UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQÜICULTURA DA UNESP – CAUNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL

DESENVOLVIMENTO INICIAL DE JATUARANA, *Brycon amazonicus* (TELEOSTEI, CHARACIDAE).

Erika Neumann
Bióloga

Jaboticabal
São Paulo – Brasil
2008

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQÜICULTURA DA UNESP – CAUNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL

DESENVOLVIMENTO INICIAL DE JATUARANA, *Brycon amazonicus* (TELEOSTEI, CHARACIDAE).

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aqüicultura, do Centro de Aqüicultura da UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Aqüicultura.

Erika Neumann

Orientadora: Profa. Dra. Laura Satiko Okada Nakaghi
Co-Orientador: Prof. Dr. Francisco Manoel de Souza Braga

Jaboticabal
São Paulo – Brasil
2008

Não basta dar os passos que nos devem levar um dia ao objetivo, cada passo deve ser ele próprio um objetivo, ao mesmo tempo em que nos leva para diante.

Johann Goethe

Dedico

Ao meu amor, amigo e companheiro José Mário, que em virtude deste trabalho apareceu em minha vida, e desde então ofereceu total apoio à realização desta pesquisa, mesmo sabendo que para isso teríamos momentos de distância e solidão.

Ao sol da minha vida, minha filha Carolina, que chegou iluminando e alegrando meu caminho, me mostrando que qualquer aflição imposta pela vida é compensada no sorriso de uma criança.

E desde então, sou porque tu és
E desde então és, sou e somos...
E por amor
Serei... Serás... Seremos...

Pablo Neruda

Agradecimentos especiais

À Profa. Dra. Laura Satiko Okada Nakaghi, pela confiança em mim depositada, pela atenção e compreensão frente a todas as surpresas surgidas no decorrer deste trabalho, e pelas experiências profissionais transmitidas.

À minha irmã Maria Cristina, que durante um longo período renunciou a sua própria rotina para auxiliar-me na busca de meus objetivos, oferecendo colo materno à minha filha e a mim quando mais precisamos.

Aos meus pais, Aracy e Francisco, pelo apoio constante e incondicional, por acolherem e incentivarem nas horas oportunas e por sempre acreditarem em mim, e a minha irmã Roseli, pelo apoio e amizade.

Agradecimentos

Aos meus orientadores, Profa. Dra. Laura Satiko Okada Nakaghi e Prof. Francisco Manoel de Souza Braga, pela orientação, confiança, paciência, ensinamentos e oportunidades que possibilitaram meu crescimento profissional e intelectual.

Ao Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura do Centro de Aqüicultura da UNESP – Jaboticabal, por permitir a realização deste trabalho.

À Piscicultura Buriti, Nova Mutum – MT, na pessoa de José Mário Ribeiro Mendes e funcionários, pelo fornecimento do material biológico e espaço físico utilizado neste estudo, e pela atenção dispensada sempre que precisei.

A todos os professores que ministraram disciplinas junto ao curso de Pós-Graduação do Centro de Aqüicultura da UNESP – Jaboticabal, pela contribuição no crescimento acadêmico.

Aos funcionários do Centro de Aqüicultura da UNESP – Jaboticabal, que sempre contribuíram para direcionar, facilitar e tornar agradável o cotidiano caunespiano.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pelo auxilio concedido na forma de bolsa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pela contribuição na forma de auxílio à pesquisa (processo: 06/51326-0).

Aos professores Dr. Sérgio Fonseca Zaiden e Dra. Irene Bastos Franceschini Vicentini, pelas sugestões valiosas na ocasião do Exame Geral de Qualificação.

Aos professores Dr. Sérgio Fonseca Zaiden, Dra. Maria Célia Portella, Dr. José Augusto Senhorini e Dr. Leandro Muller Gomiero, pelas sugestões dadas na ocasião da Defesa Pública desta tese.

Ao Dr. Flávio César Thadeo de Lima, do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo – USP, pela identificação taxonômica da espécie de peixe estudada.

Ao histotécnico Sr. Orandi Mateus, do Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (FCAV/UNESP - Jaboticabal) pela confecção dos cortes histológicos e lâminas utilizadas neste trabalho.

À técnica Cláudia Aparecida Rodrigues (Claudinha) do Laboratório de Microscopia Eletrônica da FCAV/UNESP - Jaboticabal, pela atenção e auxílio no processamento das amostras de microscopia eletrônica de varredura.

À técnica do Laboratório Central do Centro de Aqüicultura da UNESP – Jaboticabal, Silvia Regina Ligeiro de Laurentiz, pela contribuição na análise de água.

Aos técnicos e colegas do Setor de Carcinicultura do Centro de Aqüicultura da UNESP – Jaboticabal, pela disponibilização de estereomicroscópio de câmara clara.

À Profa. Dra. Isabel Cristina Boleli, do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (FCAV/UNESP - Jaboticabal), por permitir o uso do microscópio de luz e programa acoplado para captura de imagens em campo claro.

Às queridas colegas do Laboratório de Histologia (FCAV/UNESP - Jaboticabal), Francine, Lilian, Maria, Camila, Angélica e Verônica, e ao Érico, pela amizade, cumplicidade, agradável convivência, trocas de experiência, sugestões e auxílio direto ou indireto durante a realização deste trabalho.

Aos amigos Virgínia Maria Cavalari Henriques e Antônio Francisco da Silva, que durante muito tempo foram minha família em Jaboticabal – SP, pelo companheirismo e amizade, para sempre serão lembrados.

A todas as demais pessoas, que mesmo não citadas, estiveram presentes em minha vida de doutoranda e colaboraram com sua amizade e troca de experiências.

A todos, muito obrigada!

SUMÁRIO

Página

LISTA DE FIGURAS..... iii

LISTA DE TABELAS..... vii

LISTA DE ABREVIATURAS..... viii

RESUMO..... ix

ABSTRACT..... x

Capítulo 1

1. INTRODUÇÃO GERAL..... 1

1.1. Desenvolvimento inicial..... 4

1.2. Trato digestório..... 5

1.3. Quantificação do crescimento..... 8

2. REFERÊNCIAS..... 10

Capítulo 2

Momentos da reprodução induzida e do desenvolvimento embrionário de *Brycon amazonicus* (Teleostei, Characidae)..... 15

RESUMO..... 15

1. INTRODUÇÃO..... 16

2. MATERIAL E MÉTODOS..... 17

3. RESULTADOS..... 19

4. DISCUSSÃO..... 24

5. REFERÊNCIAS..... 28

Capítulo 3

Estruturas associadas à alimentação durante o desenvolvimento inicial de *Brycon amazonicus*..... 32

RESUMO..... 32

1. INTRODUÇÃO..... 33

2. MATERIAL E MÉTODOS..... 34

3. RESULTADOS..... 36

4. DISCUSSÃO..... 46

5. REFERÊNCIAS..... 51

Capítulo 4

Ontogenia do trato digestório de *Brycon amazonicus* (Teleostei, Characidae)..... 55

RESUMO..... 55

1. INTRODUÇÃO..... 56

2. MATERIAL E MÉTODOS..... 57

3. RESULTADOS..... 58

4. DISCUSSÃO..... 73

5. REFERÊNCIAS..... 79

Capítulo 5

Crescimento alométrico de *Brycon amazonicus* da eclosão até 25 dias de idade..... 83

RESUMO..... 83

1. INTRODUÇÃO..... 84

2. MATERIAL E MÉTODOS..... 85

3. RESULTADOS..... 88

4. DISCUSSÃO..... 98

5. REFERÊNCIAS..... 103

Capítulo 6 – CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 107

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 2

Figura 1 - Freqüência de ocorrência de ovócitos por classes de diâmetro no momento da extrusão em *B. amazonicus*..... 20

Figura 2 - Diâmetro médio dos ovos de *B. amazonicus* durante a incubação. CEP: com espaço perivitelino; SEP: sem espaço perivitelino..... 20

Figura 3 - Eletronmicrografia da fertilização em *B. amazonicus*. A - morfologia da micrópila (seta); B – cauda do espermatozóide (seta) penetrando no ovócito 10 s PF; C - formação de tampão (cone de fertilização - seta) 10 s PF; D - espermatozóides (seta) migrando em direção à micrópila 30 s PF; E - vários espermatozóides (seta) no vestíbulo da micrópila 90 s PF; F - ovo fecundado..... 21

Figura 4 - Desenvolvimento embrionário de *B. amazonicus*. A – ovócito (extrusão); B – ovo fertilizado; C – 10 min PF; D - 20 min PF; E – 30 min PF; F – 45 min PF; G - 1 h PF; H – 2 h PF; I – 3 h PF; J – 5 h PF; K – 6 h PF; L – 7 h PF; M – 8 h PF; N – 10 h PF; O – 13 h PF (eclosão). Vesículas ótica (➔), óptica (→) e de Küpffer (➢). Escala = 0,5 mm..... 23

Capítulo 3

Figura 1. Volume do saco vitelino em larvas de *B. amazonicus* a partir da eclosão..... 36

Figura 2. Índice de eficiência de consumo de vitelo (S) a partir da eclosão em larvas de *B. amazonicus*..... 37

Figura 3 - Eletronmicrografia do desenvolvimento larval de 0 a 11 h PE em *B. amazonicus*. Eclosão: A.a - vista lateral completa; A.b – placa olfatória; A.c – vista lateral da região anterior; A.d –vista ventral da cabeça; A.e – vista dorsal da região anterior. 4 h PE: B.a – vista lateral completa e membrana embrionária (seta); B.b - vista lateral da região anterior; B.c - vista ventral da cabeça; B.d - vista dorsal da região anterior. 11 h PE: C.a - vista lateral completa C.b - vista frontal da cabeça; C.c - vista lateral da região anterior. Placa olfatória (1), vesícula óptica (2), boca (3), arcos branquiais (4), opérculo (5) e botão da nadadeira peitoral (6), saco vitelino (sv), sulco cefálico (asterisco)..... 38

Figura 4 - Eletronmicrografia do desenvolvimento larval de 25 a 59 h PE em *B. amazonicus*. 25 h PE: A.a - vista lateral completa, com local de formação da abertura anal (seta) e saco vitelino (sv); A.b - vista dorsal da região anterior; A.c – ampliação lateral da cabeça, com cavidade olfativa (1), vesícula óptica (2), boca (3) e neuromastos (ponta de seta); A.d – destaque do opérculo (4), arcos branquiais (5) e nadadeira peitoral (6) em vista lateral. 35 h PE: B.a - vista lateral completa; B.b - destaque do opérculo (4), arcos branquiais (5) e nadadeira peitoral (6) em vista lateral; B.c – ampliação lateral da cabeça e neuromastos (ponta da seta).. 59 h PE: C.a - vista lateral completa, nadadeira dorsal (seta escura) e anal (seta clara); C.b – vista frontal da boca; C.c - destaque do opérculo (4) e nadadeira peitoral (6) em vista lateral; C.d – destaque da cavidade olfativa (1) e neuromastos (ponta da seta)..... 40

Figura 5 - Eletronmicrografia do desenvolvimento larval de 79 a 171 h PE em *B. amazonicus*. 79 h PE: A.a - vista lateral completa; A.b – vista frontal da boca; A.c - vista dorsal da região anterior; A.d - destaque da cavidade olfativa. 107 h PE: B.a - vista lateral completa; B.b - vista frontal da boca. 171 h PE: C.a - vista lateral completa; C.b – destaque da cavidade olfativa; C.c - vista frontal da boca; C.d – vista lateral dos dentes anteriores; C.e – vista lateral dos dentes posteriores. Membrana embrionária (asterisco escuro), nadadeira peitoral (asterisco claro), nadadeira dorsal (seta vazada), nadadeira anal (seta cheia) e nadadeira caudal (seta escura)..... 42

Figura 6 - Eletronmicrografia do desenvolvimento larval de 243 a 339 h PE em *B. amazonicus*. 243 h PE: A.a - vista lateral da região anterior; A.b – destaque da cavidade olfativa; A.c – vista lateral da região mediana do tronco; A.d – boca e dentes; A.e – assoalho da boca; A.f – destaque de A.e = botões gustativos (setas); A.g – ramos superiores dos arcos branquiais; A.h - destaque de A.g = botões gustativos (seta). 339 h PE: B – vista lateral completa, com destaque da cavidade olfativa (seta clara) e formação de escamas (seta escura). Nadadeira peitoral (1), nadadeira dorsal (2), nadadeira pélvica (3), nadadeira anal (4), nadadeira (membrana) embrionária (5) e nadadeira caudal (6)..... 44

Figura 7 - Eletronmicrografia do desenvolvimento larval com 412 e 579 h PE em *B. amazonicus*. 412 h PE: A.a – botões gustativos no lábios (destaque de A.b); A.b – boca (seta escura = dentes da maxila); A.c – dentário; A.d – língua com botões gustativos (destaque). 579 h PE: B.a – vista frontal da boca; B.b – cavidade olfativa; B.c – dentes da pré-maxila; B.d – pré-maxila; B.e - botões gustativos do lábio inferior (seta); B.f – dentário e língua (seta); B.g – dente da região frontal do dentário..... 45

Capítulo 4

Figura 1 - Desenvolvimento morfológico inicial do tubo digestório de *B. amazonicus*. A – 25 h PE; B – 35 h PE; C – 59 h PE; D – 83 h PE; F – 135 h PE; G – 171 h PE; H – 243 h PE; I – 412 h PE. Escala = 1 mm. Esôfago (asterisco), bolsa intestinal (b) e cecos pilóricos (setas). Obs.: a partir de 148 h PF foram ilustrados lado direito e esquerdo devido à distribuição assimétrica das estruturas..... 60

Figura 2 – Fotomicrografia do trato digestório de *B. amazonicus* entre a eclosão e 9 h PE. eclosão: A – primórdio de boca (seta); B – primórdio da região posterior do tubo digestório (seta). 4 h PE: C – início da abertura da cavidade bucal (seta); D – primórdio da região posterior do tubo digestório (seta) e prolongamento do saco vitelino (SV). 7 h PE: E – cavidade bucal (seta). 9 h PE: F - porção final de rim (R) e tubo digestório (TD)..... 62

Figura 3 – Fotomicrografia do trato digestório de *B. amazonicus* entre 11 e 25 h PE. 11 h PE: A – cavidade bucal, com porção inicial do tubo digestório fechada (seta); B – lume na porção média do tubo digestório (seta). 13 h PE: C – lume (*) na porção anterior do tubo digestório; D – ânus (seta) e pronefron (R). 25 h PE: E – vista panorâmica da região anterior, F - esôfago (ES), primórdio de vesícula gasosa (seta) e início da formação de bolsa intestinal (IN); G – porção média do tubo digestório; H – botões gustativos no teto da cavidade bucal (seta)..... 63

Figura 4 – Fotomicrografia do trato digestório de *B. amazonicus* com 29 e 35 h PE. 29 h PE: A – ingestão de larva forrageira (seta). 35 h PE: B – dente (seta) no pré-maxilar; C - alvéolos de dentes na mandíbula; D - faringe (seta), esôfago (ES), bolsa intestinal (IN) e vesícula gasosa (VS); E - intestino médio (IN); F - septo (seta) entre intestino médio e posterior (IP); G - ânus (seta)..... 64

Figura 5 – Fotomicrografia do trato digestório de *B. amazonicus* com 59 h PE. A – faringe (FA) com células de muco (seta), esôfago (ES) e bolsa intestinal (IN) (barra escura = músculo longitudinal, barra clara = músculo circular); B - porção distal do intestino médio; - C – septo (seta) entre intestino médio e posterior (IP); D - porção mediana do intestino médio (IN); E – ânus (seta)..... 66

Figura 6 – Fotomicrografia do trato digestório de *B. amazonicus* com 83 e 89 h PE. 83 h PE: A – esôfago (ES), estômago em formação (ET), bolsa intestinal (IN) e ducto da vesícula gasosa (seta); B - vista panorâmica do intestino (IN); C – esôfago (ES) e bolsa intestinal (IN); D – porção mediana do intestino médio (IN) e dobra logo após bolsa intestinal (seta); E - porção distal do intestino médio; F - intestino posterior; G - ânus (1) e uretra (2). 89 h PE: H – dentes faríngeos (seta)..... 67

Figura 7 – Fotomicrografia do trato digestório de *B. amazonicus* com 147 h PF. A – vista panorâmica da porção anterior do trato digestório, com estômago (ET) em diferenciação e bolsa intestinal (IN); B – estômago (ET) e ducto da vesícula gasosa (seta); C – porção proximal do intestino médio (bolsa intestinal) com células claras (seta); D – intestino posterior; E - septo (seta) entre intestino médio e posterior (IP); F – reto e ânus (seta)..... 69

Figura 8 – – Fotomicrografia do trato digestório de *B. amazonicus* com 171 h PE. A - – vista panorâmica da porção anterior do trato digestório, com estômago dividido em região cárdica (1), cecal (2) e pilórica (3); B – faringe (FA); C – esôfago (ES); D – estômago (ET) e glândulas gástricas (seta); E – esfincter pilórico (seta) entre estômago (ET) e intestino; F - intestino posterior..... 70

Figura 9 – Fotomicrografia do trato digestório de *B. amazonicus* com 243 h PE. A - vista panorâmica do esôfago (ES), estômago (ET), com porção cárdica (1), cecal (2) e pilórica (3), e intestino médio (IN); B – alvéolos dentários (*) e botões gustativos (seta) no teto da faringe; C – esôfago; D – glândulas estomacais (seta); E – lume da porção pilórica do estômago (ET), intestino (IN) e cecos pilóricos (C); F e G - cecos pilóricos; H – vista panorâmica do intestino médio; I - porção distal do intestino médio; J - reto e ânus (seta), com detalhe de células com aspecto mucoso..... 72

Capítulo 5

Figura 1. Estágios de desenvolvimento de *B amazonicus*. A – 2 h PE: larval vitelino; B – 11 h PE: larval vitelino; C - 59 h PE: pré-flexão; D – 83 h PE: início de flexão; E – 171 h PE: final de flexão; F – 243 h PE: início de pós-flexão; G - 411 h PE: final de pós-flexão; H – 583 h PE: juvenil. Flexão da notocorda (seta cheia), botão da nadadeira pélvica (seta vazada) e inserção membranosa da nadadeira peitoral (ponta de seta)..... 88

Figura 2 - Relações lineares entre diâmetro do olho (DO) e comprimento da cabeça (CC), e entre comprimento da cabeça, altura do corpo (AC), comprimento total (CT) em relação ao comprimento padrão (CP), observados durante o estágio **larval vitelino** de *B. amazonicus*, obtidos a partir de dados logaritmizados..... 92

Figura 3 - Relações lineares entre diâmetro do olho (DO) e comprimento da cabeça (CC), e entre comprimento da cabeça, altura do corpo (AC), comprimento total (CT) em relação ao comprimento padrão (CP), observados durante o estágio de **pré-flexão** de *B. amazonicus*, obtidos a partir de dados logaritmizados..... 93

Figura 4 - Relações lineares entre diâmetro do olho (DO) e comprimento da cabeça (CC), e entre comprimento da cabeça, altura do corpo (AC), comprimento total (CT) em relação ao comprimento padrão (CP), observados durante o estágio de **flexão** de *B. amazonicus*, obtidos a partir de dados logaritmizados..... 93

Figura 5 - Relações lineares entre diâmetro do olho (DO) e comprimento da cabeça (CC), e entre comprimento da cabeça, altura do corpo (AC), comprimento total (CT) em relação ao comprimento padrão (CP), observados durante o estágio de **pós-flexão** de *B. amazonicus*, obtidos a partir de dados logaritmizados..... 94

Figura 6 - Relações lineares entre diâmetro do olho (DO) e comprimento da cabeça (CC), e entre comprimento da cabeça, altura do corpo (AC), comprimento total (CT) em relação ao comprimento padrão (CP), observados durante a fase **juvenil** de *B. amazonicus*, obtidos a partir de dados logaritmizados..... 94

Figura 7 – Comparação dos coeficientes angulares (b) e respectivos intervalos de confiança das relações diâmetro do olho (DO) x comprimento da cabeça (CC), comprimento da cabeça (CC) x comprimento padrão (CP) e altura do corpo (AC) x comprimento padrão (CP) e comprimento total (CT) e comprimento padrão (CP), entre os estágios de desenvolvimento inicial de *B. amazonicus*. LV = larval vitelino, PrF = pré-flexão, FL = flexão, PoF = pós-flexão..... 97

Figura 8 – Taxa de crescimento (G) em comprimento total durante o desenvolvimento larval de *B. amazonicus*..... 97

LISTA DE TABELAS

Página

Capítulo 2

Tabela 1 - Valores médios de variáveis físico-químicas da água durante o período amostrado, seguidos de seu respectivo desvio padrão (S), valores máximo e mínimo..... 19

Tabela II - Parâmetros reprodutivos de *B. amazonicus* submetidos à reprodução induzida, seguidos de seu respectivo desvio padrão (S), valores mínimo e máximo. CT = comprimento total, n = 10..... 19

Capítulo 4

Tabela I. Valores médios de variáveis físico-químicas da água durante o período estudado, em dois diferentes ambientes utilizados, seguidos de seu respectivo desvio padrão (S), valor máximo e mínimo..... 59

Capítulo 5

Tabela I – Dados obtidos de valores logaritmizados das relações lineares entre diâmetro do olho (DO) e comprimento da cabeça (CC), e entre comprimento da cabeça, altura do corpo (AC), comprimento total (CT) em relação ao comprimento padrão (CP), observados nos diferentes estágios de desenvolvimento larval e juvenil de *B. amazonicus*.. 95

LISTA DE ABREVIATURAS

AC = altura do corpo
CC = comprimento da cabeça
CEP = com espaço perivitelino
CP = comprimento padrão
CT = comprimento total
DO = diâmetro do olho
FL = estágio de flexão
J = juvenil
LV = estágio larval vitelino
MEV = microscopia eletrônica de varredura
ML = microscopia de luz
PE = pós-eclosão
PF = pós-fertilização
PoF = estágio de pós-flexão
PrF = estágio de pré-flexão
SEM = sem espaço perivitelino
SV = saco vitelino

NEUMANN, Erika. **Desenvolvimento inicial de jatuarana, *Brycon amazonicus* (Teleostei, Characidae).** 2008. Tese (Doutorado em Aqüicultura). UNESP – Universidade Estadual Paulista: Jaboticabal, SP.

RESUMO

Este estudo teve por objetivo descrever fases iniciais do ciclo de vida de *Brycon amazonicus*, analisando momentos da fertilização e do desenvolvimento inicial por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia de luz (ML) e análise de variações morfométricas corporais. A temperatura média da água foi de 27,98 ± 0,81 ºC em laboratório, envolvendo período entre a extrusão dos gametas e 76 horas após a fertilização (PF), e de 30,30 ± 1,98 ºC em viveiro, onde as larvas foram estocadas de 76 h PF a 25 dias de idade. O diâmetro dos ovócitos na extrusão foi de 1,21 ± 0,06 mm, quando 87,7% deles tinham entre 1,11 e 1,30 mm. Até 180 min PF ocorreu aumento do espaço perivitelino e o diâmetro dos ovos chegou a 3,81 ± 0,40 mm. A penetração dos espermatozóides na micrópila e formação de cones de proteção ocorreram entre 10 e 30 segundos após a ativação dos gametas e a embriogênese foi concluída 13 h PF. No momento da eclosão as larvas possuiam 3,45 ± 0,38 mm de comprimento padrão, o volume do saco vitelino foi de 0,54± 0,17 µL e sua reabsorção total ocorreu 53 horas após a eclosão (PE). A maior eficiência de consumo de vitelo ocorreu entre 33 e 47 h PE. Com 25 h PE primórdios de dentes foram visualizados na boca conectada ao tubo retilíneo aberto com lume revestido por epitélio simples cilíndrico. Com 243 h PE o trato digestório estava dividido em cavidade bucofaríngea e esôfago revestidos por epitélio estratificado pavimentoso, estômago em forma de U com camada simples de células cilíndricas no lume e glândulas tubulares na região cárdica, e intestino médio com inúmeros cecos pilóricos na região proximal, dividido do intestino posterior por septo retal. O epitélio destes dois últimos segmentos era similar ao do estômago, diferenciando-se na quantidade e distribuição de células claras em seu interior. Ao mesmo tempo botões gustativos foram visualizados na superfície dos lábios, língua e teto da cavidade bucofaríngea. Com 339 h PE registrou-se a formação de escamas na região anterior do tronco e raios estavam formados nas nadadeiras caudal, dorsal, anal e pélvicas, quando apenas a nadadeira peitoral possuía inserção membranosa. Com 579 h PE os indivíduos eram juvenis, medindo 41,14 ± 9,67 mm de comprimento padrão. Estruturas envolvidas na habilidade natatória e captura de alimento estavam formadas, escamas recobriam completamente o tronco e dentes de vários formatos estavam distribuídos na pré-maxila, maxila e dentário. As principais alterações no padrão de crescimento alométrico ocorreram no estágio de flexão, quando o diâmetro do olho cresceu mais que o comprimento da cabeça, que por sua vez teve maior incremento que o comprimento padrão, indicando desenvolvimento de estruturas cefálicas relacionadas à captura de alimento e respiração. Também no estágio de flexão e em pós-flexão, a altura do corpo cresceu rapidamente, diretamente influenciada pelo enovelamento do intestino e desenvolvimento de estruturas relacionadas à locomoção. Com base nos dados apresentados, é possível visualizar a escassez de reservas endógenas precedendoo total desenvolvimento do trato digestório e da habilidade natatória, identificando momentos de limitações morfológicas relacionados à alocação de recursos alimentares, habilidade natatória e adaptação ao ambiente, informações estas imprescindíveis para o desenvolvimento de planos de manejo, exploração racional e adequação de técnicas de cultivo desta espécie.

Palavras-chave: *Brycon amazonicus*, ontogenia, morfologia, trato digestório, alometria.

NEUMANN, Erika. **Early development of jatuarana, *Brycon amazonicus* (Teleostei, Characidae).** 2008. Thesis (Doctor Degree in Aquaculture). UNESP - São Paulo State University: Jaboticabal, SP, Brazil.

ABSTRACT

The present work aimed to describe the early phases of the life cycle of *Brycon amazonicus*. Methods included the analysis of fertilization and early development by scanning electron microscopy (SEM), light microscopy (LM) and the analysis of the variations in body morphometry. The period from gametes extrusion and 76 hours after fertilization (AF) was assessed in laboratory with a water temperature of 27.98 ± 0.81 ºC. From 76 hours AF to 25 days old the larval assessment was performed in fishery with a water temperature of 30.30 ± 1.98 ºC. The oocytes diameter at extrusion was 1.21 ± 0.06 mm, when 87.7% of them measured between 1.11.and 1.30 mm. Up to 180 min AF there was an enlargement of the perivitelline space and the oocytes diameter reached 3.81 ± 0.40 mm. The spermatozoa entrance inside micropyle and the formation of protection cones occurred between 10 to 30 seconds after gametes activation and embryogenesis was achieved 13 h AF. At hatching, total larval length was 3.45 ± 0.38 mm; the yolk sac volume was 0.54 ± 0.17 µL and its total reabsorption occurred 53 hours after hatching (AH). The greater consumption efficiency of yolk occurred between 33 to 47 h AH. At 25 h AH rudimentary teeth were observed in the mouth. Mouth was connected to the open linear tube with lumen covered by simple cylindrical epithelium. 243 h AH, digestory tract was divided in bucopharyngeal cavity and esophagus covered by squamous stratified epithelium; stomach had a U shape with a single layer of cylindrical cells at the lumen and tubular glands at cardiac region; midgut showed countless pyloric caeca at the anterior region, separated from hindgut by rectal septum. Midgut and hindgut had an epithelium similar to the stomach, except for the amount and distribution of clear vesicular cells inside it. Simultaneously, gustative buttons were seen on the lips surface, tongue and in the top region of bucopharyngeal cavity. 339 h AH scales were observed in the anterior region of trunk and rays were present in caudal, dorsal, anal and pelvic fins; only the pectoral fin presented a membranous insertion. 579 h AH individuals were juveniles measuring 48.94 ± 10.97 mm total length. Structures related to swimming ability and food capture were formed, scales covered completely the trunk and teeth of several shapes were distributed in pre-maxilla, maxilla and dentarium bones. The main changes in the pattern of allometric growth occurred during the flexion stage, when the eye diameter grew more than the length of the head, which in turn enlarged more than the standard length, indicating the development of cephalic structures related to food capture and breathing. Also in the flexion and post-flexion stages, the body height increased rapidly, directly influenced by the gut winding and the development of structures related to locomotion. Based on the data presented, it is possible to observe the scarcity of endogenous reserve preceding the total development of digestory tract and swimming ability, which characterize moments of morphological limitations related to the allocation of food resources, swimming ability and environmental adaptation. Such informations are essential to the development of management plans, rational exploitation and adequate techniques for the cultivation of this species.

Keywords: *Brycon amazonicus*, ontogeny, morphology, digestory tract, alometry.

Capítulo 1

1. INTRODUÇÃO GERAL

O peixe é um dos recursos naturais mais abundantes da região amazônica, sendo uma das principais fontes de proteína para pessoas de menor poder aquisitivo, principalmente as que moram onde o abastecimento de grandes centros comerciais é inexistente. O estudo deste recurso natural é necessário para fornecer subsídios ao seu manejo e exploração racional (SANTOS et al., 1991).

De acordo com Pereira Filho et al. (1991) e Honczaryk (1995), uma das alternativas para evitar a sobrepesca dos bancos pesqueiros naturais é a criação de peixes em confinamento, que é limitada pela falta de conhecimento sobre a biologia de espécies amazônicas com potencial para cultivo.

O gênero *Brycon* possui mais de 60 espécies de peixes, dentre as quais aproximadamente 40 ocorrem na América Central e América do Sul (HOWES, 1982), difundidas do sul do México até a Argentina e dos rios da costa do Pacífico até a Colômbia, Equador e Peru, com o seu potencial para aqüicultura sendo enfatizado a mais de duas décadas (LIMA e CASTRO, 2000).

Os peixes da subfamília Bryconinae (Characiformes, Characidae) possuem hábitos alimentares herbívoros ou onívoros, são de porte médio a grande e caracterizam-se pela presença de três séries de dentes no pré-maxilar, duas no dentário e uma no maxilar, o qual apresenta dentes em toda sua extensão. A linha lateral ocorre abaixo do meio do flanco. A nadadeira anal é longa e a caudal bifurcada (BRITSKI et al., 1999).

Vários grupos de pesquisa têm intensificado estudos visando a viabilização dos peixes do gênero *Brycon* não só na piscicultura, mas também no repovoamento de regiões onde estejam ameaçados de extinção, por causa do desmatamento ciliar, da construção de barragens e poluição dos rios (OLIVEIRA et al., 2004).

Segundo Rapp-Py-Daniel e Leão (1991), devido a imensidão da região amazônica, inúmeros rios ainda não foram adequadamente amostrados e parte da ictiofauna pode não estar descrita. Araújo-Lima e Ruffino (2004) afirmam haver oito espécies de *Brycon* descritas na bacia Amazônica, reconhecendo que há muitas controvérsias quanto à sua taxonomia e que existem espécies ainda não identificadas.

A espécie do gênero *Brycon* deste estudo é proveniente do rio Guaporé, sendo conhecida pelas comunidades ribeirinhas como "jatuarana", e classificada taxonomicamente como *Brycon amazonicus* Spix & Agassiz, 1829 (LIMA, 2007[1])

O rio Guaporé nasce no estado de Mato Grosso, na Chapada dos Parecis. Penetra na planície amazônica e atinge a margem direita do rio Mármore, no estado de Rondônia. O rio Mármore é um dos formadores do rio Madeira, sendo este último um dos mais importantes afluentes do rio Amazonas (MINISTÉRIO DOS TRANSPORTES, 2004).

A "jatuarana" proveniente do rio Guaporé é um *Brycon* de coloração levemente dourada nos flancos e escura no dorso, que é largo e abaulado. Segundo Feitosa (2004), pode medir até 1 metro e chegar a 8 quilos, sendo encontrada principalmente em lagos formados logo abaixo de cachoeiras e saltando espetacularmente fora da água quando fisgada. Dados da Federação da Agricultura e Pecuária do Estado de Mato Grosso – FAMATO (2004) indicam que, quando cultivada, pode atingir até 2 quilos com um ano de idade.

Um dos entraves para a produção de peixes nativos é a falta de conhecimento sobre suas formas iniciais de desenvolvimento. Segundo Nakatani et al. (2001), larvas de peixes se apresentam como organismos distintos dos adultos em relação às necessidades ecológicas e na alocação de recursos.

O processo embrionário inicia-se com a fecundação do óvulo pelo espermatozóide via micrópila, e concentra-se basicamente na reorganização dos elementos do ovo. Para ser compreendido deve ser combinado com estudos da topologia dos ovos fertilizados (DEPÊCHE e BILLARD, 1994).

A fase larval em peixes pode durar de alguns dias a anos. Durante esse período as larvas podem duplicar seu comprimento e aumentar o peso em até 100 vezes. Ocorre diferenciação progressiva de caracteres adultos, passando por um processo de transformação até o período juvenil, quando se torna igual ao adulto (KENDALL et al., 1983; NAKATANI et al., 2001). O período embrionário e o grau de diferenciação da larva recém eclodida dependem, entre outros fatores, da espécie e do tamanho do ovo (BLAXTER, 1969; WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1983; DEPÊCHE e BILLARD, 1994; BONISLAWSKA et al., 2000).

A maioria das larvas de peixes recém eclodidas não possui boca, intestino, ânus, brânquias, vesícula gasosa, nadadeiras pares, pigmentação e acuidade visual (BLAXTER,

[1] LIMA, F.C.T. **Comunicação pessoal,** 2006. (Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP) - Autor do capítulo de livro: Characidae – Bryconinae (Characins, tetras).. In: REIS, R.E.; KULLANDER, S.O.; FERRARIS, Jr. C.J. (eds.). *Checklist of the freshwater fishes of South and Central America.* Porto Alegre: EDIPU, Brazil. 2003. p. 174-181

1969; WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1983). O tempo de desenvolvimento destes sistemas segue padrões ontogenéticos de cada espécie e determina o momento em que os peixes irão adquirir a capacidade natatória, de fuga e de captura de seu próprio alimento (NEUMANN, 2004).

O tamanho do saco vitelino e tempo de absorção do vitelo também são espécie-específicos. Larvas com maior quantidade de reservas endógenas dispõem de um período mais longo para se adaptar a captura de alimentos externos enquanto são sustentadas pelas reservas do saco vitelino (BLAXTER, 1969; WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1983; BONISLAWSKA et al., 2000; GISBERT et al., 2000).

A descrição dos eventos ontogenéticos e sua cronologia são indispensáveis para o esclarecimento sobre as necessidades tróficas e de habitat dos peixes durante as fases iniciais, sendo também indispensável para a compreensão das causas de altas taxas de mortalidade em alguns momentos do desenvolvimento embrionário e larval. O acompanhamento das transformações no início do ciclo de vida, em condições controladas e utilizando técnicas de reprodução artificial, permite o monitoramento de cada alteração morfológica ocorrida.

Entre as alterações morfológicas que mais influenciam na sobrevivência e crescimento dos peixes durante o início do ciclo de vida, está a formação do sistema digestório, que passa por profundas mudanças em sua estrutura e função, determinando alterações no hábito alimentar e no processo de digestão e assimilação de nutrientes. Segundo Mangetti (2006), para o sucesso da criação racional de uma espécie de peixe é essencial o conhecimento de seus hábitos alimentares e das características morfológicas do sistema digestório, em especial durante seu desenvolvimento inicial.

Mudanças estruturais do tubo digestório, desenvolvimento muscular e de nadadeiras (capacidade natatória), desenvolvimento da acuidade visual (tamanho e pigmentação do olho), entre outras, provocam alterações no padrão de crescimento alométrico entre variáveis corporais lineares em determinados estágios de desenvolvimento inicial dos peixes (NEUMANN, 2004).

Uma das conseqüências da metamorfose em peixes é a alteração nas proporções lineares em relação à área e volume do corpo, sendo a forma de um organismo o resultado da integração entre diversas respostas alométricas durante o desenvolvimento (PERES-NETO, 1995). Evidências quantitativas dessas transformações são observadas na variação progressiva das proporções morfométricas corporais (FUIMAN, 1983)

De acordo com Ricker (1979), devido ao fato do padrão de crescimento em peixes mudar rapidamente no início do ciclo de vida, este deve ser mensurado em curtos intervalos

de tempo. Ehlinger (1991) afirma que o desafio funcional é, na maioria das vezes, a discriminação morfométrica do crescimento, que quando combinada com a descrição de variações morfológicas, aumenta a probabilidade de observar transformações correlacionadas que levam às diferenças entre jovens e adultos.

Estudos sobre larvas de peixes são necessários na compreensão do papel biológico dos caracteres larvais para a sobrevivência, principalmente de mecanismos funcionais relacionados a requerimentos vitais, como locomoção, alimentação e respiração (OSSE, 1990).

1.1. Desenvolvimento inicial

O ciclo de vida dos peixes é dividido em diferentes períodos. O período embrionário inicia-se com a fecundação do ovócito pelo espermatozóide via micrópila, e concentra-se basicamente na reorganização dos elementos do ovo (DEPÊCHE e BILLARD, 1994).

Os principais momentos do período embrionário dividem-se em: a) ovo recém fertilizado – período entre fecundação e diferenciação do pólo animal, representado pelo blastodisco sobre o pólo vegetativo, no qual se localiza o vitelo; b) segmentação – caracterizada por sucessivas clivagens do blastodisco, originando os blastômeros; c) blastulação – quando blastodisco apresenta-se estratificado, com pequenas cavidades entre os blastômeros e presença de lâmina sincicial perivitelina; d) gastrulação – quando as células do blastodisco movimentam-se e separam-se em epiblasto e hipoblasto, com o epiblasto e a lâmina sincicial perivitelina expandindo-se sobre o vitelo até o fechamento do blastóporo, que marca a extremidade caudal do embrião (NAKATANI et al., 2001); e) organogênese – desde o aparecimento dos primeiros somitos (que podem surgir já na gastrulação tardia) até a eclosão, com formação dos esboços dos órgãos das larvas (RIBEIRO et al., 1995).

O período larval pode durar de dias a anos. Durante esse período características de peixes adultos vão gradualmente se desenvolvendo, ocorrendo um processo de transformação até o período juvenil (NAKATANI et al., 2001). O período juvenil é caracterizado quando os espécimes se parecem com pequenos adultos, com todos os raios de nadadeiras e escamas formados, esqueleto completamente ossificado, padrão de pigmentação e forma do corpo similar ao do adulto (KENDALL et al., 1983).

Ao nascer as larvas de peixes possuem baixa capacidade natatória, se nutrem de vitelo e seus sistemas sensorial, circulatório, muscular e digestório estão incompletos. Algumas características como padrão de pigmentação, tamanho e forma do corpo, e número de miômeros refletem sua herança genética. Durante o desenvolvimento, as larvas adquirem caracteres transitórios que são aparentemente adaptações para a fase em que se encontram

(KENDALL et al., 1983). Um rápido desenvolvimento de estruturas relacionadas à natação, aos sistemas digestório e respiratório é esperado (OSSE, 1990; VAN SNIK et al., 1997). Na maioria das espécies as transformações são graduais e o contínuo processo de adaptação tem importante significado no ciclo de vida.

O estudo do desenvolvimento inicial dos peixes pode ter várias perspectivas, como tempo de embriogênese e ontogenia, morfologia funcional de estruturas, descrição taxonômica e sistemática, investigação da ecologia, e monitoramento de estoques. Todos estes estudos têm em comum a subdivisão dos estágios iniciais do ciclo de vida e comunicação de informações baseadas em eventos momentâneos, sendo de vital importância o uso de termos que definam claramente cda momento (KENDALL et al., 1983).

O período larval foi dividido por Kendall et al. (1983) em estágios de desenvolvimento, denominados larval vitelino, pré-flexão, flexão e pós-flexão, baseados em estruturas morfológicas comuns a determinados momentos e com significância morfológica e funcional no ciclo de vida dos peixes.

O tempo de desenvolvimento e tamanho dos peixes em cada estágio depende de influências ambientais, como alimento e temperatura, mas é principalmente determinado genéticamente, sendo espécie-específico (KENDALL et al., 1983; FUIMAN et al., 1998). Segundo Kendall et al. (1983), o desenvolvimento de estruturas envolvidas na natação e alimentação precisam ser estudados, assim como a convergência de caracteres que aparentemente possuem funcionalidade importante na sobrevivência das larvas.

Em relação ao desenvolvimento inicial de peixes do gênero *Brycon*, os principais estudos descrevem a morfologia de ovócitos de *Brycon orbignyanus* (GANECO e NAKAGHI, 2003) e fases do desenvolvimento embrionário e larval de *Brycon cephalus* (LOPES et al., 1995; ROMAGOSA et al., 2001, VASQUES, 2003), de *Brycon orbignyanus* (NAKATANI et al., 2001; GANECO, 2003, REYNALTE-TATAJE et al., 2004, MACIEL, 2006), de *Brycon insignis* (ANDRADE-TALMELLI et al., 2001) e de *Brycon orthotaenia* (SAMPAIO, 2006).

1.2. Trato digestório

A observação da anatomia do trato digestório em peixes permite obter informações fundamentais sobre seus hábitos alimentares. Zavala-Camin (1996) sugere que um exame atento oferece uma boa estimativa do alimento preferido e pode orientar estudos sobre sua alimentação. Segundo este autor, o trato digestório em peixes está constituído de boca, cavidade bucofaríngea, esôfago, estômago e intestino. A boca corresponde à abertura anterior

da cavidade bucofaríngea, incluindo os lábios. A cavidade bucofaríngea envolve o espaço interno da boca e região internamente delimitada pelos arcos branquiais, sendo responsável pela retenção e manipulação do alimento, havendo relação direta da morfologia, tamanho e disposição dos rastros branquiais com o hábito alimentar. Nas paredes da cavidade bucofaríngea encontram-se presentes grande quantidade de terminações nervosas da gustação e glândulas secretoras de muco.

Em peixes o padrão de distribuição dos botões gustativos varia entre as espécies, podendo ser encontrados na cavidade bucofaríngea, na superfície de nadadeiras, lábios, cabeça e sobre todo o corpo (MATSUOKA, 2001) e a presença destas estruturas na cavidade bucofaríngea responde pela percepção da palatabilidade do alimento apreendido antes da ingestão, permitindo aos peixes escolher o alimento preferido entre os itens alimentares oferecidos (MATSUOKA, 2001; KAWAMURA et al., 2003; CESTAROLLI, 2005).

Zavala-Camin (1996) e Rodrigues et al. (2006) concordam que a posição, formato e tamanho da boca dos peixes estão intimamente relacionados ao hábito alimentar e, em especial, à forma de apreensão do alimento. Rodrigues et al. (2006) afirmam que a boca, a cavidade oral e a faringe estão associadas com a captura, orientação e preparação pré-digestiva do alimento, sugerindo também que lábios espessos contribuem na preensão do alimento, assim como os dentes orais, que nas espécies onívoras servem para preparação pré-digestiva do material alimentar de origem vegetal, e para captura e preensão do alimento de origem animal, enquanto os dentes faringeanos auxiliam na preensão e maceração de organismos de corpo mole.

Quanto ao esôfago, segundo Zavala-Camim (1996), nos peixes geralmente ele é um órgão tubular que serve de passagem entre a cavidade bucofaríngea e o estômago, com o ducto peneumático da vesícula gasosa se abrindo no esôfago das espécies fisóstomas. O estômago na maioria dos peixes é uma dilatação onde os alimentos são mantidos o tempo necessário para realizar a digestão ácida, com a sua mucosa interna formando sulcos longitudinas e sinuosos que desaparecem quando o órgão está cheio, com este segmento podendo ser reto, ou ter forma de “U” ou “Y”, estando ausente em algumas espécies, dependendo do hábito alimentar da espécie.

O intestino em peixes é um órgão geralmente tubular por onde transita o alimento e no qual ocorre a digestão alcalina e a absorção de nutrientes, podendo apresentar formas variadas, como tubular, de válvula em espiral, de anéis sobrepostos e de lâmina enrolada, podendo também apresentar pregas na mucosa com função de ampliar a superfície de absorção. No final do intestino diferencia-se o reto, que pode estar separado por válvula e é

facilmente reconhecido por ter camada muscular espessa próxima ao ânus. Alguns peixes portadores de estômago bem desenvolvido podem possuir cecos pilóricos em seu intestino, que são formações tubulares com fundo cego e abertura geralmente situada na região pilórica do intestino, com estrutura histológica semelhante ao órgão de origem e provável função de aumentar o pH do bolo alimentar para torná-lo alcalino e acelerar sua assimilação (ZAVALA-CAMIN, 1996).

Entre as terminologias utilizadas para o trato digestório em peixes, uma das mais referidas é a de Bértin (1958), que denominou: a) intestino cefálico, correspondendo à boca e cavidade bucofaríngea; b) intestino anterior, que equivale ao esôfago e estômago (se presente); c) intestino médio, que é o segmento após o estômago, podendo ser delimitado posteriormente por uma válvula retal; d) intestino posterior, que inclui o reto (quando presente) e o ânus. Esta terminologia é aplicável à morfologia do trato digestório de adultos, porém larvas de peixes, em algumas fases do desenvolvimento, não possuem segmentos definidos no trato digestório.

Segundo Zavala-Camim (1996) diferenças na morfologia do trato digestório ocorrem não só entre espécies de peixes, mas também entre formas inciais de vida e adultos. O autor afirma que larvas geralmente apresentam em comum trato digestório rudimentar, em forma de tubo simples, passando por transformações para atingir as caracterísitcas da forma adulta.

