

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP – CAUNESP  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**LARVICULTURA DO PINTADO *Pseudoplatystoma  
coruscans* (AGASSIZ, 1829): ASPECTOS DA  
ALIMENTAÇÃO INICIAL E DO DESENVOLVIMENTO DE  
ESTRUTURAS SENSORIAIS.**

**Marcos Antonio Cestarolli  
Biólogo**

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL  
Fevereiro de 2005

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP – CAUNESP  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**LARVICULTURA DO PINTADO *Pseudoplatystoma  
coruscans* (AGASSIZ, 1829): ASPECTOS DA  
ALIMENTAÇÃO INICIAL E DO DESENVOLVIMENTO DE  
ESTRUTURAS SENSORIAIS.**

**Marcos Antonio Cestarolli**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Célia Portella**

Tese apresentada ao Centro de Aqüicultura  
da UNESP, Campus de Jaboticabal, como  
parte das exigências para obtenção do título  
de DOUTOR em AQUICULTURA

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL  
Fevereiro de 2005

Cestarolli, Marcos Antonio

C4211 Larvicultura do pintado *Pseudoplatystoma coruscans* (Agassiz, 1829): aspectos da alimentação inicial e do desenvolvimento de estruturas sensoriais / Marcos Antonio Cestarolli. -- Jaboticabal, 2005.

x, 110 f. : il. ; 29cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aqüicultura da UNESP/Jaboticabal, 2005.

Orientadora: Maria Célia Portella

Banca examinadora: Naoyo Yamanaka, Nelsy Fenerich-Verani, Laura Satiko Okada Nakaghi, Wagner Cotroni Valenti

Bibliografia

1. *Pseudoplatystoma coruscans*. 2. Estruturas sensoriais. 3. Microscopia eletrônica de varredura. 4. Larvicultura. 5. Aqüicultura. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aqüicultura da UNESP/Jaboticabal.

CDU 639.31

Ficha catalográfica elaborada por Elenice Beck Banin Campos/ Bibliotecária/ CEPTA/IBAMA.

Dedico:

Aos meus pais, Dirce e Dalto, pelo esforço que realizaram para que eu pudesse estudar.

Ao André e ao Nicolas, por serem filhos maravilhosos que compreenderam minha ausência.

A três senhoras, Maria Amália Basile Martins, Heloisa Maria Godinho e Márcia Navarro Cipólli, com quem tive o privilégio de compartilhar um profundo sentimento de amizade.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura do Centro de Aqüicultura da UNESP – Jaboticabal, pela oportunidade de realizar este trabalho.

Ao Instituto de Pesca da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios – APTA – pela autorização para participar do curso de pós-graduação e permitir o uso das instalações experimentais da Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento (UPD) de Pirassununga.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Célia Portella pela orientação, neste estudo em particular, e pelos anos de convivência durante os quais começamos a aprender um pouco da "arte de cultivar larvas de peixes".

Ao Prof. Dr. Dalton José Carneiro, pela amizade de muitos anos e pelo incentivo para nossa continuidade acadêmica.

Aos colegas da UPD – Pirassununga pela dedicação constante à execução das atividades de rotina na larvicultura, sem o que nenhum experimento ou estudo pode ser concluído com êxito.

Aos colegas estagiários Annie Astolpho Teixeira e José Augusto Roterotte, pela imensa contribuição para a experimentação e a análise das larvas.

Ao colega PqC Fernando André Salles, pela organização dos trabalhos rotineiros da larvicultura, pela contribuição para a experimentação, a análise das larvas, a análise estatística dos dados de alimentação e, principalmente, pela enorme boa vontade durante as diversas vezes que discutimos os resultados deste estudo.

Aos amigos Rogério Ganéo e Humberto Ganéo e à Piscicultura Santa Cândida, pela cessão do material biológico utilizado no estudo.

Aos colegas de curso e aos funcionários do CAUNESP, com os quais a convivência foi amistosa e agradável.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Laura Satiko Okada Nakaghi, pela permissão de uso das instalações do Laboratório de Microscopia Eletrônica da UNESP e à Cláudia Aparecida Rodrigues, pelo auxílio na preparação e na fotodocumentação das larvas.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Teresa Cristina Ribeiro Dias Koberstein e ao Prof. Dr. Carlos Alberto Vicentini pela discussão e sugestões apresentadas durante o exame geral de qualificação.

À Dr<sup>a</sup>. Naoyo Yamanaka, à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nelsy Fenerich-Verani, à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Laura Satiko Okada Nakaghi e ao Prof. Dr. Wagner Cotroni Valenti, membros da Banca Examinadora, pela discussão e sugestões apresentadas durante a defesa.

Ao Prof. Dr. César Gonçalves de Lima, do Departamento de Ciências Básicas da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da USP – Campus de Pirassununga, pela reorganização das análises estatísticas.

## SUMÁRIO

	Página
LISTA DE ILUSTRAÇÕES .....	iii
LISTA DE ABREVIATURAS .....	vi
RESUMO .....	vii
ABSTRACT .....	ix
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	11
2.1 Visão .....	11
2.2 Olfato e Paladar .....	11
2.2.1 Olfato .....	13
2.2.2 Paladar .....	14
2.3 Mecanorrecepção .....	16
2.4 Alimentação .....	17
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	19
3.1 Condições gerais .....	19
3.2 Condições específicas .....	21
3.2.1 Morfologia – microscopia eletrônica e estereoscópica .....	21
3.2.1.1 Microscopia eletrônica de varredura .....	21
3.2.1.2 Microscopia estereoscópica .....	22
3.2.2 Alimentação – determinação das curvas de crescimento larval e da ingestão de presas .....	22
3.2.2.1 Determinação das curvas de crescimento .....	23
3.2.2.2 Ingestão de presas em diferentes ambientes de luminosidade .....	24
3.2.2.3 Ingestão de presas em função da idade larval e da densidade de presas .....	25
4. RESULTADOS .....	27
4.1 Desenvolvimento morfológico – microscopia eletrônica de varredura e estereoscópica .....	27
4.2 Alimentação – determinação das curvas de crescimento larval e da ingestão de presas .....	47

4.2.1 Determinação das curvas de crescimento .....	47
4.2.2 Ingestão de presas em diferentes ambientes de luminosidade .....	50
4.2.3 Ingestão de presas em função da idade larval e da densidade de presas .....	53
4.3 Comportamento .....	55
5. DISCUSSÃO.....	69
5.1 Embriogênese .....	69
5.2 Morfologia – desenvolvimento de estruturas sensoriais .....	70
5.2.1 Fotorrecepção - Visão .....	70
5.2.2 Quimiorrecepção - Olfato e Paladar .....	73
5.2.2.1 Olfato .....	74
5.2.2.2 Paladar .....	78
5.2.3 Mecanorrecepção .....	83
5.2.4 Eletorrecepção .....	90
5.3 Alimentação .....	92
6. CONCLUSÕES .....	100
7. REFERÊNCIAS .....	102

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Página
TABELA 1 Quantidades médias de presas ingeridas e diferenças (%) na ingestão, em dois ambientes de luminosidade (claro e escuro), em larvas de pintado de várias idades (dias) .....	48
TABELA 2 Percentual de larvas de pintado com alimento (náuplios de <i>Artemia</i> ) no trato digestório, nos primeiros dias de alimentação exógena, cultivadas em dois ambientes de luminosidade (claro e escuro) .....	49
TABELA 3 Valores de ingestão média (e erro padrão), de larvas de pintado de várias idades, cultivadas em dois ambientes de luminosidade .....	51
TABELA 4 Percentual de larvas de pintado com alimento (náuplios de <i>Artemia</i> ) no trato digestório, nos primeiros dias de alimentação exógena, cultivadas em dois ambientes de luminosidade (claro e escuro) .....	53
TABELA 5 Valores de ingestão média (EP) de larvas de pintado de idades distintas, em quatro densidades de presas .....	54
FIGURA 1 Aspecto geral do embrião com região cefálica e botão caudal.....	58
FIGURA 2 Região cefálica .....	58
FIGURA 3 Cílios emergem na região do órgão olfativo .....	58
FIGURA 4 Feixes de cílios na placa sensorial do órgão olfativo.....	58
FIGURA 5 Porção mais dorsal da área sensorial do órgão olfativo.....	58
FIGURA 6 Região cefálica da larva .....	58
FIGURA 7 Região rostral da placa sensorial do órgão olfativo .....	59
FIGURA 8 Região média da larva .....	59
FIGURA 9 Larva de ambiente iluminado. Vista lateral da região cefálica .....	59
FIGURA 10 Larva de ambiente iluminado. Região cefálica .....	59
FIGURA 11 Larva de ambiente iluminado. Vista ventral da região cefálica .....	59
FIGURA 12 Cabeça da larva. A boca permanece em posição ventral .....	59
FIGURA 13 Abertura bucal .....	60
FIGURA 14 Região cefálica .....	60
FIGURA 15 Placa sensorial do órgão olfativo com vários feixes de cílios das células não sensoriais .....	60
FIGURA 16 Abertura da câmara branquial .....	60

FIGURA 17	Câmara branquial não recoberta pela membrana branquiostegial ....	60
FIGURA 18	Parte de um barbilhão .....	60
FIGURA 19	Poros de um botão gustativo .....	61
FIGURA 20	Feixes ciliares de um receptor elétrico .....	61
FIGURA 21	Alongamento da fenda bucal pela distensão caudal dos lábios, na região da comissura labial .....	61
FIGURA 22	Lábio inferior; placa sensorial de um botão gustativo extra-oral .....	61
FIGURA 23	Botão gustativo extra-oral; terminação, em forma de bastão, de uma célula gustativa na placa sensorial .....	61
FIGURA 24	Depressão olfativa com formato elíptico, com feixes de cílios na borda e no interior da depressão .....	61
FIGURA 25	Linha lateral do tronco; neuromasto com cúpula .....	62
FIGURA 26	Depressão olfativa com vários feixes ciliares .....	62
FIGURA 27	Cabeça e parte do tronco. Perfil da boca mais alongado e órgão olfativo mais elíptico; arco branquial ainda exposto .....	62
FIGURA 28	Linha lateral do tronco. Neuromasto imaturo com dois mecanocílios. A polarização das terminações sensoriais é visível .....	62
FIGURA 29	Lábios superior e inferior com inúmeras papilas gustativas .....	62
FIGURA 30	Vista superior da região anterior da cabeça, onde inicia o canal supra-orbitário .....	62
FIGURA 31	Linha lateral do tronco. Neuromastos regularmente espaçados .....	63
FIGURA 32	Nadadeira caudal. Início do desenvolvimento do lobo inferior (Li) ....	63
FIGURA 33	Barbilhão maxilar ligeiramente acima da comissura labial .....	63
FIGURA 34	Região anterior da depressão olfativa. Borda olfativa proeminente ...	63
FIGURA 35	Alta resolução de um neuromasto da dobra pré-nasal, com cerca de 18 células na placa sensorial .....	63
FIGURA 36	Linha lateral do tronco. Neuromastos superficiais na linha principal do tronco .....	64
FIGURA 37	Vista ventral da boca e mento .....	64
FIGURA 38	Vista superior da cabeça. Botões gustativos extra-orais .....	64
FIGURA 39	Receptor da linha lateral do tronco. O aspecto arredondado é típico de estruturas ainda imaturas .....	64

FIGURA 40	Linha inferior do tronco. Receptor com aspecto ovalado .....	64
FIGURA 41	Receptor da linha inferior do tronco, com cúpula (cp) desenvolvida .	65
FIGURA 42	Vista lateral da porção anterior da cabeça .....	65
FIGURA 43	Vista lateral da cabeça de larva de ambiente escuro. No olho, uma pequena pálpebra é evidente .....	65
FIGURA 44	Dentículos e botões gustativos no interior da boca e nos lábios (primeiro plano) .....	65
FIGURA 45	Neuromastos superficiais na dobra pré-nasal .....	65
FIGURA 46	Vista superior da cabeça .....	65
FIGURA 47	Vista ventral da cabeça de uma larva de ambiente iluminado .....	66
FIGURA 48	Vista superior da cabeça. Em ambos os lados, o canal supra- orbitário encontra-se aberto .....	66
FIGURA 49	Vista superior da região dorsal média de uma larva .....	66
FIGURA 50	Distribuição dos poros (p) dos canais cefálicos da linha lateral .....	66
FIGURA 51	Alta resolução de um poro do canal mandibular .....	66
FIGURA 52	Em larva de ambiente iluminado, o canal mandibular, no mento, ainda se encontra aberto .....	66
FIGURA 53	Ramo inferior da linha lateral do tronco .....	67
FIGURA 54	Canal mandibular (MdC) completo, com poros de comunicação .....	67
FIGURA 55	Poros do canal mandibular .....	67
FIGURA 56	Disposição em forma de arco dos orifícios da linha lateral caudal ....	67
FIGURA 57	Alta resolução de um poro da linha caudal com um neuromasto.....	67
FIGURA 58	Região da epiderme mostrando vários receptores elétricos .....	68
FIGURA 59	Alta resolução de receptores elétricos em distintos graus de desenvolvimento .....	68
FIGURA 60	Curvas de crescimento, em comprimento (mm), em dois ambientes de luminosidade, em função da idade pós-eclosão .....	49
FIGURA 61	Quantidades médias de presas ingeridas (n), por larvas de pintado em dois ambientes de luminosidade, em função da idade larval .....	52
FIGURA 62	Quantidades médias de presas ingeridas (n), por larvas de pintado de diferentes idades, em função da densidade de presas .....	55

**LISTA DE ABREVIATURAS**

- ca. = cerca de  
dpe = dias pós-eclosão  
hpf = horas pós-fertilização  
AC = ambiente claro  
AE = ambiente escuro  
CT = comprimento total  
IoC = canal infra-orbitário  
MdC = canal mandibular  
OtC = canal ótico  
PrC = canal pré-opercular  
SoC = canal supra-orbitário  
TeC = canal temporal  
TrC = canal do tronco

## RESUMO

Observações de embriões e larvas de pintado *Pseudoplatystoma coruscans* (Siluriformes, Pimelodidae) mantidas em ambiente iluminado e em ausência de luz foram realizadas empregando-se microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura com o intuito de conhecer o desenvolvimento morfológico, com ênfase no desenvolvimento das estruturas sensoriais, que pudessem auxiliar na compreensão do comportamento alimentar durante os primeiros estágios de vida. Paralelamente procurou-se determinar, nas duas condições de iluminação, o consumo de alimento vivo (náuplios de *Artemia*), por larvas de várias idades e em diferentes densidades de fornecimento. Verificou-se que, durante o curto período embrionário de 12 a 13 horas apareceram os primeiros cílios na região olfativa a qual, na eclosão, encontrava-se recoberta de cílios mecânicos e sensoriais. Nas primeiras horas pós-eclosão, a depressão olfativa tornou-se bem definida e a quantidade de cílios aumentou consistentemente. Nesse período, surgiram também os primórdios dos barbilhões maxilares, sobre os quais rapidamente se diferenciaram os botões gustativos e, na dobra pré-nasal, os feixes ciliares de um neuromasto superficial, estrutura descrita em peixes como um mecanorreceptor, e de um receptor ampuliforme, descrito como eletrorreceptor. Somente após 24 horas da eclosão o olho tornou-se uma estrutura conspícua. No início da alimentação, o desenvolvimento precoce e mais acentuado das estruturas quimiossensoriais (órgão olfativo e botões gustativos) refletiria a maior capacidade das larvas de capturar o alimento na ausência de luz. As observações do início da ontogenia do neuromasto e dos canais craniais da linha lateral revelaram que a formação dos canais somente tornou-se aparente um dia após o início da diferenciação dos neuromastos da linha lateral do tronco, ocorrida aos dois dias de vida. A partir dessa fase, a morfogênese dos canais craniais prosseguiu até completar-se aos 16-17 dias da eclosão, na época da metamorfose, cujos limites não puderam ser claramente estabelecidos. A

morfogênese dos canais cefálicos teve início nas imediações de um neuromasto individual, ocorreu em estágios discretos, e concluiu-se com a fusão parcial dos vários segmentos, restando entre eles apenas um poro. Na linha lateral do tronco a distribuição dos neuromastos esteve correlacionada com a configuração dos miômeros, de modo que sobre cada um deles ocorria um receptor. Na metamorfose, os neuromastos ainda permaneciam superficiais, encontrando-se ligeiramente aprofundados na epiderme. A presença precoce de um receptor ampuliforme na região nasal pode também indicar a importância da eletrorrecepção para o desenvolvimento inicial. A proliferação rápida dessa estrutura (até 500.mm<sup>2</sup>, próximo à comissura labial, em animais com 16 dias de vida) reforça a hipótese de uma aguçada sensibilidade a estímulos elétricos. É provável que a eletrorrecepção, aliada ao sentido químico, seja crucial para o sucesso da alimentação larval em um ambiente escuro. Nos estudos de alimentação, o consumo de presas foi progressivamente mais elevado no decorrer do desenvolvimento larval e variou de 2,97 a 71,92 e de 4,25 a 112,78 presas.larva<sup>-1</sup>, para os ambientes claro e escuro, respectivamente. A utilização de densidades de até 8 presas.mL<sup>-1</sup> foi satisfatória somente nos primeiros 5 a 6 dias de alimentação exógena. Pelo menos 20 presas.mL<sup>-1</sup> devem ser utilizadas até o 13º dia do período exotrófico. Os resultados de crescimento e de consumo de alimento permitem sugerir que uma prática adequada de manejo não pode prescindir da utilização de instalações ou recipientes que permitam o controle integral da luminosidade.

Palavras-chave: *Pseudoplatystoma coruscans*, desenvolvimento inicial, estruturas sensoriais, larvicultura, alimentação, MEV.

## ABSTRACT

The morphological development of the eye, chemo-, mechano- and electroreceptors was studied in *Pseudoplatystoma coruscans* (Siluriformes, Pimelodidae) embryos and larvae, kept in light and dark environments. The sensory structures development was appraised using light and electronic microscopy. Also, in both light conditions, the live food consumption (*Artemia nauplii*) was determined for different larval ages and at different prey densities. During the short embryonic stage (12 to 13 hours), the first cilia appeared in the olfactory region, which was covered by mechano- and sensory cilia, at hatching. In the first hours post-hatching, the olfactory pits were well defined and the number of cilia increased consistently. During this period, the primordial maxillary barbels developed, where taste buds quickly differentiated; in the pre-nostril fold, the cilia of a superficial neuromast, a mechanoreceptor, and an ampullary electroreceptor were also observed. Only 24 hours after hatching, the eyes became a conspicuous structure. At the time of the first feeding, the precocious development of the chemosensory structures (olfactory pits and taste buds) may have reflected a higher larval capacity for perceiving and capturing the food particles in darkness. The observations of the initial ontogeny of the neuromast and the cranial lateral line canals revealed that the development of the canals was apparent only one day after the beginning of the trunk lateral line neuromasts differentiation, which occurred at the second day of life. After this period, the cranial canals development proceeds until 16-17 days after hatching, at the metamorphosis stage, which could not be clearly defined. The head canals development initiated close to an individual neuromast and occurred at discrete stages. The distribution of trunk neuromasts along the horizontal septum was correlated with the configuration of the myomeres, where each receptor developed over a myomere. At metamorphosis, the

neuromasts still remained superficial, just a bit deepened in the epidermis. The presence of an ampullary receptor in the pre-nostril fold may also indicate the capacity of electroreception at the initial development of this species. The quick proliferation of this structure (about  $500.\text{mm}^{-2}$  near to the labial joint, in 16-day old animals), reinforce the hypothesis of acute sensibility to electrical stimulus. It is probable that electroreception, allied to the chemical sense, may be crucial for larval feeding in dark environments. In the feeding trials, the prey consumption was progressively increased during the larval development and varied from 2.97 to 71.92 and from 4.25 to 112.78 preys.larvae<sup>-1</sup>, for the light and dark conditions respectively. The prey density of 8 preys.mL<sup>-1</sup> was satisfactory only for the first 5 or 6 days of exogenous feeding. At least 20 preys.mL<sup>-1</sup> must be adopted from those days on. The growth and feeding consumption results suggest that for the successful initial feeding of spotted surubim, installations or recipients that allow the light intensity control should be used.

Key words: *Pseudoplatystoma coruscans*, initial development, sensory structures, larviculture, feeding, SEM.

## 1. INTRODUÇÃO

A produção mundial da pesca de captura e da aquicultura, e o fornecimento de pescado para a alimentação, são atualmente os maiores registrados e continuam sendo muito importantes para a segurança alimentar mundial, já que proporcionam mais de 15% do aporte total de proteínas animais (FAO, 2002).

A contribuição da aquicultura para a produção mundial de peixes, crustáceos e moluscos, por sua vez, tem crescido a uma taxa média anual de pouco mais de 9% nas últimas três décadas. O aumento da produção em águas continentais, particularmente expressivo, tem ocorrido a uma taxa média de 7% ao ano, em contraste com os 5,4% da aquicultura marinha, durante o mesmo período (FAO, 2002).

Do total da produção continental por aquicultura no ano de 2000, os peixes constituíram o grupo mais representativo, com 97,7% de participação, onde se destacaram carpas, tilápias, trutas, bagres e enguias. Como pode ser constatado naquele mesmo documento (FAO, 2002), a maior parte da produção piscícola continental esteve fundamentada em um número reduzido de grupos de animais, com poucas espécies em cada grupo.

Há muito tempo tornou-se evidente, na maioria dos países latino-americanos (FAO, 1993), que a necessidade de diversificação da produção aquícola é uma prioridade. Tal diversificação tem sido efetivamente alcançada somente em uns poucos casos, onde a pesquisa, embora apresentando alto grau de dispersão e freqüentemente ocorrendo de maneira desorganizada e sem interação com o setor produtivo, tem demonstrado a exequibilidade de determinados cultivos alternativos.

Contudo, referindo-se especificamente à piscicultura, se os conhecimentos sobre a biologia, a reprodução, a alimentação, e outros, permitiram que novas espécies integrassem a lista das espécies “domesticadas”, as pesquisas não têm sido adequadamente direcionadas para a adaptação e o melhoramento das técnicas

de cultivo que possibilitem a formulação de pacotes tecnológicos completos com soluções eficientes para as inúmeras dificuldades existentes nos sistemas de criação de várias espécies, principalmente das nativas consideradas mais nobres, representadas por animais carnívoros ou mais suscetíveis às bruscas e intensas alterações ambientais que ocorrem cada vez com mais freqüência.

Um dos principais reflexos dessa deficiência tecnológica pode ser observado no estrangulamento que se verifica na produção, onde novos incrementos nos volumes produzidos são dificultados pelo suprimento inconstante e muitas vezes insuficiente de juvenis das várias espécies. Altas mortalidades durante o período larval são a principal causa dessa inconstância. Tais mortalidades estão freqüentemente relacionadas às práticas de alimentação que, via de regra, não atendem às exigências nutricionais das larvas e, portanto, refletem a qualidade do alimento.

Muito embora tenha ocorrido algum progresso no desenvolvimento de dietas artificiais, poucas espécies podem ser cultivadas exclusivamente com esse tipo de alimento (KAMLER, 1992). Para a maior parte delas, a estratégia de alimentação larval baseia-se no emprego de alimento vivo.

Larvas da maioria das espécies cultivadas, ao iniciarem a alimentação exógena, são organismos cuja metamorfose ainda não se completou, razão pela qual os órgãos digestivos não estão totalmente definidos e o arsenal enzimático ainda é deficiente (DABROWSKI, 1984). Alguns autores sugeriram que as larvas utilizariam enzimas da presa ingerida para facilitar seu processo de digestão, enquanto desenvolviam seu próprio sistema digestório (DABROWSKI, 1984, 1991; GALVÃO et al., 1997; PERSON-LE RUYET, 1989). Posteriormente, outros autores demonstraram que a contribuição de enzimas exógenas no trato digestório de *Sardinops melanoticus* (KUROKAWA et al., 1998) e de "sea bass" (CAHU e ZAMBONINO-INFANTE, 1995) não era significativa. Assim, o papel das enzimas exógenas no processo digestivo das larvas não está totalmente esclarecido. De qualquer modo, os organismos zooplânctônicos ainda são fundamentais para a alimentação inicial das larvas, o que implica em uma forte dependência, pela larvicultura intensiva, da produção de alimentos vivos de boa qualidade.

Nesse aspecto, a aqüicultura mostrou um grande desenvolvimento a partir da década de 60, quando foi definida a produção em larga escala do rotífero *Brachionus plicatilis* (PORTELLA et al., 1997) que passou a ser considerado um dos principais alimentos para larvas de peixes marinhos. Somente na década de 80 o rotífero *B. plicatilis*, um organismo eurihalino, foi empregado com sucesso na alimentação de uma espécie dulceaqüícola, a carpa *Cyprinus carpio* (LUBZENS et al., 1984), fato que abriu novas perspectivas para a aqüicultura de água doce. No Brasil, a técnica de produção do rotífero foi adaptada, no final dos anos 80, para a utilização em regiões mediterrâneas, distantes do mar, através da metodologia de salinização da água doce (PORTELLA et al., 1997), com o intuito de utilizá-lo na larvicultura de uma espécie dulceaqüícola neotropical, o curimatá *Prochilodus lineatus*, tendo-se obtido bons resultados quanto à sobrevivência das larvas após 3 a 4 semanas de alimentação (CESTAROLLI et al., 1997).

Por outro lado, o cultivo desse organismo-alimento implica no aumento de etapas no manejo de uma piscigranja, podendo acarretar elevação de custos na produção de juvenis. Salles et al. (1998) determinaram o custo operacional da larvicultura intensiva de *Prochilodus scrofa* alimentado com o rotífero cultivado *Brachionus plicatilis*, e encontraram que a participação do rotífero, na composição de custos, foi de 64%.

Outro organismo vivo amplamente empregado no cultivo larval de crustáceos e peixes é o microcrustáceo *Artemia*. Embora sua utilização seja bastante prática, algumas dificuldades relacionadas à sazonalidade da produção de cistos e, por conseguinte, de seu preço, e à variação da qualidade nutricional dos náuplios, também oneram a produção de larvas e jovens (LAVENS et al., 2000). Assim, esforços no sentido de maximizar a eficiência alimentar das larvas e de desenvolver dietas secas adequadas, paralelamente à determinação de períodos mais curtos para a supressão do alimento vivo, poderiam aliviar esses problemas e aumentar a possibilidade de se obter boas produções.

Não menos importante para o sucesso na utilização dessas dietas é o conhecimento da influência das variáveis ambientais sobre o metabolismo e o comportamento das larvas. Tanto durante o período embrionário como após a eclosão, durante os períodos de alimentação endógena e exógena, quando não

somente as larvas, mas também o alimento, sofrem ação direta do ambiente, os efeitos de fatores abióticos como temperatura, luminosidade, oxigênio dissolvido, pH e salinidade, entre outros, são intensos (para revisão, ver KAMLER, 1992). Destes, a temperatura talvez seja um dos mais estudados, já que os peixes, como animais ectotérmicos, têm seu desenvolvimento altamente dependente dessa variável ambiental.

Dos outros fatores envolvidos no controle das funções fisiológicas, as informações disponíveis sobre a influência da luz são bastante controversas, uma vez que, no meio aquático, ela varia em quantidade (intensidade luminosa), em qualidade (absorção seletiva e dissipação) e em periodicidade (ciclos diários e estacionais), podendo alterar-se com muita rapidez e, com frequência, de forma ampla (BOUEF e LE BAIL, 1999). Além disso, os peixes deslocam-se em seu ambiente, o qual também se move ao redor deles, contribuindo para alterar as características da luz que os alcança.

Peixes são bastante sensíveis à luz e, muito embora a glândula pineal (BOUEF e LE BAIL, 1999) e outros fotorreceptores prováveis, localizados na derme ou no encéfalo, possam desempenhar algum papel na mediação entre a luz e o comportamento do animal (NOAKES e GODIN, 1988), os olhos são o principal órgão de detecção do estímulo luminoso e de formação de imagens.

Nos estágios mais precoces de vida livre, os olhos são frequentemente transparentes e a retina, indiferenciada (BOUEF e LE BAIL, 1999). Na medida em que a larva se desenvolve, contudo, alterações morfológicas não neurais, como as que ocorrem no número, nos tipos e no padrão de distribuição das células fotorreceptoras, na área superficial da retina e no diâmetro da lente, entre outras, resultam em modificações na visão.

Paralelamente às alterações em curso na estrutura do olho, outras mudanças estruturais e bioquímicas como, por exemplo, o crescimento de fibras nervosas e a sinaptogênese ou aumento de vesículas sinápticas, também ocorrem no encéfalo, mais propriamente no teto óptico, o centro mais elevado de integração dos estímulos visuais (para referências, ver NOAKES e GODIN, 1988). Tais mudanças neurais também contribuem para a melhoria na acuidade visual.

Além dessas mudanças neurais e não-neurais, afetando principalmente o olho e o mesencéfalo, modificações nos estímulos externos, decorrentes de hábitos parentais de postura como o de ocultar os ovos no substrato (em ninhos, sob pedras, etc.), carregá-los no interior do corpo (na boca, p. ex.) ou liberá-los na coluna d'água (BALON, 1975), também submetem os embriões e as larvas a ambientes sociais e de luminosidade notoriamente diferentes, resultando em considerável variabilidade intra e interespecífica no desenvolvimento dos sistemas visuais. Esses fatores causais, interativos, associados à aquisição de experiência, respondem, durante o desenvolvimento ontogênico inicial, por mudanças nos comportamentos larvais modulados pela visão (NOAKES e GODIN, 1988), os quais são de importância ecológica óbvia.

Particularmente no que se refere ao comportamento alimentar, maior acuidade visual, em um estágio de desenvolvimento onde a larva inicia a alimentação exógena e interage socialmente com outros indivíduos da mesma espécie, permite ao indivíduo detectar suas presas a maiores distâncias e, ativamente, evitar predadores; permite alimentar-se mais rapidamente, uma vez que mais presas podem ser encontradas em seu campo visual por unidade de tempo e possibilita capturar presas com maior sucesso e ter informações mais acuradas sobre o tamanho das mesmas, com implicações para a alimentação seletiva e, portanto, para o ganho de peso. Assim, o progresso na detecção de movimentos e na discriminação de estímulos, durante a ontogenia inicial, são mecanismos importantes que determinam o crescimento do peixe e a sobrevivência nas fases iniciais de vida (para referências, ver NOAKES e GODIN, 1988).

Está claro que o desenvolvimento normal das larvas e, conseqüentemente, sua sobrevivência, depende das mudanças estruturais e fisiológicas que ocorrem nos sistemas visuais. Contudo, depende também das características da luz que as alcança. Como resultado da grande diversidade de peixes, diferentes respostas à luz existem, muitas das quais necessitam de um limiar mínimo de intensidade luminosa para se desencadarem. Se a luminosidade for insuficiente, sérias anormalidades no desenvolvimento, associadas à pigmentação, podem ocorrer (ZEUTZIUS e RAHMANN, 1984; ZEUTZIUS et al., 1984). Mortalidade total de larvas foi observada em uma espécie de linguado cultivada em ausência de luz (HART et al., 1996).

Um pouco poucas espécies, particularmente pelágicas, bêmicas ou vivendo em águas muito turvas, são capazes de se alimentar, desenvolver-se e crescer em intensidades muito baixas (menores que 1 lux), ou em ausência de luz (BOUEF e LE BAIL, 1999). Para outras, intensidades elevadas podem ser deletórias, resultando em baixas taxas de sobrevivência, ou em mortalidade total, enquanto que algumas delas, menos sensíveis a essa variável, podem crescer normalmente dentro de amplos intervalos de intensidade luminosa (BARAHONA-FERNANDES, 1979). Assim, de acordo com o hábitat e, no que diz respeito à alimentação, também com a estratégia alimentar e o tipo de presa, níveis ótimos de luminosidade variam para as larvas de diferentes espécies de peixes (HUSE, 1994).

Deve-se salientar que a maior parte das respostas dos peixes à luz é decorrente de investigação em condições estáveis, em laboratório ou em cultivos intensivos “indoor”. No ambiente natural, como consequência das condições tão mutáveis dessa variável ambiental, torna-se difícil saber como a taxa de crescimento, ou outro parâmetro, é influenciado pela luz (SUMPTER, 1992). Além disso, é necessário não esquecer dos efeitos sinérgicos da luz e da temperatura, as quais, em geral, alteram-se concomitantemente. Assim, se é simples a realização de experimentos para verificar os efeitos da luz, torna-se difícil a posterior extrapolação de resultados para situações naturais (BOUEF e LE BAIL, 1999).

Outra importante atividade relacionada à luz é a formação de cardumes (“schooling”) (HIGGS e FUIMAN, 1996). Noakes e Godin (1988) ressaltam uma possível distinção entre os comportamentos de formação de cardumes (“schooling”) e de “aglomeração” (“shoaling”). O primeiro tipicamente envolve animais de mesma espécie e de idades e tamanhos similares, engajados, em um dado momento, nas mesmas atividades, com um elevado grau de sincronismo espacial e temporal; o segundo termo é aplicado de forma mais geral, para designar agregações sociais onde estão ausentes a forte coordenação e o sincronismo, característicos do anterior.

A estrutura de cardume é mantida pela visão e se dissipa em baixas intensidades luminosas (HUNTER, 1968; MAJOR, 1977), provavelmente devido a limitações visuais decorrentes, em larvas, de fatores como tamanho do olho e quantidade de células fotorreceptoras na retina, principalmente bastonetes, os quais

desempenham papel dominante na captura da luz em situações de penumbra (GALLEGO e HEATH, 1994; HIGGS e FUIMAN, 1996). Outro sistema envolvido nesse comportamento é o mecanossensorial. Enquanto a visão atua primariamente na manutenção da posição e do ângulo entre os peixes, a linha lateral responde pela velocidade de natação e a direção do deslocamento (PARTRIDGE e PITCHER, 1980).

O sistema mecanossensorial dos peixes teleósteos consiste estruturalmente do ouvido interno e de um conjunto de canais sub-superficiais cheios de líquido, o sistema da linha lateral, ao longo do tronco e da cabeça, os quais se comunicam com a superfície por meio de uma série de poros. Os principais receptores de estímulos externos vibratórios e gravitacionais, associados a esse sistema, são as células mecanorreceptoras ciliadas do neuromasto (BLAXTER, 1986; BLECKMANN, 1993; NOAKES e GODIN, 1988). Essas células são inervadas por neurônios que compõem uma série bem definida de nervos da linha lateral. O nervo cranial anterior da linha lateral inerva os neuromastos localizados acima e abaixo do olho, nas faces (bochechas), nas séries operculares e mandibulares; o nervo mediano, os neuromastos da região caudal do crânio, enquanto que o nervo posterior da linha lateral inerva outro conjunto de neuromastos na porção caudal do crânio e aqueles do tronco (WEBB, 2000a).

Os neuromastos localizam-se no interior dos canais da linha lateral, ou superficialmente, em depressões rasas na epiderme e, neste caso, são chamados neuromastos livres (BLECKMANN, 1993). A linha lateral, com base em critérios anatômicos, eletrofisiológicos e comportamentais, é considerada como funcional na detecção de movimentos locais de água, de ondas superficiais nas proximidades do corpo do animal e de ondas sonoras de baixa frequência e, além de estar envolvida na alimentação e no comportamento de formação de cardumes, atua também na mediação dos comportamentos de prevenção a predadores e de comunicação social em peixes teleósteos (BLECKMANN, 1993).

A outra estrutura do sistema mecanossensorial, o ouvido interno, é o órgão principal para detecção de sons subaquáticos, da aceleração linear e da ação da gravidade (POPPER et al., 1988), cujo principal receptor consiste também de células

ciliadas mecanorreceptoras que, à semelhança das células receptoras da linha lateral, são sensíveis à deflexão mecânica direcionada. (BLECKMANN, 1993).

Além da mecanorrecepção, a quimiorrecepção também é uma modalidade sensorial que atua no comportamento alimentar de muitas espécies de peixes (BLAXTER, 1986; NOAKES e GODIN, 1988). Peixes detectam os estímulos químicos transportados pela água através de pelo menos dois diferentes canais sensoriais: o olfato e o paladar (IWAI, 1980; YAMAMOTO, 1982). Evidência considerável aponta para o olfato como sendo um mediador geral dos sinais químicos envolvidos em vários comportamentos de peixes teleósteos, incluindo seleção de habitat, migração, formação de casais, cuidados parentais e prevenção à predação, enquanto que o sentido do paladar tem sido considerado como envolvido no comportamento alimentar, nas fases de busca e ingestão do alimento (NOAKES e GODIN, 1988). Uma terceira modalidade de quimiorrecepção, atribuída a terminações livres na epiderme, é chamada de sentido químico comum e é considerada menos sensível que os sistemas olfativo e gustativo (KATSUKI e YANAGISAWA, 1982).

Em muitos teleósteos, a visão é a principal modalidade sensorial na detecção do alimento. Em bagres, contudo, os sentidos químicos devem ser mais efetivos nessa atividade, devido à limitação do campo visual, característica nos ambientes onde vivem esses animais (IWAI, 1980).

