

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

**CENTRO DE AQUICULTURA**

**CAMPUS DE JABOTICABAL**

**“Ponto-de-não-retorno e períodos de restrição alimentar nos parâmetros zootécnicos e no desenvolvimento muscular de larvas de pacu”**

**Juliana Tomomi Kojima**

Jaboticabal, São Paulo  
2012

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

**CENTRO DE AQUICULTURA**

**CAMPUS DE JABOTICABAL**

**“Ponto-de-não-retorno e períodos de restrição alimentar nos parâmetros zootécnicos e no desenvolvimento muscular de larvas de pacu”**

**Juliana Tomomi Kojima**

**Orientadora: Dra. Maria Célia Portella**

**Co-orientadora: Dra. Maeli Dal Pai Silva**

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

Jaboticabal, São Paulo  
2012

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Profa. Dra. Maria Célia Portella, pelos ensinamentos, orientação, apoio, carinho e muita paciência. Muito obrigada.

À Profa. Dra. Maeli Dal Pai Silva pela co-orientação e apoio.

Aos membros participantes do exame geral de qualificação, Profa. Dra. Marta Verardino de Stéfani e Dra. Fernanda Regina Carani, pela atenção e sugestões.

Aos membros participantes da defesa, Profa. Dra. Rosângela Kiyoko Jomori e Dra. Fernanda Regina Carani, pelas sugestões dadas ao trabalho.

Ao CNPq, pelo auxílio concedido por meio de bolsa de mestrado.

À Piscicultura Colpani, por fornecer as larvas para realização da presente pesquisa.

Ao Prof. Dr. Fernando José Zara pela utilização do analisador de imagens.

Aos funcionários do Caunesp e ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura, que contribuíram, e muito, para a realização deste trabalho.

Em especial, a família do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos: Natália Leitão, Olívia Menossi, Rodrigo Takata, Thiago Freitas, Caroline Nebo, Hellen Buzollo, Thiago Nascimento, Lidiane de Sandre, Gisele Fávero, Taís Lopes, Natália de Jorge e Rubens Turin pelo auxílio na implantação do experimento, biometrias, rotina de manejo, aprendizado e momentos de descontração. Este trabalho foi realizado com a ajuda de todos vocês. Muito Obrigada.

Ao meu companheiro Rodrigo Yukihiro Gimbo pelo apoio, cumplicidade e muita paciência nos momentos mais difíceis.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS .....	i
LISTA DE FIGURAS .....	ii
Resumo .....	1
Considerações Gerais .....	2
1. Larvicultura .....	2
2. Restrição alimentar e Ponto-de-não-retorno (PNR) .....	4
3. Crescimento Muscular .....	6
4. Objetivo Geral .....	10
4.1. Objetivos Específicos .....	10
5. Referências Bibliográficas .....	11
Capítulo 1 - Ponto-de-não-retorno e períodos de restrição alimentar nos parâmetros zootécnicos e no desenvolvimento muscular de larvas de pacu .....	20
Resumo .....	20
Abstract .....	21
1. Introdução .....	23
2. Material e Métodos .....	25
3. Resultados .....	32
4. Discussão .....	49
5. Conclusões .....	55
6. Referências Bibliográficas .....	57

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Médias e desvio padrão das taxas de alimentação (%) das larvas dos diferentes tratamentos ao longo do período de alimentação.....34
- Tabela 2.** Peso médio (mg) e desvio padrão das larvas de pacu em diferentes dias de alimentação após jejum.....36
- Tabela 3.** Comprimento médio total (mm) e desvio padrão das larvas de pacu em diferentes dias de alimentação após jejum.....36
- Tabela 4.** Ganho em Peso (mg) e desvio padrão das larvas dos tratamentos durante a fase de alimentação.....36
- Tabela 5.** Fator de condição (K) das larvas dos diferentes tratamentos durante o período de alimentação.....38
- Tabela 6.** Médias e desvio padrão do ganho em peso (mg), taxa de crescimento específico (% / dia) e fator de condição (K) dos juvenis de pacu nos diferentes tratamentos, após 30 dias em viveiros.....41

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Representação dos tratamentos do experimento 1: alimentação por 20 dias (J0); jejum de dois dias seguidos de 20 dias de alimentação (J2); jejum de quatro dias seguidos de 20 dias de alimentação (J4); jejum de seis dias seguidos de 20 dias de alimentação (J6); jejum de oito dias seguidos de 20 dias de alimentação (J8); jejum por todo o período experimental (Jn).....26
- Figura 2.** Representação dos tratamentos na primeira fase do experimento 2: alimentação por 10 dias (J0); jejum de dois dias seguidos de 10 dias de alimentação (J2); jejum de quatro dias seguidos de 10 dias de alimentação (J4); jejum de seis dias seguidos de 10 dias de alimentação (J6); jejum de oito dias seguidos de 10 dias de alimentação (J8); jejum por todo o período experimental (Jn).....27
- Figura 3.** Médias e desvio padrão das taxas de sobrevivência das larvas de pacu nos tratamentos em que foram submetidas a diferentes períodos de jejum, seguidos de 20 dias de alimentação. Médias apresentadas com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ ).....32
- Figura 4.** Médias das taxas de sobrevivência ao final dos diferentes períodos de jejum (dia zero de alimentação) e ponto-de-não-retorno.....33
- Figura 5.** Ingestão média de náuplios de artemia pelas larvas dos diferentes tratamentos, ao longo da fase de alimentação. Médias em cada dia de alimentação apresentando a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ ).....34
- Figura 6.** Taxa de alimentação das larvas em jejum no início do período de alimentação (dia zero), e ponto-de-não-alimentação.....35
- Figura 7.** Médias e desvio padrão das taxas de sobrevivência das larvas de pacu no final da fase em laboratório, aos 10 dias de alimentação. Médias seguidas da mesma letra indicam semelhança estatística entre os tratamentos pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ ).....37

<b>Figura 8.</b> Taxa de crescimento específico (%/dia) das larvas de pacu após diferentes períodos de jejum e alimentação. Médias apresentando a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ ).....	38
<b>Figura 9.</b> Taxas médias de sobrevivência observadas nos tratamentos após a criação das larvas em viveiros. Médias apresentando mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ ).....	39
<b>Figura 10.</b> Frequência de distribuição dos peixes nas cinco classes de tamanho, ao final da criação em viveiros. Médias apresentando mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ ). Taxa de sobrevivência do tratamento J6 foi excluída da análise estatística.....	40
<b>Figura 11.</b> Biomassa dos diferentes tratamentos após 30 dias de criação em viveiros. Médias apresentando mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ ).....	41
<b>Figura 12.</b> Médias e desvio padrão da distribuição de frequência do diâmetro das fibras musculares nas diferentes classes de tamanho, nos peixes aos 0 (A), 4 (B) e 10 (C) dias após o jejum. Médias apresentando mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ ).....	43
<b>Figura 13.</b> Fotomicrografias da musculatura esquelética de larvas de pacu dos tratamentos J0, J2, J4 e J6, aos zero, quarto e décimo dia de alimentação, em corte transversal. 400X. Hematoxilina/Floxina (H/FloB). (↑)Fibras musculares com núcleo central, (TN) tecido nervoso, (NT) notocorda, (ZPC) zona de proliferação celular, (I) compartimento intermediário, (NL) nervo da linha lateral, (↑) fibras musculares com núcleo periférico e (☆) fibras maiores rodeadas por fibras menores.....	44
<b>Figura 14.</b> Médias e desvio padrão de distribuição das classes de diâmetro dos animais classificados no tamanho PP (A), M (B) e GG (C). As médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ ).....	47

**Figura 15.** Fotomicrografias da musculatura esquelética de juvenis de pacu das classes PP, M e GG dos tratamentos J0, J2, J4 e J6, após 30 dias de criação em viveiros. Corte transversal. 400X. (H/FloB). (↑) Fibras musculares com núcleo periférico e (☆) fibras maiores rodeadas por fibras menores.....48



## **Ponto-de-não-retorno e períodos de restrição alimentar nos parâmetros zootécnicos e no desenvolvimento muscular de larvas de pacu**

**Resumo – Resumo** – Este estudo teve por objetivo determinar o ponto-de-não-retorno (PNR) de larvas de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e avaliar o impacto de diferentes períodos de jejum sobre a taxa de sobrevivência, o crescimento, o desenvolvimento muscular e o crescimento compensatório após diferentes períodos de restrição nas primeiras fases de desenvolvimento. As avaliações dos efeitos imediatos do jejum foram realizadas em laboratórios, em experimentos que tiveram 10 ou 20 dias de duração. Após essa fase, as larvas foram estocadas em viveiros externos e acompanhadas por 30 dias para avaliação do crescimento posterior, na fase juvenil. O ponto-de-não-retorno encontrado para larvas de pacu foi de 5,4 dias de jejum (10,4 dias pós-eclosão). Logo após os períodos de jejum, as larvas apresentaram redução de peso e fibras angulares e de menor diâmetro, porém após o período de alimentação os resultados de desempenho e análise morfométrica e morfológica das fibras musculares demonstraram recuperação do peso e crescimento muscular destas larvas submetidas aos diferentes períodos de jejum. A sobrevivência dos juvenis mantidos em viveiros foi superior nos tratamentos controle e de dois dias de jejum. Foi também observado maior percentual de juvenis de pequeno porte nos animais submetidos ao jejum de quatro dias. Em síntese, larvas de pacu submetidas aos diferentes períodos de jejum foram capazes de compensar o crescimento, e o período de até dois dias de jejum não afetou o desempenho zootécnico e o desenvolvimento posterior das larvas, podendo ser utilizado como uma estratégia alimentar alternativa na produção de juvenis de pacu.

Palavras Chave: larvicultura, jejum, crescimento compensatório, *Piaractusmesopotamicus*, fibras musculares.

## Considerações Gerais

### 1. Larvicultura

O Brasil reúne diversas condições hídricas e climáticas para criação de várias espécies de peixes. Conforme os dados estatísticos de 2008 e 2009, a produção brasileira de pescado obteve um crescimento de 7,3 %, passando de 1.156.423 t para 1.240.813 t, respectivamente (MPA, 2010).

Apesar do quadro favorável ao setor, incentivado pelas políticas públicas, avanços dos conhecimentos e tecnologias de alimentação, reprodução e manejo na piscicultura, a criação de larvas altriciais ainda é considerada pelos piscicultores como uma das fases de maior dificuldade. O manejo inadequado e o desconhecimento de técnicas apropriadas às diferentes fases de desenvolvimento que as larvas passam resultam em baixa produtividade. As principais dificuldades durante esta fase são mortalidade por predação (PARADIS et al., 1996), restrição alimentar e qualidade inadequada das dietas (BOCK & PADOVANI, 2000).

O sistema de cultivo de larvas mais utilizado no Brasil consiste na estocagem direta das larvas em viveiros fertilizados no início da alimentação exógena. No entanto, esta técnica pode resultar em baixa taxa de sobrevivência, ao redor de 10 % (JOMORI et al., 2003).

Uma alternativa para o aumento desses índices na larvicultura consiste na criação das larvas por um período inicial em laboratório, anteriormente à transferência das mesmas para os viveiros (CESTAROLLI & PORTELLA, 1994). A sobrevivência de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) criados em viveiros é crescente quanto maior o período de criação prévia das larvas de forma intensiva em laboratório, resultando em mais de 50 % de sobrevivência dos juvenis, quando as larvas são criadas em laboratório por nove dias antes de serem transferidas aos viveiros (JOMORI et al., 2003). Por outro lado a criação de larvas de pacu diretamente em viveiros apresentou baixa produtividade e maiores custos por milheiro produzido, superior aos resultados observados com a larvicultura inicial em laboratório, mostrando a viabilidade econômica do uso desse sistema (JOMORI et al., 2005).

Para a alimentação inicial de larvas altriciais, é fundamental o fornecimento de organismos vivos (PORTELLA & DABROWSKI, 2008), que

contém os nutrientes e outros fatores que ativam as enzimas digestivas das larvas e melhoram a digestão do alimento ingerido (KOLKOVSKI, 2001). Pesquisas demonstraram que o atraso da primeira alimentação em larvas de peixes afeta negativamente o comportamento alimentar (PEÑA & DUMAS, 2005), as condições nutricionais (GISBERT et al., 2004), o crescimento (SHAN et al., 2009), as taxas de sobrevivência (SHAN et al., 2008; ZHANG et al., 2009) e a diferenciação de órgãos (XIONG et al., 2006).

Estudos realizados com larvas de pacu, comparando a utilização de alimento vivo e alimento inerte, demonstraram que o desempenho das larvas que receberam náuplios de artemia é superior ao das larvas alimentadas somente com dieta inerte (LEITÃO et al., 2011; MENOSSI et al., 2012). A comparação de diferentes proporções de artemia, plâncton e dieta inerte para alimentação inicial de larvas de pacu, demonstrou que a combinação de artemia e plâncton (1:1) melhora o crescimento em comprimento total (8,4 mm) e peso (3518 µg), em relação aos peixes alimentados somente com dieta inerte (6,17 mm e 801 µg) (BEERLI et al., 2004). A desnutrição ou nutrição subótima de larvas de pacu também afetam negativamente as taxas de sobrevivência e o crescimento muscular. Larvas submetidas a jejum ou alimentadas somente com dieta inerte apresentaram mortalidade total aos 18 dias pós-eclosão, além de atraso no desenvolvimento inicial do músculo esquelético (LEITÃO et al., 2011). Maiores taxas de resistência ao estresse por exposição ao ar por um minuto foram observadas em larvas de pacu que receberam náuplios de artemia (60%), enquanto as larvas alimentadas somente com dieta inerte apresentaram 6,6% de resistência ao mesmo fator estressante (LUZ, 2007).

Uma estratégia adotada para melhorar as taxas de crescimento e sobrevivência durante a fase de transição alimentar (*weaning*) das larvas de peixes consiste no fornecimento de alimento vivo junto com o alimento inerte (*co-feeding*). Essa estratégia resulta em maior aceitação da dieta inerte, e conseqüentemente no maior crescimento das larvas (TESSER et al., 2005a). A suplementação da dieta inerte com enzimas digestivas (pancreatina suína) aparentemente melhora a utilização da mesma, pois o crescimento e sobrevivência das larvas de pacu foram superiores, tanto na substituição precoce quanto tardia do alimento vivo pelo inerte suplementado (TESSER et al, 2006a).

Assim, a partir desses resultados, vários estudos são dirigidos atualmente no sentido de melhorar as técnicas de criação intensiva de larvas de peixes neotropicais, visando a otimização do cultivo, aumento da produtividade e diminuição dos custos de produção.

## **2. Restrição alimentar e Ponto-de-não-retorno (PNR)**

Muitas espécies de peixes estão bem adaptadas a mobilizar reservas energéticas e sobreviver a longos períodos naturais em jejum (COOK et al., 2000). Estes podem ocorrer durante o inverno, devido às flutuações no suprimento alimentar e diminuição da temperatura da água, ou durante os processos migratórios para reprodução (MEHNER & WIESER, 1994; MACKENZIE et al., 1998).

O alimento ingerido pelo peixe é utilizado primeiramente como suprimento energético para manutenção dos processos vitais e reposição do catabolismo dos tecidos e o restante passa a ser usado para o crescimento (HEPHER, 1988). Na escassez de alimento, os processos essenciais são mantidos utilizando-se as reservas lipídicas. Após o esgotamento desse tipo de reserva, tem início a mobilização das proteínas, principalmente as do tecido muscular (METÓN et al., 2003), resultando em alterações no crescimento com o prolongamento dessa condição (COOK et al., 2000).

O jejum causado pela mudança nas condições ambientais naturais ou como estratégia alimentar de criação, desencadeia nos peixes uma série de alterações complexas para promover o ajuste biológico frente a essa situação, e suas consequências finais são dependentes da espécie, idade e das condições experimentais (KIEFFER & TUFTS, 1998). Durante o jejum, o estoque de lipídios, especialmente os triglicerídeos, constitui a principal fonte de energia para a manutenção das atividades basais do peixe, quando, então, pode ocorrer perda de 40 a 50% no peso do animal (WEATHERLEY & GILL, 1987). Da mesma forma, a utilização de proteínas musculares e fluídos corporais, em situação de jejum, pode levar a diminuição de 10 a 30% do peso corporal (SOUZA et al., 1997).

Apesar das alterações nos tecidos e metabólitos, atraso no crescimento e perda de peso, estes não comprometem a capacidade de algumas espécies de peixes em crescer quando retornam às condições alimentares adequadas, desde

que o período de privação não seja muito longo (SOUZA et al., 1997). Juvenis de pacus submetidos a 60 dias de restrição alimentar apresentaram estabilização do crescimento, porém quando o fornecimento de alimento foi restabelecido por 30 dias, os peixes voltaram a crescer (SOUZA et al., 2000).

Após períodos de restrição parcial ou total de alimento, os peixes podem demonstrar um crescimento acelerado quando as condições favoráveis são restabelecidas, denominado crescimento compensatório. As respostas de crescimento compensatório podem ser influenciadas por vários fatores, como a severidade da restrição alimentar imposta, idade, sexo, estado de maturidade sexual do animal, temperatura e composição de nutrientes da dieta fornecida durante a fase de realimentação (ALI et al, 2003). De acordo com o grau da resposta de recuperação durante a fase de alimentação pós-restrição, o crescimento compensatório pode ser classificado em: *compensação parcial*, quando os animais em restrição não alcançam o mesmo tamanho em relação aos animais que não sofreram restrição, mas apresentam altas taxas de crescimento; *compensação total*, quando os animais em restrição atingem o mesmo tamanho dos animais que não sofreram restrição; *sobre-compensação*, quando os animais em restrição atingem maior tamanho que os animais que não sofreram restrição; e *não compensação* quando os animais apresentam taxa de crescimento semelhante ao período logo após a restrição (ALI et al, 2003).

Os danos causados pelo atraso da primeira alimentação das larvas de peixes interferem nas taxas de sobrevivência (DOU et al., 2005) e crescimento (SHAN et al., 2009). Em condições naturais, as larvas de peixes são submetidas às variações de temperatura e disponibilidade de alimento. Estas variações podem levar a condições de jejum e alterar as taxas de sobrevivência das larvas e, conseqüentemente, os estoques de peixes. No momento de transição do alimento endógeno para o exógeno, considerado como período crítico, a falta de alimento por um determinado período pode causar danos irreversíveis. Larvas enfraquecidas por essas condições não demonstram comportamento alimentar mesmo na presença de alimento, e morrem. Este momento foi denominado por Blaxter & Hempel (1963) de *ponto-de-não-retorno* (PNR). No entanto, em estudo com larvas de *Engraulis mordax* submetidas a diferentes períodos de jejum após a depleção do vitelo, foram observadas mortalidades, ao longo do tempo, mesmo após a ingestão de alimento (LASKER et al., 1970); assim o PNR foi determinado

pelo momento em que os danos causados pelo jejum tornam-se irreversíveis e 50 % das larvas morrem mesmo ingerindo alimento.

