

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

SAMUEL LOUZADA PEREIRA

**EFEITO DA TEMPERATURA NA ONTOGENIA INICIAL DO TRICOGASTER
LEERI (*Trichogaster leeri*)**

CAMPOS DOS GOYTACAZES

2015

SAMUEL LOUZADA PEREIRA

EFEITO DA TEMPERATURA NA ONTOGENIA INICIAL DO TRICOGASTER LEERI

(Trichogaster leeri)

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

ORIENTADOR: DALCIO RICARDO DE ANDRADE

CAMPOS DOS GOYTACAZES

2015

SAMUEL LOUZADA PEREIRA

**EFEITO DA TEMPRATURA NA ONTOGENIA INICIAL DO TRICHOGASTER
LEERI (*Trichogaster leeri*)**

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

Aprovada em 07 abril de 2015

BANCA EXAMINADORA

Professor Pedro Pierro Mendonça (Doutor em Ciência Animal) – IFES – Campus de Alegre

Manuel Vazquez Vidal Junior (Doutor em Zootecnia – UENF)

Orientador: Dalcio Ricardo de Andrade

Aos meus pais, Ana Maria Louzada da Silva Pereira e Joás Pereira,

Com todo carinho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela oportunidade que foi concedida para realização deste trabalho, por guiar meus caminhos e pelas bênçãos concedidas.

Aos meus amados pais, Joás Pereira (JP) e Ana Maria Louzada da Silva Pereira, pelo amor, carinho, dedicação, compreensão e todo incentivo demonstrado em toda minha vida, determinantes nesta caminhada.

Aos meus grandes irmãos, Christiane, Wilkerson (Will) e Lucas por todas as conversas, apoio e carinho, pelos conselhos dirigidos, os incentivos e por estarem sempre presentes em minha vida.

A minha noiva, Gabrielly, por todo amor, incentivo, amizade, confiança e por estar sempre ao meu lado em todos os momentos.

Aos meus grandes amigos, Kassio, Lucas Pedro (Bananeira), Rafane, Douglas (“Arroiz”), Marcelo Darós, Paula Selvatici por estarem sempre ao meu lado, em todos os momentos.

A toda minha família, pelo apoio e incentivo nesta jornada.

Ao Orientador Dalcio Ricardo de Andrade e Co-Orientador Manuel Vazquez, agradeço a oportunidade de trabalhar com ambos, a atenção e compreensão em todos momentos. A dedicação de ambos para transmitir seus grandes conhecimentos científicos e acadêmicos, indispensáveis na minha formação. Muito Obrigado!

Ao Professor Pedro Pierro, pelas conversas, conselhos e todo trabalho realizado ao longo desses anos, que contribuíram de grande forma para meu crescimento profissional.

A equipe da Piscicultura, pela convivência ao longo destes anos, Rafael, João Fosse, Marcella, Douglas, Leonardo, Jonas, Ticianne, Ana Paula, André Veloso, André de Souza e Mussurepe. Aos colegas de república Rafael e Eduardo, pela amizade e momentos agradáveis que compartilhamos. As funcionárias Jovana e Conceição da Secretaria de Pós Graduação em Ciência Animal.

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

A Universidade Estadual do Norte Fluminense, pela oportunidade de realização do curso e por todo crescimento pessoal e profissional.

MUITO OBRIGADO!

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 – Fases do desenvolvimento embrionário	13
Figura 1 – Etapas do início da clivagem até o fechamento do blastóporo	25
Figura 2 – Início da diferenciação de estruturas durante a organogênese	27
Figura 3 – Fotomicrografias dos embriões em momentos pré/pós-eclosão.	28
Figura 4 – Efeito da temperatura na taxa de eclosão dos ovos de <i>Trichogaster leeri</i>	29
Figura 5 – Efeito da temperatura na sobrevivência das larvas	30
Figura 6 – Eficiência da desova, em diferentes temperaturas	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores médios da temperatura (°C), Oxigênio dissolvido (OD) e pH da água nas incubadoras utilizadas durante o período experimental	24
Tabela 2 – Cronologia dos eventos descritos durante o desenvolvimento embrionário e larval de <i>Trichogaster leeri</i>	26

