

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO - UENF

MARCELLA COSTA RADAEL

EFEITOS DA TEMPERATURA NA ONTOGENIA INICIAL DE
MELANOTÊNIA NEON (*Melanotaenia praecox*)

CAMPOS DOS GOYTACAZES
2010

MARCELLA COSTA RADAEL

**EFEITOS DA TEMPERATURA NA ONTOGENIA INICIAL DE
MELANOTÊNIA NEON (*Melanotaenia praecox*)**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para obtenção de grau de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: PROF. DALCIO RICARDO DE ANDRADE

**CAMPOS DOS GOYTACAZES
2010**

MARCELLA COSTA RADAEL

EFEITOS DA TEMPERATURA NA ONTOGENIA INICIAL DE MELANOTENIA NEON
(*Melanotaenia praecox*)

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Aprovada em 19 de fevereiro de 2010.

Comissão Examinadora:

Prof. Ângelo José Burla Dias (D. Sc., Biociências e Biotecnologia) - UENF

Prof. Eduardo Shimoda (D. Sc., Produção Animal) - UCAM

Prof. Manuel Vazquez Vidal Junior (D. Sc., Zootecnia) - UENF
Co-Orientador

Prof: Dalcio Ricardo de Andrade (D. Sc., Morfologia) - UENF
Orientador

Aos meus pais, Itair e Dalgiza, por sempre tornarem minhas tristezas menos intensas e minhas alegrias mais duradouras.

Dedico

AGRADECIMENTOS

-  A Deus, por iluminar e direcionar meus passos e por todas as bênçãos derramadas em minha vida.

-  Aos meus amados pais, Itair e Dalgiza, pelo apoio e amor incondicionais, por sempre acreditarem na minha vitória e por fazerem todo o possível para que eu conquistasse os meus objetivos.

-  A minha irmã Mariana, pelo carinho e atenção sempre dispensados a mim.

-  Ao Matheus, por toda ajuda na execução e elaboração do trabalho, pelo carinho, companheirismo, amor, paciência e incentivo constantes. Obrigada por existir em minha vida e por tornar meus dias melhores e mais felizes.

-  A toda a minha família, que sempre apoiou as minhas escolhas e me incentivou nessa caminhada.

-  Ao orientador Dalcio Ricardo e co-orientador Manuel Vazquez, agradeço a confiança em mim depositada, a atenção e compreensão com minhas dificuldades; a dedicação e ensinamentos transmitidos com segurança, essenciais ao bom desenvolvimento deste trabalho, e pelas experiências acadêmico-científicas que, certamente, serão de grande valia em minha carreira.

-  Ao professor Manuel Vazquez, agradeço ainda pela realização da estatística do experimento.

-  Aos professores de graduação Celi Aurora, Fabiana Cristina, Fabiano Melo e Braz Cosenza, por sempre me incentivarem a continuar estudando e por todo apoio que me deram.

-  As queridas amigas Kyvia, Regiane (Regi), Marcilene (Lorão), Bianka (Bia), Natalha, Jaqueline (keka), Letícia (Deca) e Iris, por estarem sempre dispostas a me ouvir e ajudar nos momentos em que mais precisei. Adoro vocês!!!

-  Aos companheiros da piscicultura, Willian, Cristine, Pedro, Marcelo, Paulo, Alex, Shaytner, Raphael, Andréia e Weverson, pela agradável convivência durante o mestrado e por sempre estarem dispostos a me ajudar.

-  Aos “meninos” da ontogenia, Douglas, Jonas, Leonardo, André, Leon e João, pela indispensável ajuda na execução do experimento. Pelos momentos de descontração e pelas boas risadas durante o trabalho.

-  Ao funcionário de setor de Piscicultura, Sr. Jorge, por toda ajuda no decorrer desses anos.

-  Aos colegas do Setor de Anatomia Patológica do LSA-UENF, Luciano, Beth, Ricardo e Luciana, pelo acolhimento e ensinamentos.

-  As funcionárias da coordenação do programa de pós graduação em Ciência Animal, Jovana e Conceição, pelo carinho e paciência.

-  A Zulmira (Poia), Natalia (Natty), Elizabeth (Bebeth), Rafaele, Carolina (Carol) e Nazira, pela excelente convivência, pelos bons momentos compartilhados, pelas risadas intermináveis, “boas fofocas” e por todas as “bananinhas”... vocês, com certeza, tornaram meus dias aqui mais agradáveis!

-  As colegas de república Priscila e Elaine, pela convivência.

-  A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa de estudo.

-  A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, pela oportunidade de realização do curso, crescimento pessoal e profissional.

 Aos professores Eduardo Shimoda e Ângelo J. B. Dias, por participarem da banca examinadora, por todas as sugestões e críticas fundamentais à complementação desse trabalho.

 A todos aqueles que mesmo não tendo sido nominados tive a oportunidade de conviver nesses últimos dois anos e que muito contribuíram para que eu pudesse chegar até aqui.

Muito obrigada!!!

“Talvez meio caminho andado seja a gente acreditar no que faz. Mas acima de tudo, o que mais nos incentiva, o que mais nos valoriza, e também mais nos torna conscientes de nossa responsabilidade, é saber que outros crêm em nós. E não há palavras que descrevam o que sentimos ao saber dos sacrifícios a que eles se impõem, por crerem não apenas em nós mas, também, no que cremos”.

Albert Einstein

BIOGRAFIA

Marcella Costa Radael, filha de Itair Radael e Dalgiza Maria Costa Radael, nasceu em 01 de setembro de 1984 na cidade de Carangola – MG.

Concluiu o Ensino Médio na Escola Estadual “Prefeito Jayme Toledo” em Caiana – MG, em dezembro de 2002.

Em fevereiro de 2003, iniciou o curso de Ciências Biológicas na Universidade do Estado de Minas Gerais, no campus Fundacional Agregado da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Carangola, onde colou grau em 15 de dezembro de 2006.

Em agosto de 2007 iniciou o curso *Lato Sensu* em Morfofisiologia Animal, pela Universidade Federal de Lavras, com conclusão em maio de 2009.

Foi admitida para o curso de Mestrado em Ciência Animal, na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), em Campos dos Goytacazes - RJ em março de 2008, submetendo a defesa de dissertação e conclusão do curso em 19 de fevereiro de 2010.

RESUMO

RADAEL, Marcella Costa, M. Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Fevereiro de 2010; Efeitos da Temperatura na Ontogenia Inicial de Melanotênia Neon (*Melanotaenia praecox*). Professor Orientador: Dalcio Ricardo de Andrade.

Realizou-se um experimento, com o objetivo de descrever a ontogenia inicial em embriões da espécie melanotênia neon (*Melanotaenia praecox*) e o efeito que a temperatura exerce sobre o desenvolvimento embrionário. Os ovos foram mantidos em incubadoras com água a 24°C, 26°C, 28°C, 30°C ou 32°C e observados em horários pré-determinados para o experimento. Os estágios de desenvolvimento foram identificados e classificados pelas características morfofisiológicas. O tamanho inicial dos ovos variou entre 0,99 mm e 1,04 mm e todos continham gotas de óleo. Foi observado no córion a presença de filamentos para fixação dos ovos. O desenvolvimento embrionário se deu de forma semelhante ao de outras espécies do gênero *Melanotaenia*, com a eclosão dos ovos iniciando em 101, 49 horas pós fecundação e 3958,28 horas grau pós fecundação na incubadora de 26°C; 137,33 horas pós fecundação e 3803,58 horas grau pós fecundação na incubadora de 28°C e 118,84 horas pós fecundação e 3595,00 horas grau pós fecundação na incubadora de 30°C. Nas incubadoras de 24°C e 32°C, os embriões morreram antes de eclodir. As larvas recém eclodidas apresentaram como características principais: atividade natatória acentuada, vesícula vitelínica reduzida, boca aberta e com movimentação e um sistema digestório aparentemente funcional. Para verificação da porcentagem de eclosão, foram mantidas desovas nas mesmas temperaturas teste, mas sem que

houvesse manipulação dos ovos. Os ovos não manipulados eclodiram em todas as temperaturas testadas. A melhor porcentagem de eclosão ocorreu estatisticamente na temperatura de 27,43°C.

Palavras-chave: *Melanotaenia praecox*, ontogenia, peixes ornamentais.

ABSTRACT

RADAEL, Marcella Costa, M. Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; February 2010; Temperature Effects on Early Ontogeny of Melanotênia Neon (*Melanotaenia praecox*). Advisor: Dalcio Ricardo de Andrade.

In this research eggs were kept in hatcheries with water of 24°, 26°, 28°, 30°, and 32° degrees centigrade and checked out at pre established times. The development stages were identified and classified by morphophysiological features. The eggs initial size had a variation between 0.99 mm and 1.04 mm and all of them had oil droplets and filaments for eggs attachment. The embrionary development was similar to other *Melanotaenia* species. The eggs hatching begging with 101.49 post fecundation hours and 3958, 28° hours-degree post fecundation at the hatchery of 26° degrees; 137.33 post fecundation hours and 3803,58 hours-degree at the hatchery of 28° degrees and 118.84 hours post fecundation and 3595.00 hours-degree, at the 30° degree hatchery. At the hatcheries with 24° and 32° degrees all the embryos died before eclosion. The new hatching larvae had the following principal features: energical swimming; vitelinic vesicle reduced; open mouth with moviments and a digestory system apparently functional. In order to cheek out the eggs eclosion rate, eggs were kept in the same treatments but without manipulation. In this case the non handled eggs had a normal hatching emergence in all

temperatures tested. The better percentage of hatching emergence occurred at 27.43° degrees.

Key words: *Melanotaenia praecox*, ontogeny, ornamental fish.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1. Exemplos de <i>Melanotaenia praecox</i>	22
FIGURA 2. Vista dos tanques escavados do setor de aquicultura onde estavam alojados os reprodutores.....	31
FIGURA 3. Aquários experimentais.....	31
FIGURA 4. Aguapés (<i>Eichornia crassipes</i>).....	32
FIGURA 5. Desova de <i>Melanotaenia praecox</i>	33
FIGURA 6. Peneiras para manutenção dos ovos durante o Período experimental.....	34
FIGURA 7. Fotomicrografia de ovo recém-fertilizado de <i>M. praecox</i>	38
FIGURA 8. Desenvolvimento embrionário de <i>M. praecox</i> durante o período de clivagem.....	41
FIGURA 9. Desenvolvimento embrionário de <i>M. praecox</i> durante o período de blástula.....	42
FIGURA 10. Desenvolvimento embrionário de <i>M. praecox</i> durante o período de blástula. Estágio oval e esférico.....	43
FIGURA 11. Desenvolvimento embrionário de <i>M. praecox</i> durante o período de gástrula.....	44
FIGURA 12. Desenvolvimento embrionário de <i>M. praecox</i> durante o período de organogênese. Diferenciação de cabeça e cauda e diferenciação do primórdio óptico.....	45
FIGURA 13. Desenvolvimento embrionário de <i>M. praecox</i> durante o período de organogênese. Somitos; vesícula de Kupffer; Condrocânio e vesícula óptica.....	46
FIGURA 14. Desenvolvimento embrionário de <i>M. praecox</i> durante o período de organogênese. Melanóforos; nadadeiras.....	48
FIGURA 15. Larva de <i>Melanotaenia praecox</i> recém-eclodida.....	49
FIGURA 16. Porcentagem de eclosão dos embriões nas temperaturas teste.....	57

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Fases do desenvolvimento embrionário.....	25
TABELA 2. Principais correlações observadas entre os eventos morfofisiológicos em horas após a fecundação de embriões de <i>M. praecox</i>	55
TABELA 3. Efeito da temperatura sobre as variáveis.....	56

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	16
2. OBJETIVO.....	19
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	20
3.1. Panorama da Piscicultura.....	20
3.2. A Espécie.....	21
3.2.1. Caracterização.....	21
3.2.2. Habitat Natural.....	22
3.2.3. Reprodução.....	23
3.3. Ontogenia.....	23
3.4. Influência da Temperatura na Ontogenia.....	28
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	30
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
5.1. Parâmetros Físico-Químicos da Água da Incubadora.....	37
5.2. Os ovos de <i>Melanotaenia praecox</i>	37
5.3. Desenvolvimento Embrionário de <i>Melanotaenia praecox</i>	39
5.3.1. Período de Clivagem.....	40
5.3.2. Período de Blástula.....	42
5.3.3. Período de Gástrula.....	43
5.3.4. Período de Organogênese.....	44
5.3.5. Eclosão.....	48
5.4. Tempo de Ocorrência dos Eventos.....	49
5.5. Porcentagem de Eclosão.....	56
6. CONCLUSÕES.....	59
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60
APÊNDICE (S).....	69

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura aparentemente teve seu início quando o homem, pela primeira vez, capturou peixes em seu habitat natural e os transferiu para um ambiente confinado. Os registros mais antigos desta atividade datam de mais de quinhentos anos antes de Cristo, quando os antigos egípcios utilizavam tilápias para povoamento de tanques, visando ornamentação ou acúmulo de peixes para serem consumidos em ocasiões especiais. Na idade média, os romanos construíram açudes destinados ao cultivo de peixes, alguns dos quais estão em uso até hoje na Europa. Ainda assim a atividade é recente quando comparada à domesticação de outras espécies como as cabras, suínos e os cães, que estima-se ter iniciado há 10.000 anos (PROENÇA & BITTENCOURT, 1994).

No Brasil os primeiros registros de cultivo de peixes datam de 1920, com a introdução de animais para consumo como as trutas e as carpas. Na mesma década, ainda foram introduzidos mais de 50 espécies asiáticas de peixes ornamentais (VIDAL Jr., 2003).

A piscicultura de espécies ornamentais se destaca devido ao alto valor agregado, sendo comum um único exemplar, de alguns gramas, atingir valores muito superiores a de um quilograma das espécies de corte (LIMA, 2004). Este é o principal fator que coloca o cultivo de peixes ornamentais dentre as cadeias mais lucrativas da piscicultura. Esta cadeia produtiva movimentou aproximadamente três bilhões de dólares ao ano na década de 1990 e a indústria aquarística chegou a movimentar quinze bilhões de dólares ao ano no mesmo período (MEYERS, 2001), além de ostentar um crescimento anual da ordem de 14% ao ano. Este índice é expressivo quando comparado ao crescimento médio anual referente à piscicultura

de corte, 9,2%, e à pesca extrativista, 1,4% (LIMA, 2004). Segundo as últimas estatísticas do IBAMA, o Brasil exportou, em 2007, 5,9 milhões de reais em pequenos peixes de água doce, sendo que 90% desse valor foi proveniente da venda de espécies capturadas no Pará e no Amazonas (IBAMA, 2010).

Apesar do crescente aumento na produção nacional e mundial de peixes ornamentais e de corte, observa-se que após anos de desenvolvimento de tecnologias e avanço da atividade aquícola no Brasil, ainda há necessidade do preenchimento de lacunas da piscicultura nacional. Somente a alta produtividade não significa mais certeza de lucro ou mesmo sucesso do empreendimento (MELO & CHABALIN, 2004), pois há necessidade de redução do custo de transporte e marketing dos produtos de origem aquícola, além da maior consolidação da cadeia a nível nacional. O emprego de tecnologias modernas de reprodução e manejo da criação de peixes ornamentais torna-se cada vez mais necessário, visando maior produção e melhor qualidade dos peixes destinados ao mercado.

Sabe-se que o interesse pelo cultivo de uma espécie de peixe está intimamente ligado a facilidade de obtenção de alevinos. De acordo com Val & Honczaryk (1995), quando for difícil ou irregular a reposição dos alevinos, não haverá interesse comercial na espécie. Nesse sentido, a ontogenia vem dar suporte, uma vez que conhecendo o processo inicial de desenvolvimento da espécie, poder-se-á desenvolver tecnologias mais efetivas para a produção dos alevinos.

O estudo dos ovos e larvas tem-se mostrado de grande importância por fornecer informações para o inventário ambiental, monitoramento de estoques e manejo da pesca, também a incorporação de novas espécies ao sistema de cultivo, que tem nas fases iniciais de desenvolvimento a maior restrição ao sucesso da criação (NAKATANI *et al.*, 2001).

Todavia, para o piscicultor brasileiro, ainda é pouco viável produzir algumas espécies ornamentais nativas, uma vez que o custo de produção supera o valor de mercado, pressionado pelo baixo custo da pesca extrativista (RIBEIRO *et al.*, 2008). Baseado nisso, a piscicultura ornamental brasileira tem utilizado espécies exóticas e dentre essas têm-se dado bastante atenção aos exemplares da família *Melanotaeniidae*, que possui 7 gêneros e 66 espécies. Estes peixes integram um grupo de pequenos, coloridos e valiosos peixes ornamentais, originários da Austrália e Nova Guiné, onde o clima tropical é predominante, o que facilitou a adaptação no Brasil e às condições de cultivo nacional, sendo importados desde a década de 90.

O período entre a desova e a comercialização dos animais da família *Melanotaeniidae* é de, aproximadamente, seis meses. Em relação a algumas espécies de peixes ornamentais, produzidas em cativeiro, esse é um período considerado longo, ou ao menos médio. Este fato está relacionado ao aparecimento das suas características sexuais secundárias, que irão determinar o momento mais seguro para a sexagem dos animais e, conseqüentemente, sua comercialização.

O estudo do desenvolvimento inicial em peixes é uma ferramenta importante nos sistemas de produção, uma vez que a maior restrição ao sucesso da criação está nas fases iniciais, onde ocorre grande mortalidade e conseqüente perda econômica devido, principalmente, aos problemas relacionados à correta manipulação.

Entretanto, autores da área de embriologia pouco descrevem o desenvolvimento embrionário de peixes e ainda são poucos os estudos realizados, relacionados a essa área. Devido à escassez de trabalhos nessa área, surgiu a idéia de estudar o desenvolvimento embrionário de *Melanotaenia praecox*.

O desenvolvimento desses peixes pode sofrer influência positiva através da alimentação adequada nos períodos mais críticos do seu desenvolvimento. Geralmente o início da alimentação exógena é considerado como uma fase crítica, necessitando de informações que estimem o tempo de vida para entrar em tal fase, bem com o grau de desenvolvimento da larva neste momento, podendo, assim, fazer inferências sobre o manejo alimentar. Este conjunto de informações poderá ter um efeito benéfico na redução do período para a comercialização.

A melanotênia neon apresenta excelente aceitação no mercado, chegando, o exemplar, a atingir um preço médio de R\$8,00 no mercado interno e de US\$10,00 nos EUA. Este fato, associado à elevada capacidade de produção, vem aumentando o interesse por esta espécie e pelas demais melanotênias, o que torna os estudos a respeito destas espécies relevantes. Informações sobre a biologia reprodutiva da espécie são necessárias para intensificar sua produção, principalmente levando-se em consideração que a fase inicial é uma das fases mais críticas do desenvolvimento dos peixes. Estudos como a ontogenia inicial são importantes para ampliar o conhecimento sobre a biologia reprodutiva desta espécie, resultando inclusive em uma manipulação mais adequada do tempo de incubação.

2. OBJETIVOS

Os objetivos do presente trabalho foram:

- Descrever a sequência dos eventos morfofisiológicos durante a evolução dos embriões de *Melanotaenia praecox*;
- Mensurar o tempo requerido para o desenvolvimento morfofisiológico durante a incubação de embriões de *Melanotaenia praecox*;
- Avaliar o efeito da temperatura no tempo de surgimento das principais estruturas embrionárias;
- Determinar a temperatura ótima para incubação de embriões de *M. praecox*.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Panorama da piscicultura

Segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação, no ano de 2005, a aquicultura teve um crescimento de 5,2% na produção total, alcançando o valor de 63 milhões de toneladas, dos quais 30,3 milhões são de peixes; por outro lado, a pesca extrativista apresentou uma produção de 94,6 milhões de toneladas, representando queda de 1,2% em relação ao ano anterior. No total foram 157,6 milhões de toneladas de pescado produzidas, das quais aproximadamente 40% são provenientes da aquicultura (FAO, 2006).