Em bagres adultos, que possuem muitos botões gustativos sobre os barbilhões e a superfície corpórea, os resultados de vários autores, revistos por Iwai (1980), indicam que esses animais podem procurar pela origem do estímulo químico mesmo se o epitélio olfativo for cauterizado, evidenciando que, entre os sentidos químicos, o paladar desempenha papel essencial na orientação e localização do alimento. Por outro lado, nas larvas de algumas espécies de teleósteos, principalmente marinhos, onde os botões gustativos somente se desenvolvem plenamente após o início da alimentação exógena, o sentido gustativo parece desempenhar um papel de menor importância na alimentação, durante esse período (IWAI, 1980). Nessas espécies, a visão predomina.

Além dos sistemas previamente discutidos, há ainda uma outra modalidade sensorial que é restrita a uma pequena parcela (menos de 1%) das espécies de

peixes teleósteos: é a eletrorrecepção (BLECKMANN, 1993), característica de muitas espécies de Siluriformes, embora não somente deles. Nesses bagres, o órgão receptor dos estímulos elétricos de baixa frequência, o receptor ampuliforme, localiza-se dentro da epiderme, em várias espécies de água doce, ou em uma invaginação profunda da membrana basal da epiderme, em espécies marinhas. Esse órgão especializado da linha lateral atua na detecção de estímulos elétricos produzidos por fontes inanimadas ou por outros organismos aquáticos. No primeiro caso desempenha função de orientação e, no segundo, está envolvido no comportamento de alimentação (BLECKMANN, 1993).

Observa-se, pelo exposto previamente, a elevada diversidade de estruturas sensoriais existentes em peixes teleósteos. Muito embora a morfologia e a função de cada uma dessas estruturas, receptivas a estímulos luminosos, mecânicos, químicos e eletromagnéticos, já venham sendo, ainda que de maneira isolada, intensamente estudadas nas últimas décadas, e se encontrem extensamente documentadas na literatura (BLAXTER, 1986; DIAZ et al., 2003; LABERGE e HARA, 2001; LIANG et al., 1998; MANA e KAWAMURA, 2002; WEBB e SHIREY, 2003), é essencial a continuidade desses estudos, o primeiro passo na compreensão do envolvimento de cada uma dessas estruturas, e de sua interação, na formação do repertório comportamental, que se expande na medida em que o animal se desenvolve (LIANG et al., 1998; NOAKES e GODIN, 1988).

Além disso, estudos dessa natureza são escassos para as espécies de bagres, em todo o mundo, em detrimento da importância econômica que esses animais geralmente apresentam. No Brasil, tal fato não é exceção. Esse é o caso do surubim pintado *Pseudoplatystoma coruscans* (Agassiz, 1829), uma espécie de hábito alimentar carnívoro, predominantemente piscívoro, que habita as zonas bênticas dos corpos aquáticos e que é considerada uma das mais nobres entre os teleósteos brasileiros de águas continentais, pelo grande porte alcançado e o sabor de sua carne.

A produção dessa espécie em cativeiro tem sido conseguida em algumas pisciculturas privadas, embora com custos elevados e em quantidades muito aquém das necessárias para suprir a demanda em vários mercados, principalmente na região sudeste do país. As maiores dificuldades de produção são encontradas em

duas fases do processo. Na larvicultura, altas mortalidades são freqüentes em decorrência do canibalismo e da ação de patógenos, facilitados pelos hábitos bentônico e gregário das larvas, que propiciam freqüentes contatos entre elas. Na fase seguinte, o condicionamento alimentar exige intensa mão-de-obra e cuidados redobrados com a qualidade da água, por longo período de tempo.

A larvicultura do pintado é realizada em ambientes escuros, prática que pretende manter uma certa analogia com os hábitos noturnos e as características do ambiente onde a espécie é encontrada. Contudo, tal procedimento não está fundamentado em informações técnicas resultantes de experimentação apropriada, mas em rotinas que não consideram as possíveis implicações da ausência de luz no desenvolvimento posterior dos animais.

O conhecimento das estruturas sensoriais e a compreensão do comportamento larval, particularmente o comportamento alimentar mediado por essas estruturas, são essenciais para o estabelecimento de uma dieta apropriada e seu uso efetivo. Sem a adequada interação, qualquer dieta, se não for suficientemente ingerida, tornar-se-á insatisfatória (APPELBAUM e RIEHL, 1997).

Os objetivos deste trabalho foram: 1) Conhecer aspectos da morfologia e do comportamento das larvas de pintado *Pseudoplatystoma coruscans*, relacionados à alimentação; 2) Poder fornecer subsídios para elaboração de uma estratégia alimentar adequada, baseada na utilização de alimento vivo, em condições de cultivo “indoor”.

Desse modo, foram estudados:

1. o desenvolvimento morfológico de embriões e larvas mantidas em duas condições de iluminação (ambiente iluminado e ambiente escuro), utilizando microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura, com ênfase nas estruturas sensoriais;
2. o consumo de alimento vivo (náuplios do microcrustáceo *Artemia*) por larvas de várias idades, em duas diferentes condições de iluminação (ambiente iluminado e ambiente escuro);
3. o consumo, por larvas de várias idades, de alimento vivo em diferentes densidades de fornecimento.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Visão**

Ao eclodir, as larvas de muitas espécies de teleósteos apresentam olhos despigmentados e quase certamente não funcionais. Porém, no início da alimentação exógena, a retina, que na maioria das espécies é constituída exclusivamente de cones, células fotorreceptoras envolvidas na visão de cores e na acuidade visual, já é adequada para a alimentação, uma vez que possibilita a visão mesmo em baixas intensidades luminosas (BLAXTER, 1986). Desse modo, aquele autor sugere que diversos resultados que indicam a ocorrência de alimentação no escuro devem ser observados com cautela, pois é provável que tenham subestimado o fato de que a luz pode ter sido suficiente para a visão através dos cones.

Durante o desenvolvimento, no período de transição para uma fonte exógena de alimento, mudanças de hábitat ou modificações em determinados fatores ambientais e sociais que afetem o crescimento, podem responder por modificações na estrutura do olho. Embora, em peixes, a taxa de crescimento do olho em proporção ao crescimento corpóreo possa depender do nível de importância do sentido da visão para a espécie, o crescimento absoluto do olho pode ser bastante expressivo e, conseqüentemente, as alterações na função visual e nos comportamentos mediados pela visão (FERNALD, 1985, 1988; NOAKES e GODIN, 1988).

### **2.2 Olfato e Paladar**

Em animais aéreos e terrestres as populações de receptores químicos podem ser classificadas como as que respondem, através de longas distâncias, a

substâncias freqüentemente disseminadas no ar em baixas concentrações, como no olfato, e aquelas que são geralmente mais concentradas e percebidas diretamente pelo contato, associadas à detecção de alimento, como no sentido do paladar. Por outro lado, em peixes e outros vertebrados aquáticos, cuja sensibilidade química é extremamente elevada, os receptores químicos respondem fisiologicamente a moléculas dissolvidas na água, as quais provavelmente envolvem o animal constantemente, e podem levar à formação de comportamentos tão díspares quanto os relacionados ao acasalamento ou à alimentação. Desse modo, a discriminação funcional entre os sistemas sensoriais químicos, particularmente entre olfato e paladar, não é tão clara como nos vertebrados terrestres, e tem sido alvo de discussão (NOAKES e GODIN, 1988).

Laverack (1988) propôs, com base principalmente na anatomia de determinadas estruturas de moluscos, crustáceos e insetos, que se considere o paladar como um sentido combinado, com sensores químicos e mecânicos ativos na mesma estrutura terminal, enquanto que o olfato seria o sentido no qual somente os sinais químicos são recebidos por uma determinada população de receptores. Esses atributos devem ter relação com limiares de estimulação, ou seja, a função de contato é importante como um componente do paladar, enquanto que no olfato o contato simultâneo não é essencial.

Não obstante, evidências experimentais indicam papéis funcionais distintos para ambos os sistemas, em teleósteos (HARA, 1971).

Caprio (1988) definiu o olfato como o sentido empregado no processamento de informações químicas detectadas e transmitidas ao sistema nervoso central por meio dos neurônios bipolares que compõem o nervo olfativo (nervo cranial I), enquanto que o paladar é o sentido que processa informações químicas detectadas por células gustativas e transmitidas centralmente pelos nervos facial (nervo cranial VII), glossofaríngeo (IX) e vagal (X).

Nos teleósteos, o olfato parece atuar como o mediador geral dos sinais químicos envolvidos em vários comportamentos como seleção de habitats, migração, cuidados parentais e prevenção a predadores (HARA, 1971), e o paladar parece estar envolvido nas fases do comportamento alimentar de busca e ingestão do alimento (NOAKES e GODIN, 1988).

As células receptoras sensoriais de ambos os sistemas são chamadas de "filtros periféricos" já que devem discriminar os estímulos químicos relevantes em meio ao "ruído químico" de fundo que existe no ambiente próximo aos animais (CAPRIO, 1988). Embora elas tenham em comum a capacidade de discriminação de estímulos, diferem quanto à morfologia e localização. Enquanto as células olfativas se restringem ao epitélio nasal, o sistema gustativo é mais amplamente distribuído, com os botões gustativos ocorrendo no epitélio oral e faringiano, bem como sobre a superfície corporal e a superfície das nadadeiras, de várias espécies (LANE e WHITEAR, 1982; REUTTER, 1982).

### **2.2.1 Olfato**

Somente a partir da década de 1960, estudos de microscopia eletrônica caracterizaram a estrutura fina das células receptoras olfativas (TRUJILLO-CENÓZ, 1961). Utilizando microscopia de transmissão, aquele autor determinou que as células olfativas são neurônios bipolares que enviam à superfície do epitélio um processo cilíndrico delgado, ou dendrito, que termina numa protuberância em forma de uma pequena calota esférica de onde se projetam cílios longos, em direção ao lúmen da câmara nasal.

A estrutura do epitélio sensorial foi subseqüentemente estudada em muitos teleósteos (YAMAMOTO, 1982) o que resultou em uma descrição mais acurada desse tecido. Além daquele primeiro tipo celular descrito, as células sensoriais ciliadas, outras categorias foram reconhecidas: as células ciliadas não sensoriais, as células receptoras com microvilosidades e as células bastão ("rod cells"). Na atualidade é amplamente aceito que as células sensoriais ciliadas e com microvilosidades são realmente as células receptoras olfativas dos teleósteos.

Ademais da região sensorial, o epitélio olfativo apresenta também uma zona indiferente. Com base em uma extensa pesquisa com teleósteos, Yamamoto e Ueda (YAMAMOTO, 1982) distinguiram quatro tipos de padrões de distribuição no arranjo entre essas duas regiões epiteliais. No tipo I o epitélio sensorial é contínuo, com zonas marginais de epitélio indiferente; no tipo II, o sensorial é separado em grandes áreas por faixas de epitélio indiferente; no III, os dois tecidos formam regiões

irregularmente distribuídas, enquanto que no tipo IV o epitélio sensorial está disperso em discretas ilhotas circundadas por tecido indiferente. Além disso, aqueles autores determinaram também a densidade de cílios das células não sensoriais. Considerando essas duas características, ou seja, os padrões de distribuição e a densidade de cílios, Yamamoto e Ueda (YAMAMOTO, 1982) verificaram que aquelas espécies convencionalmente agrupadas como detentoras de grande acuidade olfativa apresentam área sensorial contínua (tipo I ou II) e cílios não sensoriais densamente arranjados, enquanto que aquelas que se acredita sejam essencialmente predadoras visuais apresentam área sensorial dispersa (tipo III ou IV) com cílios não sensoriais esparsos ou ausentes.

Um determinado padrão de distribuição do epitélio sensorial, contudo, somente pode ser detectado em um animal jovem ou adulto, cujo órgão olfativo tenha alcançado um certo grau de maturidade, após a metamorfose (YAMAMOTO, 1982).

Na medida em que avança o desenvolvimento ontogenético, a depressão olfativa torna-se mais larga e profunda. Cada depressão forma uma câmara onde a aproximação, e depois a fusão, das bordas epiteliais externas define um par de orifícios com formato de "número 8" que constituem as narinas anterior e posterior. Nesta fase, o órgão olfativo alcança sua configuração externa final. Esse tipo de formação das narinas é comum em teleósteos (APPELBAUM e RIEHL, 1997; IWAI, 1980; MANA e KAWAMURA, 2002), muito embora a formação de narinas anormais, com abertura nasal única, seja um fenômeno já registrado (MANA e KAWAMURA, 2002).

### **2.2.2 Paladar**

Células gustativas em peixes, como em outros vertebrados, aparecem primariamente em estruturas com formato de pêra, denominadas botões gustativos, localizados na epiderme e separados dos tecidos subjacentes por uma membrana basal (REUTTER, 1982). Várias outras células sensoriais solitárias que ocorrem na epiderme são, com base em sua citologia, também consideradas receptores químicos (JAKUBOWSKI e WHITEAR, 1990; LANE e WHITEAR, 1982). Kotrschal

(1992) afirma, por outro lado, que elas desempenham funções biológicas diferentes daquelas dos botões gustativos. Constituem o chamado "sentido químico comum", freqüentemente definido como o sentido que é estimulado pela ação de "substâncias irritantes" sobre superfícies mucosas expostas ou semi-expostas, como as do nariz, boca, olho, trato respiratório, ânus e aberturas genitais (SILVER, 1987).

Nos botões gustativos, além das células basais e do plexo de fibras nervosas, alguns tipos de células foram primariamente identificados, em função de alguma variabilidade na forma e nas organelas celulares (GROVER-JOHNSON e FARBMAN, 1976; REUTTER, 1982). Em estudos com um bagre do gênero *Ictalurus*, esses autores indicaram a existência de dois tipos distintos de células de origem ectodérmica. A célula clara, ou "light cell" (ou "f-cell", segundo CRISP et al., 1975, em *Ciliata mustela*, um teleósteo marinho), cujo ápice termina em uma única microvilosidade em formato de taco ou bastão, é a célula considerada como o receptor gustativo, devido a seus contatos sinápticos com processos nervosos no interior do botão. O outro tipo celular, a célula escura, ou "dark cell" (ou "t-cell", CRISP et al., 1975), com inúmeras vilosidades bastante curtas, é apontada como célula de suporte. Reutter (1982) indica a ocorrência de sinapses entre este último tipo celular e as fibras do plexo nervoso subjacente, sugerindo, desse modo, uma função sensorial para a célula escura. A função sensorial dessa célula é considerada um aspecto controverso da fisiologia dos botões gustativos. Outro aspecto controverso diz respeito às células basais. Reutter (1982) também propõe que essas células, formando sinapses com as fibras nervosas que penetram no botão gustativo, poderiam atuar como receptores mecânicos. O estímulo decorrente da deflexão causada pelo alimento, ou outras partículas, alcançaria as células basais via processos celulares das células gustativas (células claras) que até elas se estendem, de onde o impulso mecânico seria transmitido aos neurônios presentes na base dos botões.

Em uma extensa pesquisa com 26 espécies de teleósteos, Jakubowski e Whitear (1990) concluíram, contudo, que tanto a função sensorial das células de suporte quanto a função mecanorreceptora das células basais não estão estabelecidas. Para os autores, as primeiras estão vinculadas à secreção de muco na região do poro do botão e ao revestimento e suporte das células sensoriais,

enquanto que as células basais provavelmente tenham função de organização através da secreção de substâncias para a circulação capilar das papilas dermais na base dos botões.

### **2.3 Mecanorrecepção**

Em peixes, os principais receptores de estímulos externos vibratórios e gravitacionais são os neuromastos, unidades sensoriais básicas constituídas de células de suporte, células do manto e células ciliadas. As células ciliadas são aquelas cujas terminações sensoriais, os estereocílios e o mecanocílio, são recobertos pela cúpula, uma substância secretada principalmente pelas células do manto, a qual é semelhante à gelatina, e cuja deflexão mecânica é responsável pela sensibilização do receptor (BLECKMANN, 1993; IWAI, 1980; NOAKES e GODIN, 1988).

Os neuromastos são estruturas que estão associadas ao ouvido interno e à linha lateral. Em muitos teleósteos, o sistema da linha lateral consiste de uma fileira de poros distribuídos ao longo da cabeça e do tronco, que conduzem a um canal subjacente cheio de fluido, o canal da linha lateral (BLECKMANN, 1993). Aqueles neuromastos associados com a linha lateral podem estar localizados no interior desse canal, e nesse caso são denominados neuromastos de canal, ou sobre a superfície, em sulcos ou covas rasas na epiderme, e são ditos neuromastos superficiais ou livres (BLAXTER, 1986; BLECKMANN, 1993; COOMBS et al., 1988; WEBB, 1989a, 1989b, 1989c, 2000a, 2000b).

Neuromastos livres são estruturas da linha lateral de peixes, formados sobre a cabeça e o corpo durante os estágios iniciais de desenvolvimento. Aparecem como placodes ectodérmicos, cuja quantidade aumenta durante a ontogenia inicial, sendo que alguns se diferenciam em neuromastos livres antes da eclosão (OTSUKA e NAGAI, 1997). A diferenciação das terminações nervosas aferentes e eferentes das células sensoriais, depois que a cúpula está formada, indica que o órgão se tornou funcional (IWAI, 1964; WEBB, 1989a, 2000b). Os neuromastos superficiais que se desenvolvem na cabeça e no tronco do embrião, ou das larvas logo após a eclosão, são chamados de prováveis neuromastos de canal (TARBY e WEBB, 2003). Os

autores utilizam a expressão “provável” pois, nessa fase de desenvolvimento do receptor, sua morfologia é idêntica à de um neuromasto que poderá permanecer superficialmente na epiderme, durante o desenvolvimento. A posição desses receptores em larvas e peixes jovens prediz sua posição no interior dos canais, no animal adulto (WEBB, 1989b).

O sistema da linha lateral é o produto de interações complexas no desenvolvimento ontogenético inicial, que envolvem os placodes embrionários, os ossos dérmicos cefálicos, que dão suporte aos canais, e a geometria da musculatura axial, que serve como guia para a migração dos placodes (WEBB, 1989b). Esse sistema se desenvolve em três fases, que compreendem a migração dos placodes ectodérmicos craniais, a qual delinea no embrião as linhas de neuromastos, seguida pela diferenciação e o crescimento dos receptores. Na última fase ocorre a morfogênese dos vários segmentos dos canais da cabeça e do tronco (WEBB, 2000b).

O padrão da morfogênese dos canais, de acordo com Tarby e Webb (2003) é definido como uma série de quatro estágios que descrevem o desenvolvimento de cada segmento individual, nas proximidades de um provável receptor de canal, assim descritos: no estágio 1 o neuromasto aparece sobre o epitélio plano acima do osso dérmico delgado, subjacente; no estágio 2 o epitélio forma uma leve depressão (estágio 2A), que se acentua durante a ontogenia inicial, tornando-se uma reentrância profunda (estágio 2B) na qual, de cada lado do neuromasto ergue-se, paralelamente, uma parede intramembranosa ossificada, a partir da camada óssea dérmica no assoalho do canal. No estágio 3, a fusão do epitélio sobre o neuromasto aprisiona o receptor no interior do canal, enquanto que no 4 as paredes ossificadas também se fundem sobre o neuromasto, formando um canal cujo teto também estará ossificado.

## **2.4 Alimentação**

O êxito de uma dieta para a sobrevivência e o crescimento larval é determinado por um balanço entre o esforço de captura e as quantidades de energia e nutrientes que a larva adquire com a sua ingestão. Isto depende de fatores

intrínsecos da espécie, como tamanho ao nascer, taxa de crescimento, idade, resposta e tolerância a fatores ambientais, comportamento alimentar, exigências nutricionais, e outros, e das características da presa, como tamanho e forma, concentração, valor calórico, conteúdo de nutrientes, e outros (PASCUAL e YÚFERA, 1987).

O comportamento alimentar é consequência de vários fatores do meio, relacionados às características da presa e da própria larva (CUNHA e PLANAS, 1999). Para que a alimentação se efetive, é preciso que a presa seja percebida, que se desencadeie a reação de captura e que esta ocorra com êxito. A percepção da presa é condicionada pela capacidade visual da larva, dada pela acuidade visual (BLAXTER, 1968; MILLS et al., 1986), pelos limites de visão e sensibilidade espectral (BLAXTER, 1969; GIRI et al., 2002), e pela cor, contraste sobre o fundo (DURAY et al., 1996), pelo tamanho e distribuição das presas (CUNHA e PLANAS, 1995, 1999; GOLDAN et al., 1997; MILLS et al., 1986), pela mobilidade e concentração de presas (MILLS et al., 1986; PUVANENDRAN e BROWN, 1999), além da intensidade da luz e do período de iluminação (PASCUAL e YÚFERA, 1987).

Muitos dos ritmos fundamentais na natureza (diários ou sazonais) estão relacionados à periodicidade da luz. Diversos animais, incluindo peixes, exibem um ciclo diário em suas atividades, que, com frequência, é predominantemente uma questão de fotocinese: ou os animais são mais ativos na luz, ou são mais ativos no escuro. Nos peixes, o comportamento que inclui as atividades de alimentação e locomoção, é determinado pelo fotoperíodo (BOUEF e LE BAIL, 1999).

Assim sendo, para o desenvolvimento de um protocolo alimentar para larvas de peixes, a manipulação de determinada condição ambiental, seja, por exemplo, modificando o período de iluminação ou alterando a qualidade e a intensidade da luz, seja controlando a oferta e a qualidade do alimento, pode desempenhar um papel essencial.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Condições gerais

Em janeiro de 2001, ovócitos de pintado *Pseudoplatystoma coruscans* (Siluriformes, Pimelodidade) foram obtidos por extrusão e fertilizados, a partir de reprodutores mantidos em cativeiro, em uma propriedade particular denominada "Piscicultura Santa Cândida", no município de Santa Cruz da Conceição - SP. Após a hidratação, os ovos foram acondicionados em sacos plásticos de 60 litros e transportados, em um percurso de aproximadamente 40 km, para a Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento (UPD) da Secretaria de Agricultura e Abastecimento, localizada em Pirassununga – SP, onde foram incubados em dois recipientes cilindrocônicos com fluxo contínuo de água. Decorrido um intervalo de cerca de 13 horas, um dos recipientes foi totalmente recoberto por lonas plásticas pretas, em seguida à constatação do adequado desenvolvimento embrionário e do início do processo de eclosão, de modo que as larvas, a partir daquele momento, permaneceram continuamente em um ambiente escuro. O outro recipiente foi mantido sob fotoperíodo natural, de cerca de 13 horas de duração, porém em condições de iluminação reduzida (abaixo de 50 lux), predominantes no interior do laboratório de manutenção.

Um dia após a eclosão, a maior parte (algumas milhares) destas larvas foi transferida para recipientes de fibrocimento de 250 litros de capacidade, em ambiente com baixa intensidade luminosa (< 50 lux), onde permaneceu por um período de cinco a sete semanas, durante o qual foram realizadas observações da distribuição e da movimentação dos animais, várias vezes ao dia, mas principalmente nos horários de alimentação. Destes recipientes foram retirados os grupos de animais que se destinaram para os experimentos de ingestão de alimento descritos mais adiante.

Simultaneamente, larvas de cada um dos recipientes de incubação (claro e escuro), foram transferidas, na densidade inicial de dez indivíduos.L<sup>-1</sup>, para quatro caixas de fibrocimento de 50 litros de capacidade, com 40 litros úteis, providas continuamente de água rica em oxigênio. Duas delas foram mantidas sob fotoperíodo natural, nas mesmas condições de iluminação ambiental reduzida (ambiente claro = AC). As duas caixas destinadas ao outro grupo foram recobertas com tampas de madeira revestidas com placas de poliestireno (isopor), de modo a ajustar-se perfeitamente à abertura do recipiente, impedindo a entrada de luz (ambiente escuro = AE). Os animais permaneceram nessas quatro caixas por cerca de três semanas, período durante o qual foram retiradas as amostras utilizadas para a documentação do desenvolvimento de estruturas sensoriais, conforme descrito no item específico, mais adiante.

Em uma das paredes laterais de cada recipiente foi efetuado um pequeno orifício por onde penetrava um tubo plástico de 5 mm de diâmetro, revestido com fita adesiva preta, de modo a manter a integridade do ambiente quanto à ausência de luz. Esse tubo permitia a entrada contínua de água no interior dos recipientes, proporcionando um fluxo aproximado de 30 L.h<sup>-1</sup>.

Toda a água utilizada nas caixas de manutenção de 250 L ou de 50 L provinha, por gravidade, de um reservatório elevado, com 4.000 L de capacidade, onde era armazenada após dupla filtração em filtros de areia e pedras. Amostras de água das caixas de manutenção de larvas foram coletadas pela manhã e à tarde, duas vezes por semana, para determinação dos valores de algumas variáveis como oxigênio dissolvido (em mg.L<sup>-1</sup>), pH (em unidades) e amônia (em mg.L<sup>-1</sup>). Para as determinações de oxigênio e pH utilizou-se equipamento portátil HORIBA pH/DO Meter D25, enquanto que para amônia empregou-se o método de comparação de cores através do conjunto de reagentes MERCK Microquant 14750. Valores da temperatura da água também foram anotados, três vezes ao dia, utilizando-se termômetro digital DELTA MC-T 102. Para o oxigênio dissolvido, os teores variaram entre 5,70 e 6,78 mg.L<sup>-1</sup>, correspondendo a 79,1 e 86,8% de saturação, nas temperaturas de 28,5°C e 23,9°C, respectivamente; o pH situou-se entre 7,4 e 7,8, enquanto que os valores de amônia permaneceram abaixo de 0,2 mg.L<sup>-1</sup>. A temperatura da água oscilou entre 23,9°C e 29,8°C.

Medidas prévias de iluminância (em lux) foram realizadas no interior dos recipientes tampados, por meio de equipamento apropriado (luxímetro Panlux/Gossen), e comprovaram a ausência de luz.

Em todos os recipientes, as larvas foram alimentadas em pulso, três vezes ao dia, com náuplios de *Artemia* recém-eclodidos, *ad libitum*. A fim de tornar mínima a exposição à luz, além dos intervalos bastante rápidos para fornecimento do alimento (poucos segundos), as caixas escuras foram abertas uma única vez ao dia para limpeza do excesso de dejetos, momento em que se observava a distribuição dos animais.

### **3.2 Condições específicas**

#### **3.2.1 Morfologia – microscopia eletrônica e estereoscópica**

Para este estudo, o termo "embrião" referiu-se ao estágio anterior à eclosão, o termo "larva" aos estágios posteriores à eclosão. Quando desapareceram as características larvais típicas, como saco vitelínico e membranas primordiais, tendo sido substituídas por estruturas semelhantes às do adulto, os animais foram denominados de "juvenis".

A retirada de amostras teve início após 6 horas e 30 minutos da fertilização. Outras amostras foram obtidas com 13 horas (no momento da eclosão), e nos seguintes tempos de 25, 38, 50, 63, 74, 87, 98, 134, 183, 232, 280, 328 e 400 horas pós-fertilização. Em cada amostra, entre dez e quinze exemplares foram coletados, anestesiados em solução de benzocaína a 0,01% e imediatamente fixados com solução de Karnovsky por 24 horas, em seguida substituída por solução tampão cacodilato de sódio 0,1M em pH 7,4.

##### **3.2.1.1 Microscopia eletrônica de varredura**

Parte dos exemplares retirados em cada amostra foi destinada para as observações das estruturas sensoriais, em microscopia eletrônica de varredura. No

Laboratório de Microscopia Eletrônica da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal, os embriões foram cuidadosamente liberados do interior dos ovos, pela ruptura e remoção do córion. Em seguida, embriões e larvas, após sucessivas lavagens com o tampão cacodilato de sódio 0,1M, foram pós-fixados em solução de tetróxido de ósmio ( $\text{OsO}_4$ ) a 1%, por duas horas, e desidratados em série crescente de álcool etílico. Posteriormente, os espécimes foram secos em secador de ponto crítico TOUSIMIS 780-A, montados sobre suportes de latão com fita adesiva de face dupla e recobertos com uma fina camada de ouro (cerca de 35 nm), em equipamento apropriado (metalizador JEOL ION SPUTTER JFC-1100). Após esses procedimentos, os espécimes foram examinados e elétron-micrografados em microscópio eletrônico de varredura (JEOL JSM-5410).

Quando necessário, foram realizadas determinações do tamanho de algumas estruturas, como comprimento de barbilhões, diâmetro do órgão olfativo e do olho, da distância entre o olho e a extremidade do focinho, ou da densidade de receptores, diretamente das elétron-micrografias, por meio de um paquímetro MITUTOYO, obedecendo-se as medidas das barras de escala presentes em cada uma.

### **3.2.1.2 Microscopia estereoscópica**

A outra parte dos exemplares foi mantida na UPD-Pirassununga, sob refrigeração, em solução tampão cacodilato de sódio 0,1M para posterior observação do desenvolvimento das nadadeiras, da formação dos raios e do início da pigmentação, bem como da redução da vesícula vitelina e da formação do tubo digestório, para o que utilizou-se um estereoscópio WILD M3Z dotado de ocular com escala micrométrica.

### **3.2.2 Alimentação – determinação das curvas de crescimento larval e da ingestão de presas**

### 3.2.2.1 Determinação das curvas de crescimento

Os valores dos comprimentos totais, das larvas destinadas ao acompanhamento do desenvolvimento morfológico com microscopia de luz, foram determinados sob estereoscópio WILD M3Z provido de ocular micrométrica.

#### **Análise estatística**

Os efeitos da luminosidade do ambiente de cultivo (ambiente claro e ambiente escuro) e da idade (0, 12, 25, 37, 50, 61, 74, 85, 121, 170, 219, 267, 315 e 387 horas pós-eclosão) sobre o comprimento das larvas foram avaliados em um experimento com delineamento inteiramente casualizado, com os tratamentos em um esquema fatorial 2x14, com números de repetições por tratamento variando de 4 a 15. Os efeitos dos tratamentos foram avaliados estatisticamente através de análise de variância utilizando o PROC MIXED (SAS Institute, 1999), por considerar que a variabilidade das respostas não se manteve constante ao longo do tempo. Na presença de interação entre os fatores, a análise foi decomposta com o intuito de comparar as médias de ambos os ambientes, em cada uma das idades, utilizando o teste F-Snedecor.

Para estudar o comportamento do comprimento das larvas submetidas aos dois ambientes de luminosidade, nessas várias idades, foram ajustados modelos exponenciais de crescimento, de acordo com a expressão:

$$CT = a \exp(b * h)$$

onde CT = comprimento total (mm) e h = idade (horas pós-eclosão), utilizando o PROC NLIN (SAS Institute, 1999). Os parâmetros "a" e "b" das curvas correspondentes ao ambiente claro e ao ambiente escuro foram comparados utilizando o teste de razão de verossimilhança (REGAZZI, 2003). Os resultados foram considerados significativos quando  $P < 0,05$ .

Com o intuito de verificar possíveis diferenças nas velocidades de crescimento das larvas em cada ambiente de cultivo, foram calculadas as taxas médias de crescimento ( $\text{mm.h}^{-1}$ ) para cada intervalo de idades, com os valores dos

comprimentos médios obtidos em cada idade, para ambos os ambientes de luminosidade, a partir das curvas de regressão ajustadas.

### 3.2.2.2 Ingestão de presas em diferentes ambientes de luminosidade

Para o estudo referente à ingestão de presas, em diferentes condições ambientais de luminosidade (claro e escuro), grupos de larvas com 3, 5, 7, 9, 11 e 13 dias de idade, provenientes dos recipientes de manutenção de 250 L expostos ao fotoperíodo natural, previamente mencionados, foram transferidos para os recipientes experimentais (cilindros de PVC) descritos a seguir.

Utilizaram-se dez recipientes cilíndricos de PVC de 10 cm de altura e 7 cm de diâmetro, onde, em uma das extremidades (fundo), foi fixada uma tela plástica com 370  $\mu\text{m}$  de abertura de malha, adequada para impedir a fuga das larvas. Tais cilindros foram dispostos em duas bandejas plásticas (cinco em cada uma), às quais foi adicionada água salinizada a 2 ‰, em quantidade suficiente para que cada cilindro encerrasse um volume de aproximadamente 250 mL de água. Uma das bandejas contendo 5 cilindros foi mantida, no laboratório, sob iluminação natural; a outra, também com 5 cilindros, foi recoberta com lonas pretas, conservando-se, portanto, no escuro, condição comprovada por determinações prévias de iluminância.

Em cada cilindro experimental foram colocadas 20 larvas de pintado, mantidas anteriormente em jejum por pelo menos 12 horas, e agregados náuplios de *Artemia* recém-eclodidos, resultando em concentrações que variaram entre aproximadamente 22 e 34 presas.mL<sup>-1</sup>, de maneira que a alimentação foi considerada *ad libitum*. A disposição dos cilindros plásticos apoiados no fundo da bandeja impedia a fuga dos náuplios durante os períodos de alimentação das larvas.

Ao final do intervalo de 15 minutos de alimentação, que em ensaios preliminares foi determinado como sendo suficiente para a saciedade, os cilindros foram transferidos para duas outras bandejas plásticas, com água salinizada limpa. Esse movimento permitiu a eliminação, do interior dos recipientes, através dos orifícios da tela, dos náuplios não ingeridos, de modo que nenhum alimento permaneceu disponível para as larvas. Em seguida, os animais foram anestesiados em água gelada e sacrificados em formol tamponado a 4%.

A determinação da quantidade individual absoluta de náuplios ingeridos foi realizada por dissecação do trato digestório e exposição do conteúdo estomacal, sob estereoscópio.

### **Análise estatística**

Os efeitos da idade das larvas (3, 5, 7, 9, 11 e 13 dias pós-eclosão) e do ambiente de cultivo (ambiente claro e ambiente escuro) sobre a quantidade de náuplios ingeridos foram avaliados em um experimento com delineamento inteiramente casualizado, com os tratamentos em um esquema fatorial 2x6, com cinco repetições por tratamento. Os efeitos dos tratamentos foram avaliados estatisticamente através de análise de variância utilizando o PROC GLM (SAS Institute, 1999). Na presença de interação entre os fatores, a análise foi decomposta com o intuito de comparar as médias de ambos os ambientes, em cada uma das idades, utilizando o teste F-Snedecor.

Para estudar o comportamento da ingestão de náuplios por larvas de várias idades, submetidas aos dois ambientes de luminosidade, foram ajustados modelos exponenciais de ingestão, de acordo com a expressão:

$$\text{Ing} = a \exp(b * h)$$

onde Ing = ingestão (número de náuplios) e h = idade (dias pós-eclosão), utilizando o PROC NLIN (SAS Institute, 1999). Os parâmetros "a" e "b" das curvas correspondentes ao ambiente claro e ao ambiente escuro foram comparados utilizando o teste de razão de verossimilhança (REGAZZI, 2003). Os resultados foram considerados significativos quando  $P < 0,05$ .

### **3.2.2.3 Ingestão de presas em função da idade larval e da densidade de presas**

Para este estudo, grupos de larvas com 5, 7, 11 e 13 dias de idade, provenientes das caixas de manutenção de 250 L de capacidade, previamente mencionadas, foram transferidos para os recipientes experimentais (frascos de vidro) com 100 mL de água salinizada a 2 ‰.

Foram utilizados cinco frascos com dez larvas cada um, mantidas em jejum por pelo menos 12 horas, para cada condição de densidade de presas (2, 4, 6 e 8 presas.mL<sup>-1</sup>). A luminosidade no interior do laboratório, durante a experimentação, variou de acordo com o fotoperíodo natural (de ~30 a 500 lux), embora nos recipientes experimentais os valores tenham permanecido em níveis mais baixos (de ~30 a 60 lux).

Ao final do intervalo de três horas de alimentação, as larvas foram isoladas do alimento, por meio de peneiras adequadas e, as presas não ingeridas, sacrificadas por imersão em formol tamponado a 4%. Em seguida, foi efetuada a contagem, sob estereoscópio, do número de náuplios remanescentes em cada frasco, o que permitiu determinar a quantidade média de náuplios ingeridos, em cada densidade de presa, no intervalo de 3 horas.

#### **Análise estatística**

Os efeitos da idade das larvas (5, 7, 11 e 13 dias pós-eclosão) e da densidade de presas (2, 4, 6 e 8 presas.mL<sup>-1</sup>) sobre a quantidade de náuplios ingeridos foram avaliados em um experimento com delineamento inteiramente casualizado com os tratamentos em um esquema fatorial 4x4, com cinco repetições por tratamento. Os efeitos dos tratamentos foram avaliados estatisticamente através de análise de variância, utilizando o PROC GLM (SAS Institute, 1999).

Na presença de interação entre os fatores, a análise foi decomposta com a finalidade de comparar os valores das ingestões médias das quatro densidades em cada uma das idades, utilizando o teste F-Snedecor. Posteriormente, um estudo de regressão utilizando contrastes ortogonais foi conduzido, com o intuito de decidir qual o polinômio que explicasse o comportamento da ingestão média em função da densidade de presas, em cada uma das idades. Os resultados foram considerados significativos quando  $P < 0,05$ .

