0,3 ^{Ga}	4,5 \pm 0,7 ^{Fa}	10,8 \pm 0,9 ^{Ea}	11,8 \pm 0,6 ^{Ec}	16,1 \pm 1,2 ^{Dc}	25,2 \pm 7,7 ^{Cd}	28,7 \pm 11,2 ^{Be}	105,3 \pm 11,4 ^{Ac}
T9	1,7 \pm 0,2 ^{Ha}	5,3 \pm 0,7 ^{Ga}	10,6 \pm 1,2 ^{Fa}	14,4 \pm 2,7 ^{Eb}	23,3 \pm 3,2 ^{Db}	36,3 \pm 7,6 ^{Cc}	46,8 \pm 7,8 ^{Bd}	121,9 \pm 16,9 ^{Ab}
T12	1,7 \pm 0,1 ^{Ha}	5,0 \pm 1,1 ^{Ga}	11,6 \pm 2,4 ^{Fa}	18,1 \pm 0,6 ^{Ea}	31,8 \pm 3,5 ^{Cb}	50,1 \pm 6,7 ^{Bb}	65,0 \pm 11,6 ^{Bc}	142,6 \pm 17,9 ^{Ab}
T15	1,5 \pm 0,1 ^{Ha}	5,4 \pm 0,7 ^{Ga}	10,6 \pm 1,4 ^{Fa}	18,5 \pm 1,7 ^{Ea}	42,3 \pm 6,6 ^{Da}	62,3 \pm 8,5 ^{Ca}	84,0 \pm 13,6 ^{Bb}	159,1 \pm 21,4 ^{Aa}
CA	1,5 \pm 0,1 ^{Ha}	4,6 \pm 0,1 ^{Ga}	11,5 \pm 1,0 ^{Fa}	17,8 \pm 1,1 ^{Ea}	37,9 \pm 5,0 ^{Da}	66,8 \pm 1,5 ^{Ca}	115,8 \pm 28,0 ^{Ba}	163,7 \pm 17,0 ^{Aa}
CR	0,8 \pm 0,1 ^{Cb}	1,1 \pm 0,2 ^{Cb}	1,5 \pm 0,2 ^{Bc}	-	-	-	-	87,70 \pm 43,2 ^{Ad}
CJ	0,8 \pm 0,1 ^{Bb}	0,8 \pm 0,1 ^{Bb}	1,2 \pm 0,1 ^{Ac}	-	-	-	-	-

Valores médios apresentados com letras diferentes (maiúscula na horizontal e minúscula na vertical) diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Na primeira análise da TCE realizada, correspondendo aos 3 primeiros dias de alimentação ativa, as larvas de todos os tratamentos que recebiam alimento vivo apresentavam taxas altas, variando entre 30% e 35% (Figura 9). Entre os dias 3 e 6, a maioria dos tratamentos mantém ou aumenta ligeiramente essa taxa, exceto os tratamentos T3 e T6, que apresentaram queda. Dos dias 6 a 9, ocorre uma queda acentuada em todos os tratamentos, atingindo um ponto mínimo entre os dias 9 e 12, em que as taxas de crescimento caem abaixo de 20%.

Após esse período, entre os dias 12 e 15, observou-se uma recuperação, especialmente em T6 e T15. Nos dias 15 a 18, a maioria dos tratamentos continuou a recuperação, embora T6 tenha apresentado outra queda. De 18 a 21 dias, há novas oscilações, com alguns tratamentos subindo ligeiramente e outros caindo novamente. No período final de 21 a 30 dias, as taxas de crescimento tenderam a se estabilizar entre 5% e 15% (Figura 9). As larvas dos tratamentos CR e CJ apresentaram TCE abaixo de 10% ao dia até o 9º dia de avaliação.

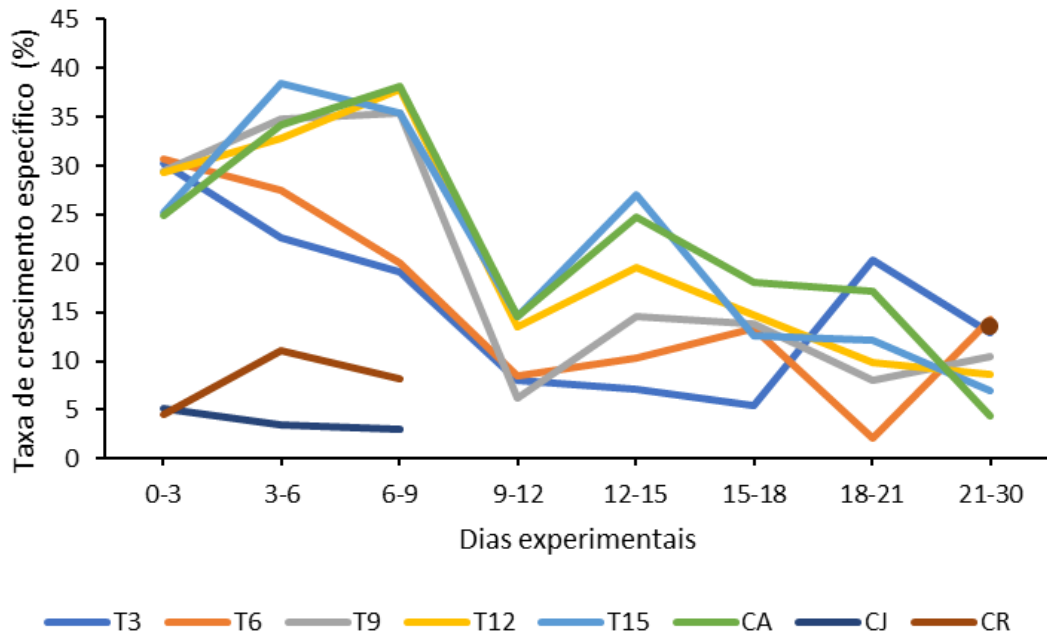


Figura 9. Valores médios de taxa de crescimento específico (% peso/dia) de larvas de lambari ao longo de 30 dias.

A análise da distribuição de frequência dos peixes em classes de tamanho revelou padrões distintos entre as larvas dos diferentes tratamentos experimentais. Notavelmente, as larvas do CJ destacaram-se na classe PP, indicando uma predominância de larvas muito pequenas (100%) (Figura 10). As dos tratamentos T3 e T6 apresentaram maiores frequências na classe P (31,4 e 31,2%, respectivamente), demonstrando que resultaram em larvas de tamanho pequeno ao término do experimento.

Por outro lado, houve maior incidência das larvas do T12 nas classes média (42,6%) e grande (49,6%) (Figura 10). As larvas do CA se destacaram por exibir uma maior frequência na classe G (56,5%) e também na M (33,3%). Vale ressaltar que as larvas do CR foram significativamente distribuídas nas classes P (50,6%) e algumas na GG (5,4%), possivelmente relacionadas ao canibalismo intraespecífico que favoreceu o crescimento destacado das canibais (Figura 11).

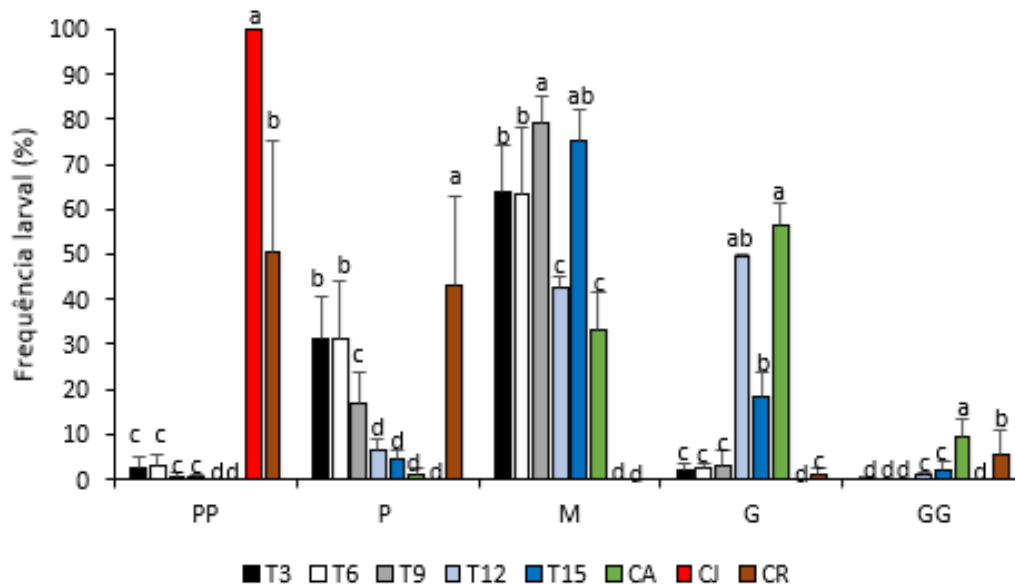


Figura 10. Distribuição de frequência do comprimento total das larvas de lambari de cada tratamento de diferentes períodos de transição alimentar em cinco classes de tamanho, ao fim do período experimental PP = super-pequena (< 13,96 mm); P = pequena (13,97 a 17, 74 mm); M = média (17,75 a 25,30 mm); G = grande (25,31a 29,07 mm); GG = extra-grande (> 29,07mm).



Figura 11. Canibalismo intraespecífico em larvas de lambari submetidas ao controle somente com ração. Fonte: (o autor)

Ao analisar o uso dos náuplios de artêmia, foi possível observar uma relação diretamente proporcional entre o valor gasto entre os tratamentos T3 (R\$ 20,57) a T15 (R\$ 137,14), demonstrando claramente que quanto maior o período de utilização de alimento vivo maior é o custo associado (Figura 12). O

tratamento controle positivo, com o oferecimento de alimento vivo por 30 dias elevou sensivelmente o valor gasto (R\$ 308,00).

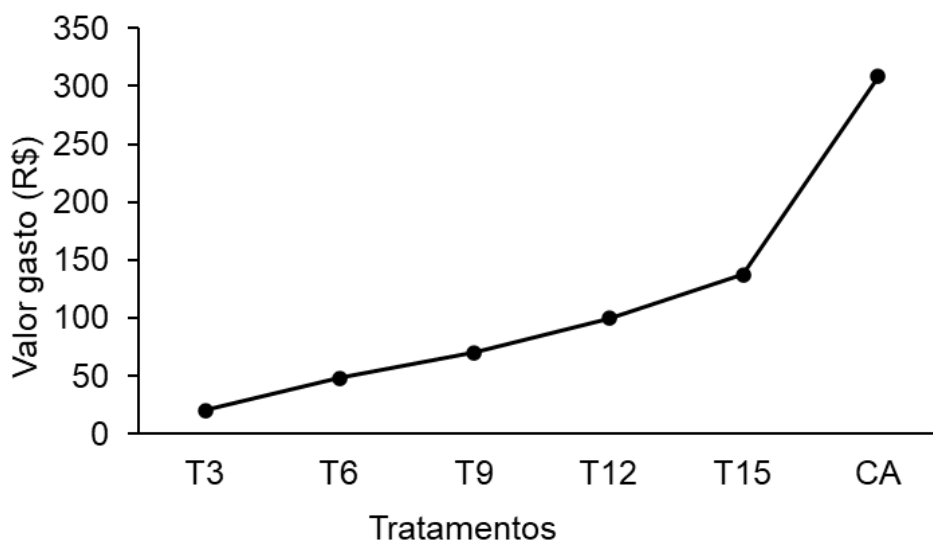


Figura 12. Valores gastos com uso de náuplios de artêmia por tratamento durante o período experimental de 30 dias de larvicultura de lambari (*Astyanax lacustris*).