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	07
1.1	OBJETIVO GERAL	08
2	REVISÃO DE LITERATURA	09
2.1	AQUICULTURA DE PEIXES ORNAMENTAIS	09
2.2	A ESPÉCIE	09
2.3	ONTOGENIA	10
2.4	EFEITO DA TEMPERATURA DA ÁGUA NO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO	13
	REFERÊNCIAS	15
	ANEXO A – Artigo submetido ao periódico <i>Zygote</i>	20

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a piscicultura teve início por volta de 1920, com a introdução de peixes exóticos destinados a corte, como trutas e carpas. Também na década de 1920, aproximadamente, 50 espécies de peixes para fins de ornamentação foram introduzidas por Sigite Takase, um imigrante de origem japonesa (VIDAL JÚNIOR, 2003).

A piscicultura ornamental é baseada em espécies exóticas, encontradas em diversas lojas pet, com grande demanda, como betta (*Betta splendens*), kingiuo ou japonês (*Carassius auratus*) carpas coloridas (*Cyprinus carpio*) e tricogaster (*Trichogaster leeri*). O cultivo de peixes ornamentais pode ser realizado em pequenas áreas e permite um rápido retorno econômico, principalmente, em razão do preço unitário de cada peixe no mercado. Diferente da piscicultura de corte, em que os animais são comercializados pelo peso, os Organismos Aquáticos Ornamentais (OAO) são comercializados em unidade, em um mercado de especulações, e segundo Ribeiro et al. (2010), com grande flutuação de valores em virtude de sua variedade e tamanho.

O *Trichogaster leeri* é um peixe encontrado em diversas lojas especializadas em pets, possui exuberância e diversidade de cor por todo o corpo, tornando-se um dos atrativos para aquisição deste animal. Outro atrativo que esse animal possui é o fato de ser resistente a alterações da qualidade da água, além de não precisar da utilização de sopradores de ar no aquário, em virtude da sua respiração aérea, através do órgão labirinto (ZUANON et al., 2004).

Esta espécie possui um manejo reprodutivo simples, formam casal e confeccionam ninhos de bolha na superfície da água, geralmente, em substratos, como plantas e galhos. Este ninho comportará os ovos até o momento de eclosão (COLE et al., 1999).

Apesar dos atrativos e facilidades que essa espécie apresenta, para sua criação em aquário, poucos estudos foram realizados para proporcionar informação que venha a otimizar o desempenho dessa espécie ou descrever suas etapas iniciais de vida. Estudos de desenvolvimento embrionário (ontogenia) e larvicultura são importantes por proporcionar informações sobre as fases iniciais, consideradas por vários autores como as mais críticas na produção de peixes e podem fornecer informações importantes 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. Alguns fatores abióticos podem prejudicar o desenvolvimento embrionário, podendo ocorrer uma grande mortalidade dos animais. A temperatura é variável importante e interfere em diversas etapas do desenvolvimento

embrionário, aumentar o tempo até a taxa de eclosão, o tempo de absorção do vitelo e desenvolvimento larval (GRACIA-LÓPEZ, 2004; PETEREIT et al., 2008).

De modo geral, nos peixes, durante todo o período da ontogenia, ocorre um aumento do corpo e de peso muito rápido. Quatro períodos na ontogenia dos peixes são reconhecidos: embrionário, larval, juvenil e adultos (BALON, 1975). Durante o período embrionário e larval os processos dominantes são de crescimento e diferenciação de tecidos, nos juvenis o crescimento, nos adultos, a reprodução e, posteriormente, os processos degenerativos (senescência) (FUIMAN, 1997).

O conhecimento da ontogenia inicial dos peixes é uma ferramenta importante e pode proporcionar melhor eficiência da desova durante toda a etapa produtiva dos animais, além de fornecer subsídios para a produção de larvas de melhor qualidade e maior padronização dos juvenis.