A susceptibilidade das larvas de peixes ao jejum depende do estágio de desenvolvimento e espécie (SHAN et al., 2008), além de fatores como qualidade dos ovos (RANA, 1985) e temperatura (MCGURK, 1984). Para as espécies marinhas *Lates calcarifer* e *Gadus morhua* o ponto-de-não-retorno encontrado foi de 2,5 dias pós-eclosão a 28 °C (BAGARINAO, 1986) e de 11 dias a 6,9 °C (YIN & BLAXTER, 1987), respectivamente. Para as espécies de água doce, o ponto-de-não-retorno foi determinado em 3,5 dias a 21,5°C para larvas de *Odontesthes bonariensis* (STRUSSMANN & TAKASHIMA, 1989), 8 dias a 26 °C para *Heteropneustes fossilis* (MOOKERJI & RAMAKRISHNA, 1999) e 21 dias a 28 °C para *Oreochromis mossambicus* (RANA, 1985).

Além de efeitos sobre o crescimento e sobrevivência, alterações morfológicas como perda de peso, estacionamento da diferenciação de órgãos e nadadeiras, tamanho menor dos olhos e da vesícula gasosa, ducto intestinal fino e estreito, fibras musculares atrofiadas, natação lenta e somitos não distintos foram observadas em larvas de *Ancherythroculter nigrocauda* com 11 dias de vida pós-eclosão sob restrição alimentar (XIONG et al., 2006). Outras consequências da restrição alimentar também foram relatadas como necrose e degeneração do trato alimentar e glândulas associadas, diferenças no tamanho da mandíbula, maxila e nadadeiras, e menor fator de condição (STRUSSMANN & TAKASHIMA, 1989). Em larvas de *Pseudoplatystoma fasciatum*, após sete dias de jejum, foram observadas degeneração celular do epitélio intestinal, camadas delgadas da parede dos intestinos, hepatócitos menores com núcleos condensados e células sem núcleos (FURUSAWA, 2002).

### **3. Crescimento Muscular**

O valor nutricional e comercial dos peixes está na massa muscular responsável por 60 a 70% do peso corporal (SÄNGER & STOIBER, 2001; AYALA et al., 2010). A massa muscular nesses animais é formada por células especializadas, denominadas fibras musculares, que se encontram-se agrupadas e organizadas em três compartimentos: superficial, intermediário e profundo. Essa organização e distribuição das fibras podem variar de acordo com a espécie

e estágio de desenvolvimento (HIGGINS, 1990; KILARSKI, 1990; CARVALHO et al., 2000; NEVES et al., 2000).

O compartimento superficial ou vermelho é composto por fibras de contração lenta e metabolismo oxidativo (BANKS, 1992; BOSCO et al., 2000, CARVALHO et al., 2000), responsáveis pelos movimentos lentos como sustentação e migração por longas distâncias (JOHNSTON, 1980). Estas fibras possuem diâmetros variáveis (25 a 45  $\mu\text{m}$ ) sendo menores que as fibras intermediárias e brancas (JOHNSTON, 1999) e possuem muitas mitocôndrias, mioglobinas e lipídios. A musculatura vermelha se estende ao longo de todo o corpo do animal em uma fina camada na região subdermal (DAL PAI-SILVA et al., 1995) e apresenta-se de forma mais localizada na região do nervo da linha lateral (HOYLE et al., 1986; JOHNSTON, 1999; AGUIAR et al., 2005).

O compartimento profundo ou branco é constituído por fibras de maior diâmetro (acima de 50  $\mu\text{m}$ ) com contração rápida, metabolismo glicolítico (JOHNSTON & HOME, 1994), e baixa concentração de mioglobina (BOSCO et al., 2000; NEVES et al., 2000). Esse tipo de fibra é responsável pelos movimentos bruscos de natação, como a captura de alimento e fuga de predadores (JOHNSTON, 1980). O compartimento intermediário está presente entre os compartimentos vermelho e branco, apresentam fibras com características de contração rápida e metabolismo oxidativo/glicolítico (WEATHERLEY & GILL, 1987).

A formação das fibras musculares (miogênese) em peixes ocorre durante a fase de embriogênese (JOHNSTON, 1980; CURRIE & INGHAM, 2001). Células adaxiais adjacentes à notocorda, sob estímulo de glicoproteínas secretadas pela notocorda, migram para a região superficial do miótomo, onde formam uma camada de células que se diferenciam para formar as fibras vermelhas (JOHNSTON & HALL, 2004). Outra população de células adaxiais ou células pioneiras se alongam conectadas a notocorda dando origem ao septo transversal, dividindo o miótomo em regiões epiaxial e hipoaxial. Após a eclosão, células pré-somáticas laterais do miótomo se fundem para a formação de miotubos dando origem as fibras brancas (DEVOTO et al., 1996). O crescimento muscular ocorre por dois processos, a hipertrofia e a hiperplasia. A hipertrofia é caracterizada pelo aumento do volume das fibras musculares, enquanto que a hiperplasia ocorre pelo aumento no número de fibras; este último é dividido em hiperplasia

estratificada e em mosaico (ROWLERSON & VEGGETTI, 2001; DALPAI-SILVA et al., 2007). Nos peixes, tanto a hiperplasia quanto a hipertrofia contribuem para o crescimento muscular pós-larval, enquanto na maioria dos outros vertebrados o crescimento muscular pós-natal ocorre principalmente pela hipertrofia (CARPENE & VEGGETTI, 1981; EGGINTON & JOHNSTON, 1982).

A hiperplasia estratificada ocorre devido ao aumento em espessura das camadas musculares a partir de zonas germinais de proliferação celular nas regiões dorsal e ventral dos miômeros (ROWLERSON & VEGGETTI, 2001), sendo predominante na fase larval dos peixes teleósteos (JOHNSTON, 2006). A hiperplasia em mosaico é caracterizada pela ocorrência de fibras pequenas (20 a 30  $\mu\text{m}$ ) entre fibras maiores, formando um mosaico de fibras de diferentes tamanhos e estágios de diferenciação (JOHNSTON, 1999), ocorre principalmente na fase juvenil dos peixes.

Na hipertrofia, as células satélites (mioblastos indiferenciados presentes no tecido muscular adulto), se fundem com fibras musculares existentes aumentando o número de núcleos para a síntese de miofibrilas, contribuindo para o aumento no diâmetro das fibras (ROWLERSON & VEGGETTI, 2001). O balanço entre os mecanismos hipertrófico e hiperplásico determina a taxa de crescimento e o tamanho atingido pela espécie, sendo dependente de vários fatores bióticos e abióticos, como temperatura, fotoperíodo, regime alimentar e composição da dieta (JOHNSTON, 2006). A temperatura (ASSIS et al., 2004) e a alimentação (FAUCONNEAU & PABOEUF, 2001) podem interferir no número, tamanho e proliferação das fibras musculares nas fases larval e juvenil.

Em peixes que atingem grande porte na fase adulta, como o pacu, o crescimento muscular ocorre pela hiperplasia e hipertrofia durante todas as fases de desenvolvimento. Nos peixes de menor tamanho, o crescimento muscular ocorre principalmente por hipertrofia das fibras musculares formadas durante a embriogênese (ROWLERSON & VEGGETTI, 2001).

Recentemente foi demonstrado que a alimentação a base de alimento vivo (náuplios de artemia) favorece o crescimento das larvas de pacu e produz juvenis maiores do que larvas alimentadas com dietas formuladas. Além disso, os resultados de morfometria das fibras musculares mostraram maior participação da hiperplasia no crescimento muscular. Esses resultados sugerem que, em larvas



bem alimentadas, a fase de proliferação dos mioblastos pode ser mais longa favorecendo maior recrutamento de células musculares (LEITÃO et al., 2011).

O pacu (*P. mesopotamicus*) (HOLMBERG, 1887: Serrasalminae, Characidae, Teleostei), encontrado nas Bacias dos Rios Paraná, Paraguai e Uruguai, é uma espécie importante para a piscicultura nacional (OLIVEIRA et al., 2004; JOMORI et al., 2003, 2005; URBINATI et al., 2010), e há anos vem sendo usado como modelo de larva altricial para estudos de larvicultura de espécies neotropicais. Vários aspectos relacionados à alimentação inicial já foram estudados, como o desempenho e aspectos econômicos de larvas criadas diretamente em viveiros e diferentes períodos de larvicultura intensiva (JOMORI, 1999; JOMORI et al., 2003; JOMORI, 2005; JOMORI et al., 2005); análise do aproveitamento de alimento vivo e inerte por meio de isótopos estáveis (JOMORI et al. 2008); suplementação das dietas por enzimas e aminoácidos, estimulantes químicos e visuais na alimentação (TESSER, 2005; TESSER et al., 2005 b; TESSER et al., 2006; TESSER & PORTELLA, 2006; TESSER & PORTELLA, 2011); desempenho das larvas após substituição do alimento vivo por dietas inertes (TESSER et al., 2005 a; LEITÃO et al., 2011; MENOSSI et al., 2012).

A resistência das larvas de pacu à restrição alimentar é ainda desconhecida. Essa avaliação é importante não somente como informação biológica, como também prática, uma vez que poderá orientar produtores durante o manejo da produção de larvas, principalmente em condições adversas, como por exemplo, indisponibilidade de viveiros preparados, falta de funcionários, entre outros.

Dessa forma, o estudo da alimentação inicial e efeitos da restrição alimentar nas fases iniciais sobre o crescimento, sobrevivência e desenvolvimento muscular, pode embasar estratégias que beneficiem o desempenho produtivo de espécies de peixes cultivadas comercialmente.

## **4. Objetivo Geral**

O presente estudo teve como objetivo determinar o ponto-de-não-retorno de larvas de pacu, bem como avaliar o impacto causado por diferentes períodos de privação alimentar sobre o desempenho produtivo, crescimento muscular, e crescimento compensatório em larvas e juvenis de pacu submetidos a diferentes períodos de jejum.

### **4.1. Objetivos Específicos**

- Determinar o ponto-de-não-retorno (PNR) de larvas de pacu;
- Verificar os efeitos causados pelo jejum sobre o crescimento, desenvolvimento e taxa de sobrevivência de larvas e juvenis de pacu;
- Observar o crescimento hipertrófico e hiperplásico das fibras musculares das larvas e juvenis submetidos a diferentes períodos de jejum;
- Avaliar os parâmetros zootécnicos e o crescimento das fibras musculares das larvas e juvenis de pacu após os períodos de jejum e criação em viveiros;
- Avaliar o crescimento compensatório em larvas de pacu submetidas a períodos de jejum nas fases iniciais de desenvolvimento.

## 5. Referências Bibliográficas

AGUIAR, D.H.; BARROS, M. M.; PADOVANI, C. R.; PEZATTO, L. E.; DAL PAI-SILVA, M. Growth characteristics of skeletal muscle tissue in *Oreochromis niloticus* larvae fed on a lysine supplemented diet. **Journal of Fish Biology**, v. 67, p. 1-12, 2005.

ALI, M.; NICIEZA, A.; WOOTTON, R. J. Compensatory growth in fishes: A response to growth depression. **Fish and Fisheries**, v.4, p.147-190, 2003.

ASSIS, J. M. F. de; CARVALHO, R. F.; BARBOSA, L.; AGOSTINHO, C. A.; DAL PAI SILVA, M. Effects of incubation temperature on muscle morphology and growth in the pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Aquaculture**, v. 237, p. 251-267, 2004.

AYALA, I.; SANTAELLA, M.; MARTINEZ, C.; PERIAGO, M. J.; GIL, F.; BLANCO, A.; ALBORS, O. L. Muscle tissue structural changes and texture development in sea bream, *Sparus aurata* L., during post-mortem storage. **Food Science and Technology**, v.43, p. 465-45, 2010.

BAGARINAO, T. Yolk resorption, onset of feeding and survival potential of larvae of three tropical marine fish species reared in the hatchery. **Marine Biology**, v.91, p.449–459, 1986.

BANKS, W. J. **Histologia veterinária aplicada**. 2.ed. São Paulo: Manole Ltda. cap.13. p.215-236, 1992.

BEERLI, E. L.; LOGATO, P. V. R.; FREITAS, R. T. F. Alimentação e comportamento de larvas de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Ciência e agrotecnologia**, v. 28, n. 1, p. 149-155, 2004.

BLAXTER, J. H. S.; HEMPEL, G. The influence of egg size on herring larvae (*Clupea harengus* L). **Journal du Conseil International pour l' Exploration de la Medeterranee**, v.28, p. 211-244, 1963.

BOCK, C. L.; PADOVANI, C. R. Considerações sobre a reprodução artificial e alevinagem de pacu (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887) em viveiros. **Acta Scientiarum**, v.22, p.495-501, 2000.

BOSCO, N. B.; DAL PAI, V.; DAL PAI-SILVA, M. Estudo morfológico e histoquímico do tecido muscular esquelético da Piraputanga (*Brycon hilarii*): Osteocytes, Pisces. In: IX Congresso Luso Brasileiro de Anatomia. **Brazilian Journal of Morphological Sciences**, v. 17, p.107-107, 2000.

CARPENÈ, E.; VEGGETTI, A. Increase in muscle fibers in the lateralis muscle (white portion) of Mugilidae (Pisces, Teleostei). **Experientia**, v. 37, p.191-193, 1981.

CARVALHO, R. F.; SILVA, M. D. P.; DELÍCIO, H. C.; ASSIS, J. M. F. Análise morfológica da musculatura miotomal de *Brycon cephalus*. **Brazilian Journal of Morphological Sciences** v. 17, p.181-181, 2000.

CESTAROLLI, M.; PORTELLA, M. C. Larvicultura de peixes uma abordagem em escala piloto. **Comunicação da Pesquisa Agropecuária** v. 12, n. 2, p. 28-29, 1994.

COOK, J. T.; SUTTERLIN, A. M.; McNIVEN, M. A. Effect of food deprivation on oxygen consumption and body composition of growth-enhanced transgenic Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, v.188, p.47-63, 2000.

CURRIE, P. D.; INGHAN, P. W. Induction and patterning of embryonic skeletal muscle cells in the zebrafish. In: Johnston IA, Muscle Development and Growth, **Academic Press**, p.1-17, 2001.

DAL PAI-SILVA, M.; DAL PAI, V.; MOTA, D. L.; RODRIGUES, A. C. Histochemical study of muscle fiber types in *Synbranchus marmoratus* Boch, 1795. **Annal of Anatomy**, v. 177, p. 65-70, 1995.

DAL PAI-SILVA, M.; CARVALHO, R. F. Mecanismos celulares e moleculares que controlam o desenvolvimento e o crescimento muscular. **Revista Brasileira de Zootecnia** v.36, *suplemento especial*, p.21-31, 2007.

DEVOTO, S. H., MELANCON, E., EISEN, J. S.; WESTERFIELD, M. Identification of separate slow and fast muscle precursor cells in vivo, prior to somite formation. **Development**, v.122, p.3371–3380, 1996.

DOU, S.; MASUDA, R.; TANAKA, M.; TSUKAMOTO, K. Effects of temperature and delayed first feeding on survival and growth of Japanese flounder larvae. **Journal of Fish Biology**, v.66, p.362–377, 2005.

EGGINTON, S.; JOHNSTON, I. A. A morphometric analysis of regional differences in myotomal muscle ultrastructure in the juvenile eel. **Cell Tissue Research**, v. 222, p.579-596, 1982.

FAUCONNEAU, B.; PABOEUF, G. Muscle fiber diversity and plasticity. In: **Muscle Development and Growth**, JOHNSTON, I. A. (Ed) London: Academic Press, 318 p., 2001.

FURUSAWA, A. **Estudos da alimentação inicial de larvas de cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766): frequência de alimentação, transição alimentar e efeito do jejum sobre o desenvolvimento do intestino e fígado.** 49 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura). Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

GISBERT, E.; CONKLIN, D. B; PIEDRAHITA, R. H. Effects of delayed first feeding on the nutritional condition and mortality of California halibut larvae. **Journal of Fish Biology**, v.64, p.116-132, 2004.

HEPHER, B. **Nutrition of ponds fishes.** Cambridge: Cambridge University Press, p.387, 1988.

HIGGINS, P. J. The histochemistry of muscle in juvenile Atlantic salmon, *Salmo solar* L. **Journal of Fish Biology**, v.37, p.505-519, 1990.

HOYLE, J.; GILL, H. S.; WEATHERLEY, A. H. Histochemical characterization of myotomal muscle in the grass pickerel, *Esox americanus vermiculatus* (LeSeuer), and the muskellunge, *E. masquinongy* (Mitchell). **Journal of Fish Biology**, v.28, p.393-401, 1986.

JOHNSTON, I. A. Muscle development and growth: potential implications for flesh quality in fish. **Aquaculture**, v. 177, p. 99-115, 1999.

JOHNSTON, I. A. Specialization of fish muscle. In: **Development and specializations of muscle**. GOLDSPINK, D. F. (Ed.) Cambridge: Cambridge University Press, p.123-148, 1980.

JOHNSTON, I. A.; HALL, T. Mechanisms of muscle development and responses to temperature change in fish larvae. **American Fisheries Society Symposium**, v.40, p.85-116, 2004.

JOHNSTON, I. A.; HOME, Z. Immunocytochemical investigations of muscle differentiation in the Atlantic herring (*Clupea harengus*, Teleostei). **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 74, p. 79-91, 1994.

JOHNSTON, I. A. Environment and plasticity of myogenesis in teleost fish. **The Journal of Experimental Biology**, v. 209, p. 2249-2264, 2006.

JOMORI, R. K. **Estudos sobre a alimentação de larvas de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) com náuplios de *Artemia* e a sua substituição por dieta artificial**. 70 f. (Trabalho de graduação em Zootecnia.) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1999.

JOMORI, R. K.; CARNEIRO, D. J.; MARTINS, M. I. E. G.; PORTELLA, M. C. Economic evaluation of *Piaractus mesopotamicus* juvenile production in different rearing systems. **Aquaculture**, v. 243, p. 175-183, 2005.

JOMORI, R. K.; CARNEIRO, D. J.; MALHEIROS, E. B.; PORTELLA, M. C. Growth and survival of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) juveniles reared in ponds or at different initial larviculture periods indoors. **Aquaculture**, v.221, p. 277-287, 2003.

JOMORI, R. K. **Organismos vivos e dietas secas na larvicultura do pacu *Piaractus mesopotamicus* e o uso dos isótopos estáveis de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) e nitrogênio ( $\delta^{15}\text{N}$ ) como indicadores naturais da incorporação do alimento no tecido larval.** 121 f. Tese (Doutorado em Aqüicultura). Centro de Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

JOMORI, R. K., DUCATTI, C., CARNEIRO, D. J., PORTELLA, M. C. Stable carbon ( $\delta^{13}\text{C}$ ) and nitrogen ( $\delta^{15}\text{N}$ ) isotopes as natural indicators of live and dry food in the *Piaractus mesopotamicus* larval tissue. **Aquaculture Research**, v.39, p.370 - 381, 2008.