No Brasil, a produção em 2005 foi de um milhão de toneladas, das quais 75% foram provenientes da pesca extrativista e 25% da aquicultura. A aquicultura brasileira é responsável por 10,4% da produção aquícola da América Latina.

A maior parte da produção mundial em aquicultura é dedicada à produção de alimento, no entanto, a produção de peixes ornamentais é um componente importante da indústria da aquicultura em vários países. Este mercado e o de produtos para a aquarofilia é uma atividade consolidada, que movimenta por ano cerca de 500 milhões de dólares, sendo de grande importância econômica em muitas regiões, principalmente nos países em desenvolvimento (ANDREWS, 1990; CHEONG, 1996; CHAPMAN *et al.*, 1997; BARTLEY, 2000). No mundo, cerca de 350 a 400 milhões de peixes ornamentais são comercializados por ano, sendo 70% destes produzidos em cativeiro (CHAO *et al.*, 2001), movimentando 278 milhões de

dolares por ano (FAO, 2005). Isto faz com que surja interesse no desenvolvimento de métodos para produção de novas espécies de água doce.

O cultivo de peixes ornamentais pode ajudar a diminuir o impacto da captura de animais do meio ambiente, além disso, a aquicultura contribui para que a demanda dos mercados seja principalmente estabelecida com produtos provenientes de cultivo (TLUSTY, 2002). Nos Estados Unidos a produção de peixes ornamentais é o quarto maior setor da produção total de aquicultura, depois da indústria do catfish, truta e salmão. É um setor de destaque mesmo representando apenas 7% do total de produção da aquicultura (JSA, 1999).

No Brasil, o crescimento da aquicultura ornamental vem seguindo a mesma tendência de crescimento apresentada no cenário mundial. Paralelo ao crescimento da produção brasileira existe também um desenvolvimento e melhoramento das técnicas de criação, principalmente àquelas relacionadas à produção de ovos, larvas e juvenis (AYRES, 2006).

O Estado de Minas Gerais destaca-se como o maior centro de produção de peixes ornamentais do Brasil. Entretanto, o Brasil participa com apenas 6,5% das importações realizadas pelo mercado norte-americano, indicando a necessidade de maior apoio e incentivo à atividade, tendo em vista o grande potencial nacional (PEZZATO & SCORVO FILHO, 2000).

3.2. A Espécie

3.2.1. Caracterização

A *Melanotaenia praecox* (Weber & de Beaufort, 1922), conhecida popularmente como melanotênia neon ou “Dwarf Neon Rainbowfish”, é uma espécie pertencente à família *Melanotaeniidae*, originária da Austrália e Nova Guiné (FISHBASE, 2009). São consideradas espécies forrageiras, tendo, portanto, importante participação na cadeia trófica (LLEWELLYN, 1971, citado por REID & OLDWAY, 1995).

Seu corpo é de cor azul brilhante intenso, apresenta dimorfismo sexual, sendo os machos maiores e mais coloridos com nadadeiras dorsais, anais e caudais vermelhas, enquanto nas fêmeas estas se apresentam na cor amarelo-alaranjada

(Fig. 1). A expectativa de vida desses animais está em torno de 4 a 5 anos (FISHBASE, 2009).

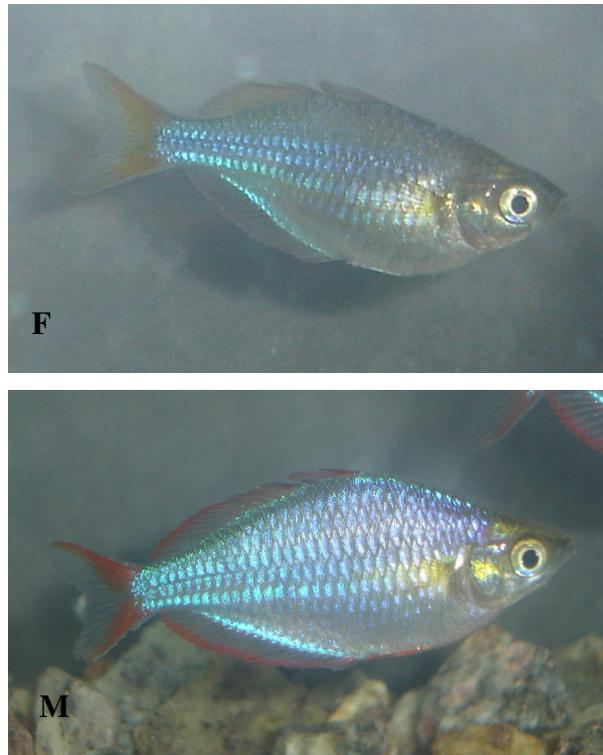


Figura 1 – Exemplos de *Melanotaenia praecox*. (F) Fêmea, (M) Macho.

3.2.2. Habitat Natural

A *M. praecox* é encontrada principalmente no Rio Mamberamo, tendo sido relatada a ocorrência também no Rio Wapoga, ambos localizados na Nova Guiné, Oceania (ALLEN *et al.*, 2002).

O Rio Mamberamo, habitat natural da *M. praecox*, é o maior rio do norte de Papua, drenando uma bacia hidrográfica que abrange todas as correntes que fluem para o norte descendo as montanhas centrais da Nova Guiné, entre a fronteira da Papua Nova Guiné e aproximadamente 137° Oeste de longitude (POLHEMUS & RICHARDS, 2002).

Segundo os mesmos autores, a densidade populacional humana ao longo de toda a extensão do Rio Mamberamo e seus afluentes é excepcionalmente baixa e, como resultado, a bacia hidrográfica do Rio Mamberamo é uma das maiores áreas tropicais preservadas no mundo.

3.2.3. Reprodução

Em seu habitat natural, as desovas se iniciam em outubro e terminam em dezembro. As desovas de *M. praecox* ocorrem em cativeiro de forma natural, não havendo, portanto, necessidade de indução hormonal. Em geral, envolve a liberação simultânea dos gametas masculinos e femininos. Em condições controladas de laboratório ou de sistemas de cultivo, desovam o ano inteiro (VIDAL JUNIOR, 2005).

Utilizam como substrato para ovoposição raízes de plantas flutuantes, onde os ovos ficam aderidos. Taylor (1999) descreveu que as desovas ocorrem sobre plantas de folhas finas (tipo ceratopteris, cabombas, myriophyllum, ambulias, musgo de Java etc.) ou fibras sintéticas. Os ovos são pequenos e têm adesividade, ficando aderidos às plantas e substratos do aquário. Essa adesividade ocorre em filamentos de fixação presentes no córion (REID & HOLDWAY, 1995; HUMPHREY *et al.*, 2003).

A eclosão ocorre entre o sétimo e oitavo dia após a desova, dependendo da temperatura. Nas primeiras etapas do desenvolvimento após sair do ovo a larva apresenta dieta zooplancófaga (carnívora) (FISHBASE, 2009).

3.3. Ontogenia

Segundo Graciano (1997), ontogenia pode ser definida como o processo de transformação e desenvolvimento de um ser vivo desde a fecundação à maturidade reprodutiva. A ontogenia inicial em peixes caracteriza-se por uma série de importantes mudanças em estrutura e função, reflexo da rápida evolução morfológica, fisiológica e de hábitos e comportamentos pelos quais passam embriões, larvas e juvenis durante o início do seu desenvolvimento (BALON, 1984; BLAXTER, 1986; NOAKES & GODIN, 1988).

O estudo do desenvolvimento inicial em peixes é uma ferramenta importante nos sistemas de produção, tanto de peixes de corte como ornamentais, pois fornece informações sobre o tipo de manejo que pode ou deve ser aplicado, ajudando a responder questões críticas como, por exemplo: quais as variáveis físicas, químicas ou biológicas que afetam ou podem afetar os processos de desenvolvimento embrionário e larval; qual é o momento (horas após fertilização – hpf) mais

adequado para se determinar as taxas de fertilização e sobrevivência durante incubação e larvicultura controladas, dentre outros (CLAVIJO-AYALA, 2008).

Nakatani *et al.* (2001) descrevem que o processo embrionário inicia-se com fecundação do óvulo pelo espermatozóide através da micrópila. Com a absorção de água que ocorre após a fertilização, inicia-se a formação do espaço perivitelino com a separação do córion da membrana vitelina. Com entrada do gameta masculino no óvulo, este é estimulado e reage, passando a apresentar um intenso movimento citoplasmático, em direção ao pólo superior do ovo. Desta maneira, o vitelo fica segregado do citoplasma ativo, permanecendo na parte inferior do ovo, que se transforma em pólo vegetativo. O núcleo, formado pela união dos pronúcleos masculino e feminino, mais o citoplasma que se deslocou, constituem o pólo animal (SANTOS & AZOUBEL, 1996).

Por apresentarem o vitelo concentrado no pólo vegetativo e o citoplasma com suas organelas no disco germinativo, que constitui o pólo animal, os ovos de peixes são denominados telolécitos. Devido à grande quantidade de vitelo que possuem, são classificados como polilécitos e apresentam segmentação parcial ou meroblástica. Esse vitelo irá nutrir o embrião durante a embriogênese e também a larva por algum tempo após a eclosão (SANTOS & AZOUBEL, 1996).

Segundo Bagenal; Braum (1978); Woyanarovich; Horváth (1980), citados por Nakatani *et al.* (2001), o desenvolvimento embrionário pode ser dividido em fases (Tabela 1). Este autor descreve que essas fases são o ovo recém-fertilizado, a segmentação, a blastulação, a gastrulação e fechamento do blastóporo. Após estes fatos, ocorre ainda a formação da vesícula óptica, seguida da liberação da cauda que irá se destacar do saco vitelínico. A eclosão acontecerá após sucessivas contrações musculares da cauda e do corpo (NAKATANI *et al.*, 2001).

Para que ocorra a eclosão, o córion é enfraquecido com a ação de enzimas (BLAXTER, 1988). A maioria das larvas de água doce eclode com boca e mandíbula ainda não formadas, os olhos não pigmentados e saco vitelino grande. No período pós eclosão em geral, poucos melanóforos são visualizados e a larva é muito transparente. Algumas espécies, porém, eclodem com o sistema alimentar inicialmente funcional e com olhos pigmentados (NAKATANI *et al.*, 2001).

Tab. 1 – Fases do desenvolvimento embrionário

<i>Ovo recém fertilizado</i>	Compreende a fase a partir da fertilização até a organização do pólo animal (representado pelo blastodisco) e vegetativo.
<i>Segmentação</i>	Caracterizada por clivagens sucessivas do blastodisco, originando os blastômeros.
<i>Blastulação</i>	Fase na qual o blastodisco apresenta-se estratificado e alto, com pequenas cavidades entre os blastômeros e a presença de uma lâmina sincicial perivitelina.
<i>Gastrulação</i>	As células do blastodisco deslocam-se e separam-se em epiblasto (futuro folheto externo) e hipoblasto (que originará a notocorda, mesoderme e endoderme). O epiblasto e a lâmina sincicial perivitelina expandem-se gradativamente como um manto pelo vitelo até fechar o blastóporo. O corpo do embrião alonga-se, ficando sua extremidade caudal voltada para o blastóporo; observa-se a diferenciação da neuroectoderme.
<i>Fechamento do blastóporo</i>	Nesse estágio, delimitam-se superficialmente três regiões: a zona embriogênica, bordas de fechamento e parede do saco vitelino; podendo, ainda, visualizar os primeiros somitos.
<i>Vesícula óptica</i>	Essa estrutura se torna evidente após o fechamento do blastóporo, como expansão lateral do prosencéfalo;
<i>Vesícula ótica</i>	Torna-se visível com o aparecimento dos otólitos, concomitantemente, nesse estágio, observam-se os somitos;
<i>Liberação da cauda</i>	Nessa fase a cauda destaca-se do saco vitelino.
<i>Eclosão</i>	Através de contrações musculares vigorosas da cauda e do corpo as larvas eclodem.

Blaxter (1988) descreveu que o grau de diferenciação da larva recém-eclodida depende da espécie considerada e do período de incubação, além de este fator estar relacionado à temperatura.

Os eventos morfofisiológicos ao longo do desenvolvimento são avaliados principalmente por observações em microscópio estereoscópico ou óptico, uma vez que o córion dos ovos dos peixes geralmente é transparente (GODINHO *et al.*, 1978;

NAKATANI *et al.*, 2001; SOUZA, 2004).

Os eventos morfofisiológicos comumente observados ao longo das avaliações ontogênicas em embriões ictiológicos são: a formação e clivagem do blastodisco; a evolução da blástula e da gástrula sobre a vesícula vitelínica (pólo vegetal); a diferenciação do eixo embrionário, da vesícula óptica, dos somitos, o surgimento da vesícula de Kupffer e de melanóforos e eclosão (FUJIMOTO *et al.*, 2006). O tempo de surgimento dessas estruturas varia de acordo com a espécie e pode ser influenciado por diversos fatores como, por exemplo, a temperatura (LUZ, 2001).

Estes eventos foram também citados na descrição do desenvolvimento embrionário de algumas espécies de melanotênias, que relataram, inclusive, serem poucos os estudos referentes à descrição do desenvolvimento embrionário e larval de melanotênias (REID & HOLDWAY, 1995; HUMPHREY *et al.*, 2003; FERREIRA, 2007; HUMPHREY *et al.*, 2003)

Quanto às melanotênias de clima tropical, Humphrey *et al.* (2003) descreveram o desenvolvimento embrionário de *Melanotaenia splendida splendida*, incubadas à 28°C, e relataram que a segmentação ocorreu com 3,5 hpf, a gástrula desenvolveu-se das 7,0 hpf até 12,5 hpf e a organogênese foi observada das 12,5 hpf até o momento da eclosão entre 4 e 9 dias. O desenvolvimento embrionário em melanotênias tropicais foi ainda descrito para *Melanotaenia nigrans* e *Melanotaenia splendida australis* (IVANTSOFF *et al.*, 1988).

Reid & Holdway (1995) descreveram que em ovos de *Melanotaenia fluviatilis* incubados a 25°C, a segmentação ocorreu até 6 hpf, o desenvolvimento da gástrula ocorreu das 7 as 22 hpf e a organogênese ocorreu das 22,5 hpf até o momento da eclosão (7 e 9 dias).

Para *Glossolepis incisus*, Ferreira (2007) descreveu que a 28°C a gástrula foi visualizada das 7,33 hpf até 11,83 hpf, quando ocorreu o fechamento do blastóporo, a organogênese teve início às 12,33 hpf e a eclosão ocorreu a partir de 124 hpf. Ferreira *et al.* (2008) observaram que em *Melanotaenia lacustris* o período de clivagem foi de 7,0 hpf. Para *M. fluviatilis* foi observado que o período completo de segmentação, que inclui a clivagem, em ovos incubados a 25°C durou 6,00 hpf (REID & HOLDWAY, 1995). Já em ovos de *M. s. splendida* incubados a 28°C, foi observado, além da morfologia semelhante ao blastodisco de ovos de *M. lacustris*, uma duração do período de clivagem de 3,5 hpf (HUMPHEY *et al.*, 2003).

Fishelson (1995), em um estudo mais detalhado sobre a evolução dos eventos ontogênicos, observou em *Tilapia zillii*, *Sarotherodon galilaeus* e *Pseudotropheus johanni* a rede de microvilosidades que envolve desde o sincício perivitelínico até a rede sanguínea embrionária do saco vitelino. Em *T. zillii*, a rede de microvilosidades surgiu em 16-18 hpf, em *S. galileus* 30-32 hpf e *P. johanni* 38-40 hpf.

Ferreira (2007) citou que o desenvolvimento embrionário de *Glossolepis incisus* apresenta cinco períodos bem definidos: clivagem, blástula, segmentação, organogênese e pré-eclosão. Estes mesmos períodos foram observados em outras espécies do gênero *Melanotaenia* e demais teleósteos (REID & ROLDWAY, 1995; HUMPHREY *et al.*, 2003; FUJIMOTO, 2006).

Em *Brycon orbignyanus* a 27°C, o período de incubação durou 13h e não houve presença de gordura nos ovos (GANECO, 2003). Para *Pimelodus maculatus*, observado por Luz *et al.* (2001), a eclosão ocorreu 21h e 20 minutos após a fertilização em uma temperatura média de 23°C e a abertura da boca ocorreu apenas 41h e 10 minutos após eclosão com canibalismo imediato entre as larvas.

Sanches *et al.* (2001) relatam que após 10h20min de desenvolvimento, em *Leporinus friderici*, a cauda encontrava-se totalmente livre do saco vitelino; não havia pigmentação aparente e era possível a visualização nítida dos somitos e da notocorda. As larvas eclodiram 13 horas e 20 minutos após a fertilização em uma temperatura de 27,6°C.

Lopes *et al.* (1995) verificaram que em matrinxã (*Brycon cephalus*) o desenvolvimento embrionário ocorreu em 10 horas e 40 minutos em uma temperatura de 30°C, o que representa uma vantagem no processo de produção de larvas.

Em *G. incisus* foi observado que o momento de eclosão apresentou correlação com o início da diferenciação da vesícula óptica e da pigmentação do cristalino, mostrando que a eclosão é dependente do desenvolvimento do sistema óptico (FERREIRA, 2007). Em *M. fluviatilis* a eclosão também esteve associada à formação do sistema ocular (REID & HOLDWAY, 1995).

Segundo Lasker *et al.* (1970), citado por Sanches *et al.* (2001), existem correlações entre o aparecimento das nadadeiras peitorais, desenvolvimento dos olhos, abertura da boca, uma vez que esses eventos ocorrem simultaneamente e estão diretamente relacionados com a alimentação exógena. Estruturas observadas

em larvas recém eclodidas de *G. incisus* demonstram que eclodem com características que indicam proximidade do início da alimentação exógena (FERREIRA, 2007).

De acordo com Sanches *et al.* (1999), citado por Duarte (2009), estudos morfométricos dos ovos e larvas de peixes são uma ferramenta extremamente valiosa, sobretudo para a taxonomia. A grande semelhança morfológica entre diferentes grupos taxonômicos foi o principal obstáculo à identificação de larvas, principalmente larvas coletadas no ambiente natural. Análises morfométricas nos permitem comparar as diferentes fases de desenvolvimento dentro e entre espécies e, em conjunto com outras características, permite a identificação correta das larvas.

3.4. Influência da Temperatura na Ontogenia

Por serem os peixes animais pecilotérmicos, é sabido que a sua temperatura de criação interfere fortemente no seu crescimento e desenvolvimento (ARITAKI & SEIKAI, 2004). Tanto a organogênese como o desenvolvimento somático são controlados por atividades enzimáticas. O desenvolvimento embrionário de animais como os peixes depende essencialmente da expressão diferencial de certos genes e da temperatura (OJANGUREN & BRANA, 2003).

Em diferentes espécies de teleósteos, a temperatura influencia nas células musculares do embrião, na incubação e/ou nas etapas subsequentes do desenvolvimento (VIEIRA & JOHNSTON, 1992; JOHNSTON *et al.*, 1995; STICKLAND *et al.*, 1988; USHER *et al.*, 1994; NATHANAILIDES *et al.*, 1995; AYALA *et al.*, 2000, 2001), sendo, portanto, um fator importante a ser pesquisado.