1.1 OBJETIVO GERAL

- a) Avaliar o efeito da temperatura na ontogenia inicial de *Trichogaster leeri*;
- b) Descrever os processos morfofisiológicos durante o desenvolvimento embrionário de *Trichogaster leeri*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 AQUICULTURA DE PEIXES ORNAMENTAIS

A criação de peixes ornamentais é uma atividade econômica em expansão internacionalmente com crescimento significativo a partir da década de 1990. No ano de 2008, estimou-se que a importação de peixes ornamentais movimentou, aproximadamente, U\$S 900 milhões no atacado e U\$S 3 bilhões no mercado varejista, com uma taxa de crescimento de 14% desde 1985 (PANNÉ, 2008). Neste mesmo período ocorreu uma comercialização de mais de 150 milhões de peixes, além de 1,5 bilhão de dólares, sendo provenientes do comércio de diversos equipamentos para aquarofilistas (MEYERS, 2001; ANDREWS, 1990).

O Brasil possui enorme potencial para produção e pesca continental de espécies de peixes ornamentais, sendo atualmente o município de Muriaé o maior polo de produção de peixes ornamentais cultivados. Nesta região, a característica predominante é o baixo custo de produção além da utilização de regime familiar para produção dos peixes. Segundo Cardoso et al. (2012), isto é fundamental para a cadeia produtiva da região, o que possibilita a ampliação e intensificação de tecnologias empregadas para alavancar ainda mais o comércio de peixes ornamentais.

Outra forma de obtenção de renda ligada aos peixes ornamentais é a pesca extrativista, destacando-se, neste aspecto, a região da Bacia Amazônica, em especial, o município de Barcelos, AM, onde 60% de sua economia é atribuída à pesca extrativa de peixes ornamentais (CHAO et al., 2001). No Pará, esse mercado também tem grande importância na economia local, e, pela primeira vez, em 2009, esse estado superou o Amazonas no valor de organismos aquáticos exportados. Segundo Ribeiro (2010), de acordo com os dados da Secretaria de Comércio Exterior, esses dois estados juntos são responsáveis por 88% do valor exportado de peixes ornamentais pelo país anualmente, que, em 2008, bateu o recorde e atingiu os 41 milhões de peixes ornamentais exportados (ALICEWEB, 2010).

2.2 A ESPÉCIE

O *Trichogaster leeri* é um peixe pertencente à subordem *Anabantoidei*, originário do oeste da África até o leste da Ásia e, atualmente, é produzido em inúmeros países apresentando elevado potencial econômico (ZUANON et al., 2004). Podem ser encontrados em águas cuja

condutividade elétrica varia de 22 a 718 μS , dureza total de 1,3 a 185 mg/L CaCO_3 e valores de pH de 5,8 a 7,4 (COLE et al., 1999). Estes animais em ambiente natural são caracterizados como carnívoros, com a dieta natural composta por diferentes espécies de invertebrados (DEGANI, 1990). Segundo Tonini et al. (2012), apesar destes animais serem considerados carnívoros, em situação intensiva de cultivo são fornecidas rações com baixo teor de proteína bruta, variando de 22% a 36% de proteína bruta e 3200 kcal/kg de energia bruta. Este mesmo autor salienta que a utilização das farinhas de peixe, carne e ossos e do farelo de soja resultam em melhor aproveitamento dos nutrientes para o *Trichogaster leeri*.

O tricogaster possui coloração diversificada, com corpo castanho-escuro, todo manchado com pequenas pintas peroladas, formando um mosaico. Uma linha negra lateral que inicia nos lábios, atravessa os olhos e se estende até o pedúnculo caudal, onde termina com uma mancha arredondada. Este animal também possui a mesma coloração do corpo nas nadadeiras dorsais e anais. O dimorfismo sexual pode ser visualizado por meio de cores vivas (alaranjado ou vermelho) na região ventral do macho, enquanto a fêmea apresenta cores mais claras (branco ou cinza-azulado).