Durante o desenvolvimento inicial em peixes, o comprimento e a complexidade do trato digestório vão se caracterizando de acordo com a espécie e seu hábito alimentar. Quanto mais profunda for a mudança de hábito alimentar da espécie, maior será a variação nas características do trato digestório, com sua capacidade funcional estando possivelmente relacionada às características do epitélio de revestimento (MANGETTI, 2006).

Transformações na morfologia do tubo digestório permitem sugerir mudanças de habitat e hábito alimentar entre estágios de desenvolvimento larval (CAVICCHIOLI e LEONHARDT, 1993; CASSEMIRO et al., 2008).

Von-Herbing (2001) afirma que a seqüência e tempo do desenvolvimento de estruturas relacionadas a alimentação está mais relacionada com a necessidade alimentar específica nas larvas de peixes do que a idade. No início da fase larval as estruturas são similares em número e tipo e são necessárias para a primeira alimentação de qualquer espécie. Em estágios posteriores, ocorre significante diferença entre as espécies quanto ao tempo de desenvolvimento das estruturas. Estas diferenças expressam a história de adaptação das larvas, bem como diferenças de habitat e de ecologia alimentar dos juvenis.

A disponibilidade de itens alimentares adequados é de extrema importância para a sobrevivência de larvas de peixes durante as fases iniciais da alimentação exógena. Neste sentido, o conhecimento acerca do tamanho no qual ocorre a absorção de vitelo e início da alimentação exógena pode subsidiar o oferecimento de alimento compatível com o desenvolvimento larval, reduzindo assim sua mortalidade nesta fase, uma vez satisfeitos outras necessidades ambientais da espécie (SOUSA e SEVERI, 2000).

Em relação à alimentação, Cestarolli (2005) afirma que 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 de 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 ambientais.

Estudos sobre mudanças ontogenéticas no trato digestório de peixes do gênero *Brycon* foram feitos em *Brycon guatemalensis*, com descrição da ação de enzimas digestivas durante o desenvolvimento inicial (DREWE et al., 2004), com *Brycon moorei*, onde foi descrita a formação das estruturas ósseas da cabeça, incluindo o desenvolvimento de dentes (VANDERWALLE et al., 2005), e com *Brycon orbignyanus*, pela descrição histológica do sistema digestório (MACIEL, 2006). Em adultos do gênero *Brycon* destaca-se a avaliação da anatomia funcional e morfométrica dos intestinos e cecos pilóricos de *Brycon orbignyanus* (SEIXA-FILHO et al., 2000).

1.3. Quantificação do crescimento

De acordo com Peres-Neto (1995), foi Galileu (séc. XVI) o primeiro a observar a importância das alterações proporcionais diferenciadas em organismos vivos, percebendo que, por exemplo, à medida que uma árvore cresce suas proporções não podem continuar as mesmas, uma vez que sua estrutura se tornaria muito pesada para seu próprio sustento.

O estudo da forma e relação com tamanho dos indivíduos é denominado *morfometria*, sendo utilizado para mensurar diferenças existentes entre espécies ou entre fases de desenvolvimento de uma mesma espécie, contribuindo na caracterização de aspectos alimentares e de habitat, e criando referências para comparações (PERES-NETO, 1995).

Por definição, larvas de peixes são diferentes na forma em relação aos adultos, e assumem a forma adulta geralmente em um curto intervalo de tempo. Para atingir a forma adulta, o crescimento é intenso e, na maioria dos casos, não uniformemente distribuído entre partes do corpo (FUIMAN, 1983) e estas modificações nas proporções entre partes do sistema

orgânico servem para manter sua equivalência funcional ao longo do crescimento (PERES-NETO, 1995).

Evidências quantitativas do desenvolvimento diferenciado entre relações corporais são vistas na variação progressiva das proporções morfométricas que ocorrem com o crescimento (FUIMAN, 1983). Esta alteração nas proporções ao longo do ciclo de vida denomina-se *alometria*, sendo a forma de um organismo o resultado da integração entre diversas respostas alométricas durante a ontogenia. Por esse motivo, a diferença entre formas não deve ser estudada através de análise estática, sendo necessário conhecer a origem das diferenças durante o processo de desenvolvimento (PERES-NETO, 1995).

O aumento da complexidade morfológica e fisiológica é quantificado linearmente em larvas de peixes, baseado na idade, tamanho e história termal, com estudos comparativos da dinâmica morfológica, fisiológica e comportamental realizados por meio da descrição métrica do estado ontogenético em indivíduos (FUIMAN et al., 1998). Segundo Cavicchioli et al. (1997), a maioria dos estudos morfométricos em larvas é baseada em análises bivariadas de medidas lineares.

Fuiman et al. (1998) observaram que eventos ontogenéticos aceleram em temperaturas mais altas, estando mais relacionadas ao tamanho do que a idade dos peixes. Os autores recomendam que estudos descritivos do desenvolvimento, onde sejam comparados estágios de vida, utilizem a transformação em log do comprimento como um dado primário de ontogenia, a fim de facilitar comparações com outros estudos inter ou intra-específicos.

Trabalhos sobre a descrição morfométrica de peixes do gênero *Brycon,* resumem-se a descrição de adultos de *Brycon cephalus*, a fim de esclarecer dúvidas taxonômicas (ZANIBONI FILHO et al., 1988), a descrição sistemática e merística, voltada a identificação de ovos e larvas de *Brycon orbignyanus* (NAKATANI et al., 2001), e o estudo morfométrico de larvas de *Brycon orbignyanus* (MACIEL, 2006).

A caracterização de aspectos morfológicos e suas alterações ao longo do desenvolvimento fornecem informações relevantes acerca da biologia e ecologia das espécies, constituindo conhecimento imprescindível ao estudo da biologia pesqueira e do cultivo das mesmas (SOUSA e SEVERI, 2000).

Um estudo qualitativo e quantitativo do desenvolvimento de *Brycon amazonicus*, contribuiu para o conhecimento dos estágios iniciais do ciclo de vida deste peixe, trazendo informações sobre a morfologia funcional das formas iniciais, relevantes ao cultivo e ao entendimento das necessidades ecológicas da espécie.

O objetivo deste trabalho foi descrever a cronologia dos principais eventos morfológicos observados durante o desenvolvimento inicial de jatuarana, *Brycon amazonicus*, com ênfase na diferenciação de estruturas relacionadas à alimentação e na quantificação do crescimento durante sua ontogenia.

2. REFERÊNCIAS

ANDRADE-TALMELLI, E. F.; KAVAMOTO, E. T.; ROMAGOSA, E.; FENERICH-VERANI, N. Embryonic and larval development of the "piabanha", *Brycon insignis* Steindachner, 1876 (Pisces, Characidae). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 21-27. 2001.

ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M.; RUFFINO, M. L. Migratory fishes of the brazilian Amazon. In: CAROLSFIELD, J.; HARVEY, B.; ROSS, C.; BAER, A. (eds.). **Migratory fishes of the South America.** Victoria, Canada: World Fisheries Trust/Banco Mundial. 2004. p. 233-301.

BÉRTIN, L. Appareil digestif. In: GRASSÉ, P. P. (Ed.). **Traité de zoologie**. Paris: Masson, v. 13, p. 1249-1301. 1958.

BLAXTER, J. H. S. Development: eggs and larvae. In: HOAR, W. S.; RANDALL, D. J. (eds.). **Fish Physiology**. New York: Academic Press, 1969. v. III, p. 178-252.

BONISLAWSKA, M.; FORMICKI, K.; WINNICKI A. Size of eggs and duration of embryogenesis in fishes. **Acta Ichthyologica et Piscatoria**, Szczecin, Polônia, v. 30, n. 1, p.61-71. 2000.

BRITSKI, H. A.; SILIMON, K. S. S.; LOPES, B. S. **Peixes do Pantanal: Manual de Identificação.** Brasília: EMBRAPA – SPI, 1999. 184 p.

CAVICCHIOLI, M.; NAKATANI, K.; SHIBATTA, O. A. Morphometric variation of larvae and juveniles of the piranhas *Serrasalmus spilopleura* and *S. marginatus* (Characidae: Serrasalminae) of the Paraná basin, Brazil. **Ichthyological Exploration in Freshwater**, München, v. 8, n. 2, p. 97-106. 1997.

CASSEMIRO, F. A. S.; RANGEL, T. F. L. V. B.; PELICICE, F. M.; HAHN, N. S. Allometric and ontogenetic patterns related to feeding of a neotropical fish, *Satanoperca pappaterra* (Perciformes, Cichlidae). **Ecology of Freshwater Fish**, Malaysia, v. 17, p. 155-164. 2008.

CAVICCHIOLI, M.; LEONHARRDT, J. H. Estudo do desenvolvimento morfológico de larvas de curimatá, *Prochilodus scrofa* (Steindachner, 1882), obtidas de reprodução induzida. **UNIMAR**, Maringá, v. 15 (suplemento), p. 109-124. 1993.

CESTAROLLI, M. A. **Larvicultura de pintado *Pseudoplatystoma coruscans* (Agassiz, 1829): aspectos da alimentação inicial e do desenvolvimento de estruturas sensoriais.** 2005. 110 p. Tese (Doutorado em Aqüicultura). Universidade Estadual Paulista – UNESP: Jaboticabal, 2005.

DEPÊCHE, J.; BILLARD, R. **Embryology in fish: a review.** Paris: Société Française d'Ichtyologie. 1994. 123 p.

DREWE, K. E.; HORN, M. H.; DICKSON, K. A.; GAWLICKA, A. Insectivore to frugivore: ontogenetic changes in gut morphology and digestive enzyme activity in the characid fish *Brycon guatemalis* from Costa Rican rain forest streams. **Journal of Fish Biology**, London, v. 64, p. 890-902. 2004.

EHLINGER, T. J. Allometry and analysis of morphometric variation in the bluegill, *Lepomis macrochirus*. **Copeia,** Arizona, v. 2, p. 347-357. 1991.

FAMATO – **Federação da Agricultura e Pecuária do Estado de Mato Grosso.** Disponível em: <www.famato.org.br>. Acesso em: 6 set. 2004.

FEITOSA, W. **Amazônia.** Disponível em: <www.pesca.outdoortravel.com.br>. Acesso em: 6 set. 2004.

FUIMAN, L. A. Growth gradients in fish larvae. **Journal of Fish Biology**, London, v. 23, p. 117-123. 1983.

FUIMAN, L. A.; POLING, K. R.; HIGGS, D. M. Quantifying developmental progress for comparative studies of larval fishes. **Copeia**, Arizona, v. 3, p. 602-611. 1998.

GANECO. L. N. **Análise dos ovos de piracanjuba, *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849), durante o desenvolvimento embrionário, sob condições de reprodução induzida.** 2003. 66 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura). Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista - UNESP: Jaboticabal, 2003.

GANECO, L. N.; NAKAGHI, L. S. O. Morfologia da micrópila e da superfície dos ovócitos de piracanjuba, *Brycon orbignyanus* (Osteichthyes, Characidae), sob microscopia eletrônica de varredura. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 25, n. 1, p. 227-231. 2003.

GISBERT, E.; WILLIOT, P.; CASTELLÓ-ORVAY, F. Influence of egg size on growth and survival to early stages of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) under small scale hatchery conditions. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 183, p. 83-94. 2000.

HONCZARYK, A. A reprodução de peixes em cativeiro. In: VAL, A. L.; HONCZARYK, A. **Criando peixes na Amazônia.** Manaus: INPA, 1995. p. 97-120.

HOWES, G. Review of the genus Brycon (Teleostei, Characoidei). **Bulletin of the British Museum Natural History (Zoology)**, London, v. 43, n. 1, p. 1–47. 1982.

KAWAMURA, G.; MASUMA, S.; TEZUKA, N.; KOISO, M.; JINBO, T.; NAMBA, K. Morphogenesis of sense organs in the bluefin tuna *Thunnus orientalis*. **The Big Fish Bang**, Proceedings of the 26th Annual Larval Conference, Bergen (Norway), p. 123-135, 2003.

KENDALL, Jr., A. W.; AHLSTROM, E. H.; MOSER, H. G. Early life history stages of fishes and their characters. In: MOSER, H. G; RICHARDS, W. J.; COHEN, D. M.; FAHAY, M. P.; KENDALL, Jr., A. W.; RICHARDSON, S. L. (Ed.). **Ontogeny and systematic of fishes**: based on the International Symposium dedicated to the memory of Elbert Halvor Ahlstron. Lawrence: American Society of Ichthyologists and Herpetologists, c1983. p. 11-22.

LIMA, F. C. T; CASTRO, R. M. C. *Brycon vermelha*, a new species of characid fish from the Rio Mucuri, a coastal river of eastern Brazil (Ostariophysi: Characiformes). **Ichthyological Exploration in Freshwater**, Cornol, Suíça, v. 11, p. 155-162. 2000.

LOPES, R. N. M.; SENHORINI, J. A.; SOARES, M. C. F. Desenvolvimento embrionário e larval do matrinxã *Brycon cephalus* Günther, 1869, (Pisces, Characidae). **Boletim Técnico do CEPTA**, Pirassununga, v. 8, p. 25-39. 1995.

MACIEL, C. M. R. R. **Ontogenia de larvas de piracanjuba, *Brycon orbignyanus* Valenciennes (1849) (Charciformes, Characidae, Bryconinae)**. 2006. 229 p. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Federal de Viçosa: Viçosa, 2006.

MANGETTI, A., J. **Desenvolvimento histomorfológico do trato digestório de larvas de pintado *Pseudoplatystoma coruscans* Agassiz, 1829.** 2006. 94p. Dissertação (Mestrado em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo – USP: São Paulo. 2006.

MATSUOKA, M. Development of sense organs in the Japanese sardine *Sardinops melanostictus*. **Fisheries Science**, Tokyo, v. 67, p. 1036-1045. 2001

MINISTÉRIO DOS TRANSPORTES. **Informações detalhadas sobre o rio Guaporé.** Disponível em: http://www.transportes.gov.br/bit/hidro/detrioguapore.htm> Acesso em: 06 set. 2004.

NAKATANI, K.; AGOSTINHO, A. A.; BAUMGARTNER, G.; BIALETZKI, A.; SANCHES, P. V.; CAVICCHIOLI, M. **Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação.** Maringá: EDUEM/Nupélia, 2001, 359p.

NEUMANN, E. **Características do desenvolvimento de duas linhagens de tilápia *Oreochromis niloticus* e uma linhagem híbrida de *Oreochromis* sp.** 2004. 65 p. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura). Centro de Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista – UNESP: Jaboticabal. 2004.

OLIVEIRA, A. M. B. M. S.; CONTE, L.; CYRINO, J. E. P. Produção de Characiformes autóctones. In CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C.; FRACALOSSI, D. M.; CASTAGNOLLI, N. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce.** São Paulo: TecArt. 533p. 2004.

OSSE, J. W. M. Form changes in fish larvae in relation to changing demands of function. **Journal of Zoology (Netherlands)**, v. 40, n. 1-2, p. 362-385. 1990.

PEREIRA FILHO, M.; GUIMARÃES, S. F.; STORTI FILHO, A.; GRAEF, E. W. Piscicultura na Amazônia brasileira: entraves ao seu desenvolvimento. In: VAL, A. L.; FIGLIUOLO, R.; FELDBERG, E. **Bases científicas para estratégias de preservação e desenvolvimento da Amazônia: fatos e perspectivas.** Manaus: INPA. V. 1, p. 373-380. 1991.

PERES-NETO, P. R. Introdução a análises morfométricas. In: PERES-NETO, P. R.; VALENTIN, J. L.; FERNANDEZ, F. A. S. **Tópicos em tratamentos de dados biológicos.** Rio de Janeiro: Oecologia Brasiliensis,. v. 2, p. 57-89. 1995.

RAPP-PY-DANIEL, L. H.; LEÃO, E. L. M. A coleção de peixes do INPA: base do conhecimento científico sobre a ictiofauna amazônicagerado pelo Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. In: VAL, A. L.; FIGLIUOLO, R.; FELDBERG, E. **Bases científicas para estratégias de preservação e desenvolvimento da Amazônia: fatos e perspectivas.** Manaus: INPA. V. 1, p. 299-312. 1991.

REYNALTE-TATAJE, D.; ZANIBONI-FILHO, E.; ESQUIVEL, J. R. Embryonic and larvae development of piracanjuba, *Brycon orbignyanus* Valenciennes, 1849 (Pisces, Characidae). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 26, n. 1, p. 67-71. 2004.

RIBEIRO, C. R.; SANTOS, H. S. L.; BOLZAN, A. A. Estudo comparativo da embriogênese de peixes ósseos (pacu, *Piaractus mesopotamicus*; tambaqui, *Colossoma macropomum* e o híbrido tambacu). **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, v. 55 (suplemento 1), p. 65-78. 1995.

RICKER, W. E. Growth rates and models. In: HOAR, W. S.; RANDALL, D. J.; BRETT, J. R. (eds). **Fish Physiology, Bioenergetics and Growth.** New York: Academic Press, 1979. v. III,. 786 p.

RODRIGUES, S. S.; NAVARRO, R. D.; MENIN, E. Adaptações anatômicas da cavidade bucofaringeana de *Leporinus macrocephalus* Garavello & Britski, 1988 (Pisces, Characiformes, Anostomidae) em relação ao hábito alimentar. **Biotemas**, Florianópolis, v. 19, n. 1, p. 51-58. 2006.

ROMAGOSA, E.; NARAHARA, M. Y.; FENERICH-VERANI, N. Stages of embryonic development of the "matrinxã", *Brycon cephalus* (Pisces, Characidae). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 29-32. 2001.

SAMPAIO, K. H. **Superfície ovocitária e desenvolvimento inicial de quatro espécies de peixes de interesse comercial da bacia do rio São Francisco.** 2006. 53 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular). Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais: Belo Horizonte, 2006.

SANTOS, G. M. dos; FERREIRA, E. J. G.; ZUANON, J. A. S. Ecologia de peixes da Amazônia. In: VAL, A. L.; FIGLIUOLO, R.; FELDBERG, E. **Bases científicas para estratégias de preservação e desenvolvimento da Amazônia: fatos e perspectivas.** Manaus: INPA. V. 1, p. 263-280. 1991.

SEIXA-FILHO, J. T.; BRÁS, J. M.; GOMIDE, A. T. M.; OLIVEIRA, M. G. A.; DONZELE, J. L.; MENIN, E. Anatomia funcional e morfometria dos intestinos e dos cecos pilóricos do Teleostei (Pisces) de água doce *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 2, p. 313-324. 2000.

SOUSA, W. T. Z.; SEVERI, W. Desenvolvimento larval inicial *de Helostoma temminckii* Cuvier & Valenciennes (Helostomatidae, Perciformes). **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 17, n. 3, p. 637-644. 2000.

VAN SNIK, G. M. J.; VAN DEN BOOGAART, J. G. M.; OSSE, J. W. M.. Larval growth patterns in *Cyprinus carpio* and *Clarias gariepinus* with attention to the finfold. **Journal of Fish Biology**, London, v. 50, p. 1339-1352. 1997.

VANDERWALLE, P.; GERMEAU, G.; BESANCENET, P.; PARMENTIER, E.; BARAS, E. Early development of the head skeleton in *Brycon moorei* (Pisces, Ostariophysi, Characidae). **Journal of Fish Biology**, London, v. 66, p. 996-1024. 2005.

VASQUES, L. H. **Participação do hormônio triiodotironina (T_3) no desenvolvimento inicial de matrinxã (*Brycon cephalus*).** 2003. 146 p. Tese (Doutorado em Aqüicultura). Universidade Estadual Paulista – UNESP: Jaboticabal, 2003.

VON-HERBING, H. Development of feeding structures in larval fish with different life histories: winter flounder and Atlantic cod. **Journal of Fish Biology**, London, v. 59, p. 767–782. 2001.

WOYNAROVICH, E.; HORVÁTH, L. **A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão.** Brasília: FAO/CODEVASF/CNPq. 1983. 225p.

ZANIBONI FILHO, E.; CARVALHO, J. L.; CORREA, M. A. V.; RESENDE, E. K. Caracterização morfológica do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (Teleostei: Characidae). **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, v. 48, n. 1, p. 41-50. 1988.

ZAVALA-CAMIM, L. A. **Introdução ao estudo sobre alimentação natural de peixes.** Maringá: EDUEM, 1996. 129 p.

Capítulo 2 – Momentos da reprodução induzida e do desenvolvimento embrionário de *Brycon amazonicus* (Teleostei, Characidae).

RESUMO

Considerando a importância econômica e ecológica de *Brycon amazonicus*, este trabalho teve por objetivo descrever o diâmetro de ovócitos e ovos da espécie, assim como a cronologia do seu desenvolvimento embrionário em condições controladas. As coletas foram realizadas na Piscicultura Buriti (S 18^{o} 51" - W 56^{o} 11"), em Nova Mutum – MT, em dezembro de 2004. Peixes adultos foram submetidos à reprodução induzida e, posteriormente, amostras de ovócitos e ovos foram obtidas em diferentes momentos, previamente determinados, entre a extrusão e eclosão. A temperatura média da água foi de 28,08 ± 0,36 ^{o}C no período amostrado. O material foi fixado, medido sob estereomicroscópio com ocular micrométrica, com parte das amostras tendo as alterações registradas em câmara clara e enquanto outra parte foi submetida à rotina de microscopia eletrônica de varredura (MEV). No momento da extrusão os ovócitos eram de coloração verde-azulada. Seu diâmetro médio foi aproximado entre as repetições (n = 30), com média de 1,21 ± 0,06 mm. O comprimento das fêmeas submetidas à reprodução artificial variou entre 45 e 52 cm e o volume de ovócitos obtidos por extrusão foi de 130 mL a 270 mL, correspondendo a aproximadamente 10% do peso das fêmeas. A distribuição de freqüência dos ovócitos revelou que 87,7% deles tinham entre 1,11 e 1,30 mm no momento da extrusão. Durante a incubação, o diâmetro total dos ovos passou de 1,22 ± 0,04 mm para 3,06 ± 0,46 mm nos primeiros 60 min após a fertilização (PF), cessando o crescimento 180 min PF. Como o diâmetro da esfera de vitelo e diâmetro do total do ovo eram iguais no momento de fertilização e possuiam 1,16 ± 0,13 mm e 3,81 ± 0,40 mm, respectivamente, aos 180 min PF, o acréscimo no diâmetro total refletiu um período de hidratação progressiva dos ovos, com conseqüente aumento do espaço perivitelino nas três primeiras horas de incubação. Na análise da fertilização e embriogênese, verificou-se que no momento da extrusão os ovócitos eram esféricos, ficando achatados após a fecundação. Em cada ovócito foi visualizada uma micrópila em forma de funil. Entre 10 e 30 segundos após a fertilização a maioria dos ovos foi fecundada e cones de fertilização já foram observados a partir de 10 segundos de ativação dos gametas. Os principais eventos da fertilização ocorreram de forma assincrônica e, em poucos ovócitos, espermatozóides foram visualizados no vestíbulo da micrópila até 90 segundos após a fertilização. A primeira célula formou-se no centro do blastodisco 20 min PF. A fase de mórula foi visualizada 2 horas PF e 3 horas mais tarde 70% do vitelo estava coberto pela blastoderme, com o blastóporo quase fechado 6 horas PF. As regiões cefálica e caudal do embrião puderam ser vistas 8 horas PF e a eclosão ocorreu após 13 horas de desenvolvimento embrionário. As larvas nasceram desprovidas de pigmentação, boca, capacidade natatória e acuidade visual.

Palavras-chave: *Brycon amazonicus*, fertilização, embriogênese, morfometria, MEV.

1. INTRODUÇÃO

A variação nas estratégias reprodutivas dos peixes resulta em diferenças, entre outras características, no tamanho de ovos e/ou ovócitos das espécies, que consequentemente disponibilizam diferentes quantidades de reservas energéticas para ovogênese, influenciando na duração do desenvolvimento embrionário destes (DEPÊCHE e BILLARD, 1994).

Segundo Vazzoler (1996), diferenças quanto à tática reprodutiva dos peixes e diâmetro dos ovócitos apresentam variações inter e intra-específicas, latitudinais, entre períodos reprodutivos e entre indivíduos de mesmo tamanho em mesmo período reprodutivo.

O processo embrionário inicia-se com a fecundação do ovócito pelo espermatozóide via micrópila, e concentra-se basicamente na reorganização dos elementos do ovo. Para ser compreendido deve ser combinado com estudos da topologia dos ovos fertilizados (DEPÊCHE e BILLARD, 1994).

O sucesso no cultivo de uma espécie de peixe depende da compreensão de sua biologia inicial, incluindo características da fertilização e desenvolvimento embrionário, que influenciam diretamente nas taxas de fertilização e eclosão dos ovos. A descrição dos estágios embrionários em teleósteos, além de dar suporte para o conhecimento da biologia das espécies, possui aplicação prática tanto para a aqüicultura como para a biologia pesqueira (MATKOVIC et al., 1985), trazendo informações necessárias para a produção em massa de peixes em laboratório e contribuindo com a sistemática e inventário ambiental (REYNALTE-TATAJE et al., 2004; NINHAUS-SILVEIRA, et al., 2006).

A espécie *Brycon amazonicus* é nativa da Amazônia brasileira (LIMA 2003) e devido a divergências na classificação taxonômica da literatura, foi estudada até recentemente como se tratando de *Brycon cephalus* (GOMES e URBINATI, 2005). Reprodutores de *B. amazonicus* deste estudo são de linhagem proveniente do rio Guaporé - MT, onde a espécie é popularmente conhecida como "jatuarana". É um *Brycon* de coloração levemente dourada nos flancos e escura no dorso, que é largo e abaulado, e segundo Feitosa (2004), pode medir até 1 metro e chegar a 8 quilos, sendo encontrada principalmente em lagos formados logo abaixo de cachoeiras.

Vários grupos de pesquisa têm intensificado estudos visando a viabilização dos peixes do gênero *Brycon* não só na piscicultura, mas também no repovoamento de regiões onde estejam ameaçados de extinção, por causa do desmatamento ciliar, da construção de barragens e poluição dos rios (OLIVEIRA et al., 2004).

Considerando a importância econômica e ecológica de *Brycon amazonicus*, este trabalho teve por objetivo descrever o diâmetro de ovócitos e ovos da espécie, assim como a

cronologia do seu desenvolvimento embrionário em condições controladas, a fim de obter informações sobre a biologia de suas formas iniciais que possam contribuir com programas de manejo e produção da espécie.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As coletas foram realizadas na Piscicultura Buriti (S 18^{o} 51" - W 56^{o} 11"), localizada no município de Nova Mutum – MT, em dezembro de 2004.

Durante o período amostrado as seguintes variáveis físico-químicas da água foram analisadas: temperatura (termômetro de bulbo de mercúrio), pH (potenciômetro digital), oxigênio dissolvido (oxímetro digital), alcalinidade e amônia, sendo as últimas duas variáveis determinadas pelos métodos de Goltermann et al. (1978). A temperatura foi monitorada diariamente, às 6:00, 13:00 e 18:00 horas, e as demais variáveis foram amostradas a cada terceiro dia, ao amanhecer. Amostras de água obtidas para determinar valores de amônia foram congeladas após a coleta e transportadas para o Laboratório Central do Centro de Aqüicultura da UNESP, onde foram posteriormente análisadas. As demais análises foram realizadas na própria piscicultura.

2.1. Reprodução induzida

Peixes adultos, sexualmente maduros, foram submetidos à técnica de reprodução induzida. Fêmeas e machos selecionados foram acondicionados separadamente em caixas de água de alvenaria de 2,0 m^2, abastecidas com fluxo contínuo e cobertas com tela.

Para a indução à desova foi utilizada hipófise de carpa em sua forma comercial (secas em acetona). As fêmeas receberam a primeira dose hormonal ao chegarem ao laboratório (0,5 mg/kg) e a segunda dose após 10 horas de intervalo (5,0 mg/kg), quando foi injetada dose única em machos (1,0 mg/kg).

Ao serem verificados sinais de corte, os peixes foram submersos em solução de benzocaína (2 g dissolvida em 150 mL de álcool 96^{o}GL diluída em 20 litros de água) para anestesia, sendo em seguida submetidos à massagem abdominal para extrusão de gametas.

A fertilização a seco (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1983) foi feita adicionando-se sêmen aos ovócitos e misturando-os delicadamente, acrescentando água à mistura para ativação dos gametas e hidratação dos ovos, que em seguida foram lavados e acondicionados em incubadoras cônicas, com capacidade de 200 litros.

2.2. Amostragem

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado. Dados biométricos, como comprimento total e peso, e reprodutivos, como volume de ovócitos

liberados, número de ovócitos por mL e taxa de eclosão, foram obtidos em dez fêmeas da espécie e suas respectivas proles.

Uma amostra contendo 1 mL de ovócitos foi retirada no momento da extrusão nas dez fêmeas submetidas à reprodução induzida, sendo fixada em formol 10% tamponado e transferida para álcool 70% após 24 horas.

Amostras contendo 10 ovócitos e/ou ovos foram retiradas nos seguintes momentos: extrusão; fertilização (momento da ativação dos gametas com água); 10 segundos (s), 20, 30, 60 e 90 s após a fertilização (PF); a cada minuto (min) até completar 10 min PF, a cada 5 min até 30 min PF, aos 45 min PF e de hora em hora PF até a eclosão. Coletas de cinco fêmeas foram fixadas em Karnovsky (glutaraldeído a 2,5% e paraformoldeído a 2,5%) durante 24 horas, posteriormente lavadas e transferidas para tampão cacodilato, sendo armazenadas à 4^{o}C, e de outras cinco fêmeas foram fixadas em formol 10% tamponado e transferidas para álcool 70% após 24 horas.

2.3. Processamento de amostras

O material obtido foi transportado à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista – FCAV/UNESP, no Campus de Jaboticabal - SP, sendo em parte processado no Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal e outra parte no Laboratório de Microscopia Eletrônica.

Para a estimativa do número total de ovócitos extrusados, o número de células contidas em 1 mL, obtido e fixado no momento da liberação, foi multiplicado pelo volume total da massa de ovócitos liberados nas dez fêmeas submetidas à reprodução induzida.

Para a distribuição de freqüência de ovócitos em classes de diâmetro, 30 gametas de cada uma das dez fêmeas, coletados no momento da extrusão e fixados, foram medidos (em milímetros) sob estereomicroscópio com ocular micrométrica (Leica MZ 8).

O tamanho dos ovos durante a incubação foi analisado na prole de seis fêmeas, obtido por meio de duas medidas realizadas no período entre a fertilização e a eclosão, sendo elas: diâmetro total do ovo com espaço perivitelino (distância existente entre a massa de vitelo e o córion) (CEP); diâmetro do vitelo, sem considerar o espaço perivitelino (SEP), ambas em milímetros.

Para análise dos eventos da fertilização em microscopia eletrônica de varredura, quatro proles fixadas em solução de Karnovsky e transferidas para tampão cacodilato de sódio, foram pós-fixadas em solução de tetróxido de ósmio a 2% por duas horas, lavadas novamente em tampão e submetidas à desidratação em bateria alcoólica de concentrações crescentes (30%, 50%, 70%, 80%, 90% 95%, 100%). Em seguida as amostras foram secas em secador de

ponto crítico com líquido de CO_2 em aparelho BAL-TEC, montadas em suporte de cobre, metalizadas em ouro e eletronmicrografadas em microscópio de varredura (JEOL-JSM 5410).

As alterações ocorridas desde a extrusão dos ovócitos até o momento da eclosão dos ovos foram registradas em câmara clara acoplada em estereomicroscópio (Leica MZ 95).

3. RESULTADOS

Valores médios de variáveis físico-químicas da água, obtidos durante o período de coletas, estão representados na Tabela I.

Tabela I - Valores médios de variáveis físico-químicas da água durante o período amostrado, seguidos de seu respectivo desvio padrão (S), valores máximo e mínimo.

	O_2 (mg/L)	**pH**	**Alcalinidade (mg/L)**	**Amônia (mg/L)**	**Temperatura (^oC)**
média	6,70	6,80	77,33	0,061	28,08
S	0,29	0,07	4,80	0,022	0,36
máximo	7,00	7,0	84,00	0,092	28,37
mínimo	5,91	6,7	72,00	0,038	27,33

Na Tabela II são apresentados dados biométricos e reprodutivos obtidos durante a reprodução induzida de *B. amazonicus*. No momento da extrusão os ovócitos eram de cor verde-azulada, esféricos, transparentes, semi-densos, de diâmetro aproximado entre as repetições (n = 30), com média geral de 1,21 ± 0,06 mm.

Tabela II – Parâmetros reprodutivos de *B. amazonicus* submetidos à reprodução induzida, seguidos de seu respectivo desvio padrão (S), valores mínimo e máximo. CT = comprimento total, n = 10.

Parâmetros reprodutivos	**Média ± S**	**Min**	**Max**
CT das fêmeas (cm)	48,10 ± 2,42	45,00	52,00
Peso das fêmeas (kg)	2,10 ± 0,20	1,80	2,45
Volume de ovócitos extrusados (mL)	183,00 ± 47,62	130,00	270,00
N^o de ovócitos por mL	1288,30 ± 102,52	1126	1406
Eclosão (%)	87,20 ± 13,55	54	100

A distribuição de freqüência de ovócitos liberados pelas fêmeas *B. amazonicus*, em classes de comprimento (Figura 1), revelou que aproximadamente metade destes (45,70%) tinha diâmetro entre 1,11 e 1,20 mm, com a grande maioria dos gametas femininos da espécie (87,7%) possuindo entre 1,11 e 1,30 mm no momento da extrusão.

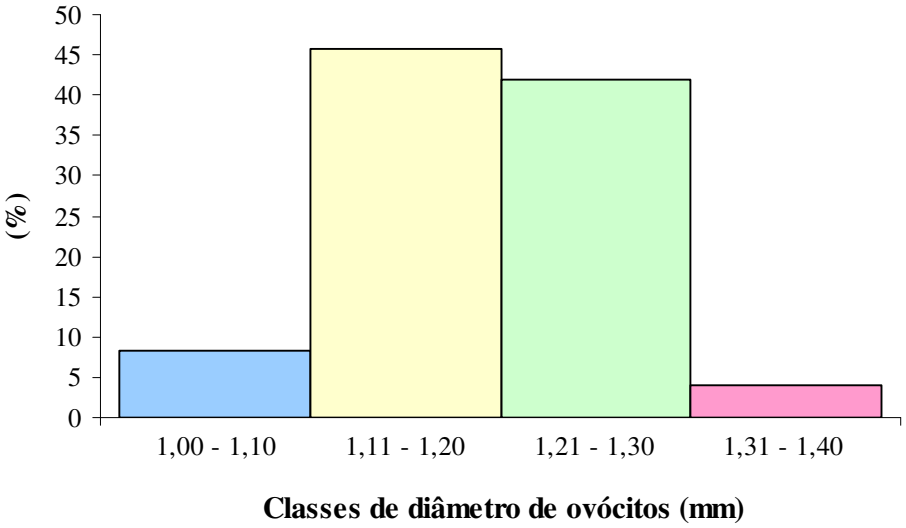

Figura 1 - Freqüência de ocorrência de ovócitos por classes de diâmetro no momento da extrusão em *B. amazonicus*

A partir da fertilização, o diâmetro total dos ovos de *B. amazonicus* aumentou rapidamente até 60 min PF, passando de 1,22 ± 0,04 mm para 3,06 ± 0,46 mm neste período. Este aumento foi progressivo, porém menos acentuado, entre 60 e 120 min PF, chegando a 3,65 ± 0,42 mm, continuando a aumentar lentamente até 180 min PF e estabilizando-se em seguida (Figura 02).

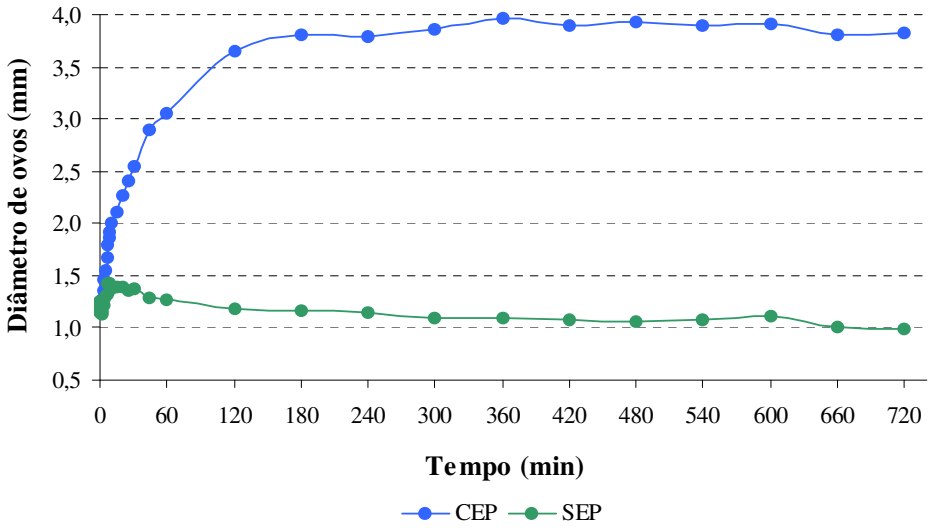

Figura 2 - Diâmetro médio dos ovos de *B. amazonicus* durante a incubação. CEP: com espaço perivitelino; SEP: sem espaço perivitelino.

Levando em consideração que os diâmetros do vitelo (SEP) e total (CEP) do ovo eram iguais no momento de fertilização, com 1,16 ± 0,13 mm e 3,81 ± 0,40 mm, respectivamente, aos 180 min PF, o acréscimo no diâmetro total refletiu um período de hidratação progressiva dos ovos, com conseqüente aumento do espaço perivitelino nas três primeiras horas de incubação (Figura 2).

A descrição de eventos envolvidos na fertilização de *B. amazonicus* em microscópio eletrônico de varredura revela a presença de uma única micrópila em cada ovócito (Figura 3 – A), caracterizando uma depressão no córion no pólo animal dos gametas femininos, lembrando um canal em forma de funil, com pregas dispostas longitudinalmente em suas paredes. Aos 10 s PF já havia ocorrido a penetração de gameta masculino em muitos gametas femininos, como visualizado na Figura 3 – B, onde a cauda do espermatozóide está visível no vestíbulo da micrópila.

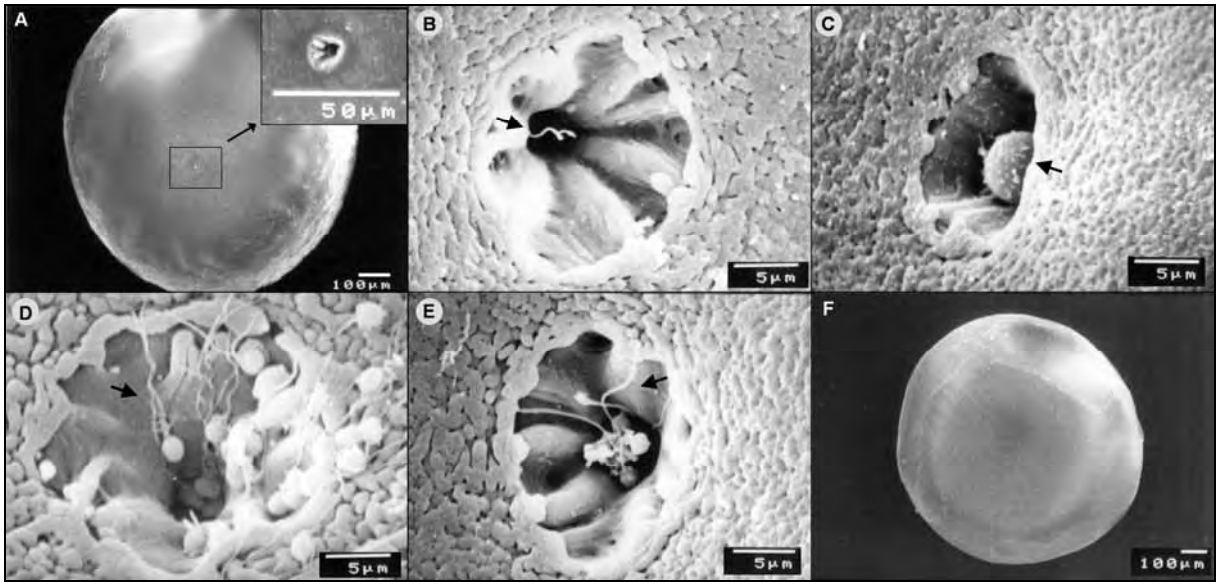

Figura 3 - Eletronmicrografia da fertilização em *B. amazonicus*. A - morfologia da micrópila (seta); B – cauda do espermatozóide (seta) penetrando no ovócito 10 s PF; C - formação de tampão (cone de fertilização - seta) 10 s PF; D - espermatozóides (seta) migrando em direção à micrópila 30 s PF; E - vários espermatozóides (seta) no vestíbulo da micrópila 90 s PF; F - ovo fecundado.

Também aos 10 s PF alguns ovos já estavam fecundados e protegidos da poliespermia pela formação de um cone de fertilização atravessando o canal micropilar (Figura 3 – C), e 30 s PF muitos espermatozóides ainda foram vistos na parede da micrópila de alguns ovócitos ou seguindo em direção a esta (Figura 3 – D), mesmo já tendo ocorrido penetração do gameta masculino e formação do cone de fertilização em momentos anteriores, na maioria dos gametas amostrados.

Apesar da maioria dos ovos analisados terem sido fecundados entre 10 e 30 s PF, eventos da fertilização em *B. amazonicus* ocorreram de forma assincrônica e 90 s PF (Figura 3 – E) foram visualizados alguns ovócitos com espermatozóides no vestíbulo da micrópila, porém a cauda destes gametas masculinos apresentava-se distendida e descolada da superfície do ovócito, diferente do que foi visualizado nos primeiros 30 s PF, não sendo possível afirmar se eles ainda eram viáveis. Na Figura 3 – F observa-se um ovo fecundado (10 min PF) e achatado devido à movimentação celular em direção ao pólo animal, dando origem ao blastodisco.

Na Figura 4 observa-se a ocorrência de poucas alterações morfológicas nos gametas femininos entre a extrusão (Figura 4 – A) e a fertilização (Figura 4 – B). Um acentuado achatamento dos ovos foi observado 10 min PF (Figura 4 – C). A diferenciação do blastodisco marcando o pólo animal, arranjado sobre grande quantidade relativa de vitelo acumulado no pólo vegetativo, pode ser confirmada 20 min PF (Figura 4 – D).

Aos 30 min PF (Figura 4 – E) a primeira divisão do blastodisco já havia ocorrido, com 2 blastômeros de mesmo tamanho sendo visualizados, seguida da formação de quatro e oito blastômeros, aos 45 min (Figura 4 – F) e 1 hora PF (Figura 4 – G), respectivamente. Sucessivas divisões celulares resultaram em camadas sobrepostas de blastômeros arranjadas em forma de "meia amora", caracterizando à fase de mórula 2 h PF (Figura 4 – H). Com 3 h PF (Figura 4 – I) foi verificada a proliferação de células com movimento divergente do pólo animal para o pólo vegetativo, indicando o início da epibolia e da fase de gastrulação, recobrindo aproximadamente 30% do vitelo neste momento e atingindo em torno de 70% duas horas mais tarde (Figura 4 – J).

A formação do anel germinativo e fechamento do blastóporo estavam quase completas 6 h PF (Figura 4 – K) e o eixo embrionário e desenvolvimento do tubo neural foi registrado 7 h PF (Figura 4 – L), com regiões cefálica e caudal definidas uma hora mais tarde (Figura 4 – M), quando foram visualizados entre 8 e 12 pares de somitos. As vesículas ótica e óptica, assim como a vesícula de Küpffer, puderam ser visualizadas 10 h PF, mesmo momento em que os embriões apresentaram cauda livre do saco vitelino (Figura 4 – N) e a ruptura do córion ocorreu após 13 h de desenvolvimento embrionário, liberando larvas despigmentadas e com sistemas orgânicos indiferenciados (Figura 4 – O).