O tempo requerido para o desenvolvimento embrionário em cada espécie de peixe é intimamente relacionado com a temperatura (SAMPAIO *et al.*, 2004). A temperatura no momento das diferenciações morfofisiológicas é de extrema importância, sendo necessária a descrição dos eventos em hora-grau °C (SOUZA *et al.*, 2004).

Ayala *et al.* (2000) verificaram que em robalo a utilização de uma temperatura ligeiramente superior durante o seu curto período de incubação teve um efeito positivo sobre o desenvolvimento muscular larval, que foi observado após 37-50 dias pós-eclosão. Pesquisas realizadas com *Pseudopleuronectes herzensteini* sugerem

que a temperatura de criação influencia não apenas no crescimento e desenvolvimento larval, mas também na ocorrência de metamorfose relacionadas com anormalidades morfológicas em juvenis (ARITAKI & SEIKAI, 2004).

4. MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se ovos provenientes de desovas naturais de melanotênia neon (*Melanotaenia praecox*). Os reprodutores compunham o plantel do setor de aquicultura da Unidade de Apoio à Pesquisa em Zootecnia do Laboratório de Zootecnia e Nutrição Animal do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, da Universidade Estadual do Norte Fluminense – Darcy Ribeiro, localizada em Campos dos Goytacazes – RJ.

Os reprodutores encontravam-se alojados em tanques escavados revestidos de lona de polietileno (Fig. 2), com 6 m de comprimento, 3 metros de largura e profundidade média de 70 cm. Neste ambiente recebiam ração extrusada (42% de PB).

Para o experimento, os reprodutores foram transferidos para baterias de aquários experimentais em sistema indoor com recirculação. Foram selecionados 45 peixes, sendo 30 machos e 15 fêmeas, que exibiam características de estarem em período reprodutivo. A seguir foram subdivididos, aleatoriamente, em três grupos compostos cada, de cinco fêmeas e dez machos. Cada grupo foi alojado em um aquário de 56,1 litros de capacidade volumétrica.

O sistema de recirculação, contínua e fechada, continha uma caixa para a filtragem da água (através de processos físicos e biológicos) e uma caixa depósito (onde a água foi mantida para retorno aos aquários experimentais), com auxílio de bombas submersas. Nos aquários experimentais a temperatura da água foi controlada com aquecedores de imersão com resistência elétrica blindada inserida em tudo de vidro com termostato a fim de mantê-la próxima a 28 °C.



Figura 2 – Vista dos tanques escavados do setor de aquicultura onde estavam alojados os reprodutores

Os aquários experimentais possuíam sistemas de entrada e saída, de água, independentes. O fluxo, para renovação da água, foi mantido constante (aproximadamente 2L/min), visando manter elevado o teor de oxigênio e eliminar as fezes, evitando a formação de plâncton e possíveis mudanças bruscas na qualidade da água (Fig. 3).



Figura 3 – Aquários experimentais

Após um período de sete dias para adaptação das matrizes, foram colocados, em cada aquário, dois aguapés (*Eichornia crassipes*), que serviram de estímulo à reprodução e como substrato para os ovos (Fig. 4). A cada meia hora, os aguapés eram observados a olho nu, até que foram encontrados ovos aderidos às raízes.



Figura 4 – Aguapés (*Eichornia crassipes*)

Os ovos (Fig. 5) foram retirados das raízes dos aguapés, com auxílio de tesouras e pinças. Os ovos foram dispostos em lâminas de vidro e observados em microscópio óptico com aumento de 25X ou 100X para caracterização e identificação do estágio embrionário em termos do número de divisões de células. Foram mensurados o diâmetro e a altura dos ovos, esta foi definida como a distância do pólo animal até a extremidade diametralmente oposta e o diâmetro definido como o eixo longitudinal do ovo. Estas duas medidas foram feitas com o auxílio de ocular dotada de escala micrométrica.



Figura 5 – Desova de *Melanotaenia praecox*

Após a observação inicial, os ovos foram transportados para caixas de isopor forradas com lona de polietileno, com capacidade volumétrica de 35L, denominados incubadoras, onde foram utilizados aquecedores acoplados a termostato automático com o propósito de manter a temperatura constante ou com o mínimo possível de variação. Cada incubadora foi provida de aeração, utilizando-se para esse fim pedra porosa acoplada à bomba de aeração. Após a aclimação, os ovos foram acomodados em peneiras flutuantes, onde ficaram durante o período de incubação (Fig. 6), sendo que cada peneira recebeu 40 ovos. A coleta dos ovos e os processos subsequentes foram realizados por três dias seguidos, para que assim fossem estabelecidas as repetições do experimento.

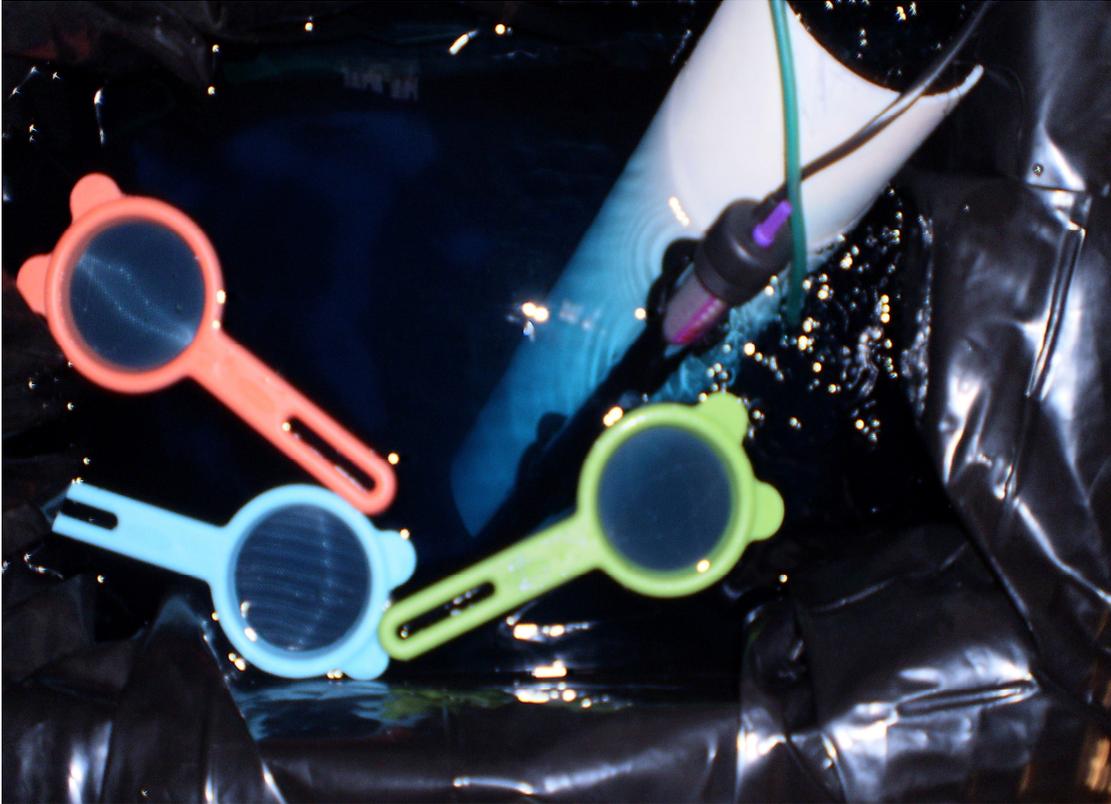


Figura 6 – Peneiras para manutenção dos ovos durante o período experimental.

A água para utilização nas incubadoras passou pelo seguinte processo de desinfecção durante o período de 15 dias anteriores à incubação: em uma caixa com capacidade de 500 litros foi depositado hipoclorito de cloro na proporção de 15ml para cada litro de água. Essa água foi mantida aquecida e com oxigenação constante para eliminação da substância desinfetante; após o período acima referido a água foi transferida para as incubadoras.

A temperatura da água das incubadoras foi mantida em 24°, 26°, 28°, 30° ou 32° (tratamentos) a fim de verificar a influência da temperatura no desenvolvimento embrionário da espécie. Cada uma das três peneiras alojadas em cada incubadora foi considerada uma repetição. Durante o processo de incubação dos ovos, cada incubadora recebeu 10 ml de azul de metileno com o intuito de diminuir a ação de fungos. As ações descritas a seguir foram realizadas individualmente para cada aquário com sua respectiva temperatura-teste.

A observação dos embriões foi realizada a cada meia hora durante o período inicial de 0 a 24 horas, a cada 1 hora no período de 24 a 48 horas e a cada 2 horas no período a partir de 48 horas até o momento de eclosão. A cada observação, alguns ovos foram retirados da peneira, colocados em lâminas de vidro, observados

em microscópio óptico (25X e 100X) e posteriormente foram tomadas imagens digitais com câmera digital DSC P-200, marca SONY, acoplada ao microscópio óptico. Ao final dos momentos de observações, os ovos retornaram para suas respectivas peneiras. Cada observação foi acompanhada do registro de horas-grau correspondente e os ovos não fecundados e/ou fungados foram descartados e feita anotação para controle da quantidade.

Os estágios de desenvolvimento embrionário foram identificados e caracterizados a partir do momento em que a maioria dos ovos atingia cada estágio de desenvolvimento embrionário.

A classificação dos estágios embrionários foi realizada com base nas características morfológicas, de acordo com a metodologia utilizada para a melanotênia maçã (*Glossolepis incisus*) (FERREIRA, 2007) e para o dojô (*Misgurnus anguillicaudatus*) (FUJIMOTO *et al.*, 2006).

Os eventos ocorridos nos períodos iniciais de desenvolvimento foram classificados conforme a nomenclatura proposta por FUJIMOTO *et al.* (2004), com a clivagem compreendendo o período de 2 blastômeros até 64 blastômeros, passando logo após, a partir de 128 blastômeros para o período de blástula. As definições para os estágios de blástula foram adaptadas de FUJIMOTO *et al.* (2006).

Para a mensuração de tempo e correlação com os eventos morfofisiológicos foram utilizadas as medidas de horas-pós-fecundação (HPF) e horas-graus pós-fecundação (HGPF). Para HPF, a medida foi feita apenas contando-se o tempo passado após a desova a qual corresponde a H0 (hora 0 – inicial). No caso das HGPF, fez-se o somatório da temperatura a cada hora.

Após a eclosão dos ovos, as larvas recém eclodidas (larvas H0) foram caracterizadas visualmente quanto à capacidade natatória.

A cada observação, o teor de oxigênio dissolvido e a temperatura da água foram medidos através de oxímetro e termômetro digitais, respectivamente.

O pH da água foi mensurado com o auxílio de pHmêtro quatro vezes ao dia, às 6h, 12h, 18h e 24h.

Para verificação da taxa de eclosão em cada temperatura teste utilizada no experimento, após o período de ontogenia, outra desova foi retirada, utilizando-se os mesmos procedimentos do experimento anterior. Essas desovas foram mantidas nas incubadoras sem que houvesse nenhum tipo de manipulação após serem colocadas nas peneiras. Todos os dias as peneiras foram observadas para a verificação da

eclosão de larvas. Quando houve alguma eclosão, as larvas foram retiradas com o auxílio de pipeta de *Pasteur* e transferidas para os tanques externos do laboratório a fim de completarem seu desenvolvimento.

Os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado. Os dados foram analisados com auxílio do software SAEG. Foi realizada análise estatística descritiva para todas as variáveis. Para as principais variáveis, foi aplicada correlação de Pearson.

Para a variável porcentagem de eclosão, foi realizada ANOVA e regressão.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Parâmetros físico-químicos da água da incubadora

Os valores médios observados para os parâmetros físico-químicos da água da incubadora, durante o período experimental, foram de $31,9 \pm 0,052^{\circ}\text{C}$ para a temperatura; $6,9 \pm 0,022$ para o pH e de $9,3 \pm 0,193$ mg/L para o oxigênio dissolvido na incubadora de 32° , de $30,0 \pm 0,0307^{\circ}\text{C}$ para a temperatura; $6,9 \pm 0,0081$ para o pH e de $9,3 \pm 0,2156$ mg/L para o oxigênio dissolvido na incubadora de 30° , de $28,0 \pm 0,0327^{\circ}\text{C}$ para a temperatura; $6,9 \pm 0,0099$ para o pH e de $8,8 \pm 0,1745$ mg/L para o oxigênio dissolvido na incubadora de 28° , de $25,9 \pm 0,0204^{\circ}\text{C}$ para a temperatura; $6,9 \pm 0,0071$ para o pH e de $8,5 \pm 0,1669$ mg/L para o oxigênio dissolvido na incubadora de 26° , de $24,1 \pm 0,0314^{\circ}\text{C}$ para a temperatura; $7,0 \pm 0,0100$ para o pH e de $8,0 \pm 0,1361$ mg/L para o oxigênio dissolvido na incubadora de 24° . Valores estes considerados satisfatórios para a espécie.

5.2. Os ovos de *Melanotaenia praecox*

Assim como o observado para os ovos de peixes em geral, os ovos de *Melanotaenia praecox* podem ser classificados como telolécitos por apresentarem vitelo concentrado no pólo vegetal e o citoplasma com suas organelas no pólo animal e polilécitos, devido à grande quantidade de vitelo que possuem.

Os ovos de *M. praecox* observados apresentaram forma esférica, com o córion e a vesícula vitelínica translúcida. Os ovos não fecundados apresentaram

coloração branca opaca. O diâmetro dos ovos recém fecundados variou de 0,99 mm a 1,04 mm, apresentando valor médio de 1,02 mm \pm 0,01.

Esses resultados demonstraram que os ovos de *M. praecox* possuem diâmetro médio próximo aos de outros melanotenídeos, como os de *Glossolepis incisus* que foi de 0,90 mm a 1,10 mm (FERREIRA, 2007), *Melanotaenia splendida australis* com 1,07 mm (IVANTSOFF *et al.*, 1988), de *Melanotaenia nigrans* com média de 1,05 mm e de *Melanotaenia splendida inornata* com média de 0,88 mm (REID & HOLDWAY, 1995).

O córion demonstrou-se rígido e sua textura era semelhante à de pequenas “esferas de vidro”. Os ovos (Fig. 7) continham muitas gotas de óleo de tamanhos variados, inicialmente espalhadas pela vesícula vitelínica. A grande quantidade de gotas de óleo presentes no ovo pode estar associada à origem marinha da espécie.

Ferreira (2007) observou a mesma disposição e o mesmo comportamento de agregação das gotas de óleo para ovos recém fecundados de *Glossolepis incisus*, assim como Duarte (2009) para *Betta splendens*. Ao longo do desenvolvimento embrionário, estas gotas foram se agrupando na região da vesícula oposta ao blastodisco.



Figura 7– Fotomicrografia de ovo recém fertilizado de *M. praecox*. Gotas de Óleo (G), Filamentos de Fixação (F).

Os ovos de *Melanotaenia praecox* apresentaram filamentos de fixação muito extensos e numerosos (Fig.7). Estes filamentos eram muito aderentes, o que provocava o emaranhamento dos ovos nas peneiras e estavam localizados, em geral, próximos a região do pólo animal (Fig. 8). Reid e Holdway (1995) e Ferreira (2007) identificaram filamentos semelhantes em ovos de *Melanotaenia fluviatilis* e *Glossolepis incisus*, respectivamente.

A adesividade em ovos, que é uma estratégia comum de fixação ao substrato, foi verificada em outros peixes como em *Cyprinus carpio*, em exemplares do gênero *Serrasalmus* e alguns Siluriformes, como o bagre do canal, *Clarias gariepinus*. (NAKATANI *et al.*, 2001)

5.3. Desenvolvimento Embrionário de *Melanotaenia praecox*

O padrão de clivagem observado em embriões de *M. praecox* foi do tipo meroblástica, assim como é observada em outros teleósteos. Os blastômeros se dividiram inicialmente a cada 30 minutos em média. Essas divisões não ocorreram de forma muito delimitada, o que dificultou um pouco a determinação dos estágios iniciais.

Para descrição do desenvolvimento embrionário, foram adotados cinco períodos, divididos em clivagem, blástula, segmentação, organogênese e pré-eclosão. Esse mesmo método foi também adotado para outros animais do gênero *Melanotaenia* e demais teleósteos (REID e HOLDWAY, 1995; HUMPHREY *et al.*, 2003; FUJIMOTO *et al.*, 2006; FERREIRA, 2007; DUARTE, 2009).

Neste primeiro momento será feita apenas a descrição/ocorrência das estruturas observadas nos cinco períodos adotados, obedecendo a ordem cronológica e sequencial identificada para a maioria das repetições. Os momentos de cada ocorrência, em horas pós-fecundação (HPF) e horas-grau pós fecundação (HGPF), serão abordadas e discutidas posteriormente também para cada tratamento.

5.3.1. Período de Clivagem

2 células

O início da primeira clivagem se inicia logo após a fecundação, ocorrendo no centro do blastodisco e estendendo-se para a periferia, apresentando segmentação do tipo meroblástica ou parcial. Com 30 minutos dois blastômeros de tamanhos iguais já eram visíveis (Fig. 8A).

4 células

Os blastômeros assumiram aspecto alongado. O sulco da segunda clivagem foi formado transversalmente ao primeiro dividindo os dois blastômeros. O blastodisco foi formado, nesta fase, por quatro blastômeros, dispostos num arranjo 2 X 2 sobre a vesícula vitelínica (Fig. 8B).

8 células

Os sulcos da terceira clivagem foram formados verticalmente ao segundo sulco da fase anterior de 4 blastômeros. O blastodisco nesta fase foi formado por oito blastômeros (Fig. 8C), dispostos em uma arranjo de 4 X 2 sobre a vesícula vitelínica. Nesta fase, os blastômeros já apresentavam formato disforme e as gotas de óleo já começaram a se agrupar na região oposta ao blastodisco.

16 células

Os sulcos da quarta clivagem foram formados transversalmente aos sulcos da terceira clivagem. Os 16 blastômeros (Fig.8D) resultantes desta divisão foram observados em um arranjo 4 x 4.

32 células

A quinta clivagem se caracterizou pela formação de 32 células (Fig. 8E). O plano de divisão celular era diverso. Neste estágio as células se apresentavam menores devido à quantidade de divisões e em uma camada simples.

64 células

A partir da sexta clivagem o embrião apresentou planos de divisão celular com orientação diversa, as células mostraram-se arranjadas em duas ou mais camadas,

formando a blastoderme em forma de cúpula. Ao final da divisão haviam 64 células formadas (Fig. 8F).