KIEFFER, J.D.; TUFTS, B.L. Effects of food deprivation on white muscle energy reserves in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): the relationships with body size and temperature. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.19, p.239-245, 1998.

KILARSKI, W. Histochemical characterization of myotomal muscle in the roach *Rutilus rutilus* (L.). **Journal of Fish Biology**, v. 36, p. 353-362, 1990.

KOLKOVSKI, K. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles – implication and applications to formulated diet. **Aquaculture**, v. 200, p. 181-201, 2001.

LASKER, R.; FEDER, H. M.; THEILACKER, G. H.; MAY, R. C. Feeding, growth, and survival of *Engraulis mordax* larvae reared in the laboratory. **Marine Biology**, v. 5, p.345-353, 1970.

LEITÃO, N. J.; DAL PAI-SILVA, M.; ALVES, F. L. de A.; PORTELLA, M. C. The influence of initial feeding on muscle development and growth in pacu *Piaractus mesopotamicus* larvae. **Aquaculture**, v. 315, p. 78-85, 2011.

LUZ, R. K. Resistência ao estresse e crescimento de larvas de peixes neotropicais alimentadas com diferentes dietas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.42, n.1, p.65-72, 2007.

MACKENZIE, D.; VANPUTTE, C.; LEINER, K. Nutrient regulation of the endocrine function in fish. **Aquaculture**. v.161, p.3-25, 1998.

MCGURK, M. D. Effects of delayed feeding and temperature on the age of irreversible starvation and on the rates of growth and mortality of Pacific herring larvae. **Marine Biology**, v. 84, p.13-26, 1984.

MEHNER, T.; WIESER, W. Energetics and metabolic correlates of starvation in juvenile perch (*Perca fluviatilis*). **Journal of Fish Biology**, v.45, p.325-333, 1994.

MENOSSE, O. C.; TAKATA, R.; SANCHES-AMAYA, M. I.; FREITAS, T. M.; YÚFERA, M.; PORTELLA, M. C. Crescimento e estruturas do sistema digestório de larvas de pacu alimentadas com dieta microencapsulada produzida experimentalmente. **Revista Brasileira de Zootecnia**. No prelo 2012.

METÓN, I.; FERNÁNDEZ, F.; BAANANTE, I. V. Shot- and long-term effects of refeeding on key enzyme activities in glycolysis-gluconeogenesis in the liver of gilthead seabream (*Sparus auratus*). **Aquaculture**, v.225, p.99-107, 2003.

MOOKERJI, N. & R. RAMAKRISHNA. Rates of yolk utilization and effects of delayed initial feeding in the larvae of the freshwater fishes rohu and singhi. **Aquaculture International**, v. 7, p.45–46, 1999.

MPA – Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura Brasil 2008/2009**. Brasília, 2010. 101p. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/mpa/seap/Jonathan/mpa3/docs/anu%20rio%20da%20pesca%20completo2.pdf>>. Acesso em: ago. 2011.

NEVES, C. D. T. T.; DAL PAI, V.; DAL PAI-SILVA, M. Características morfológicas e histoquímicas do tecido muscular do piavuçu (*Leporinus macrocephalus*): Teleostei, Pisces. **Brazilian Journal of Morphological Sciences**, v. 17, p.108-108, 2000.

OLIVEIRA, A. M. B. M. S.; CONTE, L.; CYRINO, J. E. P. Produção de Characiformes autóctones. In: **Tópicos Especiais em Piscicultura de Água Doce Tropical Intensiva**, CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C.; FRACALOSI, D. M.; CASTAGNOLLI, N. (Ed) Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 533p., 2004.



PARADIS, A.R.; PEPIN, P.; BROWN, J.A. Vulnerability of fish eggs and larvae to predation: review of the influence of the relative size of prey and predator. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.53, p. 1226-1235, 1996.

PEÑA, R., & DUMAS, S. Effect of delayed first feeding on development and feeding ability of *Paralabrax maculatofasciatus* larvae. **Journal of Fish Biology**, v.67, p.640-651, 2005.

PORTELLA, M. C., DABROWSKI, K. Diets, physiology, biochemistry and digestive tract development of freshwater fish larvae In: **Feeding and Digestive Functions of Fishes**.1 ed. Enfield, Science Publishers, Inc., p. 227-275, 2008.

RANA, K. J. Influence of egg size on the growth, onset of feeding, point-of-no-return, and survival of unfed *Oreochromis mossambicus* fry. **Aquaculture**, v. 46, p.119–131, 1985.

ROWLERSON, A.; VEGGETTI, A. Cellular mechanisms of post-embryonic muscle growth in aquaculture species. In: **Muscle Development and Growth**, JOHNSTON, I. A. (Ed). Academic Press, 318 p., 2001.

SÄNGER, A. M.; STOIBER, W. Muscle fiber diversity and plasticity. In: **Muscle Development and Growth**, JOHNSTON, I. A. (Ed). Academic Press, 318 p., 2001.

SHAN, X. J; QUAN, H. F, DOU, S. Z. Effects of delayed first feeding on growth and survival of rock bream *Oplegnathus fasciatus* larvae. **Aquaculture**, v. 277, p.14–23, 2008.

SHAN, X. J; CAO, L.; HUANG, W.; DOU, S. Z. Feeding, morphological changes and allometric growth during starvation in miiuy croaker larvae. **Environmental Biology of Fishes**, v.86, p.121–130, 2009.

SOUZA, V. L.; URBINATI, E. C.; OLIVEIRA, E. G. Restrição alimentar, realimentação e as alterações no desenvolvimento de juvenis d pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 24, p. 19-24, 1997.

SOUZA, V. L.; OLIVEIRA, E. G.; URBINATI, E. C. Effects of food restriction and refeeding on energy stores and growth of pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Characidae). **Journal of Aquaculture in the Tropics**, v.15, n.4, p.371-379, 2000.

STRUSSMANN, C. A. & TAKASHIMA, F. PNR, histology and morphometry of starved pejerrey *Odontesthes bonariensis* larvae. **Nippon Suissan Gakkaishi**, v. 55, n. 2, p. 237-246. 1989.

TESSER, M. B. **Alimentação de larvas de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holberg, 1887)**. 86 f. Tese (Doutorado em Aqüicultura). Centro de Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

TESSER, M. B.; CARNEIRO, D. J.; PORTELLA, M. C. Co-feeding of pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg (1887), larvae with *Artemia* nauplii and a microencapsulated diet. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 17, n. 2, 2005a.

TESSER, M. B.; TERJESEN, B. F.; ZHANG, Y.; PORTELLA, M. C.; DABROWSKI, K. Free- and peptide-based dietary arginine supplementation for the South American fish pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Aquaculture Nutrition**, v. 11, p. 443-453, 2005b.

TESSER, M. B.; FLORES-QUINTANA, C. I.; CARNEIRO, D. J.; PIZAURO JR., J. M.; PORTELLA, M. C. Suplementação de enzimas exógenas e eficiência de dieta microparticulada na larvicultura do pacu. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 6, p. 2211-2218, 2006.

TESSER, M. B.; PORTELLA, M. C. Ingestão de ração e comportamento de larvas de pacu em resposta a estímulos químicos e visuais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.5, p.1887-1892, 2006.

TESSER, M. B.; PORTELLA, M. C. Estimulantes alimentares para larvas de pacu. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.9, p.1851-1855, 2011.

URBINATI, E. C., GONCALVES, F. D., TAKAHASHI, L. S. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) In: BALSISSETO, B., GOMES, L. C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**, Segunda edição. Editora UFSM, v. único, p. 205-244, 2010.

XIONG, M.; QIAO, Y.; ROSENTHAL, H.; QUE, Y.; CHANG, J. Early ontogeny of *Ancherythroculter nigrocauda* and effects of delayed first feeding on larvae. **Journal of Applied Ichthyology**, v.22, p. 502–509, 2006.

WEATHERLEY, A. H.; GILL, H. S. **The biology of fish growth**. Academic Press, 1987.

YIN, M. C.; BLAXTER, J. H. S. Feeding ability and survival during starvation of marine fish larvae reared in the laboratory. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.105, p.73–83, 1987.

ZHANG, L. ; WANG, Y. J.; HU, M. H.; FAN, Q. X.; CHEUNG, S. G.; SHIN, P. K. S. ; LI, H. ; CAO, L. Effects of the timing of initial feeding on growth and survival of spotted mandarin fish *Siniperca scherzeri* larvae. **Journal of Fish Biology**, v. 75, p.1158–1172, 2009.

## **Capítulo 1 - Ponto-de-não-retorno e períodos de restrição alimentar nos parâmetros zootécnicos e no desenvolvimento muscular de larvas de pacu**

**Resumo** - O presente estudo teve como objetivo determinar o ponto-de-não-retorno (PNR) de larvas de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e avaliar o impacto de diferentes períodos de jejum sobre o crescimento, o desenvolvimento muscular e o crescimento compensatório após diferentes períodos de restrição nas primeiras fases de desenvolvimento. O estudo foi dividido em dois experimentos. O primeiro foi realizado para determinação do PNR, usando delineamento inteiramente casualizado com seis esquemas alimentares e quatro repetições: J0 - larvas alimentadas continuamente por 20 dias, J2 - larvas submetidas a dois dias de jejum seguidos por 20 dias de alimentação, J4 - quatro dias de jejum e 20 dias de alimentação, J6 - seis dias de jejum e 20 dias de alimentação, J8 - oito dias de jejum e 20 dias de alimentação e Jn - larvas mantidas em jejum por todo o período experimental. O segundo experimento foi realizado em duas fases: na primeira fase, as larvas foram mantidas em laboratório e passaram pelas mesmas condições de jejum do experimento 1, porém com período de alimentação de 10 dias. Na segunda fase, as larvas de todos os tratamentos da fase anterior foram transferidas para viveiros externos onde foram criadas por mais 30 dias. Foram avaliadas as variáveis de desempenho de crescimento de peixes de diferentes classes de tamanho, sobrevivência e análise histológica do músculo estriado esquelético durante as duas fases. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey ( $\alpha=5\%$ ), quando detectadas diferenças significativas. O PNR encontrado para larvas de pacu foi de 5,4 dias de jejum (10,4 dias pós-eclosão). Os resultados de desempenho das larvas durante a fase em laboratório, após 10 dias de alimentação, não diferiram entre os tratamentos, exceto para a sobrevivência, cuja variação encontrada foi de  $88,8 \pm 9,3 \%$  (J0) a  $22,0 \pm 9,4 \%$  (J6), demonstrando que os animais submetidos aos diferentes períodos de jejum, foram capazes de compensar o crescimento. Após a fase de criação em viveiros, os resultados de sobrevivência foram melhores nos tratamentos J0 ( $40,8 \pm 5,7 \%$ ) e J2 ( $50,9 \pm 3,7\%$ ). Os animais do tratamento J4 apresentaram maior percentual de animais da menor classe de tamanho (PP) ( $63,5 \pm 19,2 \%$ ) em relação aos demais tratamentos. Os resultados de ganho em peso e fator de condição dos animais dos tratamentos J0 e J2 foram superiores

aos dos animais do tratamento J4, e não diferiram estatisticamente entre si ( $P>0,05$ ). Porém a taxa de crescimento específico dos animais do tratamento J2 foi semelhante à taxa de crescimento específico dos animais do tratamento J4 e J0. Com relação às análises histológicas do músculo, os resultados demonstraram que o diâmetro das fibras diminui de acordo com o aumento do período de jejum, porém aos 10 dias de alimentação e após a criação em viveiros, as fibras dos animais de todos os tratamentos apresentaram uma distribuição uniforme nas diferentes classes de diâmetro, sugerindo recuperação do desenvolvimento muscular.

Com base no exposto, o período de até dois dias de jejum não afetou o desempenho zootécnico e o desenvolvimento posterior das larvas, podendo ser utilizado como uma estratégia alimentar alternativa na produção de juvenis de pacu.

Palavras-chave: Jejum, crescimento compensatório, fibras musculares, *Piaractus mesopotamicus*.

### **Point-of-no return and periods of fasting on performance and muscular development in pacu larvae**

**Abstract** – This study aimed to determine the point of no return (PNR) of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) larvae and to evaluate the impact of different periods of fasting on muscle growth, development of larvae. It was also verified if compensatory growth occurs later in animals submitted to fasting in the early stages of development. The study was divided into two experiments. The first was conducted to determine the PNR. The completely randomized design with six replications and four treatments was applied: J0-larvae fed continuously for 20 days, J2-two days of fasting and 20 days of feeding, J4-four days of fasting and 20 days of feeding, J6-six days of fasting and 20 days of feeding, J8-eight days of fasting and 20 days of feeding and Jn – larvae kept fasting throughout the experimental period. The second experiment was divided in two phases: in the first, larvae were maintained in the laboratory under the same conditions of fasting as in experiment 1, but fed for 10 days. In the second phase, larvae of all treatments from the previous phase were transferred to ponds and reared for 30 days. Were evaluated the performance of growth variables (fish classified in size-

classes), survival and histological analysis of skeletal muscle during two phases. The data were subjected to analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey test ( $\alpha = 5\%$ ). The PNR of pacu larvae was 5.04 days of fasting (10.04 days post hatching). The results of larvae performance during the first phase, after 10 days of feeding, did not differ between treatments, except for survival,  $88.8 \pm 9.3 \%$  (J0) to  $22.0 \pm 9.4 \%$  (J6), showing that animals submitted to different periods of fasting were able to recover the normal conditions of development by compensatory growth. In second phase, survival results was higher in J0 ( $40.8 \pm 5.7 \%$ ) and J2 ( $50.9 \pm 3.7\%$ ), and the percentage of animals in the smallest class (PP) was higher in J4 ( $63.5 \pm 19.2 \%$ ). Results of weight gain and factor of condition (K) in animals of J0 and J2 was statistically higher than animals of J4. However, specific growth rate in animals of J2 did not differ statistically among animals of J0 and J4 ( $P > 0.05$ ). With regard to histological analysis of muscle, the data showed that the fiber diameter decreases with increased periods of fasting, but after 10 days of feeding and rearing in ponds, the fibers showed uniform distribution in all classes of diameter, suggesting recovery of muscle development. Based on the results, we conclude that up to two days of fasting pacu larvae performance and the subsequent development in juvenile stage are not affected, which can be used as a feeding strategy in the production of juvenile pacu.

Keywords: Fasting, compensatory growth, muscle fibers, *Piaractus mesopotamicus*.

## 1. Introdução

A fase de larvicultura ainda é considerada um dos obstáculos para a criação intensiva de peixes devido às dificuldades relacionadas à alimentação e nutrição das larvas, como o desconhecimento da qualidade e quantidade adequadas do alimento a ser fornecido, refletindo nas taxas de sobrevivência e posterior qualidade dos juvenis produzidos (PEDREIRA et al., 2008; CONCEIÇÃO et al., 2009).

Os sistemas de criação mais utilizados para a larvicultura de peixes no Brasil são o semi-intensivo e o intensivo. O sistema semi-intensivo consiste na estocagem direta das larvas em viveiros e, geralmente, resulta em baixas taxas de sobrevivência. Por outro lado, no sistema intensivo, em que as larvas são estocadas e alimentadas por certo tempo em laboratório, anteriormente à transferência aos viveiros, são observadas maiores taxas de sobrevivência e viabilidade econômica (JOMORI et al., 2003, 2005).

A principal causa de mortalidade durante a fase inicial de criação de peixes está relacionada à nutrição (DOU et al., 2005). A restrição alimentar nesta fase inicial resulta em efeito deletério para o desenvolvimento das larvas (XIONG et al., 2006). O momento em que os efeitos da restrição alimentar se tornam irreversíveis, ou seja, quando 50 % das larvas morrem, é denominado ponto-de-não-retorno (BLAXTER & HEMPEL, 1963). A resistência das larvas a restrição alimentar no período inicial do desenvolvimento depende de vários fatores, como a espécie (SHAN et al., 2008), qualidade dos ovos (RANA, 1985) e temperatura (MCGURK, 1984).

A taxa de alimentação durante o início do desenvolvimento das larvas de peixes, ou seja, o percentual de larvas que ingerem alimento pode ser influenciado pelas condições de criação, tamanho e densidade do alimento e aprendizado do comportamento alimentar (ZHANG et al., 2009). O ponto-de-não-alimentação, considerado como o momento em que a taxa de alimentação é de 50 % em relação a maior taxa de alimentação, indica o momento em que o jejum prejudica o comportamento alimentar das larvas, quando o alimento é fornecido.

Nos períodos de restrição parcial ou total do alimento, a principal fonte de energia utilizada pelo peixe são as reservas de lipídeos; quando estas reservas se esgotam, a energia é obtida por meio da degradação protéica do tecido muscular

(METÓN et al., 2003). Nas larvas de peixes, períodos de restrição alimentar prolongados causam redução na taxa de crescimento (LEITÃO et al., 2011), perda de massa muscular (WEATHERLEY & GILL, 1987), alterações morfológicas no trato digestório e aumento das taxas de mortalidade (DOU et al., 2002; GISBERT & SERGE, 2003). Além dos fatores nutricionais, variações da temperatura e qualidade da água, iluminação, presença de parasitas e maturidade sexual também interferem no crescimento muscular dos peixes (JOHNSTON, 2006).

O crescimento muscular pós-natal ocorre por dois processos, conhecidos como hipertrofia e hiperplasia. A hipertrofia, caracterizada pelo aumento no diâmetro das fibras, é causada pela fusão de células satélites com fibras musculares existentes, aumentando o número de núcleos para a síntese de miofibrilas. Nos peixes, este processo é mais evidente nas fases juvenil e adulta. A hiperplasia, por sua vez, caracterizada pela formação de novos miotubos na superfície das fibras existentes aumentando o número de fibras, é mais evidente na fase inicial de desenvolvimento dos peixes (JOHNSTON et al., 2000a; DALPAI-SILVA, 2007). A alimentação adequada durante a fase larval dos peixes melhora o desempenho produtivo e favorece o crescimento muscular (LEITÃO et al., 2011).

Muitos fatores influenciam a recuperação dos animais após a restrição alimentar, como idade, sexo, tempo de restrição, temperatura e qualidade do alimento fornecido (XIE et al., 2001). A partir do momento em que as condições alimentares são restabelecidas, os peixes demonstram altas taxas de crescimento. Fenômenos como hiperfagia, aumento da capacidade de aproveitamento do alimento, redução do metabolismo e locomoção são responsáveis pelo crescimento compensatório. Esta compensação é dividida em categorias como: crescimento compensatório parcial, total, sobre compensação e não compensação (ALI et al., 2003).