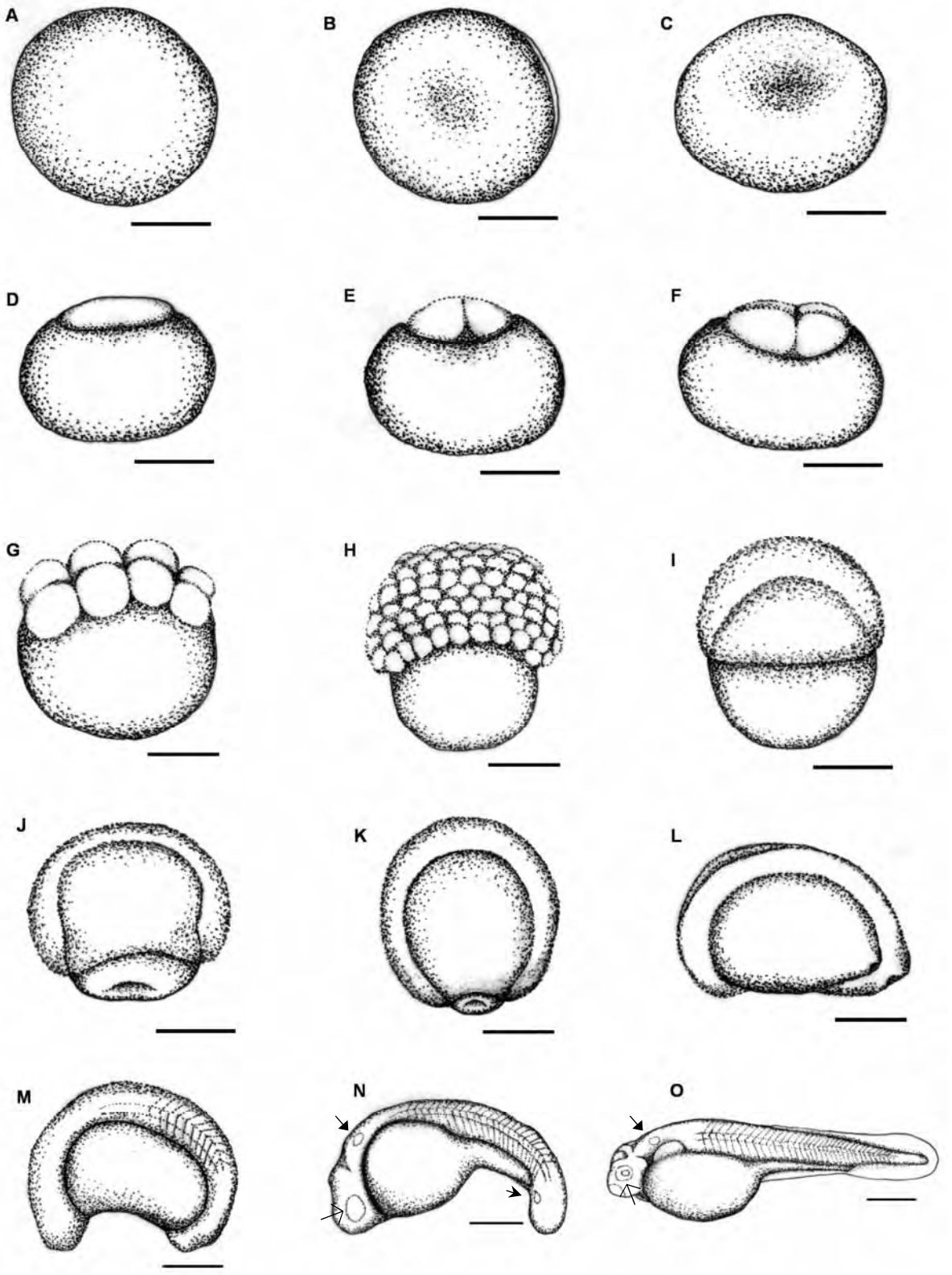

Figura 4 - Desenvolvimento embrionário de *B. amazonicus*. A – ovócito (extrusão); B – ovo fertilizado; C – 10 min PF; D - 20 min PF; E – 30 min PF; F – 45 min PF; G - 1 h PF; H – 2 h PF; I – 3 h PF; J – 5 h PF; K – 6 h PF; L – 7 h PF; M – 8 h PF; N – 10 h PF; O – 13 h PF (eclosão). Vesículas ótica (➔), óptica (→) e de Küpffer (➤). Escala = 0,5 mm.

4. DISCUSSÃO

Durante o período amostrado, não ocorreram grandes variações nos valores médios de variáveis físico-químicas da água e as médias estiveram próximas de valores ótimos para o bom desenvolvimento de peixes tropicais (SIPAÚBA-TAVARES, 1995).

A quantidade de ovócitos liberados pelas fêmeas de *B. amazonicus* submetidas à reprodução induzida corrobora à afirmada por Gomes (1998) para *B. cephalus*, que libera massa de ovócitos corresponde a aproximadamente 10% do peso das fêmeas. Segundo Vazzoler (1996), a quantidade de ovócitos por grama desses gametas tem correlação inversa com seu tamanho.

O aspecto geral dos ovócitos de *B. amazonicus* no momento da extrusão foi similar ao observado em peixes do mesmo gênero. Ovos esféricos, transparentes, semidensos e de coloração esverdeada também foram visualizados em *B. cephalus* (LOPES et al., 1995; ROMAGOSA et al., 2001; VASQUES, 2003), em *B. insignis* (ANDRADE-TALMELLI et al., 2001b) e em *B. orbignyanus* (GANECO, 2003; REYNALTE-TATAJE et al., 2004).

Outra característica em comum foi o pequeno diâmetro dos ovócitos no momento da extrusão, que neste estudo teve média de 1,21 ± 0,06 mm, com quase 90% destes gametas classificados entre 1,11 e 1,20 mm, valores similares aos observados na mesma espécie por Pardo-Carrasco et al. (2006a), onde o diâmetro variou entre 1,00 e 1,45 mm, com moda entre 1,09 e 1,18 mm, para fêmeas induzidas com extrato hipofisário de carpa. Estes diâmetros também foram aproximados aos observados em *B.* cephalus, com média de 1,010 mm (ROMAGOSA et al., 2001) e de 0,91 ± 0,015 mm (VASQUES, 2003), em *B. insignis*, onde o diâmetro de maior freqüência foi de 1,45 mm (ANDRADE-TALMELLI et al., 2002), e em *B. orbignyanus*, com média de 1,59 ± 0,15 mm (LANDINEZ et al., 2004), ocorrendo pequenas variações entre as espécies.

Vazzoler (1996) afirma que tamanho dos ovócitos está associado ao comportamento reprodutivo, e tanto a fecundidade quanto o diâmetro dos ovócitos maduros são táticas lábeis, apresentando variações inter e intraespecíficas, latitudinais, entre períodos reprodutivos, e entre indivíduos de mesmo tamanho em mesmo período reprodutivo. Espécies migradoras, com desova total, de fecundação externa e sem cuidado parental, como a espécie deste estudo, possuem ovos menores e fecundidade maior.

A rápida hidratação e obtenção de espaço perivitelino relativamente grande em ovos de *B. amazonicus* após a fertilização, é outra característica relacionada ao comportamento reprodutivo de peixes do gênero *Brycon*, que apresentam fecundação e desenvolvimento externos, sem cuidado parental, deixando sua prole livre na coluna de água. Ribeiro et al.

(1995) sugerem que morfologia do ovo, apresentando amplo espaço perivitelino logo após a fecundação, mostra que o embrião será protegido contra injúrias do ambiente. Kunz (2004) afirma que o espaço perivitelino se forma mesmo em ovos não fertilizados, ativado pelo contato do gameta feminino com a água, desencadeando a reação cortical que separa o córion do vitelo, pela ruptura dos alvéolos corticais.

Ovos com amplo espaço perivitelino após a hidratação também ocorrem em *B. cephalus* (ROMAGOSA et al., 2001), *B. orbignyanus* (NAKATANI et al., 2001; REYNALTE-TATAJE et al., 2004) e *B. insignis* (ANDRADE-TALMELLI et al., 2002), sendo observados também em espécies de outros gêneros de Characiformes com mesma tática reprodutiva, como em *Prochilodus lineatus* (CASTELLANI et al., 1994) e *Leporinus piau* (BORÇATO et al., 2004). Segundo Andrade-Talmelli et al. (2002), espécies de migração reprodutiva em época restrita do ano, com ovos livres que eclodem rapidamente e com prole não assistida pelos pais, devem ser melhor observadas, pois qualquer modificação do sistema hídrico pode provocar alterações em sua diversidade biológica.

Ribeiro et al. (1995) relatam que em teleósteos os ovo caracterizaram-se como telolécitos, devido à presença de pólo animal e vegetativo distintos, sendo também considerados polilécitos, devido a grande quantidade relativa de vitelo existente, e com segmentação do tipo parcial ou merobástica, ocorrendo somente no pólo animal, características idênticas às vizualizadas em ovos de *B. amazonicus* neste estudo.

A assincronia nos eventos da fertilização, observada em *B. amazonius*, também ocorreu em *B. orbignyanus* (GANECO e NAKAGHI, 2003) e *B. orthotaenia* (SAMPAIO, 2006), e juntamente com a morfologia da micrópila, com vestíbulo micropilar em forma de funil e presença de vários sulcos em disposição retilínea, agrupam características reprodutivas em comum para estas espécies do gênero *Brycon*. Segundo Rizzo e Bazzoli (1993), micrópilas com a forma afunilada são observadas na maioria dos teleósteos e permitem a passagem de apenas um espermatozóide pela abertura interna. Chen et al. (1999) sugerem que a microestrutura da micrópila é digna de nota como ferramenta na identificação de ovos e estudos filogenéticos em peixes, com diferenças podendo ocorrer entre espécies do mesmo gênero ou família, que devem apresentar mecanismos para prevenir a hibridização inter-específica.

Rizzo et al. (2002) atribuíram o córion liso, não adesivo e com poros canais regulares de *B. orbignyanus*, similar ao observado em *B. amazonicus* neste trabalho, a estratégia reprodutiva da espécie, que é migradora e de ovos livres. Ricardo et al. (1996) afirmam que a morfologia da micrópila varia em teleósteos de água doce e as diferenças estão relacionadas a

variações na morfologia dos espermatozóides, podendo ocorrer padrões similares em alguns grupos sistemáticos.

Assim como foi observado em *B. amazonicus*, Brasil (2002) relata que o primeiro evento após a ativação dos gametas em *Prochilodus lineatus* foi a chegada e passagem do espermatozóide através da micrópila, seguido da formação do cone de fertilização. Porém, o tempo de ocorrência desses eventos ocorreu de forma assincrônica na massa de ovos, ou seja, em uma mesma amostra foram observados diferentes eventos morfológicos, como também foi observado em *B. amazonicus*, com espermatozóides chegando ao vestíbulo da micrópila de alguns ovócitos aos 30 s PF, enquanto a fecundação e formação do cone de fertilização já haviam ocorrido na maioria dos ovos.

Os espermatozóides visualizados no vestíbulo da micrópila aos 90 segundos após a inseminação, com cauda distendida e não aderida à superfície do ovócito (disposição diferente da observada em momentos anteriores) provavelmente não eram mais viáveis. Em estudos sobre motilidade de espermatozóides de *B. amazonicus* um curto período de atividade destes gametas foi identificado, estando entre 26 e 50 segundos (PARDO-CARRASCO et al., 2006b). Outros estudos sobre gametas masculinos de peixes do gênero *Brycon* também relatam curto tempo de atividade, durando aproximadamente 40 segundos em *B. insignis* (ANDRADE-TALMELLI et al., 2001a) e 41 ± 7 segundos em *B. siebenthlae* (CRUZ-CASALLAS et al., 2005). Em estudo sobre características seminais de *Brycon cephalus*, Ninhaus-Silveira et al. (2006) observaram que espermatozóides desta espécie são do tipo "aquasperm", apresentando uma pequena cabeça arredondada e sem vesícula acrosomal.

Quanto à formação do cone de fertilização logo após a penetração do espermatozóide no canal micropilar, observado em *B. amazonicus* deste estudo, segundo Kudo (1980), a formação desta estrutura ocorre por movimentos citoplasmáticos que levam à projeção do citoplasma para dento do canal da micrópila, formando uma estrutura semelhante a uma bolha. O autor observou que no momento da projeção do material citoplasmático para dentro do canal da micrópila, o núcleo do espermatozóide fica na base do cone em expansão, ficando inserido no citoplasma do ovócito. Para Brasil et al. (2002), a formação deste cone reforça a necessidade de estratégias para evitar a entrada de espermatozóides supranuméricos, que podem atravessar o canal micropilar mesmo que já tenha ocorrido a passagem do espermatozóide fertilizante.

O tempo de desenvolvimento embrionário de *B. amazonicus* deste estudo foi similar ao descrito para a mesma espécie por Mira-López et al. (2007), que relatam período de embriogênese de 13,5 horas em 28,2 ± 1,5 ºC. A seqüência de eventos observada na

embriogênese da espécie deste trabalho é similar à descrita para outras espécies do gênero, como *B. insignis* (ANDRADE-TALMELLI et al., 2001b), *B. cephalus* (LOPES et al., 1995; ROMAGOSA et al., 2001; VASQUES, 2003), *B orbignyanus* (GANECO, 2003; LANDINEZ et al., 2004; REYNALTE-TATAJE et al., 2004) e *Brycon orthotaenia* (SAMPAIO, 2006), seqüência observada também em outros Characiformes, como *Piaractus mesopotamicus* e *Colossoma macropomum* (RIBEIRO et al., 1995), *Prochilodus lineatus* (CASTELLANI et al., 1994; NINHAUS-SILVEIRA et al., 2006), *Leporinus piau* (BORÇATO et al., 2004) e em *Hoplias unitaeniatus*, *H. malabaricus* e *H. lacerdae* (GOMES et al., 2007). Diferenças ocorreram na cronologia dos eventos, mesmo entre as espécies do gênero *Brycon*, o que pode estar relacionado a variações inter-específicas e a diferenças na temperatura da água durante a incubação.

Em *B. amazonicus* o início da somitogênese ocorreu após o término da epibolia e fechamento do blastóporo, como observado em outros Characiformes (CASTELLANI et al., 1994; LOPES et al., 1995; RIBEIRO et al., 1995; ANDRADE-TALMELLI et al., 2001b; GANECO, 2003; BORÇATO et al., 2004; NINHAUS-SILVEIRA et al., 2006; SAMPAIO, 2006 e GOMES et al., 2007). Ribeiro et al. (1995) afirmam que em ovos pequenos o movimento de epibolia termina antes do aparecimento dos somitos. Morrison et al. (2001) relatam que em *Oreochromis niloticus* os dois primeiros pares de somitos surgiram antes do final da gastrulação, e a extremidade caudal do embrião não alcançava o pólo vegetativo, o que segundo os autores, está relacionado ao grande tamanho dos ovos desta espécie, característica de peixes que apresentam cuidado parental, como os ciclídeos (Perciformes).

Os resultados deste estudo revelaram que *B. amazonicus* apresenta tática reprodutiva comum a maioria das espécies reofilicas, que precisam migrar para reproduzir, liberando um grande número de pequenos ovos na coluna de água a mercê de predadores e de condições ambientais adversas, adquirindo rapidamente um grande espaço perivitelino com provável função de proteção mecânica ao embrião, passando por um curto período de desenvolvimento embrionário, o que aumenta a chance de sobrevivência, já que as larvas adquirem condições de sobreviver precocemente (ver Capítulo 3, 4 e 5), e consequentemente, terão mais condições de enfrentar situações de risco comparado aos embriões.

5. REFERÊNCIAS

ANDRADE-TALMELLI, E. F.; KAVAMOTO, E. T.; FENERICH-VERANI, N. Características seminais de piabanha, *Brycon insignis* (Steindachner, 1876) após estimulação hormonal. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 149-154. 2001a.

ANDRADE-TALMELLI, E. F.; KAVAMOTO, E. T.; NARAHARA, M. Y.; FENERICH-VERANI, N. Reprodução induzida de piabanha, *Brycon insignis* (Steindachner, 1876) mantida em cativeiro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 2 (suplemento), p. 803-811. 2002.

ANDRADE-TALMELLI, E. F.; KAVAMOTO, E. T.; ROMAGOSA, E.; FENERICH-VERANI, N. Embryonic and larval development of the "piabanha", *Brycon insignis* Steindachner, 1876 (Pisces, Characidae). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 21-27. 2001b.

BORÇATO, F. L.; BAZZOLI, N.; SATO, Y. Embryogenesis and larval ontogeny of the "piau-gordura", *Leporinus piau* (Fowler) (Pisces, Anostomidae) after induced spawning. **Revista Brasileira de Zoologia**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 117-122. 2004.

BRASIL, D. F.; NAKAGHI, L. S. O.; SANTOS, H. S. L.; GRASSIOTTO, I. Q.; FORESTI, F. Estudo morfológico da fertilização em curimbatá *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836). [on line] **I Congresso Iberoamericano Virtual de Acuicultura.** Disponível em: <http://www.civ2002.org>, p. 733-747. 2002

CASTELLANI, L.R.; TSE, H. G.; SANTOS, H. S.; FARIA, R. H. S.; SANTOS, M. L. S. Desenvolvimento embrionário do curimbatá *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) (Cypriniformes, Prochilodontidae). **Revista Brasileira de Ciências Morfológicas**, São Paulo, v. 11, n. 2, p. 99-105. 1994.

CHEN, K. C.; SHAO, K. T.; YANG, J. S. Using micropilar ultrastructure for species identification and phylogenetic inference among four species of Sparidae. **Journal of Fish Biology**, London, v.55, p. 288-300. 1999.

CRUZ-CASALLAS, P. E.; LOMBO-RODRÍGUEZ, D. A.; VELASCO-SANTAMARIA, Y. M. Milt quality and spermatozoa morphology of captive *Brycon siebenthalae* (Eigenmann) broodstock. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 36, p. 682-686. 2005.

DEPÊCHE, J.; BILLARD, R. **Embryology in fish: a review.** Paris: Société Française d'Ichtyologie. 1994. 123 p.

FEITOSA, W. **Amazônia.** Disponível em: <www.pesca.outdoortravel.com.br>. Acesso em: 6 set. 2004.

GANECO. L. N. **Análise dos ovos de piracanjuba, *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849), durante o desenvolvimento embrionário, sob condições de reprodução induzida.** 2003. 66 p. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura). Centro de Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista - UNESP: Jaboticabal, 2003.

GANECO, L. N.; NAKAGHI, L. S. O. Morfologia da micrópila e da superfície dos ovócitos de piracanjuba, *Brycon orbignyanus* (Osteichthyes, Characidae), sob microscopia eletrônica de varredura. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 25, n. 1, p. 227-231. 2003.

GOLTERMANN, H. L.; CLYMO, R. S.; OHNSTAD, M. A. M. **Methods for Physical and Chemical Analysis of Freshwaters.** London: Blackweel Science Publication, IBP Handbook number 8, 1978. 214 p.

GOMES, L. C. Matrinxã: sistema intensivo para criação de larvas de *Brycon cephalus*. **Panorama da Aqüicultura**, n. 45 (agosto/1998), p. 15-20. 1998.

GOMES, B. V. C.; SCARPELLI, R. S.; ARANTES, F. P.; SATO, Y.; BAZZOLI, N.; RIZZO, E. Comparative oocyte morphology and early development in three species of trahiras from the São Francisco River basin, Brazil. **Journal of Fish Biology**, London, v. 70, p. 1412-1429. 2007.

GOMES, L. C.; URBINATI, E. C. Matrinxã (*Brycon amazonicus*). In: BALDISSEROTO, B.; GOMES, L. C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2005. p. 149-174.

KUDO, S. Sperm penetration and the formation of a fertilization cone in the common carp egg. **Development, growth and differentiation**, Nagoya, Japão, v. 22, n. 3, p. 403-414. 1980.

KUNZ, Y. W. **Development Biology of teleost fishes.** Springer: Netherlands, 2004. 636 p

LANDINEZ, M. A.; SENHORINI, J. A.; SANABRIA, A. I.; BALDAN, A. P.; URBINATI, E. C. Desenvolvimento embrionário e larval de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*). **Boletim Técnico do CEPTA**, Pirassununga, v.17, p. 1-12. 2004.

LIMA, F. C. T. Subfamily Bryconinae (Characins, Tetras). In: REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS Jr, C. J. (eds.). **Check list of the freshwater fishes of South and Central America.** Porto Alegre: EDPURCS, 2003, p. 174-181.

LOPES, R. N. M.; SENHORINI, J. A.; SOARES, M. C. F. Desenvolvimento embrionário e larval do matrinxã *Brycon cephalus* Günther, 1869, (Pisces, Characidae). **Boletim Técnico do CEPTA**, Pirassununga, v. 8, p. 25-39. 1995.

MATKOVIC, M.; CUSSAC, V. E.; CUKIER, M.; GUERRERO, G. A.; MAGGESE, M. C. Desarrollo embrionario de *Rhamdia sapo* (Valenciennes, 1840) Eigenmann y Eigenmann, 1888 (Pisces, Pimelodidae). I. Segmentación, morfogénesis y organogénesis temprana. **Revista Brasileira de Biologia,** São Carlos, v. 45, n. ½, p. 39-50.1985.

MIRA-LÓPEZ, T. M.; MEDINA-ROBLES, V. M.; VELASCO-SANTAMARÍA, Y, M.; CRUZ-CASALLAS, P. E. Valores morfométricos en larvas de yamú *Brycon amazonicus* (Pisces: Characidae) obtenidas con semen fresco y crioconservado. **Actualidades Biologicas**, Medellin, Colômbia, v. 29, n. 87, p. 203-213. 2007.

MORRISON, C. M.; MIYAKE, T.; WRIGHT JR, J. R. Histological study of the development of the embryo and early larva of *Oreochromis niloticus* (Pisces: Cichlidae). **Journal of Morphology**, New York, v. 247, p. 172-195. 2001.

NAKATANI, K.; AGOSTINHO, A. A.; BAUMGARTNER, G.; BIALETZKI, A.; SANCHES, P. V.; CAVICCHIOLI, M. **Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação.** Maringá: EDUEM/Nupélia, 2001, 359p.

NINHAUS-SILVEIRA, A.; FORESTI, F.; AZEVEDO, A. Structural and ultrastructural analysis of embryonic development of *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) (Characiformes; Prochilodontidae). **Zygote**, Reino Unido, v. 14, p. 217-229, 2006.

OLIVEIRA, A. M. B. M. S.; CONTE, L.; CYRINO, J. E. P. Produção de Characiformes autóctones. In CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C.; FRACALOSSI, D. M.; CASTAGNOLLI, N. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce.** São Paulo: TecArt. 2004. p. 217-237.

PARDO-CARRASCO, S. C.; ARIAS-CASTELLANOS, J. A.; SUÁREZ-MAHECHA, H.; CRUZ-CASALLAS, P. E.; VÁSQUES-TORRES, W.; ATENCIO-GARCIA, V.; ZANIBONI-FILHO, E. Inducción a la maduración final y ovulación del yamú *Brycon amazonicus* con EPC y mGnRH-a. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, Medellín, v 19, n. 2, p. 160-166, 2006a.

PARDO-CARRASCO, S. C.; ZANIBONI-FILHO, E.; ARIAS-CASTELLANOS, J. A.; SUÁREZ-MAHECHA, H.; ATENCIO-GARCIA, V.; CRUZ-CASALLAS, P. E. Evaluation of milt quality of the yamú *Brycon amazonicus* under hormonal induction. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, Medellín, v 19, n. 2, p. 34-139, 2006b.

REYNALTE-TATAJE, D.; ZANIBONI-FILHO, E.; ESQUIVEL, J. R. Embryonic and larvae development of piracanjuba, *Brycon orbignyanus* Valenciennes, 1849 (Pisces, Charecidae). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 26, n. 1, p. 67-71. 2004.

RIBEIRO, C. R.; SANTOS, H. S. L.; BOLZAN, A. A. Estudo comparativo da embriogênese de peixes ósseos (pacu, *Piaractus mesopotamicus*; tambaqui, *Colossoma macropomum* e o híbrido tambacu). **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, v. 55 (suplemento 1), p. 65-78. 1995.

RICARDO, M. C. P.; AGUIAR, C. A.; RIZZO, E.; BAZZOLI, N. Morfologia da micrópila e da célula micropilar em teleósteos neotropicais de água doce. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 48, n. 1, p. 17-24. 1996.

RIZZO, E.; BAZZOLI, N. Oogenesis, oocyte surface and micropylar apparatus of *Prochilodus affinis* Reinhardt, 1874 (Pisces Characiformes). **European Arquives of Biology**, Liege, Bélgica, v. 104, p. 1 – 6, 1993.

RIZZO, E.; SATO, Y.; BARRETO, B. P.; GODINHO, H. P. Adhesiveness and surface patterns of eggs in neotropical freshwater teleosts. **Journal of Fish Biology**, London, v.61, p. 615-632. 2002.

ROMAGOSA, E.; NARAHARA, M. Y.; FENERICH-VERANI, N. Stages of embryonic development of the "matrinxã", *Brycon cephalus* (Pisces, Characidae). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 29-32. 2001.

SAMPAIO, K. H. **Superfície ovocitária e desenvolvimento inicial de quatro espécies de peixes de interesse comercial da bacia do rio São Francisco.** 2006. 53 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular). Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais: Belo Horizonte, 2006.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. **Limnologia aplicada à aqüicultura**. Jaboticabal: Funep – UNESP. 1995. 70 p.

VASQUES, L. H. **Participação do hormônio triiodotironina (T_3) no desenvolvimento inicial de matrinxã (*Brycon cephalus*).** 2003. 146 p. Tese (Doutorado em Aqüicultura). Universidade Estadual Paulista – UNESP: Jaboticabal, 2003.

VAZZOLER, A. E. M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática.** Maringá: EDUEM. 1996. 169 p.

WOYNAROVICH, E.; HORVÁTH, L. **A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão.** Brasília: FAO/CODEVASF/CNPq. 1983. 225p.

Capítulo 3 – Estruturas associadas à alimentação durante o desenvolvimento inicial de *Brycon amazonicus.*

RESUMO

O padrão de desenvolvimento inicial em teleósteos reflete sua adaptação ao ambiente, havendo mais tempo para se adaptar a captura de alimento e a condições ambientais adversas quanto maior for a reserva endógena disponível. O objetivo deste estudo foi descrever estruturas envolvidas na alimentação endógena e exógena durante o desenvolvimento larval de *Brycon amazonicus*, visando obter informações sobre alocação de recursos alimentares das formas iniciais da espécie. O monitoramento de larvas em condições de cultivo foi realizado na Piscicultura Buriti (S 18º 51" - W 56º 11"), em Nova Mutum – MT, de dezembro de 2004 a janeiro de 2005. Os indivíduos foram coletados em momentos previamente determinados entre a eclosão e 25 dias de idade. A temperatura da água foi de 30,07 ± 1,95 ºC durante o período amostrado. O material foi fixado, medido e submetido à rotina de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Foram realizadas análises de volume e eficiência de consumo de vitelo após a eclosão (PE), e em MEV estruturas envolvidas na habilidade natatória e de captura de alimento foram descritas. O volume do saco vitelino passou de 0,54± 0,17 µL no momento da eclosão para 0,02 ± 0,01 µL com 41 h PE, restando apenas vestígios 53 h PE, quando sua visualização deixou de ser possível. A maior eficiência de consumo de vitelo ocorreu entre 33 e 47 h PE. A eclosão ocorreu 13 h após a fertilização, liberando larvas com média de 3,52 ± 0,38 mm de comprimento total, desprovidas de pigmentos, boca, acuidade visual e capacidade natatória. A formação da cavidade bucal e diferenciação de arcos branquiais começou com 4 h PE e com 11 h PE surgiu o botão da nadadeira peitoral. A cabeça estava em posição retilínea com boca em posição terminal 25 h PE, quando o início de formação de dentes foi visualizado. Com 35 h PE os arcos branquiais estavam cobertos pelo opérculo e membrana branquiostegial, mesmo momento em que delicadas cúspides de dentes perfuravam o epitélio da região frontal da pré-maxila e do dentário. O início da formação de raios nas nadadeiras caudal, dorsal e anal foi visualizado 79 h PE, dentes pontiagudos foram observados na maxila com 171 h PE e o botão da nadadeira pélvica surgiu com 243 h PE, quando botões gustativos ornamentavam a língua e o teto da cavidade bucofaríngea. Com 339 h PE a cavidade olfativa encontra-se dividida em dois orifícios, a formação de escamas iniciava-se na região anterior do tronco, o avançado desenvolvimento das estruturas ósseas da cabeça e dos raios das nadadeiras caudal, dorsal, anal e pélvicas era nítido, e apenas a nadadeira peitoral ainda possuía inserção membranosa, sem raios totalmente formados. Com 579 h PE os indivíduos eram juvenis, medindo 48,94 ± 10,97 mm de comprimento total. Neste período todas as estruturas envolvidas na natação e captura de alimento estavam formadas, como raios nas nadadeiras e amadurecimento de suas inserções, escamas recobrindo o tronco e dentes de vários formatos e dimensões distribuídos na pré-maxila, maxila e dentário. A alimentação exógena em larvas de *B. amazonicus* iniciou-se 29 h PE, antes da escassez de reservas endógenas e do desenvolvimento de habilidade natatória eficiente, refletindo a necessidade de se especializar na captura de alimento exógeno enquanto o alimento endógeno ainda estava disponível, caracterizando uma fase de adaptação ao ambiente, à captura de presas e fuga de predadores.

Palavras-chave: *Brycon amazonicus*, saco vitelino, morfometria, desenvolvimento, MEV.

1. INTRODUÇÃO

Durante o desenvolvimento inicial dos peixes, larvas apresentam-se como organismos distintos dos adultos em relação à alocação de recurso, ocorrendo um processo de metamorfose com diferenciação progressiva de caracteres morfológicos até o período juvenil, quando possuem características idênticas às de adultos (NAKATANI et al., 2001).

O padrão de desenvolvimento em teleósteos reflete sua necessidade de adaptação ao ambiente (VANDEWALLE et al., 2005). A maioria dos peixes recém eclodidos não possui boca, intestino, ânus, brânquias, vesícula gasosa, nadadeiras pares, pigmentação e acuidade visual (BLAXTER, 1969; WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1983). O tempo de desenvolvimento destes sistemas segue padrões ontogenéticos de cada espécie e determina o momento em que os peixes irão adquirir a capacidade natatória, de fuga e de captura de seu próprio alimento (NEUMANN, 2004), sendo diretamente influenciado pela temperatura ambiental (KENDALL et al., 1983; FUIMAN et al., 1998).

O tamanho do saco vitelino e seu tempo de absorção também são espécie-específicos e quanto maior for a quantidade de reservas endógenas disponíveis, mais longo será o período que as larvas de peixes possuem para se adaptar a captura de alimentos externos, enquanto são sustentadas pelas reservas do saco vitelino (BLAXTER, 1969; WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1983; BONISLAWSKA et al., 2000; GISBERT et al., 2000).

Para as espécies reofilicas, que produzem ovos pequenos, com pouca reserva endógena e nenhum cuidado parental, o tempo de adaptação para enfrentar condições ambientais adversas é curto, sendo imprescindível às larvas chegarem rapidamente a forma juvenil e adquirirem características mínimas necessárias para sobreviver às duras condições ambientais e aos predadores (VANDEWALLE et al., 2005).

Geralmente larvas precisam se alimentar de presas relativamente pequenas, sendo esperado que o sucesso na obtenção da limitada quantidade de energia obtida da alimentação exógena seja prioridade para a sobrevivência e crescimento. Assim, o estudo da importância funcional de estruturas durante o desenvolvimento deve ser mais explorado e voltado a mudanças relacionadas a requerimentos funcionais vitais, como locomoção, alimentação e respiração (OSSE, 1990).

A seqüência e o tempo do desenvolvimento de estruturas relacionadas à alimentação em larvas de peixes está mais associada com a necessidade alimentar específica do que com a idade. De acordo com Von-Herbing (2001), no início da fase larval as estruturas são similares em número e tipo e são necessárias para a primeira alimentação de qualquer espécie. Em estágios posteriores, ocorrem significantes diferenças entre as espécies quanto ao tempo de

desenvolvimento das estruturas, que expressam a história de adaptação das larvas, bem como diferenças de habitat e de ecologia alimentar dos juvenis.

A espécie *Brycon amazonicus* é nativa da Amazônia brasileira (LIMA, 2003). É uma espécie reofilica amplamente cultivada no Brasil (GOMES E URBINATI, 2005). Neste estudo foram utilizadas larvas de *B. amazonicus* oriundas de reprodutores provenientes do rio Guaporé – MT, onde popularmente este peixe é conhecido como "jatuarana".

Estudos visando a viabilização dos peixes do gênero *Brycon* não só na piscicultura, mas também no repovoamento de regiões onde estejam ameaçados de extinção, por causa do desmatamento ciliar, da poluição dos rios e da construção de barragens tem sido intensificados por vários grupos de pesquisa (OLIVEIRA et al., 2004).

Segundo Cestarolli (2005), as pesquisas não têm sido adequadamente direcionadas para a adaptação de técnicas de cultivo que tragam soluções para as inúmeras dificuldades existentes nos sistemas de criação de várias espécies, principalmente as nativas, que são mais suscetíveis às bruscas e intensas alterações ambientais que ocorrem cada vez com mais freqüência.

Em peixes cultivados a transição alimentar é um dos maiores entraves para o desenvolvimento da aqüicultura, e estudos sobre estruturas associadas à alimentação durante o desenvolvimento inicial dos peixes devem ser correlacionados com alterações morfológicas, comportamentais e de eficiência na utilização de recursos.

Neste sentido, este estudo teve por objetivo descrever o padrão de estruturas envolvidas na alimentação endógena e exógena durante o desenvolvimento larval de *Brycon amazonicus*, visando obter informações sobre necessidades tróficas e alocação de recursos alimentares das formas iniciais da espécie, contribuindo na adequação de técnicas de cultivo e na compreensão de sua adaptação ao ambiente.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Entre dezembro de 2004 e janeiro de 2005 coletas foram realizadas na Piscicultura Buriti (S 18^{o} 51" - W 56^{o} 11"), em Nova Mutum – MT.

Foram monitoradas a temperatura da água (termômetro de bulbo de mercúrio), pH (potenciômetro digital), oxigênio dissolvido (oxímetro digital), alcalinidade e amônia, sendo as últimas duas variáveis determinadas pelos métodos de Goltermann et al. (1978).

Peixes adultos foram submetidos às técnicas de reprodução induzida, utilizando-se como estímulo hormonal hipófise de carpa na forma comercial (secas em acetona), com dose inicial de 0,5 mg/kg em fêmeas, seguida de 5,0 mg/kg após 10 horas de intervalo, quando os

machos receberam dose única de 1,0 mg/kg. Para extrusão dos gametas os peixes foram anestesiados em solução de benzocaína (2 g dissolvida em 150 mL de álcool 96°GL e diluída em 20 litros de água) e submetidos à massagem abdominal, aplicando-se técnica de fertilização a seco (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1983).

As proles foram mantidas em incubadoras até aproximadamente 63 horas após a eclosão, sendo alimentadas com larvas forrageiras. Em seguida, as larvas monitoradas foram transferidas para berçários de 1,5 m x 1,0 m x 0,75 m (volume útil de 0,75 m^3), com malha de 2,0 mm de diâmetro, colocados em viveiros de 600 m^2 abastecidos com água de represa, onde permaneceram até completarem 25 dias de idade. Em cada berçário foram estocadas 3000 larvas (4 larvas/litro), que foram alimentadas com ração comercial farelada (40% de proteína bruta) fornecida quatro vezes ao dia, distribuída uniformemente sobre a lâmina de água.

Para análise do desenvolvimento 10 larvas foram coletadas em diferentes momentos amostrados, como descrito a seguir: a cada hora até 11 horas após a eclosão (PE), em intervalos de duas horas até 35 h PE, de três horas até 59 h PE, de quatro horas até 83 h PE, de seis, oito e 12 horas, até 107, 123 e 147 h PE (7º dia), respectivamente, seguidas de coletas diárias no 8º, 9º, 11º, 13º, 15º, 18º, 22º e 25º dia.

Duas proles foram fixadas em Karnovsky (glutaraldeído a 2,5% e paraformoldeído a 2,5%) durante 24 horas, posteriormente lavadas e transferidas para tampão cacodilato, sendo armazenadas à 4°C. Cinco proles foram fixadas em formol 10% tamponado e transferidas para álcool 70% após 24 horas. Depois de fixado, o material foi transportado à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista – FCAV/UNESP, no Campus de Jaboticabal - SP, sendo processado no Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal e no Laboratório de Microscopia Eletrônica.

Para análise em microscopia eletrônica de varredura, duas proles fixadas em Karnovsky e transferidas para tampão cacodilato de sódio, foram pós-fixadas em solução de tetróxido de ósmio a 2% por duas horas, lavadas novamente em tampão e submetidas à desidratação em bateria alcoólica de concentrações crescentes (30%, 50%, 70%, 80%, 90% 95%, 100%). Em seguida as amostras foram secas em secador de ponto crítico com líquido de CO_2 em aparelho BAL-TEC, montadas em suporte de cobre, metalizadas em ouro e eletronmicrografadas em microscópio de varredura (JEOL-JSM 5410).

Para avaliar o volume do saco vitelino foram determinados o comprimento e a altura desta estrutura em larvas de em seis proles (cinco fixadas em formol 10% e uma fixada em Karnovsky). As medidas lineares foram obtidas sob estereomicroscópio (Leica MZ 8) com ocular micrométrica, em milímetros (mm).

O volume do saco vitelino, em µL, foi calculado pela fórmula $V= (\pi/6)LH^2$, onde V é o volume, L o comprimento e H a altura (BLAXTER, 1969). O índice de eficiência de consumo de vitelo (S) foi obtido pela equação $V=V_0e^{-St}$, onde V é o volume do saco vitelino no momento amostrado, V_0 é o volume no momento anterior, S é o índice de eficiência de consumo de vitelo e t é o tempo decorrido (POLO et al., 1991). O parâmetro S foi estimado pela expressão $V=V_t/V_0= e^{-St}$ desenvolvida em logaritmo, sendo V_t o volume do saco vitelino no momento amostrado, V_0 o volume no momento anterior. Foram considerados tempos entre a eclosão e total absorção do vitelo nas larvas (visualizado em estereomicroscópio).

O desenvolvimento morfológico nas larvas e em estruturas relacionadas à captura de alimento, exógeno, como formação da boca, dos dentes, botões gustativos e nadadeiras, foram descritas em microscopia eletrônica de varredura (MEV).

3. RESULTADOS

Valores médios de variáveis físico-químicas da água durante o período de coletas foram de 6,49 ± 1,57 mg/L de oxigênio dissolvido, a alcalidade de 87,82 ± 10,13 mg/L, a amônia de 0,64 ± 0,51 mg/L, pH 7,65 ± 0,84 e temperatura média de 30,07 ± 1,95 ºC.

Após a eclosão (13 h PF), o volume do saco vitelino (Figura 1) das larvas de *B. amazonicus* diminui de maneira acentuada, passando de 0,54 ± 0,17 µL no momento da eclosão para 0,02 ± 0,01 µL com 41 h PE, com os vestígios de vitelo não sendo mais visualizados macroscopicamente 53 h PE.

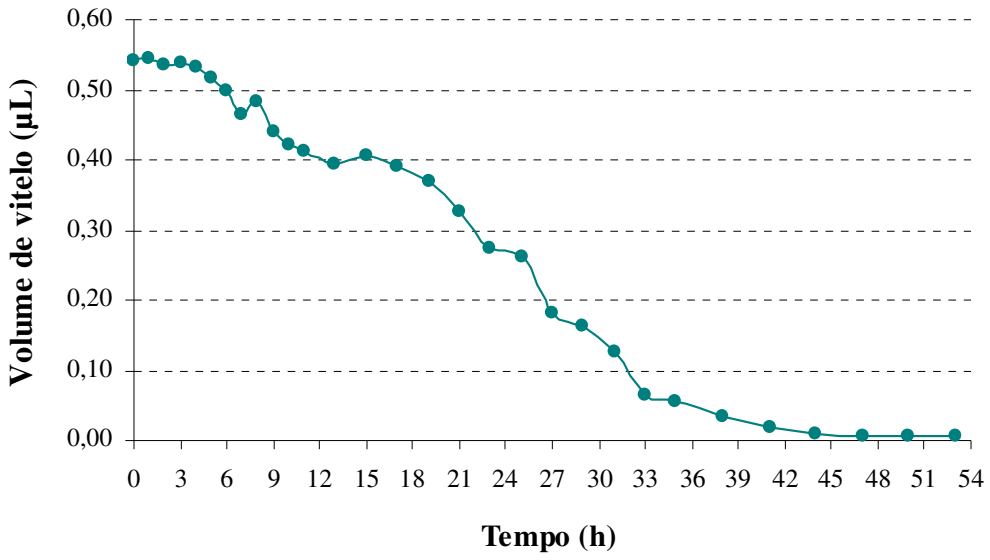

Figura 1. Volume do saco vitelino em larvas de *B. amazonicus* a partir da eclosão.

A Figura 2 mostra o índice de eficiência de consumo de vitelo (S) durante o desenvolvimento inicial de *B. amazonicus*, demonstrando eficiência crescente entre 16 e 34 h PE, e decrescente 47 h PE, momento em que o volume de vitelo era quase nulo.

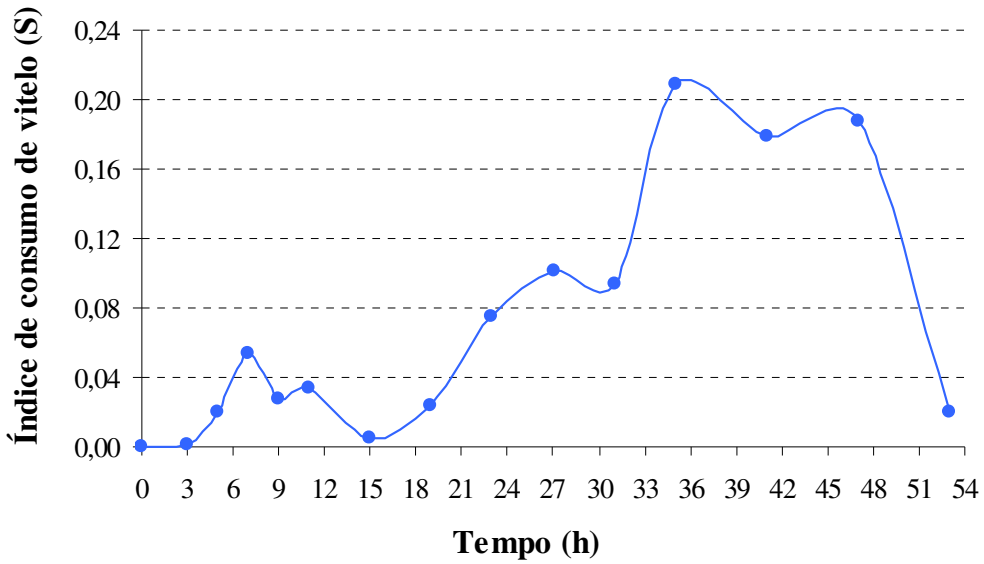

Figura 2. Índice de eficiência de consumo de vitelo (S) a partir da eclosão em larvas de *B. amazonicus*.

Desenvolvimento larval de *B. amazonicus*

Larvas com 13 h PF (eclosão)

A eclosão em *B. amazonicus* ocorreu 13 h PF (Figura 3 - A), quando as larvas tinham de 2,80 a 4,05 mm de comprimento padrão (média de 3,52 ± 0,38 mm). As larvas possuíam cabeça voltada para baixo, aderida à região anterior do saco vitelino, com corpo em postura distendida, grande saco vitelino e ausência total de nadadeiras (Figura 3 – A.a). Um par de placas olfatórias em forma de depressão circular rasa, preenchida por células ciliadas, foi visualizado na região frontal lateral da cabeça (Figura 3 – A.b), anteriormente ao esboço de vesículas ópticas totalmente indiferenciadas (Figura 3 – A.c). Na região ventral da cabeça, próximo ao limite com o saco vitelino, um sulco raso com tegumento desorganizado sinalizava o local do primórdio bucal (Figura 3 – A.d), enquanto na região dorsal anterior um sulco cefálico longitudinal foi observado (Figura 3 – A.e).

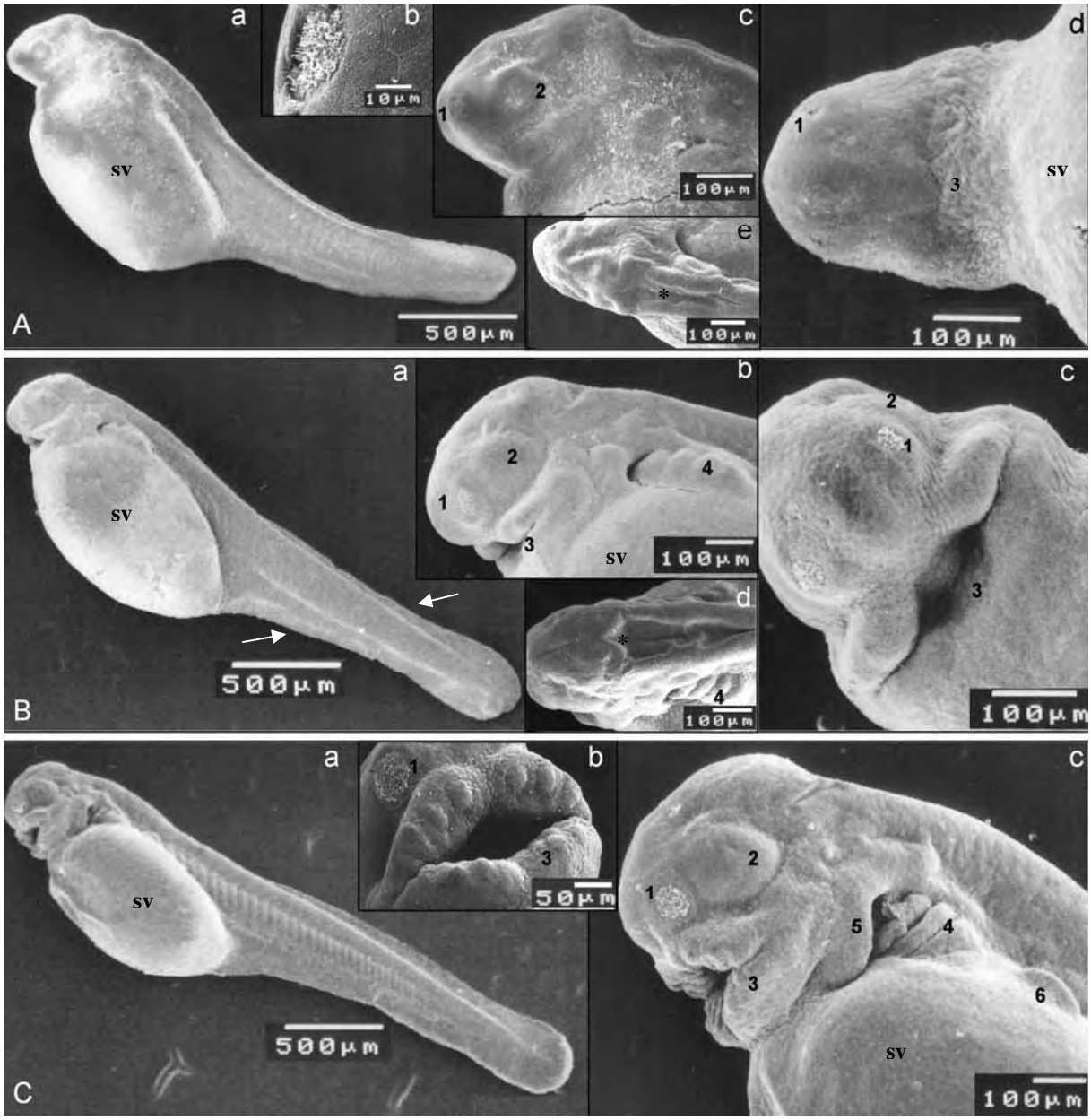

Figura 3 – Eletronmicrografia do desenvolvimento larval de 0 a 11 h PE em *B. amazonicus*. Eclosão: A.a - vista lateral completa; A.b – placa olfatória; A.c – vista lateral da região anterior; A.d –vista ventral da cabeça; A.e – vista dorsal da região anterior. 4 h PE: B.a – vista lateral completa e membrana embrionária (seta); B.b - vista lateral da região anterior; B.c - vista ventral da cabeça; B.d - vista dorsal da região anterior. 11 h PE: C.a - vista lateral completa C.b - vista frontal da cabeça; C.c - vista lateral da região anterior. Placa olfatória (1), vesícula óptica (2), boca (3), arcos branquiais (4), opérculo (5) e botão da nadadeira peitoral (6), saco vitelino (sv), sulco cefálico (asterisco).