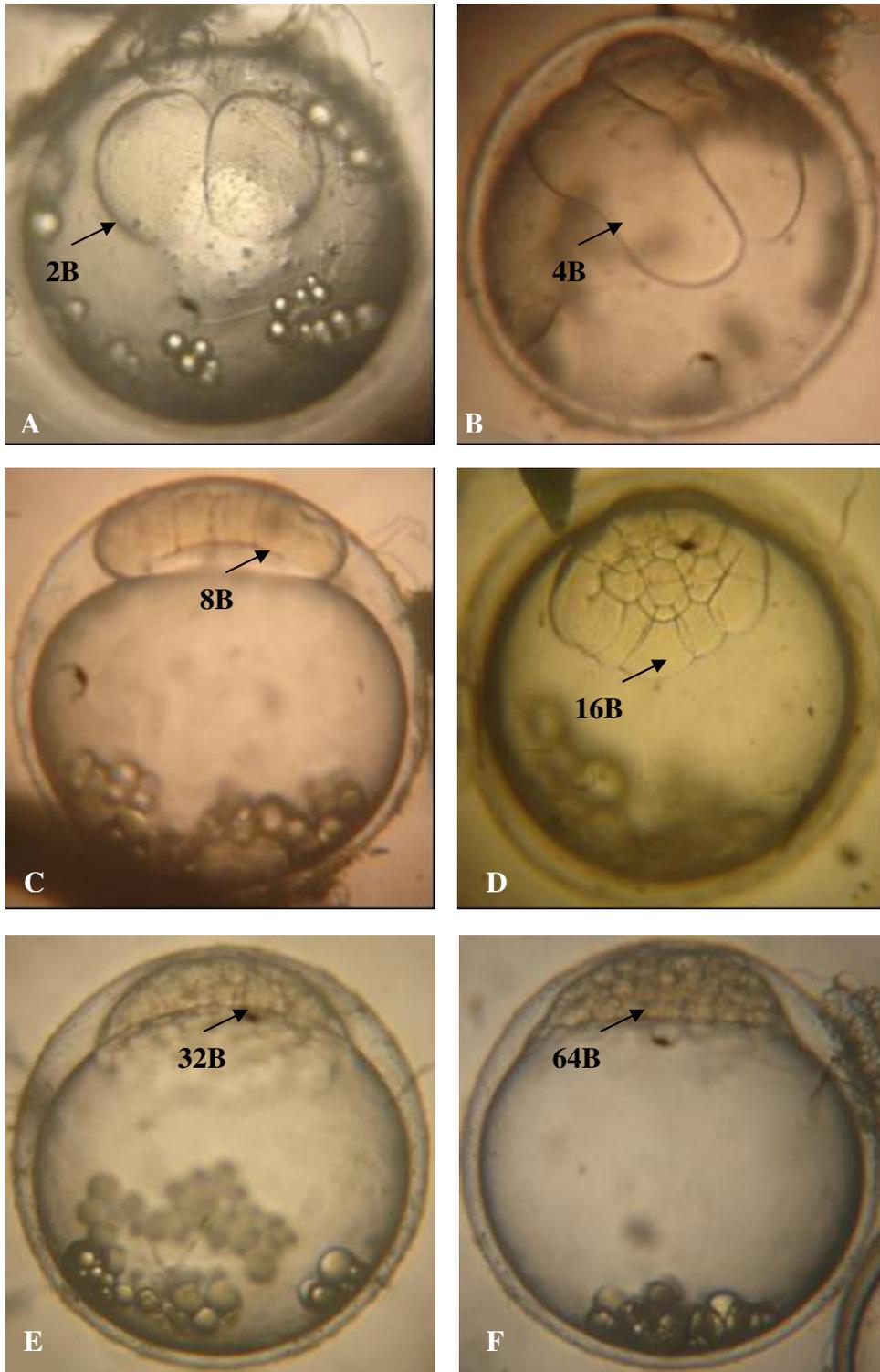


Figura 8 – Desenvolvimento Embrionário de *M. praecox* durante o período de clivagem. 2 blastômeros (2B); 4 blastômeros (4B); 8 blastômeros (8B); 16 blastômeros (16B); 32 blastômeros (32B); 64 blastômeros (64B).

5.3.2. Período de blástula

O início da fase de blástula consistiu em, inicialmente, divisões de um blastodisco disforme e posteriormente a sua organização e evolução de suas bordas sobre a vesícula vitelínica, apresentando inicialmente 128 células organizadas em duas ou mais camadas. Essa mesma fase para embriões de *Paralabrax dewegeri* foi definido como mórula por Querales *et al.* (2004).

Com 256 células, a blastoderme é inicialmente organizada semi-esférica e ainda alta sobre a vesícula vitelínica. Nos estágios de 512 (Fig. 9A) e 1024 blastômeros (Fig. 9B), com as sucessivas clivagens, o número de células aumentou, sem que houvesse aumento no tamanho da blastoderme, sendo que na fase de 1024 células a borda da blastoderme evoluiu sobre a vesícula vitelínica.

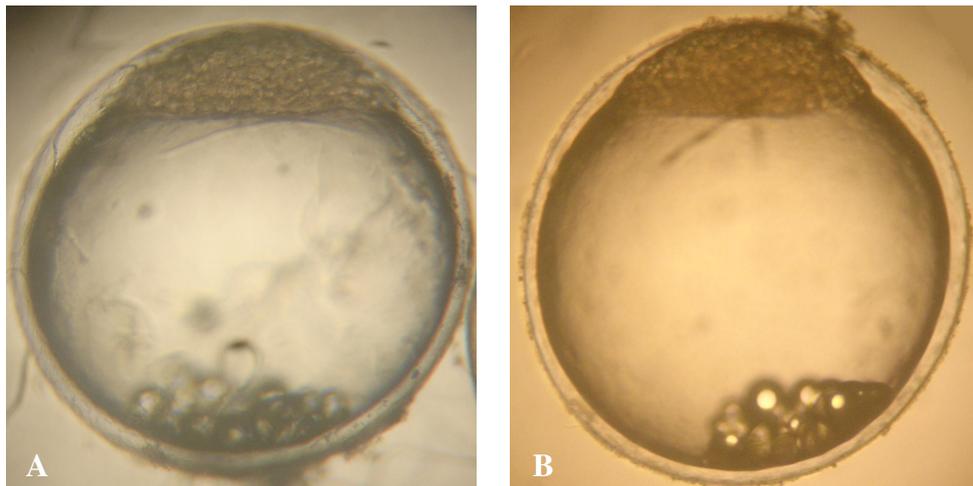


Figura 9 – Desenvolvimento Embrionário de *M. praecox* durante o período de blástula. 512 células (A); 1024 células (B).

Estágio Oval

A evolução da borda da blastoderme sobre a vesícula vitelínica, assim como a organização dos blastômeros, conferiu ao embrião a forma elíptica. A região da lâmina sincicial nesse estágio embrionário estava plana (Fig. 10A).

Estágio Esférico

Os limites entre a blastoderme e a vesícula vitelínica tornam-se contínuos. Os dois eixos da vesícula vitelínica, maior e menor, apresentaram valores semelhantes, conferindo ao embrião uma forma esférica. Nesse momento a região da lâmina sincicial apresentou-se curva (Fig. 10B).

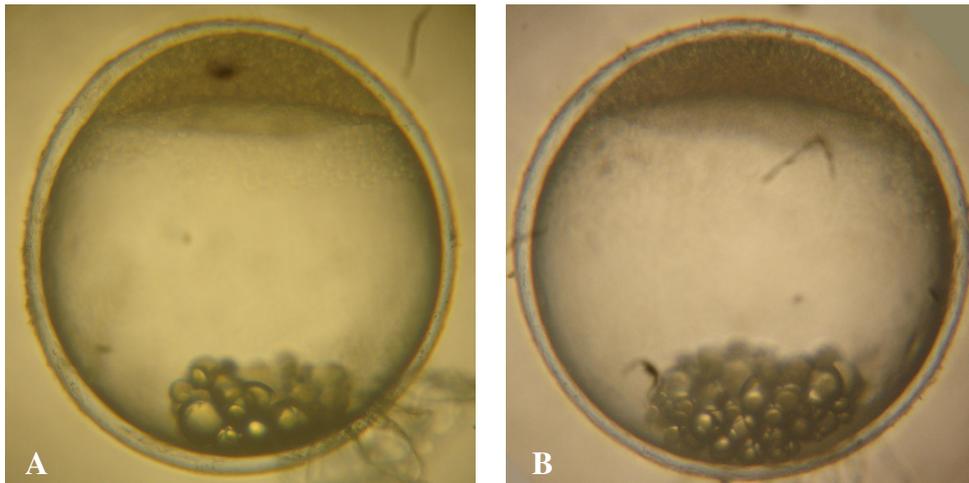


Figura 10 – Desenvolvimento Embrionário de *M. praecox* durante o período de blástula. Estágio Oval (A); Estágio Esférico (B).

5.3.3. Período de Gástrula

O período de gástrula foi caracterizado pelos movimentos de epibolia, onde o movimento das células blastodérmicas recobriu a massa vitelínica e pela migração, onde as células mais internas da blastoderme deslocaram-se dorsal e convergentemente, formando o eixo embrionário. Nesse período, a blastoderme formou uma pequena cúpula sobre a vesícula vitelínica. A cada observação, notava-se que a cobertura que, inicialmente era de 5%, aumentou gradativamente.

No momento em que foi verificado que o vitelo estava recoberto em 50% da sua extensão (Fig. 11A), já se observava que a borda marginal da blastoderme havia se espessado formando o anel germinativo, onde iniciou-se um acúmulo de células perpendicular ao anel germinativo, que deu origem ao escudo embrionário sobre o qual formou-se posteriormente o eixo embrionário.

Com a evolução gradativa da gástrula, as bordas da blastoderme foram se aproximando. Na fase de gástrula 90% (Fig. 11B), visualizava-se as gotas de óleo acumuladas no espaço em que as bordas ainda não haviam recoberto. Algum tempo depois as bordas da blastoderme se fundiram, cobrindo 100% da vesícula vitelínica, caracterizando, assim, o momento de fechamento do blastóporo.

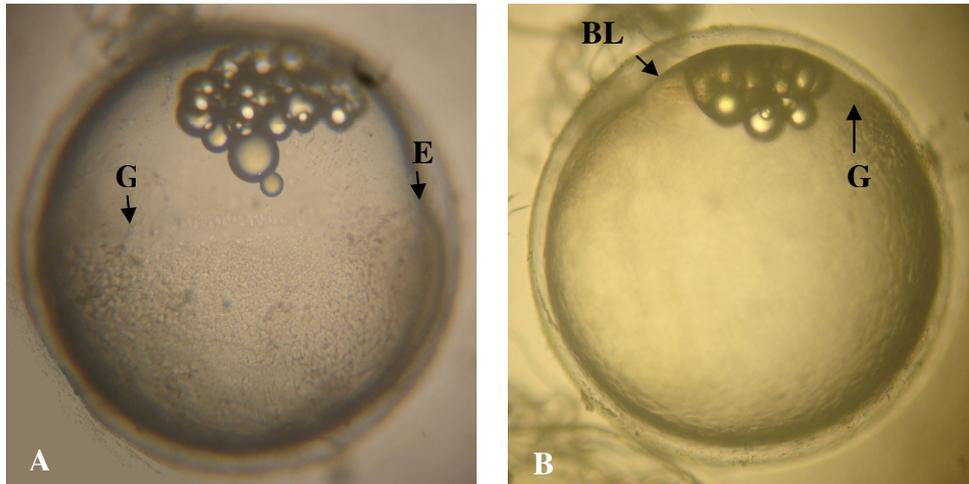


Figura 11 – Desenvolvimento Embrionário de *M. praecox* durante o período de gástrula. Gástrula 50% (A); Gástrula 90% (B); anel germinativo (G), blastóporo (BL), eixo embrionário (E).

5.3.4. Período de Organogênese

A organogênese teve início ao final do período de gástrula e foi observada até o momento da pré-eclosão. Durante a organogênese, os tecidos e os órgãos se diferenciaram. Entre os eventos desse período foram observados a diferenciação de órgãos visuais e auditivos, pigmentação e início dos batimentos cardíacos, entre outros. Essas características são importantes e muito utilizadas na descrição morfofisiológica e identificação dos estágios de desenvolvimento dessa família (HUMPHREY *et al.*, 2003; REID e HOLDWAY, 1995). Os principais eventos observados estão descritos a seguir.

Diferenciação da Cabeça e da Cauda

A partir do desenvolvimento do eixo embrionário, uma das extremidades iniciou a diferenciação na porção anterior do corpo embrionário, mostrando-se de forma mais proeminente, dando origem à região cefálica do embrião (Fig. 12A).

Primórdio Óptico

O primórdio óptico (Fig. 12B) é formado a partir de uma evaginação ocorrida na parede lateral da região cefálica do embrião. Ele surge inicialmente como um par de vesículas ópticas rudimentares, sem coloração e delimitação de estruturas.

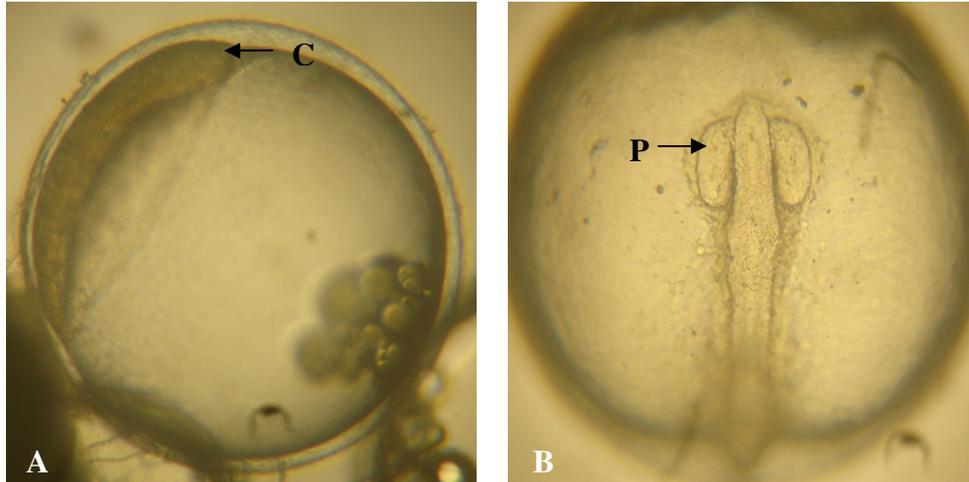


Figura 12 – Desenvolvimento Embrionário de *M. praecox* durante o período de organogênese. Diferenciação de cabeça e cauda (A); Diferenciação de primórdio óptico (B); cabeça (C); primórdio óptico (P).

Somitos

Na região mediana do embrião ocorreu a diferenciação de somitos rudimentares, que darão origem às vértebras, costela e musculatura axial. Estes, a princípio, apresentaram-se em poucos pares e tinham forma elíptica. Durante o desenvolvimento foram surgindo outros pares e, após algum tempo, adquiriram a forma de “v” (Fig. 13A).

Vesícula de Kupffer

Na região oposta à cabeça surgiu a vesícula de Kupffer (Fig. 13A), que apresenta-se em formato de bolha e, segundo Moura (1991), possui função excretora.

Formação do Condrocrânio

Na região cefálica, foi possível visualizar a estrutura cranial cartilaginosa do embrião que dará origem a base do crânio que sustenta o encéfalo. A estrutura apresentou-

se na região mediana e com a região central mais escura, semelhante a uma fissura (Fig. 13B).

Vesícula Óptica

Foi possível observar a diferenciação da retina no primórdio óptico, que surgiu de forma mais delimitada e um pouco mais escura na região central, dando início à diferenciação da vesícula óptica (Fig. 13B).

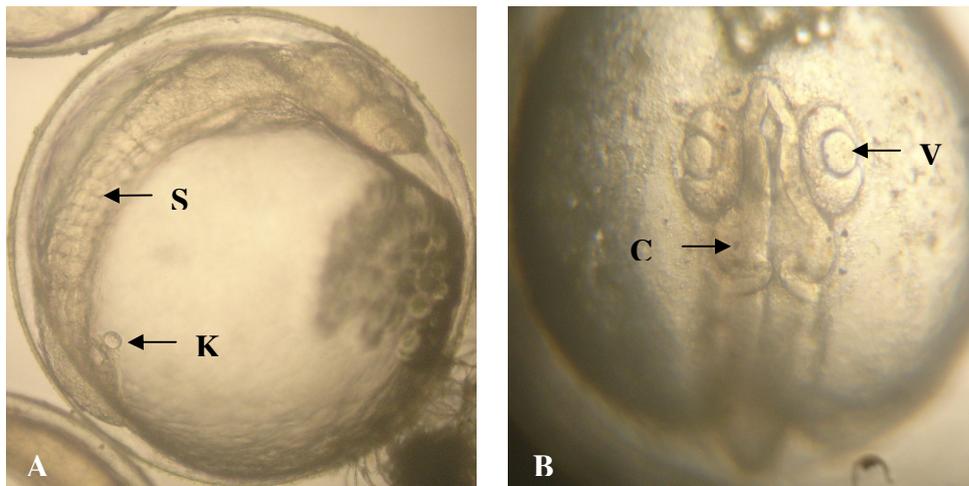


Figura 13 – Desenvolvimento Embrionário de *M. praecox* durante o período de organogênese. Somitos (S); vesícula de Kupffer (K); condrocânio (C), vesícula óptica (V).

Vesícula Ótica

O surgimento e diferenciação da vesícula ótica foram observados nos embriões. A princípio foi observado um par de otólitos em cada vesícula e, no final do desenvolvimento, 2 pares eram visíveis.

Coração

O coração embrionário foi observado inicialmente como uma simples região da veia axial na mesoderme que inicia movimentos peristálticos, promovendo lentamente a circulação do sangue. Mais tarde, o coração passa a ter duas câmaras definidas, trabalhando em movimentos antagônicos de sístole e diástole, representando o átrio e o ventrículo.

Melanóforos

Os melanóforos (Fig. 14A) surgiram aleatoriamente ao longo do eixo embrionário, passando logo depois para a vesícula vitelínica. Inicialmente, são dendríticos, assumindo ao longo do desenvolvimento o formato puntiforme.

Circulação Sanguínea

A circulação inicia-se sobre o eixo embrionário, a princípio, lentamente, depois passa a apresentar uma maior velocidade no fluxo sanguíneo. Ao longo do desenvolvimento, notou-se que havia ramificações de vasos sanguíneos sobre a vesícula vitelínica, promovendo a irrigação sanguínea sobre a região periférica do vitelo. Inicialmente, a circulação é incolor, mas assume o tom avermelhado ao longo do desenvolvimento embrionário.

Movimentação do embrião

As contrações musculares iniciam-se com pouca frequência na repetição dos espasmos. Mas vão se intensificando, em especial, próximo ao momento da eclosão. Nessa fase, os animais se movimentam de forma intensa, inclusive com movimentos rotatórios dentro do ovo.

Nadadeira peitoral

As nadadeiras peitorais (Fig. 14B) iniciaram seu desenvolvimento ainda na fase embrionária e foram evidenciadas no eixo embrionário por uma clara região oval bilateral e simétrica ao final da região cefálica. Ao final da diferenciação das nadadeiras peitorais, os embriões iniciaram a movimentação das nadadeiras, com batimentos rápidos e bem espaçados.

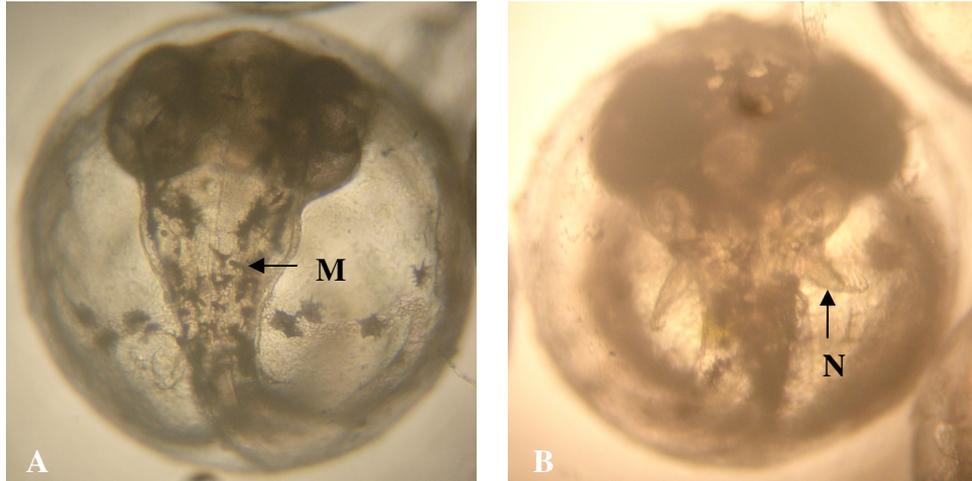


Figura 14 – Desenvolvimento Embrionário de *M. praecox* durante o período de organogênese. Melanóforos (M); nadadeiras (N).