## 4. RESULTADOS

Durante o período de permanência das larvas de pintado *Pseudoplatystoma coruscans* nas caixas de manutenção de 250 L, as atividades rotineiras de limpeza dos recipientes e de alimentação possibilitaram observar o deslocamento dos animais na busca pelo alimento ou por um refúgio. Este último, na ausência de estruturas que servissem àquele propósito, levava os animais a formarem aglomerados próximos aos cantos dos recipientes ou nos locais onde eventualmente ocorria alguma zona mais sombreada. Tais comportamentos não se originaram de maneira abrupta, mas foram se estabelecendo gradualmente durante o início de desenvolvimento ontogenético, paralelamente às alterações morfológicas em curso, descritas no tópico seguinte.

### 4.1 Desenvolvimento morfológico – microscopia eletrônica de varredura e microscopia estereoscópica

As informações a seguir referem-se indistintamente ao desenvolvimento de larvas cultivadas em ambiente iluminado e em ausência de luz. Quando algum animal apresentou determinada característica morfológica que se sobressaía em um ou outro ambiente, o fato está assinalado. Entre colchetes aparecem os valores de comprimento total e da temperatura da água no momento da coleta das larvas. Naqueles estágios onde ocorrem dois valores para as medidas de comprimento, tais valores referem-se a animais provenientes de ambiente claro (AC) e ambiente escuro (AE), respectivamente.

Tendo em vista que não foram realizadas observações ultraestruturais, a terminologia adotada para a descrição de determinadas estruturas, como mecanócílios, estereocílios e microvilosidades, baseia-se naquela utilizada por diversos autores, em estudos com peixes teleósteos e não-teleósteos (APPELBAUM

e RIEHL, 1997; BLECKMANN, 1993; KATSUKI e YANAGISAWA, 1982; PLATT, 1988; REUTTER, 1982; WEBB, 2000b; WEBB e NORTHCUTT, 1997; YAMAMOTO, 1982; ZAKON, 1988)

**Embrião (córion removido) – 6 horas e 30 minutos pós-fertilização [ca. 0,9 mm CT - 29,0°C].**

O embrião apresenta aspecto globuloso e a vesícula vitelina é a estrutura predominante. Já se observa também o início do "descolamento" do botão caudal e da cabeça (Figura 1), onde se distingue, em ambos os lados, uma protuberância arredondada em frente à qual projetam-se, acima da superfície, pequenas estruturas circulares com aproximadamente 7 a 10 µm de diâmetro e formato de receptáculo (Figura 2), de onde emergem prolongamentos com aspecto de cílios (Figura 3). As regiões onde se localizam tais estruturas circulares constituem provavelmente os placodes olfativos, grupos de células primordiais ectodérmicas que originarão os órgãos olfativos.

As células da epiderme do embrião exibem um padrão característico de microcristas, lembrando o aspecto de uma impressão digital. Além disso, toda a superfície da vesícula vitelina, da cabeça e do botão caudal apresenta pequenas protuberâncias com formato de dilatações saciformes ou ácinos, que lembram o aspecto de amora.

**Embrião / Larva – 13 horas pós-fertilização [embrião com ca. 1,9 mm CT e larva com ca. 2,8 mm CT - 29,1°C].**

A observação *in vivo* revela que, nesta fase, o processo de eclosão está em andamento. Cerca de 40% das larvas já eclodiram; ainda não apresentam qualquer pigmentação. Os embriões restantes se encontram envoltos pelo córion, embora a movimentação bastante ativa dos animais indique a ruptura iminente desse envoltório. Enquanto as larvas que já eclodiram assumem uma postura corporal totalmente distendida, os embriões ainda apresentam parte do tronco e a cauda bastante encurvados, aspecto típico dessa fase.

Mesmo ainda encurvadas, as regiões cefálica e caudal do embrião aparecem "descoladas" do vitelo. Na larva, o "descolamento" da cabeça faz com que essa estrutura, antes voltada para a região ventral do animal, torne-se mais elevada e mais alinhada com o eixo longitudinal do vitelo (Figura 4).

Nos placodes olfativos ocorre uma expansão no sentido rostral, tornando essas regiões ligeiramente elípticas, onde as células proliferativas se situam na porção ântero-inferior enquanto que os componentes mais maduros, na porção mais dorsal (Figura 4). Além da expansão, tem início o afundamento, na epiderme, da área sensorial, de modo que essa região apresenta, agora, o aspecto de uma depressão rasa com formato elíptico, localizada lateralmente. O piso dessa depressão consiste de células não ciliadas e células sensoriais ciliadas de onde emergem muitos cílios, constituindo vários feixes (Figura 5).

A vesícula vitelina continua bastante desenvolvida. Sua dimensão, de aproximadamente 700  $\mu\text{m}$  no maior eixo, é quase três vezes superior à da região cefálica.

**Larva – 0,5 dia pós-eclosão (dpe) (25 horas pós-fertilização) [ca. 3,6 mm CT - 29,8°C].**

Em larvas com cerca de 25 horas pós-fertilização, ou 12 horas de vida livre, a região cefálica descola-se um pouco mais do vitelo, tornando-se mais alinhada com o eixo longitudinal do animal (Figura 6). Nessa região, o olho aparece ligeiramente proeminente entre a depressão olfativa e o botão do primeiro par de barbilhões.

Na zona limítrofe entre a vesícula vitelina, cuja quantidade de vitelo ainda é bastante grande, e a cabeça, observa-se, lateralmente, uma fenda levemente deslocada para a região dorsal do animal, a qual corresponde à abertura da câmara branquial. Não se verifica ainda a formação de um opérculo (Figura 6).

A boca ocupa posição ventral e, embora ainda não seja funcional, está quase que totalmente aberta.

O órgão olfativo adquire formato esférico, com contorno bem definido; é circundado por um epitélio típico, formando uma borda, caracterizado pela rede de microcristas descrita para os embriões. No assoalho da depressão olfativa ocorre um

aumento na quantidade de células ciliadas, que se distribuem de maneira desigual pela superfície da zona sensorial.

No epitélio adjacente à borda anterior do órgão olfativo, alguns cílios que emergem na superfície epidérmica provavelmente constituem as terminações sensoriais do primeiro neuromasto em formação na região cefálica. A cúpula não é detectável nessa fase. Ao lado desse neuromasto diferencia-se uma estrutura que provavelmente irá constituir um receptor elétrico (Figura 7).

O tubo digestório, embora ainda curto, inicia seu enovelamento a partir desta fase, quando uma primeira alça surge imediatamente após a vesícula vitelina, como uma dobra em formato de L (Figura 8); verifica-se também que as membranas primordiais dorsal e ventral continuam bem desenvolvidas em toda a extensão da larva.

Ainda que o padrão geral de desenvolvimento seja semelhante, nesta fase é possível distinguir algumas diferenças morfológicas, entre animais de mesma idade, porém oriundos de diferentes ambientes de criação: escuro (Figura 6) ou claro (Figuras 9, 10 e 11). Nas larvas AE, os barbilhões maxilares são ligeiramente maiores e já apresentam algumas papilas gustativas em início de formação, as quais também aparecem nos lábios. Na região olfativa a borda torna-se arredondada e mais regular, enquanto que feixes de cílios se distribuem de maneira menos caótica, concentrando-se preferentemente na região mais periférica da zona sensorial.

Desenvolvimento diferenciado também pode ser visto em larvas de mesma idade, porém procedentes de um mesmo ambiente, neste caso, o ambiente iluminado (Figuras 9, 10 e 11).

Nos animais menos desenvolvidos (Figuras 9 e 11), são visíveis, na boca, alguns vestígios de tecido, provavelmente epitelial, interligando as futuras estruturas bucais (os lábios), enquanto que os barbilhões, em início de formação, se restringem a pequenas protuberâncias dispostas lateralmente à abertura bucal; a vesícula óptica não é mais que uma ligeira ondulação entre o órgão olfativo e o primórdio dos barbilhões maxilares; na depressão olfativa, os cílios ainda se distribuem de maneira relativamente uniforme por toda a zona sensorial, cujo limite é bastante irregular. Nas larvas mais avançadas (Figura 10), a boca aparece totalmente livre e melhor delineada, sendo possível discernir a comissura labial; os barbilhões e a vesícula

óptica são facilmente identificáveis e, na região olfativa, os feixes ciliares tornam-se melhor estruturados e são vistos de maneira mais localizada, concentrando-se ligeiramente na região periférica da zona sensorial.

As diferenças morfológicas antes mencionadas parecem, contudo, ser decorrentes de variações individuais no desenvolvimento corpóreo e não uma consequência, até esta fase de vida, das condições de luminosidade dos ambientes de criação.

### **Larva – 1 dpe (38 horas pós-fertilização) [ca. 4,1 mm CT - 28,6°C].**

A boca alarga-se, permanecendo em posição ventral. Apresenta ambos os lábios, ainda não bem definidos, no mesmo plano horizontal (Figura 12). Observa-se, pela primeira vez, elevado número de papilas em desenvolvimento tanto nas bordas labiais quanto no revestimento bucal. Essas papilas, em cujos ápices irão diferenciar-se os dentículos e os botões gustativos, são estruturas saciformes que se projetam em direção ao interior da cavidade bucal (Figura 13).

A epiderme ao redor do olho forma um sulco ou ranhura estreita e profunda, de modo que o olho se torna mais proeminente (Figura 14).

Paralelamente, o epitélio da borda da depressão olfativa também se desenvolve, fazendo com que ela seja mais evidente. O piso dessa depressão, a região sensorial do órgão, aumenta de diâmetro, atingindo cerca de 80  $\mu\text{m}$ . Na periferia concentram-se os cílios mais longos, das células ciliadas não sensoriais, formando tufo ou feixes levemente inclinados no sentido anti-horário. Esses cílios aparecem também de forma mais esparsa, dispostos de maneira radial, do centro para a periferia, em toda a área sensorial da depressão, totalizando aproximadamente 80 feixes. Dispersos entre eles, embora de difícil visualização, aparecem outros prolongamentos que pertencem a dois tipos de células sensoriais presentes no epitélio olfativo: as células receptoras com microvilosidades, as quais são estruturas mais curtas e mais numerosas, e as células receptoras ciliadas, com cílios mais longos, porém em menor número (Figuras 14 e 15).

Os barbilhões desenvolvem-se rapidamente. O par anterior, os barbilhões maxilares, atingem cerca de 350  $\mu\text{m}$  de comprimento, o que representa um

crescimento de aproximadamente 3,5 vezes em um intervalo de 12-13 horas, sendo agora mais longo que o segundo par. Duas protuberâncias situadas na base do segundo par, ou primeiro par mentoniano, indicam a localização do terceiro par, em início de desenvolvimento. Nos barbilhões mais desenvolvidos destacam-se os primórdios de várias papilas saciformes onde irão formar-se os botões gustativos (Figura 12). Observa-se que essas papilas não se distribuem aleatoriamente, mas perfilam-se principalmente na superfície ventral dos barbilhões.

A margem membranosa do opérculo, ou membrana branquiostegial, embora um tanto mais desenvolvida, ainda é incipiente, não recobrando integralmente a abertura da câmara branquial, de modo que os dois arcos branquiais em desenvolvimento a partir da borda superior dessa câmara permanecem sem proteção (Figura 16).

Mesmo com o aumento proporcional do tamanho da cabeça, a estrutura que ainda se destaca no animal, pela quantidade de material de reserva presente, é a vesícula vitelina (Figura 12).

#### **Larva – 1,5 dpe (50 horas pós-fertilização) [ca. 4,2 / 4,3 mm CT - 28,0°C].**

Neste estágio do desenvolvimento, a mandíbula se alonga fazendo com que a abertura bucal, antes direcionada para a parte ventral do animal, se volte quase totalmente para a frente, passando a ocupar posição terminal, na região anterior da cabeça. Esse movimento altera a disposição relativa de algumas estruturas: o órgão olfativo é empurrado para uma posição ligeiramente mais dorsal, alinhando-se com o olho, à frente dele, no eixo longitudinal do animal; os barbilhões maxilares são igualmente empurrados para cima, passando a ocupar, em relação ao par mentoniano, um plano mais elevado (Figura 17).

Nos barbilhões, nas extremidades das papilas epidérmicas, aparecem os poros dos botões gustativos (Figura 18). Neles distinguem-se prolongamentos digitiformes, dos quais os mais longos, com cerca de 1,5 a 3,0  $\mu\text{m}$  de comprimento, aparecem em menor número. Assemelham-se a um bastão cuja base é ligeiramente mais alargada (Figura 19). Cada um desses prolongamentos constitui a terminação apical de uma célula sensorial ("light cell"). Nesta fase de desenvolvimento da larva

de pintado aparecem sete ou oito dessas terminações, indicando a quantidade de células gustativas presentes. O outro tipo de terminação é representado por microvilosidades bem mais reduzidas. Aparecem formando aglomerados, e constituem os processos apicais de células de suporte ("dark cells"). O conjunto dessas terminações constitui a placa sensorial do botão gustativo que, nesta instância, mede cerca de 6 a 9  $\mu\text{m}$  de diâmetro. (Figura 19). Em função das diferentes quantidades de cílios que podem ser observadas em vários desses botões, é provável que estes se encontrem em distintos estágios de desenvolvimento.

Outras terminações, com cerca de 3-4  $\mu\text{m}$  de comprimento, constituem diversos aglomerados de aspecto circular, lembrando feixes. Conjuntos desses aglomerados formam estruturas também de aspecto circular, localizadas em algumas regiões do corpo que não os lábios e barbilhões. Uma delas pode ser vista na região cefálica, próxima à porção posterior do olho (Figura 20).

Os arcos branquiais ainda se encontram ligeiramente expostos, já que a membrana branquiostegial não está suficientemente desenvolvida para recobri-los totalmente (Figura 17).

### **Larva – 2 dpe (63 horas pós-fertilização) [ca. 4,5 / 4,6 mm CT - 27,3°C].**

Em larvas com cerca de dois dias de vida livre, a fenda bucal torna-se mais larga, estendendo-se ligeiramente em direção caudal (Figura 21). Na borda interior dos lábios, no ápice de algumas papilas digitiformes, visualizam-se, em início de desenvolvimento, pequenos dentes com cerca de 7  $\mu\text{m}$  de comprimento e, nas papilas labiais mais externas, botões gustativos imaturos (Figuras 22 e 23).

Devido à aproximação que ocorre entre as bordas laterais da depressão olfativa, o órgão torna-se marcadamente elíptico e mais profundo, com os feixes de cílios do epitélio não sensorial concentrados na periferia e mais esparsos no assoalho, onde também aparecem os cílios e as microvilosidades das células sensoriais (Figura 24).

O alargamento da fenda bucal faz com que seja alterada a posição relativa dos barbilhões maxilares, que já não mais aparecem no prolongamento da

comissura labial, mas um pouco acima dela, no lábio superior; no opérculo, a membrana branquiostegial está mais evidente, porém ainda não recobre integralmente os arcos branquiais, principalmente na borda superior da câmara, que continua exposta (Figura 21). Nessa mesma figura observa-se, no epitélio subjacente à borda anterior do órgão olfativo, a formação de uma ranhura em forma de ferradura, à qual denominou-se dobra pré-nasal, em cujo assoalho se abrigam os primeiros neuromastos identificados na região cefálica.

A Figura 25 mostra, na linha lateral do tronco, um neuromasto superficial imaturo, em cuja placa sensorial são visíveis um mecanócílio com 5  $\mu\text{m}$  de comprimento e um conjunto de estereocílios, estruturas essas digitiformes e mais curtas (de acordo com diversos autores [KATSUKI e YANAGISAWA, 1982; PLATT, 1988; WEBB, 2000b], o mecanócílio é um cílio verdadeiro, com uma configuração típica de 9+2 microtúbulos, enquanto que os estereocílios assemelham-se a hastes mais rígidas porém ligeiramente afiladas na extremidade, compostos da proteína actina e considerados como de natureza microvilosa). Outro neuromasto, a cerca de 15  $\mu\text{m}$  de distância, também imaturo, exibe uma cúpula delgada e bem definida, o que pode indicar que a não detecção dessa estrutura em outros mecanorreceptores talvez se deva à sua remoção durante o preparo do material para observação microscópica.

Na nadadeira caudal verifica-se a formação de raios, mas apenas em algumas larvas, o que evidencia que o processo tem início neste estágio de desenvolvimento larval.

#### **Larva – 2,5 dpe (74 horas pós-fertilização) [ca. 4,9 / 4,7 mm CT - 27,0°C].**

A borda da depressão olfativa desenvolve-se, tornando-se mais espessa e, especificamente sua porção anterior, mais destacada da superfície do corpo. Esse crescimento faz com que os cílios longos das células não sensoriais da periferia da depressão sejam gradativamente empurrados para o interior da câmara em formação (Figura 26). No assoalho da depressão, por outro lado, é notório o aumento da quantidade de cílios das células não sensoriais, recobrindo e

praticamente ocultando os cílios e as microvilosidades mais curtas das células sensoriais.

Ligeiramente acima da borda superior da narina, observa-se um neuromasto, ainda superficial, com pelo menos sete mecanocílios na placa sensorial, e que provavelmente representa o primeiro a diferenciar-se no canal supra-orbitário (SoC) da linha lateral cefálica.

Confrontando-se com esse neuromasto, nas proximidades da borda anterior da narina (Figura 26), distingue-se uma estrutura com terminações curtas e numerosas, que formam, nesta fase, nove feixes de aspecto circular. Trata-se, provavelmente, de outro receptor elétrico.

Observação estereoscópica da larva permite visualizar, no lobo superior da nadadeira caudal, um certo avanço na formação dos primeiros 2-3 raios.

### **Larva – 3 dpe (87 horas pós-fertilização) [ca. 5,0 / 5,2 mm CT - 27,0°C].**

Em animais com três dias de vida pós-eclosão, um leve achatamento dorsiventral da cabeça, associado a um ligeiro desenvolvimento do focinho na parte frontal acima da boca, torna mais alongado o perfil do animal nessa região. Esse aspecto é reforçado pelo próprio aumento do tamanho da boca, que faz com que a comissura labial se projete posteriormente, alcançando o plano vertical mediano entre o órgão olfativo e o olho (Figura 27). A reentrância na epiderme ao redor da borda ocular torna-se mais profunda, de modo que o olho, com cerca de 100 µm de diâmetro, aparenta estar menos saliente em relação à superfície do corpo. O tamanho do olho, considerando-se seu diâmetro como parâmetro de avaliação, corresponde a aproximadamente 2% do comprimento total do animal. Acentua-se o formato elíptico do órgão olfativo, devido à maior aproximação das bordas laterais em sua região média.

É possível, neste estágio, verificar um grande aumento na quantidade de neuromastos superficiais, em desenvolvimento nas regiões mandibular, infra e supra-orbitária, e pré-opercular. A posição em que se encontram sugere sua incorporação nos canais da linha lateral cefálica que, entretanto, representam ainda suaves reentrâncias na epiderme (Figura 27).

Na linha lateral do tronco distingue-se um neuromasto típico (Figura 28), ainda imaturo, com apenas dois mecanócílios longos (7 a 8  $\mu\text{m}$ ) que emergem da extremidade distal das células sensoriais, circundados pelas microvilosidades das células de suporte. A área sensorial desse neuromasto localiza-se no ápice de uma papila suave cujo epitélio é intensamente esculpido e que o diferencia do epitélio circundante.

Exame estereoscópico das larvas mostra a redução acentuada do volume de vitelo e a presença de resquícios de alimento na porção do trato digestório imediatamente anterior ao ânus. Revela também o surgimento dos primórdios das nadadeiras peitorais e o início de pigmentação na região ventral do animal, com maior intensidade sobre a vesícula vitelina, em cuja parte rostral destaca-se uma nódoa intensamente pigmentada. Mais caudalmente, poucos cromatóforos formam uma faixa bastante débil, que se estende até a abertura anal, entre a musculatura e a membrana primordial. A partir desse ponto, uma zona de pigmentação mais intensa se destaca, prolongando-se ventralmente até a nadadeira caudal, na altura da flexão da notocorda. Outra faixa de células pigmentadas é visível recobrendo parte da vesícula vitelina, provavelmente sobre a membrana vitelina, no interior do abdômen.

#### **Larva – 3,5 dpe (98 horas pós-fertilização) [ca. 5,3 / 5,8 mm CT - 26,4°C].**

Neste estágio os dentículos estão bem desenvolvidos (10 a 20  $\mu\text{m}$ ), tanto na mandíbula quanto na maxila. Dispõem-se em duas séries paralelas acompanhadas mais externamente, nos lábios, e mais internamente, no interior da boca, por uma quantidade de papilas bem proeminentes, de cujas extremidades emergem as microvilosidades das células sensoriais e de suporte dos botões gustativos ainda imaturos (Figura 29).

Os opérculos, finalmente, recobrem integralmente as brânquias.

Os neuromastos do SoC estão morfológicamente mais maduros. Contudo, o próprio canal ainda se resume a uma suave depressão alongada no sentido ântero-posterior, situada na região dorsolateral da cabeça (Figura 30).

Na linha lateral do tronco os neuromastos mais próximos da cabeça parecem desenvolver-se de forma sincrônica. Na Figura 31 podem ser vistos três deles, regularmente espaçados sobre os miômeros, na altura do septo médio, e cuja estrutura é bastante similar. Apresentam, nesta fase, quatro mecanócílios com 7-8  $\mu\text{m}$  de comprimento e um número ainda reduzido de cílios menores (Figura 31). Não se nota presença de cúpula. O aspecto papiliforme desses mecanorreceptores é evidente.

Maior resolução da porção inicial do SoC (Figura 30) revela, também nesse local, a presença de uma estrutura circular com aspecto característico, constituída por oito feixes de terminações sensoriais: trata-se novamente de um receptor elétrico, cuja morfologia praticamente não se alterou, em um intervalo de 24 horas.

Em larvas examinadas macroscopicamente é possível distinguir o enovelamento do tubo digestório, uma vez que a pigmentação da epiderme ainda não é muito intensa. Contudo, essa pigmentação impede que se distinga a presença de vitelo. De qualquer modo, havendo vitelo, sua quantidade será provavelmente vestigial.

Na nadadeira caudal, em sua porção superior, onde termina a coluna vertebral, os primeiros raios, embora ainda incipientes, são agora mais visíveis. Na Figura 32 verifica-se o início da formação do lobo inferior. Em um plano ligeiramente abaixo da coluna vertebral observam-se algumas estruturas pouco desenvolvidas, possivelmente constituindo neuromastos imaturos, cuja localização quase certamente determina a porção final do órgão da linha lateral do tronco. A ocorrência, no septo médio, de neuromastos morfológicamente mais maduros, próximos à região cefálica de larvas mais velhas, indica que tais estruturas se desenvolvem no sentido rostricaudal.

#### **Larva – 5 dpe (134 horas pós-fertilização) [ca. 6,7 / 7,2 mm CT - 25,4°C].**

A região anterior da depressão olfativa destaca-se ainda mais da superfície epidérmica; a borda da depressão forma agora um anel ligeiramente comprimido no sentido dorsiventral (Figura 33). Na base desse anel distingue-se uma ranhura arqueada e pouco profunda, a dobra pré-nasal, em cujo assoalho são vistos três

neuromastos morfológicamente mais desenvolvidos, cujas áreas sensoriais apresentam formato de losango, bastante característico. Não há cúpula.

O deslocamento dos barbilhões maxilares, de sua posição no prolongamento da comissura labial, para um ponto ligeiramente acima do lábio superior, torna-se bem mais evidente (Figura 34).

Abaixo do olho, que nessa fase tem um diâmetro de 135  $\mu\text{m}$ , observa-se, um pouco atrás da comissura labial, uma estrutura globular com vários feixes de terminações de aspecto circular (Figura 34), a qual muito provavelmente representa um estágio morfológicamente mais desenvolvido que o daquela visível em uma larva com um dia e meio de vida pós-eclosão (inserção na Figura 34).

A Figura 35 mostra, em alta resolução, um dos neuromastos localizados na dobra pré-nasal, com cerca de 18 feixes ciliares na placa sensorial. Cada feixe ciliar é constituído por um conjunto de prolongamentos chamados de estereocílios, posicionados ao lado de um único mecanocílio. A posição relativa desses conjuntos define o eixo de maior sensibilidade fisiológica do neuromasto. Considerando-se a localização do neuromasto é de se esperar que seu eixo de maior sensibilidade seja compatível com o sentido da corrente de água em movimento sobre a superfície do animal, nessa região. Isto parece efetivamente ocorrer.

Nos flancos do animal, na linha lateral do tronco, a série de neuromastos regularmente distribuídos sobre os miômeros é bastante visível (Figura 36). Esses mecanorreceptores permanecem superficiais, ou seja, não há, até esta idade, a formação de canais, nos moldes daqueles em desenvolvimento na linha lateral cefálica. A partir do 15° miômero (entre o 15° e o 16°), imediatamente após a abertura anal, aparece outra fileira de neuromastos, possivelmente uma segunda linha lateral, situada em um plano inferior ao da linha principal, no limite entre a musculatura e a membrana primordial ventral. Nesta fileira, contudo, as estruturas encontram-se irregularmente espaçadas, a cada dois ou três segmentos (Figura 36).

Macroscopicamente, observa-se o início da formação das nadadeiras anal e adiposa, que aparecem como ondulações muito suaves, perceptíveis na borda das membranas primordiais inferior e superior, as quais se encontram ainda bem desenvolvidas. Na região da nadadeira anal, expansões semelhantes a agulhas,

partindo da musculatura e projetando-se em forma de leque, em direção à periferia da membrana, revelam a formação dos raios.

**Larva – 7 dpe (183 horas pós-fertilização) [ca. 7,9 / 9,9 mm CT - 24,9°C].**

As papilas gustativas apresentam agora uma distribuição menos caótica, posicionando-se mais regularmente ao longo das bordas labiais internas, constituindo aparentemente uma fileira única com cerca de 17 botões bem proeminentes, no lábio superior. Mais internamente, no pré-maxilar, os dentes também aparecem melhor distribuídos. Formam duas fileiras paralelas com 11-12 denticulos pontiagudos cada uma (Figura 37).

Nas narinas, as porções médias das bordas laterais mais longas continuam seu deslocamento em direção ao eixo longitudinal do órgão, o que as aproxima bastante uma da outra, tornando mais evidente o aspecto externo em formato de número oito (Figura 38). O assoalho da depressão permanece relativamente plano e ainda não se distingue a formação de septos ou lamelas (Figura 38).

O 2º par de barbilhões mentonianos desenvolveu-se bastante e exibe comprimento bem expressivo, confundindo-se, em tamanho, com os pares precedentes; cinco neuromastos com perfil alongado, superficiais, são vistos no canal mandibular (MdC) em formação (Figura 37).

As membranas operculares tiveram crescimento expressivo e, agora, alcançam também a base das nadadeiras peitorais, já bem visíveis (Figura 38).

Na superfície dorsal da cabeça há várias papilas de cada lado, distribuídas em duas fileiras, as quais têm início no focinho, alinhadas com a borda anterior do nariz, e correm paralelas até a parte média da região cefálica, de onde convergem gradativamente em direção ao ponto correspondente à extremidade anterior da nadadeira dorsal que, neste estágio, ainda não é visível (Figura 38). Representam, provavelmente, botões extra-orais.

A linha lateral do tronco está mais desenvolvida, praticamente alcançando a região caudal, com neuromastos típicos em toda sua extensão, distantes entre si cerca de 85 µm, medida essa que representa a largura de cada miômero. A Figura 39 mostra um receptor com apenas três mecanócílios na placa sensorial, localizado

nessa linha, mais próximo da região caudal. Neste neuromasto é possível distinguir a polarização anatômica que ocorre nas células sensoriais. Em duas delas o conjunto dos estereocílios está posicionado em um dos flancos do mecanocílio correspondente, enquanto que na outra célula ele aparece do lado oposto. A posição relativa desses feixes ciliares determina o eixo de maior sensibilidade do neuromasto. Comparando-se com neuromastos mais precoces, como aqueles observados no tronco, na região mais próxima da cabeça (Figura 36), constata-se que o aspecto arredondado é típico de neuromastos morfológicamente mais imaturos, que se desenvolveram mais tardiamente. Uma segunda fileira de neuromastos é visível desde as proximidades da borda posterior do opérculo, acompanhando o eixo inferior dos miômeros (Figura 40). A Figura 41 revela a existência de uma cúpula bem desenvolvida em um desses neuromastos. Diferentemente daquele mostrado na Figura 39, a placa sensorial deste receptor apresenta perfil mais alongado, o que caracteriza estruturas mais maduras, embora ela tenha se formado após a morfogênese dos receptores da linha principal do tronco.

Macroscopicamente, as nadadeiras adiposa e anal praticamente não se alteraram, aparecendo ainda como leves ondulações no perfil do animal; de forma similar, o lóbulo inferior da caudal não apresenta modificações expressivas no desenvolvimento. Por outro lado, nele se observam, partindo da extremidade da coluna vertebral, as primeiras expansões que darão origem aos raios desse lóbulo. Situação semelhante ocorre com os raios da anal. As nadadeiras ventrais ainda estão ausentes.

#### **Larva – 9 dpe (232 horas pós-fertilização) [ca. 9,0 / 13,9 mm CT - 26,5°C].**

A fenda bucal torna-se mais pronunciada devido à distensão, no sentido anterior, da maxila e da mandíbula, e o alongamento da dobra formada pela comissura labial (Figura 42). Paralelamente, acentua-se o achatamento dorsiventral da cabeça, iniciado em animais com três dias de vida pós-eclosão, caracterizando ainda mais o desenvolvimento de um focinho.

No órgão olfativo finalmente se completa a fusão da ponte epidérmica, originando duas cavidades ou fossetas: as narinas anterior, ou de entrada, e posterior, ou de saída. O epitélio ciliado do assoalho da depressão já não é mais visível em toda sua extensão; apenas alguns feixes de cílios aparecem nas paredes internas da narina posterior (Figura 42).

Acima das fossetas nasais permanece a depressão rasa na epiderme, o que evidencia não ter havido alteração significativa na morfologia do SoC (Figura 42). No assoalho dessa depressão se observam vários neuromastos com perfil alongado, característica típica de estruturas mais maduras.

Nas bordas do órgão olfativo e em outras regiões da cabeça, é grande o número de papilas saciformes muito semelhantes às encontradas nos barbilhões e nos lábios, tratando-se, provavelmente, de botões gustativos extra-orais (Figura 42).

Macroscopicamente, verifica-se que tanto o lóbulo inferior da nadadeira caudal como os raios aí em formação mostram ligeiro desenvolvimento. De maneira similar, as nadadeiras adiposa e anal também são mais visíveis, embora ainda representem meras ondulações na borda da membrana primordial. Nesta fase, a dorsal torna-se proeminente. Nas larvas de ambiente escuro as nadadeiras ventrais podem, pela primeira vez, ser visualizadas. É provável que essa diferença se deva ao fato das larvas mantidas nesse ambiente serem maiores que as de ambiente iluminado.

#### **Larva – 11 dpe (280 horas pós-fertilização) [ca. 12,2 / 15,8 mm CT - 27,0°C].**

Nesta fase, o formato geral da cabeça apresenta-se ligeiramente mais achatado e distendido frontalmente, o que determina um focinho mais evidente (Figura 43). Espacial e morfologicamente, dentículos e botões gustativos no interior da boca, nos lábios e nos barbilhões parecem inalterados (Figura 44), talvez indicando que tais estruturas tenham alcançado um estágio de desenvolvimento compatível com o final do período ontogênico pré-metamorfose, durante o qual o animal gradualmente se torna juvenil. Ao redor do olho, a invaginação da epiderme se acentua, originando uma pequena pálpebra circular, de modo que o olho, antes um tanto proeminente na face, aparenta estar mais nivelado com a superfície

corpórea (Figura 43). Seu diâmetro, de cerca de 360  $\mu\text{m}$ , corresponde a pouco menos de 3% do comprimento total do animal.

O órgão olfativo, cuja extremidade posterior delimitava-se com o olho, aparece agora ligeiramente distanciado, provavelmente devido ao alongamento do focinho. A fusão do epitélio das bordas laterais deu origem a uma ponte epidérmica, resultando na formação das narinas. Pequenas diferenças morfológicas no desenvolvimento dessa estrutura podem ser observadas entre as larvas AC e AE. Nos animais de ambiente iluminado, a ponte epidérmica que separa as narinas é mais estreita; estas têm formato de pêra e dimensões semelhantes (inserção na Figura 43); nos de ambiente escuro, o alargamento da ponte faz com que os orifícios se tornem mais distanciadados. Além disso, apresentam morfologia bastante distinta entre si. O orifício de saída exhibe contorno elíptico, cuja borda se situa em nível com a epiderme, um pouco na frente e acima do olho, enquanto que o orifício de entrada se desenvolve, formando um tubo ligeiramente achatado que se projeta anteriormente (Figura 43).

No assoalho da dobra pré-nasal os neuromastos permanecem superficiais (Figura 45), não sendo visíveis alterações na epiderme que indiquem a possível formação de um canal. Verifica-se também que tais receptores aparecem em distintas fases de desenvolvimento: os mais diferenciados correspondem aos primeiros que surgiram ainda no período embrionário. Outros surgem durante a ontogenia inicial, deixando claro que tais estruturas, ao menos nesta fase de vida, proliferam e gradativamente ampliam sua distribuição, não somente na dobra pré-nasal, mas por toda a superfície corpórea.

As duas séries de botões papiliformes, antes visíveis no dorso da cabeça, não estão mais evidentes, provavelmente por terem se tornado proporcionalmente menores na medida em que o animal se desenvolveu (Figura 46).

Ventralmente, na periferia do mento, o MdC permanece aberto (Figura 47), não se observando modificações expressivas em comparação com aquele de larvas de menos idade e de mesma origem (ambiente iluminado) (Figura 37).

Na região dorsolateral da cabeça, a presença de cinco neuromastos, de formato alongado, define a posição do canal supra-orbitário (SoC), ainda uma depressão rasa (Figura 48). Esse canal tem início no prolongamento da porção

superior da dobra pré-nasal, contorna dorsalmente as fossetas nasais e o olho e se estende em direção caudal. Em larvas AE (Figura 46), os mesmos canais já apresentam alguns segmentos recobertos por tecido epitelial, formando pontes, o que lhes imprime aspecto intermitente. Na medida em que progride a oclusão, os neuromastos vão sendo gradativamente aprisionados.

O ramo infra-orbitário (IoC) da linha lateral cefálica, cujo primeiro segmento apresenta a extremidade anterior situada na continuação da alça inferior da dobra pré-nasal, imediatamente acima do ponto de inserção dos barbilhões maxilares (Figura 43), circunda ventralmente o olho e se dirige para a porção superior da cabeça, onde se une, após o olho, ao canal supra-orbitário. Caudalmente à junção dos canais orbitários, forma-se o canal ótico (OtC) (Figura 46).

Em continuidade ao canal mandibular, defletindo quase verticalmente para a região superior da cabeça, aparece o canal pré-opercular (PrC), cujo aspecto é similar ao do ramo mandibular (Figura 43). Embora seja possível apenas entrevê-lo, pois seu desenvolvimento é bastante incipiente, observam-se os neuromastos aí presentes, ainda superficiais. O canal pré-opercular alcança o canal ótico, com o qual forma a seção temporal (TeC) da linha lateral cefálica, que se estende em direção caudal, até a linha lateral do tronco (TrC). No tronco, a linha lateral bifurca-se em dois ramos: a linha principal segue pelos flancos, na altura do septo médio característico dos miômeros; a segunda linha dirige-se para a parte ventral do animal e acompanha o contorno superior do abdômen até a região anal, de onde continua em direção caudal, no limite entre a musculatura e a membrana primordial. Em ambos os ramos, os receptores permanecem superficiais e papiliformes.

Na região dorsal do tronco identifica-se uma papila com um botão sensorial semelhante aos encontrados nos barbilhões, projetando-se lateralmente da membrana primordial cuja espessura, nesse ponto, é de cerca de 40  $\mu\text{m}$ , o que representa de 12 a 13% da largura do corpo do animal (Figura 49). A superfície da membrana, à semelhança da epiderme geral, apresenta os contornos celulares poligonais e é rica em microestrias características.

Macroscopicamente, algumas pequenas diferenças no desenvolvimento podem ser observadas entre os animais AC e AE. Em larvas de ambiente iluminado, embora as nadadeiras dorsal, adiposa e anal estejam mais perceptíveis no perfil

larval, a membrana primordial ainda aparece bastante íntegra; o lobo inferior da caudal atinge, nesse estágio, cerca de 30% do comprimento do lobo superior. Nos oriundos de ambiente escuro, detecta-se redução da membrana primordial, concomitantemente ao maior desenvolvimento das nadadeiras dorsal, anal e adiposa, o que as torna mais visíveis no perfil larval. O lobo inferior da caudal alcança, nestes animais, cerca de 50% do comprimento do lobo superior.