As larvas de lambari eclodiram com o tubo digestivo ainda em processo de diferenciação, apresentando uma reserva vitelina com volume de aproximadamente $0,16 \pm 0,02 \text{ mm}^2$. Inicialmente, tanto a boca quanto o ânus estavam fechados. O tubo digestivo incipiente estava localizado dorsalmente ao saco vitelino e era composto por um epitélio colunar simples (Figura 13).

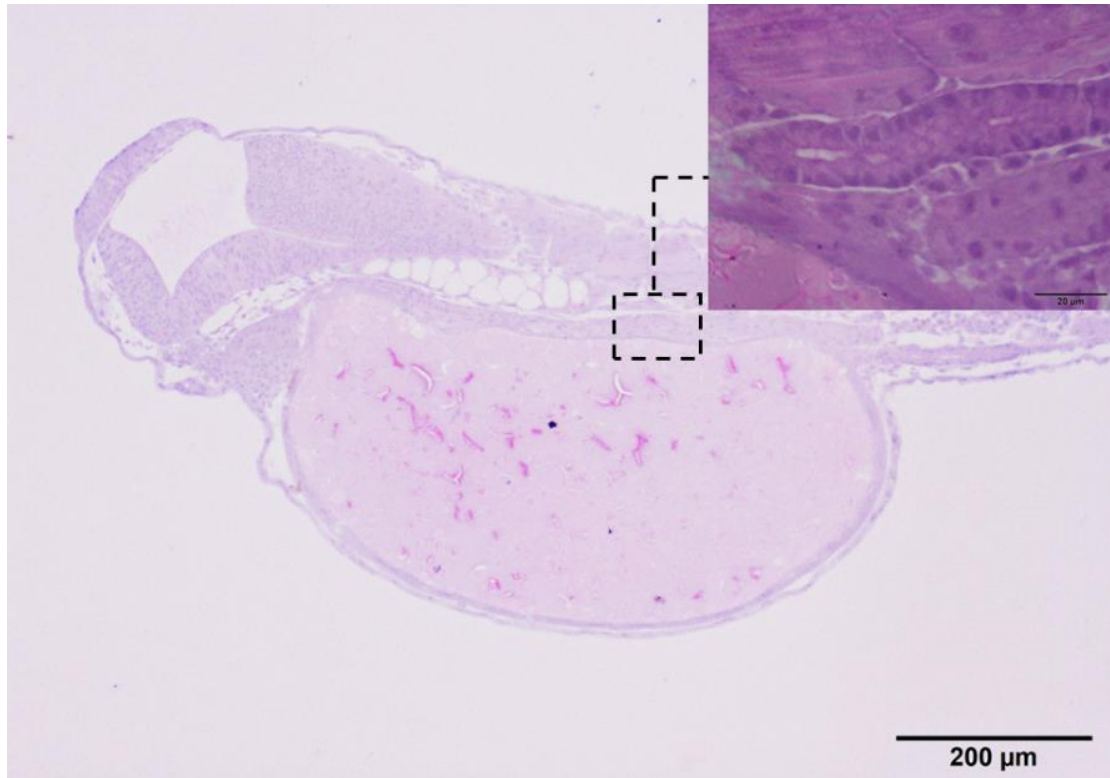


Figura 13. Corte histológico de uma larva de lambari recém-eclodida, mostrando o tubo digestivo incipiente situado dorsalmente ao saco vitelino. A estrutura é composta por epitélio colunar monoestratificado.

As larvas coletadas aos 2 dpe apresentavam reserva vitelina de área de aproximadamente $0,09 \pm 0,01 \text{ mm}^2$ (Figura 14). As com 4 dpe já não apresentavam mais reserva vitelina (Figura 15). Nos dois casos, foram observados tubo digestivo com um lúmen estreito, quatro arcos branquiais na cavidade bucofaríngea (Figura 14A), além da presença de grânulos de zimogênio no tecido pancreático (Figura 14B). O intestino era revestido por epitélio colunar simples com núcleo basal, citoplasma basófilo e borda em escova (Figura 15A). No fígado, os hepatócitos estavam organizados em cordões e tinham núcleos centrais, com áreas que reagiram ao PAS indicando a presença de glicogênio (Figura 15C). As células pancreáticas apresentaram núcleos localizados mais na base e citoplasma com grânulos de zimogênio (Figura 15D).

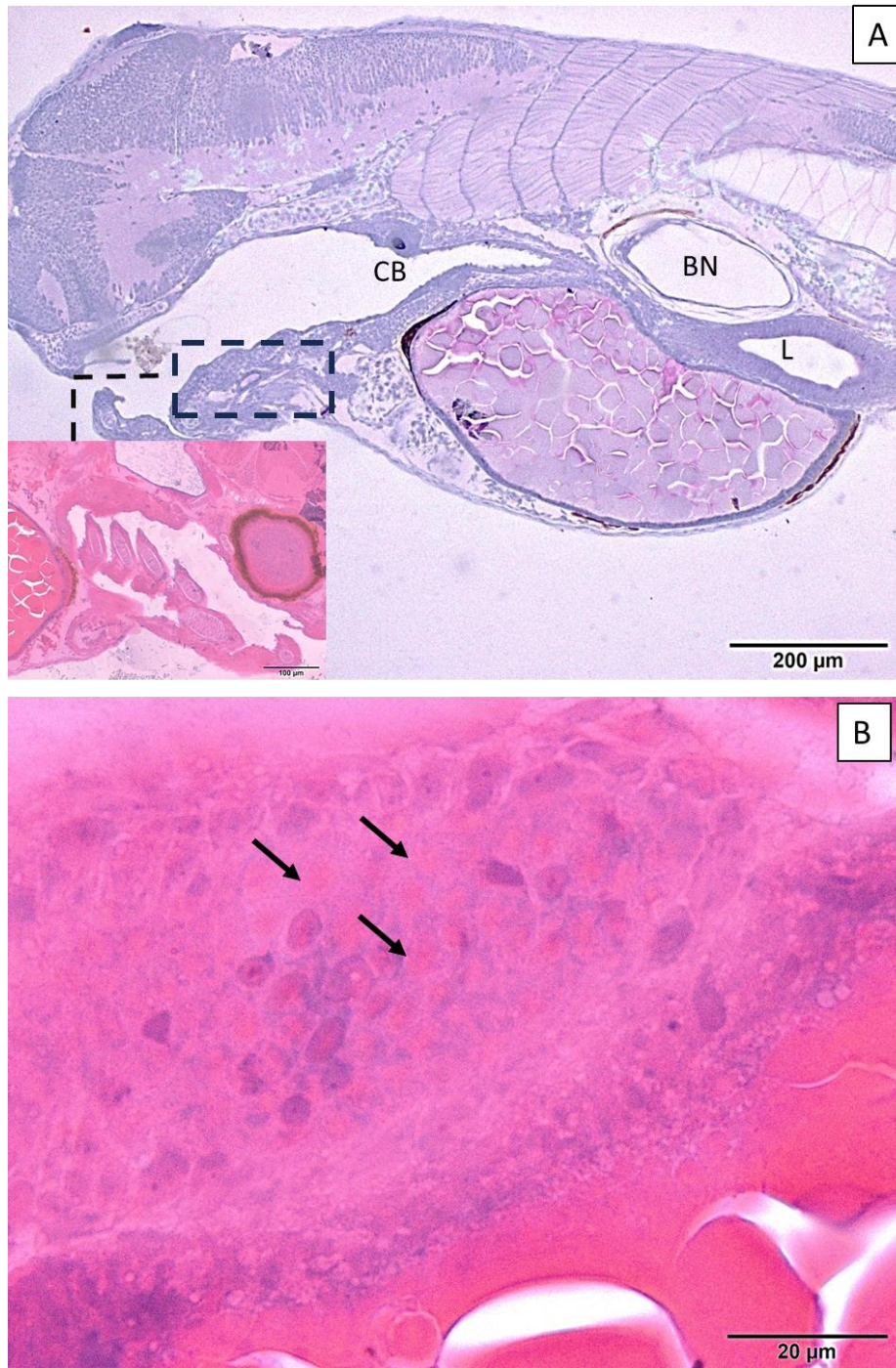


Figura 14. (A) Larvas de lambari com 2 dias pós a eclosão com trato digestório linear e com abertura da boca e ânus e lúmen (L) no tubo digestivo. Notar a formação dos arcos branquiais (inserto) na cavidade bucofaríngea (CB) e a bexiga natatória inflada (BN). (B) Pâncreas exócrino, com células pancreáticas com núcleos basais e grânulos de zimogênio refringentes (seta). Colorações: HF (A); EOF (B).