Com base no exposto, a presente pesquisa foi delineada para gerar informações sobre alimentação inicial e efeitos da restrição alimentar sobre o crescimento, sobrevivência e desenvolvimento muscular de larvas de pacu. Espera-se que os resultados obtidos possam contribuir com a elaboração de estratégias alimentares que beneficiem o desenvolvimento e o crescimento muscular de espécies de peixes cultivadas comercialmente.



## 2. Material e Métodos

O estudo foi conduzido no Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista (CAUNESP), Campus de Jaboticabal, SP, dividido em dois experimentos: no primeiro, larvas de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) foram submetidas a diferentes períodos de jejum para a verificação do ponto-de-não-retorno (PNR), taxa de alimentação, consumo e sobrevivência após alimentação. O segundo experimento foi conduzido em duas fases: uma fase em que as larvas passaram por diferentes períodos de jejum em laboratório, e uma fase posterior para recuperação do crescimento em viveiros externos, quando foi avaliado o crescimento, sobrevivência e crescimento muscular.

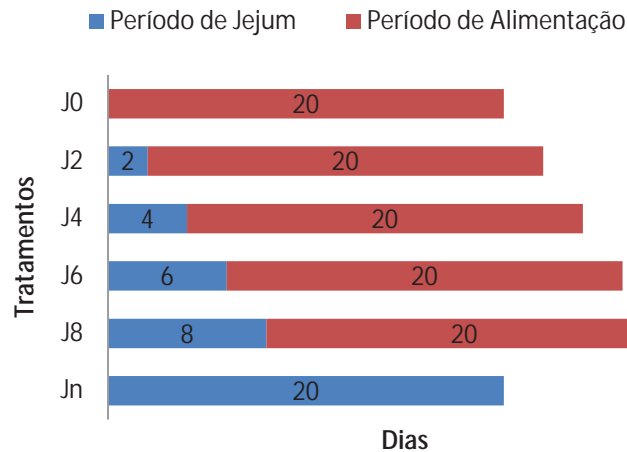
O projeto foi submetido para avaliação segundo o Colégio Brasileiro de Experimentação (COBEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), Protocolo n° 004487/10.

### Experimento 1

Foram utilizadas larvas de pacu distribuídas aleatoriamente em 24 tanques de polietileno com 100 L de água, na densidade de 20 larvas.L<sup>-1</sup>, com cinco dias pós-eclosão iniciando alimentação exógena com peso médio de  $0,59 \pm 0,26$  mg e comprimento total médio de  $6,2 \pm 0,08$  mm.

Neste estudo, foram avaliados tratamentos alimentares que envolveram jejum e alimentação. Durante o período de alimentação, as larvas receberam náuplios de artemia cinco vezes ao dia (8:00, 11:00, 14:00, 17:00 e 20:00 horas) e as quantidades fornecidas foram de acordo com o protocolo adotado no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (LANOA), segundo Jomori (1999). As variáveis de qualidade da água observadas foram  $4,5 \pm 0,2$ mg/L de oxigênio dissolvido;  $232,4 \pm 18,46$  µS/cm de condutividade e  $8,3 \pm 0,1$  de pH. A variação da temperatura foi de  $29,8 \pm 0,6$ °C. Diariamente, os resíduos acumulados no fundo dos tanques foram removidos por sifonamento.

Foram aplicados seis tratamentos com quatro réplicas cada, em delineamento inteiramente casualizado (Figura 1).



**Figura 1.** Representação dos tratamentos do experimento 1: alimentação por 20 dias (J0); jejum de dois dias seguidos de 20 dias de alimentação (J2); jejum de quatro dias seguidos de 20 dias de alimentação (J4); jejum de seis dias seguidos de 20 dias de alimentação (J6); jejum de oito dias seguidos de 20 dias de alimentação (J8); jejum por todo o período experimental (Jn).

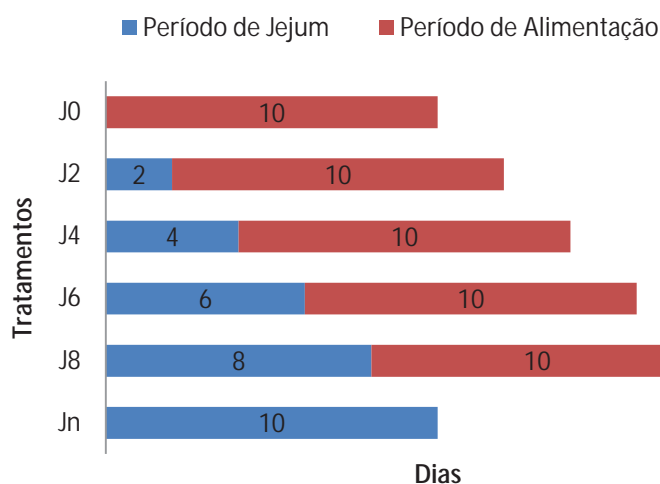
No primeiro dia de alimentação após os diferentes períodos de jejum (considerado como dia 0), 24 larvas de cada tratamento foram transferidas em quadruplicata para recipientes de 1,2 L sem a presença de alimento. Estas receberam náuplios de artêmia na quantidade de 500 náuplios.larva<sup>-1</sup>, e após 30 minutos foram abatidas em gelo, fixadas em formol 10 % por 24 horas e preservadas em álcool 70 %. Este procedimento também foi realizado após 2, 4, 6, 8, 10 e 20 dias de alimentação em todos os tratamentos. As amostras foram observadas em lupa para análise da presença de alimento e quantificação dos náuplios ingeridos, por meio da contagem direta de náuplios após dissecação do tubo digestivo. Estes dados foram utilizados para o cálculo do percentual de larvas que ingeriram alimento após progressiva privação alimentar (taxa de alimentação) e o número de náuplios ingeridos/larva (consumo). Foi calculado também o ponto-de-não-alimentação, definido como o momento, a partir da eclosão, em que a taxa de alimentação das larvas mantidas em jejum é menor que a metade da maior taxa de alimentação das larvas após receberem alimentação exógena. Os dados foram plotados graficamente e ajustados à linha de tendência por uma equação polinomial de terceiro grau para o cálculo do ponto-de-não-alimentação.

Por meio dos dados de sobrevivência ao final de cada período de jejum plotados graficamente e ajustados à linha de tendência por uma equação polinomial de terceiro grau, foi calculado o ponto-de-não-retorno (PNR), considerado de acordo com Blaxter & Hempel (1963), como o momento em que após um determinado período de jejum, 50 % das larvas não sobrevivem mesmo após a oferta de alimento.

## Experimento 2

Na primeira fase deste experimento, 120 mil larvas de pacu foram estocadas em 30 tanques com 200 L de água (20 larvas. L<sup>-1</sup>), dispostos em estufa anexa ao Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (LANOA).

Foram aplicados seis tratamentos com cinco réplicas, em delineamento inteiramente casualizado, conforme ilustrado na Figura 2.



**Figura 2.** Representação dos tratamentos na primeira fase do experimento 2: alimentação por 10 dias (J0); jejum de dois dias seguidos de 10 dias de alimentação (J2); jejum de quatro dias seguidos de 10 dias de alimentação (J4); jejum de seis dias seguidos de 10 dias de alimentação (J6); jejum de oito dias seguidos de 10 dias de alimentação (J8); jejum por todo o período experimental (Jn).

Durante o período de alimentação, o crescimento das larvas foi avaliado periodicamente a cada dois dias (n=40/réplica). As larvas coletadas anteriormente

a primeira alimentação do dia, foram abatidas em benzocaína (0,150 g.L<sup>-1</sup>), fixadas em formaldeído 10% e preservados em álcool 70% para posterior determinação do peso úmido (mg) em balança analítica e comprimento total (mm), por meio de paquímetro digital. A partir dos dados biométricos foram calculados o ganho em peso, a taxa de crescimento específico (TCE) (RICKER, 1979), o fator de condição(K) de Fulton, e a sobrevivência.

A taxa de crescimento específico (TCE) foi calculada por meio da seguinte expressão:

$$TCE = \frac{\ln Pf - \ln Pi}{\Delta t} \times 100, \text{ onde:}$$

$\ln Pf$  = logaritmo do peso final;

$\ln Pi$  = logaritmo do peso inicial;

$\Delta t$  = Duração em dias entre os intervalos de biometria.

O ganho em peso (GP) em miligramas foi calculado por meio da expressão:

$$GP = \text{Peso final} - \text{Peso inicial}$$

O fator de condição (K) de Fulton foi determinado por meio da fórmula:

$$K = \frac{\text{Peso}}{\text{Comprimento}^b}$$

O valor de **b** foi obtido por meio da logaritimização dos dados de peso e de comprimento total de todas as larvas amostradas em todas as biometrias. Esses dados foram plotados em gráfico e o valor de **b**, foi obtido por meio da equação linear:

$$y = a + bx$$

Utilizaram-se todos os dados das biometrias para se obter um único valor de **b**, representativo de todas as fases de desenvolvimento dos animais. Com esse procedimento os valores de fator de condição ficam sujeitos apenas a variação do peso e do comprimento total dos animais, e não do **b**, assumido como constante. O valor de **b** calculado para a primeira fase foi de 3,847, enquanto para a segunda fase foi de 3,139.

A sobrevivência foi calculada por meio da seguinte expressão:

$$\text{Sobrevivência} = \frac{\text{animais}F}{\text{animais}I - \text{animais}C} \times 100, \text{ onde:}$$

*animais F* = número de animais o final do experimento;

*animais I* = número de animais ao início do experimento;

*animais C* = número de animais coletados ao longo do experimento para as biometrias.

Os valores médios dos parâmetros de qualidade da água observados nessa fase foram:  $4,4 \pm 0,1$  mg/L de oxigênio dissolvido,  $285,8 \pm 63,6$   $\mu$ S/cm de condutividade e  $8,4 \pm 0,1$  de pH. A temperatura da água apresentou variação de  $29,9 \pm 0,5$ °C. Diariamente, os resíduos acumulados no fundo dos tanques foram removidos por sifonamento.

Ao término do período de alimentação de cada tratamento da fase 1, o crescimento e a sobrevivência das larvas foram avaliados e as mesmas foram transferidas para viveiros externos, para a segunda fase experimental. Para cada tratamento, as larvas foram distribuídas aleatoriamente na densidade de 100 larvas/m<sup>2</sup> em três viveiros de alvenaria com fundo de terra, com dimensões de 40m<sup>2</sup>, protegidos contra possíveis ataques de predadores, dotados de sistemas de abastecimento com água de mina e escoamento contínuo. Os animais do tratamento J6 apresentaram baixa taxa de sobrevivência na primeira fase e, por consequência, não houve número de peixes suficiente para manter a mesma densidade dos outros tratamentos. Mesmo assim, foram feitas duas réplicas desse tratamento, com 2040 peixes estocados na densidade de 51 larvas/m<sup>2</sup>, mas os resultados não foram considerados nas análises estatísticas. Antes do

povoamento dos viveiros, foram realizadas as medidas profiláticas necessárias com aplicação de 60 g/m<sup>2</sup> de cal hidratada e fertilização inicial e semanal com esterco de ave poedeira, sendo 178 g/m<sup>2</sup> e 45g/m<sup>2</sup>, respectivamente, para produção de plâncton natural.

A segunda fase do experimento teve duração de 30 dias, e durante esta fase as larvas receberam dieta comercial farelada (Proteína Bruta 55%; Umidade 10%; Extrato Etéreo 4%; Matéria Fibrosa 6%; Matéria Mineral 18%; Cálcio 5% e Fósforo 1,5%) quatro vezes ao dia (8:00, 11:00, 14:00 e 17:00 horas) distribuída por toda a superfície do viveiro. Foram coletadas amostras dos peixes (n=10 %) no início e final dessa fase experimental para biometria. Os peixes foram abatidos em benzocaína (0,150 g.L<sup>-1</sup>), fixados em formol 10 % e preservados em álcool 70 % para posterior determinação do peso úmido (mg) e comprimento total (mm).

Os valores médios das variáveis de qualidade da água observados nos viveiros foram 4,36 ± 0,5 mg/L para oxigênio dissolvido; 41,94 ± 6,6 µS/cm<sup>2</sup> para condutividade; 7,83 ± 0,4 para pH; 113,23 ± 41,9 µg/L para amônia; 9,28 ± 6,8 µg/L para nitrito; 28,79 ± 25,49 µg/L para nitrato e 132,18 ± 32,43 µg/L para fósforo total. As médias de temperatura apresentaram variações de 28,8 ± 2,4°C. Ao final do experimento, uma amostra de 1000 peixes do tratamento J0 foi avaliada biometricamente e o comprimento total médio foi usado para estabelecer classes de tamanho, que tiveram as amplitudes definidas com base no desvio padrão (DP) desses animais. A classe M foi resultado do valor médio do comprimento total (cm), com o acréscimo e subtração do valor do DP, em centímetros. As demais classes tiveram amplitude igual à metade do DP. Assim, estabeleceram-se cinco classes de tamanho (cm): *classe PP*: <3,8; *classe P*: 3,81 ≤ P < 4,08; *classe M*: 4,09 ≤ M < 5,18; *classe G*: 5,19 ≤ G < 5,46; e *classe GG*: ≥ 5,46.

Após o estabelecimento das classes de tamanho, todos os peixes foram classificados e 10 % de cada classe de cada tratamento foram avaliados biometricamente. A partir dos dados biométricos de cada classe de tamanho e ponderação pela frequência de ocorrência de peixes em cada classe, foram calculados o ganho em peso, a taxa de crescimento específico (TCE) (RICKER, 1979), o fator de condição (K) de Fulton, e a biomassa. A taxa de sobrevivência também foi determinada ao final da segunda fase experimental.

## **Análises morfológica e morfométrica**

Paralelamente às coletas para avaliação do crescimento, foram coletadas amostras de peixes ( $n=8/\text{tratamento}$ ) que foram abatidos em benzocaína ( $0,150 \text{ g.L}^{-1}$ ). As amostras coletadas durante a fase 1 foram fixadas inteiras em solução de Karnovsky por 24 horas, enquanto para a fase 2 foi fixado apenas uma porção da região epiaxial da musculatura dos juvenis. Estas amostras foram lavadas e preservadas em álcool 70% para análise morfológica e morfométrica das fibras musculares.

As amostras fixadas foram incluídas em resina histológica (Historesin®, Leica, Germany), segundo recomendações do fabricante.

Cortes histológicos transversais de quatro micrômetros de espessura foram obtidos em micrótomo automático utilizando-se navalhas de vidro e submetidos a coloração com Hematoxilina e Floxina B.

Por meio de sistema de análise de imagens (Leica Qwin, Germany), foi calculado o menor diâmetro de 200 fibras musculares por animal, no compartimento profundo, da região epiaxial, para avaliar o crescimento muscular dos juvenis. No caso das larvas, foram medidas todas as fibras do corte transversal. O menor diâmetro foi determinado para não permitir os erros que podem ocorrer caso algum exemplar não tenha sido seccionado exatamente em posição transversal (DUBOWITZ, 1985).

Posteriormente, as fibras musculares foram distribuídas em classes, na dependência do seu diâmetro ( $\mu\text{m}$ ): *classe 10* =  $d \leq 10$ ; *classe 20* =  $10 < d \leq 20$ ; *classe 30*:  $20 < d \leq 30$ ; *classe 40* =  $30 < d \leq 40$  e *classe 50* =  $d > 40$  para avaliar o grau de crescimento hipertrófico e hiperplásico das fibras musculares de larvas de pacu, adaptado de Assis (2004).

## **Análises estatísticas**

Os resultados de crescimento (peso, comprimento total e TCE) e sobrevivência das larvas em cada experimento ou fase experimental foram avaliados por one-way ANOVA. Nos resultados em que houve diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5 %

de probabilidade. Testes de normalidade e homocedasticidade de variâncias foram aplicados, assim como transformação arcoseno nos resultados percentuais.

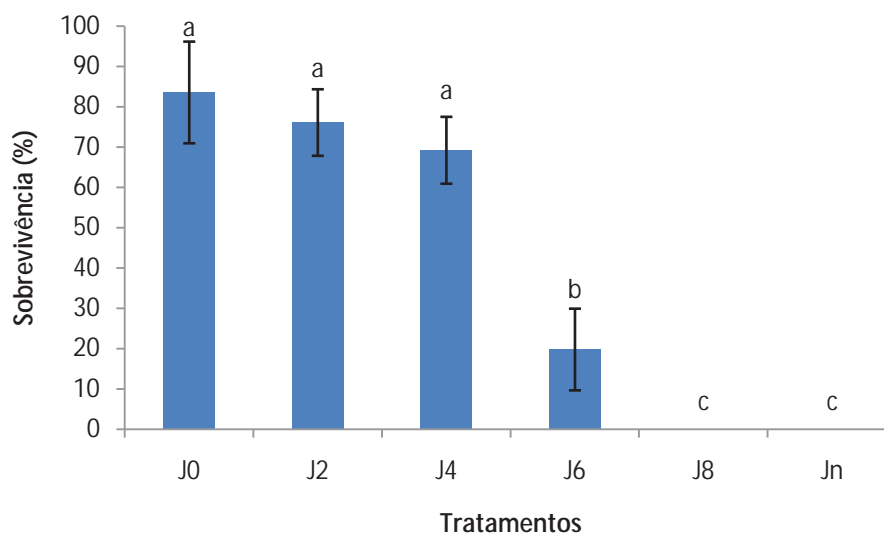
Todas as análises e transformações foram realizadas no programa SAS n. 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA).

Os resultados de desempenho de crescimento dos peixes do tratamento J6 da segunda fase experimental do experimento foram excluídos das análises estatísticas.

### 3. Resultados

#### 3.1 – Experimento 1

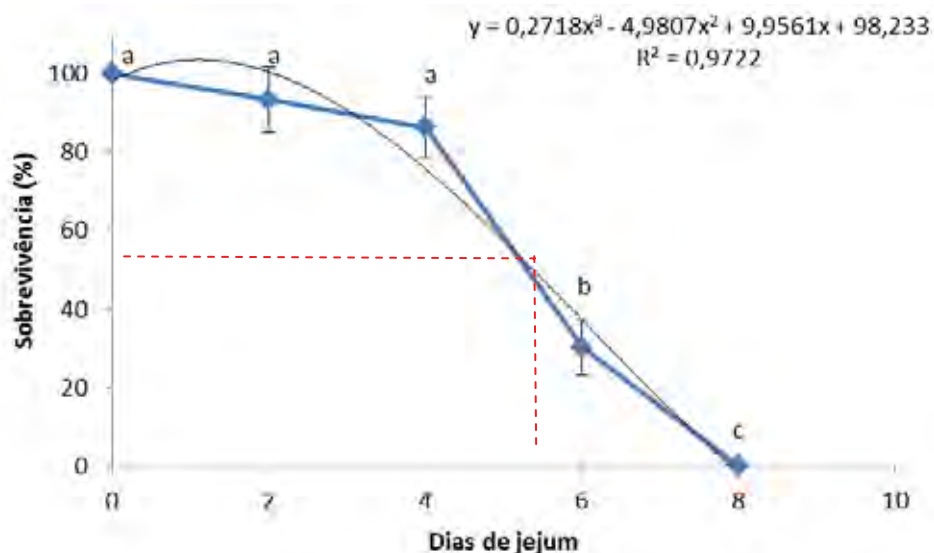
A análise das taxas de sobrevivência determinadas aos 20 dias de alimentação demonstrou que jejum de até quatro dias resultou em 69 % de sobrevivência, e não diferiu estatisticamente ( $P>0,05$ ) dos verificados com zero (83 %) e dois (76 %) dias de jejum. Entretanto, as larvas com seis dias de jejum apresentaram taxa de sobrevivência abaixo de 20 %. Foi observada mortalidade total das larvas dos tratamentos J8 e Jn ao final do oitavo dia de jejum (Figura 3).