**Larva – 13 dpe (328 horas pós-fertilização) [ca. 17,2 / 21,0 mm CT - 28,5°C].**

A oclusão dos canais cefálicos avança. Contudo, o processo está mais adiantado nas larvas AE. Nessas larvas, a maior parte deles apresenta quase toda a extensão já recoberta de epitélio, restando apenas algumas porções abertas, os poros, cuja presença possibilita acompanhar, de forma bastante nítida, a distribuição dos canais por toda a região cefálica (Figura 50). O ramo pré-opercular, contudo, ainda apresenta os receptores totalmente superficiais, já que a epiderme nessa região sequer iniciou a formação das pregas características, deixando evidente ser esse o canal de desenvolvimento mais tardio.

A observação do MdC, através de um de seus poros (Figura 51), revela a configuração de um canal contínuo, que aparentemente permite o fluxo da água em seu interior. Situação similar deve ocorrer com os outros canais cefálicos, cujas estruturas parecem ser idênticas.

Nos animais AC, embora a formação dos canais também tenha avançado e eles apareçam mais profundos e mais estreitos, ainda não estão cerrados, de modo que os neuromastos permanecem visíveis no assoalho dessas depressões, em toda sua extensão, como se observa principalmente no MdC (Figura 52).

Na linha lateral do tronco verifica-se que, enquanto os receptores do ramo principal estão totalmente aprofundados na epiderme, comunicando-se com a superfície por intermédio de pequenos orifícios tubulares, aqueles do ramo inferior ainda podem ser observados mais superficialmente. Isto indica seguramente que a formação da segunda linha ocorre mais tardiamente durante o desenvolvimento larval (Figura 53).

Durante a progressão do período larval, as nadadeiras peitorais surgem mais precocemente que a dorsal. Contudo, depois de haver iniciado sua diferenciação, a dorsal alcança rapidamente um estágio de desenvolvimento morfológico equivalente ao das primeiras, o que é indicado pelo igual número de raios (sete) que apresentam nesta fase. As nadadeiras ventrais, com cinco raios, finalmente podem ser visualizadas em animais AC. Resquícios da membrana primordial, nas proximidades do ânus, ainda estão presentes.

Em animais AE as nadadeiras estão um pouco mais desenvolvidas; as peitorais apresentam oito raios enquanto que as ventrais e a dorsal, seis e sete raios, respectivamente. Embora sejam as que mais tardiamente apareçam durante a ontogenia inicial, as ventrais, independentemente do ambiente de cultivo, rapidamente alcançam tamanho proporcional ao dos apêndices mais precoces, como se observa pela estrutura de seus raios.

#### **Juvenil – 16 dpe (400 horas pós-fertilização) [ca. 22,5 / 27,7 mm CT - 27,6°C].**

Em animais com 16 dias de vida livre, a comissura labial expande-se rostricaudalmente, ampliando o perfil da fenda bucal. Paralelamente, o maior achatamento dorsiventral da porção anterior da cabeça confere a essa região um formato alongado, originando uma espécie de focinho, onde se destacam as narinas e os barbilhões.

Em um intervalo de aproximadamente cinco dias, o desenvolvimento da cabeça, dado pela distância entre a borda anterior do olho e a extremidade rostral da narina anterior, é bastante expressivo, representando uma variação de cerca de 63% em relação ao valor de aproximadamente 1100  $\mu\text{m}$ , observado em larvas com 11 dias de vida pós-eclosão (Figura 43). O desenvolvimento do olho, no mesmo período, manteve-se relativamente harmônico com o desenvolvimento da cabeça, já que o diâmetro ocular, considerando-se essa variável como parâmetro de avaliação, apresentou uma alteração de cerca de 65%, passando de aproximadamente 345  $\mu\text{m}$  para 570  $\mu\text{m}$ .

O órgão olfativo praticamente alcançou sua aparência externa definitiva. O orifício de saída da água, ou narina posterior, adquire formato elíptico e se posiciona

em nível com a superfície epidérmica; a narina anterior forma, acima da epiderme, um tubo ligeiramente achatado que, numa primeira instância, se projeta para a frente. Na medida em que o animal se desenvolve, esse tubo colapsa, sofre ligeira torção, voltando-se para os lados, ao mesmo tempo em que se dobra, de modo que a abertura da narina se direciona para a região ventral do animal. Além disso, essa abertura conservou-se praticamente inalterada, tendo aumentado, em seu maior eixo, de cerca de 148  $\mu\text{m}$  para 161  $\mu\text{m}$ , representando uma variação de aproximadamente 9%, o que pode significar que já esteja praticamente desenvolvida em sua morfologia, reforçando a idéia de que o órgão olfativo tenha alcançado sua maturidade.

A fusão das bordas da epiderme finalmente dá origem ao MdC (Figura 54), aprisionando em seu interior os neuromastos que se encontravam no assoalho da depressão. Restaram, contudo, as diversas porções onde essa fusão não se completou, e que correspondem às extremidades anterior e posterior de cada segmento que compõe o canal: são os poros, orifícios elípticos com cerca de 50  $\mu\text{m}$  de diâmetro (Figura 55), dispostos a intervalos relativamente regulares de 300 a 350  $\mu\text{m}$ . Não há evidências de que tenha ocorrido fusão entre poros de segmentos contíguos. Desse modo, é bastante provável que os mesmos sejam compartilhados.

Nesta fase, os neuromastos da linha lateral do tronco estão ocultos em criptas ou depressões tubulares que se abrem na superfície epidérmica, através de pequenos poros. Esta disposição também é observada na linha inferior e na base dos raios de ambos os lobos da nadadeira caudal, onde o conjunto de orifícios dispõem-se em forma de alça ou ferradura (Figura 56). Alta resolução de um desses poros permite distinguir, em seu interior, parte da estrutura de um receptor (Figura 57). Diferentemente do que ocorre com os canais cefálicos, os poros localizados nas linhas do tronco e da cauda parecem não fazer parte de um sistema de canais, mas encontram-se isolados.

Estruturas sensoriais, provavelmente receptores elétricos deprimidos, em diversos graus de desenvolvimento, apresentam ampla dispersão por toda a superfície do animal (Figuras 58 e 59), tornando difícil discernir algum padrão de distribuição. Com base em uma estimativa realizada a partir da Figura 59, é possível afirmar que o número desses aglomerados é bastante elevado. Nessa região do

corpo (imediatamente atrás e abaixo da comissura labial) estimou-se uma quantidade de cerca de 500.mm<sup>2</sup>.

Macroscopicamente verifica-se que as nadadeiras ímpares estão bem desenvolvidas, praticamente livres de quaisquer resquícios de membrana primordial; na dorsal verifica-se que o número de raios, igual a sete, não se alterou em relação às larvas com 13 dias pós-eclosão. Das nadadeiras pares, as peitorais, as primeiras a se diferenciarem na larva, são as mais desenvolvidas, contando, nesta fase com oito a nove raios; as ventrais apresentam seis raios e permanecem proporcionalmente reduzidas.

Morfologicamente, pode-se afirmar que estes animais, com 16 dias de vida pós-eclosão, apresentam já as características de juvenis.

## **4.2 Alimentação – determinação das curvas de crescimento larval e da ingestão de presas**

### **4.2.1 Determinação das curvas de crescimento**

Os resultados da análise de variância indicaram a ocorrência de diferenças nos comprimentos médios das larvas, por efeito dos ambientes de cultivo ( $F=203,61$ ;  $P<0,0001$ ), das idades das larvas ( $F=2446,50$ ;  $P<0,0001$ ) e da interação entre esses fatores ( $F= 4,28$ ;  $P<0,0001$ ). Na Tabela 1 aparecem os resultados dos comprimentos médios das larvas cultivadas em dois distintos ambientes de luminosidade. Verifica-se que, a partir de 170 horas pós-eclosão, os comprimentos médios das larvas cultivadas no ambiente escuro foram superiores ( $P<0,0001$ ) aos das larvas do ambiente claro.

A Figura 60 mostra os comprimentos médios das larvas nos dois ambientes de luminosidade e nas diversas idades. As curvas de regressão ajustadas que representam a relação entre o comprimento total (CT, em mm) e os períodos de vida livre pós-eclosão (h, em horas), obtidas para ambos os ambientes, apresentam as seguintes equações:

$$CT = 3,3574 \exp(0,00499 * h) \text{ (para AC)}$$

e

$$CT = 4,1244 \exp((0,00499 * h) \text{ (para AE)})$$

Através do teste da razão de verossimilhança concluiu-se que os parâmetros “a” (intercepto do eixo y) das duas curvas são diferentes ( $P < 0,05$ ), enquanto que os parâmetros “b” (relacionado à taxa de crescimento) foram considerados não diferentes ( $P > 0,05$ ).

Tabela 1: Valores de comprimento médio (e respectivo EP = erro padrão), em mm, de larvas de várias idades (em horas pós-eclosão) cultivadas em dois ambientes de iluminação (claro e escuro). O número de repetições de cada tratamento é dado por n. Médias com diferentes letras sobrescritas, na mesma linha, são significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ).

idade (hpe)	ambiente			
	claro		escuro	
	média (EP)	n	média (EP)	n
0	2,75 (0,09) <sup>a</sup>	7	2,75 (0,09) <sup>a</sup>	7
12	3,55 (0,06) <sup>a</sup>	9	3,54 (0,06) <sup>a</sup>	7
25	4,14 (0,06) <sup>a</sup>	11	4,11 (0,08) <sup>a</sup>	6
37	4,22 (0,06) <sup>a</sup>	13	4,29 (0,10) <sup>a</sup>	7
50	4,47 (0,08) <sup>a</sup>	12	4,59 (0,27) <sup>a</sup>	4
61	4,88 (0,07) <sup>a</sup>	15	4,66 (0,13) <sup>a</sup>	6
74	5,04 (0,11) <sup>a</sup>	6	5,16 (0,12) <sup>a</sup>	6
85	5,29 (0,10) <sup>a</sup>	10	5,79 (0,14) <sup>b</sup>	4
121	6,72 (0,10) <sup>a</sup>	13	7,22 (0,42) <sup>a</sup>	4
170	7,92 (0,36) <sup>a</sup>	6	9,88 (0,36) <sup>b</sup>	6
219	9,02 (0,15) <sup>a</sup>	10	13,91 (0,46) <sup>b</sup>	7
267	12,19 (0,63) <sup>a</sup>	7	15,82 (0,43) <sup>b</sup>	9
315	17,22 (0,18) <sup>a</sup>	12	21,03 (0,25) <sup>b</sup>	10
387	22,48 (0,25) <sup>a</sup>	11	27,72 (0,25) <sup>b</sup>	11

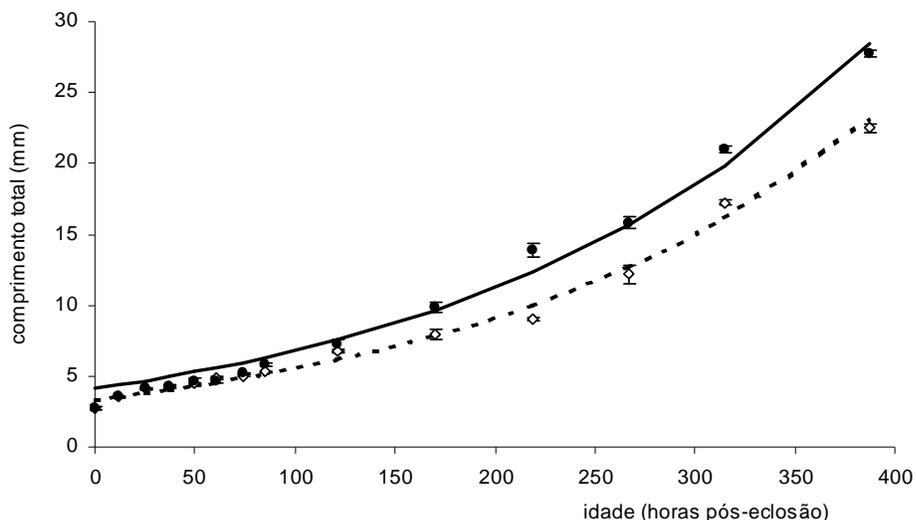


Figura 60. Curvas de crescimento, em comprimento (mm), de larvas de pintado em dois ambientes de luminosidade, em função da idade pós-eclosão. Linha cheia e (●) = ambiente escuro; linha interrompida e (◊) = ambiente claro; (●) e (◊) são valores médios de  $n$  determinações ( $4 \leq n \leq 15$ )

As taxas médias de crescimento, calculadas a partir das curvas de regressão ajustadas foram, nas primeiras 12 horas após a eclosão, de  $0,017 \text{ mm.h}^{-1}$  para o ambiente claro e de  $0,021 \text{ mm.h}^{-1}$ , para o escuro (Tabela 2). Para ambos os ambientes, o ritmo de crescimento aumentou ligeiramente a partir de 170 horas de idade (cerca de 7 dias), tendo alcançado os valores de  $0,097$  e  $0,119 \text{ mm.h}^{-1}$ , respectivamente, em larvas com 387 horas de vida pós-eclosão. Comparando-se os valores dessas taxas em cada idade, verifica-se serem eles sistematicamente superiores nos animais mantidos no escuro, principalmente a partir daquela mesma idade (7 dias), o que pode responder pelas diferenças mais elevadas que ocorrem, em um dado instante, entre os tamanhos das larvas de ambos os ambientes.

Tabela 2. Valores das taxas médias de crescimento (TC; mm.h-1) para cada intervalo consecutivo de idades, para larvas de pintado *Pseudoplatystoma coruscans* de várias idades (hpe = horas pós-eclosão), cultivadas em dois ambientes de luminosidade.

idade (hpe)	ambiente				diferenças TC (E) - TC (C)
	claro		escuro		
	CTc <sup>1</sup>	TC (C) <sup>3</sup>	CTe <sup>2</sup>	TC (E) <sup>4</sup>	
0	3,36		4,12		
12	3,56	0,017	4,38	0,021	0,004
25	3,80	0,018	4,67	0,023	0,004
37	4,04	0,020	4,96	0,024	0,004
50	4,31	0,021	5,29	0,026	0,005
61	4,55	0,022	5,59	0,027	0,005
74	4,86	0,023	5,97	0,029	0,005
85	5,13	0,025	6,30	0,031	0,006
121	6,14	0,028	7,54	0,034	0,006
170	7,84	0,035	9,63	0,043	0,008
219	10,01	0,044	12,30	0,054	0,010
267	12,72	0,056	15,63	0,069	0,013
315	16,17	0,072	19,86	0,088	0,016
387	23,16	0,097	28,45	0,119	0,022

<sup>1</sup> CTc = comprimento total calculado (mm), para o ambiente claro

<sup>2</sup> CTe = comprimento total calculado (mm), para o ambiente escuro

<sup>3</sup> TC (C) = taxa média de crescimento para o ambiente claro.

<sup>4</sup> TC (E) = taxa média de crescimento para o ambiente escuro.

#### 4.2.2 Ingestão de presas em diferentes ambientes de luminosidade

Os resultados da análise de variância indicaram a ocorrência de diferenças nas ingestões médias das larvas, por efeito dos ambientes de cultivo ( $F=65,10$ ;  $P<0,0001$ ), das idades das larvas ( $F=557,59$ ;  $P<0,0001$ ) e da interação entre esses fatores ( $F=30,36$ ;  $P<0,0001$ ). Na Tabela 3 são mostrados os resultados das ingestões médias de náuplios, por larvas de várias idades cultivadas em dois

Tabela 3. Valores de ingestão média (e EP), em número de náuplios, de larvas de pintado *Pseudoplatystoma coruscans* de várias idades (dias), cultivadas em dois ambientes de luminosidade (claro e escuro). Os valores representam as médias de 5 repetições por tratamento ( $n = 5$ ). Médias com diferentes letras sobrescritas, na mesma linha, são significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ). O número de presas variou de 22 a 34.mL<sup>-1</sup>.

idades	médias de presas ingeridas ( $\pm$ EP)		diferenças (%) na ingestão			
	ambientes		entre ambientes <sup>1</sup>	entre idades intervalos	ambientes	
	claro	escuro			claro <sup>2</sup>	escuro <sup>3</sup>
3	2,97 $\pm$ 2,01 <sup>a</sup>	4,25 $\pm$ 2,01 <sup>a</sup>	43			
5	8,80 $\pm$ 2,01 <sup>a</sup>	10,18 $\pm$ 2,01 <sup>a</sup>	16	5 - 3	196	140
7	14,48 $\pm$ 2,01 <sup>a</sup>	14,89 $\pm$ 2,01 <sup>a</sup>	3	7 - 5	65	46
9	24,10 $\pm$ 2,01 <sup>a</sup>	29,05 $\pm$ 2,01 <sup>a</sup>	20	9 - 7	66	95
11	46,95 $\pm$ 2,01 <sup>a</sup>	54,21 $\pm$ 2,01 <sup>b</sup>	15	11 - 9	95	87
13	71,92 $\pm$ 2,01 <sup>a</sup>	112,78 $\pm$ 2,01 <sup>b</sup>	57	13 - 11	53	108

<sup>1</sup> diferenças (%) nas médias de ingestão, entre os ambientes claro e escuro, para cada idade.

<sup>2</sup> diferenças (%) nas médias de ingestão entre duas idades consecutivas (intervalos), para o ambiente claro.

<sup>3</sup> diferenças (%) nas médias de ingestão entre duas idades consecutivas (intervalos), para o ambiente escuro.

ambientes de luminosidade. Ao ter início a alimentação exógena, no terceiro dia pós-eclosão, a quantidade absoluta de presas ingeridas situou-se próxima a 3 e 4,3 organismos.larva<sup>-1</sup>, para AC e AE, respectivamente. Em ambos os ambientes a ingestão aumentou na medida em que os animais se desenvolveram. Em relação aos valores iniciais, a ingestão aumentou, em um intervalo de dois dias, cerca de 2 vezes em animais AC e 1,5 vezes em AE. Novos incrementos, entre 0,5 e 1 vez, foram observados nos intervalos experimentais seguintes, também de dois dias, de modo que, após dez dias de alimentação, os números médios de presas ingeridas atingiram 71,92 e 112,78 indivíduos.larva<sup>-1</sup>, o que corresponde a um incremento de 23,2 e 25,5 vezes, em larvas AC e AE, respectivamente.

Comparando-se a ingestão média de ambos os ambientes de cultivo, em cada idade, verifica-se que somente a partir do 11<sup>o</sup> dia pós-eclosão ocorreram diferenças significativas, quando os valores para as larvas do ambiente escuro foram superiores ( $P < 0,05$ ).

A Figura 61 mostra os valores das quantidades médias de presas ingeridas e as curvas de regressão que representam a relação entre a ingestão (em número de

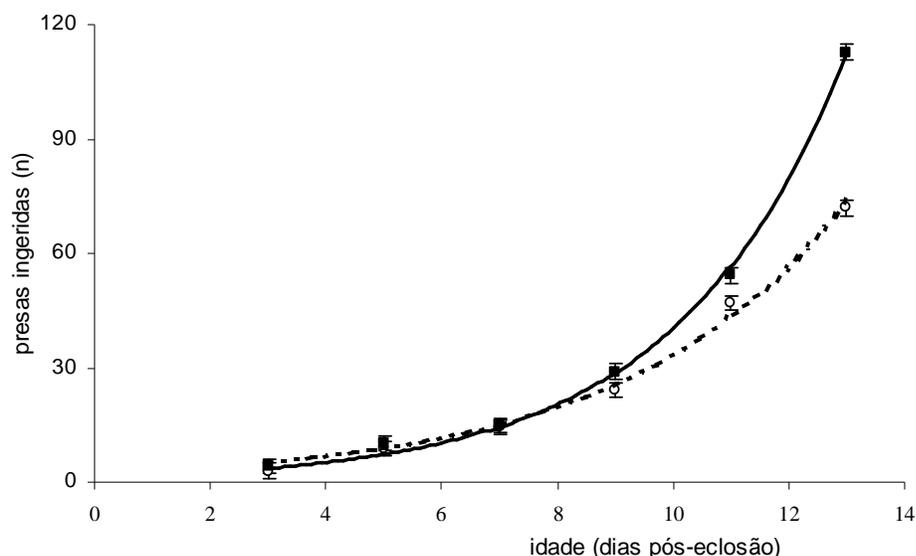


Figura 61. Quantidades médias de presas ingeridas (n), por larvas de pintado em dois ambientes de luminosidade, em função da idade larval. As linhas representam as curvas de regressão ajustadas. Linha cheia e (■) = ambiente escuro; linha interrompida e (○) = ambiente claro; (■) e (○) são valores médios de cada repetição ( $\pm$  EP) ( $n = 5$ ).

presas) e a idade (em dias pós-eclosão), obtidas para ambos os ambientes, cujas equações são as seguintes:

$$\text{ingestão} = 2,373 \exp(0,264 * \text{idade}) \text{ (para AC)}$$

e

$$\text{ingestão} = 1,332 \exp((0,341 * \text{idade}) \text{ (para AE)}$$

Através do teste da razão de verossimilhança concluiu-se que os parâmetros “a” (interceptos do eixo y) das duas curvas são diferentes ( $P < 0,01$ ), assim como os parâmetros “b” (relacionados à taxa média de ingestão) ( $P < 0,0001$ ).

Observa-se também na Figura 61 que, a partir do 9º dia pós-eclosão, as curvas de ingestão passam a apresentar um maior distanciamento entre si. Embora os valores de ingestão média nessa idade não tenham sido significativamente diferentes (Tabela 3), a ingestão no ambiente escuro foi cerca de 20% (24,10 versus 29,05) superior à verificada no ambiente claro, o que é compatível com o maior tamanho das larvas dessa idade cultivadas no escuro (Tabela 1; 170 horas pós-eclosão).

A luminosidade do ambiente de cultivo também teve influência na regulação do sincronismo do processo de ingestão. No início da alimentação exógena, aos três dias pós-eclosão, elevado percentual (41,9%) dos animais mantidos em ambiente iluminado não apresentou qualquer resquício de alimento no trato gastrointestinal (Tabela 4) após o intervalo de alimentação de 15 min empregado no experimento. Esse percentual, no grupo alimentado em ausência de luz, reduziu-se drasticamente para 9,3% dos animais. Essas diferenças desapareceram nas larvas com cinco dias de idade, onde 100% dos animais, em ambos os ambientes, apresentou a região gastrointestinal com alguma quantidade de presas.

Tabela 4. Percentual de larvas de pintado com alimento (náuplios de *Artemia*) no trato digestório, nos primeiros dias de alimentação exógena, cultivadas em dois ambientes de luminosidade (claro e escuro).

ambiente	idade (dias)	quantidade (%) de larvas com trato gastrointestinal	
		cheio	vazio
claro	3	58,1	41,9
	5	100,0	0,0
escuro	3	90,7	9,3
	5	100,0	0,0

#### 4.2.3 Ingestão de presas em função da idade larval e da densidade de presas

Os resultados da análise de variância indicaram a ocorrência de diferenças nas ingestões médias de náuplios, por efeito das densidades de presas ( $F=25,23$ ;  $P<0,0001$ ), das idades das larvas ( $F=45,64$ ;  $P<0,0001$ ) e da interação entre esses fatores ( $F=2,85$ ;  $P<0,05$ ). Na avaliação do efeito das densidades sobre a ingestão de presas, para cada uma das idades, verificou-se a ocorrência dos seguintes efeitos sobre as médias de ingestão, em cada idade [(5 dpe:  $F=9,22$ ;  $P<0,0001$ ); (7 dpe:  $F=8,18$ ;  $P=0,0001$ ); (11 dpe:  $F=3,92$ ;  $P=0,0127$ ); (13 dpe:  $F=13,38$ ;  $P<0,0001$ )], ou

seja, as médias de ingestão para as quatro densidades, em cada dia, não são iguais.

O estudo de regressão, utilizando contrastes ortogonais, indicou que, nos dias 5, 7 e 13, a ingestão média se relaciona linearmente com a densidade de presas, enquanto que no dia 11 essa relação pode ser melhor explicada por uma parábola (Tabela 5) representada por:

$$\text{ingestão} = 9,35 + 6,1854 \times \text{densidade} - 0,554 \times \text{densidade}^2$$

Tabela 5. Valores de ingestão média (EP) de larvas de pintado *Pseudoplatystoma coruscans* em quatro idades distintas, em quatro densidades de presas, com cinco repetições por tratamento ( $n = 5$ ), e os resultados do estudo de regressão entre essas variáveis.

densidade de presas (n)	idade (dias pós-eclosão)			
	5	7	11	13
	média (EP)	média (EP)	média (EP)	média (EP)
2	12,98 (1,68)	12,20 (1,68)	20,02 (1,68)	20,53 (1,88)
4	15,86 (1,68)	15,06 (1,68)	23,68 (1,68)	28,62 (1,68)
6	15,70 (1,88)	18,12 (1,68)	28,06 (1,68)	32,56 (1,68)
8	24,76 (1,68)	23,46 (1,68)	22,73 (1,88)	35,80 (1,68)
efeito linear	< 0,0001	< 0,0001	0,1209	< 0,0001
efeito quadrático	0,0800	0,4643	0,0120	0,1670
efeito cúbico	0,1279	0,7833	0,1735	0,6500

A comparação dos parâmetros das retas associadas aos dias 5 e 7 permitiu concluir que ambas podem ser consideradas iguais ( $P > 0,05$ ), enquanto que na comparação entre elas e a correspondente ao dia 13 concluiu-se pela igualdade das inclinações (parâmetro "b") ( $P > 0,05$ ) e pela diferença entre os interceptos (parâmetro "a") ( $P < 0,0001$ ), sendo então possível estabelecer as seguintes relações:

$$\text{ingestão} = 7,2975 + 2,0124 \times \text{densidade} \text{ (para os dias 5 e 7)}$$

e

$$\text{ingestão} = 19,4625 + 2,0124 \times \text{densidade} \text{ (para o dia 13).}$$

A Figura 62 mostra a relação entre os valores de ingestão média ( $n$ ) e a densidade de presas (presas.mL<sup>-1</sup>), em cada uma das idades estudadas.

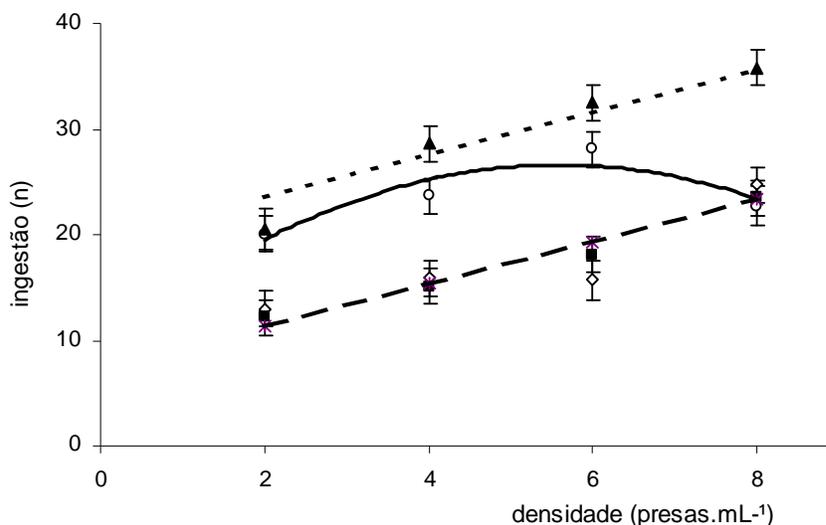


Figura 62. Quantidades médias ( $n$ ) de presas (náuplios de *Artemia*) ingeridas, por larvas de pintado *Pseudoplatystoma coruscans* de diferentes idades, em função da densidade de presas (presas.mL<sup>-1</sup>). As linhas representam as curvas de regressão ajustadas. Linha interrompida = larvas com 5 dias (◇) e com 7 dias (■) de idade; linha cheia e (○) = larvas com 11 dias de idade; linha pontilhada e (▲) = larvas com 13 dias de idade. Os símbolos representam os valores médios de cada repetição ( $\pm$  EP) ( $n = 5$ ).

### 4.3 Comportamento

Larvas de pintado, com cerca de um dia após a eclosão, mantêm-se apoiadas sobre o fundo, aleatoriamente distribuídas em sua maioria ou, casualmente, formando aglomerados em vários pontos. Esporadicamente realizam pequenos 'deslocamentos', em geral de poucos centímetros, por meio de movimentos ondulantes, vigorosos, da parte mais caudal do corpo. Tais deslocamentos não se direcionam para cima, de maneira vertical, mas se dão em um plano inclinado em relação ao fundo. A interrupção do movimento da cauda, bem como o peso devido à grande quantidade de vitelo existente, faz com que o animal novamente se assente sobre o substrato. Nesta fase a boca ainda se situa em posição ventral e esse fato,

associado ao pequeno deslocamento na coluna d'água, certamente responde pelo não enchimento da vesícula gasosa.

Na medida em que as larvas se desenvolvem, os movimentos tornam-se mais duradouros e, portanto, maiores são os deslocamentos que, contudo, raramente atingem a superfície da água. Desse modo, a ingestão de ar para o enchimento da vesícula é de difícil visualização através da observação direta dos animais nos recipientes, mesmo para aquelas larvas mais desenvolvidas. Além disso, a reduzida dimensão da bexiga natatória também dificulta sua identificação macroscópica, mesmo em animais fixados.

Com três a quatro dias de vida livre (ca. 5 – 6 mm CT) tem início a alimentação exógena. Juntamente com a evolução da nadadeira caudal, o desenvolvimento das peitorais permite que as larvas sustentem uma movimentação mais contínua, por longos períodos, principalmente nas proximidades das paredes dos recipientes, onde se concentra o alimento vivo. De qualquer modo, é fato notório que a flutuabilidade das larvas é reduzida, o que pode responder pela sua pouca permanência na coluna d'água e pela necessidade de contínua movimentação da parte caudal do corpo enquanto captura o alimento.

Nesta fase, estruturas como os dentes alcançam dimensões expressivas (Figura 29), indicando que a apreensão do alimento agora é efetível. Paralelamente, o desenvolvimento dos primeiros pares de barbilhões, com dezenas de papilas gustativas em toda sua extensão (Figuras 27 e 29), e o aumento considerável de células receptoras no assoalho da depressão olfativa (Figura 27), são também fenômenos compatíveis com o avanço na movimentação de busca e a melhoria na eficiência de captura do alimento.

Na medida em que progride o desenvolvimento ontogenético, os períodos de repouso tornam-se mais longos, nos quais os animais permanecem praticamente inativos, apoiados sobre o substrato, preferencialmente em locais de refúgio e de pouca luminosidade. Esses intervalos alternam-se com outros, mais curtos, de maior atividade. Uma vez estabelecido, nas duas primeiras semanas de vida, tal comportamento se mantém praticamente inalterado nos períodos subsequentes.

Torna-se evidente que as larvas de pintado desenvolvem intensa fotofobia, o que faz com que, na ausência de refúgios adequados, formem aglomerados em

locais próximos ao duto de saída da água ou nos cantos dos recipientes de manutenção, mesmo em intensidades luminosas tão baixas quanto as determinadas durante o trabalho (ao redor de 5 lux). Distribuição mais uniforme dos animais, por toda a coluna d'água, é verificada com a redução ainda maior da luminosidade ambiental, ao anoitecer, o que os torna mais ativos na busca do alimento. Se, sob tais condições, as larvas utilizam principalmente o sentido da visão, ou os sentidos químicos como olfato e paladar, ou empregam mais eficientemente os receptores mecânicos, como os neuromastos, ou os receptores elétricos, como os receptores ampuliformes, para a percepção dos organismos alimentares em movimento na água, são questões para cujas respostas há necessidade de outra abordagem experimental.

## Elétron-micrografias em MEV

### **Embrião de pintado com 6 h e 30 min pós-fertilização e cerca de 0,9 mm CT.**

Figura 1. Aspecto geral do embrião com região cefálica e botão caudal.

Figura 2. Região cefálica. Cabeça de seta = estrutura circular na região do órgão olfativo.

Figura 3. Maior resolução de uma estrutura circular de onde emergem os primeiros cílios (cabeça de seta).

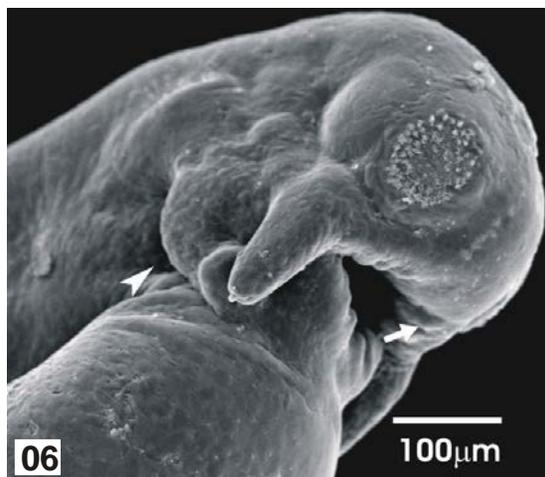
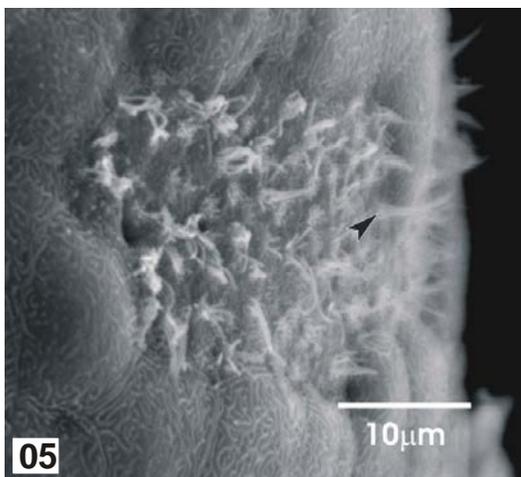
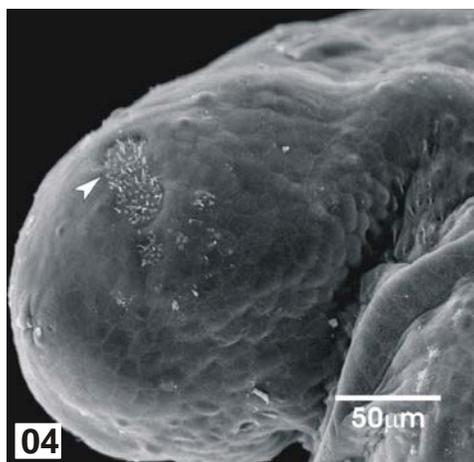
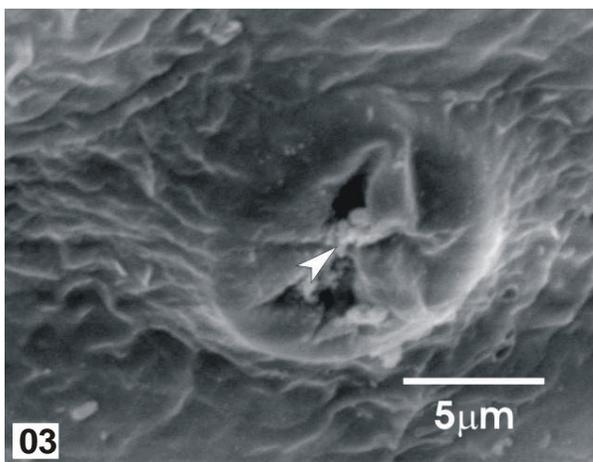
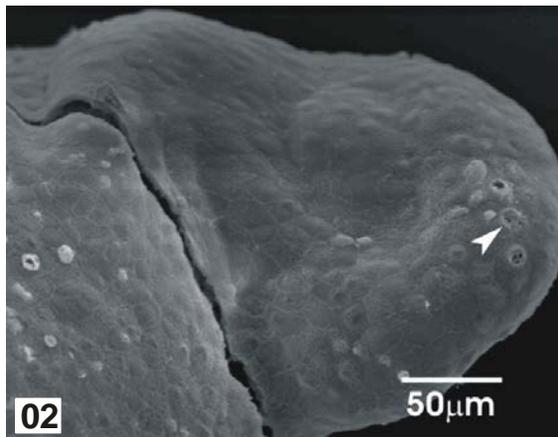
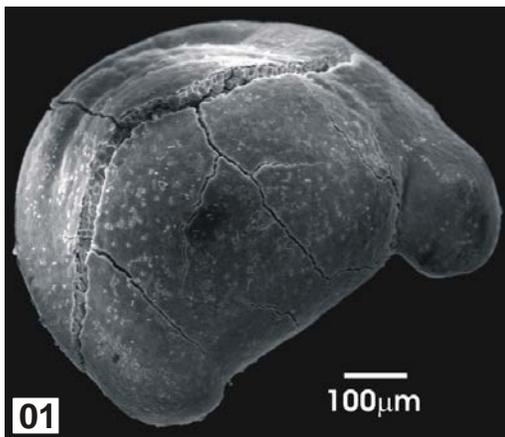
### **Larva de pintado com 13 h pós-fertilização e cerca de 2,8 mm CT.**

Figura 4. Feixes de cílios (cabeça de seta) na placa sensorial do órgão olfativo.