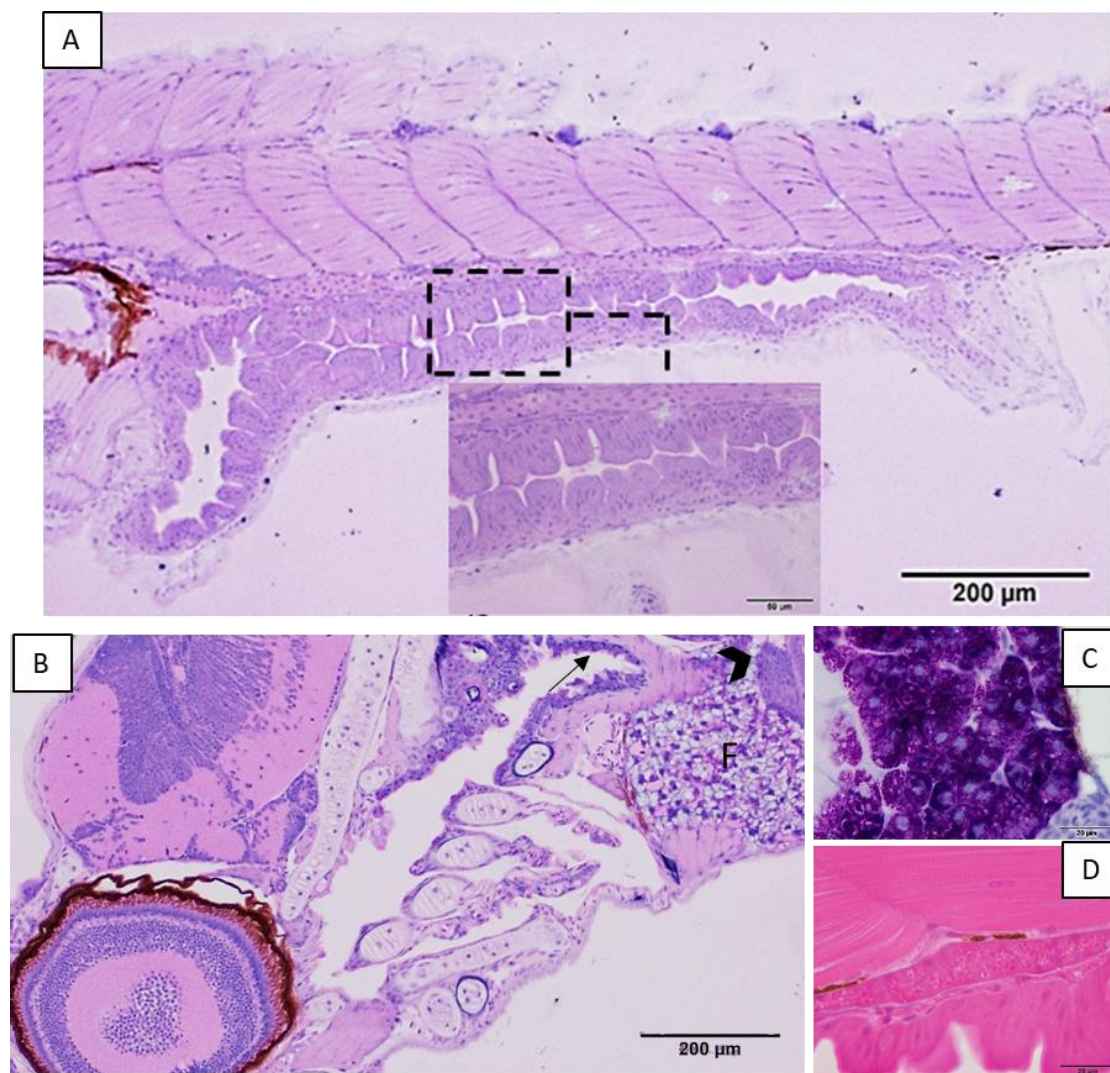


Figura 15. (A) Larvas de lambari com 4 dias após a eclosão, exibindo trato digestório linear e histologicamente ainda indiferenciado, mas já apresentando dobras no epitélio. (B) Detalhe da cavidade bucofaríngea com quatro arcos branquiais, fígado diferenciado com aspecto vacuolizado (F), pâncreas diferenciado (seta curta) e presença de células mucosas no epitélio (seta). (C) Visão do fígado com depósitos de glicogênio. (D) Células pancreáticas com grânulos de zimogênio. Colorações: HF (A, B); PAS-H (C); EOF (D).

No 6º dia do experimento, as larvas do T6 mediam em média 7,4 mm e pesavam 4,5 mg, e ainda eram alimentadas com náuplios de artêmia, assim como as do T9, T12, T15. CA. Nessa fase, o estômago estava em início de processo de diferenciação, evidenciado pelo alargamento da parte posterior do

esôfago e pelo espessamento das suas paredes (Figura 16A). A válvula ileorretal, formada pela constrição da mucosa intestinal, dividia o intestino em partes anterior e posterior, com o reto sendo revestido por epitélio colunar simples (Figura 16A). O intestino das larvas do T6 antes da transição alimentar apresentava um lúmen mais amplo, permanecendo retilíneo ao longo de sua extensão, sem alças ou enovelamentos, mas com a presença de células de polissacarídeos neutros e ácidos (Figura 16B). Adicionalmente, o tecido pancreático exibiu grânulos de zimogênio (Figura 16D).

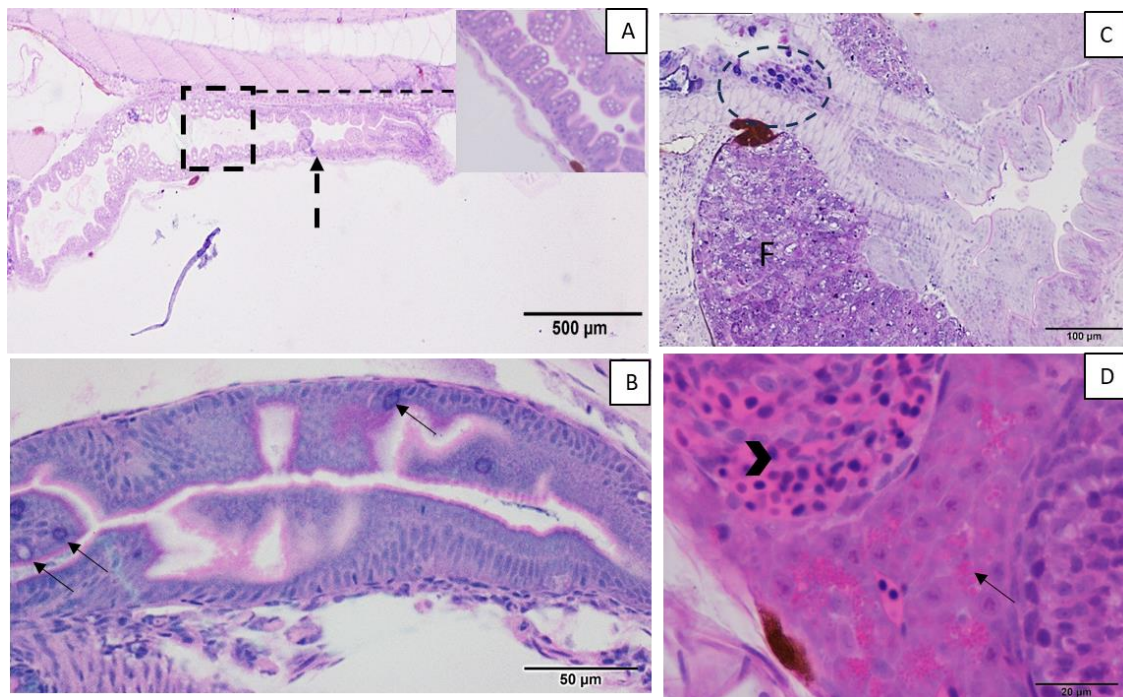


Figura 16. Larvas com 6 dias experimentais (T6) antes da transição alimentar. (A) Formação da válvula ileorretal (seta pontilhada), intestino ainda retilíneo, exibindo vesículas absortivas (inserto) nos enterócitos. (B) Presença de células caliciformes secretoras de polissacarídeos neutros e ácidos (seta) (C) Alargamento da região posterior ao esôfago, com a presença de células mucosas (círculo pontilhado). (D) Células pancreáticas com grânulos de zimogênio (seta longa), com vasos sanguíneos (seta curta). F: fígado. Colorações: HF (A); AB 2,5-PAS-H (B,C); EOF (D).

Ao 9º dia, as larvas de lambari do tratamento T9, que iniciariam a transição alimentar, demonstravam o estômago bem diferenciado, com

espessamento da parede muscular e um grande número de glândulas gástricas e células mucosas (Figura 17 e 17A₁). As dobras intestinais continham células caliciformes de polissacarídeos neutros (Figura 17C). Além disso, observou-se o desenvolvimento dos cecos pilóricos, indicando um avanço significativo na maturação do trato digestivo e um aumento notável no tecido pancreático (Figura 17A₁), acompanhado de um crescimento do tecido hepático com granulações de glicogênio (Figura 17B).

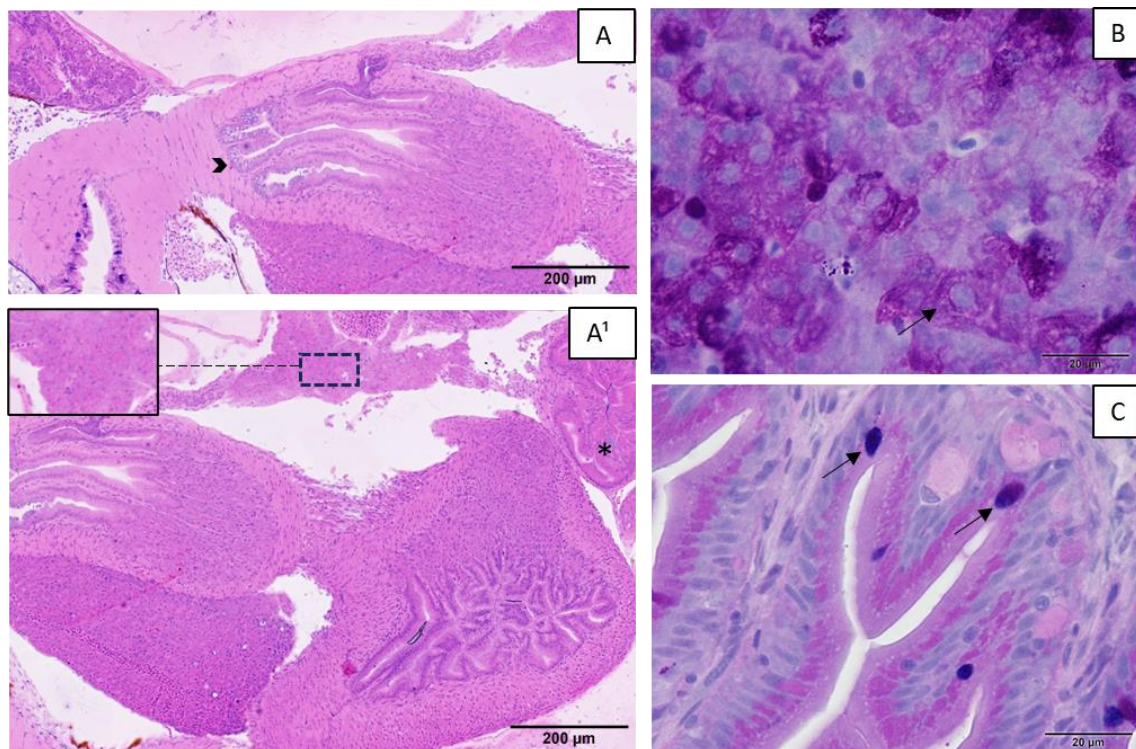


Figura 17. Secções histológicas de larvas de lambari do T9 ao início da transição alimentar. (A) Região de transição entre esôfago e estômago, evidenciando muitas glândulas gástricas na região glandular do estômago, próximo do esfíncter esofágico e células mucosas na região pilórica (seta curta). (A₁) Estômago completo, pâncreas com granulações de zimogênio no tecido pancreático (inserto) e cecos pilóricos em formação (asterisco) (B) Hepatócitos com depósitos de glicogênio (seta). (C) Dobras intestinais com células caliciformes secretoras de polissacarídeos neutros (seta). Colorações HF(A); PAS-H (B), AB 2,5-PAS-H (C).