**Figura 3.** Médias e desvio padrão das taxas de sobrevivência das larvas de pacu nos tratamentos em que foram submetidas a diferentes períodos de jejum, seguidos de 20 dias de alimentação. Médias apresentadas com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ ).



Com os dados médios das taxas de sobrevivência obteve-se a equação polinomial de terceiro grau  $y = 0,271x^3 - 4,980x^2 + 9,956x + 98,23$  ( $R^2 = 0,972$ ), no ajuste dos dados (Figura 4). O ponto-de-não-retorno calculado pela equação foi de 5,4 dias (10,4 dias pós-eclosão) para larvas de pacu.



**Figura 4.** Médias das taxas de sobrevivência ao final dos diferentes períodos de jejum (dia zero de alimentação) e ponto-de-não retorno das larvas de pacu.

Verificou-se que a taxa de alimentação aumentou nos dias subsequentes ao término do jejum (Tabela 1). A menor taxa foi observada nas larvas do tratamento J6 (21,62 %); entretanto, a partir do segundo dia de alimentação, todos os animais dos diferentes tratamentos consumiram o alimento fornecido.

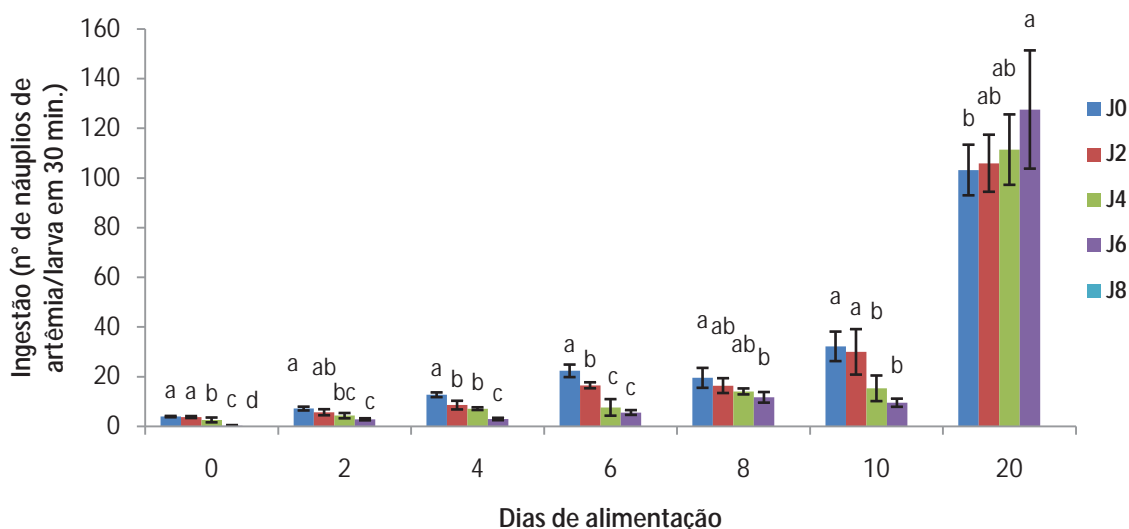
A quantidade média de náuplios de artemia ingeridos no dia zero (primeiro dia) da fase de alimentação foi influenciada pelos dias em que as larvas ficaram em jejum, nas larvas dos tratamentos J4, J6 e J8 ( $2,60 \pm 0,97$ ;  $0,28 \pm 0,24$  e  $0,00$ , respectivamente). Por outro lado, o consumo dos animais do tratamento J2 ( $3,76 \pm 0,39$ ) foi estatisticamente igual ao dos peixes do tratamento J0 ( $3,95 \pm 0,26$ ). A hiperfagia foi mais evidente somente nas larvas do tratamento J6, aos 20 dias de alimentação (Figura 5).

**Tabela 1.** Médias e desvio padrão das taxas de alimentação\* (%) das larvas dos diferentes tratamentos ao longo do período de alimentação.

Trat.	Dias de alimentação após Jejum					
	0**	2	4	6	8	10
J0	100,00 ±0,00 Aa	100,00 ±0,00 Aa	100,00 ±0,00 Aa	100,00 ±0,00 Aa	100,00 ±0,00 Aa	100,00 ±0,00 Aa
J2	96,52 ±4,52 Aab	100,00 ±0,00 Aa	94,22 ±4,46 Ab	100,00 ±0,00 Aa	100,00 ±0,00 Aa	100,00 ±0,00 Aa
J4	83,02 ±8,41 Bb	91,27 ±0,85 Ac	100,00 ±0,00 Aa	100,00 ±0,00 Aa	100,00 ±0,00 Aa	100,00 ±0,00 Aa
J6	21,62 ±15,41 Bc	95,70 ±0,14 Ab	87,93 ±3,28 Ab	92,73 ±6,66 Ab	100,00 ±0,00 Aa	100,00 ±0,00 Aa
J8	0,00 d					

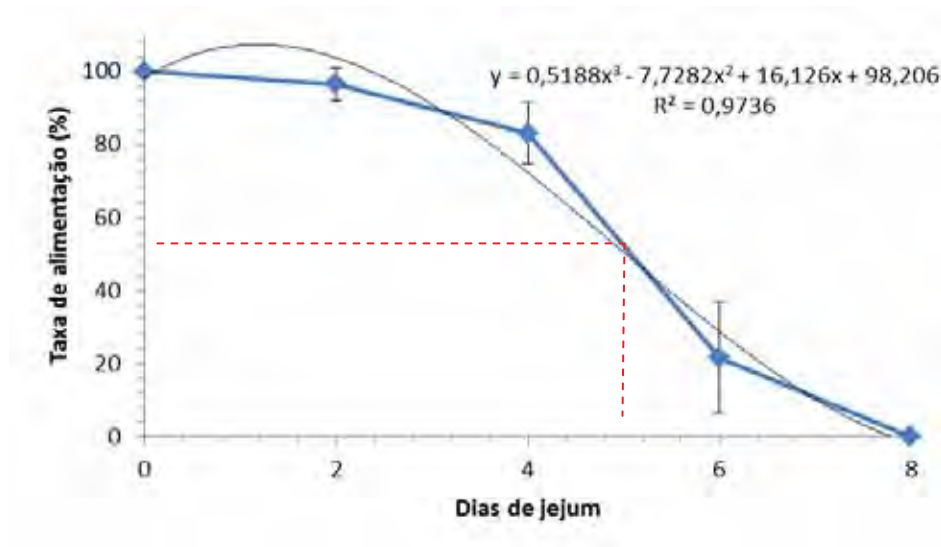
Médias seguidas da mesma letra (maiúscula na horizontal e minúscula na vertical) não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ ).

(\*) Porcentagem de larvas que ingeriram alimento; (\*\*) Primeiro dia de alimentação.



**Figura 5.** Ingestão média de náuplios de artêmia pelas larvas dos diferentes tratamentos, ao longo da fase de alimentação. Médias em cada dia de alimentação apresentando a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ ).

Com os dados médios das taxas de alimentação ao primeiro dia de alimentação (dia 0) obteve-se a equação polinomial de terceiro grau  $y = 0,518x^3 - 7,728x^2 + 16,12x + 98,20$  ( $R^2 = 0,973$ ), no ajuste dos dados (Figura 6). O ponto-de-não-alimentação calculado foi de 5,02 dias de jejum (10,02 dias pós-eclosão).



**Figura 6.** Taxa de alimentação das larvas em jejum no início do período de alimentação (dia zero) e ponto-de-não-alimentação.

## 3.2 – Experimento 2

### 3.2.1 - Fase 1

Os resultados dos dados biométricos de peso e comprimento estão expressos nas Tabelas 2 e 3. Logo no início do período de alimentação foi observado que o peso das larvas diminuiu quanto maior foi o tempo em que ficaram em jejum (Tabela 2). Verificou-se recuperação em peso das larvas nos tratamentos J2, J4 e J6 a partir do quarto, oitavo e décimo dia, respectivamente. Aos dez dias de alimentação, os peixes dos tratamentos J2 e J4 apresentaram peso superior em relação ao tratamento J0 e J6. A ausência de dados biométricos dos tratamentos J8 e Jn foi devido à mortalidade total registrada após o período do jejum, mesmo após o fornecimento de alimento.

O comprimento das larvas apresentou tendência semelhante ao peso, com valores mais baixos de acordo com os dias em jejum, e recuperação ao longo dos dias de alimentação (Tabela 3). Aos dez dias de alimentação, o comprimento dos animais dos tratamentos J0, J2 e J4 não diferiu entre si ( $P > 0,05$ ).

**Tabela 2.** Peso médio (mg) e desvio padrão das larvas de pacu em diferentes dias de alimentação após o jejum.

Dias de Alimentação após Jejum						
Trat.	0*	2	4	6	8	10
<b>J0</b>	0,59 ±0,13 a	1,08 ±0,08 a	2,00 ±0,19 a	3,59 ±0,65 a	4,04 ±0,60 b	5,46 ±0,96 b
<b>J2</b>	0,42 ±0,18 b	0,76 ±0,08 b	1,99 ±0,35 a	2,66 ±0,18 b	5,25 ±0,60 a	7,72 ±0,65 a
<b>J4</b>	0,38 ±0,07 b	0,51 ±0,04 c	1,04 ±0,15 b	1,94 ±0,38 c	3,77 ±1,37 b	7,18 ±1,16 a
<b>J6</b>	0,29 ±0,07 c	0,33 ±0,01 d	0,77 ±0,06 c	2,07 ±0,65 c	3,09 ±0,56 c	5,66 ±2,59 b
<b>J8</b>	0,27 ±0,08 c					

Médias seguidas da mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

\* Primeiro dia de alimentação.

**Tabela 3.** Comprimento médio total (mm) e desvio padrão das larvas de pacu em diferentes dias de alimentação após o jejum.

Dias de Alimentação após Jejum						
Trat.	0*	2	4	6	8	10
<b>J0</b>	6,20 ±0,08 a	6,19 ±0,23 a	6,81 ±0,23 a	7,95 ±0,22 a	9,41 ±0,32 a	10,68 ±0,31a
<b>J2</b>	5,59 ±0,12 b	5,83 ±0,20 a	6,51 ±0,42 ab	7,91 ±0,27 a	9,09 ±0,49 ab	10,87 ±0,15 a
<b>J4</b>	5,41 ±0,11 b	5,43 ±0,10 b	6,16 ±0,10 b	7,28 ±0,24 b	8,74 ±0,33 ab	10,30 ±0,54 ab
<b>J6</b>	5,28 ±0,09 b	5,08 ±0,13 b	5,93 ±0,17 b	6,67 ±0,31 c	8,25 ±0,26 b	9,84 ±0,29 b
<b>J8</b>	5,38 ±0,34 b					

Médias seguidas da mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

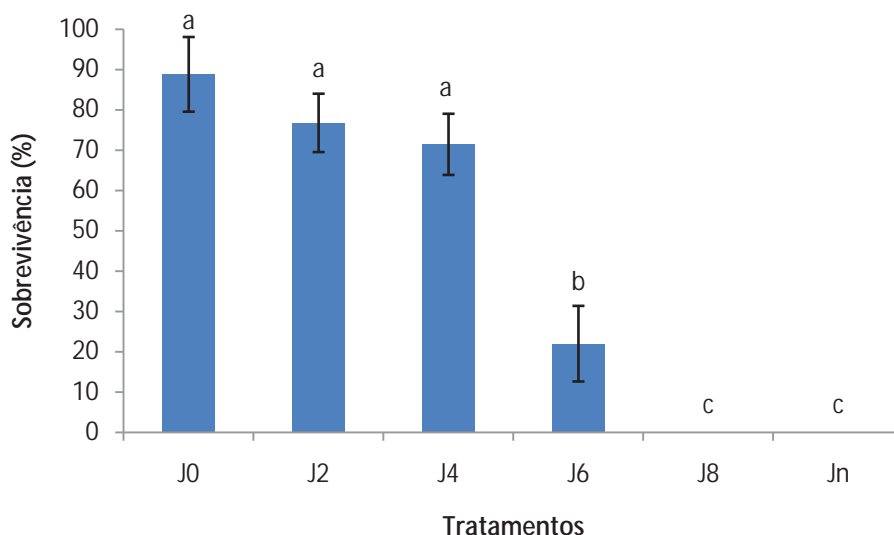
\* Primeiro dia alimentação.

O ganho em peso dos animais dos diferentes tratamentos após dez dias de alimentação não diferiu estatisticamente (P>0,05)entre si (Tabela 4).

**Tabela 4.** Ganho em Peso (mg) e desvio padrão das larvas dos tratamentos durante a fase de alimentação.

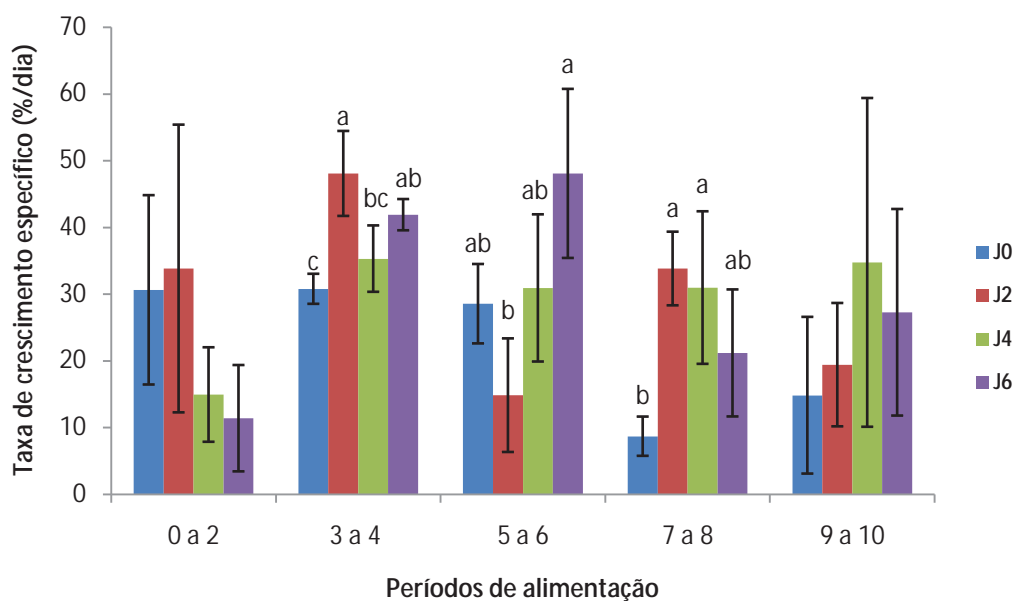
Tratamentos	GP (mg)
<b>J0</b>	4,87 ± 1,01
<b>J2</b>	7,31 ± 0,74
<b>J4</b>	6,80 ± 1,15
<b>J6</b>	5,37 ± 2,07

Os resultados de sobrevivência obtidos aos dez dias de alimentação demonstraram taxas superiores a 70 % após 0, 2 e 4 dias de jejum, exceto nos tratamentos J6 (21,97%) e J8 em que foi observada mortalidade total (Figura 7).



**Figura 7.** Médias e desvio padrão das taxas de sobrevivência das larvas de pacu no final da fase em laboratório, aos 10 dias de alimentação. Médias seguidas da mesma letra indicam semelhança estatística entre os tratamentos pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Durante o período inicial de alimentação (0 a 2 dias), as TCE das larvas em todos os tratamentos não diferiram estatisticamente entre si ( $P > 0,05$ ), mas apresentaram diferença numérica e ampla variação (DP) (Figura 8). No segundo período de avaliação, a TCE das larvas do tratamento J2 foi superior a TCE dos animais do tratamento J0, coincidindo com o momento em que as larvas do tratamento J2 apresentaram compensação total do peso (Tabela 2). No quarto período de avaliação, os valores de TCE das larvas dos tratamentos J2 e J4 foram superiores ao dos animais do tratamento J0, coincidindo com a sobre compensação dos animais do tratamento J2 e compensação total dos animais do tratamento J4 (Tabela 2). Aos dez dias de alimentação as larvas dos tratamentos J0 e J6, apesar de apresentarem peso inferior aos animais dos demais tratamentos (Tabela 2), apresentaram TCE estatisticamente iguais (Figura 8).



**Figura 8.** Taxa de crescimento específico (%/dia) das larvas de pacu após diferentes períodos de jejum e alimentação. Médias apresentando letras diferentes em cada período diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

O fator de condição K das larvas de pacu no primeiro dia de alimentação (dia 0) não diferiu estatisticamente ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos (Tabela 5). Nos dias subsequentes observou-se ligeira diminuição dos valores de K em razão do aumento do tempo de jejum, mas, também, recuperação do bem estar das larvas nos dias finais de observação (dias 8 e 10).

**Tabela 5.** Fator de condição (K) das larvas de pacu nos diferentes tratamentos durante o período de alimentação.

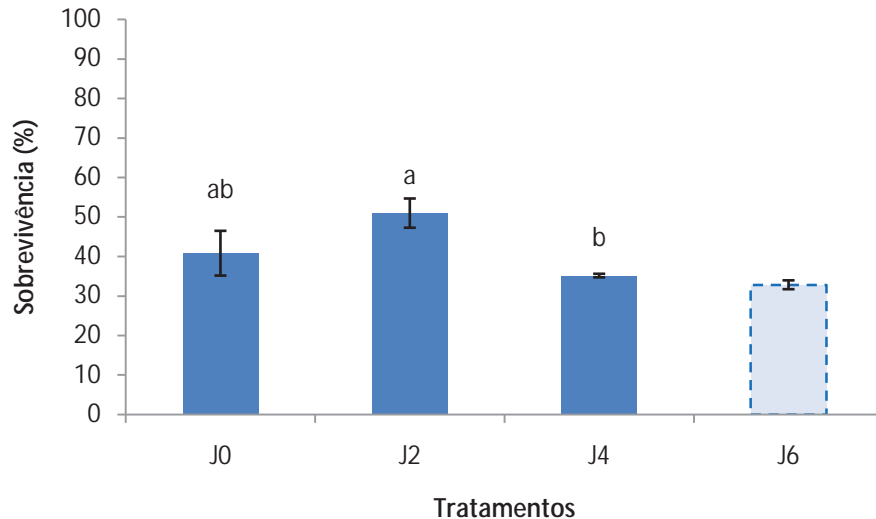
Trat.	Dias de Alimentação após Jejum								
	0*	2	4	6	8	10			
J0	0,00053	0,00098	a	0,00125	a	0,00122	ab	0,00074	0,00061
J2	0,00056	0,00086	ab	0,00148	a	0,00094	b	0,00108	0,00080
J4	0,00058	0,00076	b	0,00095	b	0,00093	b	0,00089	0,00091
J6	0,00049	0,00064	b	0,00082	b	0,00137	a	0,00094	0,00085

Médias seguidas da mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

\* Primeiro dia alimentação.