Larvas com 4 h PE

As larvas tinham de 3,40 a 4,50 mm (média de 4,03 ± 0,31 mm). O limite entre o saco vitelino e o tronco das larvas estava mais pronunciado e a única nadadeira presente era a embrionária ("finfold"), em forma de membrana distendida sagitalmente na região corporal média posterior (Figura 3 – B.a). O início da diferenciação dos arcos branquiais foi

visualizado neste momento, caracterizado pela presença de protuberâncias transversais delimitadas da cabeça por fenda pronunciada, ao mesmo tempo em que protuberâncias esféricas formavam as vesículas ópticas (Figura 3 – B.b). Na região ventral da cabeça a cavidade bucal estava em formação, porém ainda apresentava-se superficial (Figura 3 – B.c), enquanto em sua região dorsal o sulco cefálico encontrava-se mais profundo (Figura 3- B.d).

Larvas 11 h PE

A Figura 3 – C demonstra larvas de *B. amazonicus* com 11 h PE, com comprimento total entre 3,90 e 5,20 mm (média de 4,74 ± 0,41 mm). Em vista panorâmica da larva verificou-se o início da delimitação entre a cabeça e o saco vitelino, com um pronunciado desenvolvimento da musculatura do tronco sendo visualizado (Figura 3 – C.a). As placas olfatórias encontravam-se mais distendidas na região frontal da cabeça e a cavidade bucal estava profunda, ornamentada por lábios com protuberâncias enfileiradas que sinalizavam o início da formação dos dentes (Figura 3 – C.b). Em vista lateral ampliada, a vesícula óptica em forma de esfera protuberante encontrava-se contínua aos tecidos tegumentares da cabeça e o início de fissuras começava a delimitar os arcos branquiais externos, posteriores ao opérculo em diferenciação e anteriores ao botão da nadadeira peitoral que surgia neste momento (Figura 3- C.c).

Larvas com 25 h PE

O comprimento total das larvas variou de 4,65 a 6,50 mm (média de 5,78 ± 0,48 mm). Observou-se o saco vitelino bastante reduzido e a cabeça descolada do saco vitelino, em posição retilínea com boca em posição terminal. Um estreitamento da nadadeira embrionária na região posterior indicou o início da delimitação da nadadeira caudal, enquanto a diferenciação da abertura anal pode ser visualizada na região mediana ventral da nadadeira embrionária (Figura 4 – A.a). O desenvolvimento do sistema nervoso preencheu o sulco cefálico visualizado em momento anterior (Figura 4 – A.b). A vesícula óptica encontrava-se mais protuberante, porém ainda contínua ao tegumento da cabeça, já no assoalho da placa olfatória visualizou-se o início da formação de uma depressão, toda revestida por cílios sensoriais, ao mesmo tempo em que nos lábios os dentes encontravam-se mais protuberantes, recobertos por epitélio, e distribuídos em três fileiras não paralelas e aparentemente desorganizadas na pré-maxila (lábio superior) e duas no dentário (lábio inferior), também desalinhadas (Figura 4- A.c). O botão da nadadeira peitoral migrou em direção a cabeça e neste momento sua base encontrava-se próxima ao limite posterior da membrana branquiostegial, que juntamente com o opérculo em formação cobria os arcos branquias, deixando apenas parte dos dois últimos arcos expostos externamente (Figura 4 – A.d). A

partir deste momento amostrado, neuromastos estiveram presentes distribuídos às bordas da vesícula óptica, externamente à pré-maxila e na região externa ventral da boca.

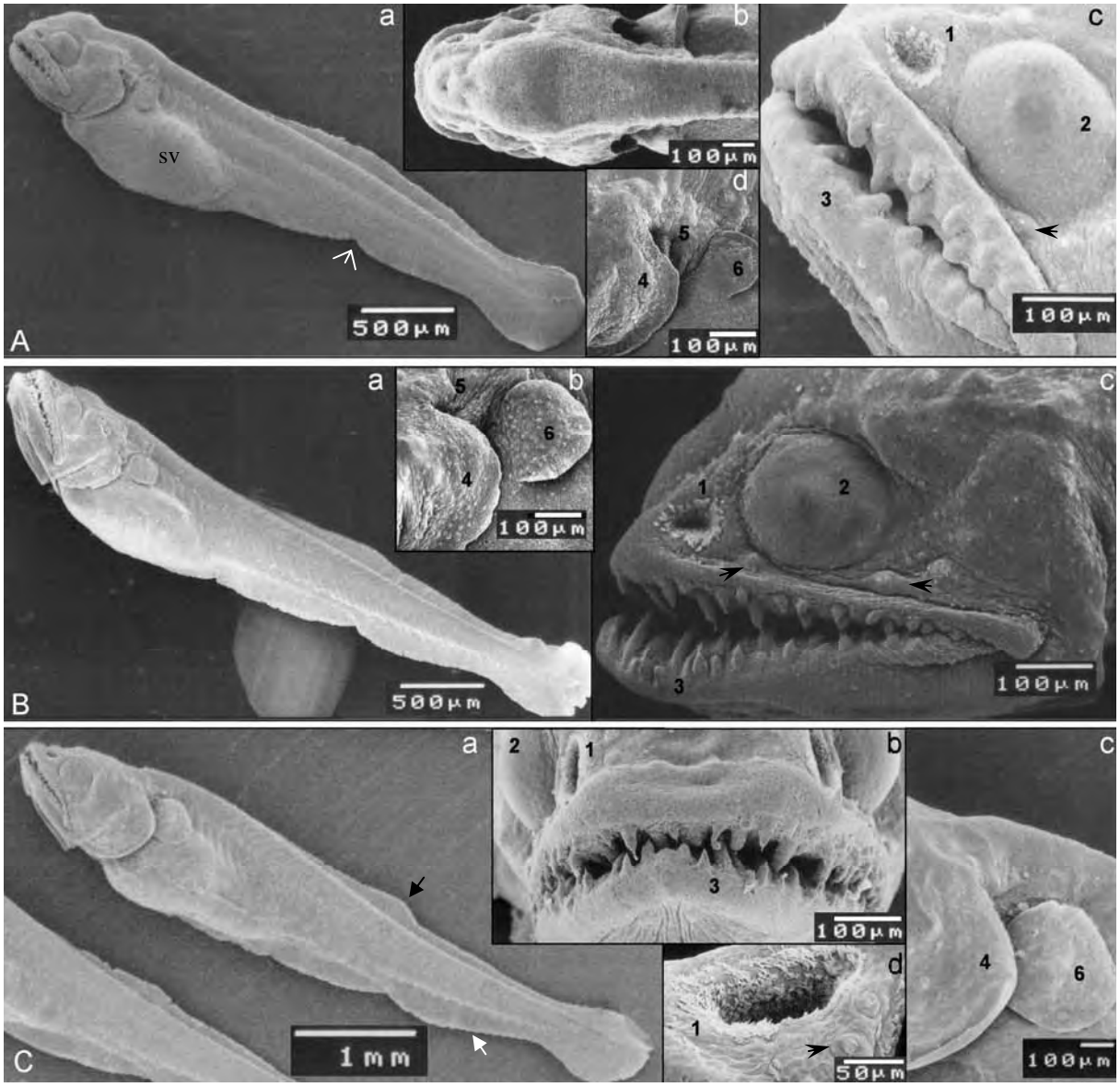

Figura 4 - Eletronmicrografia do desenvolvimento larval de 25 a 59 h PE em *B. amazonicus*. 25 h PE: A.a - vista lateral completa, com local de formação da abertura anal (seta) e saco vitelino (sv); A.b - vista dorsal da região anterior; A.c – ampliação lateral da cabeça, com cavidade olfativa (1), vesícula óptica (2), boca (3) e neuromastos (ponta de seta); A.d – destaque do opérculo (4), arcos branquiais (5) e nadadeira peitoral (6) em vista lateral. 35 h PE: B.a - vista lateral completa; B.b - destaque do opérculo (4), arcos branquiais (5) e nadadeira peitoral (6) em vista lateral; B.c – ampliação lateral da cabeça e neuromastos (ponta da seta). 59 h PE: C.a - vista lateral completa, nadadeira dorsal (seta escura) e anal (seta clara); C.b – vista frontal da boca; C.c - destaque do opérculo (4) e nadadeira peitoral (6) em vista lateral; C.d – destaque da cavidade olfativa (1) e neuromastos (ponta da seta).

Larvas com 35 h PE

Neste momento as larvas tinham comprimento total entre 5,40 e 7,60 mm (média de 6,57 ± 0,64 mm). Em vista lateral completa dos indivíduos, o saco vitelino apresentava-se

quase completamente reabsorvido (Figura 4 – B.a). Os arcos branquiais encontravam-se totalmente encobertos pelo opérculo em formação, estrutura que por sua vez já tinha seu limite posterior atingindo a base da nadadeira peitoral (Figura 4 – B.b). Ao mesmo tempo um sulco estava em formação em torno da vesícula óptica e a região central desta vesícula apresentava-se protuberante em relação as bordas, indicando o início da formação do cristalino (Figura 4 – B.c). No lugar da placa olfatória, inicialmente visualizada, encontrava-se uma cavidade olfativa completamente revestida por cílios em seu interior e em suas bordas. As protuberâncias dentais estavam na mesma disposição descrita anteriormente, porém mais afiladas nos ápices, sendo verificadas na face labial frontal da pré-maxila e do dentário delicadas cúspides de dentes perfurando o epitélio, que envolvia completamente os dentes das faces labiais laterais (Figura 4 – B.c).

Larvas com 59 h PE

O comprimento total das larvas variou de 6,40 a 9,00 mm (média de 7,78 ± 0,70 mm) (Figura 4 – C). O saco vitelino havia desaparecido completamente e as nadadeiras dorsal e anal começavam a delimitar-se devido à reabsorção (e conseqüente estreitamento) da nadadeira embrionária (Figura 4 – C.a). Os dentes encontravam-se revestidos por epitélio (Figura 4 – C.b) e o opérculo cobria os arcos branquiais e a base da nadadeira peitoral (Figura 4 – C.c). A cavidade olfativa passou de forma circular para alongada na direção antero-posterior (Figura 4 – C.d).

Larvas com 79 h PE

O comprimento total de larvas estava entre 6,40 a 10,20 mm (média de 8,44 ± 1,10 mm). Em visão geral das larvas foram observadas nadadeiras dorsal e anal mais delimitadas e a região final do tronco flexionada, enquanto a membrana embrionária continuava amplamente distendida na região pré-anal ventral (Figura 5 – A.a). Em relação ao momento anterior a única diferença observada nos dentes foi seu crescimento, tornando-os mais longos (Figura 5 – A.b). Em vista dorsal foi observada a base da nadadeira peitoral encoberta pelo opérculo (Figura 5 – A.c) e a cavidade olfativa estreita e alongada na direção antero-posterior (Figura 5 – A.d).

Larvas com 107 h PE

A Figura 5 – B apresenta larvas com 107 h PE, medindo entre 7,60 a 12,20 mm (média de 10,25 ± 1,16 mm) de comprimento total. Poucas alterações morfológicas ocorreram em relação ao momento anterior, entre elas estava a delimitação e formação de raios nas nadadeiras caudal, dorsal e anal (Figura 5 – B.a), enquanto os dentes estavam mais desenvolvidos, pontiagudos e curvados para dentro (Figura 5 – B.b).

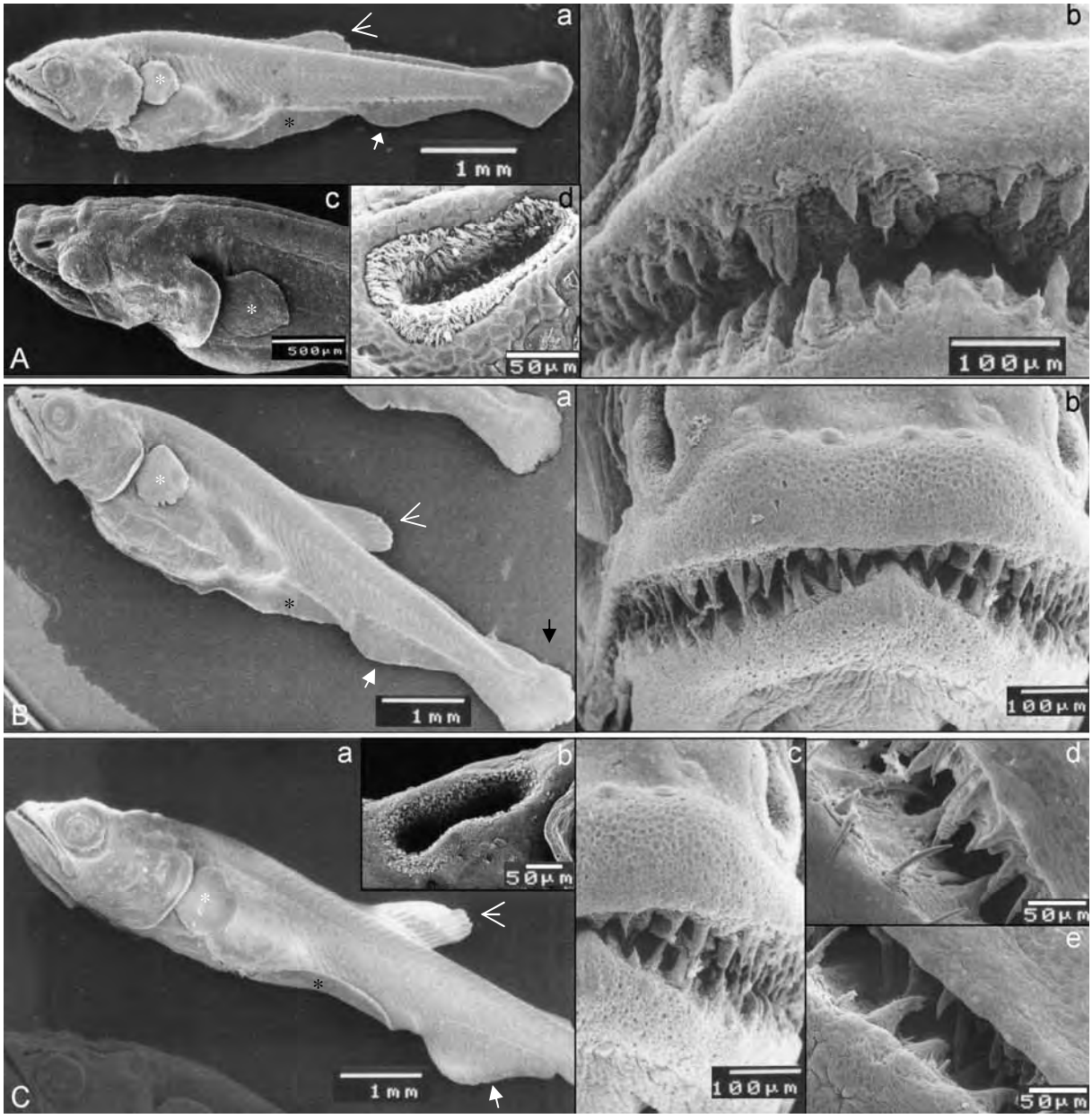

Figura 5 - Eletronmicrografia do desenvolvimento larval de 79 a 171 h PE em *B. amazonicus*. 79 h PE: A.a - vista lateral completa; A.b – vista frontal da boca; A.c - vista dorsal da região anterior; A.d - destaque da cavidade olfativa. 107 h PE: B.a - vista lateral completa; B.b - vista frontal da boca. 171 h PE: C.a - vista lateral completa; C.b – destaque da cavidade olfativa; C.c - vista frontal da boca; C.d – vista lateral dos dentes anteriores; C.e – vista lateral dos dentes posteriores. Membrana embrionária (asterisco escuro), nadadeira peitoral (asterisco claro), nadadeira dorsal (seta vazada), nadadeira anal (seta cheia) e nadadeira caudal (seta escura).

Larvas com 171 h PE

Após mais 64 horas de desenvolvimento, com 171 h PE (Figura 5 – C), as larvas mediam entre 9,20 e 13,90 mm de comprimento total (média de 11,70 ± 0,92 mm). A principal alteração visualizada foi o desenvolvimento de raios nas nadadeiras e delineamento do esqueleto da cabeça, com limites perceptíveis por meio de saliências e reentrâncias da superfície desta (Figura 5 – C.a). A cavidade olfativa começava a sofrer um estreitamento

transversal na região mediana (Figura 5 – C.b) e os dentes encontravam-se bem desenvolvidos (Figura 5 – C.c), longos e pontiagudos na região frontal da boca (Figura 5 – C.d), apresentando-se mais curtos nas regiões laterais da pré-maxila e dentário (Figura 5 – C.e). O maxilar estava em formação, e nele encontrava-se fileira única e alinhada de pequenos dentes. A vesícula óptica encontrava-se mais diferenciada, com uma esfera central em destaque, marcando a presença do cristalino (Figura 5 – C.a).

Larvas com 243 h PE

As larvas mediam entre 10,20 e 18,00 mm de comprimento total (média de 13,30 ± 1,80 mm) (Figura 6 – A). Neste momento, as estruturas esqueléticas da cabeça estavam bem protuberantes, indicando seu desenvolvimento e, consequentemente, o olho encontrava-se alojado entre o sulco orbital, com cristalino bem evidente (Figura 6 – A.a), enquanto os dentes da pré-maxila e dentário estavam curvados para dentro e foram deslocados para a borda interna da boca devido a estruturação desses ossos (Figura 6 – A.d), ficando visíveis externamente apenas os dentes do maxilar. O septo transversal na região mediana na cavidade olfativa estava mais pronunciado (Figura 6 – A.b) e os raios encontravam-se bem desenvolvidos nas nadadeiras dorsal, anal (Figura 6 – A.c) e caudal, estando ausentes na nadadeira peitoral (Figura 6 - A.a).

Um par de pequenos botões da nadadeira pélvica foi visualizado 243 h PE na região ventral média do tronco e entre este par a nadadeira embrionária continuava distendida (Figura A.c). Na língua, presente no assoalho da cavidade bucofaríngea (Figura 6 – A.e), estiveram presentes vários botões gustativos (Figura 6 – A.f, destaque de A.e), visualizados também no teto da cavidade (Figura 6 – A.h), mais precisamente na superfície dos arcos branquiais (Figuras 6 – A.g).

Larvas com 339 h PE

Neste momento (Figura 6 – B) as larvas tinham entre 12,30 e 32,00 mm de comprimento total (média de 18,89 ± 3,75 mm), a cavidade olfativa encontra-se dividida em dois orifícios, disposta no sentido antero-posterior (destaque da Figura 6 – B, seta clara), apresentando em seu assoalho um ornamento circular em forma de "roseta", formado por lamelas de epitélio, visível no orifício maior da cavidade (próximo ao olho). Iniciava-se a formação de escamas na região anterior do tronco, próximo ao opérculo (destaque da Figura 6 – B, seta escura) e a nadadeira pélvica estava presente. Estruturas do esqueleto da cabeça e dos raios das nadadeiras caudal, dorsal, anal e pélvicas estavam bem delineadas e evidenciadas. Apenas a nadadeira peitoral ainda possuía sua inserção na forma membranosa,

sem raios totalmente formados. Restavam vestígios da nadadeira embrionária na região ventral, entre as nadadeiras pélvicas.

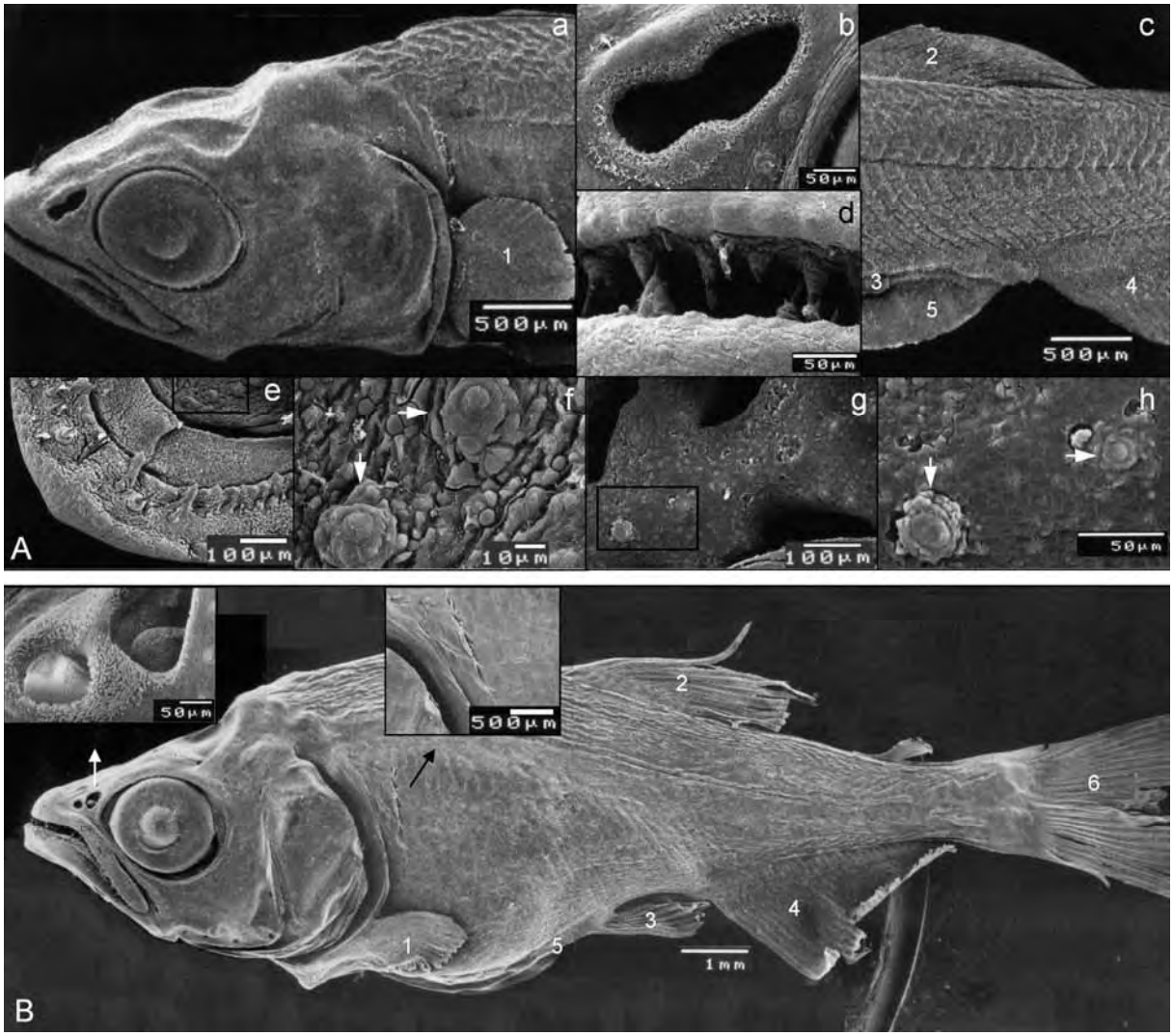

Figura 6 - Eletronmicrografia do desenvolvimento larval de 243 a 339 h PE em *B. amazonicus*. 243 h PE: A.a - vista lateral da região anterior; A.b – destaque da cavidade olfativa; A.c – vista lateral da região mediana do tronco; A.d – boca e dentes; A.e – assoalho da boca; A.f – destaque de A.e = botões gustativos (setas); A.g – ramos superiores dos arcos branquiais; A.h - destaque de A.g = botões gustativos (seta). 339 h PE: B – vista lateral completa, com destaque da cavidade olfativa (seta clara) e formação de escamas (seta escura). Nadadeira peitoral (1), nadadeira dorsal (2), nadadeira pélvica (3), nadadeira anal (4), nadadeira (membrana) embrionária (5) e nadadeira caudal (6).

Larvas de 412 h PE

A partir de 412 h PE apenas algumas estruturas envolvidas na alimentação exógena foram documentadas em MEV. Com 412 h PE as larvas mediam entre 17,80 e 31,40 mm de comprimento total (média de 25,79 ± 3,01 mm). Os lábios formavam uma borda protuberante externamente aos dentes (Figura 7 – A.b), totalmente ornamentada por botões gustativos (Figura 7 – A.a). Os dentes possuíam base revestida e encontravam-se voltados para dentro,

apresentando-se longos e pontiagudos na maxila (seta na Figura 7 – A.b), e largos na região frontal do dentário (Figura 7 – A.c) e pré-maxila. Assim como os lábios, a língua apresentava superfície repleta de botões gustativos (Figura 7 – A.d).

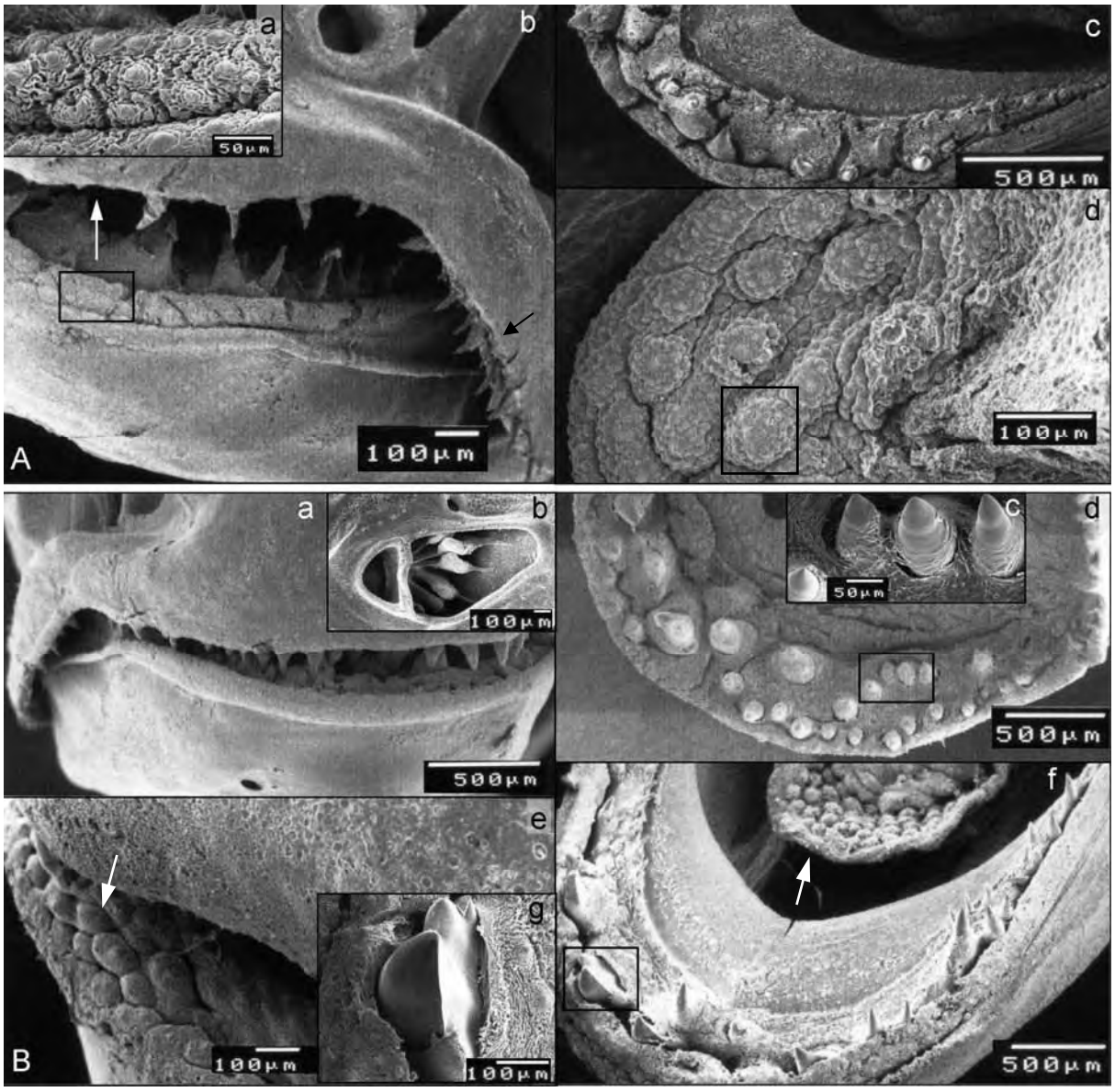

Figura 7 - Eletronmicrografia do desenvolvimento larval com 412 e 579 h PE em *B. amazonicus*. 412 h PE: A.a – botões gustativos no lábios (destaque de A.b); A.b – boca (seta escura = dentes da maxila); A.c – dentário; A.d – língua com botões gustativos (destaque). 579 h PE: B.a – vista frontal da boca; B.b – cavidade olfativa; B.c – dentes da pré-maxila; B.d – pré-maxila; B.e - botões gustativos do lábio inferior (seta); B.f – dentário e língua (seta); B.g – dente da região frontal do dentário.

Juvenis com 579 h PE

Devido ao amadurecimento da inserção da nadadeira peitoral, desaparecimento da nadadeira embrionária, corpo completamente recoberto por escamas e total formação de raios nas nadadeiras, a partir de 579 h PE os indivíduos foram considerados juvenis. Neste

momento o comprimento total esteve entre 34,40 e 77,40 mm (média de 48,94 ± 10,97 mm). Todas as estruturas esqueléticas da boca estavam delineadas (Figura 7 – B.a). Os dentes da pré-maxila apresentaram-se mais grossos em direção a região frontal da boca (Figura 7 – B.d), possuindo base larga e ápice pontiagudo formado por uma única cúspide (Figura 7 – B.c), diferente da região frontal do dentário (Figura 7 – B.f), onde os dentes também eram grossos e largos, porém abaulados em sua face externa (vestibular), planos na face interna (lingual) e multicuspidados, com uma cúspide central entre vertentes laterais mais curtas (Figura 7 – B.g). Na maxila e nas laterais do dentário os dentes eram finos, pontiagudos e próximos entre si, alinhados em fila única na maxila e desalinhados em fila dupla no dentário (Figura 7 – B.f). A estrutura da cavidade olfativa, com um orifício menor seguido posteriormente de orifício maior que alojava um "leque" formado por septos, pode ser claramente visualizada na Figura 7 – B.b, e os botões gustativas dos lábios (seta da Figura 7 – B.e) e da língua (seta da Figura 7 – B.f) encontravam-se bem desenvolvidos.

4. DISCUSSÃO

Durante o período analisado os peixes foram mantidos em dois diferentes ambientes, dentro do laboratório (incubadoras) e nos viveiros, para onde foram com aproximadamente 63 h PE. No laboratório não ocorreram grandes variações nas médias das variáveis físico-químicas da água, ao contrário do que foi observado no viveiro, onde os valores foram mais variáveis, porém aceitáveis para o crescimento de peixes tropicais (SIPAÚBA-TAVARES, 1995).

O tempo de presença das reservas alimentares endógenas, observado em *B. amazonicus* deste estudo, é similar ao observado para a mesma espécie por Mira-López et al. (2007), onde as reservas endógenas deixaram de ser visualizadas 42 h após a eclosão. Em larvas de *B. amazonicus* aqui estudadas, com temperatura da água de 27,98 ± 0,81 ºC em laboratório, apenas vestígios de vitelo restavam por volta de 47 horas de vida livre, período próximo ao relatado para outras espécies de *Brycon*. Em *B. insignis* o vitelo foi totalmente absorvido aproximadamente 40 horas após a eclosão em 26 ± 1 ^{o}C (ANDRADE-TALMELLI et al., 2001), em *Brycon orthotaenia* o saco vitelino não esteve mais presente no início do terceiro dia após a eclosão em 25 ºC (SAMPAIO, 2006) e em *B. cephalus*, Lopes et al. (1995) e Romagosa et al. (2001) relataram que com o início da alimentação exógena, aproximadamente 26 horas após a eclosão, ainda havia saco vitelino presente, com 30 ^{o}C e 26 ± 2 ^{o}C, respectivamente.

Segundo Kamler (2007), nos primeiros momentos de vida a taxa de absorção de vitelo em geral é reduzida e aumenta lentamente com a ontogenia, devido a aumento da taxa metabólica, conseqüência do desenvolvimento da habilidade natatória e da respiração branquial. Em *B. amazonicus*, o período em que ocorreu a maior queda do volume do saco vitelino correspondeu ao intervalo em que o índice de eficiência de consumo de vitelo cresceu acentuadamente, entre 17 e 33 horas após a eclosão, mesmo intervalo em foram notadas importantes alterações morfológicas. O deslocamento da boca para posição terminal, desenvolvimento do sistema nervoso central, de estruturas musculares e esqueléticas da cabeça e do tronco, com conseqüente aprimoração da habilidade natatória verificada neste período, certamente resultaram em alta taxa metabólica e acentuado gasto energético, comparado às primeiras horas da fase larval, quando os indivíduos não se locomoviam por conta própria, ficando a mercê do fluxo de água e dispensando poucos gastos energéticos.

A habilidade natatória foi gradualmente se tornando mais eficiente e a partir de 29 h PE, quando o tubo digestório estava aberto e a vesícula gasosa inflando (ver Capítulo 4), larvas forrageiras foram oferecidas, e as larvas de *B. amazonicus* mostraram-se caçadoras vorazes, o que nos primeiros momentos pode ter resultado em altos gastos energéticos, que aceleraram o consumo de vitelo, já bastante reduzido até então, chegando à exaustão poucas horas depois. Kamler (2007) afirma que o aumento de energia despendida para o desenvolvimento do aparelho locomotor resulta em aumento de consumo do vitelo, com o acesso à alimentação externa podendo acelerar a absorção da reserva energética endógena devido à síntese de tecidos corporais.

O deslocamento da boca para a posição terminal, a pigmentação da vesícula óptica (ver Capítulo 5) e nítido desenvolvimento da respiração branquial, da musculatura no tronco e aprimoramento da habilidade natatória, antes do início da alimentação exógena em *B. amazonicus*, sugere a prioridade de obtenção de características mínimas necessárias para a captura de alimento exógeno antes da exaustão das reservas endógenas em larvas da espécie.

Assim como em *B. amazonicus*, foi observado em larvas de *B. orbignyanus* e *B. orthotaenia*, o desenvolvimento de um conjunto de características morfológicas favorável à predação, como desenvolvimento de arcos branquiais, das nadadeiras peitorais, da cavidade olfatória e presença de neuromastos livres logo após a eclosão, seguido da presença de alvéolos dentários, desenvolvimento do sistema nervoso central e início da pigmentação do olho no primeiro dia de vida livre (MACIEL, 2006 e SAMPAIO, 2006, respectivamente).

Em *B. orbignyanus*, os primeiros botões gustativos foram visualizados 20 horas após a eclosão (MACIEL, 2006), enquanto em *B. orthotaenia* eles só foram vistos após o início da

alimentação exógena (SAMPAIO, 2006). Em ambos os casos, assim como em *B. amazonicus*, eles aumentaram em número e em tamanho durante o desenvolvimento larval. Segundo Matsuoka (2001), em peixes o padrão de distribuição dos botões gustativos varia entre as espécies, podendo ser encontrados na cavidade bucofaríngea, na superfície de nadadeiras, lábios, cabeça e sobre todo o corpo. O autor afirma que os órgãos olfatórios e botões gustativos operam como quimiorreceptores, com função de captar, respectivamente, o cheiro e o gosto de substâncias saturadas na água.

Cestarolli (2005) observou que no início do fornecimento de ração larvas de *Pseudoplatystoma coruscans* faziam a apreensão de partículas de alimento e sua eventual devolução após alguns instantes, sugerindo que a presença de botões na cavidade bucofaríngea da espécie deve responder pela percepção da palatabilidade do alimento apreendido antes da ingestão, permitindo às larvas de peixes selecionarem o alimento ingerido. Pela distribuição e quantidade de botões gustativos observados em *B. amazonicus* deste estudo, possivelmente larvas da espécie aqui estudada também são capazes de realizar seletividade alimentar.

Appelbaum e Riehl (1997) verificaram que em *Cyprinus carpio* o sentido da visão predominava na busca e captura de alimento, e no início da fase larval o olho crescia de forma expressiva, considerando o sentido visão de fundamental importância nas fases inicias do ciclo de vida de predadores visuais. Em *B. amazonicus* o rápido crescimento do olho também foi visualizado nos primeiros estágios larvais (ver Capítulo 5), indicando ser uma estrutura fundamental neste período.

A presença de lamelas no assoalho da cavidade olfatória, visualizada em *B. amazonicus*, também teve sua formação inicial observada em *B. orbignyanus* (MACIEL, 2006). Em *B. amazonicus* estas lamelas estavam dispostas paralelamente em forma de "roseta", como descrito em *Sardinops melanostictus* (MATSUOKA, 2001), em *Thunnus orientalis* (KAVAMURA et al., 2003) e em *Engraulis japonicus* (anchova) (UYAN et al., 2006). Matsuoka (2001) e Uyan et al. (2006) verificaram que cada lamela é recoberta por epitélio sensorial na base e nas laterais, e não sensorial na margem. Os autores sugerem que este tipo de estrutura indica que o peixe tem alta acuidade olfatória.

A placa olfatória revestida por epitélio ciliado já no início do desenvolvimento de *B. amazonicus*, também foi observada em larvas de outros teleósteos, como em *Cyprinus carpio* (APPELBAUM E RIEHL, 1997), em *Pseudoplatystoma coruscans* (CESTAROLLI, 2005) e nos peixes marinhos *Sardinops melanostictus* (MATSUOKA, 2001) e *Thunnus orientalis* (KAVAMURA et al., 2003), nos quais, segundo os autores, o epitélio era composto

principalmente por três tipos celulares: células ciliadas sensoriais, células receptoras com numerosas e curtas microvilosidades, e células ciliadas não sensoriais. Segundo Appelbaum e Riehl (1997) e Matsuoka (2001), cílios não sensoriais no início do desenvolvimento são responsáveis pela movimentação ativa da água sobre o epitélio olfativo enquanto as larvas possuem pouca ou nenhuma mobilidade, com seu número diminuindo após o desenvolvimento da habilidade natatória.

A alteração na posição da boca, em conjunto com a forma e distribuição dos dentes *B. amazonicus* durante o desenvolvimento larval, está relacionada ao seu hábito alimentar neste período. Segundo Leite e Araújo-lima (2002) na fase larval os indivíduos se alimentam de zooplâncton, principalmente de larvas de outros peixes. Leite (2004) observou que após o período larval, o hábito de comer ictioplâncton permaneceu em juvenis de todos os tamanhos analisados, sendo observada também a ocorrência de microcrustáceos e insetos na maioria dos indivíduos. Eventualmente plantas e sementes estiveram presentes no conteúdo ingerido, em maior ou menor quantidade, dependendo da época e local de coleta, com a autora classificando juvenis da espécie como oportunistas.

Zavala-Camin (1996) classifica como onívoros peixes que selecionam alimento animal e vegetal vivo, em quantidades equilibradas, podendo ser onívoros com tendência a carnívoros quando a porção animal predomina entre os itens alimentares, passando a ser oportunistas quando precisam aproveitar alimentos disponíveis em determinado local e época do ano, como relatado para juvenis de *B. amazonicus* neste trabalho.

Rodrigues et al. (2006) afirmam que a boca, a cavidade oral e a faringe estão associadas com a captura, orientação e preparação pré-digestiva do alimento e que peixes onívoros geralmente apresentam boca em posição terminal. Os autores estudaram piau *Leporinus macrocephalus*, e observaram que os lábios apresentavam muitas papilas. Tal fato também foi visualizado no final do período larval em *B. amazonicus*, sugerindo que os lábios contribuem na preensão do alimento.

Em *B. amazonicus* deste estudo, apesar do marcante desenvolvimento dos dentes orais e de sua postura voltada para trás nos indivíduos maiores, desde o início da alimentação exógena foi verificada a ingestão de presas (larvas forrageiras) inteiras, sugerindo a função dos dentes na preensão da presa para que esta pudesse ser ingerida, como afirmou Zavala-Camin (1996) quando relatou que, nos peixes que engolem suas presas inteiras, os dentes têm função de segurar o alimento. Rodrigues et al. (2006) sugerem que em espécies onívoras os dentes orais servem para preparação pré-digestiva do material alimentar de origem vegetal e para captura e preensão do alimento de origem animal. A função de preensão do alimento

também foi atribuída aos dentes orais para fases iniciais de *Brycon moorei* (VANDEWALLE et al., 2005) e em adultos de *Rita rita* (YASHPAL et al., 2006).

Dentes cobertos em parte por epitélio, como visualizados mesmo nos maiores indivíduos analisados de *B. amazonicus*, também foram observados em *B. moorei* (VANDEWALLE et al., 2005) e em adultos de *Rita rita* (YASHPAL et al., 2006). Vandewalle et al. (2005) estudaram o desenvolvimento do esqueleto da cabeça de *B. moorei* e observaram que no momento da eclosão estruturas esqueléticas eram ausentes. Em *B. moorei* o primeiro dente oral apareceu três horas após a eclosão, permanecendo ocluso até 42 horas mais tarde, quando a maioria dos dentes apresentava-se pontiaguda e fina, perfurando o epitélio. Com 199 horas após a eclosão os dentes de *B. moorei* estavam curvados para trás, e dentes multicuspidados estiveram presentes 512 horas após a eclosão, como também foi observado em *B. amazonicus*.

Segundo Vandewalle et al. (2005), o início da alimentação exógena implica na necessidade de uma cavidade bucal razoavelmente rígida na periferia para evitar que partes da cabeça, especialmente do cérebro, sejam danificadas. Os autores afirmam que em *B. moorei* não havia isolamento esquelético entre a cavidade bucal e o cérebro quando a alimentação exógena começou, sugerindo que a ingestão alimentar é mais importante para a sobrevivência do que o isolamento da cavidade bucal em espécies que precisam crescer rapidamente para reduzir a pressão ambiental da predação, apresentando ser uma estratégia arriscada. Em larvas de *B. amazonicus* o desenvolvimento de estruturas ósseas da cabeça não foi analisado, porém, por serem peixes do mesmo gênero e pelo aspecto superficial da cabeça no momento em que a alimentação exógena iniciou-se, provavelmente este isolamento também estava ausente neste momento.

Em relação a função da nadadeira embrionária, distendida amplamente no plano sagital mediano das larvas de *B. amazonicus* até o surgimento dos primeiros raios das nadadeiras impares, quando passou a ser lentamente reabsorvida, foi sugerido por Van Snik et al. (1997) que esta membrana ("finfold") possivelmente está relacionada ao modo de locomoção nos momentos iniciais, mas principalmente à respiração, aumentando a área da superfície para a respiração cutânea nos primeiros dias de vida. Segundo estes autores, sua função essencial para a sobrevivência é sugerida pelo fato das larvas usarem energia para construir a nadadeira embrionária, que em sua maior parte será reabsorvida em curto intervalo de tempo, em um momento de fonte limitada de recursos.

Segundo Van Snik et al. (1997), durante a absorção da "finfold" ocorre o desenvolvimento e acomodação das brânquias e o comprimento da cabeça aumenta

proporcionalmente (como foi visualizado em *B. amazonicus*, Capítulo 5), enquanto importantes funções a respeito de captura de alimento, ingestão e digestão são desenvolvidas, ao mesmo tempo em que ocorre o crescimento e estruturação das nadadeiras esqueléticas. Quando a nadadeira embrionária é finalmente reabsorvida, a respiração branquial é eficiente e os indivíduos deixaram de utilizar o tipo "anguiliforme" de natação inicial para assumir padrão natatório similar ao do peixe adulto. Neste contexto, sua reabsorção encerra um período de mudanças drásticas na forma do corpo.

Em *B. amazonicus* resquícios da nadadeira embrionária estiveram presentes na região ventral, entre as nadadeiras pélvicas, mesmo nos últimos momentos do período larval, estando ausente apenas a partir de 25 dias de idade (579 horas após a eclosão), sendo esta uma das características que marcou o início do período juvenil (ver Capítulo 5). Van Snik et al. (1997) sugerem que este resquício em larvas mais velhas tenha a mesma função da cauda em girinos de anuros, que serve para reduzir a turbulência e manter o equilíbrio.

Com base nos dados obtidos, o padrão de desenvolvimento de *B. amazonicus* foi rápido, priorizando as estruturas alimentares que permitem a expressão da piscivoria já no início do desenvolvimento, antes da exaustão das reservas energéticas endógenas, assegurando um crescimento acelerado e aumentando as chances de sobrevivência durante a fase larval. A diferenciação simultânea de estruturas natatórias e alimentares ficou clara, assim como a presença e posição de estruturas relacionadas à captura de alimento deixou claro que mesmo as formas iniciais possuem características que as classificam como seletivas em relação à qualidade do alimento.