No início da transição alimentar das larvas do T12, elas já possuíam uma média de comprimento total de 12,3 (mm) e de peso total úmido de 18,1 (mg) Nessa fase, as larvas apresentavam o estômago completamente formado com duas regiões uma cardíaca, glandular, e outra pilórica, aglandular (Figura 18A). Foi notado desenvolvimento mais avançado dos cecos pilóricos, com a presença de células caliciformes contendo polissacarídeos neutros (Figura 18C). Além disso, houve um aumento notável do número de células mucosas (Figura 18B). Adicionalmente, foi observado aumento do tecido hepático das larvas, caracterizado por intensificação das granulações de glicogênio reativas ao PAS (Figura 18D).

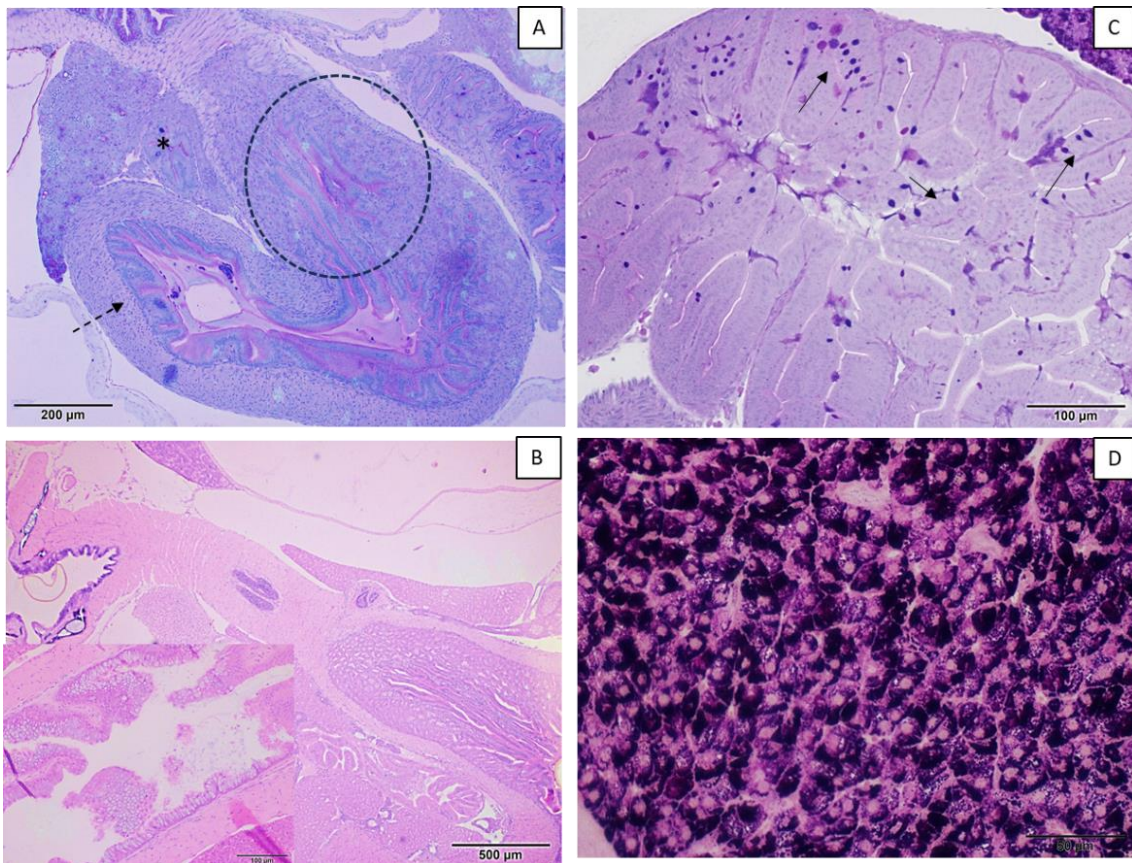


Figura 18. Secções histológicas de larvas de lambari do T12 ao início da transição alimentar. (A) Estômago completo com regiões pilórica (seta pontilhada) e cardíaca (círculo pontilhado) diferenciadas e cecos pilóricos (asterisco).(B) Região final da bucofaringéa (quadrado pontilhado), com o início do esôfago (C) Cecos pilóricos formados com células caliciformes secretoras de polissacarídeos neutros (seta) (D) Fígado com depósitos de glicogênio

intensamente corado pelo PAS. Colorações: AB 2,5-PAS-H (A,C), HF (B), PAS-H (D).

Ao 12º dia de experimentação, observou-se que as larvas dos tratamentos T3 e T6 apresentavam diferenças morfológicas significativas. As larvas do T3 ainda exibiam um estômago presuntivo, indicando que não estavam aptas a receber alimentação inerte, enquanto as larvas do T6 já possuíam um estômago desenvolvido, com regiões glandular e aglandular, sugerindo um desenvolvimento mais avançado.

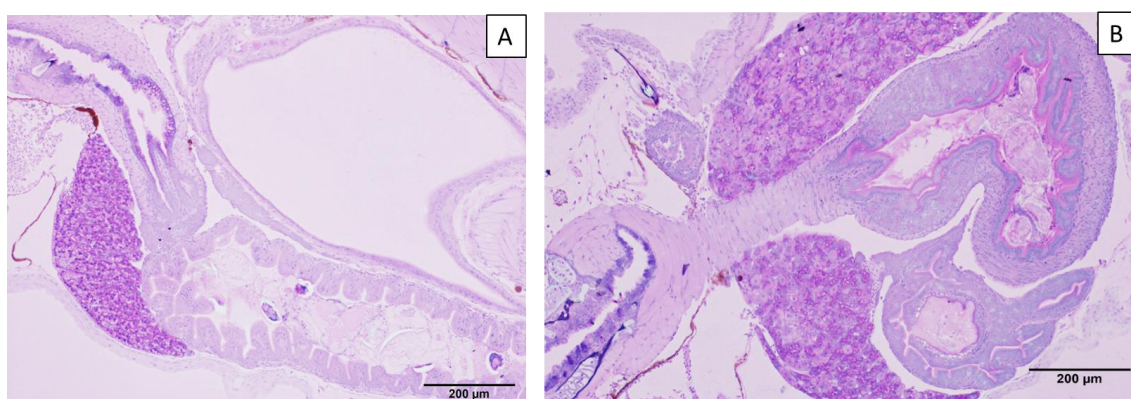


Figura 19. Secções de larvas do tratamento T3 (A), com estômago presuntivo e T6 (B) com estômago com região glandular aglandular e aumento hepático, larvas coletadas ao 12º dia de experimentação.

Ao 3º dia de jejum, as larvas de lambari já apresentavam um alargamento da região posterior ao esôfago, indicando o início do desenvolvimento do estômago (Figura 19A). Além disso, foi observado um pâncreas pequeno, mas com finas granulações de zimogênio (Figura 19C), sugerindo a presença de pró enzimas digestivas em formação. No 6º dia, as larvas permaneciam morfológicamente semelhantes ao 3º dia (Figura 19B). Já ao 8º dia de jejum, um dia antes de todas as larvas morrerem, as larvas não apresentavam mais dobras intestinais, resultando em um tubo digestivo plano (Figura 19D).

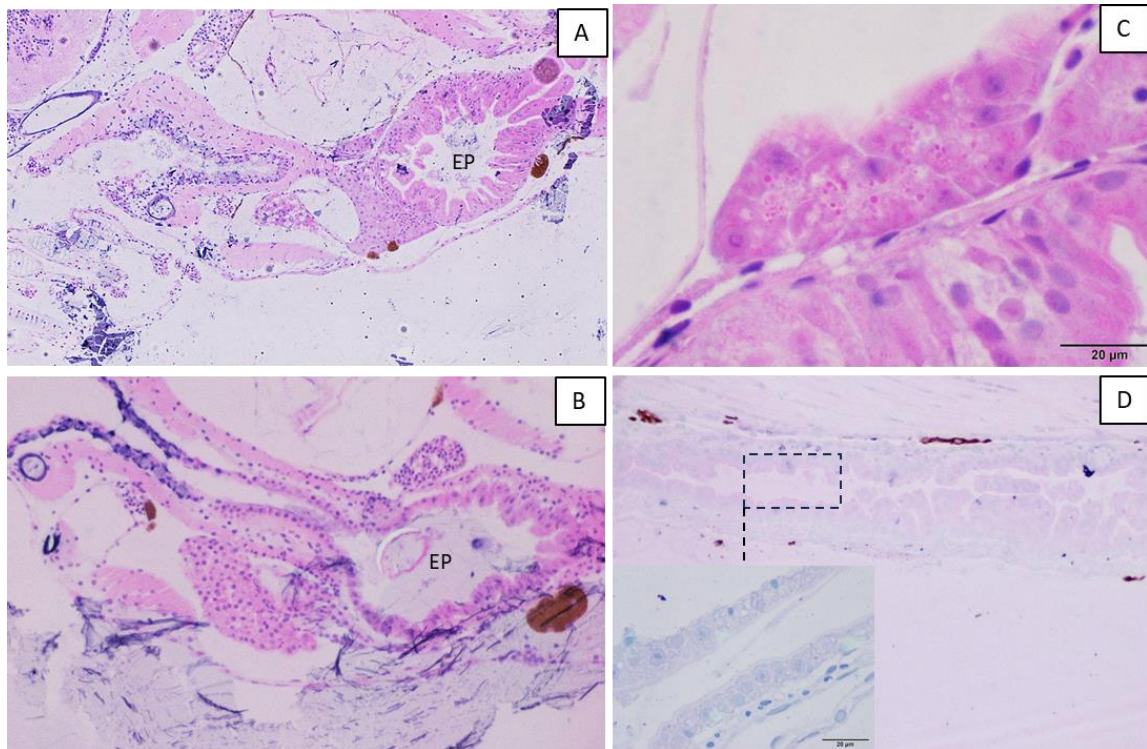


Figura 20. Secções histológicas das larvas de lambari que permaneceram em jejum. (A) Larvas com 3 dias em jejum com a formação do estômago presuntivo (seta pontilhada (B) Larvas 6 dias em jejum com estômago presuntivo e com a diminuição das dobras intestinais. (C) Larvas com 3 dias em jejum com o tecido pancreático com grânulos de zimogênio, com núcleo em estágio picnótico. (D) Larvas com 8 dias de jejum apresentam diminuição das dobras intestinais, e tubo digestivo plano (inserto).EP- Estômago presuntivo. Colorações: HF (A, B); EOF (C), AB 2,5-PAS-H (D).