Figura 5. Maior resolução da área sensorial do órgão olfativo onde se visualizam feixes de cílios (cabeça de seta).

### **Larva de pintado com 25 horas pós-fertilização (0,5 dia pós-eclosão) e cerca de 3,6 mm CT.**

Figura 6. Larva de ambiente escuro. Região cefálica. Seta = papilas saciformes em desenvolvimento na região labial; cabeça de seta = fenda que corresponde à abertura branquial na zona limítrofe entre vesícula vitelina e cabeça.



**Larva de pintado com 25 horas pós-fertilização (0,5 dia pós-eclosão) e cerca de 3,6 mm CT.**

Figura 7. Região rostral da placa sensorial do órgão olfativo. Seta = feixe ciliar de um receptor elétrico; cabeça de seta = primeiro neuromasto na cabeça (ainda não aparece a cúpula).

Figura 8. Região média da larva. Cabeça de seta = primeira alça do tubo digestório, caudalmente à vesícula vitelina.

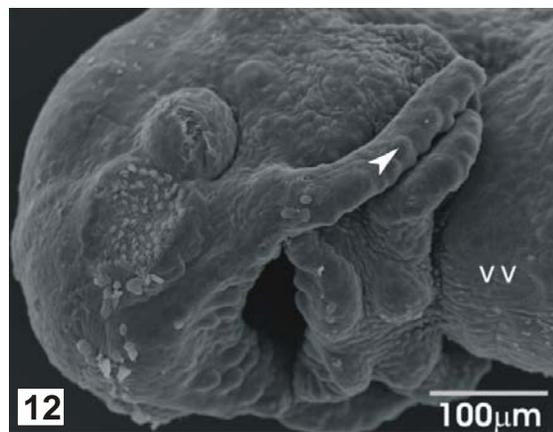
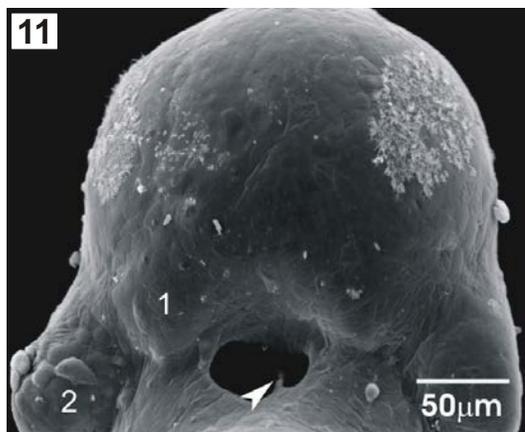
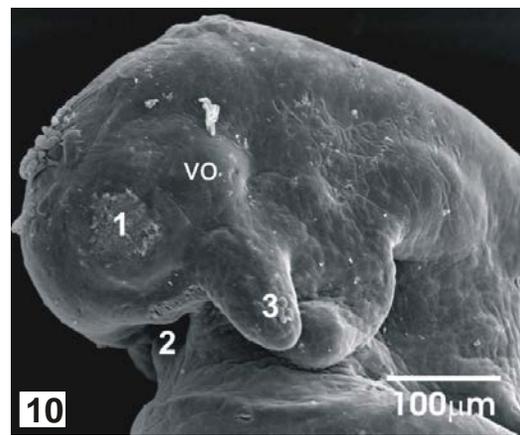
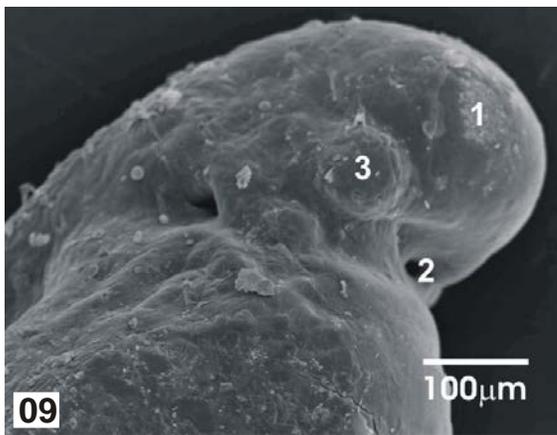
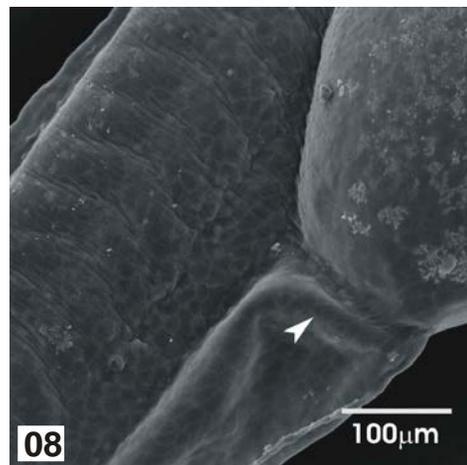
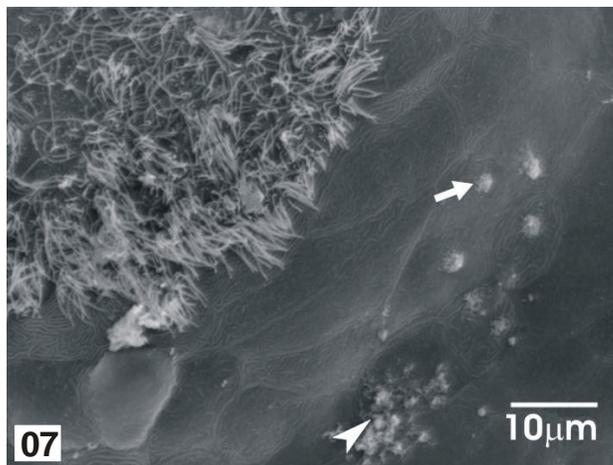
Figura 9. Larva de ambiente iluminado. Vista lateral da região cefálica. Estruturas com desenvolvimento ainda incipiente (1 – órgão olfativo; 2 – boca; 3 – primórdio do primeiro barbilhão maxilar).

Figura 10. Larva de ambiente iluminado. Região cefálica. Estruturas ligeiramente mais desenvolvidas, em comparação com Figura 9 (1 – órgão olfativo; 2 – boca; 3 – primeiro barbilhão maxilar; v.o. = vesícula óptica).

Figura 11. Larva de ambiente iluminado. Vista ventral da região cefálica. Estruturas em início de desenvolvimento (cabeça de seta – septo de tecido conjuntivo ainda presente na região bucal; 1 – primeiro barbilhão maxilar; 2 – segundo barbilhão maxilar).

**Larva de pintado com 38 horas pós-fertilização (1 dia pós-eclosão) e cerca de 4,1 mm CT.**

Figura 12. Cabeça da larva. A boca permanece em posição ventral. Cabeça de seta = papilas dos botões gustativos, nos barbilhões; v.v. = vesícula vitelina.



**Larva de pintado com 38 horas pós-fertilização (1 dia pós-eclosão) e cerca de 4,1 mm CT.**

Figura 13. Abertura bucal. Cabeça de seta = papilas saciformes em ambos os lábios.

Figura 14. Região cefálica. Seta = ranhura ao redor do olho; cabeça de seta = feixes ciliares das células não sensoriais, dispostos radialmente, no órgão olfativo mais desenvolvido.

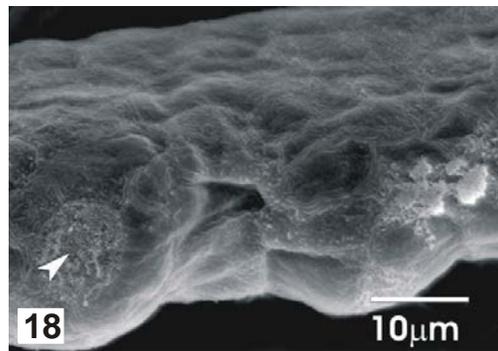
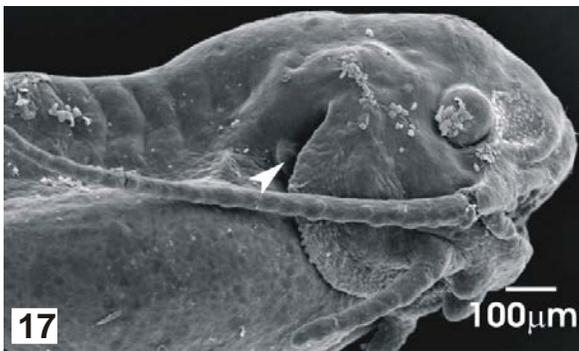
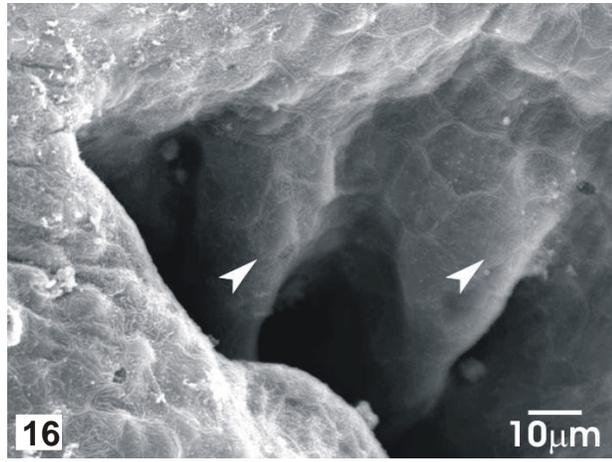
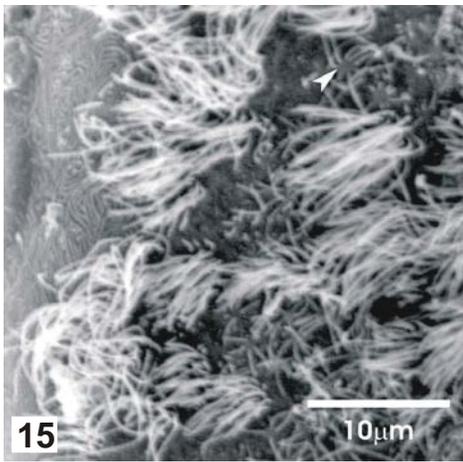
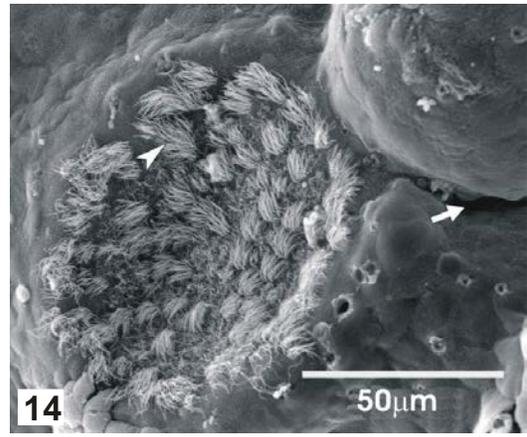
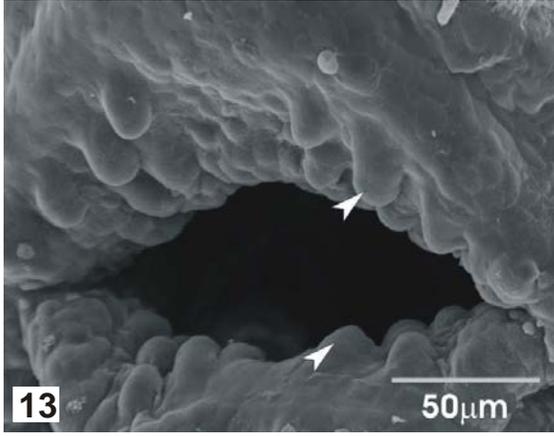
Figura 15. Placa sensorial do órgão olfativo com vários feixes de cílios das células não sensoriais. Cabeça de seta = célula sensorial com pelo menos oito cílios, dispostos radialmente.

Figura 16. Abertura da câmara branquial. Cabeça de seta = dois arcos branquiais em início de desenvolvimento.

**Larva de pintado com 50 horas pós-fertilização (1,5 dia pós-eclosão) e cerca de 4,2 – 4,3 mm CT.**

Figura 17. Câmara branquial ainda não recoberta pela membrana branquiostegial. Cabeça de seta = arco branquial ainda exposto.

Figura 18. Parte de um barbilhão. Cabeça de seta = placa sensorial do botão gustativo.



**Larva de pintado com 50 horas pós-fertilização (1,5 dias pós-eclosão) e cerca de 4,2 – 4,3 mm CT.**

Figura 19. Poro de um botão gustativo. Seta = processos apicais de células de suporte ou células escuras; cabeça de seta = terminação apical de uma célula gustativa ou célula clara.

Figura 20. Cabeça de seta = feixes ciliares de um receptor elétrico.

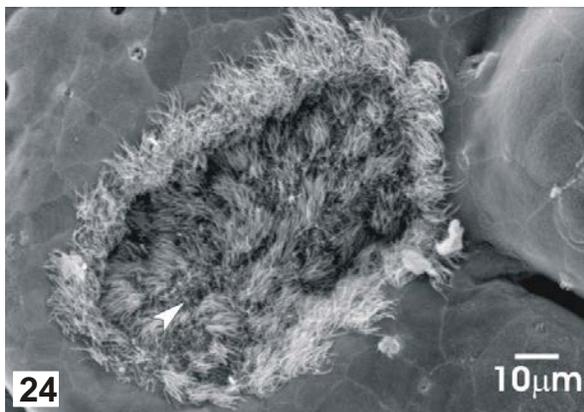
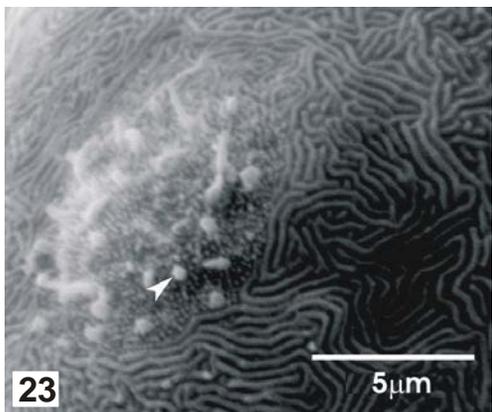
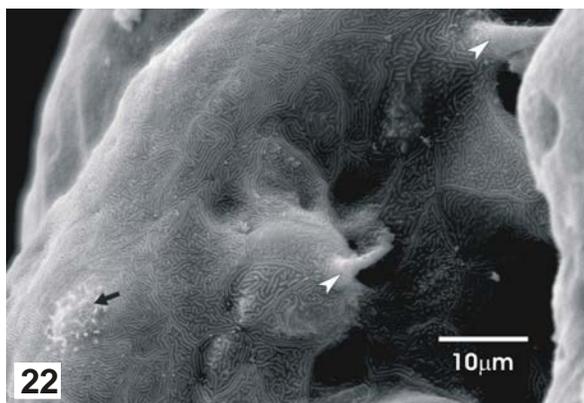
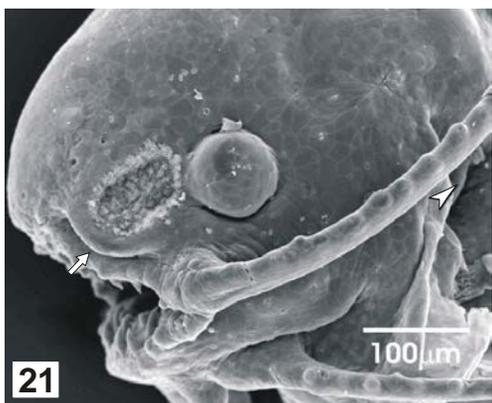
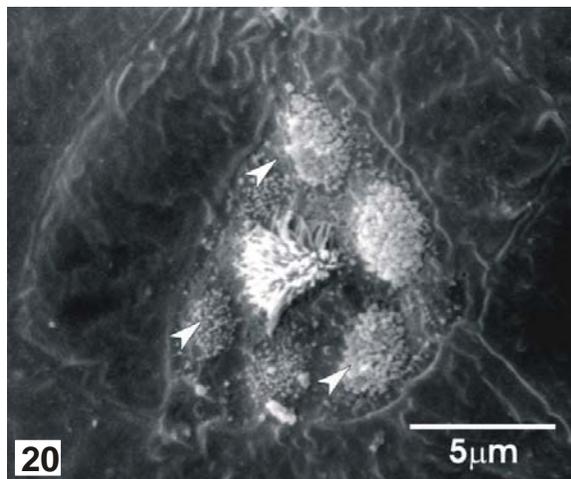
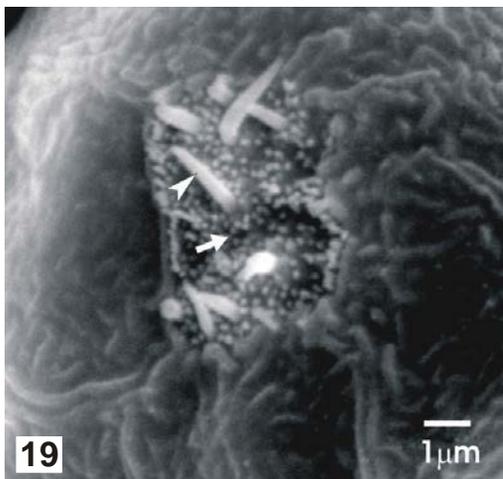
**Larva de pintado com 63 horas pós-fertilização (2 dias pós-eclosão) e cerca de 4,5 – 4,6 mm CT.**

Figura 21. Alongamento da fenda bucal pela distensão caudal dos lábios, na região da comissura labial. Na região rostral do órgão olfativo forma-se a dobra pré-nasal (seta). Cabeça de seta = arco branquial ainda exposto.

Figura 22. Lábio inferior. Seta = placa sensorial de um botão gustativo extra-oral; cabeça de seta = dentículos em início de desenvolvimento.

Figura 23. Botão gustativo extra-oral. Cabeça de seta = terminação, em forma de bastão, de uma célula gustativa na placa sensorial.

Figura 24. Depressão olfativa com formato elíptico, com feixes de cílios na borda e no interior da depressão. Cabeça de seta = célula ciliada sensorial entremeada com os feixes ciliares.



**Larva de pintado com 63 horas pós-fertilização (2 dias pós-eclosão) e cerca de 4,5 – 4,6 mm CT.**

Figura 25. Linha lateral do tronco. Seta = neuromasto com cúpula. No inserto destaca-se um neuromasto imaturo com um mecanocílio na placa sensorial (cabeça de seta).

**Larva de pintado com 74 horas pós-fertilização (2,5 dias pós-eclosão) e cerca de 4,9 – 4,7 mm CT.**

Figura 26. Depressão olfativa com vários feixes ciliares. Externamente à depressão aparecem um neuromasto (cabeça de seta) e um receptor elétrico (seta), em desenvolvimento.

**Larva de pintado com 87 horas pós-fertilização (3 dias pós-eclosão) e cerca de 5,0 – 5,2 mm CT.**

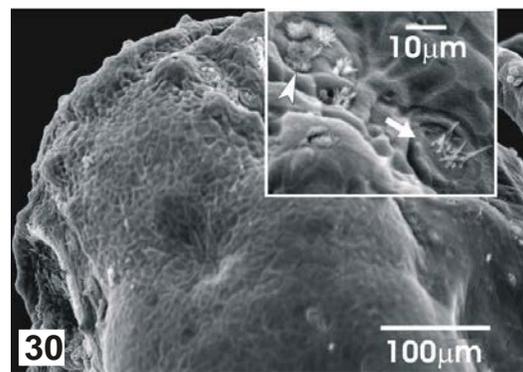
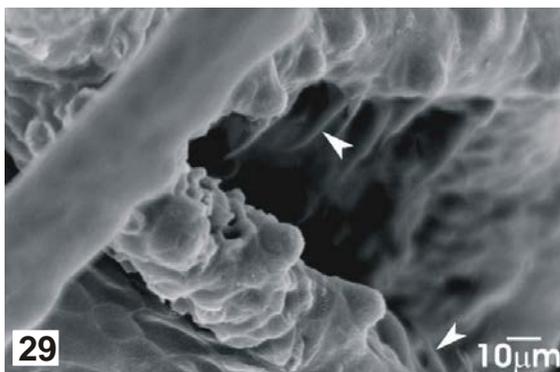
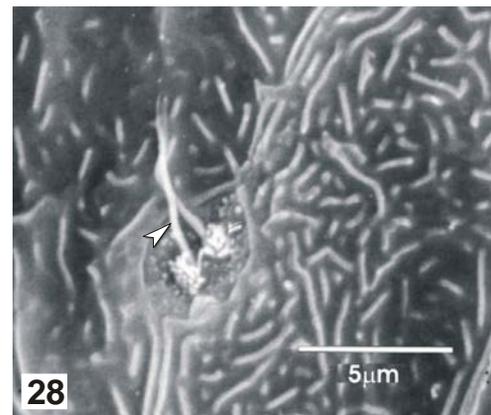
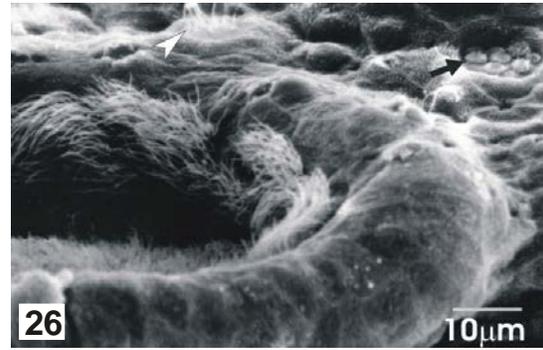
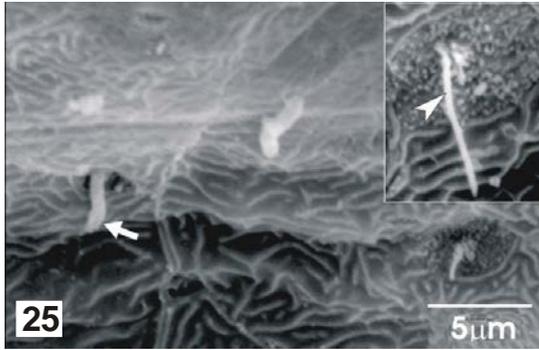
Figura 27. Cabeça e parte do tronco. O perfil da boca torna-se mais alongado e o órgão olfativo mais elíptico; arco branquial ainda exposto. Cabeça de seta = neuromasto em formação na região do canal infra-orbitário.

Figura 28. Linha lateral do tronco. Cabeça de seta = neuromasto imaturo com dois mecanocílios. A polarização das terminações sensoriais é visível.

**Larva de pintado com 98 horas pós-fertilização (3,5 dias pós-eclosão) e cerca de 5,3 – 5,8 mm CT.**

Figura 29. Lábios superior e inferior com inúmeras papilas gustativas. Cabeça de seta = dentículos.

Figura 30. Vista superior da região anterior da cabeça, onde inicia o canal supra-orbitário. No inserto destacam-se um receptor elétrico (cabeça de seta) e um neuromasto (seta).



**Larva de pintado com 98 horas pós-fertilização (3,5 dias pós-eclosão) e cerca de 5,3 – 5,8 mm CT.**

Figura 31. Linha lateral do tronco. Cabeça de seta = neuromastos regularmente espaçados. No inserto destaca-se um neuromasto com quatro células sensoriais. Seta = conjunto de estereocílios de uma dessas células.

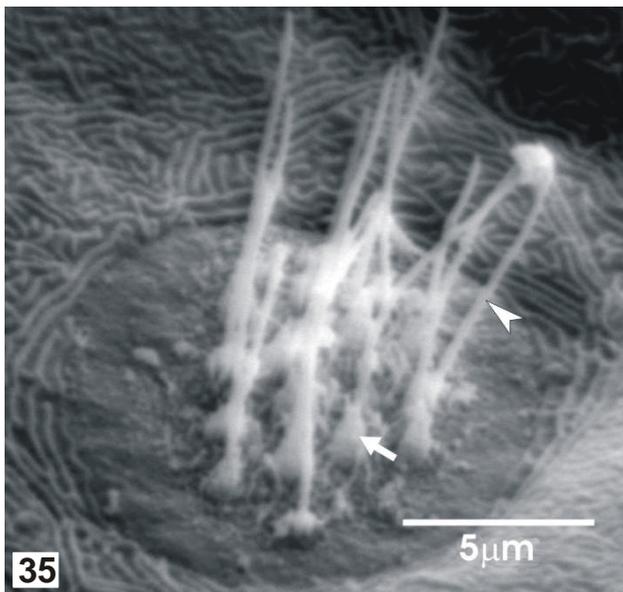
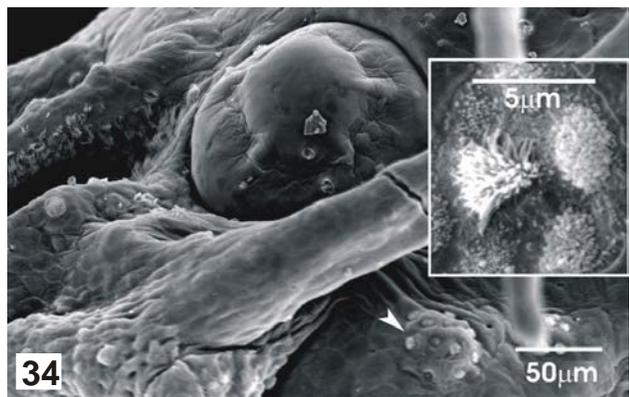
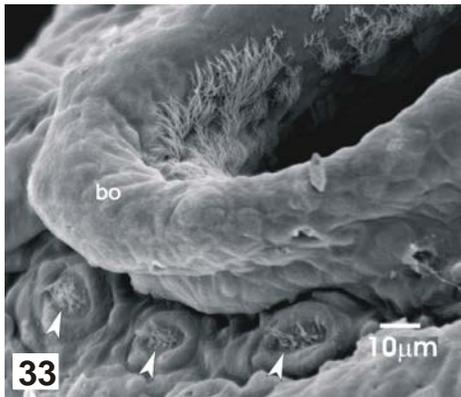
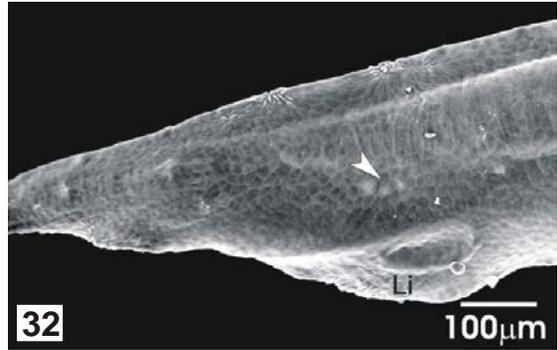
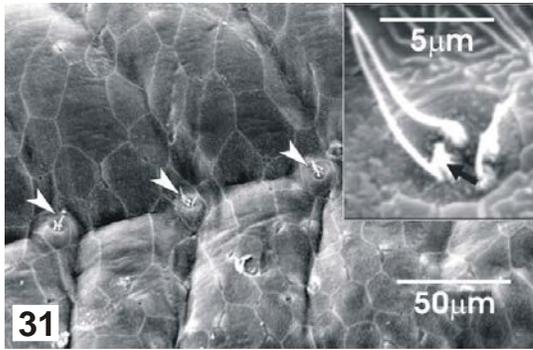
Figura 32. Nadadeira caudal. Início do desenvolvimento do lobo inferior (Li). Cabeça de seta = prováveis neuromastos na porção final da linha lateral do tronco.

**Larva de pintado com 134 horas pós-fertilização (5 dias pós-eclosão) e cerca de 6,7 – 7,2 mm CT.**

Figura 33. Região anterior da depressão olfativa. Borda olfativa (b.o.) bastante proeminente. Cabeça de seta = Neuromastos sem cúpula, na dobra pré-nasal.

Figura 34. Barbilhão maxilar ligeiramente acima da comissura labial. Cabeça de seta = receptor elétrico com vários feixes ciliares. Inserto = mesma estrutura, em larvas mais novas, com 50 horas pós-fertilização.

Figura 35. Alta resolução de um neuromasto da dobra pré-nasal, com cerca de 18 células na placa sensorial. Cada célula é representada por um mecanócílio (cabeça de seta) e um conjunto de estereocílios (seta).



**Larva de pintado com 134 horas pós-fertilização (5 dias pós-eclosão) e cerca de 6,7 – 7,2 mm CT.**

Figura 36. Linha lateral do tronco. Cabeça de seta = neuromastos superficiais na linha principal do tronco. Seta = neuromastos na linha inferior, com distribuição irregular.

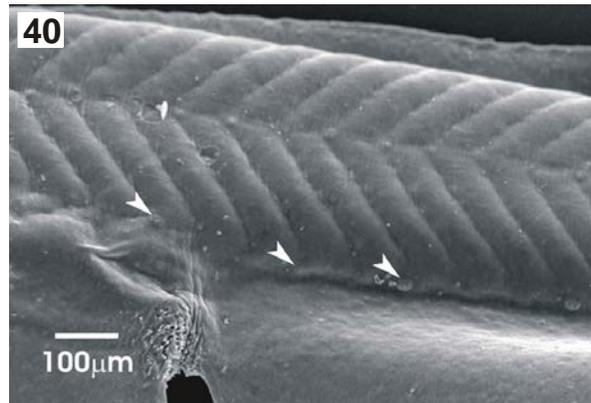
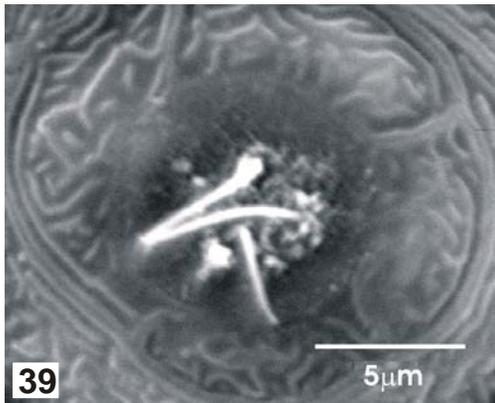
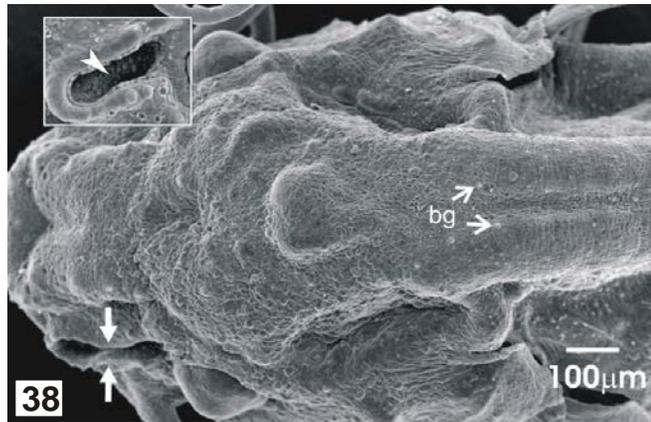
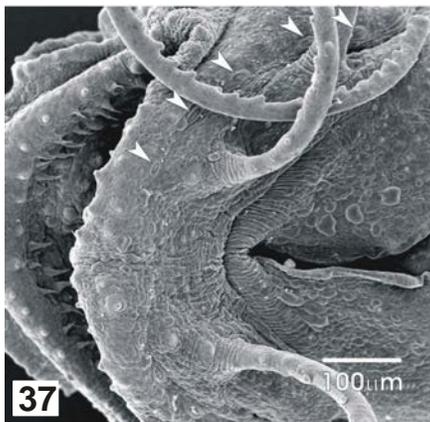
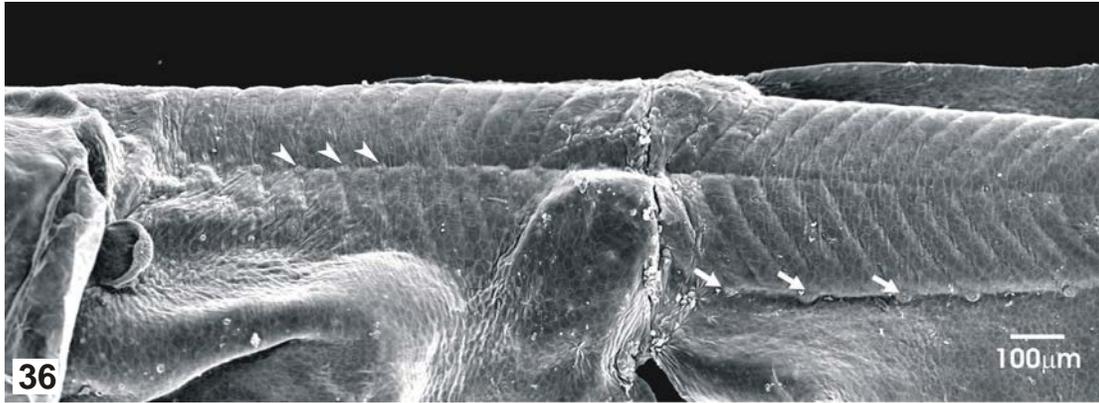
**Larva de pintado com 183 horas pós-fertilização (7 dias pós-eclosão) e cerca de 7,9 – 9,9 mm CT.**

Figura 37. Vista ventral da boca e mento. No lábio superior e na parte anterior da boca observam-se muitos botões gustativos e dentículos, regularmente distribuídos. Cabeça de seta = seqüência de cinco neuromastos do canal mandibular.

Figura 38. Vista superior da cabeça; bg = botões gustativos extra-orais. Seta = bordas do órgão olfativo, em formato de "oito"; inserto = vista lateral do órgão olfativo. A cabeça de seta indica o assoalho da depressão, com vários feixes ciliares.

Figura 39. Receptor da linha lateral do tronco. O aspecto arredondado é típico de estruturas ainda imaturas.

Figura 40. Linha inferior do tronco. Cabeça de seta = receptor com aspecto ovalado.



**Larva de pintado com 183 horas pós-fertilização (7 dias pós-eclosão) e cerca de 7,9 – 9,9 mm CT.**

Figura 41. Receptor da linha inferior do tronco, com cúpula (cp) bem desenvolvida.

**Larva de pintado com 232 horas pós-fertilização (9 dias pós-eclosão) e cerca de 9,0 – 13,9 mm CT.**

Figura 42. Vista lateral da porção anterior da cabeça. A porção inicial do canal supra-orbitário (SoC), com dois neuromastos em desenvolvimento, pode ser visualizada. n.a. = narina anterior; n.p. = narina posterior.

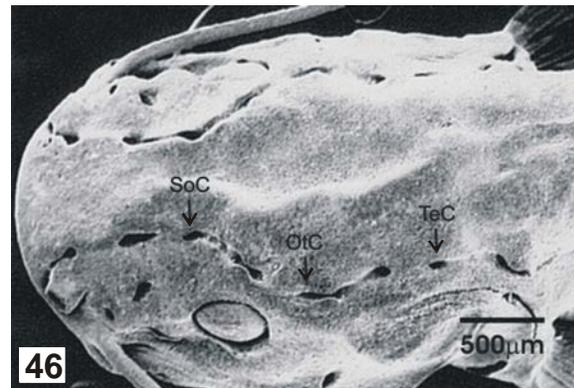
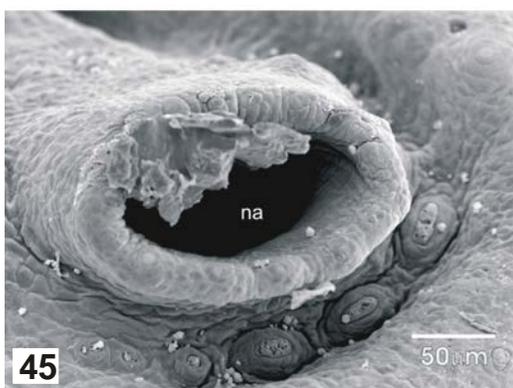
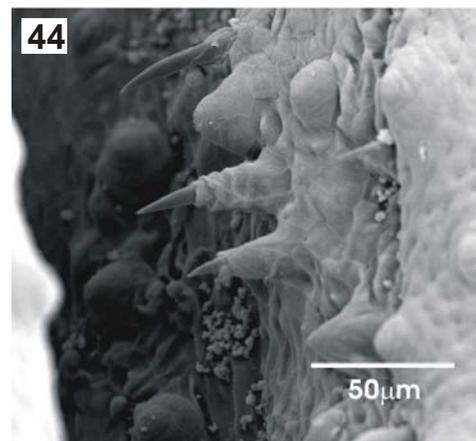
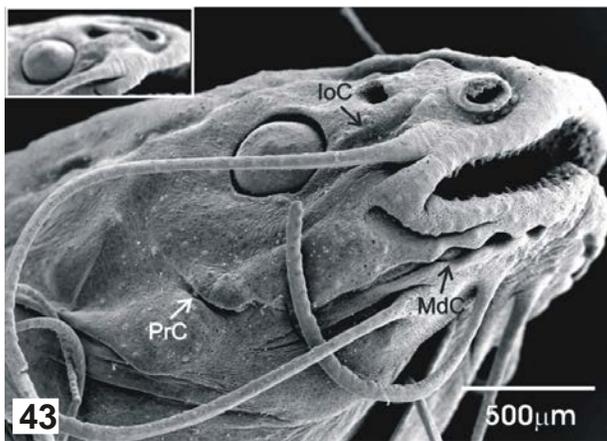
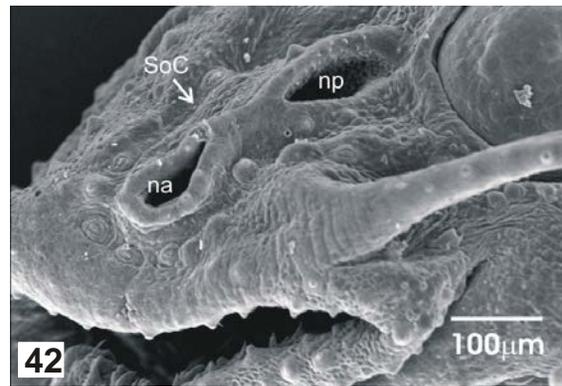
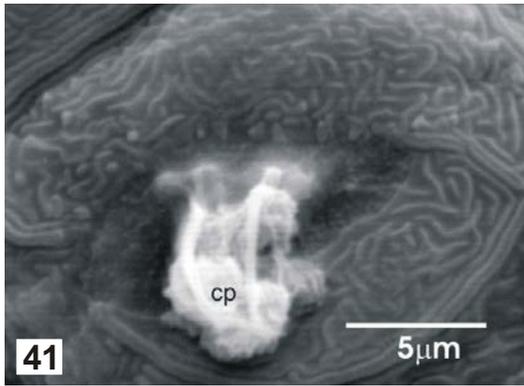
**Larva de pintado com 280 horas pós-fertilização (11 dias pós-eclosão) e cerca de 12,2 – 15,8 mm CT.**

Figura 43. Vista lateral da cabeça de larva de ambiente escuro. No olho, uma pequena pálpebra é evidente. É possível distinguir os canais infra-orbitário (IoC) e pré-opercular (PrC). No canal mandibular (MdC), o segmento anterior próximo à sínfise labial, está fechado. Inserto = aspecto externo do órgão olfativo de animal mantido em ambiente iluminado.