Outra característica de visualização do dimorfismo sexual desta espécie ocorre pelas nadadeiras: o macho tem nadadeiras dorsal e anal longas e pontiagudas e a fêmea tem essas nadadeiras curtas e arredondadas. As nadadeiras pélvicas são utilizadas pelos animais como um órgão tátil (ALZUGARAY; ALZUGARAY, 1987). Seu tamanho máximo é de, aproximadamente, 15 cm (AXELROD; VORDERWINKLER, 1979; COLE et al., 1999). O tempo de vida em cativeiro é em média de oito anos (ALZUGARAY; ALZUGARAY, 1987).

Os tricogasters podem iniciar a maturação sexual entre 12 e 14 semanas de vida. Em geral, os animais da subordem *Anabantoidei* podem apresentar diferentes tipos de desova: Ninhos de bolhas superficiais e subsuperficiais. O tricogaster macho produz o ninho de bolhas subsuperficial, sendo cada bolha composta por uma membrana mucosa presa a substratos que podem ser folhas, madeiras, pedras, que irão manter os ovos em seu interior até o momento da eclosão (COLE et al., 1990).

2.3 ONTOGENIA

Os ovos dos peixes são telolécitos, apresentando uma reserva vitelínica responsável pelos nutrientes que o embrião irá utilizar desde a embriogênese até dias após à eclosão (NAKATANI, 2001). Todas as alterações morfológicas e fisiológicas que ocorrem no animal,

desde a fecundação até o amadurecimento, podem ser descritas como ontogenia, com diversas etapas que separam e classificam seu desenvolvimento (GRACIANO, 1997).

Segundo Nakatani et al. (2001), o processo embrionário inicia-se com a fecundação do óvulo pelo espermatozoide, através da micrópila. Após a fertilização, o ovo absorve água e ocorre a formação do espaço perivitelino, com a separação do córion da membrana vitelina.

Nakatani et al. (2001) dividem as principais etapas da ontogenia em fases (Quadro 1). Este autor descreve que essas fases são o ovo recém-fertilizado, a segmentação, a blastulação, a gastrulação e fechamento do blastóporo. Após esses eventos, 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).

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 (polo vegetal); a diferenciação do eixo embrionário, da vesícula óptica, dos somitos, o surgimento da vesícula de Kuppfer 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 peixes. Anjos et al. (2006), descrevendo o desenvolvimento embrionário do cardinal Tetra “Neon” *Paracheirodon axelrodi*, observaram que a formação de dois blastômeros ocorreu, aproximadamente, 50 min após a fecundação. A partir dos dois

blastômeros originais se observaram várias divisões sucessivas até a fase de mórula, cerca de 120 min após a fertilização.

Querales et al. (2004) ao trabalharem com desenvolvimento embrionário de *Paralabrax dewegeri* descrevem o estágio de mórula com duas hora pós-fecundação (hpf), e uma diferenciação da cabeça e botão caudal com nove hpf. Duarte et al. (2009), descrevendo a ontogenia inicial de *Betta splendens* espécie pertencente à subordem *Anabantoidei*, observaram após 5,0 hpf o blastodisco com 256 células, com fechamento do blastóporo após 14,5 hpf com temperatura de, aproximadamente, 28 °C.

Reynalte-Tataje et al. (2003) descreveram os principais eventos morfológicos do desenvolvimento embrionário da Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*). Estes autores observaram diferenciação da cabeça e do botão caudal, com 7,5 hpf a uma temperatura média de 25 °C, com eclosão das larvas em 18,5 hpf. Sanches et al. (2001) salientam que a eclosão de larvas de *Leporinus friderici* ocorre com 13,2 hpf à temperatura de 27 °C.

Faustino et al. (2007) descrevem o desenvolvimento embrionário dos híbridos de subrubins (pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* x cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum*), observando a diferenciação das regiões cefálica e caudal com 11 hpf e eclosão às 14 hpf a uma temperatura de 27 °C. Pereira et al. (2006), ao estudarem o desenvolvimento embrionário de jundiá (*Rhamdia quelen*), observaram eclosão à temperatura média de 24 °C em 30,5 hpf.