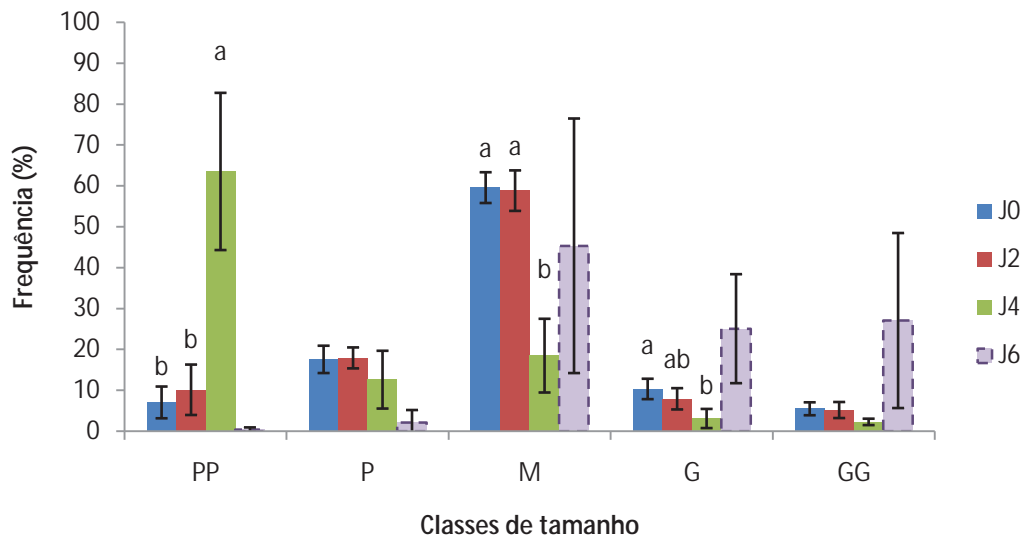
### 3.2.2 -Fase 2

A maior taxa de sobrevivência foi observada no tratamento J2 ( $50,93 \pm 3,7\%$ ), superior ao encontrado no tratamento J4 ( $35,12 \pm 0,45 \%$ ). O tratamento J0, em que os peixes não passaram por jejum, apresentou taxa de sobrevivência intermediária ( $40,78 \pm 5,66 \%$ ). O tratamento J6, excluído das análises estatísticas, apresentou taxa de  $32,79 \pm 1,12 \%$  (Figura 9).



**Figura 9.** Taxas médias de sobrevivência observadas nos tratamentos após a criação das larvas em viveiros. Médias apresentando mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ). Taxa de sobrevivência do tratamento J6 foi excluída da análise estatística.

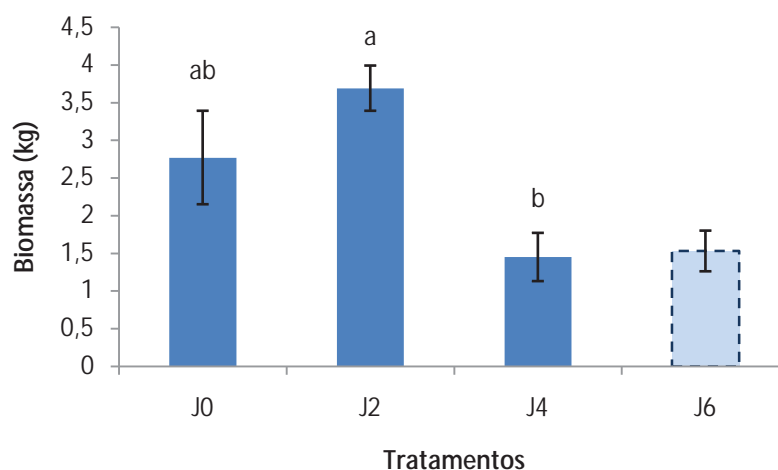
A análise da distribuição dos peixes nas diferentes classes de tamanho, ao final da fase de criação em viveiros, revelou que a frequência de distribuição dos peixes nos tratamentos J0 e J2 foi semelhante, com maior percentual de peixes de tamanho médio (classe M) (Figura 10). No tratamento J4 predominaram os peixes muito pequenos, em que  $63,5 \pm 19,21 \%$  se encontravam na classe PP (<3,8 cm). Por outro lado, não foram encontradas diferenças estatísticas entre as frequências de animais dos diferentes tratamentos para as classes de tamanho P e GG. Mesmo fora das análises estatísticas, os resultados do tratamento J6 foram interessantes e com tendência diferente dos demais, assim distribuídos: PP (0,39 %), P (2,15 %), M (45,33 %), G (25,07 %) e GG (27,06 %).



**Figura 10.** Frequência de distribuição dos peixes nas cinco classes de tamanho, ao final da criação em viveiros. Médias apresentando mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ). Taxa de sobrevivência do tratamento J6 foi excluída da análise estatística.

Após 30 dias de criação em viveiros, a biomassa média obtida no tratamento J0 ( $2,8 \pm 0,6$  kg) foi semelhante às dos tratamentos J2 ( $3,7 \pm 0,3$  kg) e J4 ( $1,5 \pm 0,3$  kg). No entanto, a biomassa de peixes do tratamento J2 foi estatisticamente superior à do tratamento J4. O resultado da biomassa dos animais submetidos ao jejum de seis dias ( $1,5 \pm 0,3$  kg), excluído da estatística, demonstrou valor semelhante à biomassa dos animais submetidos ao jejum de quatro dias (Figura 11).





**Figura 11.** Biomassa dos diferentes tratamentos após 30 dias de criação em viveiros. Médias apresentando mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

As médias de ganho em peso e de fator de condição dos animais dos tratamentos J0 e J2 foram semelhantes entre si e superiores ao ganho em peso e fator de condição dos peixes do tratamento J4. A taxa de crescimento específico dos animais do tratamento J2 não diferiu da dos tratamentos J0 e J4. Estas, por sua vez, foram diferentes, sendo a TCE dos animais do tratamento J0 superior a taxa observada no tratamento J4. Os dados dos animais do tratamento J6, que foram excluídos da estatística, demonstraram valores superiores a respostas dos animais dos demais tratamentos (Tabela 6).

**Tabela 6.** Médias e desvio padrão do ganho em peso (mg), taxa de crescimento específico (% / dia) e fator de condição (K) dos juvenis de pacu nos diferentes tratamentos, após 30 dias em viveiros.

	GP (mg)		TCE (%)		K	
<b>J0</b>	1849,9 ± 182,786	a	19,42 ± 0,34	a	0,0111 ± 0,001	a
<b>J2</b>	1806,81 ± 158,308	a	18,19 ± 0,29	ab	0,0116 ± 0,001	a
<b>J4</b>	1254,49 ± 357,268	b	17,13 ± 0,99	b	0,0066 ± 0,001	b
<b>J6</b>	3374,00 ± 882,89		21,25 ± 0,88		0,0150 ± 0,008	

As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

### 3.3 - Morfologia e morfometria das fibras musculares

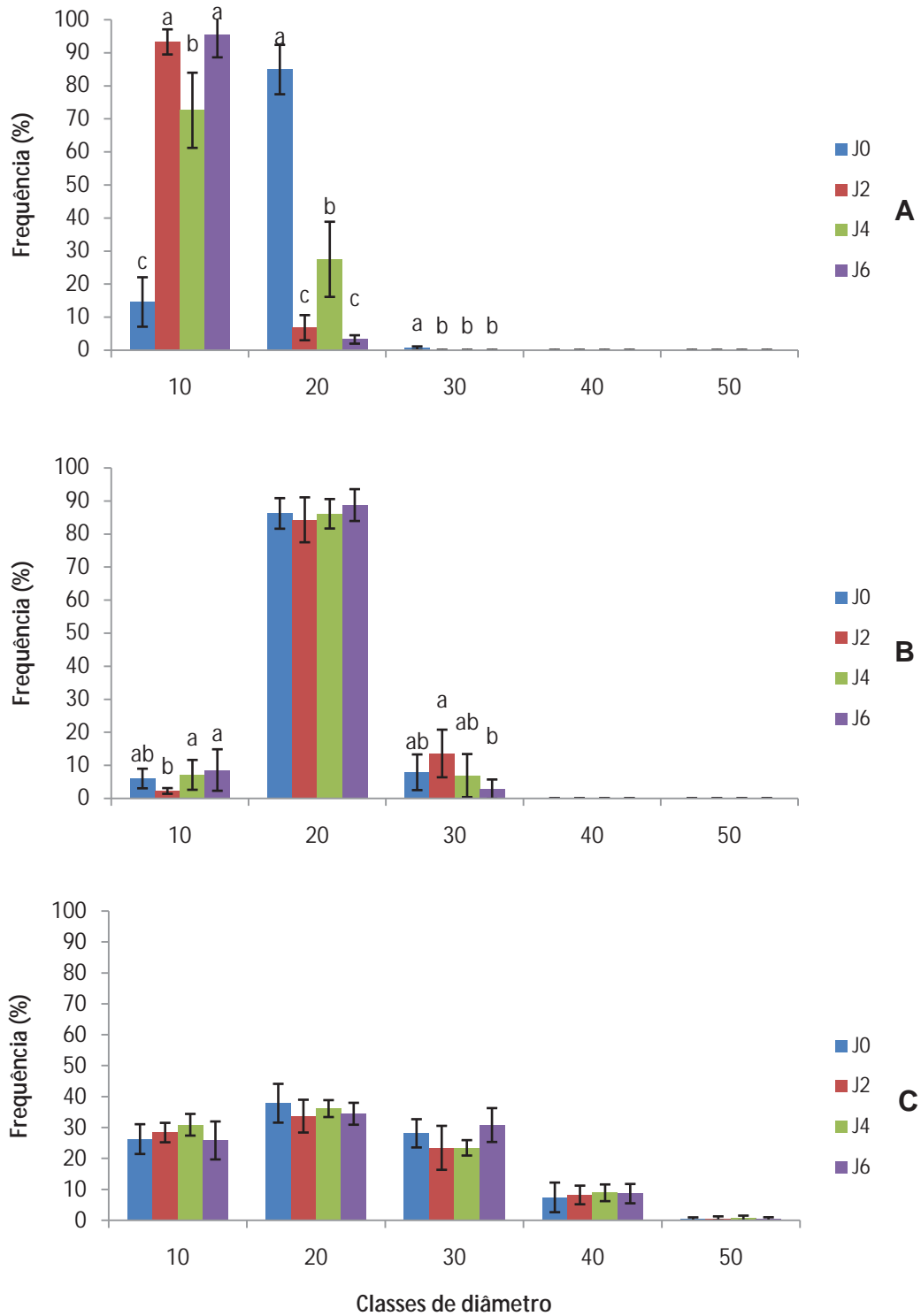
A morfologia e a morfometria das fibras musculares das larvas de pacu foram analisados aos 0 (início), 4 e 10 dias de alimentação da fase inicial, e nos juvenis das classes PP, M e GG de cada tratamento ao final da criação em viveiros.

#### 3.3.1- Fase 1

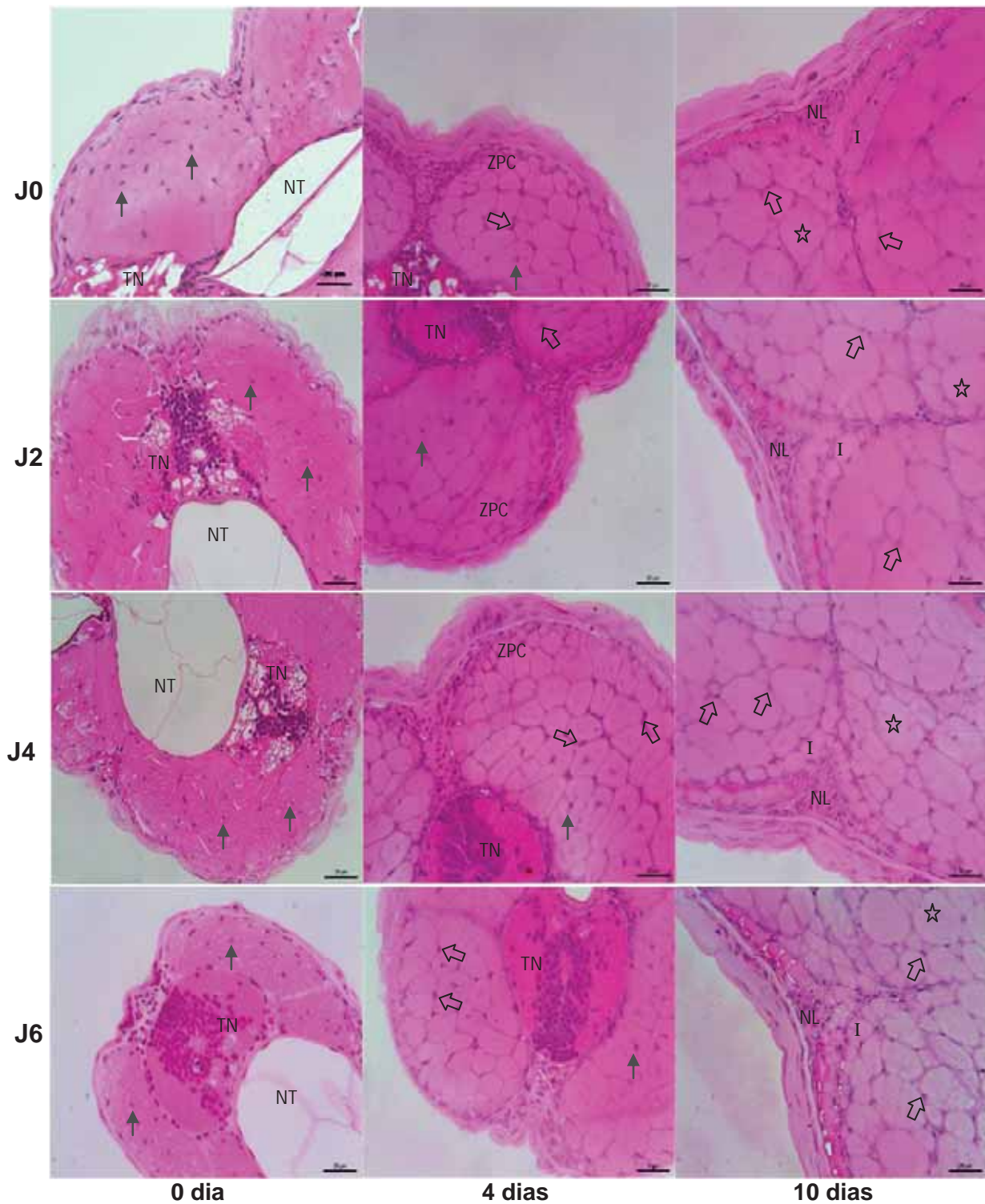
No início do experimento, larvas de pacu com cinco dias pós- eclosão e que não passaram por jejum (J0) apresentaram  $14,55 \pm 7,49$  % das fibras na *classe10* e  $84,87 \pm 7,47$  % na *classe20* (Figura 12 A). Estas larvas apresentavam fibras arredondadas e angulares com núcleos centrais (Figura 13). Nas larvas que tiveram atraso de dois, quatro e seis dias para receber alimento, notou-se que a frequência de fibras menores que  $10\mu\text{m}$  era superior (entre 72 e 95%) do que as do tratamento J0 (Figura 12 A).

Aos quatro dias de alimentação, as fibras musculares das larvas de todos os tratamentos apresentaram núcleo central e maior frequência (acima de 80%) de fibras na *classe 20* (Figura 12 B). Notou-se formação da zona de proliferação celular nesta fase, na porção apical da musculatura dorsal das larvas, caracterizada pela presença de fibras de menor diâmetro, exceto nos peixes do tratamento J6 (Figura 13).

No final do período de criação em laboratório, quando os animais foram transferidos para os viveiros (dez dias de alimentação), foi possível observar aumento do diâmetro das fibras, por meio do aumento da frequência das *classes 30, 40 e 50* nos peixes de todos os tratamentos. Nesta fase, as frequências de fibras de cada classe de diâmetro não diferiram estatisticamente entre os tratamentos ( $P>0,05$ ). Do quarto dia ao décimo dia de alimentação, a frequência de fibras da *classe 10* aumentou em todos os animais dos diferentes tratamentos (Figura 11 C). No compartimento profundo foi observado o processo de hiperplasia em mosaico caracterizado pela maior frequência de fibras maiores rodeadas por fibras menores. Na região da linha lateral observou-se o crescimento característico de hiperplasia estratificada (Figura 13). Foi possível verificar também a ocorrência de maior quantidade de fibras com núcleos periféricos.



**Figura 12.** Médias e desvio padrão da distribuição de frequência do diâmetro das fibras musculares nas diferentes classes de tamanho, nos peixes aos 0 (A), 4 (B) e 10 (C) dias após o jejum. Médias apresentando mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).



**Figura 13.** Fotomicrografias da musculatura esquelética de larvas de pacu dos tratamentos J0, J2, J4 e J6, aos zero, quarto e décimo dia de alimentação, em corte transversal. 400X. Hematoxilina/Floxina (H/FloB). (↑)Fibras musculares com núcleo central, (TN) tecido nervoso, (NT) notocorda, (ZPC) zona de proliferação celular, (I) compartimento intermediário, (NL) nervo da linha lateral, (⇧) fibras musculares com núcleo periférico e (☆) fibras maiores rodeadas por fibras menores.

### 3.3.2 - Fase 2

Os animais de tamanho PP apresentaram maior frequência de fibras (~ 70 %) abaixo de 30 µm de diâmetro, sendo que cerca de 30 % das mesmas eram fibras da *classe20*. A frequência de fibras da *classe10* foi superior nos tratamentos J0 e J4 e não diferiram entre si ( $P < 0,05$ ). A distribuição de fibras da *classe20* do tratamento J4 ( $43,9 \pm 7,5$  %) foi estatisticamente superior aos tratamentos J0 ( $34,9 \pm 3$  %) e J2 ( $33,9 \pm 3,6$  %) (Figura 14 A).