Figura 44. Denticulos e botões gustativos no interior da boca e nos lábios (primeiro plano).

Figura 45. Neuromastos superficiais na dobra pré-nasal. Os mais imaturos apresentam morfologia arredondada; n.a. = narina anterior.

Figura 46. Vista superior da cabeça. SoC = canal supra-orbitário; OtC = canal ótico; TeC = canal temporal.



**Larva de pintado com 280 horas pós-fertilização (11 dias pós-eclosão) e cerca de 12,2 – 15,8 mm CT.**

Figura 47. Vista ventral da cabeça de uma larva de ambiente iluminado. No canal mandibular (MdC) em formação, todos os segmentos encontram-se abertos, em contraste com o que se observa na Figura 43. Os cinco neuromastos ainda estão visíveis no assoalho da depressão.

Figura 48. Vista superior da cabeça. Em ambos os lados, o canal supra-orbitário encontra-se aberto (estágio 2A). So1 a So5 representam os neuromastos desse canal.

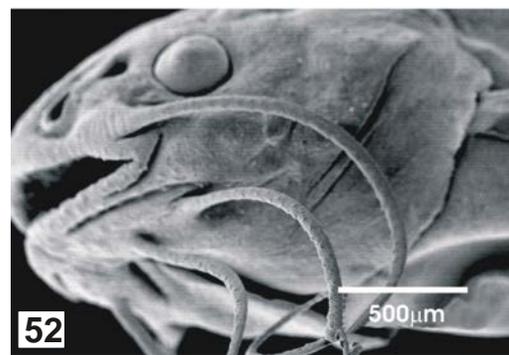
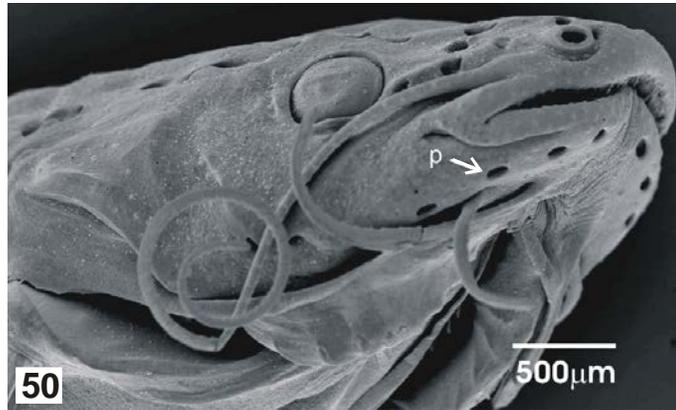
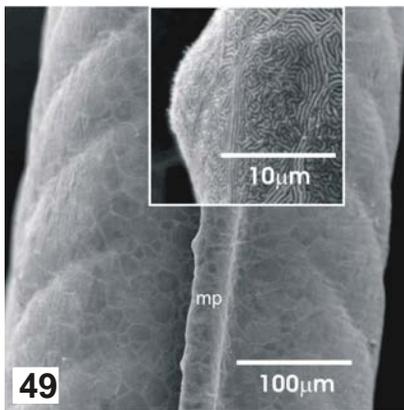
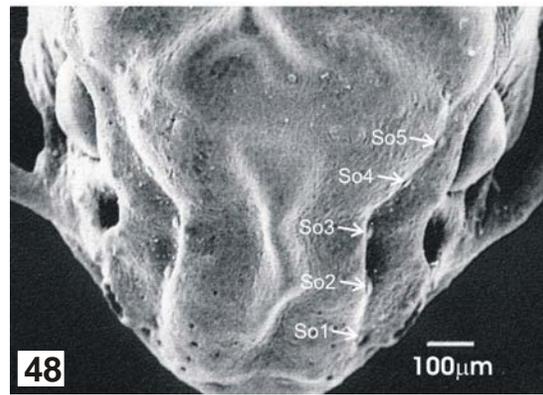
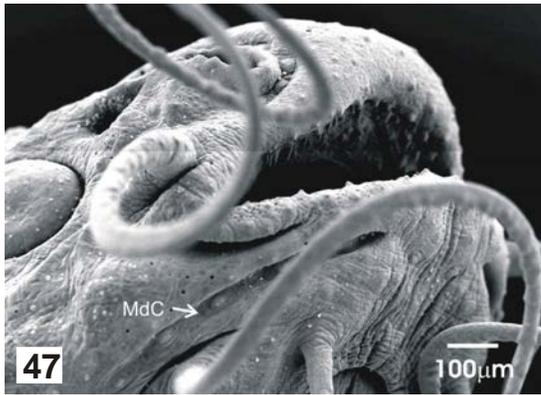
Figura 49. Vista superior da região dorsal média de uma larva. Na membrana primordial (m.p.) projeta-se, lateralmente, um botão extra-oral (inserto).

**Larva de pintado com 328 horas pós-fertilização (13 dias pós-eclosão) e cerca de 17,2 – 21,0 mm CT.**

Figura 50. Distribuição dos poros (p) dos canais cefálicos da linha lateral. Os poros do canal mandibular são os mais evidentes.

Figura 51. Alta resolução de um poro do canal mandibular. O mecanorreceptor não se localiza no assoalho do canal, na região do poro, mas entre poros adjacentes.

Figura 52. Em larva de ambiente iluminado, o canal mandibular, no mento, ainda se encontra aberto (estágio 2B da formação dos canais).



**Larva de pintado com 328 horas pós-fertilização (13 dias pós-eclosão) e cerca de 17,2 – 21,0 mm CT.**

Figura 53. Ramo inferior da linha lateral do tronco. Seta = neuromasto superficial. No inserto aparece um neuromasto da linha principal do tronco; cabeça de seta = orifício de comunicação com o meio externo.

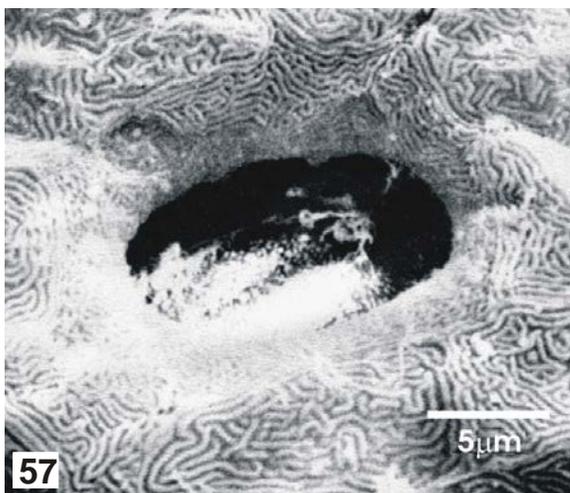
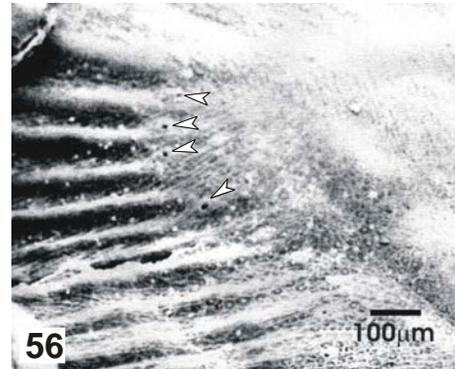
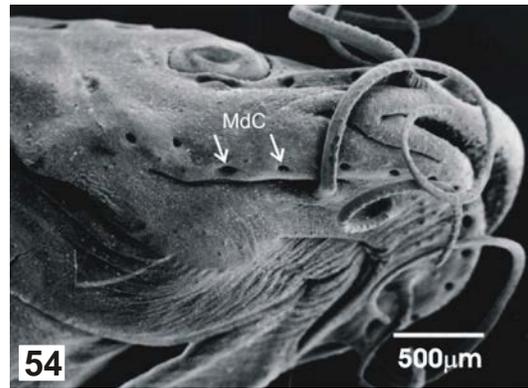
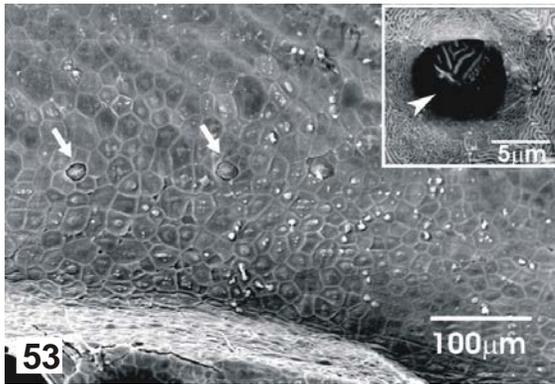
**Juvenil de pintado com 400 horas pós-fertilização (16 dias pós-eclosão) e cerca de 22,5 – 27,7 mm CT.**

Figura 54. Canal mandibular (MdC) completo, com inúmeros poros de comunicação com o meio externo. O canal infra-orbitário, no segmento imediatamente abaixo do olho, ainda se encontra aberto.

Figura 55. Poro do canal mandibular. Cada poro compartilhado representa a extremidade final de um segmento e a inicial do segmento de canal seguinte.

Figura 56. Disposição em forma de arco dos orifícios (cabeça de seta) da linha lateral caudal. Cada orifício se encontra na base de um raio.

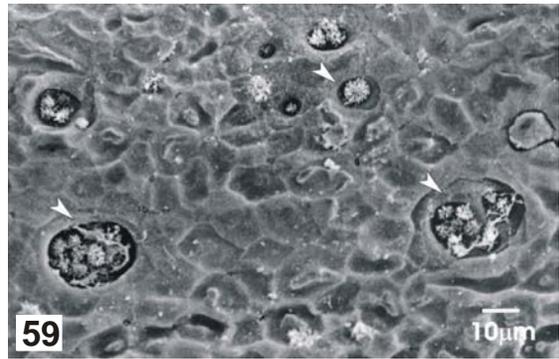
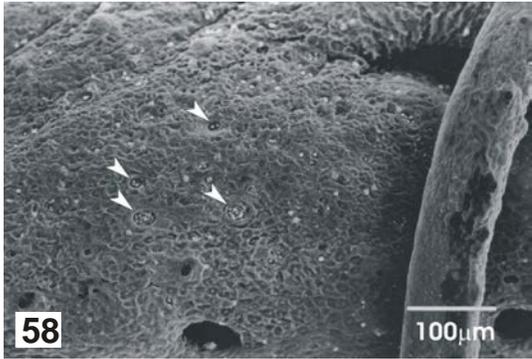
Figura 57. Alta resolução de um poro da linha caudal mostrando, em seu interior, parte de um neuromasto.



**Juvenil de pintado com 400 horas pós-fertilização (16 dias pós-eclosão)  
e cerca de 22,5 – 27,7 mm CT.**

Figura 58. Região da epiderme entre os poros do canal mandibular da linha lateral e a comissura labial, mostrando vários receptores elétricos (cabeça de seta).

Figura 59. Alta resolução dos receptores elétricos (cabeça de seta), evidenciando distintos graus de desenvolvimento.



## 5. DISCUSSÃO

### 5.1 Embriogênese

O período embrionário de *Pseudoplatystoma coruscans* foi de cerca de 13 horas, à temperatura de 29°C, quando ocorreu 40% a 50% da eclosão. Este pode ser considerado curto, como freqüentemente ocorre com o desenvolvimento de larvas oriundas de ovos pelágicos. Contudo, diferenças consideráveis na duração das fases de desenvolvimento podem ocorrer por influência de algumas variáveis ambientais, como a temperatura, a qual está diretamente associada à taxa de desenvolvimento. Esta é definida como o inverso do período entre a fertilização e a ocorrência maciça de determinado estágio (KAMLER, 1992), neste caso, a eclosão. Uma taxa de desenvolvimento mais reduzida, sem exclusão da possível influência de várias outras condições ambientais e fisiológicas, pode responder pela acentuada elevação no tempo de eclosão. Cardoso et al. (1988), com informações também obtidas a partir de reprodução em laboratório, assinalam, para essa mesma espécie, à temperatura de 25-26°C, um período de embriogênese de aproximadamente 19 horas.

Além disso, o próprio intervalo entre o início e o final do processo também pode variar. Em espécies de águas quentes, os extremos desse intervalo tendem a tornar-se mais sincrônicos em temperaturas mais elevadas. Isso significa que um maior percentual de larvas eclodem num intervalo mais curto, ou seja, reduz-se o período de desenvolvimento embrionário.

Ao eclodir, a larva de pintado é transparente, não se observando qualquer nódoa de pigmento que possa caracterizá-la ou sirva para uma identificação específica, nessa fase.

## 5.2 Morfologia – desenvolvimento de estruturas sensoriais

### 5.2.1 Fotorrecepção – Visão

Ao eclodir, as larvas de muitas espécies de teleósteos apresentam olhos quase certamente não funcionais (BLAXTER, 1986). Esse autor afirma, no entanto, que ao ter início a alimentação exógena, a retina, que, com raras exceções, é constituída quase que exclusivamente de cones, células fotorreceptoras envolvidas na visão de cores e na acuidade visual, já é adequada para a alimentação, mesmo em baixas intensidades luminosas.

Huse (1994) determinou os níveis ótimos de luminosidade para a alimentação, em larvas de três espécies marinhas, tendo obtido valores de 860 lux, para a ingestão máxima, em *Scophthalmus maximus*, 87 lux para *Pleuronectes platessa* e 0,1 lux para *Gadus morhua*. O autor considerou que, embora os resultados tenham sido tão amplos, os valores foram compatíveis com a estratégia de alimentação e o hábitat de cada uma dessas espécies. Paralelamente, atribuiu a uma ingestão acidental o fato de haver encontrado alimento no estômago de algumas das larvas de *G. morhua*, mantidas em ambiente escuro, uma vez que essa espécie, assim como as duas outras, é considerada predadora visual. De acordo com Blaxter (1986), no entanto, a alimentação no escuro pode não ser decorrente de ingestão acidental. O autor acredita que muitos dos resultados que mencionam esse tipo de ocorrência provavelmente subestimam o fato de que a luz, mesmo em baixas intensidades, tenha sido suficiente para a visão através dos cones.

Appelbaum e Riehl (1997) verificaram em larvas de carpa comum *Cyprinus carpio* que, sob luminosidade intensa, o sentido da visão predominava na busca e captura do alimento enquanto que sob luz reduzida ou no escuro, quando os animais tendiam a permanecer em contato com o substrato de fundo, a alimentação, embora ocorrendo, era menos eficiente. Sem descartar a possível atuação da visão na percepção do alimento, os autores sugeriram que a ação dos receptores mecânicos e químicos parecia prevalecer na detecção das partículas, nessa circunstância.

Em larvas de pintado, os resultados evidenciam que a alimentação pode ocorrer tanto em ambiente iluminado quanto no escuro, embora o comportamento

dos animais, em cada um desses ambientes, seja bastante distinto. Diferentemente do que se observa para as larvas de carpa ou das espécies marinhas antes mencionadas, onde a luz estimula e intensifica a busca pelo alimento, as larvas de pintado mantidas nos recipientes iluminados desenvolvem intensa fotofobia desde os primeiros dias de vida livre, mesmo em baixa intensidade de luz ambiental, o que faz com que procurem refugiar-se, formando aglomerados sobre o fundo das caixas, em pontos eventualmente mais escuros. Além de não ser recomendável para o cultivo larval da espécie, pois propicia um contato íntimo entre os animais, podendo facilitar o canibalismo, a disseminação de patógenos e o desencadeamento de eventuais deficiências metabólicas decorrentes da redução local da concentração de oxigênio dissolvido ou do acúmulo de excreções, tal comportamento, por certo, influencia negativamente a alimentação, dadas algumas circunstâncias que por certo interferem na ingestão, tais como a distribuição do alimento vivo e o tempo despendido na busca de abrigo. No primeiro caso, os organismos alimentares, por geralmente apresentarem fototaxia positiva, distribuem-se formando nódoas ou manchas, nos locais onde a luz é mais intensa, nas camadas d'água mais superficiais. Nesta circunstância, os comportamentos díspares de larvas e alimento reduzem a possibilidade de encontro entre ambos. No segundo caso, a parcela de tempo em que os animais, nos ambientes iluminados, permanecem formando um aglomerado, com a finalidade de se protegerem, também pode reduzir o contato com o alimento, restringindo a ingestão. Por outro lado, durante o período noturno, ou naqueles recipientes cujos animais foram mantidos constantemente no escuro, a distribuição das larvas, assim como a do alimento vivo, deu-se de maneira uniforme por todo o recipiente, aumentando as oportunidades de encontro, cujo resultado óbvio é a possibilidade de uma ingestão mais eficaz.

Essas observações comportamentais permitem supor que a visão, nesta fase inicial de vida dessa espécie, desempenha um papel essencial na prevenção à predação. Permite supor também que as larvas devam utilizar algum outro mecanismo de percepção sensorial, seja ele químico, mecânico ou elétrico, mais que o sentido da visão, na captura do alimento. O fato da ingestão no escuro ter sido mais eficaz corrobora essa hipótese.

Noakes e Godin (1988) consideram que as alterações no comportamento alimentar, com reflexos no crescimento do indivíduo, estão relacionadas a variações na luminosidade decorrentes de mudanças de hábitat que ocorrem de forma sincronizada com modificações estruturais e funcionais do olho durante o desenvolvimento larval. Fernald (1985) também acredita que a existência de uma relação alométrica entre as dimensões do corpo e do olho possibilite que, além da luz, outros fatores ambientais, como temperatura e disponibilidade de alimento, ou sociais, que em algumas espécies também controlam o crescimento do indivíduo, possam alterar o tamanho do olho e, conseqüentemente, modificar a função visual e os comportamentos mediados pela visão.

Um exemplo dessa relação pode ser observado no ciclídeo *Sarotherodon mossambicus*. Zeutzius e Rahmann (1984) e Zeutzius et al. (1984) constataram que as larvas dessa espécie, cultivadas por um período prolongado em ausência de luz, apresentaram várias anomalias em sua macromorfologia, representadas por alterações no crescimento, encurtamento da região facial, deformações na boca, opérculo e nadadeiras, palidez, exoftalmia e perda da acuidade visual. Além disso, as larvas tornaram-se incapazes de nadar em direção à superfície para enchimento da vesícula gasosa, tendo permanecido apoiadas no substrato do fundo. A pequena parcela de animais que sobreviveu após 80 dias de cultivo no escuro não atingiu a maturidade sexual.

No pintado, os resultados mostraram que, embora o período de permanência das larvas em ambiente escuro tenha sido menor que aquele verificado para o ciclídeo, o desenvolvimento morfológico não foi prejudicado por essa variável ambiental, pelo menos nessa fase. Ao contrário, os animais mantidos em ausência de luz apresentaram algumas características que podem ser apontadas como vantajosas para o cultivo da espécie, tais como o desenvolvimento corpóreo mais homogêneo, o maior crescimento em comprimento e a formação ligeiramente mais precoce das narinas e das nadadeiras. É provável que tais diferenças não sejam decorrentes da influência direta daquela variável, mas conseqüência de um possível estado de "bem-estar" dos animais, representado pela movimentação um tanto mais harmônica e contínua e pela distribuição mais ampla nos recipientes de cultivo, em busca do alimento.

Fernald (1988) afirma que, como a taxa de crescimento do olho, em proporção ao crescimento corpóreo, pode depender da importância da visão para a espécie, naquelas chamadas de predadoras visuais, o valor absoluto de crescimento pode ser bastante expressivo. Fernald (1985) verificou que no ciclídeo africano *Haplochromis burtoni*, espécie classificada como altamente visual, o olho pode triplicar seu raio, de 0,85 mm para 2,4 mm, durante os dois primeiros meses de vida. Para a carpa *Cyprinus carpio*, outro animal que apresenta crescimento expressivo do olho, Appelbaum e Riehl (1997) consideram que o sentido visual é de fundamental importância nas fases iniciais de vida, já que o olho quadruplicou seu diâmetro, em um intervalo de 5 dias após o início da alimentação exógena, passando de cerca de 0,3 mm para 1,2 mm.

Contrastando com o tamanho e o crescimento expressivo do olho nas larvas das espécies cujo comportamento alimentar se estabelece com base em um forte componente visual, no pintado o olho apresenta-se pouco desenvolvido no início da alimentação exógena. Em animais com 5-6 mm de comprimento total (cerca de 3-4 dias de vida livre) o diâmetro do olho é de aproximadamente 100  $\mu\text{m}$ , quase três vezes menor que o olho da carpa de idade similar e cerca de 7,5 mm de comprimento total. Além disso, o crescimento relativo dessa estrutura é também pouco expressivo no pintado, já que variou menos de um ponto percentual, em um intervalo de 6 a 7 dias de vida. Keast e Webb (1966) afirmam que os olhos pequenos e a visão pouco desenvolvida são características de animais adaptados para a vida em águas barrentas e/ou de alimentação noturna, primariamente dependentes da quimiorrecepção, mais que da visão, para localizar o alimento. Os resultados obtidos para as larvas de pintado sugerem que essa espécie, mesmo nessa fase inicial da ontogenia, já desenvolve uma relação similar com o ambiente.

### **5.2.2 Quimiorrecepção – Olfato e Paladar**

Em peixes, cuja sensibilidade química é extremamente elevada, os sistemas sensoriais olfativo e gustativo respondem fisiologicamente a moléculas que, estando dissolvidas na água, envolvem o animal constantemente e podem levar à formação de comportamentos tão díspares quanto os relacionados ao acasalamento ou à

alimentação (NOAKES e GODIN, 1988). Hara (1971) afirma que há evidências experimentais que indicam papéis funcionais distintos para ambos os sistemas, em teleósteos. Não obstante, pelo fato de que esses sistemas possam estar sendo estimulados simultaneamente, Noakes e Godin (1988) afirmam que a discriminação funcional entre ambos não é tão clara.

### 5.2.2.1 Olfato

Trujillo-Cenóz (1961) descreveu a estrutura do epitélio olfativo em embriões de *Cnesterodon decemmaculatus* e *Fitzroyia lineata*, assinalando a presença de apenas dois tipos celulares: as células olfativas e as de sustentação. Por outro lado, estudando vários teleósteos, Yamamoto e Ueda (1978) e Yamamoto (1982) realizaram uma descrição mais acurada da estrutura do epitélio sensorial, tendo determinado que as células ciliadas dividiam-se em duas categorias: sensoriais e não-sensoriais. Verificaram também a ocorrência de outro tipo celular – as células sensoriais com microvilosidades – que, juntamente com as células sensoriais ciliadas constituem, segundo aqueles autores, as células receptoras olfativas dos teleósteos.

Yamamoto e Ueda (1978), verificaram, em duas espécies de siluriformes de água doce, *Parasilurus asotus* e *Pelteobagrus nudiceps*, que a superfície do epitélio olfativo apresentava-se uniformemente recoberta de cílios não-sensoriais, bastante densos, formando tufos, entremeados com cílios sensoriais e microvilosidades. Com base nessa distribuição, os autores consideraram essas espécies como de sensibilidade olfativa aguda. Padrões semelhantes de distribuição do epitélio sensorial foram observados em *Pagrus major* e *Acanthopagrus schlegeli*, espécies cujos sistemas olfativos são também considerados bastante sensíveis (MANA e KAWAMURA, 2002).

A estrutura do epitélio olfativo, como um elemento determinante da sensibilidade sensorial nos teleósteos, é condição essencial para o sucesso na alimentação (IWAI, 1980). Esse autor verificou que larvas de *Tilapia*, com dois dias de vida, e de *Pagrus*, com oito dias de idade, apresentavam o epitélio bem diferenciado, constituído de células sensoriais, não-sensoriais e de suporte. Verificou

também a presença do nervo olfativo na região basal do epitélio, estendendo-se até o encéfalo e, com base nessas evidências estruturais, considerou plausível que as larvas de ambas as espécies seriam capazes de perceber estímulos odoríferos.

No pintado *P. coruscans*, os resultados evidenciam que, no período que antecede à eclosão, o epitélio olfativo está nitidamente desenvolvido ao longo da superfície basal da depressão olfativa onde cílios longos, provavelmente cílios não-sensoriais, formam pequenos feixes que se distribuem de maneira uniforme. Com apenas um dia de vida livre também já podem ser observados os cílios mais curtos e as microvilosidades das células sensoriais entremeados com os feixes ciliares. Embora um padrão definido de distribuição do epitélio sensorial somente possa ser detectado em um animal cujo órgão olfativo tenha alcançado um certo grau de maturidade, após a metamorfose (YAMAMOTO, 1982), o modelo de distribuição observado no pintado, à semelhança das espécies antes mencionadas, parece evidenciar ser essa uma espécie cuja percepção olfativa é precoce e elevada.

Tanaka et al. (1991) constataram experimentalmente que larvas de *Pagrus major*, com cerca de 12 horas de vida livre, eram capazes de encontrar alimento disperso em manchas, com o auxílio do sentido olfativo. Segundo os autores, mesmo não possuindo olhos pigmentados, botões gustativos diferenciados e boca funcional, as larvas recém-eclodidas apresentavam narinas abertas, com células receptoras ciliadas que podiam responder pela capacidade larval de detectar sinais químicos poucas horas após a eclosão. Nesse sentido, Iwai (1980) pondera que, se os receptores olfativos efetivamente desempenharem algum papel na detecção de partículas de alimento em potencial, a circulação contínua de água através da depressão olfativa é uma condição essencial para o sucesso na alimentação das larvas de peixes nas primeiras fases de vida. Para aquele autor, mesmo que a movimentação da água que banha a região anterior da cabeça ocorra primariamente em consequência dos movimentos respiratórios, o efeito ventilativo das correntes ciliares na cavidade nasal, como o que ocorre, por exemplo, em larvas de *Plecoglossus altivelis*, não deve ser negligenciado, no decurso do desenvolvimento pós-embriônico.

Em embriões de *Cyprinus carpio* com 50 horas pós-fertilização e 4 mm de comprimento total, Appelbaum e Riehl (1997) verificaram que os longos cílios

mecânicos das células não-sensoriais, considerados como responsáveis pela movimentação ativa da água sobre o epitélio olfativo, após a eclosão, estavam concentrados na borda periférica da depressão olfativa. Em outras espécies de teleósteos, Werner e Lannoo (1994) também observaram a presença daqueles cílios, o que pode sugerir que essa seja uma configuração comum em larvas de peixes, após a eclosão.

Efetivamente, concentração de cílios não-sensoriais, similar à observada em embriões de *C. carpio*, também ocorre em larvas de pintado *P. coruscans* com 25 horas pós-fertilização e 3,6 mm de comprimento total, e com 38 horas pós-fertilização e cerca de 4,1 mm de comprimento total, oriundas de cultivo em ambiente escuro e em ambiente iluminado, respectivamente. Independentemente das diferenças observadas no crescimento inicial dessas larvas, certamente como resultado da variabilidade intrínseca dos indivíduos, e não do período de permanência nas duas condições de iluminação, o qual, para esses animais, foi de poucas horas, é provável que nesta espécie, cuja movimentação nas fases iniciais de vida é bem restrita, os cílios mais longos do epitélio também auxiliem na ventilação da região basal da depressão olfativa. Além da pouca mobilidade, o comportamento de aglomeração dos indivíduos, outra característica da espécie nesse período da ontogenia, possivelmente origine microambientes onde a circulação da água seja reduzida. Os movimentos ciliares, nessa circunstância, poderiam contribuir efetivamente para o fluxo da água, de modo que os estimulantes químicos pudessem alcançar o órgão olfativo.

Elston et al. (1981), por outro lado, trabalhando com larvas relativamente imóveis de *Stizostedion vitreum* em início de desenvolvimento, não atribuíram a facilitação na detecção sensorial à criação de um fluxo de água na região olfativa, pela ação mecânica dos cílios, mas sugeriram que o fato do epitélio olfativo encontrar-se ainda exposto, nessa fase de vida, seria a condição suficiente para que aquele fenômeno ocorresse.

Paralelamente, em um trabalho com *Pagrus major* e *Acanthopagrus schlegeli*, espécies cujo sentido olfativo é considerado bastante desenvolvido, Mana e Kawamura (2002) verificaram que, enquanto na primeira ocorriam altas densidades de células não-sensoriais no epitélio olfativo, podendo desempenhar papel

importante na movimentação de água e muco, em *A. schlegeli* elas estavam ausentes. Os autores argumentam que a falta dessas células, em *A. schlegeli*, poderia sugerir a existência de um sistema alternativo na propulsão daquelas substâncias.

Na medida em que avança o desenvolvimento larval do pintado, a depressão olfativa torna-se mais larga e profunda. Ao mesmo tempo, os feixes de cílios não-sensoriais, inicialmente dispostos de forma radial, gradativamente aumentam de quantidade e se distribuem por toda a superfície epitelial. Cada depressão forma uma câmara onde a aproximação, e depois a fusão, das bordas epiteliais externas define um par de orifícios com formato de "número 8" que, em animais com 16 dias de vida livre, são morfologicamente distintos e constituem as narinas anterior e posterior. Nesta fase, o órgão olfativo alcança sua configuração externa final. Esse tipo de formação das narinas é comum em teleósteos (APPELBAUM e RIEHL, 1997; IWAI, 1980; MANA e KAWAMURA, 2002), muito embora a formação de narinas anormais seja um fenômeno já registrado (MANA e KAWAMURA, 2002).

Mana e Kawamura (2002) constataram que a formação de abertura nasal única, onde não se verifica o fechamento da ponte epidérmica mediana, pode ocorrer em um elevado percentual de larvas cultivadas de *P. major* e *A. schlegeli*. Segundo os autores, as prováveis causas dessa anomalia podem ter origem em determinados fatores ambientais como densidade larval, quantidades de nutrientes e de excreções metabólicas, ou pressão de aeração nos tanques, decorrentes de procedimentos de cultivo. Observações ultraestruturais da topografia lamelar olfativa nessas espécies demonstraram que, nos animais com abertura nasal anormal, ocorria não somente uma variação substancial na distribuição do epitélio sensorial como também uma redução na área sensorial. Com base nessas informações, aqueles autores argumentaram que a morfologia externa do órgão olfativo não indicaria necessariamente que a estrutura interna da câmara olfativa ou mesmo o próprio epitélio sensorial já estariam completa e regularmente desenvolvidos, mas poderia servir como um indicador das condições de desenvolvimento dos peixes em seus primeiros estágios de vida.

Os resultados obtidos com o pintado *P. coruscans* mostram claramente que a formação das narinas ocorreu de maneira regular. As pequenas diferenças

observadas no desenvolvimento dessas estruturas, entre as larvas cultivadas em distintos regimes de luz, certamente foram devidas à variabilidade intrínseca dos indivíduos, como já mencionado anteriormente, e não devem ter afetado a sensibilidade olfativa dos animais, pelo menos nessa fase inicial de vida.

### 5.2.2.2 Paladar

Células gustativas em peixes, como em outros vertebrados, aparecem primariamente em estruturas com formato de pêra, denominadas botões gustativos, localizados na epiderme e separados dos tecidos subjacentes por uma membrana basal (REUTTER, 1982).

Tanto a topografia quanto a morfologia dos botões gustativos podem variar. Topograficamente, Harvey e Batty (1998) verificaram, em *Gadus mohrua*, que os botões encontravam-se nivelados com a superfície circundante embora, em muitos exemplares, freqüentemente apareciam um pouco elevados. Os autores consideraram que essa última situação era resultante do encolhimento da epiderme durante a preparação do material. No pintado, ao contrário, o exame tanto do material fixado como das larvas frescas revelou que aquelas estruturas ocorrem efetivamente na extremidade de papilas bem evidentes. Botões papiliformes também são vistos no epitélio bucal de *Sprattus sprattus* (JAKUBOWSKI e WHITEAR, 1990).

Jakubowski e Whitear (1990) constataram que, quanto à morfologia, os botões gustativos bucais de *Sprattus sprattus* apresentam poro reduzido, com somente 2 µm de diâmetro. Harvey e Batty (1998), determinaram, em *G. mohrua*, a partir de medidas realizadas em botões localizados nos lábios, barbilhões e dentário, os valores de 2,2 µm, de 7,2 µm e de 10,3 µm para os diâmetros médios dos poros, em exemplares com cerca de 20 mm, 90 mm e 225 mm de comprimento, respectivamente. A variabilidade nos diâmetros, em cada faixa de comprimentos, foi considerada pequena, pelos autores. Em contraste, nos botões labiais de larvas de pintado *P. coruscans* com 4-5 mm, os poros medem cerca de 8-9 µm de diâmetro, medida que se mantém em animais com características juvenis, com cerca de 25-26 mm. É possível que nessa fase de vida do pintado, a diferença no tamanho dos animais, embora considerável em valores relativos, ainda não seja significativa para

diferenças no desenvolvimento daquelas estruturas sejam aparentes. Se, interespecificamente, os diâmetros dos poros variam razoavelmente, intraespecificamente pode-se considerar que eles praticamente não apresentam alterações, ou elas são mínimas, em animais de uma determinada faixa etária ou classe de comprimento.

Jakubowski e Whitear (1990) encontraram, para 26 espécies de teleósteos, o intervalo de 2 a 22  $\mu\text{m}$  para os valores dos diâmetros dos poros dos botões gustativos. Assim como em *S. sprattus* e *G. mohrua*, para o pintado *P. coruscans*, os valores situam-se dentro daquele intervalo e portanto não se constituem em uma característica de ocorrência incomum nos teleósteos.

Um outro aspecto da morfologia dos botões gustativos que deve ser mencionado é a quantidade de células sensoriais presentes. Jakubowski e Whitear (1990) verificaram que o número dessas células varia de cinco, em alguns exemplares de *Pomatoschistus*, a 67, em *Corydoras*. Enquanto que nos botões labiais de *S. sprattus* aparecem seis a nove células gustativas representadas, cada uma, por uma terminação sensorial, nas larvas de pintado ocorrem mais de 20 delas. Em contraste, nos barbilhões desta última espécie, apenas sete a oito terminações são visíveis. Se essas diferenças estão relacionadas a diferentes comportamentos alimentares, se refletem variações na sensibilidade química das estruturas, ou representam diferentes estágios de desenvolvimento, são aspectos a serem esclarecidos.

Independentemente da quantidade de células sensoriais que aparecem nos poros, o padrão de desenvolvimento dos botões gustativos é semelhante nas várias espécies. Harvey e Batty (1998, 2002) descreveram a formação dos botões em larvas de *G. mohrua* com 8 mm de comprimento e em outras espécies de gadídeos. Assim como nessas espécies, em larvas de pintado com pouco mais de 4 mm de comprimento, o processo tem início quando o conjunto das terminações das células sensoriais parece ser impelido, em um mecanismo que lembra uma extrusão, através das células epidérmicas circunvizinhas, formando um feixe apical que, nas estruturas morfologicamente mais maduras, domina toda a área da placa sensorial do botão.