Aos 3 dias de alimentação com ração, as larvas de lambari apresentaram alargamento da região posterior ao esôfago (Figura 20A), com a presença de pâncreas contendo finas granulações de zimogênio. No 6º dia, as larvas mantiveram essas características, mas começaram a apresentar degradação das vilosidades intestinais (Figura 20B). Já ao 8º dia (um dia antes da mortalidade total das larvas em jejum), as larvas CR apresentavam diminuição das dobras intestinais (Figura 20C). Quando as larvas de lambari foram alimentadas por 9 dias com ração formulada, observou-se uma redução no arranjo estrutural das células pancreáticas (Figura 20D).

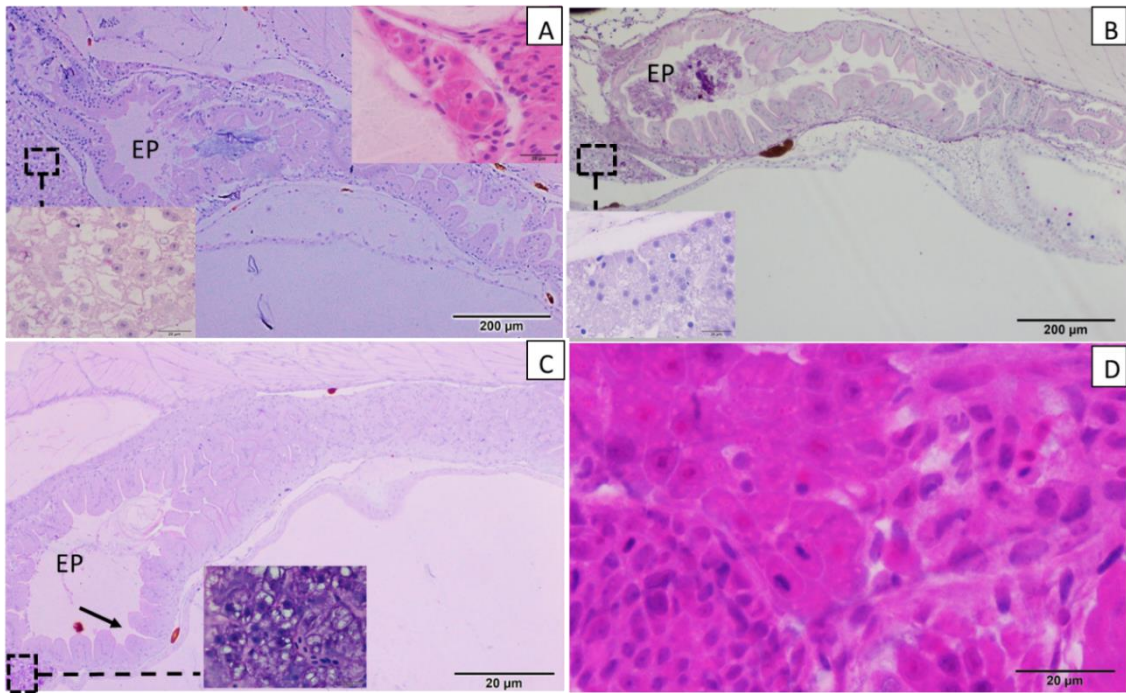


Figura 21 .Secções histológicas das larvas de lambari que foram alimentadas exclusivamente com ração. (A) Larvas com 3 dias alimentadas com ração com formação do estômago presuntivo (EP) (B) Larvas 6 dias alimentadas com ração com estômago presuntivo, mas com diminuição das dobras intestinais (C) Larvas com 9 dias alimentadas com ração com estômago presuntivo, com diminuição das dobras intestinais e vacuolização no fígado. (D) Larvas com 9 dias alimentadas com ração apresentavam redução do arranjo estrutural acinar das células pancreáticas. Colorações: HF (A, B e C); EOF (D).

DISCUSSÃO

Apesar de não ser uma das espécies mais amplamente cultivadas e estudadas na América do Sul, o lambari possui um considerável potencial de crescimento na aquicultura (Martins *et al.*, 2023). Além disso, têm-se obtido informações sistemáticas sobre o seu desenvolvimento inicial e osteológico (Hiromoto, 2021; Stevanato *et al.* 2018). Para contribuir com informações que embasem protocolos adequados de criação das larvas, analisamos os efeitos relacionados à transição alimentar durante a larvicultura de *Astyanax lacustris*.

A sobrevivência das larvas é um dos principais indicadores de sucesso na larvicultura. No presente estudo, a mortalidade total no grupo de controle submetido ao jejum foi observada ao final de 9 dias sem alimentação. Esse período é significativamente menor do que o registrado em estudos anteriores com uma espécie filogeneticamente similar, o pacu, onde a mortalidade foi documentada apenas após 11 dias de privação alimentar (Freitas, 2015). Essa diferença pode ser atribuída ao fato de que, após a abertura da boca e declínio das reservas energéticas, se a larva não encontrar alimento adequado e suficiente, os efeitos da restrição alimentar tendem a ser mais drásticos em larvas do que em juvenis, devido às baixas reservas energéticas presentes nas fases iniciais de vida (Wang et al., 2017; Gong et al., 2017).

Neste estudo, foi observado que, apesar das larvas do tratamento T12 receberem menos náuplios de artêmia em comparação ao controle (CA), este foi o tratamento que resultou em maior taxa de sobrevivência. Entretanto, as larvas do T12 apresentaram fator de condição relativo menor em comparação ao controle (CA), o que pode ser atribuído ao maior peso médio das larvas alimentadas somente com artêmia. Esse resultado corrobora o estudo de Süzer et al. (2011), que observaram diferentes períodos de transição alimentar na larvicultura de *Dicentrarchus labrax* e constataram que a sobrevivência das larvas no controle, alimentadas exclusivamente com náuplios de artêmia durante 40 dias, foi significativamente menor do que a das larvas alimentadas com náuplios de artêmia até o dia 25, com posterior transição alimentar. A semelhança entre esses resultados sugere que o período de fornecimento de artêmia pode influenciar significativamente a sobrevivência das larvas. A menor quantidade de náuplios de artêmia pode reduzir o risco de problemas associados ao excesso de alimentação, como o acúmulo de resíduos orgânicos no ambiente de cultivo, que pode deteriorar a qualidade da água e aumentar a mortalidade (Sorgeloos et al., 2001; Madkour et al., 2022), embora não tenha sido observado problemas desse tipo no presente experimento. Por outro lado, em condições de maior densidade de estocagem, consequência de maior taxa de sobrevivência como observado em T12, a taxa de crescimento tende a ser menor em razão da disponibilidade alimentar, já que o número de náuplios fornecido é relativo ao número de larvas iniciais.

Ao comparar os resultados de comprimento total (CT) e peso total úmido, foi possível observar que o CA (controle alimentado exclusivamente com náuplios de artêmia) proporcionou os melhores resultados em termos de crescimento. Esse desempenho superior pode ser atribuído ao aumento expressivo do número de náuplios fornecidos a essas larvas na fase em que as larvas dos tratamentos T12 e T15 estavam transitando para o alimento formulado. Ainda assim, as larvas dos tratamentos T12 e T15 também se destacaram em peso final, demonstrando que a estratégia de transição alimentar foi tão eficaz quanto a alimentação contínua com náuplios de artêmia. Como observado por Kestemont et al. (2007), que estudaram diferentes períodos de transição alimentar em larvas de *Sander lucioperca*, foi constatado que as larvas alimentadas com náuplios de artêmia por 8 dias apresentaram crescimento em peso e comprimento equivalente às larvas que foram alimentadas com náuplios de artêmia por 18 dias. Os autores concluíram que as larvas alimentadas por 8 dias já possuíam uma capacidade digestiva adequada para assimilar nutrientes da alimentação artificial.

Em contrapartida, os tratamentos T3 e T6, embora tenham promovido um crescimento considerável ao longo do experimento, resultaram em valores de desempenho zootécnico e sobrevivência inferiores aos de T12, T15 e CA. Esses dados sugerem que, a alimentação com náuplios de artêmia durante 3 ou 6 dias não favorece um crescimento ótimo para o lambari. Conforme observado por Cahu e Zambonino Infante (2001), a introdução precoce de alimentação formulada no início da fase de alimentação exógena pode atrasar o processo de maturação do trato digestório. Além disso, uma dieta inadequada durante esta fase pode impedir completamente o desenvolvimento, resultando na mortalidade das larvas

No que diz respeito ao crescimento das larvas, a taxa de crescimento específico (TCE) é um indicador importante para avaliação do desempenho das larvas na larvicultura, refletindo a eficiência de conversão alimentar. Nos três primeiros dias de alimentação, todas as larvas apresentaram TCE altas, variando entre 30% e 35%. Este início promissor pode ser atribuído à abundância de alimento disponível e à alta taxa metabólica das larvas nesse estágio inicial (Bell

et al., 2003). O aumento ligeiro do TCE entre os dias 3 e 6 na maioria dos tratamentos, exceto T3 e T6, sugere que a maioria das larvas continuaram a se beneficiar da alimentação viva. A queda observada em T3 e T6 durante este período pode indicar uma resposta ao início da transição alimentar precoce. Entre os dias 12 e 15, especialmente nos tratamentos T12, T15 e no grupo controle (CA), observou-se um ligeiro aumento da TCE. Esse aumento pode ser atribuído à alta quantidade de náuplios de artêmia fornecida durante este período, conforme descrito nos materiais e métodos deste estudo. No entanto, essa superalimentação de náuplios de artêmia destaca claramente a necessidade de revisar o protocolo adotado para assegurar uma distribuição mais uniforme e controlada do alimento ao longo do crescimento das larvas. Estudos anteriores destacaram que o excesso de alimento vivo pode ser prejudicial à saúde dos peixes (Zuanon et al., 2011; Igwaran et al., 2024), bem como aumentar os custos relacionados à atividade alimentar (Jomori et al., 2005). Este último aspecto corrobora os resultados deste estudo, destacando os custos associados à alimentação com artêmia durante o cultivo das larvas. Além disso, o excesso de oferta de náuplios de artêmia pode promover a deterioração da qualidade da água, uma vez que apresentam rápida mortalidade em água doce (Santos et al., 2015). Com isso, é essencial garantir que a quantidade de náuplios de artêmia fornecida seja ajustada de forma adequada para evitar flutuações drásticas no crescimento das larvas.