Borçato et al. (2004) observaram em ovos de *Leporinus piau* incubados a 24 °C, que com 1,5 hpf o embrião se encontrava no estágio de 64 blastômeros e com 6,25 hpf foi observado fechamento do blastóporo. A eclosão ocorreu em 21,00 hpf a 504,00 hgpf (hora grau pós fecundação). Buzzolo et al. (2011) observaram eclosão dos ovos de *Pimelodus maculatus* com 13 e 17 hpf em temperaturas de 29 °C e 25 °C.

De modo geral, cada espécie de peixe apresenta um desenvolvimento embrionário individual, necessitando estudos detalhados para descrever os aspectos morfológicos durante cada processo.

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 21 horas e 20 minutos após a fertilização, em temperatura média de 23 °C e a abertura da boca ocorreu apenas 41 horas e 10 minutos após eclosão, com canibalismo imediato entre as larvas.

Sanches et al. (2001) relatam que após 10 horas 20 minutos 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 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 temperatura de 30 °C, o que representa uma vantagem no processo de produção de larvas.

Segundo Duarte (2009), estudos morfométricos dos ovos e larvas de peixes são em aspecto taxinômico, uma ferramenta muito importante. Análises morfométricas permitem comparar as diferentes fases de desenvolvimento dentro e entre espécies e, em conjunto com outras características, permite a identificação correta das larvas.

Quadro 1 – Fases do desenvolvimento embrionário

<i>Ovo recém-fertilizado</i>	Compreende a fase a partir da fertilização até a organização do polo 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>	Por meio de contrações musculares vigorosas da cauda e do corpo as larvas eclodem.

Fonte: Nakatani et al. (2001);

2.4 EFEITO DA TEMPERATURA DA ÁGUA NO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO

Os peixes são animais ectotérmicos, não possuem a capacidade de manter a temperatura do seu corpo, sofrendo interferência da temperatura da água onde habitam. As mudanças de temperatura na água afetam diretamente o crescimento e o desenvolvimento dos animais, e grandes alterações podem levar os peixes à morte (ARITAKI; SEIKAI, 2004). Processos, como a organogênese e desenvolvimento somático são controlados por atividades enzimáticas e estas sofrem interferência direta da temperatura. A temperatura também interfere nas células musculares do embrião, na incubação ou nas etapas subsequentes do desenvolvimento (OJANGUREN; BRANA, 2003; STICKLAND et al., 1988; VIEIRA; JOHNSTON, 1992).

Segundo Bermudes e Ritar (1999), a temperatura é fator determinante no desenvolvimento embrionário, principalmente, quando em uma faixa diferente da tolerância do animal. Segundo este mesmo autor, animais restritos à temperatura inferiores à sua faixa de tolerância tendem a diminuir o metabolismo, conseqüentemente, seu desenvolvimento.

Alguns estudos demonstram o efeito da temperatura em processos como absorção de vitelo, podendo diminuir o tempo de absorção ou acelerar o consumo durante o desenvolvimento do animal (HOWELL et al., 1984; BERLINSKY et al., 2004). O efeito da temperatura durante a ontogenia, além de afetar o tempo de eclosão, tempo de absorção de vitelo e desenvolvimento das larvas, pode interferir na capacidade natatória das larvas, tornando-as mais susceptíveis à predação e delimitando sua capacidade de obter alimento. Segundo Berlinsky et al. (2004) e Swanson (1996), diversos trabalhos mostram que até pequenas alterações na faixa de conforto térmico de uma espécie alteram a velocidade de ocorrência das etapas do desenvolvimento embrionário, podendo inclusive ocorrer a má-formação de estruturas ou morte dos animais.