Botões gustativos podem ser identificados nas larvas de peixes após a eclosão. Iwai (1980) observou a ocorrência de botões imaturos, pela primeira vez, em animais com idades tão variadas quanto, por exemplo, um dia de vida livre em larvas de *Tilapia*, dois dias em *Carassius*, cinco dias em *Lateolabrax* e 16 dias pós-eclosão em *Pagrus*. Os resultados com o pintado *P. coruscans* mostram que, em larvas com um dia de idade, já aparecem estruturas em forma de papilas, que rapidamente aumentam em número e tamanho.

O aparecimento de botões gustativos não é um fenômeno que ocorre simultaneamente em todas as regiões do corpo. Enquanto que no pintado com um dia pós-eclosão e cerca de 4 mm de comprimento total eles são identificados no assoalho e teto da região anterior da cavidade oral e na superfície anterior dos barbilhões em desenvolvimento, em *G. mohrua* essas estruturas são vistas, pela primeira vez, no focinho e nos lábios, em animais com 8 mm e, nos barbilhões, somente em animais com 22 mm (HARVEY e BATTY, 1998).

Além do assincronismo na ocorrência, a distribuição dos botões gustativos, em teleósteos, também pode apresentar ampla variação (CAPRIO, 1988). Esse autor verificou que, em algumas espécies, há predominância de botões extra-orais, como no bagre *Ictalurus natalis*, onde eles constituem 90% dos receptores, enquanto em outras, como no ciprinídeo *Pseudorasbora parva*, cerca de 86% deles encontram-se no interior da cavidade bucal. Nas larvas de pintado, embora uma avaliação quantitativa acurada não tenha sido efetuada, os botões orais e extra-orais estão presentes em proporções aparentemente bastante próximas. pelo menos nessa fase inicial de vida.

Daqueles localizados intra-oralmente, Iwai (1980) afirma que os botões da região faríngea, em peixes, são mais numerosos que aqueles da cavidade bucal.

A presença dessas estruturas na faringe de larvas de pintado, neste estudo, não foi averiguada, já que os animais foram mantidos íntegros. Contudo, Souza et al. (2001), trabalhando com juvenis desta espécie, verificaram a presença de muitos corpúsculos gustativos distribuídos quase que uniformemente ao longo da cavidade bucal, os quais eram menos freqüentes na faringe, em sua porção mais caudal. Flores-Quintana et al. (2003) também detectaram, em *Pseudoplatystoma fasciatum*, espécie congênere do pintado, a ocorrência precoce dos corpúsculos gustativos na

bucofaringe de larvas com três dias pós-eclosão, cuja abundância, à semelhança daquilo observado por Souza et al. (2001), parecia ser maior nas porções mais anteriores dessa cavidade. Tal ocorrência, contudo, está em contraposição ao descrito por Iwai (1980). Se tal distribuição pode responder por uma maior sensibilidade gustativa na porção anterior da cavidade, é um tema que exige investigação. De qualquer modo, a presença de botões na cavidade bucofaríngea das larvas de pintado deve responder pela percepção da palatabilidade do alimento apreendido, antes da ingestão. Em animais com mais idade, quando se inicia a introdução de alimento artificial na dieta, é bastante comum observar-se a apreensão da partícula de alimento e sua eventual devolução, após alguns instantes.

Não somente a localização dos botões gustativos pode variar, mas também sua quantidade total e densidade. Caprio (1988) verificou que no bagre *Ictalurus natalis* a quantidade é muito maior que no ciprinídeo *Pseudorasbora parva*, enquanto que neste último destaca-se a densidade, principalmente sobre os lábios, a região palatal e os rastros branquiais. Para o autor, porém, não há evidências de que tais diferenças tenham relação com a sensibilidade gustativa, o que resultaria numa resposta similar a determinados estimulantes químicos como, por exemplo, aminoácidos. Por outro lado, essas variáveis estariam envolvidas na habilidade do peixe localizar efetivamente uma fonte de alimento e assim poderiam refletir as divergências entre as duas espécies nos respectivos hábitos de alimentação. O autor sugere que o ciprinídeo possivelmente utilize mais o sentido da visão para localizar uma fonte de alimento e desse modo não dependa de uma quantidade muito grande de botões extra-orais.

De maneira similar, Harvey e Batty (2002) constataram a existência de uma certa graduação nas concentrações de botões gustativos nos lábios, barbilhões e parte frontal da cabeça, em cinco espécies de gadídeos cujos habitats variam entre bentônicos e pelágicos, e comprovaram que, em *G. mohrua* e *Trisopterus minutus*, espécies de hábitos predominantemente bentônicos, há o predomínio dessas estruturas sobre os raios das nadadeiras pélvicas e o lábio superior. Em *G. mohrua*, Harvey e Batty (1998) verificaram que os barbilhões, como as nadadeiras pélvicas, são arrastados sobre o fundo quando os animais estão procurando por alimento, o que pode indicar efetivamente a existência de uma relação entre os hábitos da

espécie e a localização dos botões, como proposto por Caprio (1988). Nas larvas de pintado, os resultados mostram a proliferação dessas estruturas sobre os lábios e barbilhões, no início do ciclo de vida, fato que é compatível com o hábito bentônico da espécie.

É provável que a concentração dos botões sobre determinadas áreas do corpo do animal exerça alguma influência na intensidade das respostas fisiológicas aos estímulos sensoriais (HARVEY e BATTY, 1998). Nos barbilhões de *G. mohrua*, esses autores determinaram que os botões situam-se, em sua maioria, sobre a face anterior, ou a que está à frente na direção da natação do animal. Situações similares foram detectadas no bagre *Ictalurus punctatus* (GROVER-JOHNSON e FARBMAN, 1976) e no pintado *P. coruscans*, neste trabalho. Harvey e Batty (2002) acreditam que o posicionamento de maior número de botões gustativos sobre as partes mais proeminentes do corpo, e sua distribuição preferencial sobre a face anterior dessas estruturas, são disposições que sugerem que os efeitos hidrodinâmicos das camadas de água em movimento naquelas superfícies sejam importantes na detecção de pequenas diferenças nas concentrações de substâncias químicas potencialmente estimulantes para os receptores gustativos.

Os resultados previamente mencionados pelos diversos autores evidenciam, em maior ou menor grau, a importância do sentido gustativo para a alimentação, em peixes. Contudo, os mecanismos sensoriais empregados na detecção do alimento, nos estágios iniciais de vida, em teleósteos, constituem um tema complexo para o qual a identificação e a interpretação de uma resposta isolada, a um determinado estímulo, torna-se dificultada tanto pelas próprias limitações experimentais, dada a fragilidade dos animais nessa fase, quanto pela interação que quase certamente ocorre entre os sentidos gustativo, olfativo e visual. De qualquer modo, para que determinado sentido, ou o conjunto deles, seja utilizado com sucesso, é essencial que as estruturas que o representam estejam adequadamente desenvolvidas no início do período de alimentação exógena. O fato de que determinada estrutura possa ser identificada, nessa fase, não indica necessariamente que ela esteja morfológica e fisiologicamente apta a responder a determinado estímulo sensorial (IWAI, 1980). No caso específico dos botões gustativos, esse autor verificou que as estruturas imaturas presentes em larvas de distintas idades, em diversas espécies,

estavam desenvolvidas de maneira plena somente após o início da alimentação exógena, o que o levou a acreditar que a procura pelo alimento, através do sentido gustativo, parece desempenhar um papel secundário no comportamento alimentar durante os estágios iniciais de vida de muitos teleósteos, onde o olfato, assim como a visão, parecem ocupar uma posição de destaque, na procura pelas presas. Ainda de acordo com Iwai (1980), somente quando os botões são encontrados em maiores densidades na cavidade bucofaríngea, nos estágios pós-larvais mais avançados, podem auxiliar na determinação da palatabilidade do alimento.

Em larvas de pintado *P. coruscans*, assim com em *P. fasciatum* (Flores-Quintana et al., 2003), o desenvolvimento de botões gustativos ocorre com relativa rapidez durante a ontogenia inicial de modo que, ao iniciar a alimentação exógena, por volta do terceiro dia após a eclosão, os animais parecem estar aptos para discriminar os estímulos químicos que tenham origem no alimento vivo. Se tais respostas são decorrentes da estimulação dos receptores gustativos, ou olfativos, é uma questão a ser investigada, muito embora a movimentação contínua e abrangente dos barbilhões, como pode ser observado bem prematuramente nas larvas, possa indicar alguma primazia para o sentido gustativo. No pintado, a reação visual ao alimento deve ocupar posição secundária no comportamento alimentar, já que as larvas mantidas em ausência de luz alimentam-se satisfatoriamente e desenvolvem-se de forma mais homogênea.

### **5.2.3 Mecanorrecepção**

Em peixes, os principais receptores de estímulos externos vibratórios e gravitacionais são os neuromastos, a unidade básica da linha lateral. No ápice dessas estruturas, na área sensorial, aparecem feixes de cílios, cada um dos quais constituído de dois tipos de prolongamentos: o mecanocílio, um cílio verdadeiro com uma estrutura típica de 9+2 microtúbulos, ao lado do qual posicionam-se vários estereocílios dispostos em uma série escalar. A disposição relativa desses conjuntos, num ou noutro sentido, determina a polarização anatômica das várias células sensoriais, originando um eixo de maior sensibilidade fisiológica em cada estrutura (WEBB, 2000b; WEBB e NORTHCUTT, 1997). As terminações das células

sensoriais são recobertas por uma substância semelhante à gelatina, a cúpula, cuja deflexão mecânica é responsável pela sensibilização do receptor (BLECKMANN, 1993; IWAI, 1980; NOAKES e GODIN, 1988). A presença da cúpula, numa primeira instância (IWAI, 1964), e a diferenciação das terminações nervosas das células sensoriais (WEBB, 1989a, 2000b), numa etapa seguinte, indicam que os neuromastos tornaram-se funcionais.

Iwai (1963), estudando *Tridentiger trigonocephalus*, verificou a presença da cúpula na fase embrionária e sugeriu que essa ocorrência pode indicar que os neuromastos sejam funcionais já nessa fase. Em embriões de carpa *Cyprinus carpio*, antes da eclosão, Appelbaum e Riehl (1997) detectaram neuromastos sem cúpula e acreditaram que, de maneira similar ao observado em larvas de *Blennius yatabei* (IWAI, 1963), as cúpulas podem ter sido destruídas pelo contato mecânico ou pela ação dos fixadores histológicos, durante os procedimentos para microscopia. Contudo, em estágios posteriores, as cúpulas foram observadas em animais preparados da mesma maneira, o que levou os autores a acreditar que os neuromastos, naquela fase inicial de vida, estavam ainda desprovidos de cúpula e, portanto, seriam inoperantes.

No presente trabalho, neuromastos não foram observados no pintado *P. coruscans*, durante a fase embrionária. Imediatamente após a eclosão eles surgiram em pequena quantidade, e eram de difícil identificação, não somente pela morfologia ainda não característica, como também pela ausência de cúpula. Uma cúpula bem desenvolvida somente pôde ser observada em neuromastos de alguns exemplares com poucos dias pós-eclosão, embora nos animais mais velhos, essa estrutura não tenha sido novamente encontrada. As hipóteses de que os neuromastos seriam inoperantes nas primeiras horas de vida, e de que sua remoção mecânica teria ocorrido nos animais mais velhos, são bastante plausíveis.

O número de neuromastos, em larvas recém-eclodidas, varia entre as espécies (MUKAI e KOBAYASHI, 1995). Em larvas de *Clupea harengus*, com 8-10 mm de comprimento, Blaxter et al. (1983) encontraram 10 neuromastos de cada lado do tronco e seis pares distribuídos dorsal e lateralmente na cabeça. Otsuka e Nagai (1997) encontraram três pares na cabeça e quatro de ambos os lados do tronco, em larvas de *Gadus macrocephalus* com 3,8 mm, enquanto que *Blennius yatabei*, com

2,4 mm, apresentava cinco pares, dos quais apenas um na cabeça, imediatamente atrás do olho (IWAI, 1963). Em larvas de pintado recém-eclodidas, com cerca de 2,8 mm de comprimento, neuromastos desenvolvidos não foram encontrados; o primeiro deles, na região cefálica, começou a diferenciar-se somente algumas horas após a eclosão.

No pintado, a diferenciação de neuromastos livres parece ocorrer a partir da borda anterior do órgão olfativo, à semelhança do que se observa em carpas (APPELBAUM e RIEHL, 1997) e, quando a primeira dessas estruturas pôde ser visualizada na tronco, pelo menos três delas, uma ventral e duas ligeiramente dorsais, já estavam presentes na dobra pré-nasal. Esse padrão aparentemente difere daquele de algumas outras espécies. Otsuka e Nagai (1997), por exemplo, verificaram que o primeiro neuromasto, em *G. macrocephalus*, se diferencia no tronco, próximo à cabeça, ainda na fase embrionária, cerca de 40 horas antes da eclosão, quando os cílios sensoriais afloram na superfície epidérmica, embora ele se torne funcional somente algumas horas depois, quando as terminações nervosas estão formadas; em *Danio rerio*, Gompel et al. (2001) verificaram que o primeiro neuromasto também diferencia-se no tronco, imediatamente atrás da vesícula ótica, cerca de 26 horas após a fertilização, enquanto que em *Clupea harengus* os receptores mecânicos aparecem concomitantemente na cabeça e laterais do tronco (BLAXTER et al., 1983).

Como mencionado, a diferenciação dos neuromastos não implica necessariamente em que eles sejam funcionais. Somente quando se encontrarem morfológicamente maduros poderão desempenhar um papel vital na percepção sensorial das larvas (BLECKMANN, 1993). O estágio de desenvolvimento em que essas estruturas tornam-se funcionais varia entre as espécies e provavelmente dependa do hábitat e dos hábitos pós-eclosão (MUKAI e KOBAYASHI, 1995; OTSUKA e NAGAI, 1997). Mukai e Kobayashi (1995) constataram que, ao eclodir, larvas de *Plecoglossus altivelis* e do ciprinídeo *Gnathopogon elongatus* apresentam neuromastos bem desenvolvidos, com cúpulas longas e flexíveis, e ressaltam a possível relação com o comportamento daquelas larvas. Segundo os autores, a primeira espécie necessita dessas estruturas bem desenvolvidas, uma vez que nada ativamente em direção ao mar, enquanto que a segunda as utiliza para detectar o

fluxo mínimo de água produzido por suas presas, o zooplâncton. Iwai (1980) acredita ser perfeitamente admissível que os neuromastos livres, com longas cúpulas, não somente percebam a direção da corrente mas também contribuam para a percepção de mudanças de pressão. Em outro ciprinídeo, *Zacco platypus*, Otsuka e Nagai (1997) verificaram que, na eclosão, as larvas apresentam neuromastos imaturos e olhos não desenvolvidos, o que faz com que permaneçam nas áreas de reprodução, no fundo dos rios, por cerca de quatro dias, até que aquelas estruturas se tornem funcionais. De forma similar, nas larvas de pintado recém-eclodidas, é provável que o pouco desenvolvimento dos neuromastos, como pôde ser observado no presente trabalho, possa responder pela acentuada imobilidade verificada nas primeiras horas de vida. Por volta do terceiro dia de vida livre, o crescimento dos receptores presentes na dobra pré-nasal, aliado ao desenvolvimento do próprio órgão olfativo e dos botões gustativos, numa fase em que as reservas vitelínicas estão praticamente exauridas, deve proporcionar a esses organismos uma melhor percepção sensorial do ambiente e, assim, maior eficiência na obtenção do alimento exógeno.

Neuromastos livres ocorrem em linhas na cabeça, tronco e cauda. De acordo com vários autores (BLAXTER et al., 1983; DISLER e SMIRNOV, 1977; MEYER-ROCHOW, 1972; OTSUGA e NAGAI, 1997), os primeiros receptores a aparecer formam uma série irregularmente intercalada, sobre o epitélio que reveste os miômeros da musculatura do tronco, partindo da região próxima à borda posterior do opérculo e direcionando-se para a cauda, acompanhando o septo horizontal médio; neuromastos adicionais são então acrescentados entre os primeiros, para formar a série lateral completa. Essa parece ser uma distribuição comum em teleósteos. Efetivamente, em larvas de pintado com dois dias de vida, um pequeno número de receptores foi inicialmente formado no sentido rostricaudal, ao longo de todo o comprimento do tronco. Em animais com três a quatro dias, a série lateral se estendia desde a cabeça até as proximidades do pedúnculo caudal, onde os receptores ainda estavam esparsos; nessa série, receptores adicionais foram sendo gradativamente acrescentados, de forma semelhante à descrita para outras espécies. Outro subconjunto se desenvolveu na linha horizontal inferior dos miômeros, onde o espaçamento entre os neuromastos era maior que o observado na linha principal. Esses são provavelmente receptores superficiais acessórios,

estruturas que freqüentemente acompanham os receptores principais e com eles constituem pares ortogonais orientados no sentido dorsiventral (WEBB, 1989b).

Na medida em que progredia a ontogenia inicial do pintado, outros receptores se desenvolveram superficialmente na cauda, mais especificamente na base de cada raio, em ambos os lobos. Sua distribuição formava alças que lembram uma ferradura. Em *Oreochromis aureus* e *Cichlasoma nigrofasciatum*, esses neuromastos apareciam em séries lineares entre os raios da caudal e foram considerados como homólogos dos neuromastos da série posterior do canal do tronco (WEBB, 1989a). De acordo com Webb (1989b) e Coombs et al. (1988), os neuromastos que permanecem superficiais, nessa circunstância, podem ser homólogos de receptores localizados em canais secundariamente reduzidos ou perdidos durante a filogenia.

No pintado, um dos locais onde ocorrem neuromastos superficiais, é na dobra pré-nasal. Essa região, que em microscopia eletrônica de varredura aparece como um sulco profundo com formato de ferradura estendendo-se rostricaudalmente acima e abaixo do órgão olfativo, tem um aspecto que permite considerar a formação futura de um canal, o que não ocorre. Além dos receptores na dobra pré-nasal, tanto os da linha principal quanto os da linha ventral, no tronco, permanecem superficiais durante todo o período larval, não formando canais nos moldes daqueles observados na cabeça. A ausência de um canal ou sistema de canais no tronco, possivelmente como consequência de redução ou perda, durante a filogenia, é uma característica de muitas famílias em várias ordens de teleósteos, onde se incluem os siluriformes (WEBB, 1989c; COOMBS et al., 1988).

Enquanto alguns receptores permanecem superficiais durante a vida, outros podem ser aprisionados no interior de canais, na cabeça ou no tronco, constituindo então o sistema da linha lateral (BLECKMANN, 1993; WEBB, 1989a). Tarby e Webb (2003) verificaram, no ciclídeo *Archocentrus nigrofasciatus*, que o desenvolvimento dos canais cefálicos compreende uma série de quatro estágios durante os quais os receptores, inicialmente expostos no epitélio (estágio 1), tornam-se gradativamente recobertos, na medida em que avança a oclusão, até estarem totalmente aprisionados, com a ossificação do canal, que corresponde ao estágio 4. De acordo com Webb (1989b), o padrão de desenvolvimento dos canais é semelhante em várias espécies de teleósteos. O intervalo de duração de cada estágio é uma das

principais diferenças relatadas entre elas. Para o pintado, pelo menos, isso parece ser verdadeiro. Em larvas de *P. coruscans* com cerca de 5 mm CT (aproximadamente três dias pós-eclosão) verificou-se, no presente trabalho, que na morfogênese do canal supra-orbitário a fase correspondente ao estágio um tem uma duração de quatro a cinco dias, enquanto que em *Danio rerio* (WEBB e SHIREY, 2003) é de cerca de 30 dias, intervalo durante o qual, no pintado, transcorreram os estágios dois (cujo término é identificado em animais com cerca de 11-12 dias após a eclosão), três (que se encerra por volta do 16º dia, com a oclusão dos segmentos do canal, na porção imediatamente acima do neuromasto, em animais com 17 a 28 mm CT) e quase certamente o quatro, com a ossificação do teto do canal.

É importante ressaltar, todavia, que a formação das paredes ósseas intramembranas do canal, a oclusão, e a ossificação do teto do canal, são fases seqüenciais e discretas no desenvolvimento dos canais da linha lateral, difíceis de distinguir sem auxílio da histologia (WEBB, 1989a), de modo que, por meio da MEV, a transição entre o fechamento do canal (estágio 3) e a ossificação do teto (estágio 4) somente pode ser inferida (TARBY e WEBB, 2003).

Um outro aspecto deve ser considerado no desenvolvimento dos canais. Como eles são constituídos por diversos segmentos, onde cada um está associado a um receptor, a formação do canal, propriamente, depende da morfogênese de cada segmento o que, segundo Webb (1989b), pode representar um mecanismo de heterocronia, pelo qual a ordem e o sincronismo de eventos desenvolvimentistas são alterados. Efetivamente, no pintado, à semelhança do observado em *Archocentrus nigrofasciatus* (TARBY e WEBB, 2003), a morfogênese ocorre de forma assíncrona, de modo que os segmentos do SoC de um dos lados da cabeça, por exemplo, se desenvolvem mais rapidamente que os correspondentes do lado oposto. Igualmente, em ambas as espécies, a morfogênese também se dá de forma não ordenada, já que a oclusão dos segmentos de canal, embora ocorrendo seqüencialmente dentro da série de neuromastos de um dado canal, varia quanto ao ponto de início da oclusão, ou seja, não se inicia necessariamente pelo segmento mais rostral ou mais caudal, podendo fazê-lo pelos segmentos intermediários. Nas duas espécies, porém, a morfogênese diverge quanto à direção em que a oclusão se processa. Enquanto em *Archocentrus nigrofasciatus* ela se dá no sentido caudirrostral, tanto no SoC

quanto no MdC, no pintado ocorre no sentido inverso, iniciando-se claramente na parte rostral, no MdC, e mantendo essa mesma tendência no SoC, onde o segmento correspondente ao segundo neuromasto é o que se desenvolve mais precocemente.

Como o desenvolvimento do canal está associado ao dos neuromastos presentes em seu interior, as variações observadas na morfogênese dos canais resultam, em boa medida, das diferenças que podem existir na morfologia, na quantidade, na topografia e na orientação dos receptores, e que são comuns em teleósteos (COOMBS et al., 1988; WEBB, 1989a). Segundo Webb e Shirey (2003), variações na morfologia de neuromastos individuais podem ser determinadas, por exemplo, pelo alongamento da placa sensorial e o aumento do número de cílios, o que, em outras palavras, pode determinar a heterocronia dos canais. No pintado verificou-se, no presente trabalho, diferenças no desenvolvimento dos canais cefálicos, em larvas de mais idade. Embora uma observação acurada dos neuromastos não tenha sido efetuada, foi possível identificar o alongamento da placa sensorial e o aumento do número de cílios, naqueles receptores superficiais da dobra pré-nasal, de larvas com 11 dias de vida. Se tais alterações também se processaram nos neuromastos no interior dos canais, é provável que respondam pelas diferenças morfológicas observadas naqueles canais.

O assincronismo e a alteração na ordem dos eventos morfogênicos (heterocronia) que levam à formação dos canais e a fusão das aberturas de segmentos adjacentes, originando poros compartilhados, fenômenos observados no pintado e, de acordo com Webb e Shirey (2003) e Tarby e Webb (2003), na grande maioria das larvas de teleósteos, podem servir para explicar a variação na morfologia do sistema de canais da linha lateral observada em teleósteos adultos (WEBB, 1989b, 1989c).

O desenvolvimento do sistema da linha lateral, de forma análoga ao que sucede, em muitas espécies, com alguns fenômenos como alterações no comportamento alimentar ou em determinadas respostas sociais em animais conspecíficos (NOAKES e GODIN, 1988), também está relacionado à variabilidade de tamanho e não à idade do animal (WEBB e SHIREY, 2003). No pintado, em larvas mantidas em condições distintas de iluminação, algumas diferenças no desenvolvimento geral dos canais cefálicos puderam ser percebidas. Em animais de

ambiente escuro, com 11 dias de vida livre, o canal mandibular apresentava o segmento mais rostral já concluído (estágio 3), enquanto que naqueles de ambiente claro, de mesma idade, a formação do canal estava apenas iniciando. As diferenças observadas na morfogênese desses canais cefálicos podem efetivamente ser o reflexo do crescimento diferencial observado em favor dos animais mantidos no escuro, que devem ter explorado o ambiente mais eficientemente na busca pelo alimento, provavelmente utilizando em tempo integral o paladar, o olfato, a eletro e a mecanorrecepção, sem as restrições na movimentação impostas pela luz. Eficiência na captura de organismos planctônicos, no escuro, também foi observada em *Gymnocephalus cernua*, espécie bentófaga cujo sistema da linha lateral é altamente sensitivo (DISLER e SMIRNOV, 1977).

#### **5.2.4 Eletorrecepção**

Uma outra estrutura, provavelmente um receptor elétrico, aparece nas larvas de pintado, disseminada pela superfície epidérmica. Receptores elétricos, ampuliformes ou tuberosos, são conhecidos somente em vertebrados aquáticos, embora não haja limitação física intrínseca para sua ocorrência em invertebrados (ZAKON, 1988). Entre as mais de 30 ordens de teleósteos, apenas quatro são conhecidas como sendo eletorreceptivas. Uma delas é a dos siluriformes, que possui apenas receptores ampuliformes (ZAKON, 1988).

As características morfológicas visíveis do receptor ampuliforme, em larvas de pintado recém-eclodidas, são os feixes de terminações que se projetam em direção ao meio externo, os quais formam aglomerados de aspecto circular. De acordo com Zakon (1988), essas terminações são as microvilosidades das células receptoras implantadas em um epitélio de células de suporte. No pintado, são facilmente identificáveis por meio de MEV, uma vez que sua estrutura é bastante singular. Distinguem-se dos botões gustativos por sua localização, topografia, morfologia e padrão de desenvolvimento. São visíveis na porção anterior da cabeça, ao redor da abertura olfativa, atrás do olho, sobre os opérculos em formação e na parte ventrolateral do focinho.

Em larvas de pintado com um ou dois dias de vida, diferentemente dos botões, não aparecem sobre papilas, mas situam-se em nível com a superfície epidérmica. Seu desenvolvimento, nesta fase, lembra aquele dos botões, onde as extremidades sensoriais são impulsionadas através das microarestas que caracterizam a superfície epitelial. Na medida em que avança o processo, contudo, algumas diferenças se estabelecem. Nos botões, as primeiras terminações a aparecer são aquelas das células sensoriais, em forma de bastão, que gradativamente aumentam de quantidade e tamanho, seguidas pelas microvilosidades mais numerosas das células de suporte que formam um tufo apical, determinante do aspecto característico da placa sensorial dos botões. Nos eletorreceptores não se distinguem as terminações em forma de bastão. São vistas apenas as microvilosidades o que, de acordo com Zakon (1988), é uma característica dos teleósteos; estas se desenvolvem de maneira rápida e uniforme e, com cerca de 3-4  $\mu\text{m}$  de comprimento, são mais longas que aquelas dos botões.

Em pintados com 16 dias de vida, o receptor ampuliforme adquire as características morfológicas de uma estrutura quase madura. Assemelha-se a uma bolsa, simples ou multilobada, a ampola propriamente dita, que, nessa fase, sofre um ligeiro aprofundamento na epiderme, não suficiente para formar um canal, de modo que ainda mantém quase toda a área sensorial exposta às correntes que banham a superfície do corpo. Na base dessa bolsa está o epitélio que contém as células receptoras, cujo número, dentro de cada ampola, pode variar. Zakon (1988) afirma que, em *Gymnarchus*, um gimnotiforme, ocorre uma única célula, enquanto que no bagre *Kryptopterus* aparecem vinte delas. Em pintado pode ser observada a ocorrência de mais de um conjunto dessas terminações, onde formações com um, dois ou até oito ou nove feixes são facilmente detectadas na área sensorial.

Conquanto não haja suficiente evidência experimental, é possível supor que o eletorreceptor constituído de um único feixe sensorial seja a unidade básica para a formação de estruturas mais complexas, que poderiam responder por uma sensibilidade sensorial mais aguçada, nessa espécie. A elevada densidade desses receptores, ao redor de 500. $\text{mm}^{-2}$ , determinada na área próxima da comissura labial, pode corroborar essa hipótese.

### 5.3 Alimentação

O sucesso na domesticação de uma espécie, tendo em vista sua produção em cativeiro, implica necessariamente no desenvolvimento de protocolos alimentares para as várias fases do cultivo. O período larval é um dos mais delicados e importantes e de seu êxito dependem as fases subseqüentes. Para esse período, desempenha um papel essencial um protocolo alimentar que determine as características do alimento e da alimentação, e estabeleça as condições do ambiente.

O êxito de uma dieta para a sobrevivência e o crescimento larval é determinado por um balanço entre o esforço de captura e o valor energético e nutritivo do alimento ingerido pela larva. Esse balanço depende não somente das presas, como também de fatores intrínsecos da espécie, entre eles o comportamento alimentar (PASCUAL e YÚFERA, 1987). O comportamento alimentar, relacionado às características da presa, sua disponibilidade e qualidade, e da própria larva (CUNHA e PLANAS, 1999) é, por sua vez, conseqüência de vários fatores do ambiente onde, de acordo com Pascual e Yúfera (1987), se destacam a duração do fotoperíodo, a intensidade luminosa e a qualidade da luz.

Alguns estudos têm evidenciado o efeito de distintos fotoperíodos sobre o desenvolvimento larval. Solberg e Tilseth (1987) demonstraram que, em larvas de *Gadus mohrua* que ainda não iniciaram a alimentação exógena, os regimes de luz não tiveram influência na absorção do vitelo, exceto para aqueles animais cultivados no escuro. No pintado, o presente trabalho revelou que, nas primeiras horas de desenvolvimento, as larvas mantidas em ambiente iluminado, mesmo em níveis baixos de luminosidade, permaneciam longos períodos sem movimentação, formando aglomerados, provavelmente como forma de proteção, enquanto que os animais mantidos no escuro movimentavam-se mais continuamente, como era observado pela maior dispersão dos indivíduos detectada quando se efetuava a limpeza dos recipientes experimentais. Maior movimentação implica em gasto adicional de energia, cuja única fonte, nessa fase, constituiu-se do vitelo. Embora não tenha sido determinada a taxa de utilização do vitelo, as pequenas diferenças encontradas no tamanho das larvas, em favor dos animais de ambiente iluminado,

mesmo sem significância estatística, podem ser decorrentes da maior movimentação observada nas larvas de ambiente escuro e, portanto, da utilização mais intensa da energia, nas primeiras horas de vida livre. A partir do início da oferta de alimento exógeno, por outro lado, larvas mais ativas puderam, provavelmente, obter uma vantagem adicional na exploração do ambiente, em busca de presas. A maior ingestão, em termos percentuais, observada nas larvas de ambiente escuro deve responder pelo crescimento diferenciado, nas fases subseqüentes.

Em animais que iniciaram a alimentação exógena, uma grande área de incerteza consiste em determinar se o crescimento é influenciado pela luz, via melhor eficiência na conversão alimentar, ou via estímulo à ingestão do alimento. Pelo menos em salmonídeos jovens, Bouef e Le-Bail (1999) crêem que ele esteja relacionado à ingestão.

Vários autores (RONZANI CERQUEIRA e CHATAIN, 1991; HART et al., 1996; CHATAIN e OUNAI-GUSCHEMANN, 1991), destacaram que a duração do fotoperíodo é uma variável importante a afetar a ingestão. Esses autores verificaram que um fotoperíodo mais longo (o que, em animais predadores visuais, significa um maior período de contato com o alimento), principalmente havendo limitação na quantidade de presas, poderia responder pela melhoria na ingestão e, conseqüentemente, no balanço energético e no crescimento. Em *Wallago attu*, um bagre siluriforme de água doce, de grande porte, semelhante ao pintado, Giri et al. (2002) obtiveram melhores resultados de sobrevivência, taxa de crescimento específico e produção total de biomassa, em larvas mantidas sob fotoperíodo constante, de 24 horas, utilizando luz vermelha. Por outro lado, Dowd e Houde (1980) afirmaram que um fotoperíodo muito longo, maior que aquele considerado adequado para o cultivo de determinada espécie, pode resultar, devido à maior movimentação dos animais, em um gasto de energia maior que a que pode ser suprida pelo alimento, reduzindo o crescimento e causando mortalidades.

Assim como um fotoperíodo longo pode ser danoso para as larvas, animais mantidos no escuro, ou em regimes de baixa intensidade luminosa, também podem reduzir ou interromper a ingestão do alimento. Essa resposta, que parece ser comum em animais predadores visuais, foi observada em larvas de *Dicentrarchus labrax* (RONZANI CERQUEIRA e CHATAIN, 1991), em *Sparus aurata* (CHATAIN e

OUNAIS-GUSCHEMANN, 1991) e em *Pleuronectes platessa* e *Scophthalmus maximus* (HUSE, 1994). No bagre *Wallago attu*, como consequência da redução na ingestão, os animais apresentaram intenso canibalismo, atribuído principalmente à inanição decorrente de uma alimentação prejudicada pela ausência de contraste do alimento, numa espécie em que, segundo os autores, as respostas táteis seriam fracas em comparação com aquelas atribuídas à sensibilidade visual.

Em contraste, em larvas de pintado, os animais que permaneceram continuamente no escuro apresentaram crescimento em comprimento maior que aqueles mantidos em ambiente iluminado, mesmo em baixa intensidade (penumbra). Considerando-se que a oferta de alimento foi similar nos dois ambientes, pode-se supor que sua utilização tenha sido mais eficiente em ausência de luz, embora não esteja claro se tal eficiência deveu-se à conversão alimentar ou à ingestão. Assim como em salmonídeos (BOUEF e LE-BAIL, 1999), parece que a eficiência deveu-se à ingestão, uma vez que larvas provenientes de ambiente iluminado, porém alimentadas no escuro, apresentaram maior incidência alimentar e ingestão de maior quantidade de presas, que aquelas mantidas e alimentadas em ambiente iluminado. Independentemente desse fato, os resultados evidenciaram que no pintado a ausência de luz não é um fator deletério para o desenvolvimento larval. Ao contrário, no ambiente escuro a ingestão de presas é maior, assim como a dispersão dos animais, o que resulta em crescimento mais homogêneo e redução do canibalismo, pelo menos nas primeiras semanas de alimentação exógena.

Além do fotoperíodo, um outro fator ambiental que também interfere na ingestão de presas é a intensidade luminosa. Blaxter (1986) afirmou que, em larvas de espécies consideradas predadoras visuais, nos estágios iniciais de vida, o limiar para alimentação é de 0,1 lux. Mesmo em tão baixas intensidades, a luz é necessária e, segundo Blaxter (1969), sua utilização pelas larvas é possível em virtude da alta sensibilidade dos cones, células fotorreceptoras cuja ocorrência é aparentemente comum em larvas de teleósteos. Em concordância com o exposto por Blaxter (1986), Huse (1994) determinou que o limite mínimo de iluminação para larvas de *Pleuronectes platessa* e *Scophthalmus maximus*, na primeira alimentação, era de 0,1 lux, embora os níveis ideais de luminosidade se encontrassem ao redor de 100 e 900 lux, respectivamente. Esse resultados estão de acordo com o conceito

geral, sugerido por vários autores, de que mesmo que o limiar mínimo possa ser bastante reduzido, os níveis ideais de luminosidade, para alimentação, se encontram em patamares mais elevados. Os dados obtidos com larvas de *Sparus aurata*, espécie considerada predadora visual, parecem corroborar esse aspecto. Chatain e Ounais-Guschemann (1991) verificaram que o crescimento em comprimento, a sobrevivência e a quantidade de presas encontradas no trato digestório foram mais expressivos naquelas larvas cultivadas em intensidades mais elevadas de luz (1300 e 600 lux), em comparação com as mantidas em 300 e 150 lux.

Divergindo desses resultados, Gulbrandsen (1991) encontrou, para larvas de *Hippoglossus hippoglossus* submetidas a intensidades luminosas entre 0,5 e 1000 lux, que tanto a ingestão quanto a incidência de alimentação rapidamente se reduziram com um ligeiro aumento na intensidade luminosa para 50 lux. O autor considerou que tais resultados poderiam representar uma resposta adaptativa a um conflito entre a demanda de alimentação e o risco de predação, uma vez que a captura do alimento, em níveis mais elevados de luminosidade, geraria um custo energético adicional, pelo aumento da vigilância. Em *Gadus mohrua*, Huse (1994) também obteve valores elevados de ingestão e incidência de alimentação, entre 0,1 e 10 lux, os quais sofreram nítida inibição acima de 12 lux. Nesta espécie, no entanto, o autor sugeriu que essa redução estaria associada a um aspecto comportamental, pelo fato de que as larvas sejam essencialmente ativas, no que se refere à alimentação, nos períodos de penumbra do amanhecer e ao final do dia.

Nas larvas de pintado, o presente trabalho evidenciou que, assim como em *H. hippoglossus* e *G. mohrua*, a ingestão e a incidência de alimentação foram visivelmente afetadas pelo aumento da luminosidade, que sem dúvida atua como forte agente inibidor desses processos, nesta espécie. Por outro lado, enquanto que nas outras espécies um limiar mínimo de luz era necessário, no pintado a ausência de luz foi um fator que aparentemente resultou em maior conforto para os animais, como pôde ser observado pela ampla movimentação e distribuição nos recipientes experimentais. Esse tipo de resposta é compatível com os hábitos noturnos da espécie e a ocorrência em ambientes de águas barrentas, onde a penetração de luz é mínima.