Movimentação dos olhos

Após o desenvolvimento da pigmentação do cristalino e da pigmentação da retina os olhos passaram a mover-se.

Abertura da boca

Foi possível identificar previamente o delineamento da boca, que abriu-se mesmo antes da eclosão e apresentou movimentos lentos e espaçados.

5.3.5. Eclosão

Nas últimas observações antes da eclosão das larvas, observava-se que os embriões estavam muito pigmentados e que o espaço perivitelínico no ovo era muito reduzido.

A saída das larvas mediante o rompimento do córion aconteceu de maneira muito rápida. As larvas recém eclodidas eram muito ativas e possuíam muita habilidade natatória. Possuíam rápida movimentação dos opérculos, movimentação da boca e do trato digestório e também apresentavam otólitos proeminentes. Foi possível observar que as larvas recém-eclodidas continham um volume residual de vitelo e nesse resíduo ainda foi possível visualizar gotas de óleo. Encontravam-se bastante pigmentadas, com os olhos escuros e muitos melanóforos espalhados por todo o corpo (Fig. 15).

O enchimento da bexiga natatória nas larvas recém eclodidas de *M. praecox* não foi observado, mas as larvas não afundavam quando paravam de nadar. A frequência média de batimentos cardíacos das larvas recém eclodidas de *M. praecox* foi de $186,40 \pm 26,95$ por minuto.



Figura 15 – Larva de *Melanotaenia praecox* recém eclodida. Melanóforos (M); nadadeiras (N), olhos (O), boca (B).

5.4. Tempo de Ocorrência dos Eventos

As fases iniciais da clivagem não apresentaram grande divergência dos horários de ocorrência nas temperaturas utilizadas. As divisões ocorreram em média a cada 30 minutos. Intervalo semelhante ao observado por outros autores em trabalhos com teleósteos. Os principais eventos e seu respectivo tempo de ocorrência podem ser verificados para cada temperatura no apêndice.

O período de blástula teve início às 6,65 hpf/ 151,5 hgpf na temperatura de 24°, 4,5 hpf e 117 e 125,83 hgpf nas temperaturas de 26° e 28°, respectivamente, 4,25 hpf/ 129,63 hgpf na temperatura de 30° e 4,00 hpf/ 128,00 hgpf na temperatura de 32°. Em embriões de *Betta splendens*, tal evento foi observado às 4,50 hpf e 126,00 hgpf e em *Glossolepis incisus* às 3,50 hpf e 107,32 hgpf (DUARTE, 2009; FERREIRA, 2007), ambos na temperatura de 28°.

O estágio oval foi observado em 8,77 hpf e 213,24 hgpf na temperatura de 24°, 7,72 hpf e 197,83 hgpf na temperatura de 26°, em 5,75 hpf e 157,75 hgpf na temperatura de 28° e 5,96 hpf e 176,54 hgpf na temperatura de 30°. Na incubadora de 32° esta fase não foi visualizada. Na temperatura de 28°, Duarte (2009) fez tal observação a 7,00 hpf e 196,00 hgpf em *B. splendens*, já Ferreira (2007) observou o estágio oval a 5,83 hpf e 149,32 hgpf em *G. incisus*, tempo semelhante ao encontrado para *M. praecox* na mesma temperatura.

As 10,35 hpf e 251,95 (24°), 8,5 hpf e 222,00 hgpf (26°), 7,33 hpf e 205,33 hgpf (28°), 5,5 hpf e 167,75 hgpf (30°) e 6,7 hpf e 216,67 hgpf (32°), o estágio esférico, última fase do período de blástula, foi observado.

Após intensa proliferação celular, a camada de células somáticas começou a envolver o saco vitelínico, sendo possível observar o processo de gastrulação. O processo de epibolia foi observado pela primeira vez às 13,17 hpf/298,08 hgpf em 24°, 9,59 hpf/265,88 hgpf em 28°, 8,36 hpf/255,01 hgpf em 30° e às 8,00 hpf/256,00 hgpf em 32°. A blastoderme formou, a princípio, um pequeno arqueamento sobre a vesícula vitelínica, com cobertura de 5%. Ferreira (2007) observou início da gástrula em *G. incisus* (Melanotenídeo) a 7,33 hpf, para *Astyanax cf. bimaculatus* (Chacariforme). Ferreira *et al.* (2006) observaram início da gástrula em 2 hpf e duração em torno de 3,5 hpf a 28°C. Para outros melanotenídeos, Humphrey *et al.* (2003) relataram para *Melanotaenia splendida splendida* início da gástrula em torno de 10,0 hpf e Reid e Holdway (1995) observaram início da gástrula em torno de 13,0 hpf para *Melanotaenia fluviatilis*. O tempo de desenvolvimento pode estar relacionado à família a qual o animal pertence, mas mesmo assim podem apresentar disparidades, sendo, portanto, importante estudar os animais individualmente. Com 11,17 hpf e 360,33 hgpf, todos os embriões da incubadora de 32° haviam morrido.

A metade da vesícula vitelínica estava coberta com a evolução da blastoderme às 16,58 hpf/406,49 hgpf na incubadora de 24°, 14,5 hpf/369,00 hgpf em 26°, 12,36 hpf/354,68 hgpf em 28° e 12,00 hpf/360,00 hgpf em 30° (gástrula 50%). Paes (2008) verificou esse estágio após 6,00 hpf, em *Astronotus ocellatus*. E em *P. scalare* incubado a 28°, a gástrula 50% foi visualizada em 11,00 hpf (RADAEL, 2009).

Ainda no período de gástrula, foi observada a diferenciação do eixo embrionário que ocorreu às 19,75 hpf/470,2 hgpf (24°), 15,00 hpf/375,00 hgpf (26°) e em 12,08 hpf/344,37 hgpf (28°). Em *M. s. splendida*, a diferenciação do eixo

embrionário e do anel germinativo ocorreu no estágio de gástrula 70% (HUMPHREY *et al.*, 2003). Em *G. incisus* foi observado às 12,33 hpf (FERREIRA, 2007). Reid e Holdway (1995) observaram a diferenciação do eixo embrionário com 15,00 hpf em *M. fluviatilis* também durante o período de gástrula .

Em 19,00 hpf/455,99 (24°), 18,5 hpf/471,75 hgpf (26°), 14,00 hpf/406,00 hgpf (28°) e 13,75 hpf/412,5 hgpf (30°) a cobertura da blastoderme estava sobre 95% da vesícula vitelínica e, nesse momento, evidenciou-se a borda da blastoderme formando o blastóporo. Na observação ocorrida às 21,83 hpf/520,49 hgpf (24°), 19,33 hpf/485,83 hgpf (26°), 15,38 hpf/430,69 hgpf (28°) e 13,99 hpf/420,00 hgpf (30°), as bordas da blastoderme haviam se encontrado e se fundido cobrindo 100% da vesícula vitelínica. Esse evento foi citado em *M. nigrans* e *M. s. inornata* próximo às 18,0 hpf (REID e HOLDWAY, 1995), em *M. s. splendida* próximo às 12,5 hpf (HUMPHREY *et al.*, 2003) e em *G. incisus* às 11,8 hpf (FERREIRA, 2007). Em peixes reofílicos brasileiros, percebe-se um desenvolvimento embrionário mais rápido. Foi observado, por exemplo, para embriões de *Brycon orbygnianus*, o fechamento do blastóporo às 6,5 hpf (REYNALTE-TATAJE *et al.*, 2004) e para *Brycon insignis* 5,5 hpf e 161,0 hgpf (SOUZA *et al.*, 2004). Ferreira *et al.* (2006) relataram o fechamento do blastóporo em *A. bimaculatus* também com 5,5 hpf.

Durante o desenvolvimento do eixo embrionário, uma das extremidades inicia a diferenciação na porção anterior do corpo embrionário, dando origem à região cefálica do embrião, ocorrendo, desta forma, a diferenciação da cabeça e da cauda. Tal evento ocorre as às 24,17 hpf/ 572,08 hgpf (24°), 20,67 hpf/518,67 hgpf (26°), 16,5 hpf/465,75 hgpf (28°) e 15,62 hpf/472,57 hgpf (30°).

O primórdio óptico é observado inicialmente às 26,00 hpf e 633,33 hgpf a 24°, às 21,89 hpf e 568,25 hgpf a 26°, às 17,5 hpf e 487,08 hgpf a 28° e às 17,5 hpf e 521,92 hgpf a 30°. A vesícula de Kupffer é evidenciada em 29,5 hpf/722,74 hgpf (24°), 24,17 hpf/624,33 hgpf (26°), 18,67 hpf/ 519,58 hgpf (28°), 18,33 hpf/550,00 hgpf (30°).

Os somitos são visualizados inicialmente em aproximadamente 7 pares. A princípio, a visualização foi feita em 32,17 hpf/788,08 hgpf (24°), 26,28 hpf/634,83 hgpf (26°), 18,17 hpf/502,5 hgpf (28°) e 20,33 hpf/604,5 hgpf (30°). Duarte (2009) observou a formação dos somitos em 19,5 hpf e 546,0 hgpf em *B. splendens*. No decorrer do desenvolvimento, a quantidade de somitos foi aumentando e, às 66,00

hpf/1595,49 hgpf (24°), 36,83 hpf/949,48 hgpf (26°), 42,5 hpf/1199,75 hgpf (28°), 32,75 hpf/998,88 hgpf (30°), eles já estavam em formato de “V”.

A formação do condrocânio foi observada em 43,5 hpf/ 1044,00 hgpf (24°), 30,5 hpf/ 796,92 hgpf (26°), 24,17 hpf/ 685,08 hgpf (28°), 25,16 hpf/ 758,92 hgpf (30°). Fujimoto *et al.* (2006), para a espécie *M. anguillicaudatus*, e Ferreira (2007), para *G. incisus*, descreveram esse evento às 23,00 hpf, horário próximo ao observado na temperatura de 28°.

Em 43,6 hpf/1044,99 hgpf (24°), 29,00 hpf/745,75 hgpf (26°), 24,83 hpf/ 700,00 hgpf (28°), 25,81 hpf/774,33 hgpf (30°), foi observada a vesícula óptica e a vesícula ótica estava visível em 59,17 hpf/ 1449,58 hgpf (24°), 33,00 hpf/ 862,75 hgpf (26°), 32,83 hpf/ 924,5 hgpf (28°), 30,25 hpf/ 913,75 hgpf (30°).

O batimento cardíaco foi observado em 55,33 hpf e 1327,99 hgpf em 24°, em 39,83 hpf e 1034,75 hgpf em 26°, em 40,44 hpf e 1147,09 hgpf em 28°, em 28,66 hpf e 865,00 hgpf em 30°. Foram observados, inicialmente, 49,33 batimentos em média para os embriões a 24°, 50,66 batimentos em média para os embriões a 26°, 99,66 batimentos em média para os embriões a 28° e 52 batimentos em média para os embriões a 30°. Crowley & Ivantsoff (1982) descreveram o início de batimento cardíaco em *M. nigrans* e *M. s. inornata* com 47,00 hpf a 25°C. Para *M. fluviatilis*, Reid & Holdway (1995) relataram que os batimentos cardíacos iniciaram às 46,00 hpf, com uma média de 72 batimentos por minuto, enquanto Ferreira (2007) descreveu, para embriões de *G. incisus*, o início do batimento cardíaco às 27,00 hpf, com média de 50,44 batimentos por minuto.

Os melanóforos foram visualizados com 35,15 hpf/861,59 hgpf (24°), 41,75 hpf/1091,2 hgpf (26°), 33,00 hpf/ 940,5 hgpf (28°), 29,99 hpf/900,00 hgpf (30°), inicialmente, sobre o vitelo, passando no decorrer do desenvolvimento a ser observado também no embrião. Os melanóforos também foram relatados por Ferreira (2007), trabalhando com *G. incisus*, que os verificou com 28,0 hpf, e em *M. fluviatilis* por Reid & Holdway (1995).

O início da circulação sanguínea foi observado às 83,00 hpf e 1991,98 hgpf em 24°, às 44,3 hpf e 1154,42 hgpf em 26°, às 36,5 hpf e 1034,42 hgpf em 28°, às 34,26 hpf e 1027,87 hgpf em 30°. Duarte (2009) observou circulação em *B. splendens* às 27,00 hpf e 756,00 hgpf. Ferreira (2007) verificou em *G. incisus* circulação sanguínea às 34,0 hpf. Humphrey *et al.* (2003) citam, em *M. s. splendida*,

o início da circulação sobre a vesícula em 30,5 hpf. Reid & Holdway (1995) descrevem, em *M. fluviatilis*, o início da circulação próximo às 50,0 hpf.

Foi observado que a retina estava pigmentada em 94,5 hpf/ 2220,99 hgpf (24°), 78,66 hpf/2059,67 hgpf (26°), 51,00 hpf/1453,5 hgpf (28°) e 44,00 hpf/1320 hgpf (30°). E em 123,00 hpf e 3136,5 hgpf em 26°, em 128,00 hpf e 3556,25 hgpf em 28° e em 107,00 hpf e 3210,00 hgpf em 30° os olhos estavam se movimentando.

Com 75,00 hpf/1837,5 hgpf em 24°, 51,33 hpf/1360,33 hgpf em 26°, 42,5 hpf/1195,92 hgpf em 28°, 45,00 hpf/1350,00 hgpf em 30°, o coração estava totalmente formado, apresentando duas câmaras.

Começou a se observar contrações do embrião as 56,33 hpf/1482,67 hgpf (26°), 48,5 hpf/1358,00 hgpf (28°) e 37,17 hpf/1133,58 hgpf (30°). Algum tempo depois as 72,00 hpf/1826,00 hgpf (26°), as 64,5 hpf/1846,42 hgpf (28°), as 49,75 hpf/1492,5 hgpf (30°), o botão caudal estava liberado.

Assim como observado em *M. fluviatilis* (REID & HOLDWAY,1995), em *M. s. splendida* (HUMPHEY *et al.*, 2003) e *G. incisus* (FERREIRA, 2007), as nadadeiras peitorais iniciaram seu desenvolvimento ainda na fase embrionária. O início do desenvolvimento da nadadeira peitoral foi observado por Reid & Holdway (1995) em *M. fluviatilis* às 46,00 hpf, por Humphrey *et al.* (2003) em *M. s. splendida* às 48,00 hpf e por Ferreira (2007) em *G. incisus* às 57,83 hpf e 1635,62 hgpf. Em *M. praecox* as nadadeiras foram observadas às 72,56 hpf e 1922,8 hgpf em 26°, às 65,33 hpf e 1835,67 hgpf em 28° e às 70,66 hpf e 2075,83 hgpf em 30°.

A circulação estava pigmentada em 117,00 hpf/1807,98 hgpf (24°), 67,5hpf/1804,25 hgpf (26°), 51,17hpf/ 1570,58 hgpf (28°), 68,00 hpf/2040 hgpf (30°). Em *G. incisus* a pigmentação do sistema circulatório foi observada às 59,75 hpf e 1682,52 hgpf (FERREIRA, 2007). Já Luz & Zaniboni Filho (2002) verificaram esta pigmentação pouco antes da eclosão das larvas de *Pimelodus maculatus*, que aconteceu com 21,20 hpf.

A abertura da boca foi observada às 119,67 hpf e 3327,83 hgpf na temperatura de 28° e às 112,5 hpf e 3375,00 hgpf na temperatura de 30°. Em *G. incisus* esse evento foi descrito às 97,00 hpf e 2698,60 hgpf (FERREIRA, 2007).

Às 133,83 hpf e 3232,24 hgpf, todos os embriões da temperatura de 24° haviam morrido.

As eclosões dos embriões tiveram início em 101, 49 hpf e 3958,28 hgpf (26°), 137,33 hpf e 3803,58 hgpf (28°) e 118,84 hpf e 3595,00 hgpf (30°), com duração até

297,91 hpf e 7745,66 hgpf, na temperatura de 26°, 171,54 hpf e 4803,12 hgpf, na temperatura de 28°, 177,00 hpf e 5310,00 hgpf, na temperatura de 30°. O tempo de desenvolvimento embrionário apresentado é considerado relativamente alto para os peixes nacionais (NAKATANI *et al.*, 2001; REYNALTE-TATAJE *et al.*, 2004). Contudo, o tempo de desenvolvimento embrionário entre 6 e 7 dias é comumente observado na literatura para animais do gênero *Melanotaenia*. Para *M. s. inornata* e *M. niigrans*, Ivantsoff *et al.* (1988) observaram tempo de eclosão entre 4 a 5 dias na temperatura de 26°C. Para *M. fluviatilis* o período de eclosão observado foi entre 7 e 9 dias (REID & HOLDWAY, 1995). Em *M. s. splendida* o tempo para eclosão observado esteve entre 4 e 8 dias (HUMPHREY *et al.*, 2003). Já para *G. incisus*, foi observado um tempo entre 5 e 6 dias a 28°C (FERREIRA, 2007).

A saída das larvas mediante o rompimento do córion aconteceu de maneira muito rápida semelhantemente ao observado por Humphrey *et al.* (2003) para *M. s. splendida*. As larvas recém eclodidas, do mesmo modo que *M. s. splendida* (HUMPHREY *et al.*, 2003) e *M. fluviatilis* (REID e HOLDWAY, 1995), eram muito ativas e possuíam muita habilidade natatória. As larvas recém eclodidas possuíam rápida movimentação dos opérculos, movimentação da boca e do trato digestório, e também apresentavam otólitos proeminentes como observado em *M. fluviatilis* (REID e HOLDWAY, 1995) e *M. s. splendida* (HUMPHREY *et al.*, 2003).

O tempo de surgimento dos eventos morfofisiológicos observados durante o desenvolvimento de embriões de *M. praecox* foi correlacionado e os resultados podem ser observados na tabela 2.

A maioria dos estádios elencados (expressos em horas após a fecundação) apresentou mais de uma correlação significativa. Esperavam-se correlações apenas entre eventos temporalmente próximos, entretanto foi observada correlação entre a fase esférica (desenvolvimento recente) e a diferenciação de cabeça e cauda, próximo ao fechamento do blastóporo. Também, foi observada correlação entre a fase oval (desenvolvimento recente) e o primórdio óptico, que surge apenas após o fechamento do blastóporo, no período da organogênese. Entre eventos temporalmente próximos, e mais adiantados, foi observada alta correlação, como entre o blastóporo fechado e a diferenciação de cabeça e cauda, entretanto entre o blastóporo fechado e os melanóforos dendríticos, que são temporalmente distantes, também foi observada correlação. Outros eventos também apresentaram boa correlação como o primórdio óptico e a formação de somitos, a circulação sanguínea

e os otólitos, gástrula 30% e a vesícula de Kuppfer, dentre outros. O que demonstra que a correlação nesse caso, existe tanto entre os eventos próximos como o observado para 2 e 4 células, como para os eventos distantes no tempo de desenvolvimento e entre si.

Tabela 2. Principais correlações observadas entre os eventos morfofisiológicos em horas após a fecundação de embriões de *M. praecox*.