Para a distribuição de comprimento, foi possível observar que as larvas dos tratamentos T12, T15 e CA apresentaram uma distribuição unimodal com tendência para a direita, indicando uma predominância de larvas de tamanho maior (classes M e G). Em contraste, nos tratamentos T3 e T6 predominaram as classes P e M. Esses padrões refletem os prejuízos no crescimento durante a transição alimentar, evidenciando a influência significativa dessa fase crítica no desenvolvimento das larvas. Esse resultado também foi observado por Freitas (2015) ao avaliar a transição alimentar em larvas de pacu, em que as larvas submetidas a transição alimentar precoce apresentaram uma proporção maior de larvas na classe P, em comparação com as larvas que passaram por transição alimentar tardia, com maior proporção de larvas na classe M.

No entanto, apesar das larvas do CR apresentarem prejuízos no crescimento, houve aparecimento de indivíduos na classe GG, podendo ser o resultado de problemas associados à falta de alimento adequado, que levaram à competição alimentar e incidência de canibalismo durante os primeiros dias de alimentação (Nakayama et al, 2010; Ward et al., 2006). O canibalismo é muito facilitado pela heterogeneidade de tamanho, que, por outro lado, é aumentada devido ao canibalismo, uma vez que os peixes menores são consumidos pelos maiores e que com isso crescem mais e aumentam a heterogeneidade de tamanho (Hecht et al., 1993) . Assim, larvas mais fracas e moribundas podem ter sido ingeridas por larvas em melhores condições, o que pode ter sido determinante para um crescimento diferenciado, resultando em larvas excepcionalmente grandes nesse tratamento.

Atividade de canibalismo já foi observada em espécimes adultos de *Astyanax dolinae*; no entanto, essa é uma condição muito excepcional dentro do gênero *Astyanax*, pois a maioria das espécies é onívora generalista (Villela et al., 2002; Wolff et al., 2009; Leite et al., 2021). Porém os autores afirmaram que o canibalismo pode estar relacionado à escassez de alimento. Em populações isoladas de peixes, o canibalismo é mais comum durante os períodos em que os alimentos são mais escassos (Persson et al., 2000; Pereira et al., 2017). Em relação à espécie estudada, produtores comerciais de *A. lacustris* relataram o canibalismo nas fases iniciais como um dos maiores problemas para o ciclo produtivo da espécie (Ricardo Edoli, com. pes).

Inicialmente após a eclosão, as larvas de lambari apresentaram o trato digestório formado por tubo retilíneo e histologicamente indiferenciado, semelhante ao observado na maioria das larvas altriciais de água doce (Portella et al. 2014) e marinhas (Zambonino-Infante e Cahu 2001; Lazo et al. 2011). O pâncreas foi visualizado 2 dias pós-eclosão (dpe), porém as células ainda não demonstravam organização acinar.

Durante a fase de 2 a 4 dpe, observaram-se mudanças morfológicas significativas, e isso indica que os nutrientes do vitelo foram usados

principalmente para a diferenciação e o desenvolvimento das estruturas larvais. No final da fase larval vitelina, as larvas já apresentavam cavidade bucofaríngea e esôfago formados, além de um intestino em estágio avançado de maturação, com os primeiros enterócitos com borda em escova. O fígado das larvas acumulou reservas de glicogênio antes mesmo da primeira alimentação exógena, um fenômeno também observado por Sarasquete et al. (1995) em larvas de *Sparus aurata*. Durante o período de nutrição endotrófica, os sistemas digestório, muscular, sensorial, circulatório e respiratório sofrem mudanças significativas para atender às demandas funcionais da primeira alimentação exógena (Holt 2011).

Em larvas de lambari, a fase mixotrófica é breve, conforme observado no presente estudo e em outras espécies de peixes reofílicos nativos (Portella e Dabrowski 2008, Portella et al. 2012). Nas condições experimentais do presente estudo, essa fase durou aproximadamente três dias, iniciando-se no momento em que as larvas já apresentavam boca e ânus abertos, permitindo alimentação direta com náuplios de artêmia. Também foi observado que as larvas nessa fase ainda exibiam resíduos macroscopicamente visíveis de vitelo, que puderam ser observados também em cortes histológicos de larvas com 4 dpe.

No presente estudo, observou-se que ao 4 dpe, a região distal do esôfago apresentou uma proliferação significativa de células mucosas secretoras de polissacarídeos neutros, mesmo depois do início da alimentação exógena. Da mesma forma, em larvas de *Pseudosciaena crocea* (Mai et al., 2005), *Diplodus puntazzo* (Micale et al., 2008) e *Atractosteus tristoechus* (Comabella et al., 2013), células mucosas também foram observadas em sincronia com a abertura da boca e o início da alimentação exógena. No entanto, é importante notar que o momento exato em que as células mucosas aparecem pode variar significativamente entre as espécies de peixes. Em algumas, como em larvas de *Sparus aurata* (Elbal et al., 2004), *Oplegnathus fasciatus* (He et al., 2011) e *Amphiprion ocellaris* (Murray et al., 2023) essas células podem surgir posteriormente, mesmo após o início da alimentação exógena, mostrando a diversidade nos processos de desenvolvimento digestivo inicial entre diferentes espécies de peixes.

Nas condições experimentais, foi possível observar que mesmo sendo fornecido alimento vivo durante os 3 e 6 dias de alimentação exógena, as larvas ainda não estavam suficientemente aptas a aproveitarem eficientemente o alimento inerte, pois os resultados de todas as variáveis de crescimento, e análises histológicas e histoquímicas dessas larvas foram semelhantes ao controle que recebeu exclusivamente alimento inerte (CR). Essas larvas possuíam ainda estômago indiferenciado, no entanto já com células secretoras de polissacarídeos neutros na região anterior do tubo digestivo. As células mucosas do esôfago produzem polissacarídeos neutros que ajudam na digestão dos alimentos, transformando-os em quimo e absorvendo substâncias como dissacarídeos e ácidos graxos de cadeia curta (Govoni et al., 1986, Sarasquete et al., 2001, Lazo et al., 2011, Jalali et al. , 2019). Além disso, essas células agem como lubrificantes, protegendo a mucosa do esôfago contra danos causados pela ingestão de alimento durante a deglutição.

Apesar do avanço morfológico observado nas larvas nesse estudo, a redução do desempenho de crescimento e sobrevivência (verificada nos tratamentos T3, T6, CR e CJ) é claramente devido ao curto período de disponibilidade de alimento vivo ou à ausência desse tipo de alimento. Isso provavelmente levou as larvas a utilizar energia endógena para processos metabólicos básicos, em vez de direcioná-la para o crescimento corporal (Rønnestad et al., 1999, Xu et al., 2023).

No presente estudo, observou-se que o intestino das larvas se degradava progressivamente à medida que o período de jejum aumentava, tornando-se visivelmente plano após 8 dias. Essa consequência da deficiência alimentar já foi relatada anteriormente em outras espécies como, por exemplo, em larvas de *Paralichthys californicus* (Gisbert et al., 2004) que também apresentaram intestino plano após 7 dias de jejum. Similarmente, em larvas de *Acipenser medirostris* aos 13 dias de jejum (Gisbert et al., 2004) e em *Odontesthes bonariensis* aos 4 dias de jejum (Strussmann, 1989), as quais exibiram o mesmo padrão de degradação intestinal. De acordo com Dabrowski et al. (1986), a proteólise da mucosa intestinal é uma resposta à fome, com isso a degeneração dos enterócitos implica uma redução da área de superfície de absorção de

nutrientes, comprometendo a capacidade digestiva de realimentação das larvas e afetando diretamente seu crescimento e sobrevivência. Apesar de haver diferenças interespecíficas de tempo para mortalidade devido ao jejum em diferentes espécies, a resistência das larvas ao jejum pode variar de acordo com o estágio de desenvolvimento e espécie (Holt, 2011), qualidade dos ovos, (Galo et al., 2008) e temperatura (Shan et al., 2008; Yanagitsuru et al., 2021).

As larvas submetidas apenas à alimentação com ração apresentaram um desenvolvimento morfológico semelhante ao das larvas em jejum. O mesmo também foi observado por Freitas (2015), que submeteu larvas de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) à transição alimentar, e observou que as larvas alimentadas somente com ração apresentaram prejuízo no desenvolvimento. O autor afirmou que esse acontecimento acarretou em diminuição da altura das dobras epiteliais e ausência de vesículas absortivas nos enterócitos, bem como redução das reservas de glicogênio nos hepatócitos, e redução do arranjo estrutural acinar das células pancreáticas.

No caso do T9, essas larvas já apresentavam estômago em desenvolvimento e cecos pilóricos em formação. No entanto, esses cecos não estavam tão desenvolvidos quanto os do T12, que já estavam em um estágio avançado de desenvolvimento. A formação adequada dos cecos pilóricos e do estômago é essencial para uma eficiente absorção de nutrientes, o que pode explicar a diferença de crescimento entre os dois grupos. Estudos anteriores indicaram que a formação completa dos cecos pilóricos e das glândulas gástricas é crucial para o desenvolvimento ideal das larvas. Por exemplo, Kjørsvik et al. (2009) observaram que a formação dos cecos pilóricos em larvas de *Gadus morhua* foi essencial para a adaptação às dietas inertes, aumentando a eficiência na digestão e absorção de nutrientes. Isso sugere que a sequência de desenvolvimento desses órgãos é importante para a preparação do trato digestório para a digestão e absorção de nutrientes. As larvas do T12, ao iniciar a transição alimentar (11, 3 mm e 18, 1 mg) já apresentaram estômago diferenciado, composto por regiões glandular e aglandular, além do início da formação dos cecos pilóricos, bem como o aumento das células mucosas. Essas células contribuem para a proteção da mucosa gastrointestinal e para a

lubrificação do alimento, facilitando a sua passagem pelo trato digestivo (Ronnestad et al., 2013). Além disso, foi observado um grande acúmulo de glicogênio nos hepatócitos antes do início da transição alimentar. Tal acúmulo no fígado indica que as larvas possuem reservas energéticas adequadas, essenciais para sustentar o crescimento e o metabolismo durante a transição para uma dieta inerte (Li et al., 2022; Sivaramakrishnan et al., 2023).

A formação dos cecos pilóricos é um dos últimos eventos no desenvolvimento do trato digestório, geralmente ocorrendo junto com a formação das glândulas gástricas. Como já foi mencionado, os cecos pilóricos aumentam o volume do intestino anterior e a área absorptiva do trato digestório (Govoni et al., 1986; Ronnestad et al., 2013). Faulk et al. (2007) observaram a formação dos cecos pilóricos em larvas de *Rachycentron canadum* entre 15-16 dpe, cerca de 5-6 dias após a formação das glândulas gástricas (9-10 dpe). Comabella et al. (2013) relataram pela primeira vez os cecos pilóricos em *Atractosteus tristoechus* aos 4 dpe, quando o estômago já estava morfologicamente diferenciado em três regiões distintas. Freitas (2015) observou formação dos cecos pilóricos em larvas de pacu aos 16 dpe, quando o estômago já estava diferenciado em porções cardíaca (glandular) e pilórica (aglandular).