5. REFERÊNCIAS

ANDRADE-TALMELLI, E. F.; KAVAMOTO, E. T.; ROMAGOSA, E.; FENERICH-VERANI, N. Embryonic and larval development of the "piabanha", *Brycon insignis* Steindachner, 1876 (Pisces, Characidae). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 21-27. 2001.

APPELBAUM, S.; RIEHL, R. Scanning electron microscopic observations of the chemo-and mechanoreceptors of carp larvae (*Cyprinus carpio*) and their relationship to early behaviour. **Aquatic Living Resources**, Montrouge (Franca) ,n. 10, p. 1-12. 1997.

BLAXTER, J. H. S. Development: eggs and larvae. In: HOAR, W. S.; RANDALL, D. J. (eds.). **Fish Physiology**. New York: Academic Press, 1969. v. III, p. 178-252.

BONISLAWSKA, M.; FORMICKI, K.; WINNICKI A. Size of eggs and duration of embryogenesis in fishes. **Acta Ichthyologica et Piscatoria**, Szczecin, Polônia, v. 30, n. 1, p.61-71. 2000.

CESTAROLLI, M. A. **Larvicultura de pintado *Pseudoplatystoma coruscans* (Agassiz, 1829): aspectos da alimentação inicial e do desenvolvimento de estruturas sensoriais.** 2005. 110 p. Tese (Doutorado em Aqüicultura). Universidade Estadual Paulista – UNESP: Jaboticabal, 2005.

FUIMAN, L. A.; POLING, K. R.; HIGGS, D. M. Quantifying developmental progress for comparative studies of larval fishes. **Copeia**, Arizona, v. 3, p. 602-611. 1998.

GISBERT, E.; WILLIOT, P.; CASTELLÓ-ORVAY, F. Influence of egg size on growth and survival to early stages of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) under small scale hatchery conditions. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 183, p. 83-94. 2000.

GOLTERMANN, H. L.; CLYMO, R. S.; OHNSTAD, M. A. M. **Methods for Physical and Chemical Analysis of Freshwaters.** London: Blackweel Science Publication, IBP Handbook number 8, 1978. 214 p.

GOMES, L. C.; URBINATI, E. C. Matrinxã (*Brycon amazonicus*). In: BALDISSEROTO, B.; GOMES, L. C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2005. p. 149-174.

KAMLER, E. Resource allocation in yolk-feeding fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, London, Research Paper, [on line]. Disponível em: <http://www.springer.com>, 58 p. 2007.

KAWAMURA, G.; MASUMA, S.; TEZUKA, N.; KOISO, M.; JINBO, T.; NAMBA, K. Morphogenesis of sense organs in the bluefin tuna *Thunnus orientalis*. **The Big Fish Bang**, Proceedings of the 26th Annual Larval Conference, Bergen (Norway), p. 123-135, 2003.

KENDALL, Jr., A. W.; AHLSTROM, E. H.; MOSER, H. G. Early life history stages of fishes and their characters. In: MOSER, H. G; RICHARDS, W. J.; COHEN, D. M.; FAHAY, M. P.; KENDALL, Jr., A. W.; RICHARDSON, S. L. (Ed.). **Ontogeny and systematic of fishes**: based on the International Symposium dedicated to the memory of Elbert Halvor Ahlstron. Lawrence: American Society of Ichthyologists and Herpetologists, c1983. p. 11-22.

LEITE, R. G. Alimentação de juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus* (Pisces, Characidae), em áreas inundadas da Ilha de Marchantaria, Amazonas, Brasil. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 34, n. 4, p. 661-664. 2004.

LEITE, R. G.; ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M. Feeding of the *Brycon amazonicus*, *Triportheus elongatus* and *Semaprochilodus insignis* (Ostheichthyes, Characiformes), larvae in Solimões/Amazonas river and floodplain areas. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 3, n. 2, p. 56-67. 2002.

LIMA, F. C. T. Subfamily Bryconinae (Characins, Tetras). In: REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS Jr, C. J. (eds.). **Check list of the freshwater fishes of South and Central America.** Porto Alegre: EDPURCS, 2003, p. 174-181.

LOPES, R. N. M.; SENHORINI, J. A.; SOARES, M. C. F. Desenvolvimento embrionário e larval do matrinxã *Brycon cephalus* Günther, 1869, (Pisces, Characidae). **Boletim Técnico do CEPTA**, Pirassununga, v. 8, p. 25-39. 1995.

MACIEL, C. M. R. R. **Ontogenia de larvas de piracanjuba, *Brycon orbignyanus* Valenciennes (1849) (Charciformes, Characidae, Bryconinae)**. 2006. 229 p. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Federal de Viçosa: Viçosa, 2006.

MATSUOKA, M. Development of sense organs in the Japanese sardine *Sardinops melanostictus*. **Fisheries Science**, Tokyo, v. 67, p. 1036-1045. 2001

NAKATANI, K.; AGOSTINHO, A. A.; BAUMGARTNER, G.; BIALETZKI, A.; SANCHES, P. V.; CAVICCHIOLI, M. **Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação.** Maringá: EDUEM/Nupélia, 2001, 359p.

NEUMANN, E. **Características do desenvolvimento de duas linhagens de tilápia *Oreochromis niloticus* e uma linhagem híbrida de *Oreochromis* sp.** 2004. 65 p. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura). Centro de Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista – UNESP: Jaboticabal. 2004.

OLIVEIRA, A. M. B. M. S.; CONTE, L.; CYRINO, J. E. P. Produção de Characiformes autóctones. In CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C.; FRACALOSSI, D. M.; CASTAGNOLLI, N. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce.** São Paulo: TecArt. 2004. P. 217-237.

OSSE, J. W. M. Form changes in fish larvae in relation to changing demands of function. **Journal of Zoology (Netherlands)**, v. 40, n. 1-2, p. 362-385. 1990.

POLO, A.; YÚFERA, M.; PASCUAL,E. Effects of temperature on egg and larval development of *Sparus aurata* L. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 92, p. 367-375. 1991.

RODRIGUES, S. S.; NAVARRO, R. D.; MENIN, E. Adaptações anatômicas da cavidade bucofaringeana de *Leporinus macrocephalus* Garavello & Britski, 1988 (Pisces, Characiformes, Anostomidae) em relação ao hábito alimentar. **Biotemas**, Florianópolis, v. 19, n. 1, p. 51-58. 2006.

ROMAGOSA, E.; NARAHARA, M. Y.; FENERICH-VERANI, N. Stages of embryonic development of the "matrinxã", *Brycon cephalus* (Pisces, Characidae). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 29-32. 2001.

SAMPAIO, K. H. **Superfície ovocitária e desenvolvimento inicial de quatro espécies de peixes de interesse comercial da bacia do rio São Francisco.** 2006. 53 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular). Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais: Belo Horizonte, 2006.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. **Limnologia aplicada à aqüicultura**. Jaboticabal: Funep – UNESP. 1995. 70 p.

UYAN, S.; KAWAMURA, G.; VASQUES- ARCHDALE, M. Morphology of the sense organs of anchova *Engraulis japonicus*. **Fisheries Science**, Tokyo, v. 72, p. 540-545. 2006.

VANDERWALLE, P.; GERMEAU, G.; BESANCENET, P.; PARMENTIER, E.; BARAS, E. Early development of the head skeleton in *Brycon moorei* (Pisces, Ostariophysi, Characidae). **Journal of Fish Biology**, London, v. 66, p. 996-1024. 2005

VAN SNIK, G. M. J.; VAN DEN BOOGAART, J. G. M.; OSSE, J. W. M.. Larval growth patterns in *Cyprinus carpio* and *Clarias gariepinus* with attention to the finfold. **Journal of Fish Biology**, London, v. 50, p. 1339-1352. 1997.

VON-HERBING, H. Development of feeding structures in larval fish with different life histories: winter flounder and Atlantic cod. **Journal of Fish Biology**, London, v. 59, p. 767–782. 2001.

WOYNAROVICH, E.; HORVÁTH, L. **A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão.** Brasília: FAO/CODEVASF/CNPq. 1983. 225p.

YASHPAL, M.; KUMARI, U.; MITTAL, S.; MITTAL, A. J. Surface architecture of the mouth cavity of carnivorous fish *Rita rita* (Hamilton, 1822) (Siluriformes, Bagridae)**. Belgian Journal of Zoology, Antwerp, (**Belgium), v. 136, n. 2, p. 155-162. 2006.

ZAVALA-CAMIM, L. A. **Introdução ao estudo sobre alimentação natural de peixes.** Maringá: EDUEM, 1996. 129 p.

Capítulo 4 – Ontogenia do trato digestório de *Brycon amazonicus* (Teleostei, Characidae).

RESUMO

Entre as alterações morfológicas que mais influenciam na sobrevivência e crescimento dos peixes durante o início do ciclo de vida, está a formação do sistema digestório, com sua complexidade variando de acordo com a espécie e seu hábito alimentar. A espécie *Brycon amazonicus* tem hábito alimentar onívoro e não existem na literatura estudos conclusivos sobre sua necessidade nutricional durante a ontogenia. Este estudo visa descrever o desenvolvimento do trato digestório de *B. amazonicus* por meio de análise anatômica e histológica de suas estruturas, a fim de contribuir na compreensão das necessidades alimentares no início do ciclo de vida da espécie. Coletas foram realizadas na Piscicultura Buriti (S 18^{o} 51" - W 56^{o} 11"), em Nova Mutum – MT, de dezembro de 2004 a janeiro de 2005. Os peixes foram mantidos em laboratório até 63 h PE, com temperatura média da água de 27,98 ± 0,81 ^{o}C, sendo então transferidos para viveiros com temperatura média no período amostrado de 30,30 ± 1,98 ^{o}C. Foram coletados indivíduos de 1 a 25 dias de idade, com o processo de amadurecimento do tubo digestório sendo registrado em câmara clara. Posteriormente o material foi submetido à rotina de histologia com obtenção de cortes com 5 µm de espessura, corados em HE. Ao nascer as larvas tinham trato digestório como um tubo simples, composto por cordão de células indiferenciadas localizado posteriormente ao saco vitelino. Com 24 h PE a cavidade bucofaríngea estava aberta, porém em região posterior o tubo digestório continuava fechado. Com 25 h PE o tubo digestório apresentou-se aberto em toda sua extensão, podendo ser dividido em cavidade bucofaríngea, esôfago e intestino, e este último estava revestido por tecido epitelial cilíndrico. Neste mesmo momento deu-se o início da formação da vesícula gasosa com ducto ligado ao esôfago. A alimentação exógena iniciou-se 29 h PE, quando a cavidade bucofaríngea e esôfago estavam revestidos por epitélio estratificado pavimentoso, passando para cilíndrico simples no intestino. Com 35 h PE um septo surgiu na porção final do intestino, e uma bolsa intestinal se formou em sua porção proximal, ao mesmo tempo em que pregas da mucosa se formaram no intestino médio. O início da diferenciação do estômago ocorreu 83 h PE, quando o esôfago apresentava dobras longitudinais na mucosa e seu epitélio estava revestido por células de muco. Três regiões estiveram diferenciadas no estômago com 171 h PE: cárdica, cecal e pilórica, com as primeiras glândulas estomacais surgindo na região cárdica. Com 243 h PE foram visualizados inúmeros cecos pilóricos em formação na porção anterior do intestino e a forma de U do estômago estava claramente definida. Apesar do trato digestório estar aberto 25 h PE e do início da alimentação ter sido verificado 29 h PE, todas as estruturas que compõem o sistema digestório só estiveram presentes a partir de 243 h PE.

Palavras-chave: *Brycon* amazonicus, sistema digestório, desenvolvimento inicial, anatomia, histologia.

1. INTRODUÇÃO

Um dos entraves para a produção de peixes nativos é a falta de conhecimento sobre suas fases inicias de desenvolvimento. Ao nascer, larvas de peixes em geral se nutrem de vitelo e seus sistemas orgânicos estão incompletos. Durante o desenvolvimento, as larvas adquirem caracteres transitórios que são aparentemente adaptações para a fase em que se encontram (KENDALL et al., 1983).

Entre as alterações morfológicas que mais influenciam na sobrevivência e crescimento dos peixes durante o início do ciclo de vida, está a formação do sistema digestório, que passa por profundas mudanças em sua estrutura e função, determinando alterações no hábito alimentar e no processo de obtenção de nutrientes. De acordo com Mangetti (2006), para o sucesso da criação racional de uma espécie de peixe é essencial o conhecimento de seus hábitos alimentares e das características morfológicas do sistema digestório, em especial durante seu desenvolvimento inicial.

Larvas de peixes apresentam em comum trato digestório rudimentar, que precisa passar por transformações para obter a forma adulta e, devido a simplicidade de seu trato digestório no início do ciclo de vida, são menos eficientes na obtenção de nutrientes e muito sensíveis a mudanças de dieta (ZAVALA-CAMIN, 1996). Sua alimentação, nesta fase inicial, depende principalmente de alimentos vivos (GALVÃO et al., 1997).

O crescimento de larvas de peixes e a complexidade do trato digestório vão se caracterizando de acordo com a espécie e seu hábito alimentar. Quanto mais profunda for a mudança de hábito alimentar da espécie durante a ontogenia, maior será a variação nas características do tubo digestório (MANGETTI, 2006).

Cestarolli (2005) afirma que 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 ambientais necessárias.

A espécie *Brycon amazonicus* é amplamente cultivada no Brasil. Ocorre na Amazônia brasileira (LIMA 2003) e foi estudada até recentemente como se tratando de *Brycon cephalus* (GOMES e URBINATI, 2005). De acordo com estes autores, seu hábito alimentar é onívoro e ainda não existem na literatura estudos conclusivos sobre seu requerimento nutricional durante o desenvolvimento inicial.

Neste estudo, os peixes foram provenientes do rio Guaporé - MT, onde *B. amazonicus* é popularmente conhecida como “jatuarana”. É um *Brycon* de coloração levemente dourada nos flancos e escura no dorso, que é largo e abaulado, e segundo Feitosa (2004), pode medir

até 1 metro e chegar a 8 quilos, sendo encontrada principalmente em lagos formados logo abaixo de cachoeiras.

Peixes do gênero Brycon são muito sensíveis às alterações em seu habitat natural, e estão ameaçados pelas agressões ambientais causadas por causa do desmatamento ciliar, da construção de barragens e poluição dos rios, levando vários grupos de pesquisa a intensificarem estudos visando a viabilização destes peixes na piscicultura (OLIVEIRA et al., 2004), visando também a compreensão de suas necessidades tróficas e de habitat.

Buscando oferecer informações que possam contribuir na compreensão da obtenção e assimilação de nutrientes durante o desenvolvimento inicial de *B. amazonicus*, este estudo teve por objetivo descrever o desenvolvimento do trato digestório por meio de análise anatômica e histológica de suas estruturas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram relizadas coletas na Piscicultura Buriti (S 18^{o} 51" - W 56^{o} 11"), no município de Nova Mutum – MT, de dezembro de 2004 a janeiro de 2005.

A temperatura da água (termômetro de bulbo de mercúrio), o pH (potenciômetro digital), o oxigênio dissolvido (oxímetro digital), a alcalinidade e amônia foram monitorados, sendo as duas últimas variáveis determinadas pelos métodos de Goltermann et al. (1978). Amostras de água para determinar os valores de amônia foram congeladas para análise no Laboratório Central do Centro de Aqüicultura da UNESP. As demais análises de água foram realizadas na própria piscicultura.

Peixes sexualmente maduros foram submetidos à reprodução induzida. Como estímulo hormonal foi utilizado hipófise de carpa na forma comercial (seca em acetona), sendo ingetadas, em fêmeas, doses de 0,5 mg/kg e 5,0 mg/kg, com intervalo de 10 horas entre as aplicações. Os machos receberam dose de 1,0 mg/kg no momento da última dose em fêmeas.

Os peixes foram anestesiados em solução de benzocaína (2 g dissolvida em 150 mL de álcool 96^{o}GL e diluída em 20 litros de água) para extrusão dos gametas. A fertilização foi feita adicionando-se sêmen aos ovócitos, com adição de água após a homogenização dos gametas para ativação destes e hidratação dos ovos, que em seguida foram lavados e acondicionados em incubadoras cônicas, com capacidade de 200 litros.

As larvas foram mantidas nas incubadoras até aproximadamente 63 h após a eclosão, período em que foram alimentadas com larvas forrageiras. Em seguida foram transferidas para berçários de 1,5 m x 1,0 m x 0,75 m com malha de 2,0 mm de diâmetro, colocados em viveiros de 600 m^2 abastecidos com água de represa, onde permaneceram até 25 dias de idade.

Em cada berçário foram estocadas 3000 larvas (4 larvas/litro), que foram alimentadas com ração comercial farelada (40% de proteína bruta) fornecida quatro vezes ao dia.

Duas proles da espécie foram analizadas, coletando-se 10 larvas de cada prole nos diferentes momentos amostrados: a cada hora até 11 horas após a eclosão (PE), em intervalos de duas horas até 35 h PE, de três horas até 59 h PE, de quatro horas até 83 h PE, de seis, oito e 12 horas, até 107, 123 e 147 h PE (7º dia), respectivamente, seguidas de coletas diárias no 8^o, 9^o, 11^o, 13^o, 15^o, 18^o, 22^o e 25^o dia.

As amostras foram fixadas em formol a 10% tamponado por 24 horas e transferidas para álcool 70%, sendo transportadas à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista – FCAV/UNESP, no Campus de Jaboticabal - SP, e processadas no Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal.

Momentos de alterações anatômicas foram registrados por meio de contorno em nanquim sobre imagem refletida em câmara clara acoplada a estereomicroscópio (Leica MZ 95), quando o termo "tubo digestório" foi utilizado devido a não inclusão da cavidade bucofaríngea, segundo Zavala-Camim (1996).

Para análise em microscopia de luz o material foi desidratado em baterias de soluções alcoólicas de etanol em concentrações crescentes (80%, 90% e 100%), diafanizado em Xilol, infiltrado e incluído em parafina, e cortado em micrótomo com 5 µm de espessura. Os cortes foram montados em lâminas, corados com Hematoxilina e Eosina - HE (TOLOSA et al., 2003), sendo posteriormente documentados em fotomicroscópio (Leica DM 2500).

Para a descrição do desenvolvimento do trato digestório, de acordo com a diferenciação de regiões distintas, foram assumidas as divisões morfológicas segundo Bértin (1958): intestino cefálico, que corresponde à cavidade bucal e faringe; intestino anterior, que equivale ao segmento envolvendo esôfago e estômago (quando presente); intestino médio, ou intestino propriamente dito, que nesta pesquisa corresponde ao segmento entre o estômago e o septo (quando presente) identificado na região posterior do tubo digestório; e intestino posterior, que corresponde ao segmento localizado após o septo intestinal.

3. RESULTADOS

Valores médios de variáveis físico-químicas da água, obtidos durante o período de coletas, estão representados na Tabela I. Durante o período analisado os peixes foram mantidos em dois diferentes ambientes, dentro do laboratório (incubadoras) e nos viveiros, para onde foram com aproximadamente 63 h PE.

Tabela I. Valores médios de variáveis físico-químicas da água durante o período estudado, em dois diferentes ambientes utilizados, seguidos de seu respectivo desvio padrão (S), valor máximo e mínimo.

	O_2 (mg/L)	pH	Alcalinidade (mg/L)	Amônia (mg/L)	Temperatura (^oC)	Local
média	6,70	6,80	77,33	0,061	27,98	
S	0,29	0,07	4,80	0,022	0,81	Incubadoras
máximo	7,00	7,0	84,00	0,092	29,40	
mínimo	5,91	6,7	72,00	0,038	25,50	
média	6,39	8,02	92,89	0,855	30,30	
S	1,86	0,71	8,07	0,413	1,98	Viveiro
máximo	10,00	8,90	104	1,300	34,80	
mínimo	4,11	7,10	82	0,237	27,00	

Descrição anatômica do tubo digestório

A Figura 1 apresenta o desenvolvimento ontogenético do tubo digestório de *B. amazonicus*, monitorado em estereomicroscópio. A forma de tubo simples, sem regiões definidas, foi identificada 25 h PE (Figura 1 – A), quando apenas uma constrição leve foi visualizada após a extremidade anterior do tubo, delimitando o esôfago, seguido de uma curvatura descendente que marca o local de união do tubo ao saco vitelino das larvas.

A formação de uma "bolsa" originada a partir de dilatação da região anterior do tubo digestório foi registrada 35 h PE (Figura 1 – B), quando pregas intestinais transversais surgiram na metade posterior do tubo simples, seguidas de pregas longitudinais dispostas paralelamente em sua extremidade final. Neste momento, o tubo digestório pode ser macroscopicamente dividido em dois segmentos: esôfago (intestino anterior) e intestino médio, sendo o intestino médio subdividido em bolsa intestinal na região proximal, tubo retilíneo com pregas transversais na região média, e intestino afunilado na região distal, com pregas paralelas longitudinais no segmento retal. Com 59 h PE (Figura 1 – C), as diferenças observadas em relação ao momento anterior foram constrições se formando entre as subdivisões intestinais descritas, além de um sulco entre o esôfago e a bolsa intestinal.

Com 83 h PE (Figura 1 – D) pregas paralelas longitudinais marcavam o esôfago e uma dilatação circular entre o esôfago e a bolsa intestinal sugeria o início da formação do estômago, que se encontrava bem desenvolvido 135 h PE (Figura 1 –E), seguido de bolsa intestinal bastante reduzida em relação ao momento anterior, sulcos mais evidentes no intestino médio e região retal bem diferenciada.

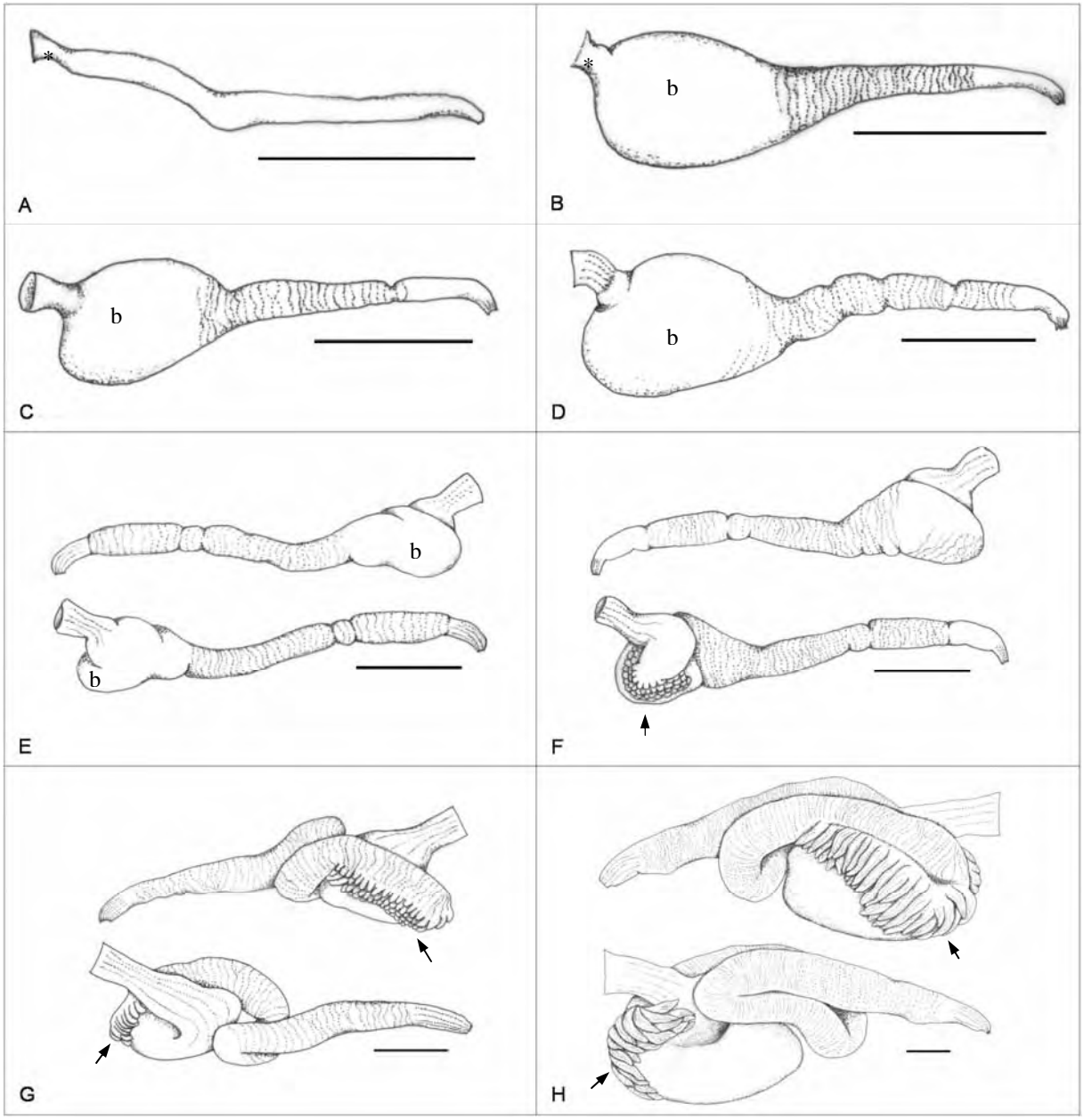

Figura 1 - Desenvolvimento morfológico inicial do tubo digestório de *B. amazonicus*. A – 25 h PE; B – 35 h PE; C – 59 h PE; D – 83 h PE; E – 135 h PE; F – 171 h PE; G – 243 h PE; H – 412 h PE. Escala = 1 mm. Esôfago (asterisco), bolsa intestinal (b) e cecos pilóricos (setas). Obs.: a partir de 135 h PE foram ilustrados lado direito e esquerdo devido à distribuição assimétrica das estruturas.

A Figura 1 – F mostra protuberâncias em fileiras paralelas dispostas em forma de "colarinho" entre o intestino e um estômago muscular em forma de U, dobrado sobre a região dilatada e levemente curvada do intestino, marcando o início da formação dos cecos pilóricos 171 h PE. A partir deste tempo e da presença destas características, o tubo digestório pode ser dividido em intestino anterior contendo esôfago e estômago, intestino médio com pregas transversais em toda sua extensão e cecos pilóricos em sua região proximal, e intestino posterior com reto e ânus.

No momento seguinte, 243 h PE (Figura 1 – G), o tubo digestório adquiriu formato enovelado, com estômago em forma de U disposto lateralmente à uma porção retilínea do intestino, ornamentada em sua porção ventral por dezenas de curtos cecos pilóricos, intestino que ao término da porção pilórica se dobra em forma de N invertido e volta a ser retilíneo após a dobra que se sobrepõem à região cecal do estômago. No último momento amostrado, com 412 h PE (Figura 1 – H), o estômago apresentou-se completamente diferenciado, recoberto posteriormente pela dobra intestinal em forma de N e anteriormente por inúmeros e longos cecos pilóricos.

Descrição histológica do trato digestório

Ao nascer (13 h PF) as larvas possuíam trato digestório indiferenciado, com um epitélio idêntico e contínuo ao tegumento penetrando logo à frente do saco vitelino, marcando o local do posterior desenvolvimento da cavidade bucofaríngea (Figura 2 – A). Este epitélio se reduzia a uma camada simples de células globosas que se prolongou sobre o saco vitelino, transformando-se em um cordão de células indiferenciadas que marcaram o local onde mais tarde iria diferenciar-se o intestino (Figura 2 – B), em posição dorsal e posterior ao saco vitelino.

Com 4 h PE surgiu um primórdio de cavidade bucofaríngea (Figura 2 – C), porém o tubo digestório permanecia indiferenciado posteriormente ao saco vitelino e dorsalmente ao prolongamento do saco vitelino (Figura 2 – D). Três horas mais tarde (7 h PE) a cavidade bucofaríngea estava formada, porém os lábios permaneciam aderidos (Figura 2 – E) e um pequeno lume surgiu na região mediana do tubo digestório, apresentando-se revestido por epitélio cilíndrico simples. Na região posterior do tubo a abertura surgiu 2 horas mais tarde (9 h PE), quando a luz do reto e do pronéfron puderam ser visualizadas (Figura 2 – F).

Com 11 h PE a cavidade bucofaríngea apresentava-se aberta e com os lábios separados, porém a região anterior do tubo digestório continuava fechada por uma membrana conjuntiva (Figura 3 – A) e o lume da região mediana do tubo digestório aumentou longitudinalmente (Figura 3 – B). A porção anterior do tubo digestório se tornou mais espessa e se separou, formando um lume 13 h PE (Figura 3 – C), ao mesmo tempo em que o ânus e o rim apresentavam-se abertos (Figura 3 – D).

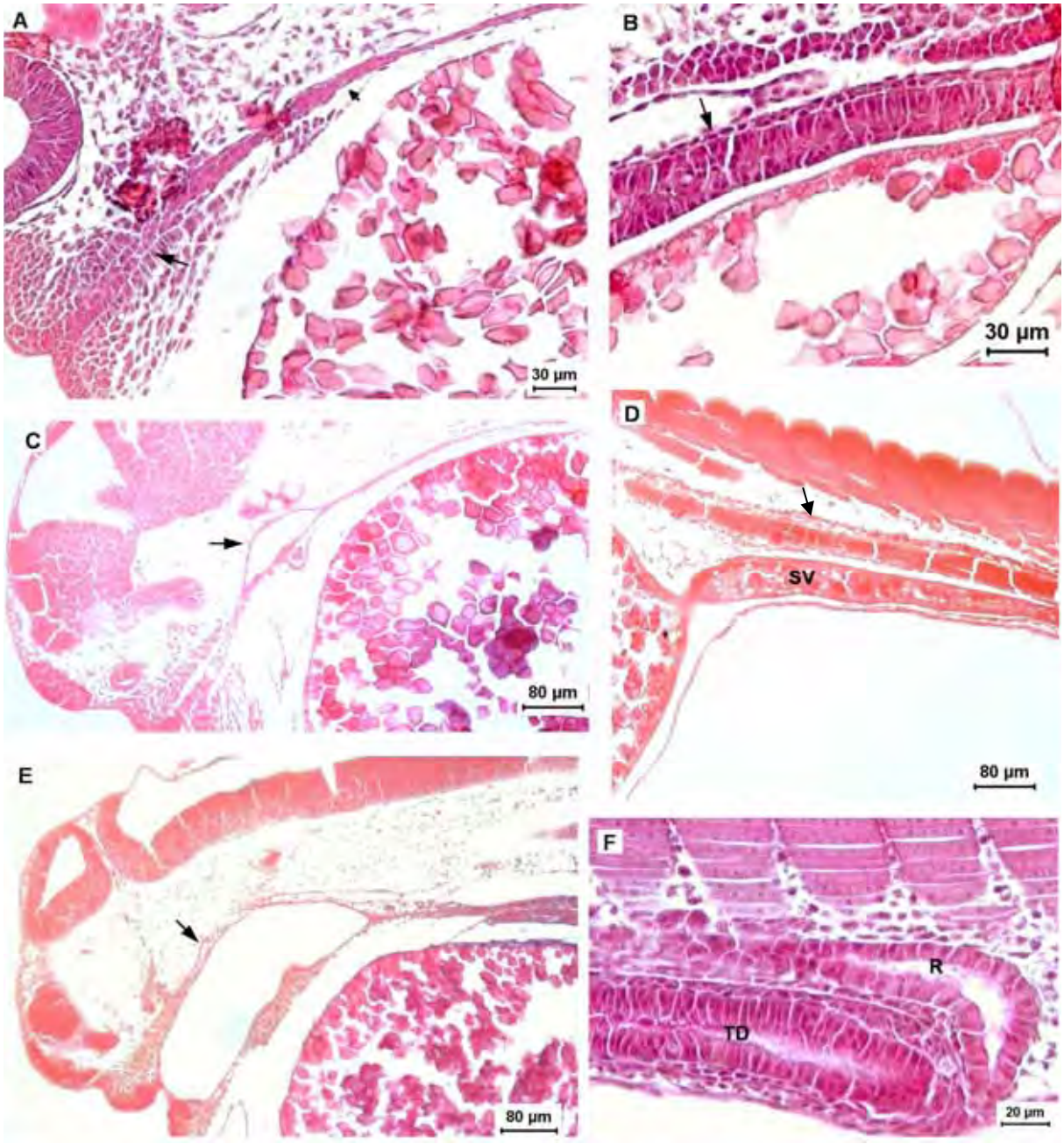

Figura 2 – Fotomicrografia do trato digestório de *B. amazonicus* entre a eclosão e 9 h PE. eclosão: A – primórdio de boca (seta); B – primórdio da região posterior do tubo digestório (seta). 4 h PE: C – início da abertura da cavidade bucal (seta); D – primórdio da região posterior do tubo digestório (seta) e prolongamento do saco vitelino (SV). 7 h PE: E – cavidade bucal (seta). 9 h PE: F - porção final de rim (R) e tubo digestório (TD).

Com 25 h PE o tubo digestório apresentou-se aberto em toda sua extensão, podendo ser dividido em cavidade bucofaríngea, esôfago e intestino (Figura 3 – E), com este último apresentando região proximal mais dilatada e encontrando-se totalmente revestido por tecido epitelial cilíndrico (Figura 3 – G). Também com 25 h PE iniciou-se a formação da vesícula

gasosa, ligada ao esôfago por um ducto conector (Figura 3 – F) e botões gustativos surgiram no teto da cavidade bucofaríngea (Figura 3 – H).

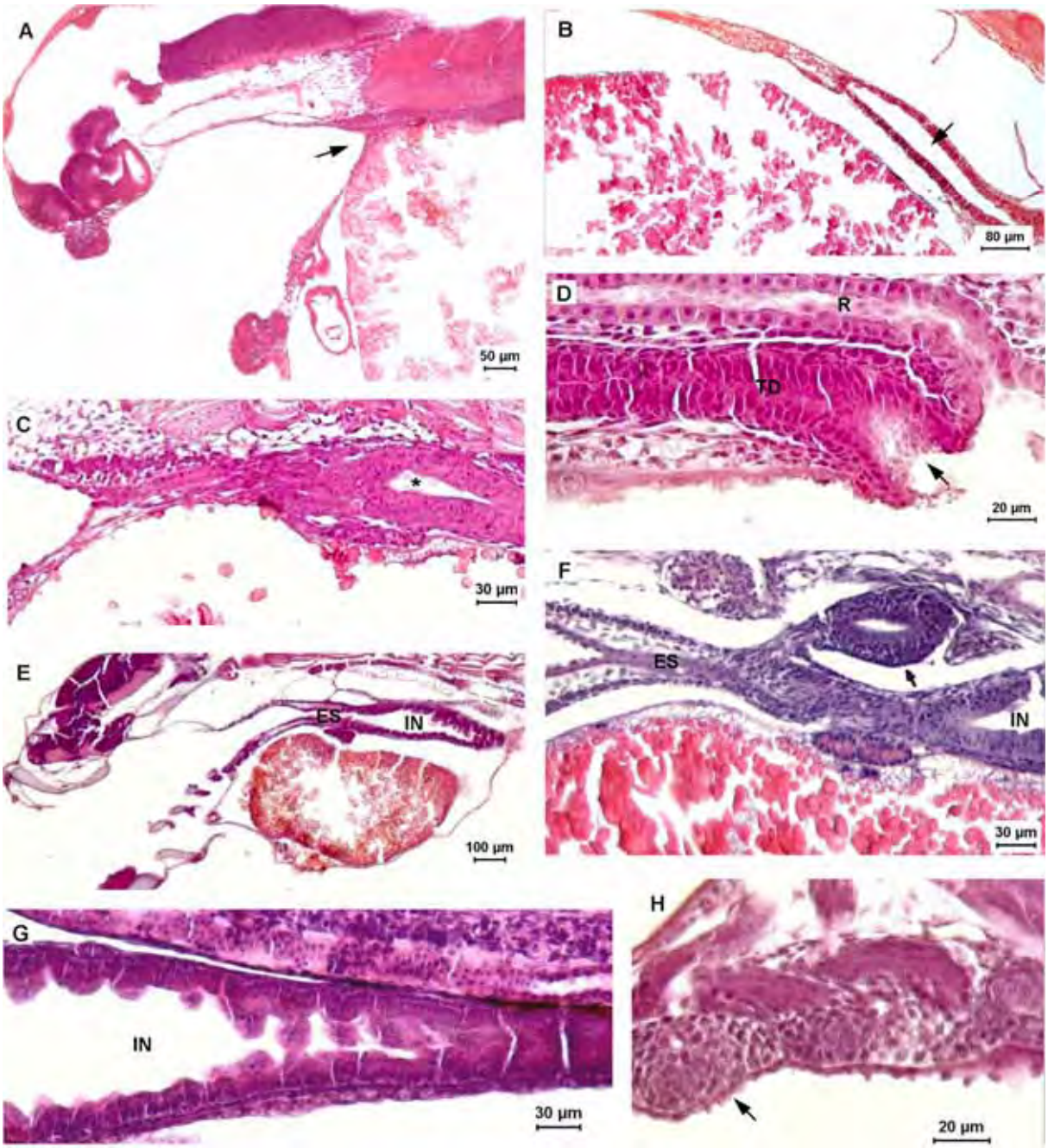

Figura 3 – Fotomicrografia do trato digestório de *B. amazonicus* entre 11 e 25 h PE. 11 h PE: A – cavidade bucal, com porção inicial do tubo digestório fechada (seta); B – lume na porção média do tubo digestório (seta). 13 h PE: C – lume (*) na porção anterior do tubo digestório; D – ânus (seta) e pronefron (R). 25 h PE: E – vista panorâmica da região anterior, F - esôfago (ES), primórdio de vesícula gasosa (seta) e início da formação de bolsa intestinal (IN); G – porção média do tubo digestório; H – botões gustativos no teto da cavidade bucal (seta).

A Figura 4 – A apresenta o momento em que uma larva forrageira estava sendo ingerida, 29 h PE, marcando o início da alimentação exógena e da funcionalidade do tubo digestório. Com 35 h PE longos dentes incisiviformes puderam ser visualizados perfurando os alvéolos dentários e se exteriorizando na pré-maxila (Figura 4 – B), enquanto nas laterais da mandíbula muitos alvéolos dentários estiveram presentes e dentes incisivos formavam protuberâncias, indicando que a exteriorização ocorreria em breve (Figura 4 – C).

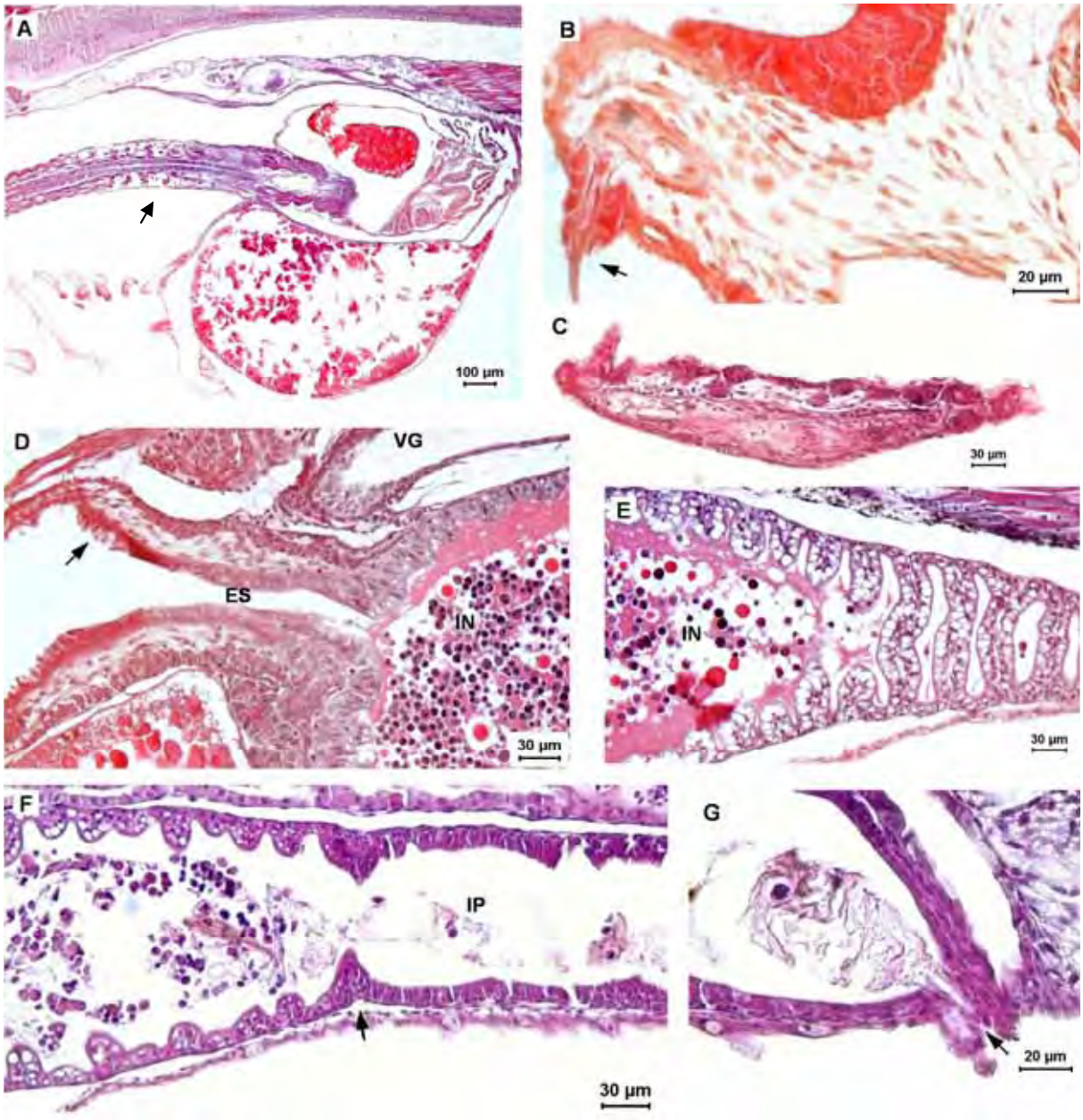

Figura 4 – Fotomicrografia do trato digestório de *B. amazonicus* com 29 e 35 h PE. 29 h PE: A – ingestão de larva forrageira (seta). 35 h PE: B – dente (seta) no pré-maxilar; C - alvéolos de dentes na mandíbula; D - faringe (seta), esôfago (ES), bolsa intestinal (IN) e vesícula gasosa (VG); E - intestino médio (IN); F - septo (seta) entre intestino médio e posterior (IP); G - ânus (seta).

A vesícula gasosa apresentou-se parcialmente inflada com 35 h PE, com seu ducto conector abrindo-se no esôfago (Figura 4 – D). Neste momento um epitélio pavimentoso estratificado recobria a cavidade bucofaríngea e o esôfago, sendo menos espesso na faringe, onde as células superficiais apresentaram prolongamentos citoplasmáticos se projetando para o interior da faringe (Figura 4 - D). No esôfago, que apresentou espessa camada circular de músculo esquelético externamente à sua lâmina própria, ocorreu a transição de epitélio pavimentoso estratificado para cilíndrico simples em sua extremidade distal, marcando o limite entre o esôfago e o intestino (Figura 4 – D).

Com 35 h PE, o trato digestório adquiriu divisões diferentes dos momentos anteriores, passando a ser segmentado em: 1 - intestino cefálico, composto pela cavidade bucal e faringe, 2 – intestino anterior, representado pelo esôfago, 3 - intestino médio, sendo o segmento entre o esôfago e o septo que surgiu na região posterior do tubo digestório (Figura 4 – F), e 4 - intestino posterior, representado pelo segmento após o septo intestinal em formação e segmento retal (Figura 4 – G).

A região proximal do intestino médio apresentou-se dilatada, em forma de bolsa intestinal com 35 h PE, revestida por epitélio cilíndrico simples próximo a junção com o esôfago (Figura 4 – D), que diminuiu em espessura transformando-se em epitélio cúbico simples nas paredes dorsal e ventral da bolsa, ou sua região mais dilatada, voltando a ser cilíndrico em todo o intestino após sua dilatação. Na região distal do intestino médio, onde a bolsa intestinal diminuiu sua espessura para dar lugar a um tubo retilíneo, surgiram pregas intestinais que foram gradualmente aumentando em altura da região anterior para a posterior (Figura 4 – E).

Uma vesícula grande e clara ocupando todo o citoplasma das células epiteliais foi verificada no intestino médio com 35 h PE, com sua ocorrência iniciando-se ainda nas paredes da bolsa intestinal e aumentando muito sua freqüência em direção ao término da mesma, ocupando o citoplasma de quase todas as células da região mediana do intestino médio (Figura 4 – E), não sendo visualizada no intestino posterior (Figura 4 – F). Na região do ânus o epitélio passou a ser pavimentoso estratificado (Figura 4 – G).

A Figura 5 – A apresenta a faríngе, esôfago e parte da bolsa intestinal com 59 h PE. Internamente à camada muscular circular que envolvia o esôfago, surgiu uma camada de músculo longitudinal, sendo as duas túnicas compostas por músculo esquelético (barras clara e escura na figura), envolvendo também a faringe, além do esôfago. Logo após o esôfago, o espessamento da musculatura indica que o início da diferenciação do estômago está próximo.

Na superfície do epitélio da porção distal da faringe e porção proximal do esôfago, surgiram células mucosas globosas e isoladas (seta).