EVENTOS CORRELACIONADOS		CORRELAÇÕES(%)
2 células	4 células	100,00
2 células	8 células	81,15
2 células	32 células	69,39
2 células	64 células	64,66
4 células	8 células	81,15
4 células	2 células	69,39
4 células	64 células	64,66
8 células	32 células	92,26
8 células	64 células	75,45
32 células	64 células	83,70
Fase esférica	Diferenciação de cabeça e cauda	92,45
Fase oval	Diferenciação de cabeça e cauda	90,91
Fase oval	Primórdio óptico	93,37
Gástrula 30%	Formação de somitos	95,73
Gástrula 30%	Vesícula de Kuppfer	93,76
Gástrula 50%	Diferenciação de cabeça e cauda	94,76
Gástrula 50%	Primórdio óptico	95,59
Diferenciação de cabeça e cauda	Primórdio óptico	98,49
Blastóporo fechado	Diferenciação de cabeça e cauda	96,61
Blastóporo fechado	Primórdio óptico	93,54
Blastóporo fechado	Melanóforo dendrítico	92,89
Blastóporo fechado	Vesícula de Kuppfer	92,52
Formação do condrocrânio	Circulação sanguínea	96,81
Formação do condrocrânio	Otólitos	96,28
Formação do condrocrânio	Melanóforos dendríticos	93,42
Primórdio óptico	Formação de somitos	90,28
Primórdio óptico	Vesícula de Kuppfer	91,14
Vesícula ótica	Somitos em "V"	96,22
Formação dos somitos	Vesícula de kuppfer	92,41
Circulação sanguínea	Otólitos	99,40
Circulação sanguínea	Melanóforos dendríticos	93,30

O efeito da temperatura sobre as variáveis pode ser descrito por equações, que podem ser observadas na tabela 3, a seguir e nos gráficos apresentados no apêndice.

Tabela 3. Efeito da temperatura sobre as variáveis

VARIÁVEL	EQUAÇÃO	R ²
128 Células	$\hat{Y} = 61,743 - 3,828x + 0,0634x^2$	0,876167
Gástrula 30%	$\hat{Y} = 25,3630 - 0,511500x$	0,762323
Gástrula 40%	$\hat{Y} = 26,0990 - 0,499500x$	0,884490
Gástrula 45%	$\hat{Y} = 34,8390 - 0,779500x$	0,897766
Gástrula 50%	$\hat{Y} = 36,3730 - 0,831500x$	0,926521
Gástrula 60%	$\hat{Y} = 44,7360 - 1,12550x$	0,956873
Fechamento do Blastóporo	$\hat{Y} = 54,717 - 1,3735x$	0,971370
Diferenciação de Cabeça e Cauda	$\hat{Y} = 59,4970 - 1,4910x$	0,946761
Formação do Condrocrânio	$\hat{Y} = 746,702 - 50,2837x + 0,874375 x^2$	0,999911
Primórdio Óptico	$\hat{Y} = 61,074 - 1,4945x$	0,893697
Formação dos Somitos	$\hat{Y} = 447,400 - 29,3502x + 0,503125 x^2$	0,934552
Formação dos Melanóforos Dendríticos	$\hat{Y} = 657,619 - 41,8345x + 0,701250 x^2$	0,985140
Vesícula de Kuppfer	$\hat{Y} = 75,3310 - 1,95050x$	0,908694
Circulação Sanguínea	$\hat{Y} = 1907,26 - 130,753x + 2,2787 x^2$	0,979294
Otólitos	$\hat{Y} = 968,946 - 51,7457x + 0,656875 x^2$	0,953791
Batimento Cardíaco	$\hat{Y} = 148,255 + 3,970x$	0,877336
Retina Pigmentada	$\hat{Y} = 308,906 - 8,9580x$	0,956902
Pigmentação da Circulação	$\hat{Y} = 3297,85 - 232,030x + 4,1456 x^2$	1,000000

O ponto ótimo para cada variável foi: 30,19°C para 128 células, 27,62°C para formação do condrocrânio, 28,75°C para a formação de somitos, 29,83°C para melanóforos dendríticos, 28,69°C para circulação sanguínea, 39,39°C para surgimento dos otólitos e 27,98°C para pigmentação da circulação.

As variáveis gástrula 30%, gástrula 40%, gástrula 45%, gástrula 50%, gástrula 60%, fechamento do blastóporo, diferenciação de cabeça e cauda, primórdio óptico, vesícula de Kuppfer e retina pigmentada apresentam equação linear decrescente. Já a variável batimento cardíaco apresenta equação linear crescente.

5.5. Porcentagem de Eclosão

Os ovos de *M. praecox* começaram a eclodir em aproximadamente 144,00 hpf. Os ovos incubados a 32° e 30° graus iniciaram a eclosão antes dos demais, os

da incubadora de 28° deram início as eclosões por volta das 168,00 hpf e a partir de 192 hpf, os ovos das incubadoras de 26° e 24° graus começaram a eclodir. As eclosões tiveram duração de 09 dias.

Os ovos da incubadora de 32° tiveram índice de eclosão de 27,5%, os da incubadora de 30° e 28° de 55%, na incubadora de 26°, a taxa de eclosão foi de 70% e na de 24° foi de 40%.

Com base nesses dados, a variação na taxa de eclosão em função da temperatura pode ser descrita pela equação:

$$\hat{Y} = -1293 + 98,95 x - 1,804 x^2$$

(em que: x = temperatura)

Que apresenta máximo no ponto de 27,43 graus Celsius, com taxa de eclosão máxima de 63,86%.

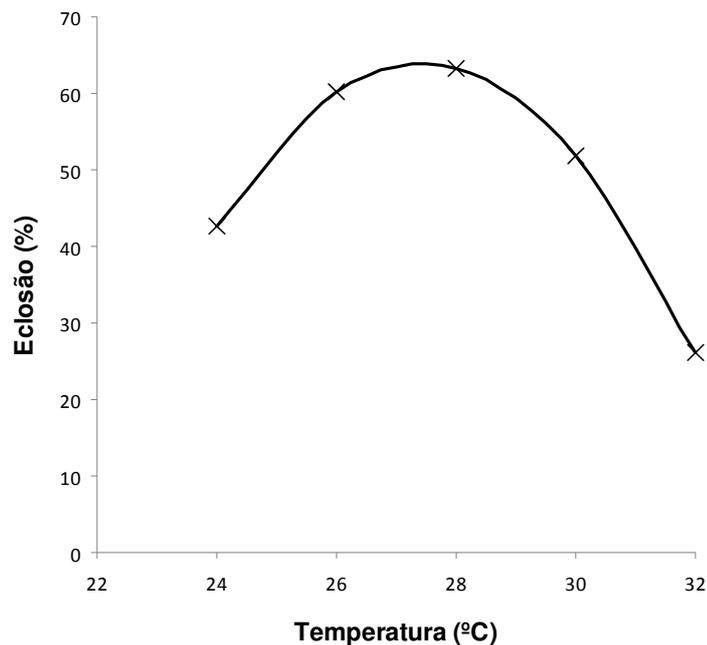


Figura 16. Porcentagem de eclosão dos embriões nas temperaturas teste.

Nessa fase do experimento, foi verificado que a manipulação dos ovos afeta o desenvolvimento dos mesmos, ou a porcentagem de eclosão. Dado que se observou que, quando não houve manipulação, ocorreram eclosões em todas as temperaturas teste e, no caso da manipulação para descrição morfofisiológica, os

embriões mantidos nas incubadoras com água a 24°C e 32°C morreram antes do momento da eclosão.

6. CONCLUSÕES

O embrião tem fases de desenvolvimento embrionário semelhantes ao observado em outras espécies de teleósteos.

A temperatura de incubação exerceu sobre a aceleração do processo de desenvolvimento embrionário não foi relevante, portanto, não é o principal fator a ser observado no processo de incubação.

A manipulação dos ovos durante o período de incubação deve ser evitada, pois a mesma influencia o processo de desenvolvimento embrionário, afetando inclusive na eclosão dos animais.

A temperatura de 27,43°C demonstra melhor resultado na porcentagem de eclosão dos animais, sendo, com isso, a mais indicada para o processo de desenvolvimento embrionário da *Melanotaenia praecox*.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, G. R., OHEE, H., BOLI, P., BAWOLE, R. & WARPUR, M. (2002) *Fishes of the Youngsu and Dabra areas, Papua, Indonesia*. In: RICHARDS, S e SURYADI, S. The RAP Bulletin of Biological Assessment. Ed. Conservation International, 2002, p. 67-72.
- ANDREWS, C.. The ornamental fish trade and fish conversation. **Journal Fish**, London, v. 37, n. , p.53-59, 1990.
- ARITAKI, Masato; SEIKAI, Tadahisa. Temperature effects on early development and occurrence of metamorphosis-related morphological abnormalities in hatchery-reared brown sole *Pseudopleuronectes herzensteini*. **Aquaculture**, USA, v. 240, p.517-530, 2004.
- AYALA, M. D. et al. Temperature effects on muscle growth of the axial musculature of the sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). **Anat. Histol. Embryol.**, Philadelphia, v. 29, n. , p.235-241, 2000.
- AYALA, M. D. et al. Temperature effects on muscle growth in two populations (Atlantic and Mediterranean) of sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. **Aquaculture**, USA, v. 202, p.359-370, 2001.
- AYRES, Thomaz Jordão de Sousa. **Produção de Juvenis de *Pseudoplatystoma coruscans* (Agassiz, 1829) com Dietas Vivas e Formuladas**. 2006. 68 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Aquicultura, UNESP, Jaboticabal, 2006

- BAGENAL, T. B.; BRAUM, E.. Eggs and early life history. In: BAGENAL, T. B.. **Methods for assessment of fish production in fresh waters**. 3. ed. Oxford: Blackwell Scientific, p. 165-201. 1978.
- BALON, E. K.. Reflections on Some Decisive Events in the Early Life of fishes. **Transations Of Americans Fisheries Society**, Bethesda, v. 113, n. 2, p.178-185, 1984.
- BLAXTER, J. H. S.. Development of Sense Organs and Behaviour of Teleost Larvae whith Special Reference to Feeding and Predator Voidance. **Transations Of Americans Fisheries Society**, Bethesda, v. 115, p.98-114, 1986.
- BLAXTER, J. H. S.. Pattern and variety in development: Eggs and larvae. In: HOAR, W. S.; RANDALL, D. J.. **Fish physiology**. 11. ed. San Diego: Academic Press, Cap. 01, p. 01-58. 1988.
- CHAO, N. L.. **Conservation and management of ornamental fish resources of the Rio Negro basin, Amazonian, Brazil - Project Piaba**. Manaus: Editora da Universidade de Manaus, 310 p. 2001.
- CHAPMAN, F. A.; FITZ-COY, S.; THUNBERG, J. T.. United States of America Internacional Trade in ornamental fish. **Journal World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 28, n. 1, p.1-10, 1997.
- CLAVIJO-AYALA, Jhon Alejandro. **Ontogenia do Sistema Sensorial do Pacu *Piaractus mesoptamicus* (Holmberg, 1887) (Characidae: Serrasalminidae)**. 2008. 53 f. Dissertação (Mestrado) - UNESP, Jaboticabal, 2008.
- CROWLEY, L. E. L. M.; IVANTSOFF, W.. Reproduction and early stages of development in two species of Auatralian rainbowfishes, *Melanotaenia nigrans* (Richardson) and *Melanotaenia splendida inornata* (Castelnau). **Australian Zoologist**, New South Wales, v. 21,p.85-95, 1982.

- CUSSAC, V. E.; MATKOVIC, M.; MAGGENE, M. M.. Desarrolo embrionario de *Rhamdia sapo* (Valenciennes, 1840) Eigenmann y Eigenmann, 1888: (Pises, Pimelodidae. II. Organogênégis media, organogênégis tardia y eclosión). **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos - Sp, v. 25, n. 1/2, p.40-49, 1985.
- DUARTE, Shaytner Campos. **Ontogenia Inicial e Consumo de Vitelo em Embriões de *Betta splendens***. 2009. 52 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Aquicultura Continental, Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2009.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. State of world aquaculture: 2006. FAO Fisheries Technical Paper. No. 500. Rome, FAO. 2006. 134p. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/RecursosPesqueiros/DocumentosTécnicos/ Estatística 2004>. Acesso em: 12 de dezembro de 2009.
- FERNANDEZ-PALÁCIOS, H. *et al.* First studies on spawning, embryonic and larval development of *Dentex gibborsus* (Rafinesque, 1810) (Osteichthyes, Sparidae) under controlled conditions. **Aquaculture**, Usa, v. 122, n. , p.63-73, 1994.
- FERREIRA, A.V. *et al.* Eventos morfo-fisiológicos da ontogenia em ovos de lambarido-rabo-amarelo *Astyanax aff. A. bimaculatus*, Linnaeus, 1758. In: AQUACIÊNCIA, 2006, Bento Gonçalves. **Anais Aquaciência 2006**. Bento Gonçalves: Aquaciência, 2006. p. 59 - 60. CD-ROM.
- FERREIRA, André Veloso. **Ontogenia inicial e consumo de vitelo em embriões de melanotênia maçã (*Glossolepis incisus*, WEBER, 1907)**. 2007. 64 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Produção Animal, UENF, Campos dos Goytacazes, Campos dos Goytacazes, 2007.
- FERREIRA, A. V., MATTOS, D. C., MOTTA, J. H. S., CARDOSO, L. D., RADAEL, M. C., VIDAL JR. M. V., FOSSE, P. J. Período de Clivagem em Embriões de Melanotênia Lacustre (*Melanotaenia lacustris*, Munro 1964). In: II Semana de Atualização em Ciências Veterinárias da FaCastelo, Castelo, **Anais SACVET 2008**. p.178-179. 2008.

- FISHBASE. *Melanotaenia praecox* (Weber & de Beaufort, 1922) Dwarf rainbowfish. Disponível em: <<http://www.fishbase.com/Summary/speciesSummary.php?ID=10516&genusname=Melanotaenia&speciesname=praecox>>. Acesso em: 05 mar. 2009.
- FISHELSON, L.. Ontogenesis of cytological structures around the yolk sac during embryologic and early larval development of some cichlid fishes. **Journal Of Fish Biology**, Leicester, n. , p.479-491, 1995.
- FUJIMOTO, T. *et al.* Embryonic stages from cleavage to gastrula in the loach *Misgurnus anguillicaudatus*. **Zoological Society Of Japan**, Tokio, n. , p.747-755, 2004.
- FUJIMOTO, T. *et al.* Developmental stages and germ cell lineage of de loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). **Zoological Society Of Japan**, Bunkyo, n. , p.977-989, 2006.
- GANECO, L. N.. **Análise dos ovos de piracanjuba, *Brycon orbignyanus* (Valenciennes,1849), durante o desenvolvimento embrionário, sob condições de reprodução induzida.** 2003. 66 f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Jaboticabal, 2003.
- GODINHO, H. M.; FENERICH, N.A.; M.Y.NARAHARA. Desenvolvimento embrionário e larval de *Ramdhia hildarii* (Valenciennes, 1840) (Siluriformes, Pimelodidae). **Rev. Brasil. Biol**, Porto Alegre, p.51-56, 1978
- GRACIANO, M.M.C. A teoria biológica de Humberto Maturana e sua repercussão filosófica. Dissertação de Mestrado / UFM — Belo Horizonte: UFMG / FAFICH, 205 pp. 1997.

- HUMPHREY, C.; KLUMPP, D. W.; PEARSON, R.. Early development and growth of the east rainbowfish, *Melanotaenia splendida splendida* (Peters I). Morphogenesis and Ontogeny. **Marine And Freshwater Research**, New Zealand Journal, p.17-25, 2003.
- IBAMA. **Estatística da Pesca**. Grandes Regiões e Unidades da Federação, Brasília-DF, Dezembro de 2005.
- IBAMA. **Valores da exportação x Estados - Água Doce - 2007**. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/recursos-pesqueiros/areas-tematicas/estatistica-peixes-ornamentais/>>. Acesso em: 24 jan. 2010.
- IVANTSOFF, W. *et al.* Technical Memorandum. **Supervising Scientist For The Alligator Rivers Region**: Supervising Scientist for the Alligator Rivers Region, Sudbury, p.22-99, 1988.
- JOHNSTON, I. A.; VERA, L. A.; VIEIRA, L.; ABERCOMBY, M. Temperature and myogenesis in embryos of the atlantic herring *Clupea harengus*. *Journal of Experimental Biology* 189: 1389-1403. 1995.
- LIMA, A. O. Aquicultura ornamental. *Panorama da Aqüicultura*. v. 14, n. 83, p. 58-59. 2004.
- LOPES, R.N.M. *et al.* **Desenvolvimento embrionário e larval do matrinxã *Brycon cephalus*, Gunther, 1869, (Pisces, Characidae)**. Pirassununga: CEPTA, 1995.
- LUZ, R. K.; ZANIBONI FILHO, E. **Larvicultura do Mandi-amarelo *Pimelodus maculatus* Lacépède, em Diferentes Densidades de Estocagem nos Primeiros Dias de Vida**. *Revista Brasileira de Zootecnia / Brazilian Journal of Animal Science*, v. 31, n. 2, p. 560-565, 2002.
- LUZ, R.K. *et al.* **Desenvolvimento embrionário e estágios larvais do mandi-amarelo *Pimelodus maculatus***. São Paulo: B. Inst. Pesca, 2001.

- LUZ, R.K.; REYNALTE-TAVAJE, D.A.; FERREIRA, A.A.; ZANIBONI-FILHO, E. Desenvolvimento embrionário e estágios larvais do mandi-amarelo *Pimelodus maculatus*. *B. Inst. Pesca*, São Paulo, v. 27, p. 49-55. 2001.
- MATKOVIC, M. *et al.* Desarrollo embrionario de *Rhamdia sapo* (Valenciennes, 1840) Eigenmann y Eigenmann, 1888 (Pisces, Pimelodidae. I. Segmentacion, morfogenese y organogenesis temprana. **Rev. Brasil. Biol**, Porto Alegre, p.40-49, 1985.
- MELO, J.S.C., CHABALIN, E. Custeio de produção de peixes com uso de aeração por propulsão. In: I Aquaciência, Vitória-ES. Anais... Vitória-ES, 460 pp. 2004.
- MEYERS, M. The pet industry view. In. CHAO, P., PETRY, P., PRANG, G., SONNESSCHIEN, L., TLUSTY, M. Conservation and Management of ornamental fish resources of the Rio Negro Basin, Amazônia, Brasil - Project Piaba. Manaus: EDUA. p.87-108. 2001.
- MOURA, A. *Estágios de desenvolvimento embrionário de curimatá-pioa Prochilodus affinis* (REINHARDT, 1874) (Pisces, Prochilodontidae). Instituto de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Minas Gerais. 1991.
- NAKATANI, Keshiyu *et al.* **Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação**. Maringá: UEM, 2001. 378 p.
- NATHANAILIDES, C., LÓPEZ-ALBORS, O., STICKLAND, N.C. Influence of prehatch temperature on the development of muscle cellularity in posthatch Atlantic-Salmon (*Salmo salar*, L.). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 52 , 675–680. 1995.
- NOAKES, D. L. G.; GODIN, J. J.. Ontogeny of Behavior and concurrent developmental changes in sensory systems in teleost fishes. In: HOAR, W. S.; HANDALL, D. J.. **Fish Physiology Vol. XI B**. London: Academic Press, p. 345-394. 1988.