A possibilidade de capturar e ingerir o alimento na ausência de luz, em *Solea solea* (BLAXTER, 1969) e *Gadus mohrua* (HUSE, 1994), e em outras espécies, como em *Cyprinus carpio* (APPELBAUM e RIEHL, 1997), em *Morone saxatilis* (CHESNEY, 1989), em *Clupea harengus* (BATTY et al., 1986) e no pintado, implica na utilização de outros mecanismos sensoriais, que não a visão, nas primeiras fases do desenvolvimento. Ainda que os mecanismos para alimentação no escuro não estejam esclarecidos, Chesney (1989) e Appelbaum e Riehl (1997) ponderam que estratégias mecanossensoriais e/ou quimiossensoriais devem estar envolvidas.

Além do fotoperíodo, da intensidade e da qualidade da luz, aspectos já abordados previamente, a concentração e o tipo de presas oferecidas às larvas, bem como a densidade e a idade larvais, são outros elementos importantes a serem considerados no planejamento de uma estratégia alimentar adequada para larvas de determinada espécie de peixe, nos diversos estágios de desenvolvimento.

No que se refere à densidade de presas, Cestarolli et al. (1997) alimentaram *Prochilodus scrofa*, espécie de água doce, na concentração de 40 larvas. L<sup>-1</sup>, com o rotífero de água salobra *Brachionus plicatilis* e com zooplâncton selvagem, nas densidades de 12, 18 e 24 organismos.mL<sup>-1</sup>, e obtiveram taxas de sobrevivência larval acima de 60% com o rotífero *Brachionus* e entre 33,4 e 42,4% com o zooplâncton de água doce, a qual elevou-se para aproximadamente 90% quando na composição desse zooplâncton houve predominância de rotíferos do gênero *Brachionus*. Os autores concluíram que a composição do plâncton, e não a densidade de presas, foi determinante da sobrevivência, na larvicultura daquela espécie.

Houde (1975), trabalhando com larvas de *Archosargus rhomboidalis*, na concentração de 8 indivíduos.L<sup>-1</sup>, alimentadas com zooplâncton nas densidades de 100 a 3000 presas.L<sup>-1</sup>, obteve taxas elevadas de sobrevivência, acima de 60%, nas densidades superiores a 1500 presas.L<sup>-1</sup>. Embora valores elevados de sobrevivência com a combinação de densidades menores de presas e larvas (500 presas; 2 e 4 larvas.L<sup>-1</sup>) também tenham sido obtidos, o autor considerou-as inadequadas por resultarem em atraso no crescimento o que, no ambiente natural, teria sérios reflexos na sobrevivência devido ao maior risco de predação.

Fica claro, a partir dos resultados antes mencionados, que tanto a densidade larval como a concentração de presas fornecem informações apenas relativas, já que dizem respeito unicamente a aspectos quantitativos da larvicultura. Embora importantes, não esclarecem aspectos essenciais como valor nutricional ou nível energético do alimento, que certamente têm relação com a quantidade de presas ingeridas até a saciedade. A própria ingestão, quando pontualmente expressa em número de presas, não possibilita uma clara compreensão das questões nutricionais mas, segundo Pascual e Yúfera (1987), é um bom índice que permite avaliar como se dá sua evolução durante o desenvolvimento do organismo. Esses autores apresentaram diversos resultados que evidenciam que a ingestão aumenta com a elevação na concentração de presas, dos quais alguns exemplos podem ser citados. Em *Anchoa mitchilli* e *Achirus lineatus*, a ingestão diária, no início da alimentação exógena, variou desde 1,2 até aproximadamente 100 organismos, nas concentrações de 50 a 1000 presas.L<sup>-1</sup>, respectivamente; em *Archosargus rhomboidalis*, de 7 a 190 organismos diários, nas mesmas concentrações de 50 a 1000 presas.L<sup>-1</sup> e em *Sparus aurata*, onde a ingestão na densidade de 10 rotíferos.mL<sup>-1</sup> foi de 11,6 organismos e na de 40 rotíferos.mL<sup>-1</sup>, de 14,5 organismos. Nas larvas de pintado, os valores médios de 16,4 presas ingeridas, na densidade de 2 presas. mL<sup>-1</sup> ; 20,9 presas na de 4.mL<sup>-1</sup>; 24,2 presas na de 6.mL<sup>-1</sup> e 26,4 presas na densidade de 8.mL<sup>-1</sup>, indicaram claramente a ocorrência de um efeito similar. De acordo com aqueles autores, esse tipo de evolução é usual em todas as espécies de alimentação planctívora e contínua.

Pascual e Yúfera (1987), ponderaram que o aumento da ingestão com a elevação da concentração de presas ocorreria somente até determinados limites, efeito esse traduzido numa relação assintótica, ou seja, na ocorrência de uma resposta de saturação com o aumento da quantidade disponível de alimento.

Nesse sentido, Balbontin e Cannobbio (1992) avaliaram que os resultados de sobrevivência superiores a 50% e as taxas de crescimento não significativamente diferentes, encontrados em larvas de *Sardinops sagax* alimentadas por 19 dias com rotíferos nas concentrações de 1 a 24 presas.mL<sup>-1</sup>, indicariam uma resposta de saturação nas concentrações superiores a 1 presa.mL<sup>-1</sup>, considerada elevada, pelos autores. Embora Cestarolli et al. (1997) não tenham avaliado a ingestão, nas larvas

de *Prochilodus scrofa*, as densidades elevadas empregadas no cultivo daquela espécie podem ter ocasionado uma resposta de saturação, à semelhança do observado em *S. sagax*.

Em larvas de pintado *P. coruscans*, os resultados evidenciaram que a ingestão variou tanto em função da idade larval quanto da densidade de presas. Incrementos de 0,5 a 1,5 vezes nas quantidades de presas ingeridas ocorreram a aproximadamente cada dois dias de cultivo, não havendo indícios de uma possível resposta de saturação. Nesse caso, é pertinente supor que a capacidade de repleção do trato digestório estaria aumentando proporcional e concomitantemente ao aumento da idade. Mangetti et al. (2001) verificaram, nessa espécie, que mesmo em larvas já com 11 dias de vida, o estômago, ligeiramente alargado e curto, ainda se apresentava como uma estrutura saciforme aberta relativamente pequena, a qual, somente aos 16 dias de vida, exibia um volume capaz de conter quantidades apreciáveis de alimento. Contudo, verificaram também que desde o início da alimentação exógena, em animais com três dias de vida livre, a região anterior do intestino constituía uma bolsa ampla, que geralmente se encontrava repleta de alimento, e cujo tamanho drasticamente se reduzia ao cabo de 16 dias. A ocorrência, de certa forma alternada, dessas estruturas, poderia responder pela ingestão elevada, no decorrer de todo o período larval.

Os valores de ingestão no intervalo de três horas, significativamente diferentes para as densidades de 2 a 8 presas.mL<sup>-1</sup>, embora elevados, também parecem indicar que um nível de saturação ainda não foi atingido. Os resultados discrepantes obtidos para a idade de 11 dias, onde a ingestão sofreu uma redução na densidade de 8 presas.mL<sup>-1</sup>, muito provavelmente foram decorrentes de uma falha experimental, já que não foi detectado nenhum comportamento anormal que pudesse responder por tal redução.

O fato de não haver ter sido atingido um estágio de saturação parece ser corroborado pelos resultados progressiva e substancialmente mais elevados, obtidos em larvas de diferentes idades, mantidas em dois ambientes de iluminação, claro e escuro, e alimentadas por apenas quinze minutos com presas em altas densidades, entre cerca de 22 e 34.mL<sup>-1</sup>. Comparando-se os resultados de ambos os estudos, observou-se, nas larvas mais jovens (5 e 7 dias), que os valores médios de ingestão

foram mais elevados naquelas que permaneceram por um período mais longo (três horas) em contato com o alimento. Neste caso, o fator tempo de exposição ao alimento, e não a densidade de presas, deve ter respondido pelos maiores valores de ingestão. Além disso, maior eficiência na captura de presas, devida ao aprendizado, não pode ser descartada. Embora alguns resultados preliminares indicassem que o intervalo de quinze minutos seria suficiente para a saciedade, é provável que o sinergismo entre outros componentes do comportamento alimentar dessa espécie tenha sido subestimado. Em animais mais velhos (11 e 13 dias), por outro lado, a densidade de presas (para os animais alimentados com 2 a 8 presas.mL<sup>-1</sup>) passou a ser restritiva. Nesse caso, se as densidades fossem superiores provavelmente a ingestão seria mais elevada, talvez alcançando níveis tão ou mais elevados que os observados para o outro grupo (ingestão média entre cerca de 47 e 113 náuplios). Em qualquer circunstância, uma resposta de saturação não seria evidente.

É plausível, portanto, supor que a densidade de presas ideal para o cultivo de larvas de pintado, pelo menos após os primeiros cinco a seis dias de alimentação exógena, encontra-se em um patamar mais elevado que os inicialmente utilizados, de 2 a 8 presas.mL<sup>-1</sup>. Considerando-se que na larvicultura em geral não há limitação para o tempo de exposição das larvas ao alimento, densidades de presas superiores a 20.mL<sup>-1</sup> certamente proporcionariam crescimento mais expressivo. A partir destes resultados, experimentos mais acurados podem determinar as relações mais adequadas entre a produção e os custos, nessa fase.

## 6. CONCLUSÕES

O presente estudo permitiu concluir o que segue:

- 1) O olho do pintado não apresenta desenvolvimento morfológico expressivo durante o período inicial da ontogenia, tendo em vista que a visão ocupa posição secundária na alimentação larval. O diâmetro dessa estrutura corresponde a cerca de 2 a 3 % do tamanho do animal, nesse período.
- 2) O evidente comportamento fotofóbico das larvas aliado ao pequeno tamanho do olho são características de uma espécie de hábitos eminentemente noturnos. Desse modo, o cultivo em ausência de luz não se constitui um fator deletério para o desenvolvimento larval.
- 3) O desenvolvimento morfológico de diversas estruturas corporais, nos estágios iniciais de vida, está relacionado à variabilidade de tamanho e não à idade dos animais.
- 4) O órgão olfativo desenvolve-se com precocidade e rapidez, durante os estágios larvais iniciais. As características estruturais aparentes, representadas pela morfologia do órgão e pela quantidade e disposição dos cílios mecânicos e sensoriais, indicam que o olfato é um sentido capital na percepção e captura do alimento.
- 5) Botões gustativos bem desenvolvidos, presentes nos barbilhões, nos lábios e no interior da cavidade bucal, no início do período exotrófico, também evidenciam a importância do paladar no comportamento alimentar.

- 6) A mecanorrecepção, cujo aparato, constituído pelos canais da linha lateral cefálica e pelos neuromastos superficiais presentes principalmente no tronco e na cauda, somente se encontra bem desenvolvido na época da metamorfose, não deve ocupar posição relevante na alimentação larval, nessa fase da vida.
- 7) A eletorrecepção, onde os receptores ampuliformes prontamente emergem, proliferam e se distribuem na superfície epidérmica da região cefálica, devem desempenhar papel fundamental na percepção do ambiente e na alimentação.
- 8) Com base no consumo de presas e no crescimento, uma estratégia adequada para a alimentação inicial do pintado é a manutenção dos animais em um ambiente privado de luz, pelo menos durante o período larval. No ambiente escuro, a maior ingestão de presas e a dispersão dos animais resultam em crescimento mais homogêneo e possivelmente tenham reflexos na redução do canibalismo.
- 9) Densidades de até 8 presas.mL<sup>-1</sup> podem ser empregadas nos primeiros 5 a 6 dias de alimentação exógena. Após esse período, patamares mais elevados, de ao menos 20 presas.mL<sup>-1</sup>, devem ser adotados para a melhoria da ingestão e, conseqüentemente, do crescimento larval.

## 7. REFERÊNCIAS

APPELBAUM, S. ; RIEHL, R. Scanning electron microscopic observations of the chemo- and mechanoreceptors of carp larvae (*Cyprinus carpio*) and their relationship to early behaviour. **Aquat. Living Resour.**, v. 10, p. 1–12, 1997.

BALBONTIN, F.; CANNOBBIO, A. Growth and survival of Chilean sardine, *Sardinops sagax*, larvae reared at different densities of food. **Rev. Biol. Mar.**, Valparaíso, v. 27, n. 1, p. 101–112, 1992.

BALON, E. K. Reproductive guilds of fishes: a proposal and definition. **J. Fish. Res. Board Can.**, v. 32, p. 821–864, 1975.

BARAHONA-FERNANDES, M. H. Some effects of light intensity and photoperiod on the sea bass larvae (*Dicentrarchus labrax*) reared at the Centre Océanologique de Bretagne. **Aquaculture**, v. 17, p. 311–321, 1979.

BATTY, R. S.; BLAXTER, J. H. S.; LIBBY, D. A. Herring (*Clupea harengus*) filter feeding in the dark. **Mar. Biol.**, v. 91, p. 371–375, 1986.

BLAXTER, J. H. S. Light intensity, vision, and feeding in young plaice. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.**, v. 2, p. 293–307, 1968.

BLAXTER, J. H. S. Visual thresholds and spectral sensitivity of flatfish larvae. **J. Exp. Biol.**, v. 51, p. 221–230, 1969.

BLAXTER, J. H. S. Development of sense organs and behaviour of teleost larvae with special reference to feeding and predator avoidance. **Trans. Am. Fish. Soc.**, v. 115, p. 98–114, 1986.

BLAXTER, J. H. S.; GRAY, J. A. B.; BEST, A. C. G. Structure and development of the free neuromast and lateral line system of the herring. **J. Mar. Biol. Ass. U.K.**, v. 63, p. 247–260, 1983.

BLECKMANN, H. Role of the lateral line in fish behaviour. In: PITCHER, T.J. (Ed.) **Behaviour of Teleost Fishes**. London: Chapman & Hall, 1993. p. 201–246.

BOUEF, G.; LE BAIL, P. Y. Does light have an influence on fish growth? **Aquaculture**, v. 177, p. 129–152, 1999.

CAHU, C.; ZAMBONINO-INFANTE, J. Effect of molecular form of dietary nitrogen supply in sea bass larvae: response of pancreatic enzymes and intestinal peptidase. **Fish Physiol. Biochem.**, v. 14, p. 209–214, 1995.

- CAPRIO, J. Peripheral filters and chemoreceptor cells in fishes. In: ATEMA, J.; FAY, R. R.; POPPER, A. N.; TAVOLGA, W. N. (Ed.) **Sensory Biology of Aquatic Animals**. New York : Springer-Verlag, 1988. p. 313–338.
- CARDOSO, E. L.; FERREIRA, R. M. A.; ALVES, M. S. D. Desenvolvimento embrionário e estádios larvários iniciais em surubim (*Pseudoplatystoma coruscans* Agassiz, 1829). In: ENCONTRO ANUAL DE AGRICULTURA DE MINAS GERAIS, 6., 1988, Belo Horizonte. **Resumos...** Belo Horizonte, 1988. p. 22.
- CESTAROLLI, M. A.; PORTELLA, M. C.; ROJAS, N. E. T. Efeitos do nível de alimentação e do tipo de alimento na sobrevivência e no desempenho inicial de larvas de curimatã *Prochilodus scrofa* (Steindachner, 1881). **B. Inst. Pesca**, v. 24, n. único, p. 119–129, 1997.
- CHATAIN, B.; OUNAIS-GUSCHEMANN, N. The relationships between light and larvae of *Sparus aurata*. In: LARVI' 91 - FISH AND CRUSTACEAN LARVICULTURE SYMPOSIUM, Aug. 1991, Gent, Belgium. **Abstracts...** Gent: European Aquaculture Society, 1991. p. 310–313. Special Publication 15.
- CHESNEY Jr., E. J. Estimating the food requirements of striped bass larvae *Morone saxatilis*: effects of light, turbidity and turbulence. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, v. 53, p. 191–200, 1989.
- COOMBS, S.; JANSSEN, J.; WEBB, J. F. Diversity of lateral line systems: evolutionary and functional considerations. In: ATEMA, J., FAY, R. R., POPPER, A. N.; TAVOLGA, W. N. (Ed.) **Sensory Biology of Aquatic Animals**. New York: Springer-Verlag, 1988. p. 553–593.
- CRISP, M.; LOWE, G. A.; LAVERACK, M. S. On the ultrastructure and permeability of taste buds of the marine teleost *Ciliata mustela*. **Tissue & Cell**, v. 7, n. 1, p. 191–202, 1975.
- CUNHA, I.; PLANAS, M. Ingestion rates of turbot larvae (*Scophthalmus maximus*) using different-sized live prey. **ICES Mar. Sci. Symp.**, v. 201, p. 16–20, 1995.
- CUNHA, I.; PLANAS, M. Optimal prey size for early turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.) based on mouth and ingested prey size. **Aquaculture**, v. 175, p. 103–110, 1999.
- DABROWSKI, K. The feeding of fish larvae: present "state of art" and perspectives. **Reprod. Nutr. Develop.**, v. 24, n. 6, p. 807–833, 1984.
- DABROWSKI, K. Dietary requirement for freshwater fish larvae – In search of a common thread. In: LARVI' 91 - FISH AND CRUSTACEAN LARVICULTURE SYMPOSIUM, Aug. 1991, Gent, Belgium. **Abstracts...** Gent: European Aquaculture Society, 1991. p. 9–10. Special Publication 15.
- DIAZ, J. P.; PRIÉ-GRANIÉ, M.; KENTOURI, M.; VARSAMOS, S.; CONNES, R. Development of the lateral line system in the sea bass. **J. Fish Biol.**, v. 62, p. 24–40, 2003.

DISLER, N. N.; SMIRNOV, S. A. Sensory organs of the lateral-line canal system in two percids and their importance in behaviour. **J. Fish. Res. Board Can.**, v. 34, p. 1492–1503, 1977.

DOWD, C. E.; HOUDE, E. D. Combined effects of prey concentration and photoperiod on survival and growth of larval sea bream, *Archosargus rhomboidalis* (Sparidae). **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, v. 3, p. 181–185, 1980.

DURAY, M. N.; ESTUDILLO, C. B.; ALPASAN, L. G. The effect of background color and rotifer density on rotifer intake, growth and survival of the grouper (*Epinephelus suillus*) larvae. **Aquaculture**, v. 146, p. 217–224, 1996.

ELSTON, R.; CORAZZA, L.; NICKUM, J. G. Morphology and development of the olfactory organ in larval walleye, *Stizostedion vitreum*. **Copeia**, v. 4, p. 890–893, 1981.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Diagnostico sobre el estado de la acuicultura en America Latina y el Caribe** – Síntesis Regional. Proyecto GCP/RLA/102/ITA: Apoyo a las actividades regionales de acuicultura en América Latina y el Caribe. México, 1993. 221p. (Documento de campo, n.11).

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Examen mundial de la pesca y la acuicultura**. In: EL ESTADO MUNDIAL DE LA PESCA Y LA ACUICULTURA 2002. FAO, 2002. p. 3–45 (parte 1).

FERNALD, R. D. Growth of the teleost eye: novel solutions to complex constraints. **Environ. Biol. Fish.**, v. 13, p. 113–123, 1985.

FERNALD, R. D. Aquatic adaptations in fish eyes. In: ATEMA, J.; FAY, R. R.; POPPER, A. N.; TAVOLGA, W. N. (Ed.) **Sensory Biology of Aquatic Animals**. New York: Springer-Verlag, 1988. p. 435–466.

FLORES-QUINTANA, C. I.; TESSER, M. B.; PORTELLA, M. C. Morphology and histochemistry of the buco-pharynge and esophagus of *Pseudoplatystoma fasciatum* during its early ontogeny. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROSCOPIA E MICROANÁLISE, 19., 2003, Caxambu, MG. **Anais...** Caxambu, 2003. 1 CD-ROM.

GALLEGO, A.; HEATH, M. R. The development of schooling behaviour in Atlantic herring *Clupea harengus*. **J. Fish Biol.**, v. 45, p. 569–588, 1994.

GALVÃO, M. S. M.; YAMANAKA, N.; FENERICH-VERANI, N.; PIMENTEL, C. M. M. Estudos preliminares sobre enzimas digestivas proteolíticas da tainha (*Mugil platanus*) Günther 1880 (Osteichthyes, Mugilidae) durante as fases larval e juvenil. **Bol. Inst. Pesca**, v. 24, n. único, p. 101–110, 1997.

GIRI, S. S.; SAHOO, S. K.; SAHU, B. B.; SAHU, A. K.; MOHANTY, S. N.; MUKHOPADHYAY, P. K.; AYYAPPAN, S. Larval survival and growth in *Wallago attu* (Bloch and Schneider): effects of light, photoperiod and feeding regimes. **Aquaculture**, v. 213, p. 151–161, 2002.

GOLDAN, O.; POPPER, D.; KARPLUS, I. Management of size variation in juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata*). I: particle size and frequency of feeding dry and live food. **Aquaculture**, v. 152, p. 181–190, 1997.

GOMPEL, N.; CUBEDO, N.; THISSE, C.; THISSE, B.; DAMBLY-CHAUDIÈRE; GHYSEN, A. Pattern formation in the lateral line of zebrafish. **Mechanisms of Development**, v. 105, p. 69–77, 2001.

GROVER-JOHNSON, N.; FARBMAN, A. I. Fine structure of taste buds in the barbel of the catfish, *Ictalurus punctatus*. **Cell Tissue Res.**, v. 169, p. 395–403, 1976.

GULBRANDSEN, J. Effect of light intensity on feeding success of Atlantic halibut larvae. In: LARVI' 91 - FISH AND CRUSTACEAN LARVICULTURE SYMPOSIUM, Aug. 1991, Gent, Belgium. **Abstracts...** Gent: European Aquaculture Society, 1991. p. 336–338. Special Publication 15.

HARA, T. J. Chemoreception. In: HOAR, W. S.; RANDALL, D. J. (Ed.) **Fish Physiology**. New York: Academic Press, vol. 5, 1971. p. 79–120.

HART, P. R.; HUTCHINSON, W. G.; PURSER, G. J. Effects of photoperiod, temperature and salinity on hatchery-reared larvae of the greenback flounder (*Rhombosolea tapirina* Günther, 1862). **Aquaculture**, v. 144, p. 303–311, 1996.

HARVEY, R.; BATTY, R. S. Cutaneous taste buds in cod. **J. Fish Biol.**, v. 53, p. 138–149, 1998.

HARVEY, R.; BATTY, R. S. Cutaneous taste buds in gadoid fishes. **J. Fish Biol.**, v. 60, p. 583–592, 2002.

HIGGS, D. M.; FUIMAN, L. A. Light intensity and schooling behaviour in larval gulf menhaden. **J. Fish Biol.**, v. 48, p. 979–991, 1996.

HOUDE, E. D. Effects of stocking density and food density on survival, growth and yield of laboratory-reared larvae of sea bream *Archosargus rhomboidalis* (L.) (Sparidae). **J. Fish. Biol.**, v. 7, p. 115–127, 1975.

HUNTER, J. R. Effects of light on schooling and feeding of jack mackerel, *Trachurus symmetricus*. **J. Fish. Res. Bd. Can.**, v. 25, p. 393–407, 1968.

HUSE, I. Feeding at different illumination levels in larvae of three marine teleost species: cod, *Gadus morhua*, plaice, *Pleuronectes platessa*, and turbot, *Scophthalmus maximus* (L.). **Aquac. Fish. Manag.**, v. 25, p. 687–695, 1994.

IWAI, T. Sensory cupulae found in newly hatched larvae of *Blennius yatabei* Jordan et Snyder. **Bull. J. Soc. Sc. Fish.**, v. 29, n. 6, p. 503–506, 1963.

IWAI, T. Development of cupulae in free neuromasts of the Japanese medaka, *Oryzias latipes* (Temminck et Schlegel). **Bull. Mar. Biol. Ins. Kyoto Univ.**, 5:31–37, 1964.

IWAI, T. Sensory anatomy and feeding of fish larvae. In: ICLARM CONFERENCE, 5th, 1980, Manila, Philippines. **Fish behaviour and its use in the capture and culture of fishes: proceedings...**Manila, 1980. p. 124–145.

JAKUBOWSKI, M.; WHITEAR, M. Comparative morphology and cytology of taste buds in teleosts. **Z. Mikrosk. Anat. Forsch.**, v. 104, n. 4, p. 529–560, 1990.

KAMLER, E. **Early life history of fish: an energetics approach**. London: Chapman and Hall, 1992. 267p.

KATSUKI, Y.; YANAGISAWA, K. Chemoreception in the lateral-line organ. In: HARA, T. J. (Ed.) **Chemoreception in fishes**. New York: Elsevier, 1982. *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*, n. 8, p. 227–242.

KEAST, A.; WEBB, D. Mouth and body form relative to feeding ecology in the fish fauna of a small lake, Lake Opinicon, Ontario. **J. Fis. Res. Board Can.**, v. 23, n. 12, p. 1845–1874, 1966.

KOTRSCHAL, K. Quantitative scanning electron microscopy of solitary chemoreceptor cells in cyprinids and other teleosts. **Env. Biol. Fish.**, v. 35, p. 273–282, 1992.

KUROKAWA, T.; SHIRAIISHI, M.; SUZUKI, T. Quantification of exogenous protease derived from zooplankton in the intestine of Japanese sardine *Sardinops melanoticus* larvae. **Aquaculture**, v. 161, p. 491–499, 1998.

LABERGE, F.; HARA, T. Neurobiology of fish olfaction: a review. **Brain Res. Rev.**, v. 36, p. 46–59, 2001.

LANE, E. B.; WHITEAR, M. Sensory structures at the surface of fish skin I. Putative chemoreceptors. **Zool. J. Linn. Soc.**, v. 75, p. 141–151, 1982.

LAVENS, P.; THONGROD, S.; SORGELOOS, P. Larval prawn feeds and the dietary importance of *Artemia*. In: NEW, M. B.; VALENTI, W. C. (Ed.) **Freshwater prawn culture**. Oxford: Blackwell Science, 2000. p. 91–111.

LAVERACK, M. S. The diversity of chemoreceptors. In: ATEMA, J.; FAY, R. R.; POPPER, A. N.; TAVOLGA, W. N. (Ed.) **Sensory Biology of Aquatic Animals**. New York: Springer-Verlag, 1988. p. 287–312.

LIANG, X. F.; LIU, J. K.; HUANG, B. Y. The role of sense organs in the feeding behaviour of Chinese perch. **J. Fish Biol.**, v. 52, p. 1058–1067, 1998.

LUBZENS, E.; SAGIE, G.; MINKHOFF, G.; MERAGELMAM, E.; SCHNELLER, A. Rotifers (*Brachionus plicatilis*) improve growth rate of carp (*Cyprinus carpio*) larvae. **Bamidgeh**, v. 32, n. 2, p. 41–46, 1984.

MAJOR, P. F. Predator-prey interactions in schooling fishes during periods of twilight: a study of the silverside *Pranesus insularum* in Hawaii. **Fish. Bull. US**, v. 75, p. 415–426, 1977.

- MANA, R. R.; KAWAMURA, G. A comparative study on morphological differences in the olfactory system of red sea bream (*Pagrus major*) and black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*) from wild and cultured stocks. **Aquaculture**, v. 209, p. 285–306, 2002.
- MANGETTI, A. J.; CESTAROLLI, M. A.; SALLES, F. A. SANTOS, N. P.; GUERRA, R. R.; HERNANDEZ-BLAZQUEZ, F. J. Histomorphological development of the digestive tract of surubim pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*) fry. **Braz. J. Morphol. Sci.**, v. 18, n. 2, p.153, 2001.
- MEYER-ROCHOW, V. B. The lateral-line organs of the larvae of the deep-sea fish *Cataetyx memorabilis* (Ophidiidae): a scanning-electron and light-microscope study. **Mar. Biol.**, v. 12, p. 272–276, 1972.
- MILLS, E. L.; CONFER, J. L.; KRETCHMER, D. W. Zooplankton selection by young yellow perch: the influence of light, prey density, and predator size. **Trans. Am. Fish. Soc.**, v. 115, p. 716–725, 1986.
- MUKAY, Y.; KOBAYASHI, H. Development of free neuromasts with special reference to sensory polarity in larvae of the willow shiner, *Gnathopogon elongates caerulescens* (Teleostei, Cyprinidae). **Zool. Sci.**, v. 12, p. 125–131, 1995.
- MÜLLER, H. M. Indications for feature detection with the lateral line organ in fish. **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 114A, n. 3, p. 257–263, 1996.
- NOAKES, D. L. G.; GODIN, J. G. J. Ontogeny of behaviour and concurrent developmental changes in sensory systems in teleost fishes. In: HOAR, W. S.; RANDALL, D. J. (Ed) **Fish Physiology**. New York: Academic Press, vol. 11-B, 1988. p. 345–395.
- OTSUKA, M.; NAGAI, S. Neuromast formation in the prehatching embryos of the cod fish, *Gadus macrocephalus* Tilesius. **Zool. Sci.**, v. 14, p. 475–481, 1997.
- PARTRIDGE, B. L.; PITCHER, T. J. The sensory basis of fish schools: relative roles of lateral line and vision. **J. Comp. Physiol.**, v. 135, p. 315–325, 1980.
- PASCUAL, E.; YÚFERA, M. Alimentación en el cultivo larvario de peces marinos. In: ESPINOSA DE LOS MONTEROS, J.; LABARTA, U. (Ed.) **Alimentación en Acuicultura**. Madrid: Ind. Graf. España, 1987. p. 251–293.
- PLATT, C. Equilibrium in the vertebrates: signals, senses, and steering underwater. In: ATEMA, J.; FAY, R. R.; POPPER, A. N.; TAVOLGA, W. N. (Ed.) **Sensory Biology of Aquatic Animals**. New York: Springer-Verlag, 1988. p. 783–809.
- PERSON-LE RUYET, J. Early weaning of marine fish larvae onto microdiets: constraints and perspectives. In: AQUACOP INFREMER. **Advances In Tropical Aquaculture**. Tahiti, v. 9, 1989. p. 625–642.
- POPPER, A. N.; ROGERS, P. H.; SAIDEL, W. M.; COX, M. Role of the fish ear in sound processing. In: ATEMA, J.; FAY, R. R.; POPPER, A. N.; TAVOLGA, W. N.

(Ed.) **Sensory Biology of Aquatic Animals**. New York: Springer-Verlag, 1988. p. 687–710.

PORTELLA, M. C.; CESTAROLLI, M. A.; VERANI, J. R.; ROJAS, N. E. T. Produção de organismos planctônicos para alimentação inicial de larvas de peixes de água doce. **B. Inst. Pesca**, v. 24, n. único, p. 79–89, 1997.

PUVANENDRAN, V.; BROWN, J. A. Foraging, growth and survival of Atlantic cod larvae reared in different prey concentrations. **Aquaculture**, v. 175, p. 77–92, 1999.

REGAZZI, A. J. Teste para verificar a igualdade de parâmetros e a identidade de modelos de regressão não-linear. **Revista Ceres**, v. 50, n. 287, p. 9–26, 2003.

REUTTER, K. Taste organ in the barbell of the bullhead. In: HARA, T. J. (Ed.) **Chemoreception in fishes**. New York: Elsevier, 1982. *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*, n. 8, p. 77–91.

RONZANI CERQUEIRA, V.; CHATAIN, B. Photoperiodic effects on the growth and feeding rhythm of European seabass, *Dicentrarchus labrax*, larvae in intensive rearing. In: LARVI' 91 - FISH AND CRUSTACEAN LARVICULTURE SYMPOSIUM, Aug. 1991, Gent, Belgium. **Abstracts...** Gent: European Aquaculture Society, 1991. p. 304–306.

SALLES, F. A.; CESTAROLLI, M. A.; LEITE, E. R. G.; CASTAGNOLLI, N. Viabilidade técnica e custo operacional da larvicultura intensiva em massa do curimatá *Prochilodus scrofa* alimentado com o rotífero *Brachionus plicatilis*. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO DE PESCA, 7., 1998, São Paulo. **Resumos...** São Paulo: Instituto de Pesca, 1998. p.29.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT user's guide, version 8**. 8th. ed. Cary: SAS Institute Inc., 1999. Disponível em: < <http://v8doc.sas.com/sashtml/>>. Acesso em: set. 2004.

SILVER, W. L. The common chemical sense. In: FINGER, T. E.; SILVER, W. L. (Ed.) **Neurobiology of taste and smell**. New York: J. Wiley, 1987. p. 65–87.

SOLBERG, T. S.; TILSETH, S. Variations in growth pattern among yolk-sac larvae of cod (*Gadus mohrua* L.) due to difference in rearing temperature and light regime. **Sarsia**, v. 72, p. 347–349, 1987.

SOUZA, S. N.; MENIN, E.; DONZELE, J. L.; FONSECA, C. C. Corpúsculos gustativos na cavidade bucofaringea em alevinos de surubim relacionados com a sua capacidade para selecionar o alimento. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba, 2001. 1 CD-ROM.

SUMPTER, J. P. Control of growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 100, p. 299–320, 1992.

TANAKA, Y.; MUKAI, Y.; TAKII, K.; KUMAI, H. Chemoreception and vertical movement in planktonic yolk-sac larvae of red sea bream *Pagrus major*. **J. Appl. Ichthyol.**, v. 7, p. 129–135, 1991.

TARBY, M. L.; WEBB, J. F. Development of the supraorbital and mandibular lateral line canals in the cichlid, *Archocentrus nigrofasciatus*. **J. Morph.**, v. 255, p. 44–57, 2003.

TRUJILLO-CENÓZ, O. Electron microscope observations on chemo- and mechano-receptor cells of fishes. **Zeitschrift für Zellforschung**, v. 54, p. 654–676, 1961.

WEBB, J. F. Neuromast morphology and lateral line trunk canal ontogeny in two species of cichlids: an SEM study. **J. Morph.**, v. 202, p. 53–68, 1989a.

\_\_\_\_\_. Developmental constraints and evolution of the lateral line system in teleost fishes. In: COOMBS, S.; GÖRNER, P.; MÜNZN, H. (Ed.) **The mechanosensory lateral line: neurobiology and evolution**. New York: Springer-Verlag, 1989b. p. 79–97.

\_\_\_\_\_. Gross morphology and evolution of the mechanoreceptive lateral-line system in teleost fishes. **Brain Behav. Evol.**, v. 33, p. 34–53, 1989c.

\_\_\_\_\_. Mechanosensory lateral line: functional morphology and neuroanatomy. In: OSTRANDER, G. K. (Ed.) **The handbook of experimental animals – the laboratory fish**. San Diego: Academic Press, 2000a. p. 236–244.

\_\_\_\_\_. Mechanosensory lateral line: microscopic anatomy and development. In: OSTRANDER, G. K. (Ed.) **The handbook of experimental animals – the laboratory fish**. San Diego: Academic Press, 2000b. p. 463–470.

WEBB, J. F.; NORTH CUTT, R. G. Morphology and distribution of pit organs and canal neuromasts in non-teleost bony fishes. **Brain Behav. Evol.**, v. 50, p. 139–151, 1997.

WEBB, J. F.; SHIREY, J. E. Postembryonic development of the cranial lateral line canals and neuromasts in zebrafish. **Develop. Dynamics**, v. 228, p. 370–385, 2003.

WERNER, R. G.; LANNOO, M. J. Development of the olfactory system of white sucker, *Catostomus commersoni*, in relation to imprinting and homing: a comparison to the salmonid model. **Environ. Biol. Fish.**, v. 40, p. 125–140, 1994.

YAMAMOTO, M. Comparative morphology of the peripheral olfactory organ in teleosts. In: HARA, T. J. (Ed.) **Chemoreception in fishes**. New York: Elsevier, 1982. *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*, n. 8, p. 39–59.

YAMAMOTO, M.; UEDA, K. Comparative morphology of fish olfactory epithelium VI. Siluriformes. **Zool. Mag.**, v. 87, p. 254–261, 1978.

ZAKON, H. H. The electroreceptors: diversity in structure and function. In: ATEMA, J.; FAY, R. R.; POPPER, A. N.; TAVOLGA, W. N. (Ed.) **Sensory Biology of Aquatic Animals**. New York: Springer-Verlag, 1988. p. 813–850.

ZEUTZIUS, I.; RAHMANN, H. Influence of dark-rearing on the ontogenetic development of *Sarotherodon mossambicus* (Cichlidae, teleostei): I. Effects on body weight, body growth pattern, swimming activity and visual acuity. **Exp. Biol.**, v. 43, p. 77–85, 1984.

ZEUTZIUS, I.; PROBST, W.; RAHMANN, H. Influence of dark-rearing on the ontogenetic development of *Sarotherodon mossambicus* (Cichlidae, teleostei): II. Effects on allometrical growth relations and differentiation of the optic tectum. **Exp. Biol.**, v. 43, p. 87–96, 1984.