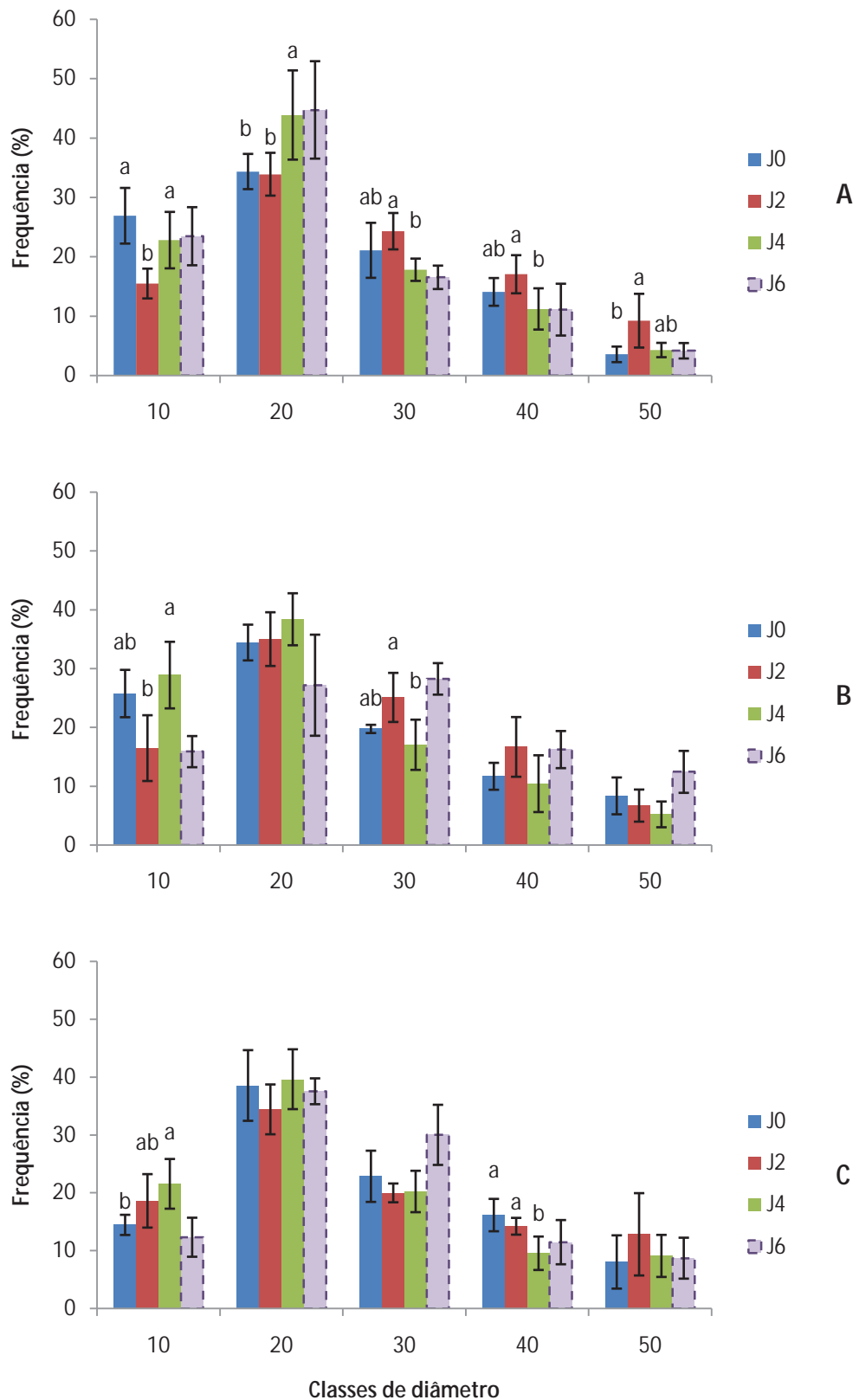
Nos peixes de tamanho médio (M), cerca de 80 % das fibras se encontravam nas *classes* até 30 µm de diâmetro. A frequência de fibras das *classes 20, 40 e 50* não diferiu entre os animais dos diferentes tratamentos. As frequências de fibras das *classes 10 e 30* nos animais dos tratamentos J2 e J4 foram semelhantes à frequência de fibras dos animais do tratamento J0, mas diferiram estatisticamente entre si (Figura 14 B).

Nos maiores peixes analisados (GG), a distribuição das fibras em classes de diâmetro seguiu a mesma tendência que nos peixes das classes M e PP, com predomínio de fibras da *classe20* nos animais de todos os tratamentos. As frequências das fibras das *classes20, 30 e 50* não diferiram estatisticamente entre os tratamentos. Na classe 10 a frequência de fibras nos animais do tratamento J2 foi semelhante entre os animais dos tratamentos J0 e J4, na *classe 40* as frequências de fibras dos animais dos tratamentos J0 e J2 não diferiram entre si, e foram superiores a frequência de fibras dos animais do tratamento J4. (Figura 14 C).

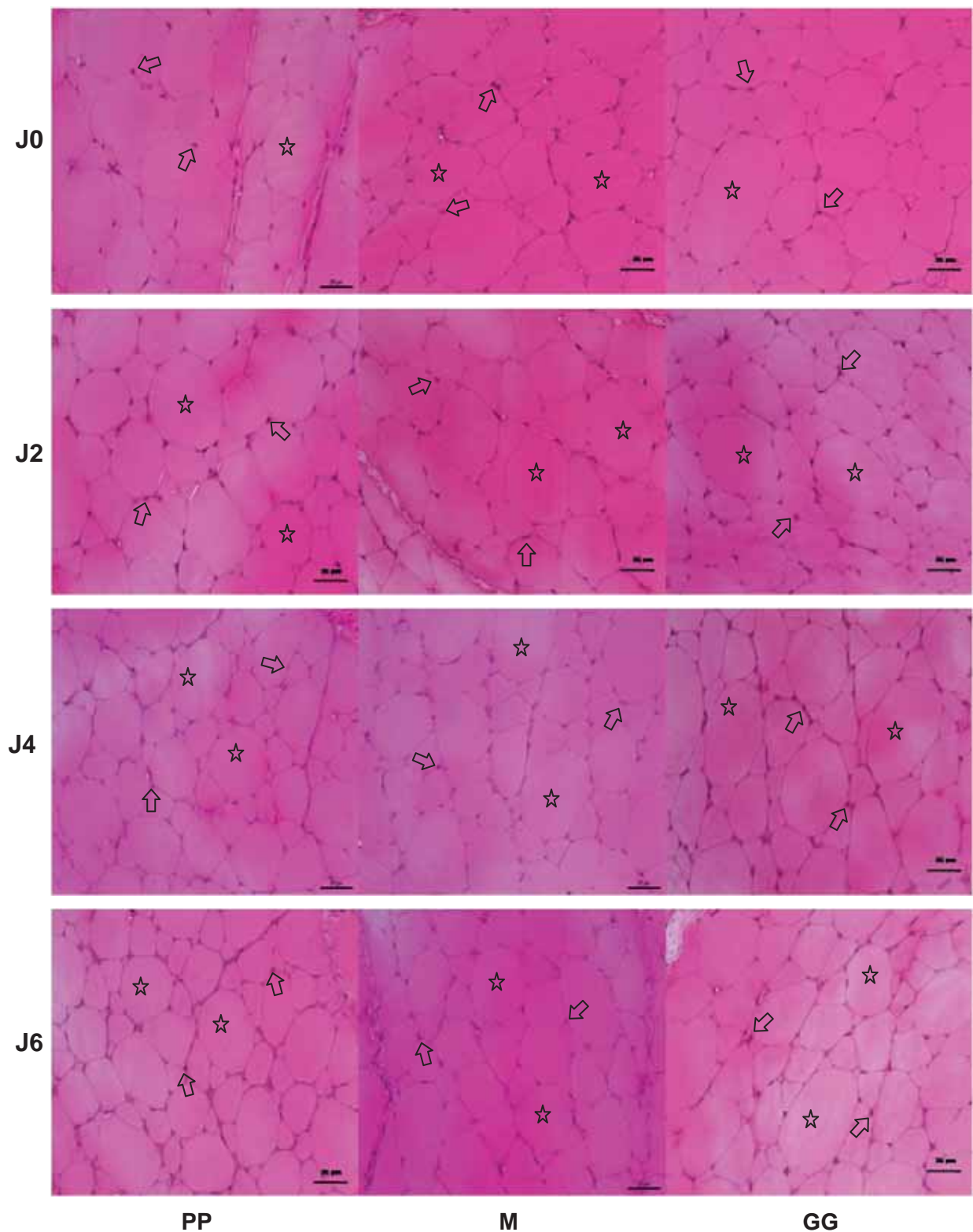
Os peixes de tamanho PP do tratamento J6 apresentaram frequência superior a 80 % de fibras de diâmetro menor que 30 µm, tendência semelhante ao observado nos peixes do tratamento J4 (Figura 14 A). Nos peixes de tamanho médio (M), a frequência de fibras das *classes 10, 30 e 40* foi semelhante a frequência dos animais do tratamento J2 (Figura 14 B). Na maior classe de tamanho (GG) a frequência de fibras da classe 10 foi inferior aos demais tratamentos, no entanto a frequência de fibras da classe 30 foi superior aos demais tratamentos (Figura 14 C).

Mesmo com diferentes resultados de homogeneidade dos peixes entre os tratamentos (Figura 10), foi observado que o desenvolvimento muscular através da hiperplasia em mosaico foi expressivo em todas as classes de tamanho dos

peixes nos diferentes tratamentos. As fibras apresentaram formas arredondadas e angulares com núcleos periféricos (Figura 15).



**Figura 14.** Médias e desvio padrão de distribuição das classes de diâmetro dos animais classificados no tamanho PP (A), M (B) e GG (C). As médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).



**Figura 15.** Fotomicrografias da musculatura esquelética de juvenis de pacu das classes PP, M e GG dos tratamentos J0, J2, J4 e J6, após 30 dias de criação em viveiros. Corte transversal. 400X. (H/FloB). (↑) Fibras musculares com núcleo periférico e (☆) fibras maiores rodeadas por fibras menores.



#### 4. Discussão

Os resultados deste experimento demonstraram que o ponto-de-não-retorno para larvas de pacu, ou seja, o momento em que os efeitos da restrição alimentar se tornam irreversíveis e 50% das larvas em jejum ainda estão vivas, foi de 5,4 dias de jejum (10,4 dias pós-eclosão) à temperatura média de 29,8°C. Após 5,02 dias de jejum (10,02 dias pós-eclosão) a taxa de alimentação diminuiu em 50% em relação à maior taxa dos animais que não foram submetidos ao jejum. Esses resultados indicam que o momento crítico em que o jejum afeta o comportamento alimentar e, conseqüentemente, a sobrevivência das larvas de pacu é de aproximadamente cinco dias. Os animais submetidos ao jejum além do PNR (jejum de seis dias) demonstraram significativa redução nas taxas de sobrevivência e alimentação. Em estudos com espécies de água doce, o PNR variou entre 3,5 dias a 21,5°C e 21 dias a 28°C para larvas de *Odontesthes bonariensis* (STRUSSMANN & TAKASHIMA, 1989) e *Oreochromis mossambicus* (RANA, 1985).

A mortalidade total das larvas de pacu neste experimento foi observada ao final do período de oito dias em jejum (13 dias de vida pós-eclosão). Este resultado foi inferior aos encontrados em estudos com a mesma espécie, entre o 16° (TESSER et al., 2005), 18° (LEITÃO et al., 2011) e 19° dia pós-eclosão (MENOSSI et al., 2012). A resistência das larvas ao jejum pode variar de acordo com o estágio de desenvolvimento e espécie (SHAN et al., 2008), qualidade dos ovos (RANA, 1985, ZHAO et al., 2001) e temperatura (SHAN et al., 2008).

A falta de nutrientes durante o jejum causa alterações fisiológicas e metabólicas, como ativação de vias para obtenção de energia a partir das reservas corporais armazenadas (SALWAY, 2004), afetando a taxa de crescimento dos peixes (JOHANSEN & OVERTURF, 2006) e o tecido muscular (HORNICK et al., 2000), devido a degradação de proteínas musculares para fins energéticos (MOMMSEN E MOON, 2001).

Já foi relatado que larvas de pacu submetidas ao jejum demonstram redução tanto no peso quanto no comprimento (LEITÃO et al., 2011; MENOSSI et al., 2012). Neste estudo, após os períodos de restrição, o peso médio (mg) e o

comprimento total médio (mm) das larvas foram menores quanto maior o período de jejum, chegando a redução de 50,85% com relação ao peso médio inicial.

O jejum nas fases iniciais de desenvolvimento dos peixes pode causar alterações morfológicas do trato digestório (GISBERT et al., 2004; MENOSSI et al., 2012), desempenho e crescimento muscular (LEITÃO et al., 2011). Em larvas de pacu submetidas às condições nutricionais subótimas foram observadas maiores frequências de fibras de diâmetros menores em relação às larvas criadas em condições nutricionalmente adequadas (LEITÃO et al., 2011). As análises morfológica e morfométrica das fibras musculares dos peixes nesse experimento demonstraram redução do diâmetro das fibras dos animais após os períodos de jejum no momento em que ocorre redução do peso das mesmas. Essa diminuição do diâmetro das fibras é observada pela maior frequência de fibras da classe 10.

Após o restabelecimento da alimentação, a síntese de proteínas aumenta e o crescimento muscular é retomado (HORNICK et al., 2000). Em alevinos de *Oncorhynchus mykiss*, submetidos a diferentes períodos de jejum e realimentação, foi observado que após sete dias de jejum a expressão de genes responsáveis pela proliferação de células musculares é reduzida, mas após a alimentação os níveis de expressão se tornam semelhantes aos animais que não sofreram jejum, demonstrando que a recuperação do crescimento está relacionado ao estado nutricional dos animais (GAHR et al., 2006). Neste trabalho, houve recuperação do peso dos animais submetidos ao jejum ao longo do período de alimentação, caracterizando o crescimento compensatório.

As taxas de crescimento específico, logo após o restabelecimento da alimentação, demonstraram que os maiores valores encontrados foram nos animais dos tratamentos submetidos ao jejum. Porém, ao final do período de alimentação, já não foram verificadas diferenças nas TCEs dos animais submetidos aos diferentes períodos de jejum. A compensação total em peso, quando os animais submetidos ao jejum alcançam o mesmo peso dos animais que não passaram por jejum, foi observada nos animais dos tratamentos J2, J4 e J6 ao segundo, oitavo e décimo dia de alimentação, respectivamente. Esta compensação em peso dos animais está relacionada à maior TCE observada nos períodos de alimentação citados anteriormente. Além das respostas de compensação total, ao oitavo e décimo dia de alimentação, respectivamente, foi observado resposta de sobre compensação em peso nos animais dos

tratamentos J2 e J4, quando esses ultrapassam o peso dos animais que não foram submetidos ao jejum. Em larvas de *Gadus morhua* submetidos ao jejum de cinco dias e 16 dias de alimentação, foi observado que larvas provenientes de ovos maiores demonstraram crescimento compensatório total em relação aos animais alimentados por todo o período experimental, enquanto que larvas de ovos menores demonstraram apenas crescimento compensatório parcial (ZHAO et al., 2001).

A elevada taxa de crescimento durante o ganho compensatório pode ocorrer devido ao aumento no consumo de alimento por meio da hiperfagia (HAYWARD et al., 2000), utilização mais eficiente dos nutrientes oferecidos após a restrição (DOBSON & HOLMES, 1984), e resposta hormonal durante e após o período de restrição alimentar (GAYLORD et al., 2001). A hiperfagia foi mais evidente somente nas larvas de pacu do tratamento J6 aos 20 dias de alimentação.

A habilidade de captura do alimento diminui com o prolongamento do jejum (SHAN et al., 2009). Neste estudo, a taxa de alimentação, ou seja, o percentual de larvas que ingeriram alimento no primeiro dia de alimentação foi influenciado pelos dias de privação alimentar a que as larvas foram submetidas. Ao segundo dia de alimentação as taxas de alimentação dos animais dos tratamentos J4 e J6 não apresentaram diferenças estatísticas, sugerindo que o período necessário de aprendizagem para a captura do alimento fornecido é de dois dias. As altas taxas de mortalidade de larvas de *Oplegnathus fasciatus* submetidas a atraso da primeira alimentação, foram atribuídas à nutrição e ao tempo de aprendizado insuficiente para captura de alimento anteriormente ao ponto-de-não-retorno (SHAN et al., 2008).

Após o período embrionário, o crescimento muscular ocorre por processos de hipertrofia, caracterizado pelo aumento do diâmetro das fibras musculares, e pela hiperplasia, caracterizado pelo aumento no número de fibras (ROWLERSON & VEGGETTI, 2001; DAL PAI-SILVA et al., 2007). O crescimento por hiperplasia pode ocorrer de forma estratificada e em mosaico (JOHNSTON, 1999). O crescimento muscular nas fases iniciais das larvas de diversas espécies de peixes ocorre principalmente por hiperplasia (DAL PAI et al., 2000; AGUIAR et al., 2005; ALMEIDA et al., 2008; OSTASZEWSKA et al., 2008; LEITÃO et al., 2011). Consistentemente, a hiperplasia foi observada ao quarto dia de

alimentação em todos os animais dos diferentes tratamentos, caracterizado pela frequência superior a 80% de fibras da classe 20, além da presença mais evidente de zonas de proliferação celular, localizadas no ápice e na região do septo transversal da linha lateral.

Aos 10 dias de alimentação foi observado crescimento muscular por meio da hiperplasia em mosaico com fibras de menor diâmetro entre fibras de maior diâmetro, como descrito por Johnston (1999). Além da hiperplasia em mosaico no compartimento profundo, a hiperplasia estratificada foi observada na região da linha lateral. Neste período de avaliação, houve também um aumento do diâmetro das fibras dos animais de todos os tratamentos evidenciado pela presença de fibras das classes 30, 40 e 50, além da formação de novas fibras evidenciada pelo aumento na frequência de fibras da *classe 10*.

O resultado de sobrevivência após a fase de recuperação e crescimento em viveiros dos animais que passaram por jejum de dois dias foi alto, acima de 50 %, semelhante ao das larvas que não tiveram restrição e superior aos que passaram por quatro dias de jejum. Em outros experimentos, em que se avaliou o desempenho produtivo de larvas de pacu criadas diretamente em viveiros ou em larvicultura intensiva, o melhor resultado de sobrevivência após 45 dias em viveiros foi de 54 % (JOMORI et al., 2003). Essas variações na taxa de sobrevivência possivelmente foram influenciadas pela presença de insetos predadores e macrófitas aquáticas encontradas nos viveiros. A presença de macrófitas proporciona abrigos para larvas de peixes, dificultando a visualização do predador (LACERDA et al., 2010). Especificamente, em um viveiro dos tratamentos J0 e J4 foi observada grande incidência de ninfas de Odonata, e maior presença de macrófitas em dois viveiros do tratamento J2 e um viveiro do tratamento J6. Jomori et al. (2003) também relataram a presença de ninfas de libélulas em viveiros de criação de pacu, e conseqüente prejuízo na taxa de sobrevivência. Em condições laboratoriais a presença de macrófita aquática resultou em menor predação de larvas de pacu por larvas do inseto *Plantala flavescens*, aumentando as taxas de sobrevivência (45% sem macrófita e 62% com macrófita) (LACERDA et al., 2010).