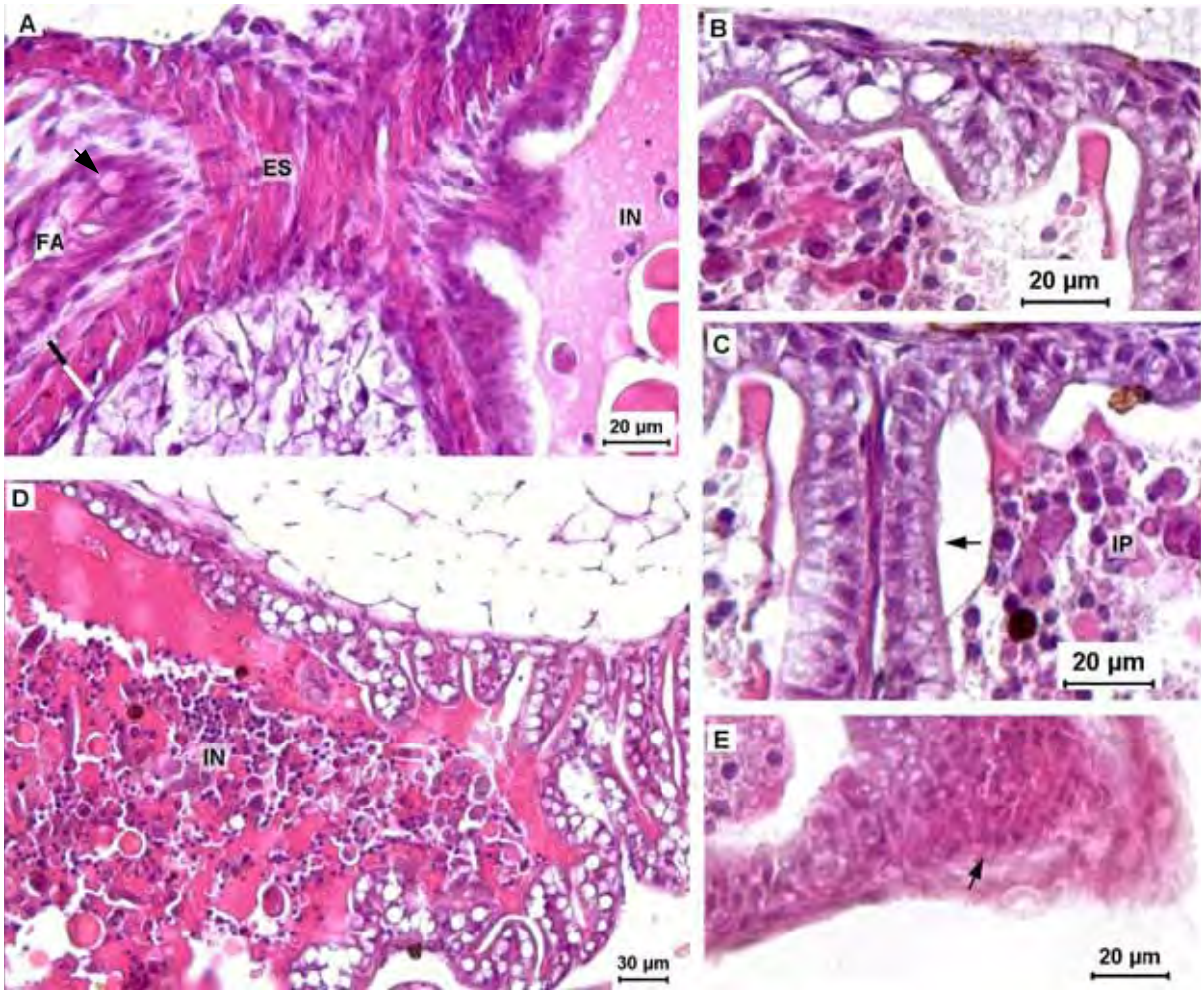

Figura 5 – Fotomicrografia do trato digestório de *B. amazonicus* com 59 h PE. A – faringe (FA) com células de muco (seta), esôfago (ES) e bolsa intestinal (IN) (barra escura = músculo longitudinal, barra clara = músculo circular); B - porção distal do intestino médio; - C – septo (seta) entre intestino médio e posterior (IP); D - porção mediana do intestino médio (IN); E – ânus (seta).

A densidade de células preenchidas por vesícula clara diminuiu sensivelmente no intestino médio 59 h PE (Figura 5 – D), assim como o tamanho das vesículas também apresentou redução gradativa da porção mediana do intestino médio para a porção distal (Figura 5 – B). Com 59 h PE o septo formado entre o intestino médio e posterior apresentou-se mais desenvolvido e as células do epitélio do intestino posterior possuíam minúsculas vesículas em seu citoplasma (Figura 5 – C). Neste momento foi visualizado um epitélio estratificado pavimentoso revestindo o segmento anal (Figura 5 – E).

Com 83 h PE foi verificado o início da diferenciação do estômago (Figura 6 – A), caracterizado pelo espessamento da camada muscular logo após o esôfago, com este último

apresentando-se neste momento como um tubo curto e estreito, revestido internamente em sua porção proximal (após a faringe) por células mucosas. Nas paredes do esôfago pregas paralelas estavam dispostas ao longo do tubo, que se prolongavam até o estômago em formação (Figura 6 – C). O epitélio de revestimento do esôfago manteve-se pavimentoso estratificado.

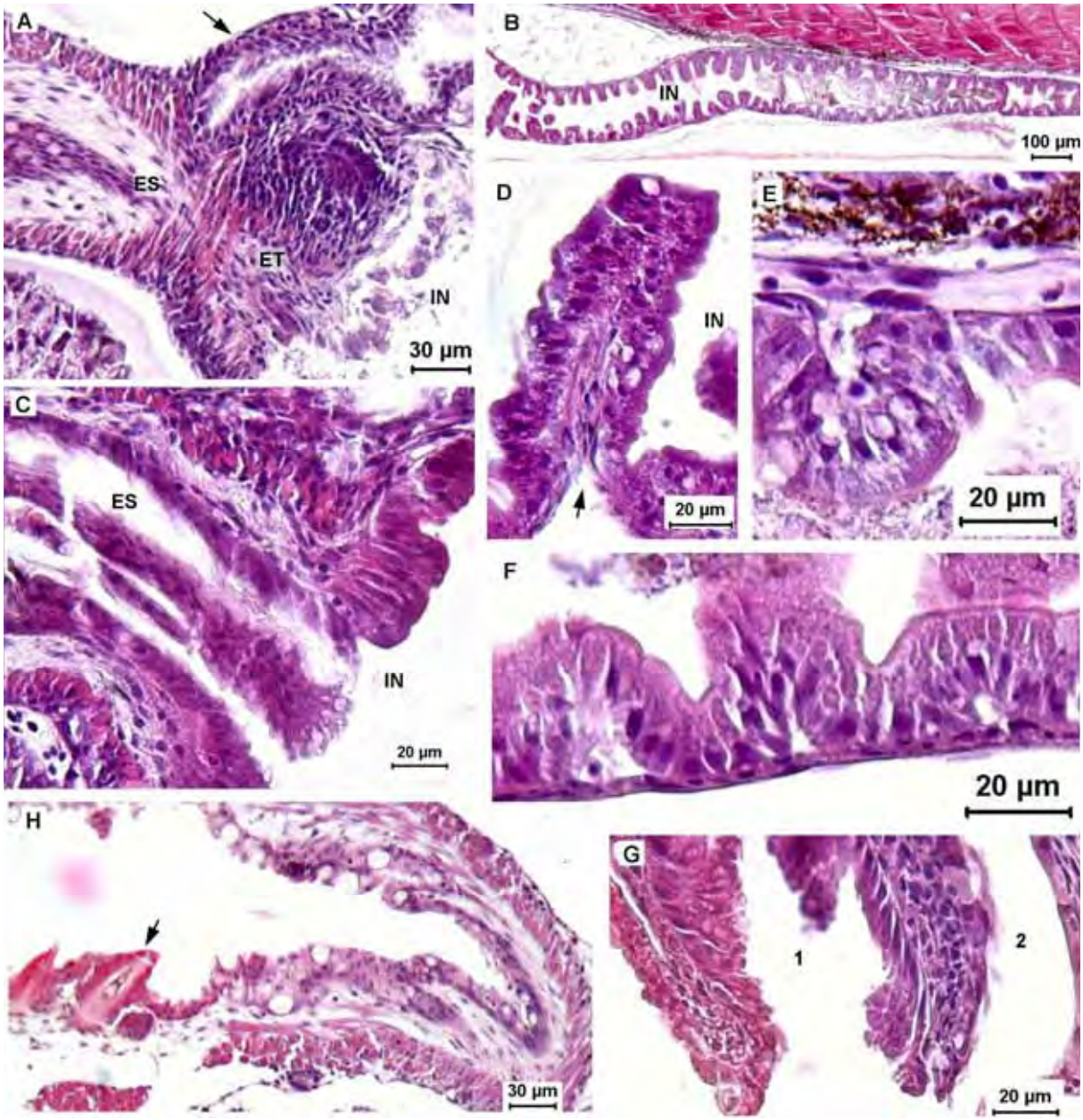

Figura 6 – Fotomicrografia do trato digestório de *B. amazonicus* com 83 e 89 h PE. 83 h PE: A – esôfago (ES), estômago em formação (ET), bolsa intestinal (IN) e ducto da vesícula gasosa (seta); B - vista panorâmica do intestino (IN); C – esôfago (ES) e bolsa intestinal (IN); D – porção mediana do intestino médio (IN) e dobra logo após bolsa intestinal (seta); E - porção distal do intestino médio; F - intestino posterior; G - ânus (1) e uretra (2). 89 h PE: H – dentes faríngeos (seta).

O intestino médio e parte do posterior podem ser visualizados na Figura 6 – B, que apresenta a disposição destes na cavidade celomática. As grandes vesículas visualizadas em células epiteliais do intestino médio em momentos anteriores desapareceram e a bolsa intestinal, quando vazia, apresentava-se delimitada do restante do intestino por uma grande dobra da mucosa (Figura 6 – D). Em todos os segmentos do intestino as células cilíndricas apresentavam borda estriada, melhor evidenciada nos segmentos do intestino médio distal (Figura 6 – E) e intestino posterior (Figura 6 – F), onde também foi observado o núcleo das células do epitélio em posição basal, enquanto no intestino médio proximal pequenas vesículas estiveram presentes na região supra nuclear das células de revestimento (Figura 6 – D). No intestino médio distal, pequenas vesículas também ocorreram, porém estiveram presentes em poucas células do epitélio, que se apresentou mais basófilo em relação ao epitélio do intestino médio proximal e em suas células foi verificado citoplasma com aspecto granular (Figura 6 – E).

No epitélio do intestino posterior a região supra nuclear das células tinha aspecto mucoso em quase toda a extensão deste segmento (Figura 6 – F), e a camada simples de células cilíndricas foi observada até no segmento retal, com tecido pavimentoso estratificado ocorrendo apenas na borda do ânus (Figura 6 – G). Com 89 h PE a presença de dentes faríngeos foi registrada (Figura 6 – H).

A Figura 7 – A apresenta a morfologia da porção anterior do trato digestório com 147 h PE. O segmento denominado intestino anterior passou a ser composto pelo estômago, além do esôfago que já fazia parte dele. O estômago neste momento possuía forma levemente curvada, região proximal com luz mais alargada que a porção distal, enquanto pregas da mucosa, paralelas entre si, distendiam-se ao longo de todo o órgão recoberto externamente por espessa camada muscular e revestido internamente por epitélio cilíndrico simples (Figura 7 – B), com a parte apical das células apresentando-se mais clara e dilatada, com aspecto vesiculoso.

Posterior à constrição entre estômago e intestino, com 147 h PE a bolsa intestinal da porção proximal do intestino médio apresentava-se reduzida em relação a estágios anteriores. Pregas da mucosa surgiram em suas paredes, sendo mais altas e com fossetas mais profundas na parede ventral em relação à parede dorsal da bolsa (Figura 7 – A). O epitélio de revestimento da bolsa intestinal, que em estágios anteriores era cúbico nas paredes dorsal e ventral, neste momento era composto por camada simples de células cilíndricas com borda estriada (enterócitos) e núcleo basal (Figura 7 – C), como no restante do intestino.

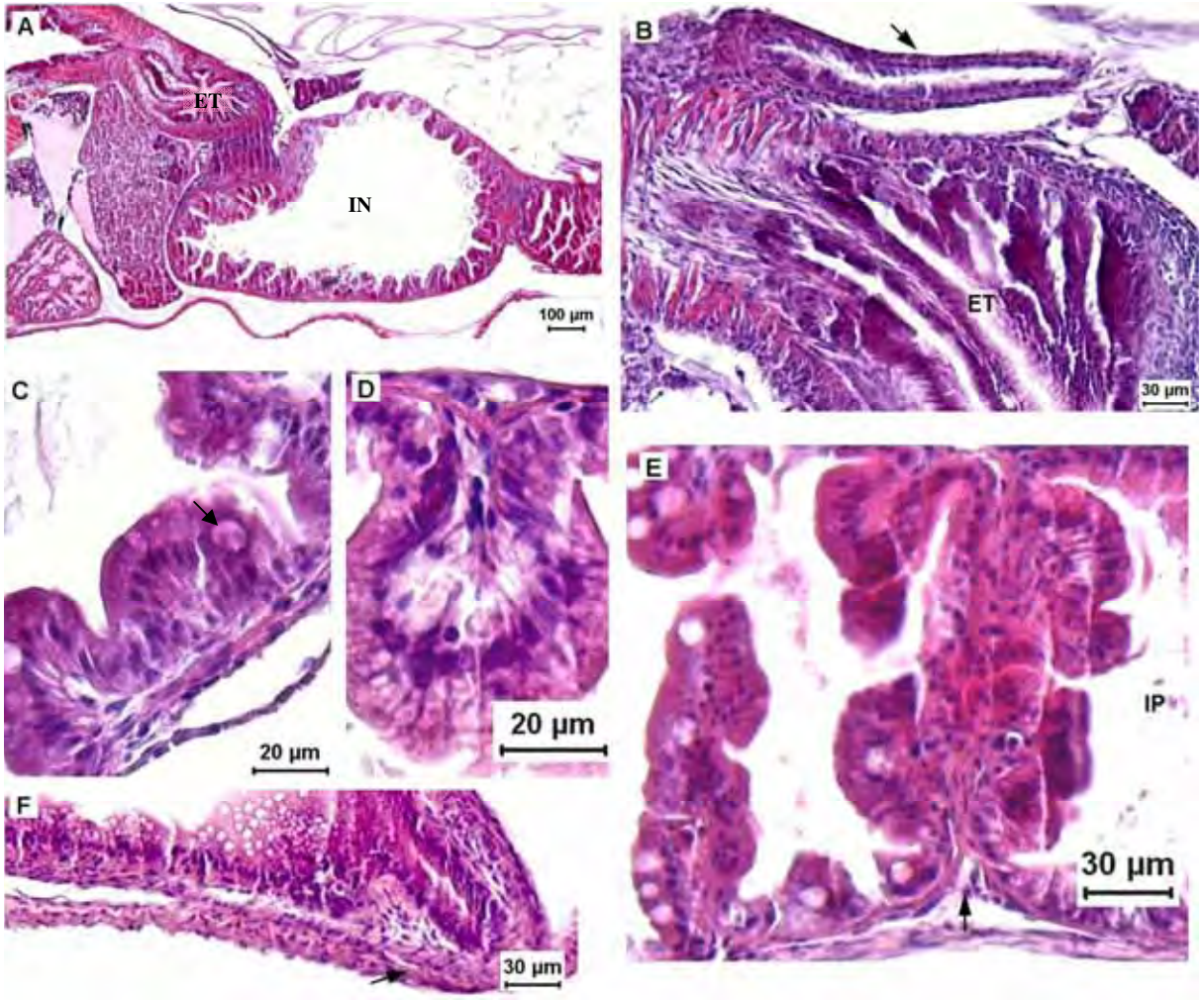

Figura 7 – Fotomicrografia do trato digestório de *B. amazonicus* com 147 h PF. A – vista panorâmica da porção anterior do trato digestório, com estômago (ET) em diferenciação e bolsa intestinal (IN); B – estômago (ET) e ducto da vesícula gasosa (seta); C – porção proximal do intestino médio (bolsa intestinal) com células claras (seta); D – intestino posterior; E - septo (seta) entre intestino médio e posterior (IP); F – reto e ânus (seta).

Com 147 h PE, no revestimento do intestino médio, células raras e isoladas, com citoplasma preenchido por grande vesícula clara, estiveram presentes entre os enterócitos, desde a bolsa intestinal (Figura 7 – C) até a porção distal deste segmento, próximo ao septo entre intestino médio e posterior (Figura 7 – E). No intestino posterior, as vilosidades intestinais apresentavam-se mais baixas e pequenas vesículas na região supra orbital das células tornavam seu ápice mais alargado (Figura 7 – D), enquanto o segmento retal diferenciou-se do restante do intestino pela ausência de pregas na mucosa e células do epitélio com ápice menos vesiculoso, além de camada muscular espessa (Figura 7 – F).

Em vista panorâmica da organização do trato digestório com 171 h PE (Figura 8 – A), foi possível diferenciar três regiões do estômago: região cárdica, após o esôfago; região cecal, local da curvatura do órgão; e região pilórica, separada do intestino pelo esfincter pilórico.

A quantidade de células mucosas na faringe e esôfago aumentou sensivelmente com 171 h PE em relação aos momentos anteriores. A mucosa da faringe tornou-se mais espessa e, além das células mucosas no epitélio pavimentoso estratificado (Figura 8 – B). Ao mesmo tempo, o esôfago, que neste momento apresentou forma tubular longa e com espessa lâmina própria, encontrava-se totalmente revestido por células mucosas, que eram mais globosas quanto maior a distancia entre elas (Figura 8 – C).

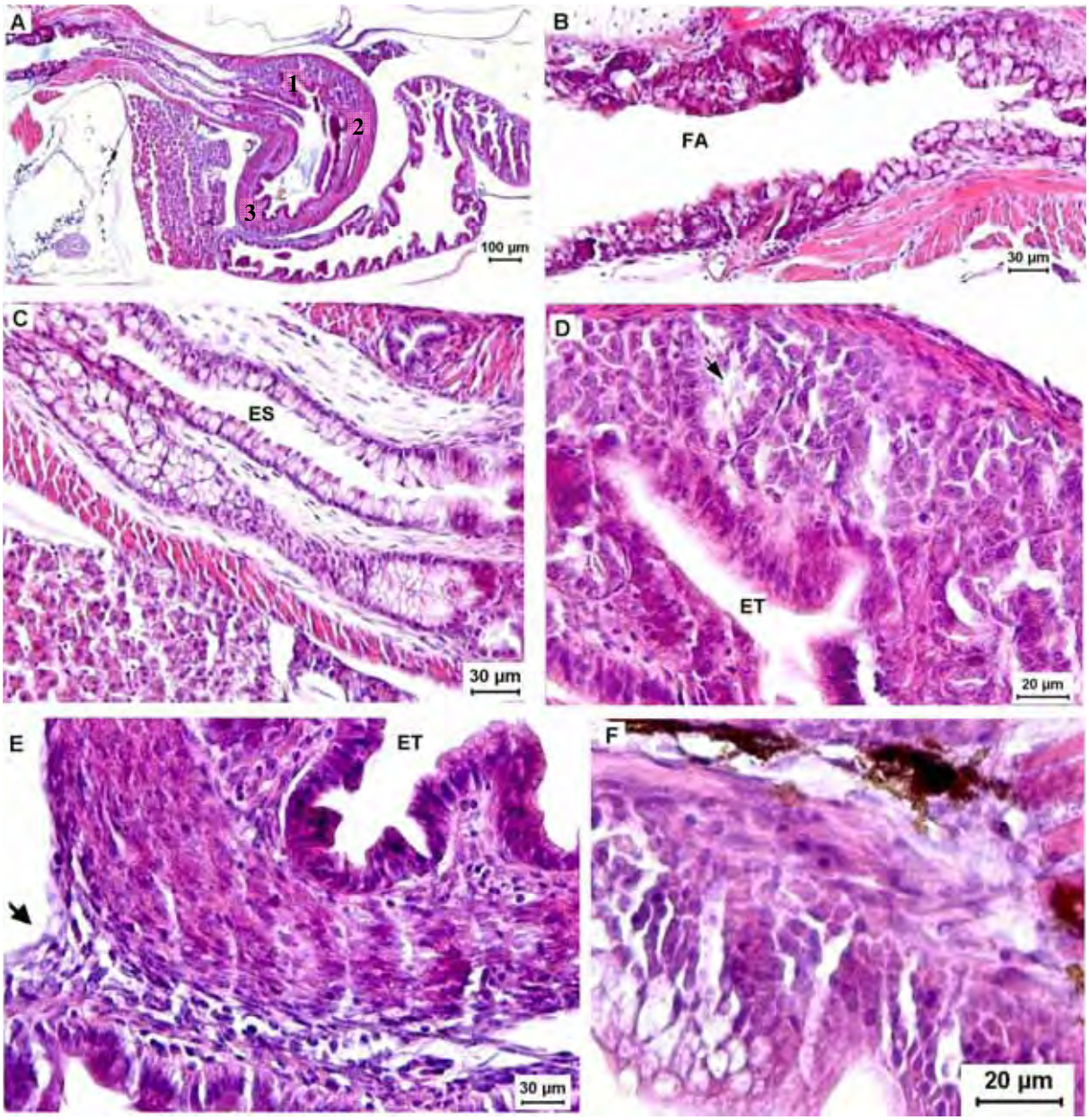

Figura 8 – Fotomicrografia do trato digestório de *B. amazonicus* com 171 h PE. A - – vista panorâmica da porção anterior do trato digestório, com estômago dividido em região cárdica (1), cecal (2) e pilórica (3); B – faringe (FA); C – esôfago (ES); D – estômago (ET) e glândulas gástricas (seta); E – esfincter pilórico (seta) entre estômago (ET) e intestino; F - intestino posterior.

Uma estreita camada muscular envolvia a região cárdica do estômago, se tornando espessa nas regiões cecal e pilórica 171 h PE (Figura 8 – A). A lâmina própria da região cárdica também se tornou espessa e nela foram observadas as primeiras glândulas estomacais, em forma de estruturas tubulares revestidas por camada simples de células cúbicas (Figura 8 – D), enquanto o epitélio de revestimento do estômago não sofreu alterações em relação ao estágio anterior.

O esfincter pilórico entre o estômago e porção proximal do intestino médio, visualizado 171 h PE, é evidente na Figura 8 – E. Neste momento a região proximal do intestino médio apresentava lume mais alargado comparado aos demais segmentos intestinais, porém a bolsa intestinal visualizada nos estágios anteriores desapareceu (Figura 8 – A). No epitélio do intestino médio não foram observadas grandes alterações, mais a ocorrência de vesículas preenchendo o citoplasma das células do epitélio aumentou no intestino posterior, principalmente no segmento retal (Figura 8 – F).

A Figura 9 apresenta o último momento analisado em microscopia de luz, com 243 h PE. A forma de U do estômago estava claramente definida, com glândulas ocupando extensa lâmina própria da primeira metade do órgão, enquanto a segunda metade era composta por espessa parede muscular envolvendo lume estreito (Figura 9 – A). O epitélio gástrico na região cárdica após o esôfago era composto de camada simples de células cilíndricas com núcleo basal e região supra nuclear clara e dilatada, em forma de grande vesícula alongada com ápice voltado para a luz do órgão (Figura 9 – D). Alterações no epitélio não foram verificadas em relação ao estágio anterior nas demais regiões do estômago e glândulas, que apenas ocupavam área maior do estômago em relação ao momento anterior (Figura 9 – D).

Na região cecal do estômago foi observada uma irregularidade em direção às pregas da mucosa com 243 h PE, onde as pregas primárias apresentaram-se em sentido longitudinal ao órgão, porém as secundárias (menos profundas) entremeavam as demais em várias direções (Figura 9 – A). Uma espessa camada de músculo liso que formava a parede da metade posterior do estômago apresentou fibras dispostas em sentido circular ao órgão na espessa camada interna e fibras musculares longitudinais na camada externa (Figura 9 – E), ao contrário da direção de músculo esquelético que envolve o esôfago, onde a camada interna é longitudinal e a externa é circular (Figura 9 – C). Na porção pilórica do estômago com 243 h PE, as pregas da mucosa estavam dispostas ao longo do órgão e preenchiam um estreito lume. Na Figura 9 – E verifica-se um corte do estômago muito próximo à válvula pilórica, mostrando cecos pilóricos em formação nas regiões externas.

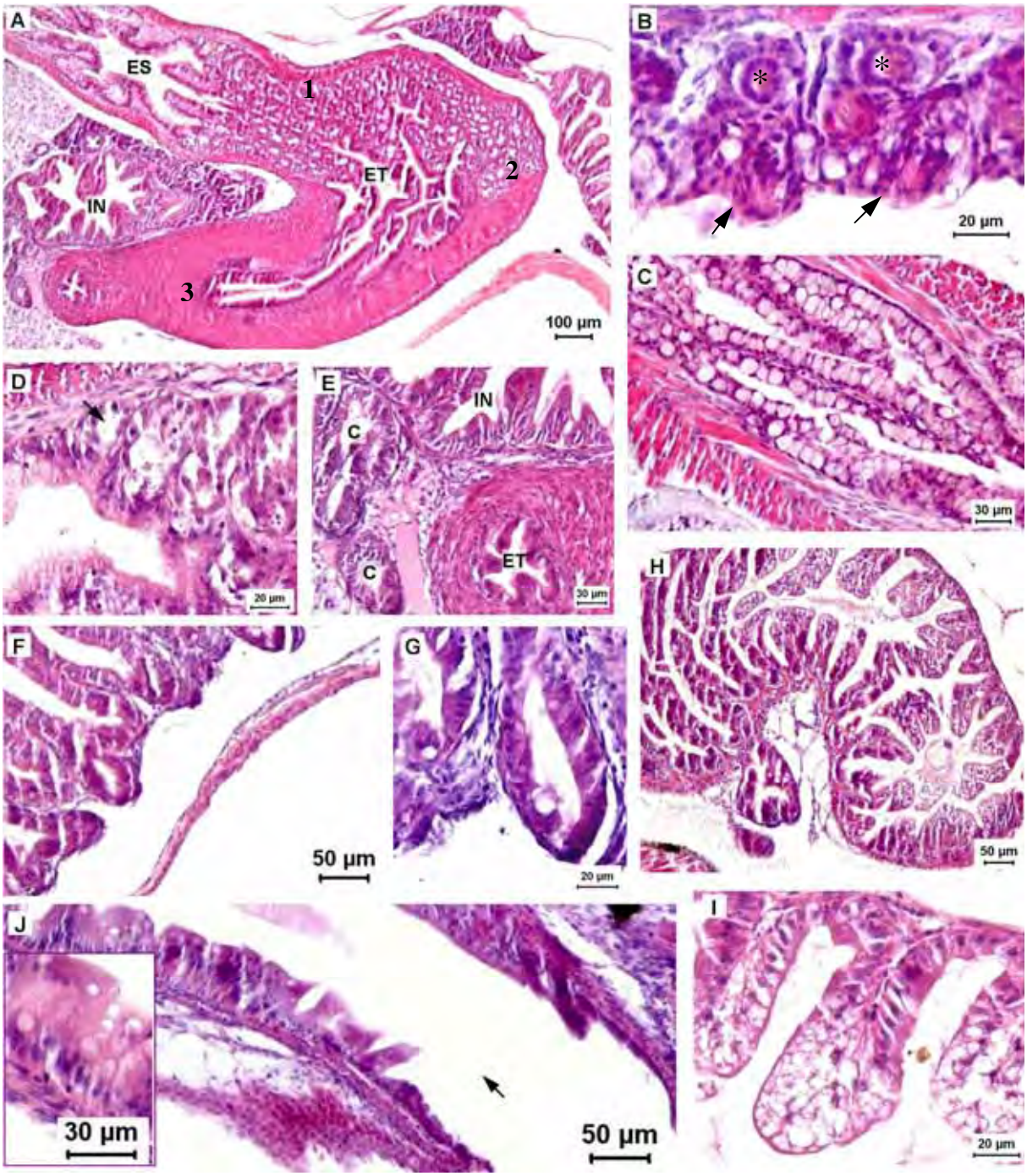

Figura 9 – Fotomicrografia do trato digestório de *B. amazonicus* com 243 h PE. A - vista panorâmica do esôfago (ES), estômago (ET), com porção cárdica (1), cecal (2) e pilórica (3), e intestino médio (IN); B – alvéolos dentários (*) e botões gustativos (seta) no teto da faringe; C – esôfago; D – glândulas estomacais (seta); E – lume da porção pilórica do estômago (ET), intestino (IN) e cecos pilóricos (C); F e G - cecos pilóricos; H – vista panorâmica do intestino médio; I - porção distal do intestino médio; J - reto e ânus (seta), com detalhe de células com aspecto mucoso.

Na faringe ocorreu espessamento de lâmina própria da região dorsal, onde foram visualizados alvéolos dentários e botões gustativos (Figura 9 – B). No epitélio estratificado pavimentoso do esôfago, as células mucosas globosas apresentam poros nos ápices (Figura 9 – C).

Inúmeros cecos pilóricos formavam-se na região proximal do intestino médio com 243 h PE (Figura 9 – F). O epitélio de revestimento destas estruturas apresentou-se idêntico ao do intestino em que se encontravam, formado por camada simples de células cilíndricas com borda estriada e núcleo basal, entre as quais surgiam raras células isoladas com interior tomado por vesícula grande e clara (Figura 9 – G). Notou-se um aumento gradativo da ocorrência de células vesiculosas do início para o final do intestino médio (Figura 9 – H), porém na porção distal deste segmento, todas as células do ápice das dobras intestinais possuíam região apical dilatada por aglomerado de pequenas vesículas, enquanto no interior da fosseta formada entre as dobras não foram verificadas vesículas no epitélio (Figura 9 – I). No intestino posterior foi observado o aspecto mucoso do ápice das células do epitélio de revitimento (Figura 9 – J).

4. DISCUSSÃO

Durante o período amostrado os valores das variáveis físico-químicas da água foram aceitáveis para o crescimento de peixes tropicais (SIPAÚBA-TAVARES, 1995).

A descrição anatômica do tubo digestório de *Brycon amazonicus* permitiu visualizar a disposição do tubo na cavidade peritoneal, contribuindo também para a análise prévia da localização das estruturas em diferenciação em cada fase do desenvolvimento larval, servindo como orientação para a identificação de partes específicas em cortes histológicos. De acordo com o observado por Seixas-Filho et al. (2000) em *Brycon orbignyanus*, a disposição do trato digestório está diretamente relacionada com a forma da cavidade peritoneal, que por sua vez, relaciona-se à forma do corpo, sendo característica do gênero *Brycon*, a cavidade peritoneal longa e ampla, ovalada na secção transversal cranial e comprimida em sentido caudal.

A morfologia macroscópica do tubo digestório dos maiores indivíduos analisados de *B. amazonicus* corrobora ao observado em *B. orbignyanus* (SEIXAS-FILHO et al., 2000) e em *Brycon guatemalensis* (DREWE et al., 2004), em relação à forma e diversidade de estruturas presentes, diferenciando-se apenas nas proporções do estômago e intestino, com *B. amazonicus* apresentando estômago relativamente menor, intestino mais curto e com calibre maior, variações que podem ser atribuídas principalmente às diferenças na idade dos indivíduos. Em ambas as espécies os cecos pilóricos encontravam-se voltados em maior número para o antímero direito da cavidade peritoneal, em plano sagital diferente do estômago, distendo-se sobre a lateral da região cárdica e parte da cecal deste, aspectos que em conjunto com o arranjo das alças intestinais em N, são possivelmente características do gênero.

Seixas-Filho et al. (2000) relatam que a acentuada curvatura nas alças intestinais logo após cada circunvolução retardam a passagem de alimento, aumentando a absorção de nutrientes no intestino médio, não ocorrendo este tipo de arranjo no intestino posterior, sugerindo uma adaptação à alimentação com valores nutricionais intermediários entre os observados em peixes ictiófagos e herbívoros.

A forma de tubo retilíneo, sem delimitações entre segmentos e ausência de pregas na mucosa, quando se iniciou a alimentação exógena em *B. amazonicus* (29 horas após a eclosão), facilitou a entrada das presas relativamente grandes neste momento. Entre 29 e 47 horas após a eclosão houve sobreposição de alimentação endógena e exógena, resultando em acentuada queda no volume do saco vitelino logo após o início da obtenção de alimento externo (ver Capítulo 2), indicando que a assimilação de nutrientes provenientes da alimentação exógena não era eficiente. O mesmo fato foi observado por Mangetti (2006) em larvas de *Pseudoplatystoma coruscans*, com o autor sugerindo que a pouca eficiência digestiva nesta fase é compensada pela ingestão de um grande numero de presas vivas e presença de reservas endógenas.

A sobreposição de alimentação endógena e exógena também foi observada em outras espécies do gênero *Brycon*, como *B. cephalus* (LOPES et al., 1995; ROMAGOSA et al., 2001; VASQUES, 2003), *B. orbignyanus* (LANDINEZ et al., 2004; REYNALTE-TATAJE et al., 2004; MACIEL, 2006), *B. moorei* (VANDEWALLE et al., 2005), *B. insignis* (ANDRADE-TALMELLI et al., 2001) e *B. orthotaenia* (SAMPAIO, 2006), sendo provavelmente necessária para o desenvolvimento da habilidade de captura de alimento e aumento da eficiência digestiva antes da exaustão das reservas endógenas.

Aproximadamente 10 horas após a total abertura do trato digestório ocorreu a distensão da porção proximal do intestino médio, resultando em diferenciação de uma bolsa intestinal onde o alimento ficava retido. Paralelamente à formação desta bolsa surgiram pregas transversais na mucosa da porção distal deste segmento intestinal, ao mesmo tempo em que um septo delimitou o intestino médio do posterior. Este conjunto de alterações, assim como a presença de dentes orais bem desenvolvidos e botões gustativos na cavidade bucofaríngea, sugere mudanças na forma de captura e assimilação de nutrientes.

Segundo González et al. (2002) a presença de pregas no intestino, como observado em *B. amazonicus* com 35 h PE, indica aumento na eficiência da digestão e absorção dos alimentos. Seixas-Filho et al. (2000) sugerem que pregas transversais na mucosa retardam o avanço do alimento em sentido aboral, possibilitando maior período digestivo e melhor aproveitamento dos nutrientes, além do aumento da capacidade de absorção.

A presença de dilatação na porção proximal do intestino médio, para retenção do alimento antes da diferenciação do estômago em larvas de peixes, visualizada em larvas com 35 h PE deste estudo, também foi observada em *B. orbignyanus* (MACIEL, 2006) e em espécie de outro gênero, porém que também pratica piscivoria já nas fases iniciais do desenvolvimento, como em *Pseudoplatystoma coruscans* (MANGETTI, 2006). Histologicamente, a diferenciação da bolsa intestinal de *B. amazonicus* foi marcada pela transição das células na região caudal do esôfago, com o epitélio passando de pavimentoso estratificado para cilíndrico simples, com células voltadas na direção da luz intestinal, fato também relatado por Maciel (2006) e Mangetti (2006). Este último autor afirma que, devido ao grande volume de sua luz e evidente saliência anatômica, a bolsa intestinal pode ser macroscopicamente confundida com o estômago antes da diferenciação deste.

Dentes funcionais e botões gustativos na boca e cavidade bucofaríngea, no momento da primeira alimentação exógena de *B. amazonicus*, também foram observados em *B. moorei* (VANDEWALLE et al., 2005), *B. orthotaenia* (SAMPAIO, 2006) e *B. orbignyanus* (MACIEL, 2006). Rodrigues et al. (2006) afirmam que a boca, a cavidade oral e a faringe estão associadas com a captura, orientação e preparação pré-digestiva do alimento e que dentes orais servem para preparação pré-digestiva do material alimentar de origem vegetal e para captura e preensão do alimento de origem animal, enquanto dentes faríngeos auxiliam na preensão e maceração de organismos de corpo mole. Já os botões gustativos, que são quimioreceptores com função de captar o cheiro e o gosto de substâncias saturadas na água (MATSUOKA, 2001), permitem escolher o alimento preferido entre os itens alimentares oferecidos, sendo responsável pela não aceitação de dietas artificiais por larvas de algumas espécies de peixes (MATSUOKA, 2001; KAWAMURA et al., 2003; CESTAROLLI, 2005).

A descrição histológica da ontogenia do trato digestório de *B. amazonicus* corrobora ao observado em *B. orbignyanus* (MACIEL, 2006) em todas as estruturas presentes e padrão da mucosa, havendo similaridade inclusive em relação a cronologia das diferenciações do epitélio, indicando que o padrão de desenvolvimento ontogenético observado seja característico do gênero. A visualização da diferenciação do estômago antes do surgimento dos cecos pilóricos em *B. amazonicus* foi a única diferença observada entre as duas espécies, com este órgão não sendo observado nos cortes histológicos relatados para *B. orbignyanus* (MACIEL, 2006). O trato digestório indiferenciado, em forma de arranjo tubular de células, sem lume evidente logo após a eclosão, ocorrendo abertura de lume recoberto por camada simples de células cilíndricas com borda estriada no primeiro dia de vida livre, também foi

visualizado em *Brycon cephalus* (VASQUES, 2003) e *Brycon orthotaenia* (SAMPAIO, 2006).

A presença de grandes vesículas claras ocupando o citoplasma dos enterócitos ao longo do intestino com 35 h PE em *B. amazonicus*, logo após o início da alimentação exógena e diferenciação da bolsa intestinal, também foi observada em *B. cephalus* (VASQUES, 2003), *B. orbignyanus* (MACIEL, 2006) e em espécies de outros gêneros, como *Pseudoplatystoma coruscans* (MANGETTI, 2006) e *Mugil platanus* (GALVÃO et al., 1997), sendo atribuída pelos três últimos autores à absorção e acúmulo de lipídios. Peña et al. (2003) relacionaram a presença de vacúolos supranucleares do intestino médio ao armazenamento de lipídeos, que após a digestão luminal são absorvidos como ácidos graxos pelos enterócitos, onde são ressintetizados e direcionadas para outros locais do organismo.

Em *B. amazonicus*, com o início do desenvolvimento do estômago, as vesículas claras foram gradativamente diminuindo em número e tamanho, localizando-se apenas no ápice das dobras da porção distal do intestino médio com 243 horas após a eclosão, quando todas as demais estruturas do trato digestório estavam presentes, sugerindo que segmentos com funções específicas encontravam-se diferenciados. O acúmulo de vesículas claras no ápice das dobras intestinais também foi visualizado com 172 horas após a eclosão em *B. orbignyanus* (MACIEL, 2006) e no 11º dia de vida livre em *Pseudoplatystoma coruscans* (MANGETTI, 2006).

Também foi verificada em larvas de peixes a ocorrência inclusões nos enterócitos do intestino posterior, antes da diferenciação do estômago, indicando a pinocitose de macromoléculas protéicas (GALVÃO et al., 1997; GISBERT et al., 2004; MACIEL, 2006). Um aspecto granular do citoplasma de células do epitélio da porção distal do intestino médio também foi visualizado em *B. amazonicus* 83 h PE. Segundo Sarasquete et al. (1995), a pinocitose tem sido sugerida como um caminho alternativo para a digestão de proteínas em larvas de teleósteos, uma vez que o sistema digestório é pouco desenvolvido. Govoni et al. (1986), apud Maciel (2006), propuseram a atividade pinocítica e a digestão intracelular como os principais mecanismos para a absorção de proteínas durante o desenvolvimento inicial e Gordon e Hecht (2002) afirmam que esse mecanismo compensa a digestão incompleta neste período.

A presença de células de muco na faringe e esôfago já no início da alimentação exógena de *B. amazonicus*, com crescente aumento em tamanho e número ao longo do desenvolvimento, sugere a participação destas células no deslizamento das presas e proteção do epitélio contra possíveis abrasões. A ocorrência crescente das células de muco nesta

região, assim como sua abertura para a luz do órgão através de poro apical, também foi relatada por Galvão et al. (1997), González et al. (2002), Maciel (2006) e Mangetti (2006). Os autores concordam que as células mucosas protegem e lubrificam a superfície do epitélio e, conjuntamente com o desenvolvimento das pregas no esôfago, que precedem a diferenciação do estômago, facilitam a rápida transição do alimento para o segmento posterior. O desenvolvimento da musculatura esquelética que envolve o esôfago provavelmente também contribui para a rápida condução das presas através deste segmento.

O desenvolvimento do estômago em *B. amazonicus*, iniciando-se pela diferenciação de espessa camada muscular e pregas na mucosa, contínuas às pregas do esôfago, indica digestão mecânica funcional. Galvão et al. (1997) também sugerem que a espessa camada muscular na região pilórica do estômago tem função de quebra mecânica do alimento antes da funcionalidade da digestão ácida que surge com a diferenciação das glândulas gástricas. Após o desenvolvimento da funcionalidade do estômago em *B. amazonicus*, a dimensão da bolsa intestinal foi gradativamente reduzindo, indicando a transferência da função de retenção do alimento ao órgão que a precede.

Quando as glândulas gástricas surgiram na lâmina própria do estômago de *B. amazonicus*, com 171 horas após a eclosão, o estômago encontrava-se bem desenvolvido e revestido por epitélio simples cilíndrico, com a parte apical das células preenchida por muco. Este padrão do epitélio neste momento também foi observado em larvas de outros teleósteos (GALVÃO et al., 1997; MANGETTI, 2006). Segundo George et al. (1998), no epitélio do estômago em peixes, o terço superior das células é geralmente preenchido por muco ácido, e a função desta região celular mucosa é provavelmente proteger as células epiteliais do ácido clorídrico produzido pelas glândulas gástricas.

Em *B. amazonicus* as glândulas gástricas cresceram em número após 171 horas PE. George et al. (1998) afirmam que as células do epitélio destas glândulas secretam enzimas (pepsinogênio) que agem em meio ácido, capazes de digerir proteínas, com o ácido clorídrico também sendo produzido por estas células. A característica oxintopéptica (produção tanto de ácido clorídrico como de pepsinogênio) das células de revestimento das glândulas gástricas foi visualizada em *Pseudoplatystoma coruscans* (MANGETTI, 2006) e *Mugil platanus* (GALVÃO et al., 1997). Segundo Galvão et al. (1997), o desenvolvimento tardio destas glândulas retarda a digestão em meio ácido, e antes do seu surgimento os peixes contam apenas com a capacidade de seleção de alimentos apropriados, com a digestão mecânica e com a ação de enzimas pancreáticas e intestinais que atuam em meio alcalino, fato que dificulta a assimilação de dietas artificiais.

Após a diferenciação do estômago e das glândulas gástricas em *B. amazonicus*, não foram mais observadas alterações no padrão do epitélio do intestino médio e posterior. Entre os enterócitos do intestino médio estavam presentes, de forma rara e isolada, células claras, diferentes das células vesiculosas observadas em fases anteriores devido a sua distribuição e forma definida. Estas células também foram visualizadas por Maciel (2006) e Mangetti (2006), sendo classificadas como células caliciformes. Segundo George et al. (1998), as células caliciformes são secretoras de muco básico, com função de neutralizar a acidez proveniente do estômago e preparar o bolo alimentar para a atuação das enzimas pancreáticas e intestinais, que agem em meio básico.

As células caliciformes também estavam presentes no epitélio dos cecos pilóricos, estruturas que surgiram em *B. amazonicus* 243 horas após a eclosão, com epitélio idêntico ao do intestino médio, onde se localizavam. Elbal et al. (2004) observaram que a estrutura e ultraestrutura de sua mucosa dos cecos são idênticas a do intestino e afirmam que seu estágio de diferenciação é um indicativo da transformação da morfologia do trato digestório da fase larval para a forma definitiva, marcando um completo desenvolvimento do trato. Zavala-Camin (1996) sugere que os cecos sejam importantes não só para aumentar a área de absorção de nutrientes, mas também na neutralização do baixo pH proveniente do estômago, visto que não há cecos em peixes agástricos. Esta sugestão é reforçada pela diferenciação destas estruturas apenas após a diferenciação das glândulas gástricas, como foi visualizado em *B. amazonicus* e em outras espécies de teleósteos (Galvão et al., 1997; González et al., 2002; Elbal et al., 2004; Mangetti, 2006). Precedendo o surgimento dos cecos pilóricos, foi verificado no intestino posterior de *B. amazonicus*, a presença de grande quantidade de células mucosas e o aumento da espessura do envoltório muscular na região, indicando a função de facilitar o deslizamento do bolo fecal e sua expulsão.

Em relação ao padrão de desenvolvimento ontogenético do trato digestório em peixes, Bértin (1958) sugere que o padrão da mucosa intestinal pode ser mais elaborado em algumas espécies e menos em outras, existindo desta forma uma grande variabilidade entre as espécies, e ainda, entre as diferentes partes do intestino em uma mesma espécie, como foi verificado durante o desenvolvimento de *B. amazonicus*. Segundo Mangetti (2006), para a distinção mais precisa entre as diferentes regiões são necessários estudos mais elaborados, como ultraestrutural e histoquímicos, que podem permitir a diferenciação entre áreas de absorção de gorduras, de proteínas, de água e de íons.

Neste estudo, ficou claro que a alimentação exógena de *B. amazonicus* inicia-se antes do trato digestório apresentar características que indiquem eficiência na assimilação de

nutrientes, fato que só ocorre 10 horas após a eclosão, quando uma série de modificações indica o aprimoramento da capacidade digestiva, que parece ser concluída após o aparecimento das glândulas gástricas e cecos pilóricos. Neste contexto, os resultados deste trabalho possibilitam a visualização de períodos críticos e das necessidades alimentares em diferentes fases do desenvolvimento larval, podendo contribuir no estabelecimento de programas de melhorias de manejo da espécie.

5. REFERÊNCIAS

ANDRADE-TALMELLI, E. F.; KAVAMOTO, E. T.; ROMAGOSA, E.; FENERICH-VERANI, N. Embryonic and larval development of the "piabanha", *Brycon insignis* Steindachner, 1876 (Pisces, Characidae). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 21-27. 2001.