As larvas do T12 demonstraram melhor crescimento em peso, juntamente com o T15 e CA; no entanto, o T12 foi o tratamento que resultou em menor custo de alimentação e sem dano ao crescimento zootécnico. A eficácia da transição varia entre espécies e deve ser adaptada às necessidades específicas de cada uma (Tesser et al., 2005; Menossi et al., 2012; Freitas, 2015), Estévez et al., 2019; Rocha et al., 2019; Lipscomb et al., 2020; Ljubobratovic et al., 2020; Chen et al., 2022). No entanto, é crucial conduzir a transição de maneira integrada, levando em consideração não apenas a idade das larvas mas principalmente o estágio de maturação de seu trato digestório e a estratégia alimentar utilizada. De acordo com Freitas (2015) uma transição alimentar inadequada pode resultar em menor crescimento e sobrevivência das larvas.

Com isso, conclui-se que a transição alimentar iniciando em torno de 12 dias, quando as larvas apresentam $11,34 \pm 0,97$ mm de comprimento total, é uma estratégia adequada para o pleno desenvolvimento das larvas de lambari.

REFERÊNCIAS

- Bell, J. G., McEvoy, L. A., Estevez, A., Shields, R. J., & Sargent, J. R. (2003). Optimising lipid nutrition in first-feeding flatfish larvae. *Aquaculture*, 227, 211-220.
- Beux, L. F., & Zaniboni Filho, E. (2006). Influência da baixa salinidade na sobrevivência de náuplios de *Artemia* sp. *Boletim do Instituto de Pesca*, 32, 73-77.
- Bromley, P. J., & Howell, B. R. (1983). Factors influencing the survival and growth of turbot larvae, *Scophthalmus maximus* L., during the change from live to compound feeds. *Aquaculture*, 31, 31-40.
- Caballero, M. J., Obach, A., Rosenlund, G., Montero, D., Gisvold, M., & Izquierdo, M. S. (2002). Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 214, 253-271.
- Cahu, C. L., & Infante, J. Z. (1994). Early weaning of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae with a compound diet: effect on digestive enzymes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 109, 213-222.
- Canavate, J. P., & Fernández-Díaz, C. (1999). Influence of co-feeding larvae with live and inert diets on weaning the sole *Solea senegalensis* onto commercial dry feeds. *Aquaculture*, 174, 255-263.
- Carvalho, E. G. & Urbinati, E. C. (2005). Crescimento, desenvolvimento gonadal e composição muscular de matrinxãs (*Brycon cephalus*) submetidos à restrição alimentar e realimentação durante um ano. *Ciência Rural*, 35, 897-908.

Celik, P. (2020). Effect of weaning time on growth and survival of freshwater angelfish larvae (*Pterophyllum scalare* SCHULTZE, 1823). *Fresenius Environmental Bulletin*, 29, 102020.

Chandan, C. S. S., Roy, P. U. J. A., Khatun, F. A. H. I. M. A., & Roy, N. C. (2021). Effect of Dietary Protein on Growth, Survival and Cannibalism of Larval Striped Snakehead, *Channa striata* (Bloch, 1793). *Asian Fisheries Science*, 34, 1-8.

Chen, J. Y., Zeng, C., & Cobcroft, J. M. (2022). Digestive system ontogeny and the effects of weaning time on larval survival, growth and pigmentation development of orchid dottyback *Pseudochromis fridmani*. *Aquaculture*, 549, 737737.

Colchen, T., Dias, A., Gisbert, E., Teletchea, F., Fontaine, P., & Pasquet, A. (2020). The onset of piscivory in a freshwater fish species: analysis of behavioural and physiological traits. *Journal of Fish Biology*, 96, 1463-1474.

Comabella, Y., Hernández Franyutti, A., Hurtado, A., Canabal, J., & García-Galano, T. (2013). Ontogenetic development of the digestive tract in Cuban gar (*Atractosteus tristoechus*) larvae. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 23, 245-260.

Dabrowski, K. R. (1986). Active metabolism in larval and juvenile fish: ontogenetic changes, effect of water temperature and fasting. *Fish Physiology and Biochemistry*, 1, 125-144.

Dabrowski, K., & Bardega, R. (1984). Mouth size and predicted food size preferences of larvae of three cyprinid fish species. *Aquaculture*, 40, 41-46.

Dantas, F. D. M., Santana, T. M., Kojima, J. T., Fonseca, F. A. L. D., Lopes, A. C. C., Carvalho, T. B., & Gonçalves, L. U. (2022). Pirarucu larviculture in green water provides heavier fish and modulates locomotor activity. *Acta Amazonica*, 52, 114-121.

Estévez, A., Papandroulakis, N., Wille, M., & Sorgeloos, P. (2019). Early life stages and weaning. *Organic Aquaculture: Impacts and Future Developments*, 79-102.

Fabregat, T. E. H. P., Wosniak, B., Takata, R., Miranda-Filho, K. C., Fernandes, J. B. K., & Portella, M. C. (2017). Larviculture of Siamese fighting fish *Betta splendens* in low-salinity water. *Boletim do instituto de pesca*, 43, 164-171.

Ferreira, A. L., Dos Santos, F. A. C., Bonifácio, C. T., & Luz, R. K. (2023). Effects of live prey concentration, salinity, and weaning age on larviculture of *Piaractus brachypomus* reared in a recirculating aquaculture system. *Tropical Animal Health and Production*, 55, 90-99.

Freitas, T. M. D. (2015). Capacidade digestiva durante a ontogenia de larvas de pacu *Piaractus mesopotamicus* 150f. (Tese de Doutorado, Centro de Aquicultura da Unesp. Universidade Estadual Paulista).

Freitas, T.M., Silva, L.T., Lopes, I.G., Buzollo, H., Portella, M.C., 2019. Growth performance and incidence of skeletal anomalies in pacu larvae under different weaning protocols. *Boletim do Instituto de Pesca*, 45, e433.

Galo, J. M., Streit-Junior, D. P., Oliveira, C. A., Povh, J. P., Fornari, D. C., Digmayer, M., & Ribeiro, R. P. (2018). Quality of fresh and cryopreserved semen and their influence on the rates of fertilization, hatching and quality of the larvae of *Piaractus mesopotamicus*. *Brazilian Journal of Biology*, 79, 438-445.

Gisbert, E., & Doroshov, S. I. (2003). Histology of the developing digestive system and the effect of food deprivation in larval green sturgeon (*Acipenser medirostris*). *Aquatic Living Resources*, 16, 77-89.

Gisbert, E., Conklin, D. B., & Piedrahita, R. H. (2004). Effects of delayed first feeding on the nutritional condition and mortality of California halibut larvae. *Journal of Fish Biology*, 64, 116-132.

Gong, Y.; Chen, W.; Han, D.; Zhu, X.; Yang, Y.; Jin, J.& Xie, S. (2017) Effects of food restriction on growth, body composition and gene expression related in regulation of lipid metabolism and food intake in grass carp. *Aquaculture*, 469, 28-35.

Govoni, J. J., Boehlert, G. W., & Watanabe, Y. (1986). The physiology of digestion in fish larvae. *Environmental Biology of fishes*, 16(1), 59-77.

Guaiume, G. C. (2022). Uso de bioflocos como alimento suplementar para larvas de lambari (*Astyanax lacustris*). (Trabalho de conclusão de curso em Zootecnia, Universidade Estadual Paulista)

Hecht, T., & Pienaar, A. G. (1993). A review of cannibalism and its implications in fish larviculture. *Journal of the World Aquaculture Society*, 24, 246-261.

Hiromoto, M. J. (2021). Desenvolvimento osteológico de lambari-rosa *Astyanax lacustris* (Lutken 1975) (Characiformes, Characidae) 70f. (Dissertação de mestrado, Centro de Aquicultura da Unesp, Universidade Estadual Paulista).

Houde, E. D., Steele, J., Thorpe, S., & Turekian, K. (2009). Fish larvae. *Marine Ecological Processes: A derivative of the Encyclopedia of Ocean Sciences*. Academic Press, Burlington, Vermont, 4, 286-292.

Igwaran, A., Kayode, A. J., Moloantoa, K. M., Khetsha, Z. P., & Unuofin, J. O. (2024). Cyanobacteria harmful algae blooms: causes, impacts, and risk management. *Water, Air, & Soil Pollution*, 235(1), 71.

Infante, J. Z., & Cahu, C. L. (2001). Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 130, 477-487.

Jalali, S., Jamili, S., Sayyad Bourani, M., Ramezani-Fard, E., & Sepahdari, A. (2019). Ontogenic development of the digestive tract in larval and juvenile Vimba bream, *Vimba vimba*. *Anatomical Science International*, 94, 192-198

Johnson, K. S., & Clements, K. D. (2022). Histology and ultrastructure of the gastrointestinal tract in four temperate marine herbivorous fishes. *Journal of Morphology*, 283, 16-34.

Jomori, R. K., Carneiro, D. J., Malheiros, E. B., & Portella, M. C. (2003). Growth and survival of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) juveniles reared

in ponds or at different initial larviculture periods indoors. *Aquaculture*, 221, 277-287.

Jomori, R. K., Carneiro, D. J., Martins, M. I. E. G., & Portella, M. C. (2005). Economic evaluation of *Piaractus mesopotamicus* juvenile production in different rearing systems. *Aquaculture*, 243, 175-183.

Jomori, R. K., Luz, R. K., & Célia Portella, M. (2012). Effect of salinity on larval rearing of pacu, *Piaractus mesopotamicus*, a freshwater species. *Journal of the World Aquaculture Society*, 43, 423-432.

Kestemont, P., Xueliang, X., Hamza, N., Maboudou, J., & Toko, I. I. (2007). Effect of weaning age and diet on pikeperch larviculture. *Aquaculture*, 264, 197-204.

Kjørsvik, E., Van der Meeren, T., Kryvi, H., Arnfinnson, J., & Kvenseth, P. G. (1991). Early development of the digestive tract of cod larvae, *Gadus morhua* L., during start-feeding and starvation. *Journal of fish Biology*, 38, 1-15.

Kojima, J. T. (2012). Ponto-de-não-retorno e períodos de restrição alimentar nos parâmetros zootécnicos e no desenvolvimento muscular de larvas de pacu 70f. (Dissertação de mestrado, Centro de Aquicultura da Unesp. Universidade Estadual Paulista).

Kolkovski, S., Lazo, J., Leclercq, D., & Izquierdo, M. (2009). Fish larvae nutrition and diet: new developments. In *New Technologies in aquaculture*, 1, 315-369. Woodhead Publishing.

Kowalska, A., Zakeś, Z., Jankowska, B., & Demska-Zakeś, K. (2011). Effect of different dietary lipid levels on growth performance, slaughter yield, chemical composition, and histology of liver and intestine of pikeperch, *Sander lucioperca*. *Czech Journal of Animal Science*, 56, 136-149.