A homogeneidade dos animais foi influenciada pelo tempo que passaram por jejum. Os peixes dos tratamentos J0 e J2 apresentaram uma distribuição normal para as diferentes classes de tamanho; acima de 58% dos animais foram

classificados em M. Por outro lado, a distribuição dos peixes que passaram por jejum mais prolongado foi diferente, 63% dos animais do tratamento J4 foram classificados no tamanho PP.

Baixas densidades de estocagem apresentam menor produção por área, no entanto, proporcionam maior taxa de crescimento e sobrevivência (GOMES et al., 2000). A maior produção por área pode ser obtida por meio da alta densidade de estocagem, porém, os peixes apresentam menor crescimento (EL- SAYED, 2002) e tamanho heterogêneo dos peixes do mesmo lote (CAVERO et al., 2003). Mesmo que fora da análise estatística, os valores numéricos da distribuição dos juvenis de pacu submetidos ao jejum de seis dias indicaram maior participação de peixes das maiores classes (M, G e GG) em relação aos juvenis dos demais tratamentos. A menor densidade de estocagem dos peixes (51 peixes/m<sup>2</sup>) deste tratamento proporcionou crescimento superior dos juvenis de pacu sugerido pelos maiores valores numéricos de GP, TCE e K. Em outro experimento, o efeito da densidade sobre o crescimento também foi sugerido. Juvenis criados diretamente em viveiros apresentaram menor taxa de sobrevivência e peixes maiores, comparados aos juvenis que foram submetidos a períodos de criação intensiva em laboratório e apresentaram maiores taxas de sobrevivência e peixes menores (JOMORI et al., 2003). A resposta de crescimento que os peixes do tratamento J6 apresentaram sugere que as condições ambientais proporcionadas pela menor densidade, como maior espaço e disponibilidade de alimento, contribuíram positivamente para a recuperação do crescimento dos peixes, mesmo após o jejum de seis dias. Situação diferente dos juvenis submetidos ao jejum de quatro dias que se encontravam em uma condição nutricional inferior, evidenciada pelos menores valores de GP, TCE e K, e estocados em maior densidade (100 peixes/m<sup>2</sup>, semelhante aos tratamentos J0 e J2), que demonstraram menor crescimento em relação aos peixes que tiveram atraso de dois dias ou não passaram pela restrição alimentar.

Os resultados da análise de biomassa ao final do período de criação em viveiros demonstraram a mesma tendência que os resultados das taxas de sobrevivência, com destaque aos animais submetidos ao jejum de dois dias. Os valores de ganho em peso, taxa de crescimento específico e fator de condição dos animais submetidos ao jejum de seis dias, excluídos da estatística, foram superiores aos animais dos demais tratamentos, demonstrando uma melhor

condição nutricional que resultou em uma biomassa semelhante à biomassa dos animais do tratamento J4.

Assim, esses resultados sugerem que um jejum mais prolongado, de até seis dias pós-início da alimentação exógena, pode não comprometer a capacidade de recuperação do crescimento dos juvenis de pacu, desde que encontrem condições adequadas nas fases subsequentes de recuperação. No entanto, essa hipótese requer ainda investigação científica apropriada.

Mesmo com as diferenças de homogeneidade dos peixes nos diferentes tratamentos (i.e., maior presença de animais PP no tratamento J4), a análise morfológica e morfométrica das fibras musculares dos juvenis de pacu demonstrou que a frequência de fibras menores que 30  $\mu\text{m}$  foi superior a 65% em todos os animais, bem como ocorrência de fibras maiores, das *classes 40 e 50*, nos peixes dos diferentes tamanhos. A frequência de fibras menores entre as fibras maiores é característica do processo de crescimento muscular por hiperplasia em mosaico (JOHNSTON, 1999; ALMEIDA et al., 2008), e ao final do período de criação em viveiros deste estudo, esse tipo de crescimento não foi influenciado pelos dias de jejum em que os animais foram submetidos.

Em juvenis de pacu submetidos a ciclos de restrição alimentar por três dias foram observados menores TCE e ganho em peso, comparados aos animais alimentados constantemente por todo o período experimental (TAKAHASHI et al., 2010). Neste estudo, o ganho em peso, TCE e fator de condição dos juvenis de pacu submetidos a dois dias de jejum durante a fase inicial também não foram influenciados, demonstrando recuperação do estado nutricional desses animais.

A criação de larvas para a produção de juvenis compreende um período de 30 a 40 dias (SENHORINI et al., 1991). Neste estudo, os animais permaneceram em viveiros por 30 dias, e os resultados de desempenho e crescimento muscular entre os juvenis dos tratamentos J0 e J2 durante este período foram semelhantes. Neste trabalho, a diferença na homogeneidade dos animais do tratamento J4 possivelmente foi ocasionada pelo jejum de quatro dias ao início do desenvolvimento que proporcionou a condição nutricional inferior em relação aos animais dos demais tratamentos. Os dados dos animais submetidos ao jejum de seis dias, apesar de não participarem das análises estatísticas, indicam capacidade de compensação sob condições ambientais favoráveis para o crescimento, como maior espaço e disponibilidade de alimento.

Os resultados obtidos no presente estudo têm aplicação prática e podem contribuir para orientar as ações de manejo dos produtores de larvas na eventualidade de ocorrência de condições adversas, assegurando que curtos períodos de privação alimentar não causam graves danos que comprometam a produção futura e o desempenho de crescimento dos peixes.

## **5. Conclusões**

- O ponto-de-não-retorno para larvas de pacu é de 5,4 dias de jejum após o início da alimentação exógena (10,4 dias pós-eclosão);
- Avaliações do desenvolvimento muscular realizadas logo após jejum prolongado nas fases iniciais de desenvolvimento (mais de 6 dias) revelam os efeitos da privação alimentar sobre o crescimento muscular, pela perda de massa evidenciada pela redução de peso e fibras angulares e de menor diâmetro;
- Porém, larvas de pacu mantidas em jejum por até seis dias demonstram crescimento compensatório posterior;
- Em criação intensiva (em laboratório), dez dias de alimentação são suficientes para promover a recuperação do peso e crescimento muscular das larvas de pacu submetidas ao jejum por seis dias;
- Mantidas as mesmas condições que animais que não passaram pelo jejum ou que tiveram atraso de apenas dois dias para início da alimentação, juvenis de pacu submetidos ao jejum de quatro dias apresentam pior condição nutricional e são mais desuniformes em tamanho, após criação por 30 dias em viveiros;
- O crescimento hiperplásico das fibras musculares dos juvenis submetidos a seis dias de jejum assemelhou-se aos demais tratamentos após 30 dias de alimentação nos viveiros de criação. Este resultado pode ter ocorrido em virtude da menor densidade de estocagem dos juvenis deste tratamento;

- Privação ou atraso alimentar de até dois dias pode ser utilizado como uma forma de manejo durante a larvicultura do pacu, pois não prejudica o desempenho de crescimento das mesmas nas fases posteriores de criação em viveiros.



## 6. Referências Bibliográficas

AGUIAR, D.H.; BARROS, M. M.; PADOVANI, C. R.; PEZATTO, L. E.; DAL PAI-SILVA, M. Growth characteristics of skeletal muscle tissue in *Oreochromis niloticus* larvae fed on a lysine supplemented diet. **Journal of Fish Biology**, v. 67, p. 1-12, 2005.

ALI, M.; NICIEZA, A.; WOOTTON, R. J. Compensatory growth in fishes: A response to growth depression. **Fish and Fisheries**, v.4, p.147-190, 2003.

ALMEIDA, F. L. A.; CARVALHO, R. F.; PINHAL, D.; PADOVANI, C. R.; MARTINS, C.; DAL PAI-SILVA, M. Differential expression of myogenic regulatory factor MyoD in pacu skeletal muscle (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887: Serrasalminae, Characidae, Teleostei) during juvenile and adult growth phases. **Micron**, v. 39, p. 1306-1311, 2008.

BLAXTER, J. H. S.; HEMPEL, G. The influence of egg size on herring larvae (*Clupea harengus* L). **Journal du Conseil International pour l' Exploration de la Medeterranee**, v.28, p. 211-244, 1963.

CAVERO, B. A. S.; PEREIRA-FILHO, M.; ROUBACH, R.; ITUASSÚ, D. R.; GANDRA, A. L.; CRESCÊNCIO, R. Efeito da densidade de estocagem na homogeneidade do crescimento de juvenis de pirarucu em ambiente confinado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, p.103-107, 2003.

CONCEIÇÃO, L. E. C.; ARAGÃO, C.; RICHARD, N.; ENGROLA, S.; GAVAIA, P.; MIRA, S.; DIAS, J. Avanços recentes em nutrição de larvas de peixes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 26-35, 2009.

DAL PAI, V.; DAL PAI-SILVA, M.; CARVALHO, E. D.; FUJIHARA, C. Y.; GREGÓRIO, E.A.; CURI, P.R. Morphological, Histochemical and Morphometric Study of the Myotomal Muscle Tissue of pacu (*Piaractus mesopotamicus* , Holmberg, 1887): Serrasalminae, Characidae, Teleostei . **Anatomy Histology Embriology**, v. 29, n. 5, p. 283-889, 2000.

DAL PAI-SILVA, M.; CARVALHO, R. F. Mecanismos celulares e moleculares que controlam o desenvolvimento e o crescimento muscular. **Revista Brasileira de Zootecnia** v.36, *suplemento especial*, p.21-31, 2007.

DOBSON, S. H.; HOLMES, R. M. Compensatory growth in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. **Journal of Fish Biology**, v.25 p. 649–656, 1984.

DOU, S.; MASUDA, R.; TANAKA, M.; TSUKAMOTO, K. Feeding resumption, morphological changes and mortality during starvation in Japanese flounder larvae. **Journal of Fish Biology**, v.60, p.1363–1380, 2002.

DOU, S.; MASUDA, R.; TANAKA, M.; TSUKAMOTO, K. Effects of temperature and delayed first feeding on survival and growth of Japanese flounder larvae. **Journal of Fish Biology**, v.66, p.362–377, 2005.

EL-SAYED, A. Effects of stocking density and feeding levels on growth and feed efficiency of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fry. **Aquaculture Research**, v.33, p.621-626, 2002.

GAHR, S. A.; WEBER, G. M.; REXROAD III, C. E. Fasting and refeeding affect the expression of the Inhibitor of DNA Binding (ID) genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part B, v.144, p.472–477, 2006.

GAYLORD, T. G; GATLIN, D. M. III. Dietary protein and energy modifications to maximize compensatory growth of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, v.194, p.337–348, 2001.

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

GISBERT, E.; CONKLIN, D. B; PIEDRAHITA, R. H. Effects of delayed first feeding on the nutritional condition and mortality of California halibut larvae. **Journal of Fish Biology**, v.64, p.116-132, 2004.

GOMES, L. C.; BALDISSEROTTO, B.; SENHORINI, J. A. Effect of stocking density on water quality, survival, and growth of larvae of matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae), in ponds. **Aquaculture**, v.183, p.73-81, 2000.

HAYWARD, R. S.; WANG, N.; NOLTIE, D. B. Group holding impedes compensatory growth of hybrid sunfish. **Aquaculture**, v.183, p. 299-305, 2000.

HORNICK, J. L.; VAN EENAEME, C.; GÉRARD, O.; DUFRASNE, I.; ISTASSE, L. Mechanisms of reduced and compensatory growth. **Domestic Animal Endocrinology**, v.19, p.121-132, 2000.

JOHANSEN, K. A.; OVERTURF, K. Quantitative expression analysis of genes affecting muscle growth during development of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Marine Biotechnology**, v. 7, p. 576–587, 2005.

JOHNSTON, I. A. Muscle development and growth: potential implications for flesh quality in fish. **Aquaculture**, v. 177, p. 99-115, 1999.

JOHNSTON, I. A. Environment and plasticity of myogenesis in teleost fish. **The Journal of Experimental Biology**, v. 209, p. 2249-2264, 2006.

JOHNSTON, I. A.; ALDERSON, R.; SANDHAM, C.; DINGWALL, A.; MITCHELL, D.; SELKIRK, C. Muscle fibre density in relation to colour and texture of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). **Aquaculture**; 189: 335-49, 2000.

JOMORI, R. K.; CARNEIRO, D. J.; MALHEIROS, E. B.; PORTELLA, M. C. Growth and survival of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) juveniles reared in ponds or at different initial larviculture periods indoors. **Aquaculture**, v.221, p. 277-287, 2003.

JOMORI, R. K.; CARNEIRO, D. J.; MARTINS, M. I. E. G.; PORTELLA, M. C. Economic evaluation of *Piaractus mesopotamicus* juvenile production in different rearing systems. **Aquaculture**, v. 243, p. 175-183, 2005.

LACERDA, C. H. F.; HAYASHI, C.; SOARES, C. M.; FERNANDES, C. E. B. Influence of aquatic plants on the predation of *Piaractus mesopotamicus* larvae by *Pantala flavescens*. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 32, n. 2, p. 147-151, 2010.

LEITÃO, N. J.; DAL PAI-SILVA, M.; ALVES, F. L. de A.; PORTELLA, M. C. The influence of initial feeding on muscle development and growth in pacu *Piaractus mesopotamicus* larvae. **Aquaculture**, v. 315, p. 78-85, 2011.

MCGURK, M. D. Effects of delayed feeding and temperature on the age of irreversible starvation and on the rates of growth and mortality of Pacific herring larvae. **Marine Biology**, v. 84, p.13-26, 1984.

MENOSSE, O. C.; TAKATA, R.; SANCHES-AMAYA, M. I.; FREITAS, T. M.; YÚFERA, M.; PORTELLA, M. C. Crescimento e estruturas do sistema digestório de larvas de pacu alimentadas com dieta microencapsulada produzida experimentalmente. **Revista Brasileira de Zootecnia**. No prelo 2012.

METÓN, I.; FERNÁNDEZ, F.; BAANANTE, I. V. Shot- and long-term effects of refeeding on key enzyme activities in glycolysis-gluconeogenesis in the liver of gilthead seabream (*Sparus auratus*). **Aquaculture**, v.225, p.99-107, 2003.

MOMMSEN, T.; MOON, T. W. Hormonal regulation of muscle growth. In: JOHNSTON, I. A. (Ed). **Muscle development and growth**, Academic Press, 318 p., 2001.

OSTASZEWSKA, T.; DABROWSKI, K.; WEGNER, A.; KRAWIEC, M. The effects of feeding on muscle growth dynamics and the proliferation of myogenic progenitor cells during pike perch development (*Sander lucioperca*). **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 39, n. 2, p. 184-195, 2008

PEDREIRA, M. M.; dos SANTOS, J. C. E.; SAMPAIO, E. V.; FERREIRA, F. N.; SILVA, J. L. Efeito do tamanho da presa e do acréscimo de ração na larvicultura de pacamã. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 1144-1150, 2008.

RANA, K. J. Influence of egg size on the growth, onset of feeding, point-of-no-return, and survival of unfed *Oreochromis mossambicus* fry. **Aquaculture**, v. 46, p.119–131, 1985.

RICKER, W.E. Growth rates and models. In: W.S. Hoar, D.J. Randall and J.R. Brett (Ed.) **Fish Physiology**. Academic Press, V.8, p. 677-743, 1979.

ROWLERSON, A.; VEGGETTI, A. Cellular mechanisms of post-embryonic muscle growth in aquaculture species. In: **Muscle Development and Growth**, JOHNSTON, I. A. (Ed). Academic Press, 318 p., 2001.

SALWAY, J. G. **Metabolism at a Glance**, 3rd ed. Blackwell Publishing Ltd., Malden, MA. 2004.

SENHORINI, J. A.; FONTES, N. A.; LUCAS, A. F. B.; SANTOS JR. S. Larvicultura do pacu *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887, (Pisces Characidae) em viveiros com e sem organofosforado (Folidol 60%). Boletim Técnico do CEPTA, v.4, n. 2, p.11–22, 1991.

SHAN, X. J; QUAN, H. F, DOU, S. Z. Effects of delayed first feeding on growth and survival of rock bream *Oplegnathus fasciatus* larvae. **Aquaculture**, v. 277, p.14–23, 2008.

SHAN, X. J; CAO, L.; HUANG, W.; DOU, S. Z. Feeding, morphological changes and allometric growth during starvation in miuiy croaker larvae. **Environmental Biology of Fishes**, v.86, p.121–130, 2009.

STRUSSMANN, C. A. & TAKASHIMA, F. PNR, histology and morphometry of starved pejerrey *Odontesthes bonariensis* larvae. Nippon Suissan Gakkaishi, v. 55, n. 2, p. 237-246. 1989.

TAKAHASHI, L. S; BILLER, J. D; CRISCUOLO-URBINATI, E.; URBINATI, E. C. Feeding strategy with alternate fasting and refeeding: effects on farmed pacu production. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 59, p.259-266, 2010.

TESSER, M. B.; CARNEIRO, D. J.; PORTELLA, M. C. Co-feeding of pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg (1887), larvae with *Artemia* nauplii and a microencapsulated diet. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 17, n. 2, 2005.

WEATHERLEY, A. H.; GILL, H. S. **The biology of fish growth**. Academic Press, London, 1987.

XIE, S.; ZHU, X.; CUI, Y.; WOOTTON, R. J.; LEI, W.; YANG, Y. Compensatory growth in the gibel carp following feed deprivation: temporal patterns in growth, nutrient deposition, feed intake and body composition. *Journal of Fish Biology*, v. 58, p. 999–1009, 2001.

XIONG, M.; QIAO, Y.; ROSENTHAL, H.; QUE, Y.; CHANG, J. Early ontogeny of *Ancherythroculter nigrocauda* and effects of delayed first feeding on larvae. **Journal of Applied Ichthyology**, v.22, p. 502–509, 2006.

ZHANG, L. ; WANG, Y. J.; HU, M. H.; FAN, Q. X.; CHEUNG, S. G.; SHIN, P. K. S. ; LI, H. ; CAO, L. Effects of the timing of initial feeding on growth and survival of spotted mandarin fish *Siniperca scherzeri* larvae. **Journal of Fish Biology**, v. 75, p.1158–1172, 2009.

ZHAO, Y.; CHEN, Y.; ROWN, J. A. Impacts of egg and larval size on survival and growth of Atlantic cod under different feeding conditions. **Journal of Fish Biology**, v.59, p.569–581, 2001.