BÉRTIN, L. Appareil digestif. In: GRASSÉ, P. P. (Ed.). **Traité de zoologie**. Paris: Masson, v. 13, p. 1249-1301. 1958.

BLAXTER, J. H. S. Development: eggs and larvae. In: HOAR, W. S.; RANDALL, D. J. (eds.). **Fish Physiology**. New York: Academic Press, 1969. v. III, p. 178-252.

CESTAROLLI, M. A. **Larvicultura de pintado *Pseudoplatystoma coruscans* (Agassiz, 1829): aspectos da alimentação inicial e do desenvolvimento de estruturas sensoriais.** 2005. 110 p. Tese (Doutorado em Aqüicultura). Universidade Estadual Paulista – UNESP: Jaboticabal, 2005.

DREWE, K. E.; HORN, M. H.; DICKSON, K. A.; GAWLICKA, A. Insectivore to frugivore: ontogenetic changes in gut morphology and digestive enzyme activity in the characid fish *Brycon guatemalis* from Costa Rican rain forest streams. **Journal of Fish Biology**, London, v. 64, p. 890-902. 2004.

ELBAL, M. T.; GARCÍA-HERNÁNDEZ, M. P.; LOZANO, M. T.; AGULLEIRO, B. Development of the digestive tract f gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). Ligth and electron microscopic studies. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 234, p. 215-238. 2004.

FEITOSA, W. **Amazônia.** Disponível em: <www.pesca.outdoortravel.com.br>. Acesso em: 6 set. 2004.

GALVÃO, M. S. N.; FENERICH-VERANI, N.; YAMANAKA, N.; OLIVEIRA, I. R. Histologia do sistema digestivo de tainha *Mugil platanus* Günther, 1880 (Osteichthyes, Mugilidae) durante as fases larval e juvenil. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, n. 24, p. 91-100, 1997.

GEORGE, L. L.; ALVES, C. E. R.; CASTRO, R. R. L. **Histologia comparada.** 2. ed. São Paulo: Roca, 1998. 286 p.

GISBERT, E.; PIEDRAHITA, R. H.; CONKLIN, D. E. Ontogenetic development of the digestive system in California halibut (*Paralichthys californicus*) with notes on feeding practices. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 232, p. 455-470. 2004.

GOLTERMANN, H. L.; CLYMO, R. S.; OHNSTAD, M. A. M. **Methods for Physical and Chemical Analysis of Freshwaters.** London: Blackweel Science Publication, IBP Handbook number 8, 1978. 214 p.

GOMES, L. C.; URBINATI, E. C. Matrinxã (*Brycon amazonicus*). In: BALDISSEROTO, B.; GOMES, L. C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2005. p. 149-174.

GONZÁLEZ, O. R. M.; FLORES, J. C. B.; DOMÍNGUEZ, B. M. P.; VALLE, M. R. G. Descripción histológica del sistema digestivo em larvas de *Chirostoma humboldtianum* em la primera alimentación exógena. **I Congresso Iberoamericano Virtual de Acuicultura.** Disponível em: <http://www.civ2002.org>, p. 313-322. 2002.

GORDON, A. K.; HECHT, T. Histological studies on the development of the digestive system of the clownfish *Amphiprion percula* and the time of weaning. **Journal of Applied Ichthyology**, Berlin, v. 18, p. 113-117. 2002.

GOVONI, J. J.; BOEHLERT, G. W.; WATANABE, Y. The physiology of digestion in fish larvae. **Environmental Biology of Fishes**, Dordrecht, (Holanda), v. 16, n. 1-3, p. 59-77. 1986 apud MACIEL, C. M. R. R. **Ontogenia de larvas de piracanjuba, *Brycon orbignyanus* Valenciennes (1849) (Charciformes, Characidae, Bryconinae).** 2006. 229 p. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Federal de Viçosa: Viçosa, 2006.

KAWAMURA, G.; MASUMA, S.; TEZUKA, N.; KOISO, M.; JINBO, T.; NAMBA, K. Morphogenesis of sense organs in the bluefin tuna *Thunnus orientalis*. **The Big Fish Bang**, Proceedings of the 26th Annual Larval Conference, Bergen (Norway), p. 123-135, 2003.

KENDALL, Jr., A. W.; AHLSTROM, E. H.; MOSER, H. G. Early life history stages of fishes and their characters. In: MOSER, H. G; RICHARDS, W. J.; COHEN, D. M.; FAHAY, M. P.; KENDALL, Jr., A. W.; RICHARDSON, S. L. (Ed.). **Ontogeny and systematic of fishes**: based on the International Symposium dedicated to the memory of Elbert Halvor Ahlstron. Lawrence: American Society of Ichthyologists and Herpetologists, c1983. p. 11-22.

LANDINEZ, M. A.; SENHORINI, J. A.; SANABRIA, A. I.; BALDAN, A. P.; URBINATI, E. C. Desenvolvimento embrionário e larval de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*). **Boletim Técnico do CEPTA**, Pirassununga, v.17, p. 1-12. 2004.

LIMA, F. C. T. Subfamily Bryconinae (Characins, Tetras). In: REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS Jr, C. J. (eds.). **Check list of the freshwater fishes of South and Central America.** Porto Alegre: EDPURCS, 2003, p. 174-181.

LOPES, R. N. M.; SENHORINI, J. A.; SOARES, M. C. F. Desenvolvimento embrionário e larval do matrinxã *Brycon cephalus* Günther, 1869, (Pisces, Characidae). **Boletim Técnico do CEPTA**, Pirassununga, v. 8, p. 25-39. 1995.

MACIEL, C. M. R. R. **Ontogenia de larvas de piracanjuba, *Brycon orbignyanus* Valenciennes (1849) (Charciformes, Characidae, Bryconinae)**. 2006. 229 p. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Federal de Viçosa: Viçosa, 2006.

MANGETTI, A., J. **Desenvolvimento histomorfológico do trato digestório de larvas de pintado *Pseudoplatystoma coruscans* Agassiz, 1829.** 2006. 94p. Dissertação (Mestrado em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo – USP: São Paulo. 2006.

MATSUOKA, M. Development of sense organs in the Japanese sardine *Sardinops melanostictus*. **Fisheries Science**, Tokyo, v. 67, p. 1036-1045. 2001

OLIVEIRA, A. M. B. M. S.; CONTE, L.; CYRINO, J. E. P. Produção de Characiformes autóctones. In CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C.; FRACALOSSI, D. M.; CASTAGNOLLI, N. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce.** São Paulo: TecArt. 2004. p. 217-237.

PEÑA, R.; DUMAS, S.; VILLALEJO-FUERTE, M.; ORTÍZ-GALINDO, J. L. Ontogenetic development of the digestive tract in reared spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* larvae. **Aquaculture**, Amsterdan, v. 219, p. 633-644. 2003.

POLO, A.; YÚFERA, M.; PASCUAL, E. Effects of temperature on egg and larval development of *Sparus aurata* L. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 92, p. 367-375. 1991.

REYNALTE-TATAJE, D.; ZANIBONI-FILHO, E.; ESQUIVEL, J. R. Embryonic and larvae development of piracanjuba, *Brycon orbignyanus* Valenciennes, 1849 (Pisces, Characidae). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 26, n. 1, p. 67-71. 2004.

RODRIGUES, S. S.; NAVARRO, R. D.; MENIN, E. Adaptações anatômicas da cavidade bucofaringeana de *Leporinus macrocephalus* Garavello & Britski, 1988 (Pisces, Characiformes, Anostomidae) em relação ao hábito alimentar. **Biotemas**, Florianópolis, v. 19, n. 1, p. 51-58. 2006.

ROMAGOSA, E.; NARAHARA, M. Y.; FENERICH-VERANI, N. Stages of embryonic development of the "matrinxã", *Brycon cephalus* (Pisces, Characidae). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 29-32. 2001.

SAMPAIO, K. H. **Superfície ovocitária e desenvolvimento inicial de quatro espécies de peixes de interesse comercial da bacia do rio São Francisco.** 2006. 53 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular). Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais: Belo Horizonte, 2006.

SARASQUETE, M. C.; POLO, A.; YÚFERA, M. Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval gilthead seabream, *Sparus aurata* L. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 130, p. 79-92. 1995.

SEIXAS FILHO, J. T.; BRÁS, J. M.; GOMIDE, A. T. M.; OLIVEIRA, M. G. A.; DONZELE, J. L.; MENIN, E. Anatomia funcional e morfometria dos intestinos e dos cecos pilóricos do Teleostei (Pisces) de água doce *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 2, p. 313-324. 2000.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. **Limnologia aplicada à aqüicultura**. Jaboticabal: Funep – UNESP. 1995. 70 p.

TOLOSA, E. M. C. de; RODRIGUES, C. J.; BEHMER, O.A.; NETO, A.S. de F. **Manual de técnicas histológicas normal e patológica.** São Paulo. Ed. Manole. 2a. ed. 2003. 331 p.

VANDERWALLE, P.; GERMEAU, G.; BESANCENET, P.; PARMENTIER, E.; BARAS, E. Early development of the head skeleton in *Brycon moorei* (Pisces, Ostariophysi, Characidae). **Journal of Fish Biology**, London, v. 66, p. 996-1024. 2005

VASQUES, L. H. **Participação do hormônio triiodotironina (T_3) no desenvolvimento inicial de matrinxã (*Brycon cephalus*).** 2003. 146 p. Tese (Doutorado em Aqüicultura). Universidade Estadual Paulista – UNESP: Jaboticabal, 2003.

ZAVALA-CAMIM, L. A. **Introdução ao estudo sobre alimentação natural de peixes.** Maringá: EDUEM, 1996. 129 p.

Capítulo 5 – Crescimento alométrico de *Brycon amazonicus* desde a eclosão até 25 dias de idade.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi descrever o padrão de crescimento morfométrico de variáveis corporais de *Brycon amazonicus* em diferentes estágios de desenvolvimento inicial. Para isso, coletas foram realizadas de dezembro de 2004 a janeiro de 2005 na Piscicultura Buriti (S 18^{o} 51" - W 56^{o} 11"), em Nova Mutum – MT, desde a eclosão até 25 dias de idade em diferentes momentos previamente determinados. Durante o período amostrado a temperatura da água apresentou média de 30,07 ± 1,95 ºC. Os peixes foram fixados, medidos e separados de acordo com o surgimento de determinadas características morfológicas, nas seguintes fases de desenvolvimento inicial: estágios larval vitelino, pré-flexão, flexão e pós-flexão, além do período juvenil. No momento da eclosão iniciou-se o primeiro estágio larval e os peixes tinham 3,45 ± 0,38 mm de comprimento padrão (CP), com 0,99 ± 0,13 mm de altura do corpo (AC) e o comprimento da cabeça (CC) foi de 0,50 ± 0,06 mm. O diâmetro do olho (DO) só pôde ser mensurado 3 horas (h) após a eclosão (PE), quando surgiram os primeiros sinais de pigmentação na borda da vesícula óptica e sua média foi de 0,22 ± 0,02 mm. Quando o estágio de pós-flexão foi visualizado pela última vez, com 579 h PE, as larvas tinham 33,20 ± 3,82 mm de CP, 10,92 ± 1,13 mm de AC, 10,16 ± 0,83 mm de CC e 2,91 ± 0,28 mm de DO. Também com 579 h PE o período juvenil foi identificado, com peixes medindo 43,55 ± 9,57 mm de CP. A AC era de 14,66 ± 3,54 mm, o CC 12,99 ± 2,90 mm e o DO 3,34 ±0,44 mm. O valor do coeficiente alométrico indicou que na relação DO x CC houve alometria negativa (DO < CC) em todos os estágios, com exceção do estágio de flexão, assim como a relação entre CC x CP foi alométrica positiva (CC > CP) durante todo o desenvolvimento inicial e teve valor mais acentuado também em flexão, indicando desenvolvimento acelerado de estruturas cefálicas esqueléticas e nervosas neste momento. O crescimento entre AC x CP, que teve alometria negativa (AC < CP) nos dois primeiros estágios larvais, também mudou o padrão de crescimento em flexão e pós-flexão, quando a alometria foi positiva (AC > CP), apontando a influência do desenvolvimento de estruturas esqueléticas e musculares do tronco, seguido de isometria (AC = CP) no período juvenil, quando todos os sistemas orgânicos estavam formados. Na relação entre o CP x comprimento total (CT) o valor numérico do coeficiente alométrico distanciou-se positivamente da isometria apenas no estágio de flexão, momento em que foi verificado o desenvolvimento das estruturas ósseas da nadadeira caudal. Com base nos dados apresentados, foi possível identificar fases de limitações morfológicas relacionadas a habilidade natatória e, consequentemente, à captura de alimento e fuga de predadores. Tais informações poderão contribuir com o manejo, a exploração racional e com a adequação de técnicas de cultivo desta espécie.

Palavras-chave: *Brycon amazonicus*, ontogenia, relações corporais, alometria.

1. INTRODUÇÃO

Uma das conseqüências da ontogenia é o aumento da complexidade morfológica e fisiológica dos organismos. Estudos comparativos da dinâmica morfológica, fisiológica e comportamental em larvas de peixes têm sido realizados por meio da descrição métrica de estados ontogenéticos em indivíduos (FUIMAN et al., 1998).

A forma de um organismo é o resultado da integração entre diversas respostas alométricas durante seu desenvolvimento inicial. Em peixes, alterações nas proporções lineares corporais são conseqüência da metamorfose (PERES-NETO, 1995). Evidências quantitativas dessas transformações são observadas na variação progressiva das proporções morfométricas corporais (FUIMAN, 1983)

Grande parte dos sistemas funcionais em adultos está incompleta no momento da eclosão na maioria das espécies de peixes. Um rápido desenvolvimento de estruturas envolvidas na natação, do sistema digestório e respiratório é esperado, influenciando no padrão de crescimento entre variáveis corporais. Mello et al. (2006) afirmam haver uma lacuna no conhecimento sobre a biologia básica de peixes neotropicais, sendo estes estudos necessários para desenvolver planos de conservação e manejo. Segundo estes autores, análises do padrão de crescimento entre relações corporais permitem visualizar fases de limitações morfológicas relacionadas à captura de alimento, habilidade natatória e fuga de predadores.

Kendal et al. (1983) sugerem que, devido ao importante significado do processo de adaptação entre a larva recém eclodida e o adulto no ciclo de vida dos peixes, sua descrição seja dividida em estágios basedos em estruturas comuns a determinado momento, para que os dados comunicados possam auxiliar outros estudos e serem comparados com peixes em mesmo momento de desenvolvimento, sendo essencial o uso de termos que definam claramente cada momento.

O padrão de crescimento muda rapidamente no início do ciclo de vida dos peixes e por isso precisa ser mensurado em curtos intervalos de tempo (RICKER, 1979). Segundo Ehlinger (1991), estudos combinando a discriminação morfométrica do crescimento com a descrição de variações morfológicas, aumentam a probabilidade de observar transformações correlacionadas que levam às diferenças entre jovens e adultos.

A quantificação do crescimento inicial dos peixes além de contribuir com seu manejo e exploração racional, auxilia na adequação de técnicas de produção das espécies, sendo o cultivo muitas vezes limitado pela falta de conhecimento sobre as formas iniciais de desenvolvimento. De acordo com Pereira Filho et al. (1991) e Honczaryk (1995), uma das alternativas para evitar a sobrepesca dos bancos pesqueiros naturais é a criação de peixes em

confinamento, que é limitada pela falta de conhecimento sobre as espécies com potencial para cultivo.

A espécie de *Brycon* deste estudo é de linhagem proveniente do rio Guaporé – MT, onde este peixe é conhecido como "jatuarana", sendo identificado taxonomicamente como *Brycon amazonicus* por Lima (2007[2]). É nativa da Amazônia brasileira (LIMA, 2003), amplamente cultivada no Brasil e até recentemente foi estudada como *B. cephalus* (GOMES e URBINATI, 2005).

Oliveira et al. (2004) afirmam que grupos de pesquisa estão intensificando estudos visando a viabilização do cultivo dos peixes do gênero *Brycon* não só na piscicultura, mas também para repovoamento de regiões onde estejam ameaçados de extinção, devido ao desmatamento ciliar, da construção de barragens e poluição dos rios.

Visando obter dados que possam contribuir para o cultivo, o manejo pesqueiro e a conservação de *Brycon amazonicus*, o objetivo deste estudo foi descrever o padrão de crescimento morfométrico de variáveis corporais da espécie em diferentes estágios de desenvolvimento larval e período juvenil.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizadas de dezembro de 2004 a janeiro de 2005, na Piscicultura Buriti (S 18^{o} 51" - W 56^{o} 11"), em Nova Mutum – MT,.

No período amostrado, as seguintes variáveis físico-químicas da água foram monitoradas: temperatura (termômetro de bulbo de mercúrio), pH (potenciômetro digital), oxigênio dissolvido (oxímetro digital), alcalinidade e amônia, sendo as últimas duas determinadas pelos métodos de Goltermann et al. (1978). Os valores de amônia foram determinados no Laboratório Central do Centro de Aqüicultura da UNESP, a partir de amostras congeladas após a coleta, e as demais análises de água foram realizadas na própria piscicultura.

Para reprodução induzida peixes adultos foram estimulados com hipófise de carpa na forma comercial (seca em acetona). As fêmeas receberam duas doses hormonais com intervalos de 10 horas entre as aplicações (0,5 mg/kg e 5,0 mg/kg, respectivamente) e uma dose única (1,0 mg/kg) foi aplicada nos machos no momento da última aplicação em fêmeas.

[2] LIMA, F.C.T. **Comunicação pessoal,** 2006. (Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP) - Autor do capítulo de livro: Characidae – Bryconinae (Characins, tetras).. In: REIS, R.E.; KULLANDER, S.O.; FERRARIS, Jr. C.J. (eds.). *Checklist of the freshwater fishes of South and Central America.* Porto Alegre: EDIPU, Brazil. 2003. p. 174-181

Ao serem verificados sinais de corte, os peixes foram anestesiados em solução de benzocaína (2 g dissolvida em 150 mL de álcool 96°GL e diluída em 20 litros de água), sendo submetidos à massagem abdominal para extrusão de gametas.

A fertilização a seco (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1983) foi feita adicionando-se sêmen aos ovócitos e misturando-os delicadamente, acrescentando água à mistura para ativação dos gametas e hidratação dos ovos, que em seguida foram lavados e acondicionados em incubadoras cônicas, com capacidade de 200 litros.

Para monitoramento do desenvolvimento inicial as larvas foram mantidas nas incubadoras até adquirirem capacidade de nadar horizontalmente (OLIVEIRA et al., 2004), e em seguida foram transferidas para berçários de 1,5 m x 1,0 m x 0,75 m com malha de 2,0 mm de diâmetro, colocados em viveiros de 600 m^2 abastecidos com água de represa, onde permaneceram até completarem 25 dias de idade. Em cada berçário foram estocadas 3000 larvas (4 larvas/litro).

Foram coletadas 10 larvas em diferentes momentos amostrados durante o desenvolvimento de seis proles, que foram fixadas em formol 10% tamponado por 24 horas e transferidas para álcool 70% para análise. Os tempos de coleta foram: a cada hora até 11 horas após a eclosão (PE), em intervalos de duas horas até 35 h PE, de três horas até 59 h PE, de quatro horas até 83 h PE, de seis, oito e 12 horas, até 107, 123 e 147 h PE (7º dia), respectivamente, seguidas de coletas diárias no 8º, 9º, 11º, 13º, 15º, 18º, 22º e 25º dia.

O material obtido foi transportado à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista – FCAV/UNESP, no Campus de Jaboticabal - SP, sendo processado no Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal.

Para avaliar o crescimento relativo, de cada larva fixada foram determinados o comprimento total (CT) e padrão (CP), diâmetro do olho (DO), altura do corpo (AC), comprimento da cabeça (CC) (AHLSTROM et al., 1976). As medidas lineares foram obtidas sob estereomicroscópio (Leica MZ 8) com ocular micrométrica, em milímetros (mm).

As larvas coletadas foram separadas em fases de desenvolvimento segundo Kendall Jr. et al. (1983), modificado por Nakatani et al. (2001), de acordo com o grau de flexão da notocorda e desenvolvimento dos elementos de sustentação da nadadeira caudal, como descrito a seguir: 1- larval vitelino (LV): estágio entre a eclosão e o início da alimentação exógena (abertura do ânus e da boca); 2- pré-flexão (PrF): se estende desde o início da alimentação exógena até o início da flexão da região terminal da notocorda; 3- flexão (FL): caracteriza-se pelo início de flexão da notocorda e aparecimento dos elementos de sustentação

da nadadeira caudal até a completa flexão da região terminal da notocorda e aparecimento da nadadeira pélvica; 4- pós-flexão (PoF): inicia-se após total flexão da região terminal da notocorda, completa formação dos ossos hipurais e raios na nadadeira caudal e aparecimento do botão da nadadeira pélvica. Além dos estágios larvais, o período juvenil (JV) foi identificado, estendendo-se desde a total formação dos raios nas nadadeiras e de escamas, absorção da nadadeira embrionária, até a primeira maturação sexual do indivíduo.

Os diferentes estágios de desenvolvimento larval e juvenil foram registrados por meio de contorno em nanquim de figura refletida em câmara clara acoplada a estereomicroscópio (Leica MZ 95).

Os dados morfométricos obtidos das larvas foram logaritmizados (log natural) e ajustados à equação alométrica $y=ax^b$, que após transformação logarítmica passou a ser $lnY=lnA+BlnX$, sendo Y a variável dependente, X a variável independente, A o valor em logaritmo do intercepto e B o coeficiente angular, denominado coeficiente alométrico em estudos morfométricos (PERES-NETO, 1995). Os conceitos de alometria e isometria foram definidos pela análise do coeficiente angular (B) na correlação entre X e Y: se B é igual a 1 a correlação é isométrica, com Y e X crescendo na mesma velocidade; se B é maior que 1 a correlação é alométrica positiva e Y cresce mais rápido que X; se B é menor que 1 a correlação é alométrica negativa e Y cresce mais devagar que X (PERES-NETO, 1995). O desvio de B (S_b) e o coeficiente de correlação (r) foram estimados pelo método de análise de regressão (VANZOLINI, 1993). As correlações foram: diâmetro do olho (Y) em relação ao comprimento da cabeça (X); altura do corpo (Y) e comprimento da cabeça (Y) em relação ao comprimento padrão (X), comprimento padrão (Y) em relação ao comprimento total (X). Cada correlação foi representada por um diagrama de dispersão, verificando-se a ocorrência de alteração no valor da taxa de crescimento (RICKER, 1979). As nuvens de pontos obtidas foram ajustadas à uma linha reta a partir da equação alométrica descrita.

Para definir a isometria-alometria o valor de B foi testado estatisticamente pela expressão $t_B= |B-1| /S_B$, sendo B o valor do coeficiente angular e S_B o desvio de B. O resultado da expressão foi verificado em um teste monocaudal com n-2 graus de liberdade (FOWLER et al., 1998), no qual foi confirmado o valor de B igual, menor ou maior que 1. Para comparar a mesma correlação entre diferentes estágios, foi feito uso do intervalo de confiança de Gabriel, que compara simultaneamente diferentes coeficientes angulares (SOKAL e ROHLF, 1981).

O desempenho das espécies foi avaliado pela taxa de crescimento instantâneo (G), expressa pela fórmula $G=(lnL2-lnL1)/t2-t1$, sendo lnL2 e lnL1 os logaritmos dos comprimentos médios em instantes distintos e t2 e t1 esses instantes (RIKER, 1979).

3. RESULTADOS

Valores médios de variáveis físico-químicas da água durante o período de coletas foram de 6,49 ± 1,57 mg/L de oxigênio dissolvido, a alcalidade de 87,82 ± 10,13 mg/L, a amônia de 0,64 ± 0,51 mg/L, pH 7,65 ± 0,84 e temperatura média de 30,07 ± 1,95 ºC.

A Figura 1 mostra os diferentes estágios de desenvolvimento larval e juvenil identificados desde a eclosão até 25 dias de idade em *B. amazonicus*.

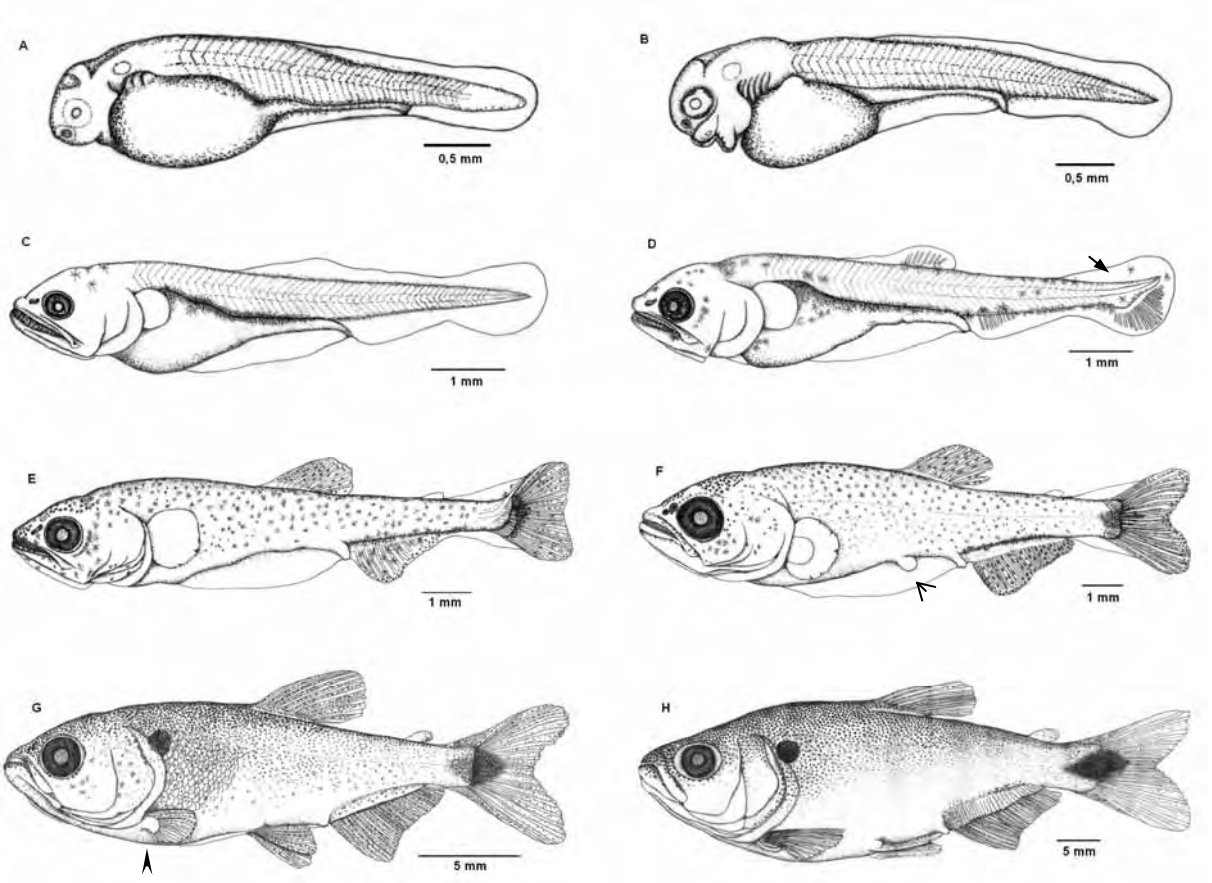

Figura 1. Estágios de desenvolvimento de *B amazonicus*. A – 2 h PE: larval vitelino; B – 11 h PE: larval vitelino; C - 59 h PE: pré-flexão; D – 83 h PE: início de flexão; E – 171 h PE: final de flexão; F – 243 h PE: início de pós-flexão; G - 411 h PE: final de pós-flexão; H – 583 h PE: juvenil. Flexão da notocorda (seta cheia), botão da nadadeira pélvica (seta vazada) e inserção membranosa da nadadeira peitoral (ponta de seta).

Estágio larval vitelino (Figura 1 – A e B)

O estágio larval vitelino de *B. amazonicus* prolongou-se desde a eclosão (13 h PF) até 23 h PE, envolvendo larvas de 2,75 a 5,90 mm de comprimento padrão. Na eclosão as larvas

mediam 3,45 ± 0,38 mm de comprimento padrão, com 0,99 ± 0,13 mm de altura do corpo e 0,50 ± 0,06 mm de comprimento da cabeça.

Durante o estágio larval vitelino, com 3 h PE, surgiram os primeiro sinais de pigmentação do olho, tornando-o possível de ser mensurado a partir de 7 h PE, quando possuía diâmetro médio de 0,22 ± 0,02 mm, estando quase totalmente pigmentado ao final deste estágio.

Com 5 h PE começaram a surgir também melanócitos dendríticos sobre o saco vitelino, que até o final deste estágio distribuíam-se sobre o intestino em formação. O mesmo tipo de melanócito foi visualizado na região ventral do saco vitelino 19 h PE.

Ao nascer, a única nadadeira presente é a embrionária, que envolve todo o corpo das larvas no plano sagital mediano e aumenta sua extensão durante este estágio. O botão da nadadeira peitoral iniciou sua diferenciação 6 h PE e, na maioria das larvas, parte do vitelo prolongava-se em forma de filamento abaixo do intestino até 11 h PE.

No último momento em que larvas em estágio larval vitelino estiveram presentes, 23 h PE, estas tinham em média 5,26 ± 0,44 mm de comprimento padrão, a altura do corpo foi de 1,10 ± 0,08 mm, o comprimento da cabeça media 0,97 ± 0,11 mm e a média do diâmetro do olho era de 0,30 ± 0,02 mm.

Estágio pré-flexão (Figura 1 – C)

As larvas de *B. amazonicus* estiveram em pré-flexão entre 25 h e 83 h PE, com comprimento padrão variando entre 4,50 e 7,20 mm. Com 63 h PE, quando larvas em estágio de desenvolvimento mais avançado foram visualizadas, dos peixes analisados 93,3% ainda estavam em pré-flexão.

Com 25 h PE o comprimento padrão médio das larvas foi de 5,50 ± 0,46 mm, a altura do corpo teve média de 1,11 ± 0,05 mm, o comprimento da cabeça foi de 1,02 ± 0,08 mm e o diâmetro do olho de 0,30 ± 0,01 mm. Neste momento as larvas possuíam trato digestório completo, com boca, ânus e luz do tubo digestório abertos, e a vesícula gasosa começou a inflar, sendo visualizada por transparência. Com 63 h PE a vesícula gasosa estava visivelmente inflada, ocupando grande espaço acima do tubo digestório.

Neste estágio, a nadadeira embrionária começou a ser reabsorvida gradualmente e as nadadeiras caudal, dorsal e anal começaram a ser delimitadas. Os melanócitos que no estágio anterior se distribuíam sobre o tubo digestório e região ventral pré-anal, com 27 h PE apareceram também na região anterior do tronco, logo após o opérculo, mesmo tempo em que a córnea adquiriu aspecto metalizado, diferenciando-se nos olhos bem pigmentados. Melanócitos dendríticos apareceram na região dorsal da cabeça 47 h PE e na região ventral

pós-anal 63 h PE. A pigmentação estava dispersa de forma pouco densa por todo o corpo das larvas 83 h PE.

No último momento de ocorrência de pré-flexão, 83 h PE, apenas 13% das larvas amostradas estavam neste estágio e possuíam média de 6,64 ± 0,40 mm de comprimento padrão, 1,30 ± 0,08 mm de altura do corpo, 1,45 ± 0,11 mm de comprimento da cabeça e 0,35 ± 0,06 mm de diâmetro do olho.

Estágio de flexão (Figura 1 – D e E)

Larvas em flexão tiveram o comprimento padrão variando entre 7,90 e 11,80 mm, e sua ocorrência foi observada entre 63 h e 339 h PE. No momento em que larvas neste estágio surgiram (63 h PE), a média do comprimento padrão foi de 8,06 ± 0,16 mm, da altura do corpo foi de 1,66 ± 0,07 mm, do comprimento da cabeça de 1,83 ± 0,06 mm e do diâmetro do olho de 0,41 ± 0,01 mm.

Ao iniciar-se a flexão da notocorda, alteração morfológica que marca este estágio, a formação de raios na nadadeira caudal também foi visualizada. Com 75 h PE foram visualizados primórdios de raios nas nadadeiras dorsal e anal. A notocorda estava totalmente flexionada 107h PE e deixou de ser visível por transparência 195 h PE. Devido à reabsorção da nadadeira embrionária, que continuava presente entre as demais nadadeiras e região ventral, a nadadeira adiposa começou a ser delineada 147 h PE.

Durante este estágio a pigmentação se intensificou gradualmente por toda a superfície do corpo e olhos, mais intensamente na região dorsal, e alguns melanócitos puntiformes surgiram na região antero-dorsal do tronco.

Com 195 h PE, quando o próximo estágio foi visualizado, 81% das larvas continuavam em flexão, e com 339 h PE, este estágio foi observado pela última vez em apenas 9% das larvas, que apresentavam média de comprimento padrão, altura do corpo, comprimento da cabeça e o diâmetro do olho de 11,38 ± 0,28 mm, 2,66 ± 0,11 mm, 3,18 ± 0,08 mm e de 0,99 ± 0,06 mm, respectivamente.

Estágio de pós-flexão (Figura 1 – F e G)

As larvas em pós-flexão foram observadas entre 195 h e 579 h PE, com comprimento padrão variando entre 10,90 e 39,50 mm. Até no último momento amostrado (579 h PE), 23,3% dos indivíduos ainda estavam neste estágio.

O início da ocorrência de pós-flexão, com 195 h PE, foi marcado pelo aparecimento do botão da nadadeira pélvica. Neste momento, o comprimento padrão médio dos peixes foi de 11,78 ± 0,58 mm, a altura do corpo foi de 2,83 ± 0,39 mm, o comprimento da cabeça de 3,25 ± 0,25 mm e o diâmetro do olho de 0,97 ± 0,09 mm.

Durante o estágio de pós-flexão, uma mácula com forma de "seta", com a ponta voltada para a nadadeira caudal, formada pelo adensamento de melanócitos dendríticos, surgiu abrangendo o pedúnculo caudal e a base da nadadeira caudal 195 h PE, seguida da formação de outra mácula circular, visualizada 291 h PE logo após o opérculo, na altura da linha lateral.

O início da segmentação dos raios da nadadeira caudal foi observado 291 h PE e a formação dos raios nas nadadeiras pélvica e peitoral foi visualizada com 291 h e 339 h PE, respectivamente. O início da formação de escamas foi visualizado na região anterior do tronco em pós-flexão, com 339 h PE, quando parte da nadadeira embrionária ainda era visível entre as nadadeiras pélvicas, que por sua vez já apresentavam raios segmentados nos maiores indivíduos amostrados neste momento. A nadadeira peitoral, apesar de conter raios em formação, ainda possuía inserção membranosa até o final deste estágio.

Com 579 h PE, os peixes em pós-flexão tinham média de 33,20 ± 3,82 mm de comprimento padrão, 10,92 ± 1,13 mm de altura do corpo, 10,16 ± 0,83 mm de comprimento da cabeça e de 2,91 ± 0,28 mm de diâmetro do olho.

Juvenil (Figura 1 – H)

Peixes em fase juvenil foram visualizados apenas no último momento amostrado, 579 h PE, com comprimento padrão entre 32,00 e 64,90 mm. A média do comprimento padrão, da altura do corpo, comprimento da cabeça e diâmetro do olho foi de 43,55 ± 9,57 mm, 14,66 ± 3,54 mm, 12,99 ± 2,90 mm e 3,34 ±0,44 mm, respectivamente.

Na fase juvenil os peixes possuíam corpo completamente coberto por escamas, a nadadeira embrionária havia sido totalmente reabsorvida e todas as nadadeiras estavam completamente formadas, com a única diferença em relação a fase adulta sendo a imaturidade sexual.

Relações corporais lineares

O padrão de crescimento de diferentes variáveis corporais, durante o desenvolvimento inicial de *B. amazonicus*, pode ser visualizado nas Figuras 2, 3, 4, 5 e 6, que demonstram as relações lineares entre o diâmetro do olho x comprimento da cabeça e entre o comprimento da cabeça, altura do corpo e comprimento total x comprimento padrão, nos estágios larval vitelino, pré-flexão, flexão, pós-flexão e na fase juvenil, respectivamente. Nos estágios larval vitelino e pré-flexão foi verificada uma maior dispersão de dados para quase todas as correlações, com exceção do comprimento total em relação ao comprimento padrão.

Não foram observadas alterações no padrão de crescimento das variáveis morfométricas relacionadas dentro de cada estágio de desenvolvimento inicial de *B. amazonicus* (Figura 2, 3, 4, 5 e 6), porém o padrão de crescimento de algumas correlações foi diferenciado entre os estágios, como visualizado na Tabela I.

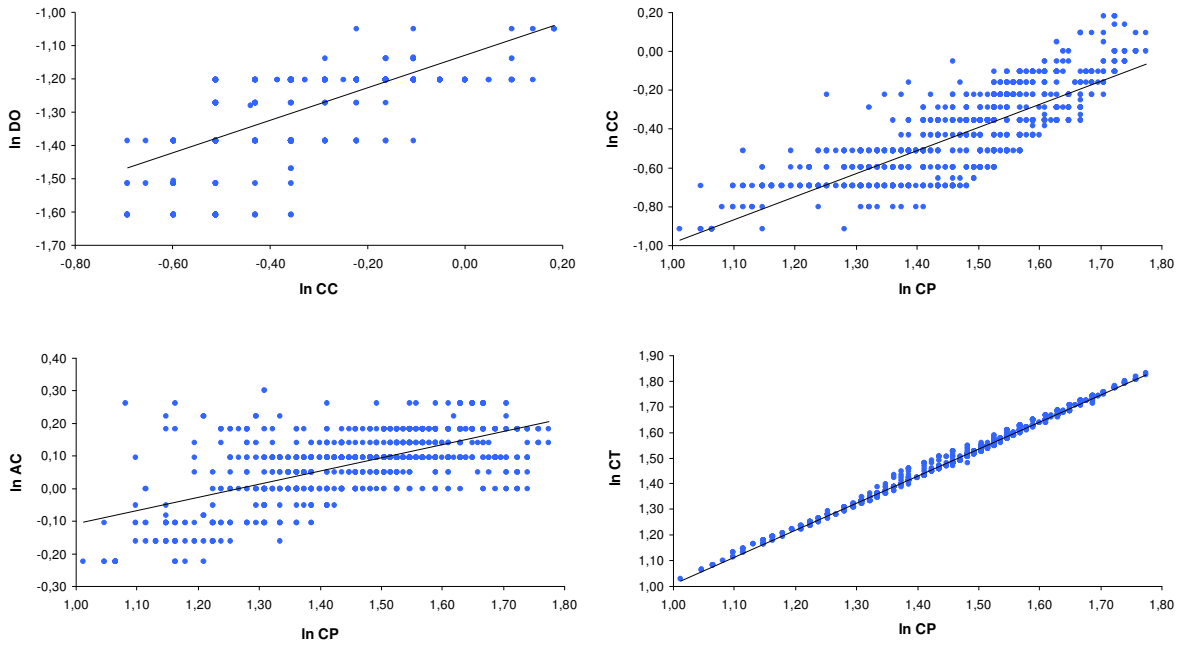

Figura 2 - Relações lineares entre diâmetro do olho (DO) e comprimento da cabeça (CC), e entre comprimento da cabeça, altura do corpo (AC), comprimento total (CT) em relação ao comprimento padrão (CP), observados durante o estágio **larval vitelino** de *B. amazonicus*, obtidos a partir de dados logaritmizados.

Na Tabela I, observa-se pela significância do coeficiente de correlação (r), que todas as variáveis analisadas estiveram estatisticamente correlacionadas em todos os estágios de desenvolvimento inicial de *B. amazonicus*, porém algumas correlações como DO x CC nos estágios larval vitelino e pré-flexão, CC x CP e AC x CP no estágio larval vitelino, apresentaram coeficiente de correlação com baixo valor numérico.

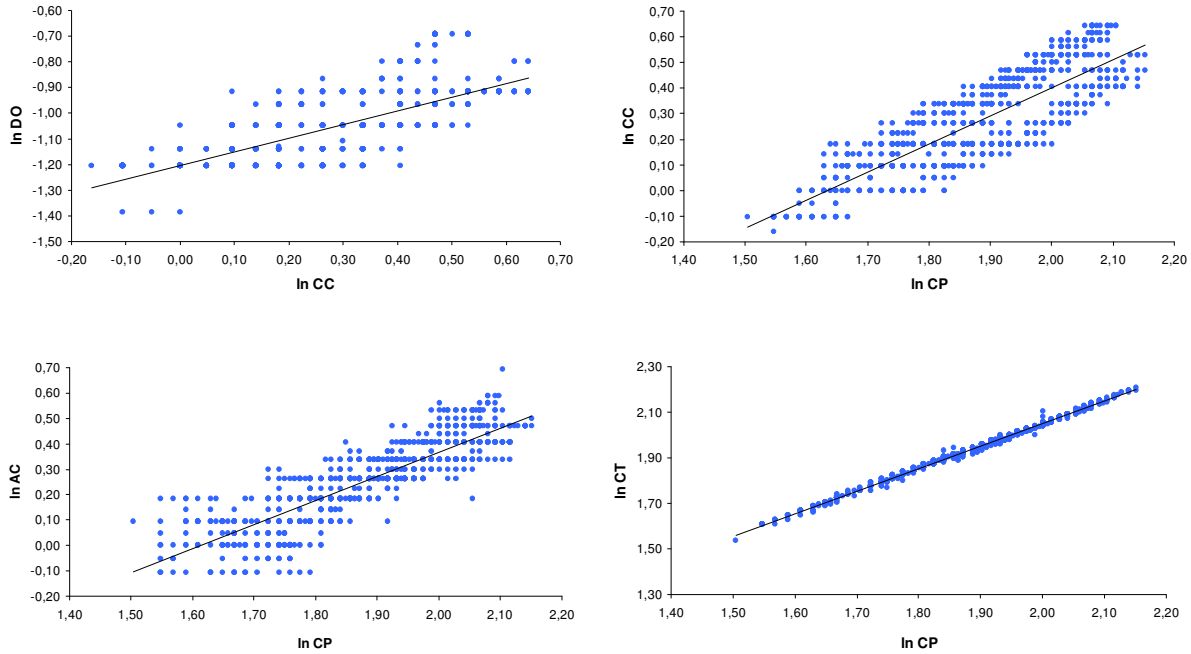

Figura 3 - Relações lineares entre diâmetro do olho (DO) e comprimento da cabeça (CC), e entre comprimento da cabeça, altura do corpo (AC), comprimento total (CT) em relação ao comprimento padrão (CP), observados durante o estágio de **pré-flexão** de *B. amazonicus*, obtidos a partir de dados logaritmizados.

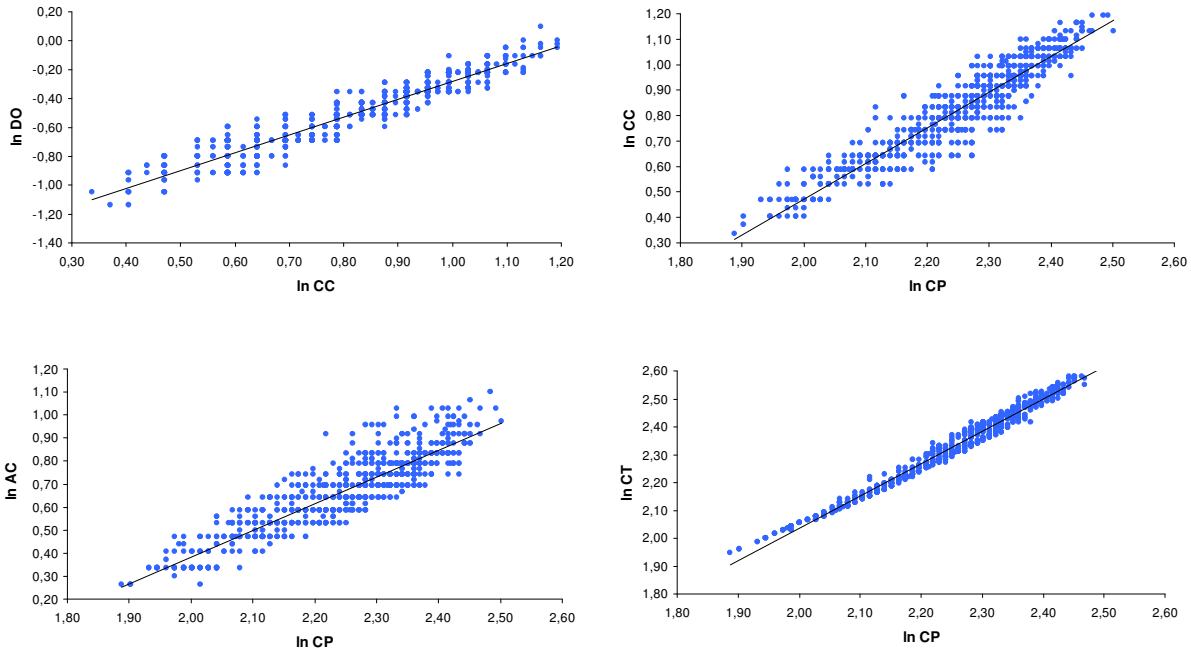

Figura 4 - Relações lineares entre diâmetro do olho (DO) e comprimento da cabeça (CC), e entre comprimento da cabeça, altura do corpo (AC), comprimento total (CT) em relação ao comprimento padrão (CP), observados durante o estágio de **flexão** de *B. amazonicus*, obtidos a partir de dados logaritmizados.