- OJANGUREN A.F., BRAÑA F. Thermal dependence of embryonic growth and development in brown trout. *J Fish Biol* 62, 580-590. 2003.
- PAES, Maria Do Carmo Faria. **Indução à reprodução e desenvolvimento embrionário e larval do ciclídeo acará-açu *Astronotus ocellatus* (Agassiz, 1831)**. 2008. 49 f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Caunesp, UNESP, Jaboticabal, 2008.
- PEZZATO, L. E.; SCORVO FILHO, J. D. **Situação atual da aqüicultura na Região Sudeste**. In: VALENTI W. C. (Ed.) *Aqüicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável*. Brasília: CNPq/Ministério da Ciência e Tecnologia. p.303-322. 2000.
- POLHEMUS, D.A.; RICHARDS, S. (2002) *Geographic overview of the Cyclops Mountains and the Mamberamo Basin*. In: RICHARDS, S e SURYADI, S. *The RAP Bulletin of Biological Assessment*. Ed. Conservation International. p. 32-37, 2002.
- PROENÇA, Carlos Eduardo Martins de; BITTENCOURT, Paulo Roberto. **Manual de Piscicultura Tropical**. Brasília: IBAMA, 1994. 195p.
- QUERALES, D., ROSAS, J., VELÁSQUEZ, A., CABRERA, T., MONTEIRO, C. *Desarrollo embrionario y larval de vieja *Paralabrax dewegeri* Metzelaar (Pisces: Serranidae)*. *Revista de Oceania Marina y Oceanografía*, v. 39, n. 1 p. 1-11, 2004.
- RADAEL, Marcella Costa. **Descrição Ontogênica de Embriões de Acará Bandeira (*Pterophyllum scalare*, LICHTENSTEIN, 1823) incubados à 28°C**. 2009. 45 f. Monografia (Especialização) - Curso de Morfofisiologia Animal, UFLA, Lavras, 2009.
- REID, H.P.; HOLDWAY, D.A.. Early development of the Australian crimson-spotted rainbowfish, *Melanotaenia fluviatilis* (Pisces: Melanotaeniidae). **Mar Freshwater Res.**, New Zealand, v. 46, p.475-480, 1995.

- REYNALTE-TATAJE, D. R.; ZANIBONI-FILHO, E.; ESQUIVEL, J. R.. Embryonic and larvae development of piracanjuba, *Brycon orbignyanus* Valenciennes, 1849 (Pisces, Characidae). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 26, n. 1, p.67-71, 2004.
- RIBEIRO, F. A.; FERNANDES, J. B. K.. Sistemas de Criação de Peixes Ornamentais. **Panorama da Aquicultura**, Rio De Janeiro, v. 18, n. 109, p.34-39, set. 2008.
- SAMPAIO, L.A., ROBALDO, R.B., OKAMOTO, M.O., LOUZADA, L.R., FREITAS, L.S., RODRIGUES, R.V., SILVA, E., ROCHA, A.F., OLIVEIRA, M.O. *Reprodução e larvicultura do linguado Paralichthys orbignyanus: revisão do conhecimento atual*. Anais do Aqua Ciência – I Congresso da Aquabio, Vitória, de 24 a 28 de maio / Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática: ed. José Eurico Possebon Cyrino [e] Elisabeth Criscuolo Urbinati – Vitória, 460p. 2004.
- SANCHES, P. V.; NAKATANI, K.; BIALETZKI, A.. Morphological description of the developmental stages of *Parauchenipterus galeatus* (Linnaeus, 1766) (Siluriformes, Auchenipteridae) on the floodplain of the upper Paraná river. **Rev. Brasil. Biol.**, Porto Alegre, v. 59, n. 3, p.429-438, 1999.
- SANCHES, L. E. F.; HAYASHI, C.. Effect of feeding frequency on Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) fries performance during sex reversal in hapas. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Maringá, v. 23, p.871-876, 2001
- SEAP. **Estatística da pesca 2004**: grandes regiões e unidades da federação. Brasília-DF, Dezembro de 2005.
- SOUZA, G.; ANDRADE, D. R.; VIDAL JÚNIOR, M. V.; YASUI, G. S. **Desenvolvimento embrionário da piabanha *Brycon insignis***. In: I Congresso da Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2004, Vitória - ES. Anais do Aquaciência 2004. Vitória-ES: Aquabio. v. 1. p. 208-208. 2004.

- SOUZA, G.. **Reprodução Induzida, ontogenia inicial, etologia larval e alevinagem da piabanha (*Brycon insignis*, STEIDACHNER, 1877)**. 2004. 67 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Produção Animal, Departamento de Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos Dos Goytacazes, 2004.
- STICKLAND, N.C., WHITE, R.N., MESCALL, P.E., CROOK, A.R., THORPE, J.E. The effect of temperature on myogenesis and embryonic development of the Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.). *Anat. Embryol.* 178, 253– 257. 1988.
- TAYLOR, E.C. Over the rainbows. *Pet Bussiness.* p. 1-99. 1999.
- USHER, M.L., STICKLAND, N.C., THORPE, J.E. Muscle development in Atlantic salmon (*Salmo salar*) embryos and the effect of temperature on muscle cellularity. *J. Fish Biol.* 44, 953–964. 1994
- VAL, A. L.; HONCZARYK, A. Criando peixes na Amazônia. Ed.19. Manaus: INPA, 150 p., 1995.
- VIDAL Jr., M.V. Comércio de peixes ornamentais requer conhecimento específico. *Pet food & health & care.* Ago/set. n.1, p. 64-69. 2003.
- VIDAL Jr., M. V. Melanotênia maçã. *Panorama da Aquicultura*, v. 15, n. 88, p. 39-4. 2005.
- VIEIRA, V. I. A.; JOHNSTON, I. A.. Influence of temperature on muscle-fibre development in larvae of the herring *Clupea harengus*. **Marine Biology**, Springer Berlin / Heidelberg, p.333-341, 1992.
- WOYNAROVICH, E.; HORVÁTH, L.. **A propagação artificial de peixes de águas**. Brasília: FAO/CODEVASF/CNPQ, 225 p, 1983.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Eventos e estágios embrionários de *Melanotaenia praecox* incubados a 24 °C

EVENTO	HPF¹	HGPF²C²
2 BLASTÔMEROS	0,66	16,25
4 BLASTÔMEROS	1,33	33,00
8 BLASTÔMEROS	2,17	52,83
16 BLASTÔMEROS	2,83	70,58
32 BLASTÔMEROS	3,56	87,11
64 BLASTÔMEROS	4,67	113,49
128 BLASTÔMEROS	6,65	151,50
256 BLASTÔMEROS	6,83	166,08
1024 BLASTÔMEROS	8,20	195,75
FASE OVAL	8,77	213,24
FASE ESFÉRICA	10,35	251,95
GÁSTRULA 5%	13,17	298,08
GÁSTRULA 50%	16,83	406,49
GÁSTRULA 95%	19,00	455,99
FECHAMENTO DO BLASTÓPORO	21,83	520,49
DIFERENCIAÇÃO DO EIXO EMBRIONÁRIO	19,75	470,20
DIFERENCIAÇÃO DE CABEÇA E CAUDA	24,17	572,08
FORMAÇÃO DOS SOMITOS	32,17	788,08
VESÍCULA DE KUPFFER	29,50	722,74
FORMAÇÃO DO CONDROCRÂNIO	43,50	1044,00
VESÍCULA ÓPTICA	43,60	1044,99
VESÍCULA ÓTICA	59,17	1449,58
BATIMENTO CARDÍACO	55,33	1327,99
MELANÓFOROS	33,15	861,59
CIRCULAÇÃO SANGUÍNEA	83,00	1991,98
RETINA PIGMENTADA	94,50	2220,99
CORAÇÃO FORMADO	75,00	1837,50
OTÓLITO	109,00	2615,98
CONTRAÇÃO DO EMBRIÃO	-	-
NADADEIRAS	-	-
PIGMENTAÇÃO DA CIRCULAÇÃO	117,00	1807,98
LIBERAÇÃO DO BOTÃO CAUDAL	-	-
MOVIMENTAÇÃO DOS OLHOS	-	-
ABERTURA DA BOCA	-	-
MORREU	133,83	3232,24

¹HPF – Horas pós-fecundação

²HGPF – Horas-grau pós fecundação

APÊNDICE B – Eventos e estágios embrionários de *Melanotaenia praecox* incubados a 26 °C

EVENTO	HPF¹	HGPF²C²
2 BLASTÔMEROS	0,66	17,08
4 BLASTÔMEROS	1,33	35,17
8 BLASTÔMEROS	2,00	52,00
16 BLASTÔMEROS	3,00	77,63
32 BLASTÔMEROS	3,44	89,47
64 BLASTÔMEROS	4,17	107,58
128 BLASTÔMEROS	4,50	117,00
256 BLASTÔMEROS	6,00	154,63
1024 BLASTÔMEROS	7,39	188,49
FASE OVAL	7,72	197,83
FASE ESFÉRICA	8,50	222,00
GÁSTRULA 5%	-	-
GÁSTRULA 50%	14,50	369,00
GÁSTRULA 95%	18,50	471,75
FECHAMENTO DO BLASTÓPORO	19,33	485,83
DIFERENCIAÇÃO DO EIXO EMBRIONÁRIO	15,00	375,00
DIFERENCIAÇÃO DE CABEÇA E CAUDA	20,67	518,67
FORMAÇÃO DOS SOMITOS	26,28	634,83
VESÍCULA DE KUPFFER	24,17	624,33
FORMAÇÃO DO CONDRÓCRÂNIO	30,50	796,92
VESÍCULA ÓPTICA	29,00	745,75
VESÍCULA ÓTICA	33,00	862,75
BATIMENTO CARDÍACO	39,83	1034,75
MELANÓFOROS	41,75	1091,20
CIRCULAÇÃO SANGUÍNEA	44,30	1154,42
RETINA PIGMENTADA	78,66	2059,67
CORAÇÃO FORMADO	51,33	1360,33
OTÓLITO	56,83	1487,25
CONTRAÇÃO DO EMBRIÃO	56,33	1482,67
NADADEIRAS	72,56	1922,80
PIGMENTAÇÃO DA CIRCULAÇÃO	67,50	1804,25
LIBERAÇÃO DO BOTÃO CAUDAL	72,00	1826,00
MOVIMENTAÇÃO DOS OLHOS	123,00	3136,50
ABERTURA DA BOCA	-	-
ECLOSÃO	101,49	3958,28

¹HPF – Horas pós-fecundação

²HGPF – Horas-grau pós fecundação

APÊNDICE C – Eventos e estágios embrionários de *Melanotaenia praecox* incubados a 28 °C

EVENTO	HPF¹	HGPF²C²
2 BLASTÔMEROS	0,66	18,08
4 BLASTÔMEROS	1,33	37,17
8 BLASTÔMEROS	2,00	55,92
16 BLASTÔMEROS	2,50	70,25
32 BLASTÔMEROS	3,22	90,67
64 BLASTÔMEROS	4,00	113,17
128 BLASTÔMEROS	4,50	125,83
256 BLASTÔMEROS	4,75	134,13
1024 BLASTÔMEROS	7,50	210,00
FASE OVAL	8,00	224,00
FASE ESFÉRICA	8,50	238,00
GÁSTRULA 5%	9,59	265,88
GÁSTRULA 50%	12,36	354,68
GÁSTRULA 95%	14,00	406,00
FECHAMENTO DO BLASTÓPORO	15,75	448,88
DIFERENCIAÇÃO DO EIXO EMBRIONÁRIO	12,08	344,37
DIFERENCIAÇÃO DE CABEÇA E CAUDA	16,50	465,75
FORMAÇÃO DOS SOMITOS	18,17	502,50
VESÍCULA DE KUPFFER	18,67	519,58
FORMAÇÃO DO CONDROCRÂNIO	24,17	685,08
VESÍCULA ÓPTICA	24,83	700,00
VESÍCULA ÓTICA	32,83	924,50
BATIMENTO CARDÍACO	40,44	1147,09
MELANÓFOROS	33,00	940,50
CIRCULAÇÃO SANGUÍNEA	36,50	1034,42
RETINA PIGMENTADA	51,00	1453,50
CORAÇÃO FORMADO	42,50	1195,92
OTÓLITO	45,83	1283,33
CONTRAÇÃO DO EMBRIÃO	48,50	1358,00
NADADEIRAS	65,33	1835,67
PIGMENTAÇÃO DA CIRCULAÇÃO	51,17	1570,58
LIBERAÇÃO DO BOTÃO CAUDAL	64,50	1846,42
MOVIMENTAÇÃO DOS OLHOS	128,00	3556,25
ABERTURA DA BOCA	119,67	3327,83
ECLOSÃO	137,33	3803,58

¹HPF – Horas pós-fecundação

²HGPF – Horas-grau pós fecundação

APÊNDICE D – Eventos e estágios embrionários de *Melanotaenia praecox* incubados a 30 °C

EVENTO	HPF¹	HGPF²C²
2 BLASTÔMEROS	0,66	20,17
4 BLASTÔMEROS	1,33	40,83
8 BLASTÔMEROS	2,17	66,58
16 BLASTÔMEROS	3,00	92,38
32 BLASTÔMEROS	3,44	104,39
64 BLASTÔMEROS	4,00	120,67
128 BLASTÔMEROS	4,25	129,63
256 BLASTÔMEROS	4,75	142,38
1024 BLASTÔMEROS	6,43	186,47
FASE OVAL	6,92	200,68
FASE ESFÉRICA	7,42	215,18
GÁSTRULA 5%	8,36	255,01
GÁSTRULA 50%	12,00	360,00
GÁSTRULA 95%	13,75	412,50
FECHAMENTO DO BLASTÓPORO	13,99	420,00
DIFERENCIAÇÃO DO EIXO EMBRIONÁRIO	-	-
DIFERENCIAÇÃO DE CABEÇA E CAUDA	15,62	472,57
FORMAÇÃO DOS SOMITOS	20,33	604,50
VESÍCULA DE KUPFFER	18,33	550,00
FORMAÇÃO DO CONDRÓCRÂNIO	25,16	758,92
VESÍCULA ÓPTICA	25,81	774,33
VESÍCULA ÓTICA	30,25	913,75
BATIMENTO CARDÍACO	28,66	865,00
MELANÓFOROS	29,99	900,00
CIRCULAÇÃO SANGUÍNEA	34,26	1027,87
RETINA PIGMENTADA	44,00	1320,00
CORAÇÃO FORMADO	45,00	1350,00
OTÓLITO	43,13	1301,50
CONTRAÇÃO DO EMBRIÃO	37,17	1133,58
NADADEIRAS	70,66	2075,83
PIGMENTAÇÃO DA CIRCULAÇÃO	68,00	2040,00
LIBERAÇÃO DO BOTÃO CAUDAL	49,75	1492,50
MOVIMENTAÇÃO DOS OLHOS	107,00	3210,00
ABERTURA DA BOCA	112,50	3375,00
ECLOSÃO	118,84	3595,00

¹HPF – Horas pós-fecundação

²HGPF – Horas-grau pós fecundação

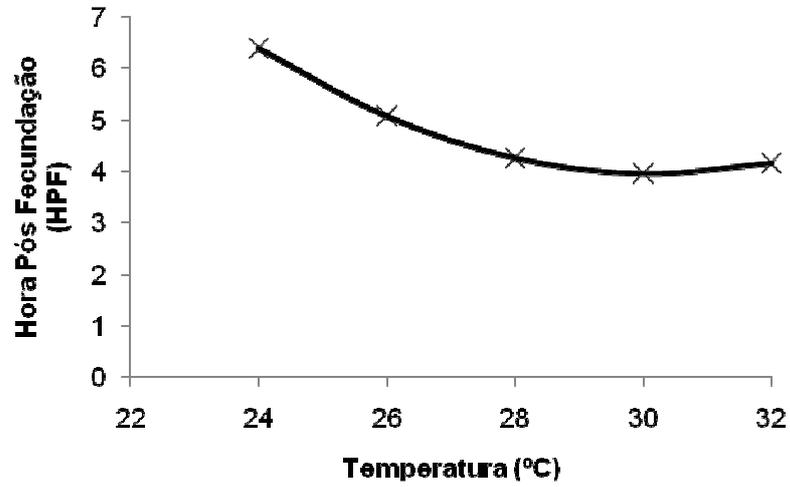
APÊNDICE E – Eventos e estágios embrionários de *Melanotaenia praecox* incubados a 32 °C

EVENTO	HPF¹	HGPF²°C
2 BLASTÔMEROS	0,66	21,17
4 BLASTÔMEROS	1,33	42,50
8 BLASTÔMEROS	2,17	69,08
16 BLASTÔMEROS	3,00	95,13
32 BLASTÔMEROS	3,23	102,93
64 BLASTÔMEROS	4,00	126,88
128 BLASTÔMEROS	4,00	128,00
256 BLASTÔMEROS	-	-
1024 BLASTÔMEROS	6,00	195,00
FASE OVAL	-	-
FASE ESFÉRICA	6,70	216,67
GÁSTRULA 5%	8,00	256,00
GÁSTRULA 50%	-	-
GÁSTRULA 95%	-	-
FECHAMENTO DO BLASTÓPORO	-	-
DIFERENCIAÇÃO DO EIXO EMBRIONÁRIO	-	-
DIFERENCIAÇÃO DE CABEÇA E CAUDA	-	-
FORMAÇÃO DOS SOMITOS	-	-
VESÍCULA DE KUPFFER	-	-
FORMAÇÃO DO CONDROCRÂNIO	-	-
VESÍCULA ÓPTICA	-	-
VESÍCULA ÓTICA	-	-
BATIMENTO CARDÍACO	-	-
MELANÓFOROS	-	-
CIRCULAÇÃO SANGUÍNEA	-	-
RETINA PIGMENTADA	-	-
CORAÇÃO FORMADO	-	-
OTÓLITO	-	-
CONTRAÇÃO DO EMBRIÃO	-	-
NADADEIRAS	-	-
PIGMENTAÇÃO DA CIRCULAÇÃO	-	-
LIBERAÇÃO DO BOTÃO CAUDAL	-	-
MOVIMENTAÇÃO DOS OLHOS	-	-
ABERTURA DA BOCA	-	-
MORREU	11,17	360,33

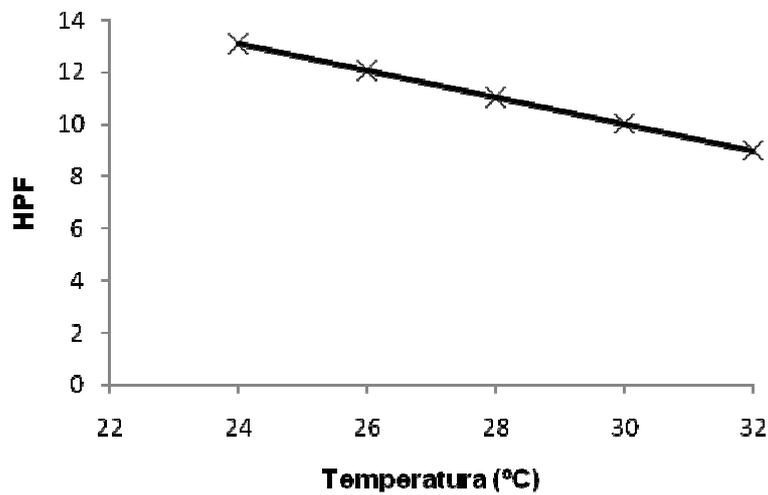
¹HPF – Horas pós-fecundação

²HGPF – Horas-grau pós fecundação

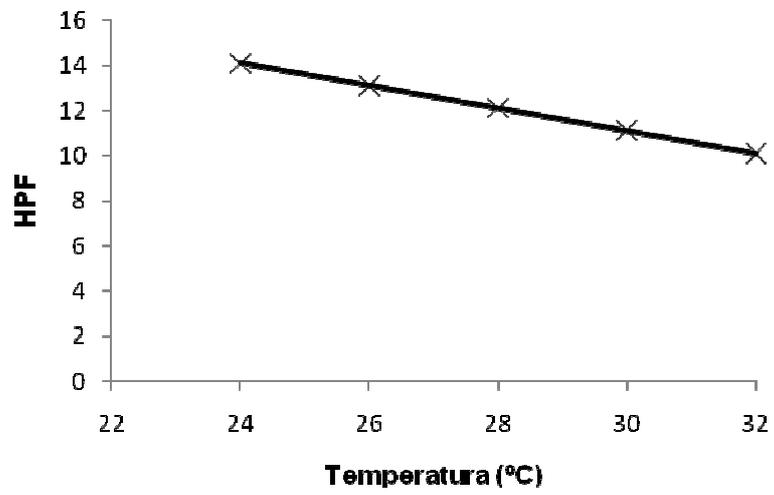
APÊNDICE F – Efeito da temperatura no tempo para atingir a fase de 128 células.