Leite, E. F., de Godoi, D. S., Jacyntho, L. A., Maceno, J. F. S., & do Amaral Duarte, C. R. (2021). Feeding habits and reproductive biology of *Astyanax abramis*. *Brazilian Journal of Development*, 7, 2582-2597.

- Li, X., Han, T., Zheng, S., & Wu, G. (2022). Hepatic glucose metabolism and its disorders in fish. *Recent advances in animal nutrition and metabolism*, 207-236.
- Lipscomb, T. N., Yanong, R. P., Ramee, S. W., & DiMaggio, M. A. (2020). Histological, histochemical and biochemical characterization of larval digestive system ontogeny in black tetra *Gymnocorymbus ternetzi* to inform aquaculture weaning protocols. *Aquaculture*, 520, 734957.
- Ljubobratovic, U., Kosanovic, D., Demény, F.Z., Krajcsovics, A., Vukotic, G., Stanisavljevic, N., Golic, N., Jeney, G., Lukic, J., (2020). The effect of live and inert feed treatment with lactobacilli on weaning success in intensively reared pike-perch larvae. *Aquaculture*, 516, e734608.
- Madkour, K., Dawood, M. A., & Sewilam, H. (2022). The use of Artemia for aquaculture industry: An updated overview. *Annals of Animal Science*, 23(1), 3-10.
- Mai, K., Yu, H. A. I. R. U. I., Ma, H., Duan, Q., Gisbert, E. N. R. I. C., Infante, J. Z., & Cahu, C. L. (2005). A histological study on the development of the digestive system of *Pseudosciaena crocea* larvae and juveniles. *Journal of Fish Biology*, 67(4), 1094-1106.
- Martins, L. F., Silva, W. V., Nascimento, N. F., Melo, M. P., Crispim, B. A., Barufatti, A., & Hilbig, C. C. (2023). Zootechnical performance, degree of steatosis and the genotoxic potential in yellowtail tetra *Astyanax lacustris* fed with different levels of L-carnitine. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 75, 753-758.
- McKay, W. J., & Jeffs, A. G. (2023). Improving the weaning of larval giant kōkopu, *Galaxias argenteus*: An emerging aquaculture species. *Journal of the World Aquaculture Society*, 54, 701-713.
- Menossi, O. C. C., Takata, R., Sánchez-Amaya, M. I., Freitas, T. M. D., Yúfera, M., & Portella, M. C. (2012). Growth and structure of the digestive system of pacu larvae fed microencapsulated diet produced experimentally. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41, 1-10.

Micale, V., Di Giancamillo, A., Domeneghini, C., Mylonas, C. C., Nomikos, N., Papadakis, I. E., & Muglia, U. (2008). Ontogeny of the digestive tract in sharpsnout sea bream *Diplodus puntazzo*-Cetti, 1777. *Histology and histopathology*.

Mozanzadeh, M. T., Bahabadi, M. N., Morshedi, V., Azodi, M., Agh, N., & Gisbert, E. (2021). Weaning strategies affect larval performance in yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*). *Aquaculture*, 539, 736673.

Munilla-Moran, R., Stark, J. R., & Barbour, A. (1990). The role of exogenous enzymes in digestion in cultured turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture*, 88, 337-350.

Murray, C. A., Markham, O. I., Hutchins, S. W., & DiMaggio, M. A. (2023). Characterizing the gastrointestinal development and digestive enzyme ontogeny of larval *Amphiprion ocellaris*. *Aquaculture*, 563, 738897.

Nakayama, S., & Fuiman, L. A. (2010). Body size and vigilance mediate asymmetric interference competition for food in fish larvae. *Behavioral Ecology*, 21, 708-713.

Oliveira, G. R.; Gemaque, T. C.; Melo, K. D. M.; da Silva, S. R.; de Oliveira, A. V.; Freato, T. A. & da Costa, D. P. (2020). Restrição alimentar na piscicultura: fisiologia, metabolismo e sustentabilidade. *Brazilian Journal of Development*, 6, 28224-28244.

Oliveira, L. C. C., da Silveira, B. G., de Sousa Nascimento, E. T., Eiras, B. J. C. F., De Moura, L. B., Salaro, A. L., & Campelo, D. A. V. (2022). Salinized water as a strategy for increase stocking density in *Heros severus* larviculture, an Amazonian ornamental fish. *Boletim do Instituto de Pesca*, 48.

Ostaszewska, T., Korwin-Kossakowski, M., & Wolnicki, J. (2006). Morphological changes of digestive structures in starved tench *Tinca tinca* (L.) juveniles. *Aquaculture International*, 14, 113-126.

People Le Ruyet, J., Alexandre, J. C., Thébaud, L., & Mugnier, C. (1993). Marine fish larvae feeding: formulated diets or live prey?. *Journal of the world aquaculture Society*, 24(2), 211-224.

Pereira, L. S., Agostinho, A. A., & Winemiller, K. O. (2017). Revisiting cannibalism in fishes. *Reviews in fish biology and fisheries*, 27, 499-513.

Persson, L., Byström, P., & Wahlström, E. (2000). Cannibalism and competition in Eurasian perch: population dynamics of an ontogenetic omnivore. *Ecology*, 81(4), 1058-1071.

Portella, M. C., & Dabrowski, K. (2008). Diets, physiology, biochemistry and digestive tract development of freshwater fish larvae. *Feeding and digestive functions of fishes*. Enfield: Science Publishers, 227-279.

Portella, M. C., Verani, J. R., Carneiro, D. J., & Cestarolli, M. A. (2000). Desempenho de crescimento de larvas e alevinos de *Prochilodus lineatus* (= *Prochilodus scrofa*): Método de análise baseado no fator de condição relativo. *Boletim do Instituto de Pesca*, 26, 129-135.

Riesch, R., Araújo, M. S., Bumgarner, S., Filla, C., Pennafort, L., Goins, T. R., & Langerhans, R. B. (2022). Resource competition explains rare cannibalism in the wild in livebearing fishes. *Ecology and Evolution*, 12, e8872.

Rocha, M. S., Silva, R. C., Santos, J. C., Schorer, M., Nascimento, M. P., & Pedreira, M. M. (2020). Comparative larval ontogeny of two fish species (Characiformes and Siluriformes) endemic to the São Francisco River in Brazil. *Journal of Fish Biology*, 96, 49-58.

Rønnestad, I., Thorsen, A., & Finn, R. N. (1999). Fish larval nutrition: a review of recent advances in the roles of amino acids. *Aquaculture*, 177, 201-216.

Rønnestad, I., Tonheim, S. K., Fyhn, H. J., Rojas-Garcia, C. R., Kamisaka, Y., Koven, W. & Conceição, L. E. C. (2003). The supply of amino acids during early feeding stages of marine fish larvae: a review of recent findings. *Aquaculture*, 227, 147-164.

Rosenlund, G., Stoss, J., & Talbot, C. (1997). Co-feeding marine fish larvae with inert and live diets. *Aquaculture*, 155, 183-191.

Samir, M., & Banik, S. (2015). Production and application of live food organisms for freshwater ornamental fish larviculture. *Advances in Bio Research*, 6, 159-167.

Santos, F. A., da Costa Julio, G. S., & Luz, R. K. (2021). Stocking density in *Colossoma macropomum* larviculture, a freshwater fish, in recirculating aquaculture system. *Aquaculture Research*, 52, 1185-1191.

Severo-Neto, F., & Ferreira, A. (2018). Length–weight relations of fishes (Actinopterygii) from karst streams in the Bodoquena Plateau, western Brazil. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 48, 419-422.

Shan, X., Quan, H., & Dou, S. (2008). Effects of delayed first feeding on growth and survival of rock bream *Oplegnathus fasciatus* larvae. *Aquaculture*, 277, 14-23.

Shields, R. J. (2001) Larviculture of marine finfish in Europe. *Aquaculture*, 200, 55-88.

Sivaramakrishnan, T., Ambasankar, K., Felix, N., Bera, A., Kamalam, B. S., Vasagam, K. K., & Kailasam, M. (2023). Changes in digestive enzyme activities during the early ontogeny of milkfish, *Chanos chanos* larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 49(5), 867-882

Sorgeloos, P., Dhert, P., & Candreva, P. (2001). Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. *Aquaculture*, 200(1-2), 147-159.

Stevanato, D. J., & Ostrensky, A. (2018). Ontogenetic development of tetra *Astyanax lacustris* (Characiformes: Characidae). *Neotropical Ichthyology*, 16.

Strussmann, C. A. (1989). Basic studies on the culture of pejerrey. I. PNR, histology and morphometry of starved pejerrey *Odontesthes bonariensis* larvae. *日本水産学会誌*, 55(2), 237-246.

Vilella, F. S., Becker, F. G., & Hartz, S. M. (2002). Diet of *Astyanax* species (Teleostei, Characidae) in an Atlantic forest river in Southern Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 45, 223-232.

Wang, X.; Du, X.; Zhou, Y.; Wang, S.; Su, F. & Zhang, S. (2017). Intermittent food restriction initiated late in life prolongs lifespan and retards the onset of age-related markers in the annual fish *Nothobranchius guentheri*. *Biogerontology*, 18, 383-396.

Ward, A. J., Webster, M. M., & Hart, P. J. (2006). Intraspecific food competition in fishes. *Fish and Fisheries*, 7, 231-261.

Wolff, L. L., Abilhoa, V., Rios, F. S. A., & Donatti, L. (2009). Spatial, seasonal and ontogenetic variation in the diet of *Astyanax fasciatus* (Ostariophysi: Characidae) in an Atlantic Forest river, Southern Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 7, 257-266.

Xu, H., Wang, W., Nie, Z., Miao, X., & Li, Y. (2023). Delayed first feeding chronically impairs larval fish growth performance, hepatic lipid metabolism, and visceral lipid deposition at the mouth-opening stage. *Marine Biotechnology*, 25(1), 140-149.

Yanagitsuru, Y. R., Main, M. A., Lewis, L. S., Hobbs, J. A., Hung, T. C., Connon, R. E., & Fangué, N. A. (2021). Effects of temperature on hatching and growth performance of embryos and yolk-sac larvae of a threatened estuarine fish: Longfin smelt (*Spirinchus thaleichthys*). *Aquaculture*, 537, 736502.

Yanagitsuru, Y. R.; Main, M. A.; Lewis, L. S.; Hobbs, J. A.; Hung, T. C.; Connon, R. E. & Fangué, N. A. (2021) Effects of temperature on hatching and growth performance of embryos and yolk-sac larvae of a threatened estuarine fish: Longfin smelt (*Spirinchus thaleichthys*). *Aquaculture*, 537, 1-12.

Zaniboni Filho, E. (2000). Larviculture of freshwater fishes. *Informe Agropecuário*, 21,69-77