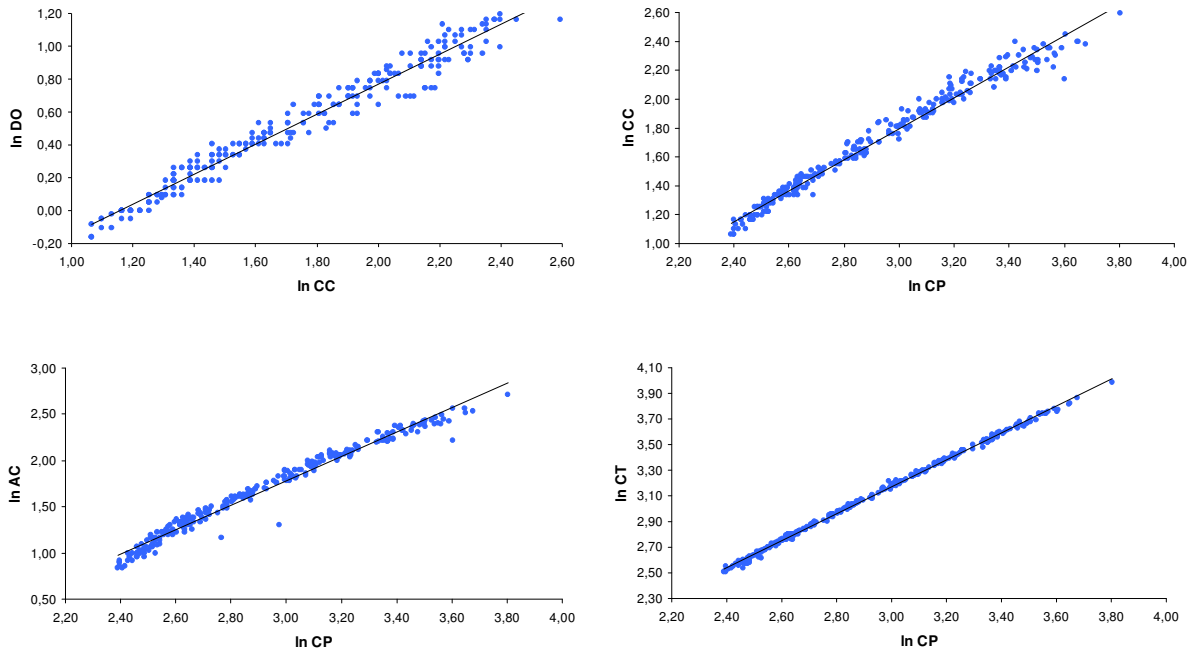

Figura 5 - Relações lineares entre diâmetro do olho (DO) e comprimento da cabeça (CC), e entre comprimento da cabeça, altura do corpo (AC), comprimento total (CT) em relação ao comprimento padrão (CP), observados durante o estágio de **pós-flexão** de *B. amazonicus*, obtidos a partir de dados logaritmizados.

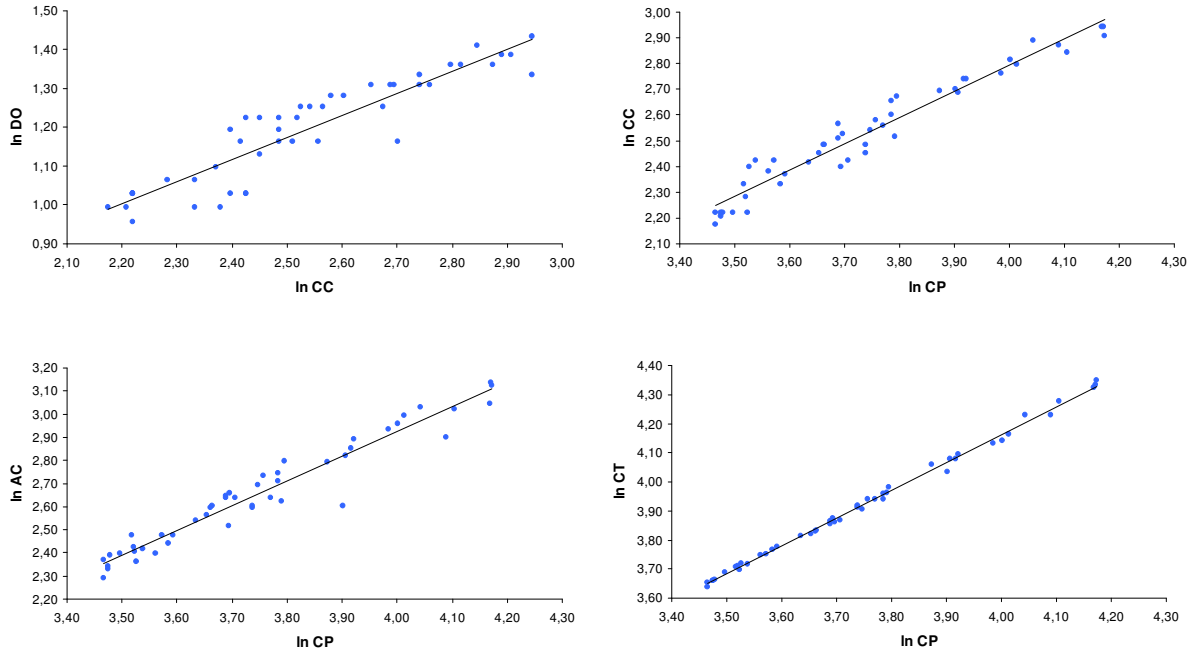

Figura 6 - Relações lineares entre diâmetro do olho (DO) e comprimento da cabeça (CC), e entre comprimento da cabeça, altura do corpo (AC), comprimento total (CT) em relação ao comprimento padrão (CP), observados durante a fase **juvenil** de *B. amazonicus*, obtidos a partir de dados logaritmizados.

O valor do coeficiente alométrico (b) na relação entre DO x CC (Tabela I), indicou que em todos os estágios analisados, com exceção do estágio de flexão, o diâmetro do olho cresceu menos que o comprimento da cabeça (alometria negativa). No estágio de flexão o olho se desenvolveu rapidamente e o valor do coeficiente alómetrico apresentou-se alto em relação aos demais estágios, com o diâmetro do olho crescendo mais que o comprimento da cabeça (alometria positiva) apenas nesta fase de desenvolvimento de *B. amazonicus*.

Tabela I – Dados obtidos de valores logaritmizados das relações lineares entre diâmetro do olho (DO) e comprimento da cabeça (CC), e entre comprimento da cabeça, altura do corpo (AC), comprimento total (CT) em relação ao comprimento padrão (CP), observados nos diferentes estágios de desenvolvimento larval e juvenil de *B. amazonicus*.

Relações	Estágios	b	r	n
ln DO x ln CC	Larval vitelino	0,49 (<1)	0,67*	591
	Pré-flexão	0,53 (<1)	0,75*	913
	Flexão	1,23 (>1)	0,95*	776
	Pós-flexão	0,91 (<1)	0,98*	266
	Juvenil	0,57 (<1)	0,92*	47
ln CC x ln CP	Larval vitelino	1,19 (>1)	0,80*	955
	Pré-flexão	1,10 (>1)	0,84*	913
	Flexão	1,40 (>1)	0,94*	776
	Pós-flexão	1,07 (>1)	0,99*	266
	Juvenil	1,02 (>1)	0,97*	47
ln AC x ln CP	Larval vitelino	0,40 (<1)	0,63*	955
	Pré-flexão	0,95 (<1)	0,87*	913
	Flexão	1,16 (>1)	0,89*	776
	Pós-flexão	1,32 (>1)	0,99*	266
	Juvenil	1,07 (=1)	0,97*	47
ln CT x ln CP	Larval vitelino	1,05 (>1)	0,99*	955
	Pré-flexão	0,99 (<1)	0,99*	913
	Flexão	1,16 (>1)	0,99*	776
	Pós-flexão	1,05 (>1)	0,99*	266
	Juvenil	0,96 (=1)	0,99*	47

b= valor numérico do coeficiente angular ou alométrico (estatisticamente =, < ou > que 1);
r= valor do coeficiente de correlação (*$P < 0,01$);
n= número de dados analisados em cada fase de desenvolvimento.

A relação entre o comprimento da cabeça e o comprimento padrão foi alométrica positiva (Tabela I) durante todo o desenvolvimento inicial de *B. amazonicus,* apresentando valor do coeficiente alométrico acentuadamente maior no estágio de flexão em relação aos demais momentos analisados.

A altura do corpo em relação ao comprimento padrão apresentou três diferentes padrões de crescimento ao longo do desenvolvimento de *B. amazonicus*. Nos dois primeiros estágios (larval vitelino e pré-flexão), a altura do corpo cresceu menos que o comprimento padrão (alometria negativa). O contrário ocorreu nos dois estágios seguintes (flexão e pós-flexão = alometria positiva), com estabilização desta relação morfométrica no período juvenil, quando a altura do corpo e comprimento padrão cresceram na mesma velocidade (isometria).

Na Tabela I, verifica-se que o valor numérico do coeficiente alométrico para a relação entre AC x CP foi crescente durante o desenvolvimento larval, indicando que o crescimento da altura do corpo foi gradativamente acelerado da eclosão ao final da metamorfose, com os valores mínimo (0,40) e máximo (1,32) do coeficiente alométrico ocorrendo, respectivamente, no primeiro (larval vitelino) e último (pós-flexão) estágio larval.

Na relação entre o comprimento total e padrão (Tabela I), o valor estatístico do coeficiente alométrico indicou que comprimento total cresceu menos que o comprimento padrão apenas no estágio de pré-flexão de *B. amazonicus*, com o contrário ocorrendo nos demais estágios larvais, seguido de isometria no período juvenil. Porém, verificando-se o valor numérico do coeficiente alométrico, note-se que o padrão de crescimento esteve próximo da isometria em todos os estágios, com exceção de flexão, onde o coeficiente alométrico se distanciou positivamente de um, indicando crescimento mais rápido do comprimento total em relação comprimento padrão neste estágio.

Na comparação simultânea dos coeficientes angulares entre os estágios de desenvolvimento inicial de *B. amazonicus* (Figura 7), verifica-se que na relação diâmetro do olho e comprimento da cabeça, os estágios larval vitelino, pré-flexão e flexão diferiram entre si, com o primeiro estágio diferindo também de pós-flexão e juvenil. As únicas semelhanças de coeficientes angulares observadas foram entre os estágios de flexão e pós-flexão, pré-flexão e juvenil, e pós-flexão e juvenil. Os coeficientes angulares do comprimento da cabeça em relação ao comprimento padrão tiveram intervalos de confiança equivalentes e foram semelhantes em todos os estágios de desenvolvimento larval e juvenil.

Ao comparar os coeficientes angulares da relação entre altura do corpo e comprimento padrão e seus respectivos intervalos de confiança (Figura 7), verificou-se que o estágio larval vitelino diferiu dos demais estágios e período juvenil, ocorrendo diferença também entre pré-

flexão e pós-flexão. Quanto ao comprimento total em relação ao comprimento padrão, apenas os intervalos de confiança dos estágios de pré-flexão e flexão não foram semelhantes.

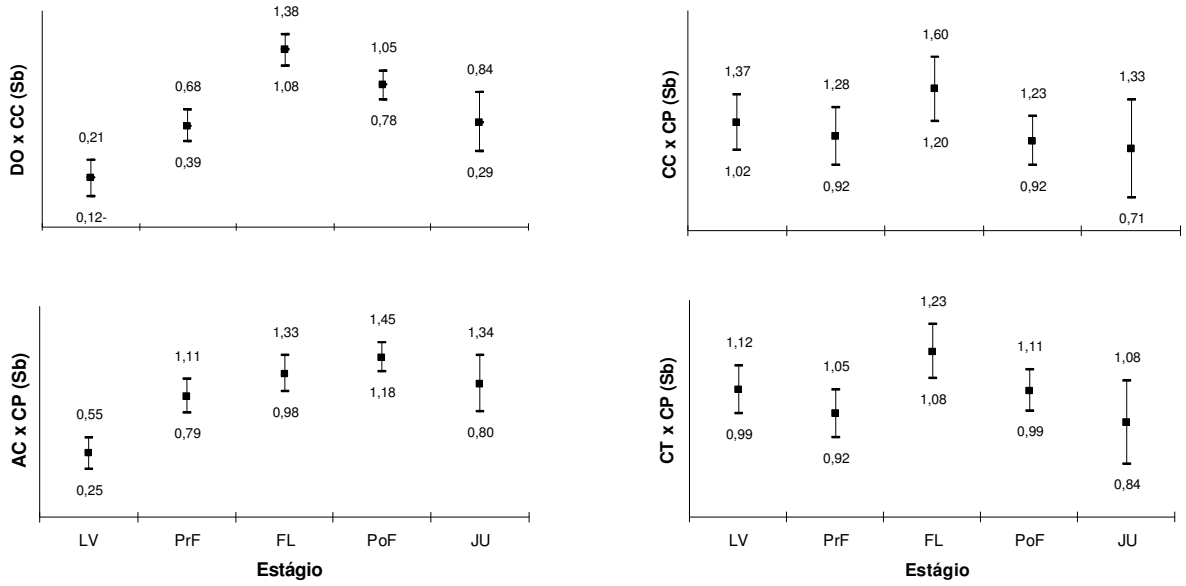

Figura 7 – Comparação dos coeficientes angulares (b) e respectivos intervalos de confiança das relações diâmetro do olho (DO) x comprimento da cabeça (CC), comprimento da cabeça (CC) x comprimento padrão (CP) e altura do corpo (AC) x comprimento padrão (CP) e comprimento total (CT) e comprimento padrão (CP), entre os estágios de desenvolvimento inicial de *B. amazonicus*. LV = larval vitelino, PrF = pré-flexão, FL = flexão, PoF = pós-flexão.

Os valores da taxa de crescimento instantâneo para comprimento total, analisados ao longo do desenvolvimento inicial de *B. amazonicus*, estão representados na Figura 8.

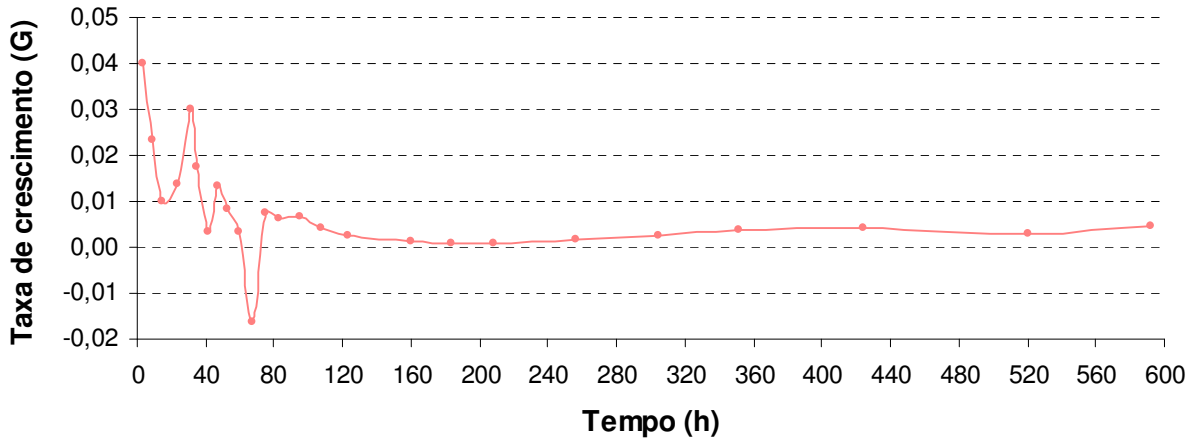

Figura 8 – Taxa de crescimento (G) em comprimento total durante o desenvolvimento larval de *B. amazonicus*.

Nas primeiras 80 h PE foram verificadas grandes alterações nas taxas de crescimento instantâneo de *B. amazonicus*, com os maiores e menores valores ocorrendo neste período. A maior taxa de crescimento foi verificada entre 0 e 3 h PE, com queda entre 3 e 15 h PE. Outra redução no crescimento foi verificada entre 31 e 41 h PE, seguida de queda no crescimento entre 59 h e 67 h PE, momento marcado pela transferência de ambiente e transição alimentar.

4. DISCUSSÃO

No período analisado as condições ambientais foram variáveis, porém com valores próximos ao máximo aceitável para o crescimento de peixes tropicais (SIPAÚBA-TAVARES, 1995).

Ao nascer, a ausência de pigmentação, de boca e presença de vesícula óptica indiferenciada observada em *B. amazonicus* corrobora ao observado em larvas recém-eclodidas da mesma espécie (MIRA-LÓPEZ et al., 2007) e de outras, como *B. cephalus* (LOPES et al., 1995; ROMAGOSA et al., 2001), *B. insignis* (ANDRADE-TALMELLI et al., 2001) e *B. orbignyanus* (REYNALTE-TATAJE et al., 2004). O início da pigmentação do olho, ocorrendo nas primeiras horas após a eclosão, como observado neste estudo, também foi relatado para *B. amazonicus* por Mira-López et al. (2007) e para outras espécies do gênero *Brycon* (LOPES et al., 1995; ANDRADE-TALMELLI et al., 2001; NAKATANI et al., 2001; REYNALTE-TATAJE et al., 2004), assim como o aparecimento do botão da nadadeira peitoral nos primeiros momentos de desenvolvimento larval (ANDRADE-TALMELLI et al., 2001; NAKATANI et al., 2001; MIRA-LÓPEZ et al., 2007), com o desenvolvimento destas estruturas demonstrando ser prioritário nesta fase do ciclo de vida.

Segundo Osse et al. (1997), o desenvolvimento funcional de estruturas envolvidas na natação e captura de alimento ocorre rápido e simultaneamente nas fases iniciais do ciclo de vida dos peixes. Osse (1990) afirma que pequenos ovos (1-2 mm), como os produzidos por *B. amazonicus* (ver Capítulo 2), produzem larvas capazes de se alimentar de presas relativamente pequenas, sendo esperado que o sucesso na obtenção limitada de energia proveniente da alimentação exógena seja prioridade para a sobrevivência.

De maneira geral, logo após a eclosão, larvas de peixes se movimentam por movimentos ondulatórios da metade posterior do corpo, enquanto a metade anterior apresenta-se fixa à cabeça inerte. O aparecimento das nadadeiras peitorais antes das demais permite às larvas mudarem de direção durante a captura de alimento (OSSE, 1990), sendo a provável

explicação para o surgimento prematuro destas em larvas *B. amazonicus*, mesmo na forma membranosa.

Levando em consideração a função fundamental do olho na visualização de presas (distância, tamanho, posição), a rápida pigmentação desta estrutura e conseqüente desenvolvimento da acuidade visual também é prioridade durante a fase larval, pois é imprescindível na obtenção de alimento exógeno por predadores visuais. Segundo Ceccarelli (1997), peixes do gênero *Brycon* possuem olhos bem desenvolvidos e pigmentados, característica que indicam maior facilidade em direcionar visualmente o ataque às suas presas.

A seqüência de início de formação de raios nas nadadeiras em *B. amazonicus*, começando pela caudal, seguida da dorsal, anal, pélvica e peitoral, foi a mesma descrita para *B. orbignyanus* (NAKATANI et al., 2001) e também para outros Characiformes, como *Serrasalmus spilopleura* (CAVICCHIOLI et al., 1997) e *Prochilodus scrofa* (CAVICCHIOLI e LEONHARDT, 1993), podendo representar uma característica desta ordem. De acordo com Osse (1990), a ossificação dos raios das nadadeiras em larvas de peixes indica alteração na forma de natação, sendo prioridade seu início pelos ossos hipurais da nadadeira caudal, devido à função ativa desta nadadeira na movimentação inicial das larvas, através de movimentos ondulatórios da metade posterior do corpo.

O padrão de melanócitos e distribuição da pigmentação foram semelhantes ao observado em *B. orbignyanus* (NAKATANI et al., 2001), diferenciando-se apenas em relação aos estágios de desenvolvimento larval em que as alterações foram visualizadas, ocorrendo precocemente em *B. amazonicus* comparado a *B. orbignyanus*. Segundo Kendal et al. (1983), algumas características como padrão de pigmentação, tamanho e forma do corpo refletem herança genética específica, porém o tempo de desenvolvimento é altamente dependente das condições ambientais, principalmente da temperatura.

As máculas de pigmentos observadas em *B. amazonicus* a partir do estágio de pós-flexão, uma no pedúnculo caudal e outra posterior ao opérculo, juntamente com o perfil de distribuição da pigmentação nos maiores indivíduos analisados neste trabalho, correspondem ao padrão de pigmentação presente em adultos de *B. amazonicus* (GOMES e URBINATI, 2005), representando uma característica da espécie. A intensa pigmentação visualizada a partir do estágio de flexão pode estar associada à camuflagem, diminuindo o risco das larvas serem predadas em seu habitat natural e contribuindo também na ofuscação destas durante a perseguição às presas.

A sobreposição de estágios de desenvolvimento corporal, visualizada durante as fases iniciais do ciclo de vida de *B. amazonicus*, onde em alguns momentos amostrados larvas

menores encontravam-se em estágio diferente e anterior às larvas maiores, sugere que o desenvolvimento morfológico esteja mais relacionado ao tamanho dos espécimes do que à idade. Van Snik et al. (1997), estudando *Cyprinus carpio* e *Clarias gariepinus*, também observaram diferenças no comprimento padrão em mesmo momento amostrado e atribuíram à competição por alimento e canibalismo. Fuiman et al. (1998) afirmam que o comprimento em relação à idade das larvas é muito variável e dependente das condições ambientais, recomendando que estudos descritivos de uma única espécie, onde sejam comparados diferentes estágios de desenvolvimento larval, a transformação em logaritmo do comprimento dos peixes seja utilizada como um dado primário e obrigatório de ontogenia, facilitando comparações com outros estudos ontogenéticos inter ou intra-específicos.

A alta dispersão de dados observada em algumas correlações nos estágios larval vitelino e pré-flexão são reflexo de marcantes transformações morfológicas neste momento, comprovadas pelo relativamente baixo valor numérico do coeficiente de correlação obtido para algumas relações lineares. Uma das causas da grande variação no diâmetro do olho pode ter sido a presença indiferenciada desta estrutura nestes estágios, com seu diâmetro sendo baseado apenas em sua pigmentação progressiva até o surgimento de um sulco em sua borda com 35 h PE (ver Capítulo 3), que passou a ser referência de diâmetro a partir de sua formação, sendo posteriormente substituído pela cavidade intra-orbital formada devido ao desenvolvimento do esqueleto da cabeça.

O comprimento da cabeça também sofreu alterações em sua delimitação durante os estágios larval vitelino e pré-flexão. Enquanto a cabeça estava aderida ao saco vitelino seu comprimento foi baseado no limite desta adesão, passando a ser delimitado posteriormente pela primeira fenda brânquial, pela borda posterior da membrana branquiostegial e pela borda posterior do opérculo, sendo baseado, respectivamente, no surgimento destas estruturas. Outra medida morfométrica bastante dispersa nos primeiros estágios de desenvolvimento foi da altura do corpo, que sofreu influência direta do volume do saco vitelino e do grau de diferenciação do tubo digestório neste período.

Fuiman (1983) afirma que o crescimento intensivo e não uniformemente distribuído em larvas de peixes, como observado neste estudo, segue na direção à isometria entre todas as partes do corpo em adultos, com poucas alterações na forma entre adultos de diferentes tamanhos, sexos e época do ano.

O padrão de crescimento alométrico de *B. amazonicus*, com algumas alterações entre os estágios de desenvolvimento analisados, reflete prioridades na diferenciação de algumas estruturas em determinados momentos analisados. Osse et al. (1997) e Van Snik et al. (1997)

afirmam que o crescimento descontínuo, com mudanças na taxa de crescimento de partes do organismo, ocorre devido ao desenvolvimento prioritário da funcionalidade de estruturas relacionadas à alimentação, natação e respiração.

Em *B. amazonicus*, o crescimento alométrico positivo do diâmetro do olho em relação ao comprimento da cabeça no estágio de flexão corresponde a momentos de diferenciação desta estrutura visualizada em MEV (ver Capítulo 3), quando o desenvolvimento dos ossos orbitais promoveu a delimitação da vesícula óptica, que até então era contínua aos demais tecidos da cabeça. Considerando que a pigmentação do olho começou ainda no estágio larval vitelino, seguido do início da alimentação exógena no estágio de pré-flexão, o rápido desenvolvimento do olho no estágio de flexão deve estar relacionado não só ao desenvolvimento dos ossos orbitais, mas também a função desta estrutura na visualização e análise de presas.

O crescimento alométrico positivo do olho nos primeiros estágios larvais também foi observado em larvas de várias ordens e gêneros, como *Cyprinus carpio* (OSSE, 1990), *Sebates saxicola* (LAIDIG et al., 1996), *Plagioscion squamosissimus* (NAKATANI et al., 1997), *Serrasalmus spilopleurae* e *Serrasalmus marginatus* (CAVICCHIOLI et al., 1997), *Hypophthalmus edentatus* (NAKATANI et al., 1998), *Helostoma temminckii* (SOUSA e SEVERI, 2000) e *Eucinostomus currani* (JIMÉNEZ-ROSENBERG et al., 2006), com seu rápido desenvolvimento, juntamente com outras estruturas relacionadas à alimentação, sendo essencial na seleção de presas (CASSEMIRO et al., 2008).

O gradual aumento dos valores de alometria positiva observado no comprimento da cabeça em relação ao comprimento padrão em *B. amazonicus*, com crescimento acelerado desde a eclosão até o estágio de flexão, reflete o nítido desenvolvimento de estruturas relacionadas à respiração branquial e estruturas ósseas da cabeça relacionadas à alimentação (ver Capítulo 3). Larvas de outras espécies também apresentaram este padrão de crescimento, como *Cichalasoma managuense* (RODRÍGUES et al., 1989), *Prochilodus scrofa* (CAVICCHIOLI e LEONHARDT, 1993), *Sebates saxicola* (LAIDIG et al., 1996), *Plagioscion squamosissimus* (NAKATANI et al., 1997), *Cyprinus carpio* (OSSE et al., 1997), *Cyprinus carpio* e *Clarias gariepinus* (VAN SNIK et al., 1997), *Helostoma temminckii* (SOUSA e SEVERI, 2000) e *Eucinostomus currani* (JIMÉNEZ-ROSENBERG et al., 2006).

A alometria positiva do crescimento da cabeça durante o desenvolvimento larval em peixes está relacionada ao desenvolvimento de estruturas sensoriais (FUIMAN, 1983), a diferenciação das estruturas bucais (FUIMAN, 1983; OSSE et al., 1997; VAN SNIK et al., 1997; CASSEMIRO et al., 2008), e a rápida expansão do opérculo e diferenciação do

aparelho branquial (FUIMAN, 1983; VAN SNIK et al., 1997), indicando aprimoramento da captura de alimento e transição da respiração cutânea para branquial.

A grande variação no padrão de crescimento da altura do corpo em larvas de *B. amazonicus* ocorreu pela influência de diferentes fatores dentro de cada estágio de desenvolvimento. No estágio larval vitelino a alometria negativa sofreu influência direta do alto consumo de vitelo e conseqüente redução no volume do saco vitelino (ver Capítulo 3), que nesta fase estava inserido na medida linear em questão. No estágio de pré-flexão, apesar da absorção do saco vitelino continuar influenciando negativamente, o crescimento da altura do corpo esteve próximo à isometria, ocorrendo provável influência do desenvolvimento da bexiga natatória e da formação de uma dilatação intestinal (ver Capítulo 4), que devem ter contribuído com o maior valor do coeficiente alométrico neste estágio em relação ao anterior. Nos estágios de flexão e pós-flexão o desenvolvimento do trato digestório, enovelamento do intestino (ver Capítulo 4) e desenvolvimento da musculatura corporal influenciaram no crescimento alométrico positivo da altura do corpo, seguido de crescimento isométrico em juvenis, onde todas as diferenciações já citadas haviam cessado.

As alterações morfológicas que influenciam no padrão de crescimento da altura do corpo em relação ao comprimento, durante o desenvolvimento larval em peixes, foram relatadas em outros estudos. Cassemiro et al. (2008) afirmam que tais alterações estão relacionadas ao aumento no comprimento do intestino e crescimento dos ossos. Fuiman (1983) e Rodrígues et al. (1989) relacionam alterações no tronco ao aprimoramento da habilidade natatória e conseqüente desenvolvimento do sistema muscular. Osse e Van Den Boogaart (1999) sugerem que a absorção do saco vitelino aumenta a flexibilidade da região anterior do corpo, influenciando no desenvolvimento muscular desta parte.

O crescimento visualizado na relação entre comprimento total e padrão em larvas de *B. amazonicus* esteve relacionado ao desenvolvimento da nadadeira caudal, que foi próximo à isometria em todos os estágios analisados com exceção de flexão, onde o comprimento total foi mais acelerado, sinalizando o aprimoramento da habilidade natatória. Segundo Rodrígues et al. (1989) e Osse (1990), a nadadeira caudal atua nos movimentos ondulatórios iniciais e aumenta a velocidade de propulsão das larvas. Osse et al., (1997) afirmam que o crescimento desta estrutura, somado a alometria positiva do comprimento da cauda, é importante na velocidade de escape e de captura de presas pelas larvas.

Em relação à taxa de crescimento de *B. amazonicus*, analisada com base no comprimento das larvas durante o desenvolvimento, os momentos de oscilação ocorridos nas primeiras 75 horas após a eclosão (4º dia de vida) representaram fases de transição alimentar

ou ambiental. Após 15 horas de desenvolvimento larval, o rápido crescimento do comprimento pode ser atribuído ao desenvolvimento da locomoção. O crescimento mais lento a partir de 30 h PE coincide com o grande gasto energético despendido na captura de presas, fornecidas por volta de 28 horas após a eclosão (PE), devido a habilidade natatória ineficiente no momento. Osse (1990) afirma que nos primeiros momentos as larvas movimentam por propulsão originada pela ondulação da cauda e metade posterior do corpo, gastando muita energia para romper a força de resistência da água com o corpo preso à cabeça inerte, com os gastos energéticos diminuindo após enchimento da vesícula gasosa e desenvolvimento do aparelho locomotor.

A última queda na taxa de crescimento de *B. amazonicus*, visualizada entre 60 e 75 h PE, corresponde ao momento de transferência das larvas das incubadoras para o viveiro, ocorrendo redução da velocidade de crescimento provavelmente devido à adaptação ao novo ambiente e, principalmente, devido a transição alimentar, pois a partir deste momento o fornecimento de larvas forrageiras como alimento foi substituído por ração comercial farelada, que a principio não teve boa aceitação pelas larvas de *Brycon* (observação pessoal, pelo não comparecimento das larvas à superfície da água quando o alimento era fornecido e pela ausência de conteúdo no trato digestório, visualizado em estereomicroscópio).

O padrão de crescimento observado neste estudo entre as relações corporais de *B. amazonicus*, sugere que o desenvolvimento acelerado de partes do corpo onde se situam estruturas relacionadas à habilidade natatória e a captura de alimento seja prioridade durante a fase larval da espécie, como sugerido por Osse et al. (1997), que afirmam que o sistema alimentar e natatório devem desenvolver-se de forma simultânea para que a captura de alimento seja otimizada, não apenas na chance de captura de presas como na captura de presas maiores, pois é o fator determinante da sobrevivência das formas iniciais em peixes.

Com base na análise do conjunto de dados morfométricos obtidos em *B. amazonicus* durante as fases inicias de seu ciclo de vida, é evidente a prioridade no desenvolvimento simultâneo de estruturas funcionais relacionadas à natação e alimentação.

5. REFERÊNCIAS

AHLSTROM, E. H; BUTLER, J. L.; SUMIDA, B. Y. Pelagic stromateioid fishes (Pisces, Perciformes) of the Eastern Pacific: kinds, distributions, and early life histories and observations of five of these from the northwest Atlantic. **Bulletin of Marine Science,** Miami, v. 26, n. 3, p. 285-402. 1976.

ANDRADE-TALMELLI, E. F.; KAVAMOTO, E. T.; ROMAGOSA, E.; FENERICH-VERANI, N. Embryonic and larval development of the “piabanha”, *Brycon insignis*

Steindachner, 1876 (Pisces, Characidae). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 21-27. 2001.

CASSEMIRO, F. A. S.; RANGEL, T. F. L. V. B.; PELICICE, F. M.; HAHN, N. S. Allometric and ontogenetic patterns related to feeding of a neotropical fish, *Satanoperca pappaterra* (Perciformes, Cichlidae). **Ecology of Freshwater Fish**, Malaysia, v. 17, p. 155-164. 2008.

CAVICCHIOLI, M.; LEONHARRDT, J. H. Estudo do desenvolvimento morfológico de larvas de curimatá, *Prochilodus scrofa* (Steindachner, 1882), obtidas de reprodução induzida. **UNIMAR**, Maringá, v. 15 (suplemento), p. 109-124. 1993.

CAVICCHIOLI, M.; NAKATANI, K.; SHIBATTA, O. A. Morphometric variation of larvae and juveniles of the piranhas *Serrasalmus spilopleura* and *S. marginatus* (Characidae: Serrasalminae) of the Paraná basin, Brazil. **Ichthyological Exploration in Freshwater**, München, v. 8, n. 2, p. 97-106. 1997.

CECCARELLI, P. S. **Canibalismo em larvas de matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869**). 1997. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista - UNESP: Botucatu, 1997.

EHLINGER, T. J. Allometry and analysis of morphometric variation in the bluegill, *Lepomis macrochirus*. **Copeia,** Arizona, v. 2, p. 347-357. 1991.

FOWLER, J.; COHEN, L; JARVIS, P. **Practical statistics for field biology.** Chichester: John Wiley & Sons, 1998. 259 p.

FUIMAN, L. A. Growth gradients in fish larvae. **Journal of Fish Biology**, London, v. 23, p. 117-123. 1983.

FUIMAN, L. A., POLING, K. R.; HIGGS, D. M. Quantifying development progress for comparative studies of larval fishes. **Copeia,** Arizona, v. 3, p. 602-611. 1998.

GOLTERMANN, H. L.; CLYMO, R. S.; OHNSTAD, M. A. M. **Methods for Physical and Chemical Analysis of Freshwaters.** London: Blackweel Science Publication, IBP Handbook number 8, 1978. 214 p.

GOMES, L. C.; URBINATI, E. C. Matrinxã (*Brycon amazonicus*). In: BALDISSEROTO, B.; GOMES, L. C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2005. p. 149-174.

HONCZARYK, A. A reprodução de peixes em cativeiro. In: VAL, A. L.; HONCZARYK, A. **Criando peixes na Amazônia.** Manaus: INPA, 1995. p. 97-120.

JIMÉNEZ-ROSENBERG, S. P. A.; GONZÁLEZ-NAVARRO, E. A.; SALDIERNA-MARTÍNEZ, R. J. Larval, prejuvenile and juvenile development of *Eucinostomus currani*. **Journal of Fish Biology**, London, v. 69, p. 28-37. 2006.

KENDALL, Jr., A. W.; AHLSTROM, E. H.; MOSER, H. G. Early life history stages of fishes and their characters. In: MOSER, H. G; RICHARDS, W. J.; COHEN, D. M.; FAHAY, M. P.; KENDALL, Jr., A. W.; RICHARDSON, S. L. (Ed.). **Ontogeny and systematic of fishes**: based on the International Symposium dedicated to the memory of Elbert Halvor Ahlstron. Lawrence: American Society of Ichthyologists and Herpetologists, c1983. p. 11-22.

LAIDIG, T. E.; SAKUMA, K. M.; NISHIMOTO, M. M. Description of pelagic larval and juvenile stripetail rockfish, *Sebastes saxicola* (family Scorpaenidae), with an examination of larval growth. **Fishery Bulletin**, Washington, v. 94, p. 289-299. 1996.

LIMA, F. C. T. Subfamily Bryconinae (Characins, Tetras). In: REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS Jr, C. J. (eds.). **Check list of the freshwater fishes of South and Central America.** Porto Alegre: EDPURCS, 2003, p. 174-181.

LOPES, R. N. M.; SENHORINI, J. A.; SOARES, M. C. F. Desenvolvimento embrionário e larval do matrinxã *Brycon cephalus* Günther, 1869, (Pisces, Characidae). **Boletim Técnico do CEPTA**, Pirassununga, v. 8, p. 25-39. 1995.

MELLO, F. T.; IGLESIAS, C.; BORTHAGARAY, A. I.; MAZZEO, N.; VILCHES, J.; LARREA, D.; BALLABIO, R. Ontogenetic allometric coefficient changes: implications of diet shift and morphometric traits in *Hoplias malabaricus* (Bloch) (Characiforme, Erythrinidae). **Journal of Fish Biology**, London, v. 69, p. 1770-1778. 2006.

MIRA-LÓPEZ, T. M.; MEDINA-ROBLES, V. M.; VELASCO-SANTAMARÍA, Y, M.; CRUZ-CASALLAS, P. E. Valores morfométricos en larvas de yamú *Brycon amazonicus* (Pisces: Characidae) obtenidas con semen fresco y crioconservado. **Actualidades Biologicas**, Medellin, Colômbia, v. 29, n. 87, p. 203-213. 2007.

NAKATANI, K.; AGOSTINHO, A. A.; BAUMGARTNER, G.; BIALETZKI, A.; SANCHES, P. V.; CAVICCHIOLI, M. **Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação.** Maringá: EDUEM/Nupélia, 2001, 359p.

NAKATANI, K.; BAUMGARTNER, G.; BAUMGARTNER, M. S T. Larval development of *Plagioscion squamosissimus* (Heckel) (Perciformes, Sciaenidae) of Itaipu Reservoir (Paraná river, Brazil). **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 14, n. 1, p. 35-44. 1997.

NAKATANI, K.; BAUMGARTNER, G.; LATINI, J. D. Morphological description of larvae of the mapará *Hypophthalmus edentatus* (Spix) (Osteichthyes, Hypophthalmidae) in the Itaipu Reservoir (Paraná river, Brazil). **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 15, n. 3, p. 687-696. 1998.

OLIVEIRA, A. M. B. M. S.; CONTE, L.; CYRINO, J. E. P. Produção de Characiformes autóctones. In CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C.; FRACALOSSI, D. M.; CASTAGNOLLI, N. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce.** São Paulo: TecArt. 2004. p. 217-237.

OSSE, J. W. M. Form changes in fish larvae in relation to changing demands of function. **Journal of Zoology (Netherlands)**, v. 40, n. 1-2, p. 362-385. 1990.

OSSE, J. W. M.; VAN DEN BOOGAART, J. G. M. Dynamic morphology of fish larvae, structural implications of friction forces in swimming, feeding and ventilation. **Journal of Fish Biology**, London, v. 55 (supl. A), p. 156-174. 1999.

OSSE, J. W. M.; VAN DEN BOOGAART, J. G.; VAN SNIK, G. M. J.; VAN DER SLUYS, L. Priorities during early growth of fish larvae. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 155, p. 249-258. 1997.

PEREIRA FILHO, M.; GUIMARÃES, S. F.; STORTI FILHO, A.; GRAEF, E. W. Piscicultura na Amazônia brasileira: entraves ao seu desenvolvimento. In: VAL, A. L.; FIGLIUOLO, R.; FELDBERG, E. **Bases científicas para estratégias de preservação e**

desenvolvimento da Amazônia: fatos e perspectivas. Manaus: INPA. V. 1, p. 373-380. 1991.

PERES-NETO, P. R. Introdução a análises morfométricas. In: PERES-NETO, P. R.; VALENTIN, J. L.; FERNANDEZ, F. A. S. **Tópicos em tratamentos de dados biológicos.** Rio de Janeiro: Oecologia Brasiliensis,. v. 2, p. 57-89. 1995.

REYNALTE-TATAJE, D.; ZANIBONI-FILHO, E.; ESQUIVEL, J. R. Embryonic and larvae development of piracanjuba, *Brycon orbignyanus* Valenciennes, 1849 (Pisces, Characidae). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 26, n. 1, p. 67-71. 2004.

RICKER, W. E. Growth rates and models. In: HOAR, W. S.; RANDALL, D. J.; BRETT, J. R. (eds). **Fish Physiology.** New York: Academic Press, 1979. v. III. p. 677-743.

RODRÍGUEZ, J. A.; ALPÍREZ, O.; MURILLO, R. Desarrollo larval de *Cichlasoma managuense* (Pisces: Cichlidae) em condiciones de laboratório. **Brenesia**, San Jose, Costa Rica, v. 31. p. 11-20. 1989.

ROMAGOSA, E.; NARAHARA, M. Y.; FENERICH-VERANI, N. Stages of embryonic development of the "matrinxã", *Brycon cephalus* (Pisces, Characidae). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 29-32. 2001.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. **Limnologia aplicada à aqüicultura**. Jaboticabal: Funep – UNESP. 1995. 70 p.

SOKAL, R.; ROHLF, F. J. **Biometry. The principles and pratice of statistics in biological research.** San Francisco: W. H. Freeman and Company, 1981. 857 p.

SOUSA, W. T. Z.; SEVERI, W. Desenvolvimento larval inicial *de Helostoma temminckii* Cuvier & Valenciennes (Helostomatidae, Perciformes). **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 17, n. 3, p. 637-644. 2000.

VAN SNIK, G. M. J.; VAN DEN BOOGAART, J. G. M.; OSSE, J. W. M.. Larval growth patterns in *Cyprinus carpio* and *Clarias gariepinus* with attention to the finfold. **Journal of Fish Biology**, London, v. 50, p. 1339-1352. 1997.

VANZOLINI, P. E. **Métodos Estatísticos Elementares em Sistemática Zoológica.** São Paulo: Hucitec, 1993. 130 p.

WOYNAROVICH, E.; HORVÁTH, L. **A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão.** Brasília: FAO/CODEVASF/CNPq. 1983. 225p.

Capítulo 6 – Considerações finais

Com base nos dados apresentados neste trabalho e nas referidas condições de cultivo, a espécie *Brycon amazonicus* apresentou tática reprodutiva baseada em pequenos ovos e alta fecundidade, com os ovos adquirindo rapidamente grande espaço perivitelino com provável função de proteção mecânica ao embrião, passando por um curto período de desenvolvimento embrionário, o que aumenta a chance de sobrevivência, já que as larvas adquirem condições de sobreviver precocemente, devido à diferenciação acelerada e simultânea de estruturas relacionadas à habilidade natatória e a captura de alimento. O rápido desenvolvimento embrionário e larval é um fator vantajoso, não só no habitat natural, como também em cultivo, pois reflete em curto período de ocupação de ambientes internos (laboratórios), já que as larvas adquirem rapidamente condições de sobreviver em ambientes externos (viveiros).

A expressão da piscivoria já no início do desenvolvimento, antes da exaustão das reservas energéticas endógenas e da obtenção de eficiência digestiva do trato digestório, sugere ser uma necessidade de adquirir habilidade na captura de alimento enquanto ainda há energia endógena disponível, aumentando as chances de sobrevivência durante a fase larval. Porém, em situação de cultivo, pode ser confundida com a capacidade de assimilação de nutrientes externos, quando na verdade é um momento de alto consumo de reservas endógenas.

Foi comprovada a necessidade de alimento adequado para três diferentes fases durante a ontogenia do trato digestório de *B. amazonicus*, distribuídas da seguinte forma: fase de sobreposição da alimentação endógena e exógena, com o alimento exógeno provavelmente não sendo eficientemente digerido, resultando em rápido consumo de reservas endógenas; fase com indícios de aprimoramento da capacidade digestiva, que se iniciou 10 horas após a abertura do trato digestório, com características de sua mucosa possibilitando a retenção e assimilação de nutrientes; e fase marcada pela diferenciação das glândulas gástricas e dos cecos pilóricos, quando aparentemente a funcionalidade do trato digestório está completa.

Para um melhor entendimento da função de diferentes segmentos do trato digestório de *B. amazonicus* em momentos distintos, estudos complementares são necessários, como de ultra-estrutura e histoquímicos. Também ficou claro que a otimização da alocação de energia endógena deve ser relacionada ao conhecimento das condições ambientais adequadas ao peixe, que influenciam diretamente sobre a taxa metabólica e, conseqüentemente, sobre o consumo de vitelo.

De acordo com os resultados obtidos durante o desenvolvimento inicial de *B. amazonicus*, é possível concluir que:

- Os ovos adquirem amplo espaço perivitelino uma hora após a ativação dos gametas;
- Em 28 ºC, o período da embriogênese é de 13 horas;
- Os principais eventos envolvidos na fertilização, como movimentação espermática em direção à micrópila, penetração de espermatozóide no canal micropilar e formação do cone de proteção ocorrem nos primeiros 30 segundos de ativação dos gametas;
- Larvas de *B. amazonicus* nascem com sistemas incompletos;
- Espécie possui tática reprodutiva similar a outros peixes reofílicos: grande quantidade de pequenos ovos, amplo espaço perivitelino, rápido desenvolvimento embrionário;
- O desenvolvimento de estruturas natatórias e alimentares ocorre simultaneamente;
- A espécie apresenta período de sobreposição alimentar (endógena e exógena);
- No momento da total abertura do lume do trato digestório, as larvas possuem um conjunto de características morfológicas favorável à predação;
- Nas condições de cultivo deste estudo, o índice de consumo de vitelo aumenta durante o desenvolvimento da habilidade natatória e respiratória;
- O maior índice de consumo de vitelo ocorre durante o período de sobreposição alimentar;
- Antes do surgimento do estômago, a presença de bolsa intestinal tem função de retenção do alimento no trato digestório;
- O trato digestório das larvas está preparado para armazenar alimento e absorver parcialmente os nutrientes 10 horas após sua abertura;
- Com 243 horas após a eclosão o trato digestório apresenta-se completo, com segmentos específicos diferenciados, estando apto para digestão e assimilação de nutrientes;
- Os estágios de desenvolvimento larval mudam em relação ao tamanho das larvas;
- Alterações no padrão de crescimento morfométrico ocorrem principalmente no estágio de flexão (crescimento acelerado do DO, CC, AC e CT);
- Uma acentuada queda na taxa de crescimento ocorre no momento em que o alimento vivo é substituído por alimento artificial.