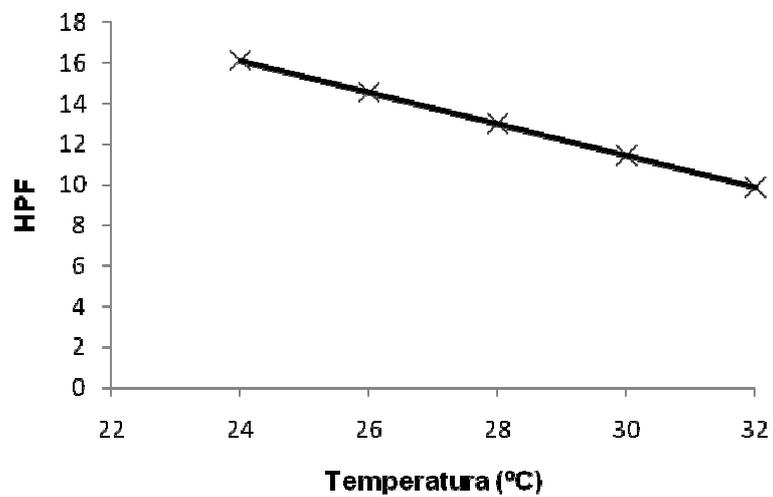
APÊNDICE G – Efeito da Temperatura no tempo para atingir a fase de gástrula 30%.



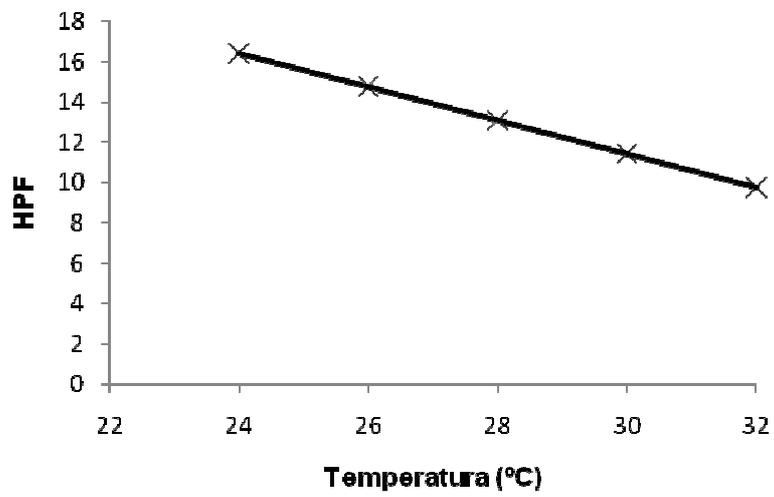
APÊNDICE H – Efeito da temperatura no tempo para atingir a fase de gástrula 40%.



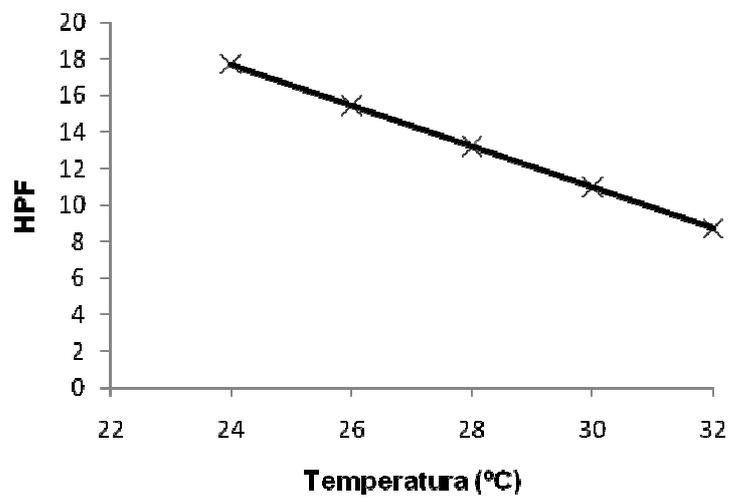
APÊNDICE I – Efeito da temperatura no tempo para atingir a fase de Gástrula 45%.



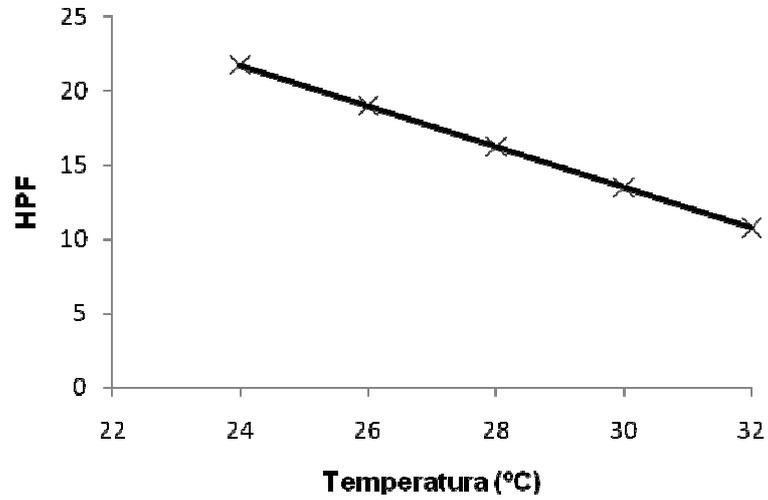
APÊNDICE J – Efeito da temperatura no tempo para atingir a fase de gástrula 50%.



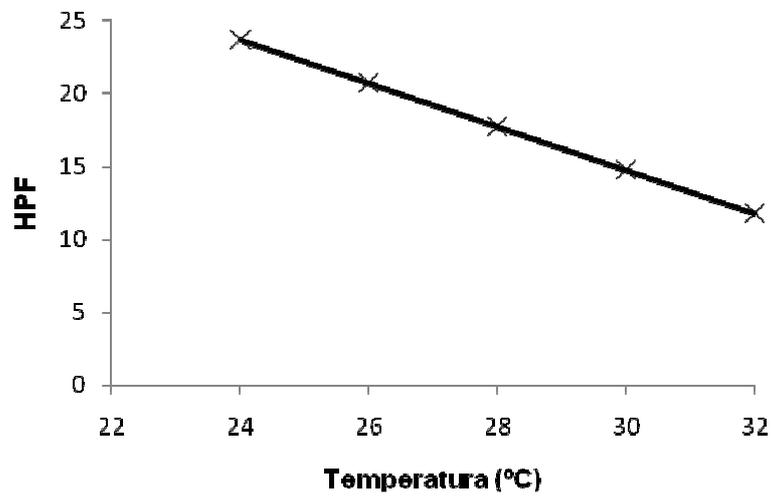
APÊNDICE K – Efeito da temperatura no tempo para atingir a fase de Gástrula 60%.



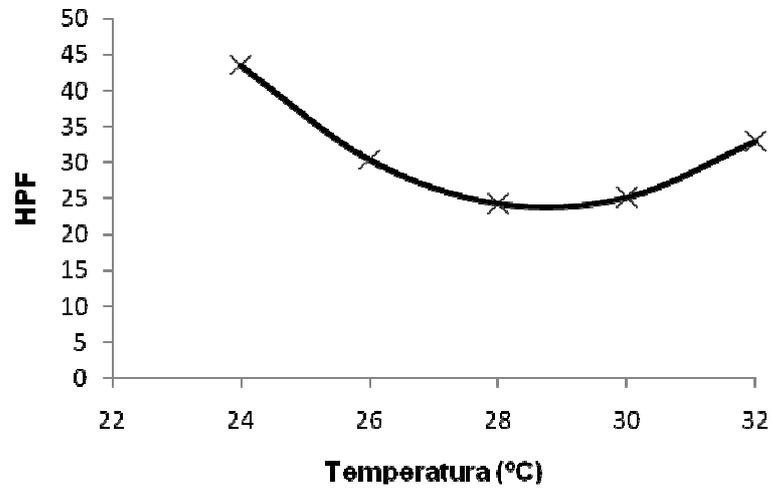
APÊNDICE L – Efeito da temperatura no tempo para atingir o fechamento do blastóporo.



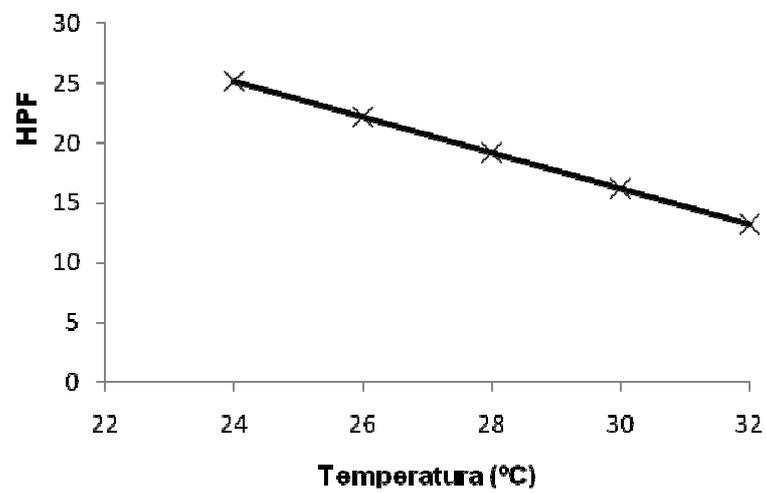
APÊNDICE M – Efeito da temperatura no tempo para a diferenciação de cabeça e cauda.



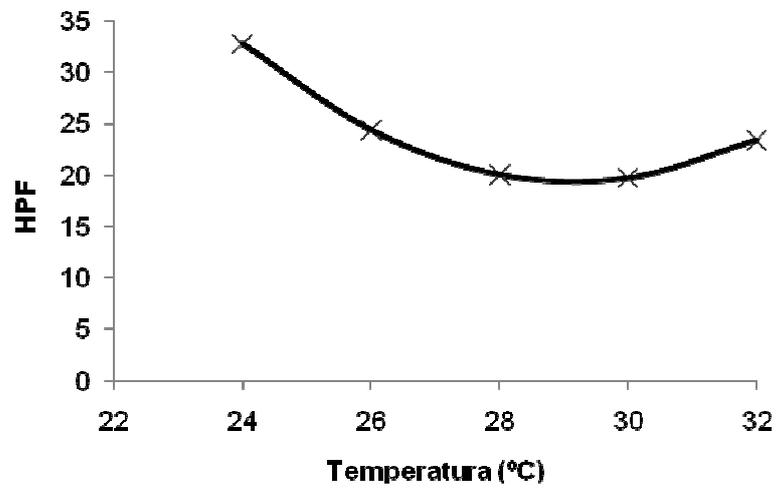
APÊNDICE N – Efeito da temperatura no tempo para a formação do condrocânio.



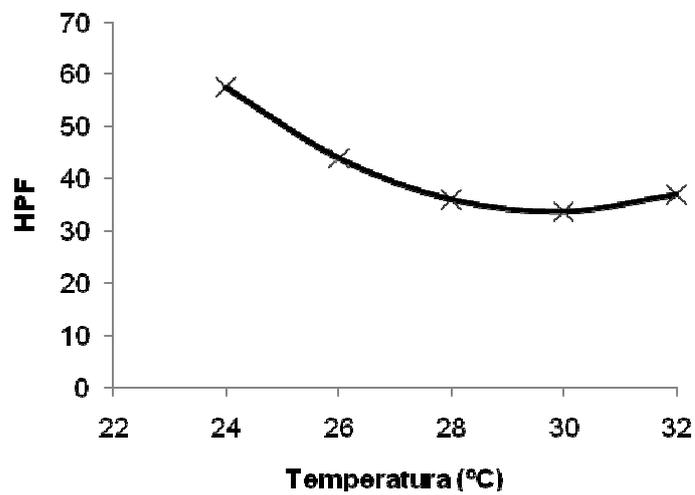
APÊNDICE O – Efeito da temperatura no tempo para a formação do primórdio óptico.



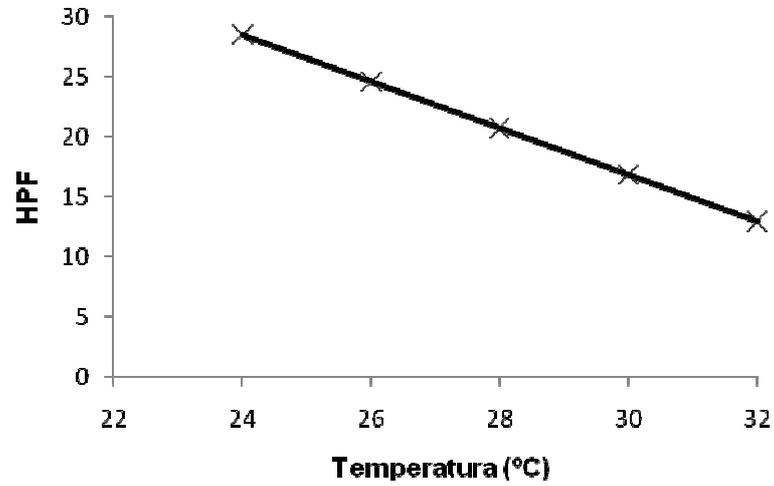
APÊNDICE P – Efeito da temperatura no tempo para atingir a formação dos somitos.



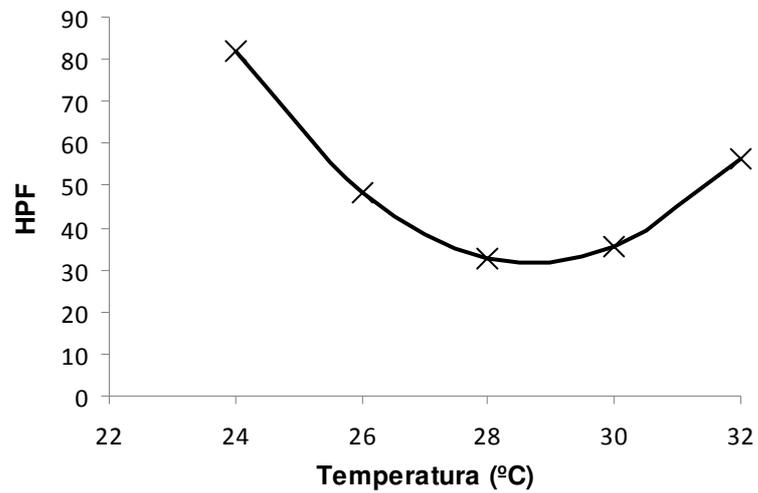
APÊNDICE Q – Efeito da temperatura no tempo para a formação dos melanóforos dendríticos.



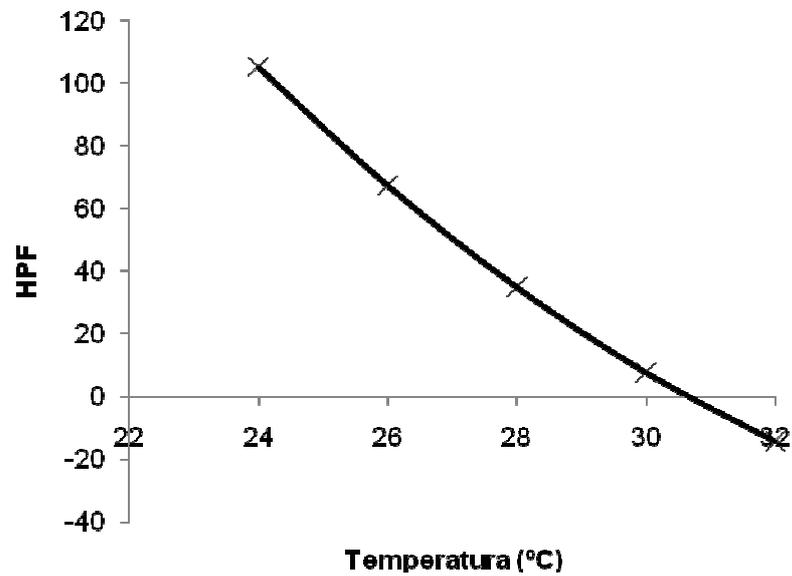
APÊNDICE R – Efeito da temperatura no tempo para a formação da vesícula de Kupffer.



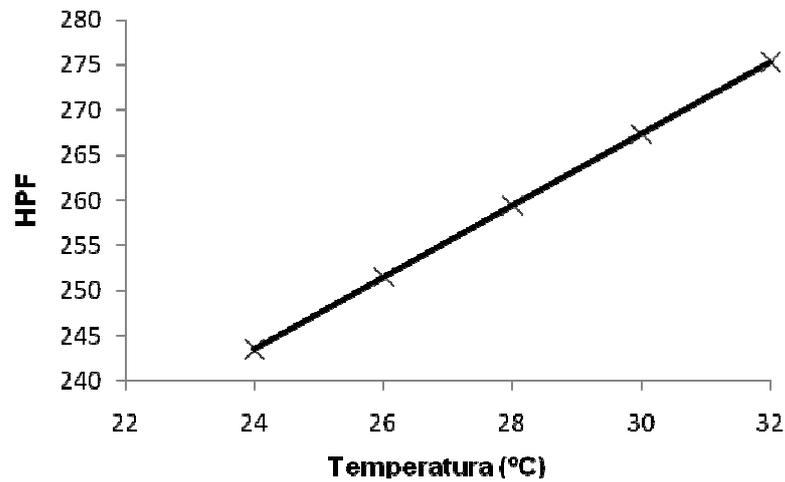
APÊNDICE S – Efeito da temperatura no tempo para atingir o início da circulação sanguínea.



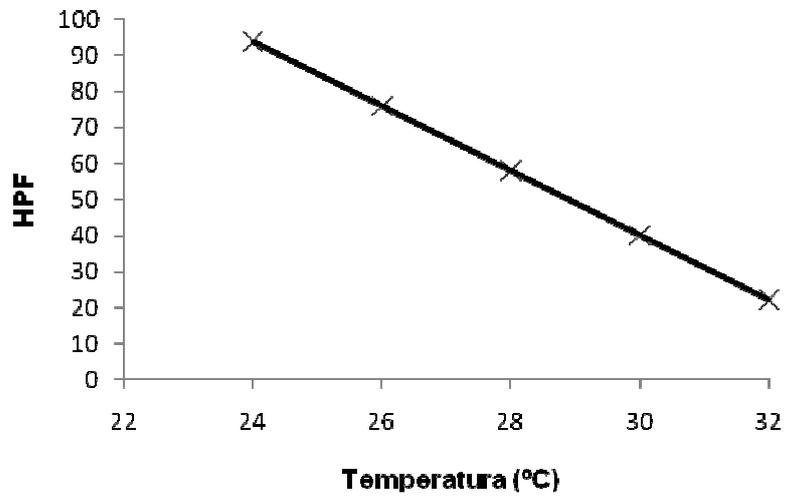
APÊNDICE T – Efeito da temperatura no tempo para a formação dos otólitos.



APÊNDICE U – Efeito da Temperatura no tempo para início do Batimento Cardíaco.



APÊNDICE V – Efeito da Temperatura no tempo para atingir a Retina Pigmentada.



APÊNDICE W – Efeito da temperatura no tempo para atingir a pigmentação da circulação.