De modo geral, as mudanças das variáveis físico-químicas podem influenciar de forma considerável os processos metabólicos, sendo os animais muito sensíveis a pequenas alterações. A temperatura é considerada a variável que mais afeta os processos de desenvolvimento inicial, sendo de grande importância a sua obtenção fundamental no momento das diferenciações morfofisiológicas (ROGERS; WESTIN, 1981; SAMPAIO et al., 2004; SOUZA, 2004).

O efeito da temperatura pode ser observado em diversos trabalhos, com influência no tempo de desenvolvimento embrionário dos animais, como observado por Peña et al. (2014), que ressaltam que o tempo de incubação dos ovos do “Pacific red snapper” *Lutjanos peru* diminui com acréscimo na temperatura da água. Embora esses trabalhos mostrem o efeito da temperatura durante os processos de desenvolvimento dos peixes, cada espécie responde de forma diferente. Conforme Radael (2010), testando o efeito da temperatura entre 24 °C e 32 °C, verificou-se que a temperatura da água não foi relevante para a aceleração do processo embrionário de *Melanotaenia praxeox*.

REFERÊNCIAS

ANDREWS, C. The ornamental fish trade and fish conservation. **Journal of Fish Biology**, Londres, v. 37, p. 53-59, 1990.

ALICEWEB. Sistema de análise de informações do comércio exterior. 2010. Disponível em: <<http://aliceweb.mdic.gov.br/>>. Acesso em: 18 maio 2015.

ANGELESCU, V.; GNERI, F. S. Adaptaciones del aparato digestivo al régimen alimenticio en algunos peces del río Uruguay e del río de la Plata. **Revista Del Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", Zoología**, v. 1, n. 6, p. 161-272, 1949.

ANJOS, H. D. B.; ANJOS, C. R. Biologia reprodutiva e desenvolvimento embrionário e larval do Cardinal Tetra, *Paracheirodon axelrodi* s., 1956 (characiformes: characidae), em laboratório. **Boletim Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 32, n. 2, p. 151-160, 2006.

ARITAKI, M.; SEIKAI, T. Temperatura effects on early development and occurrence of metamorphosis-related morphological Abnormalities. In: Hatchery-Reared Brown Sole *Pseudopleuronectes herzensteini*. **Aquaculture**. v. 240, p. 517-530, 2004.

ALZUGARAY, D.; ALZUGARAY, C. **Vida no aquário**. São Paulo: Três, 1987.

AXELROD, H.; VORDERWINKLER, W. Encyclopedia of tropical fishes. 25. ed. **Neptune City**: TFH Publications, 1979.

BLAXTER, J. H. S.; HEMPAL, G. The influence of egg size on herring larvae (*Clupeaharengus* L.). **Journal du Conseil**: Conseil Permanent International Pour l'Exploration de la Mer, Paris, v. 28, n. 2, p. 211-240, 1963.

BERLIN SKY, D. L. et al. The Effects of Temperature and Salinity on Early Life Stages of Black Sea Bass *Centropristis striata*. **Journal of the World Aquaculture Society**. v. 35, n. 3, 2004.

BERMUDES, M.; RITAR, A. J. Effects of temperature on the embryonic development of the striped trumpeter (*Latris lineata* Bloch and Schneider, 1801). **Aquaculture**, v. 176, p. 245-255, 1999.

BORÇATO, L. B.; BAZZOLI, B.; SATO, Y. Embriogenesis and larval ontogeny of the “piau-gordura”, *Leporinus piau* (Fowler) (Pisces, Anostomidae) after inducing spawning. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 21, n. 1, p. 117-122, 2004.

BUSTOS, C. A. et al. Effects of temperature and lipid droplet adherence on mortality of hatchery-reared southern hake *Merluccius australis* larvae. **Aquaculture**, v. 270, p. 535-540, 2007.

CHAO, N. L.; PETRY, P.; PRANG, G. PROJECT PIABA – Maintenance and sustainable development of ornamental fisheries in the Rio Negro basin, Amazonas, Brazil. In: **Conservation and management of ornamental fish resources of the Rio Negro basin, Amazonian, Brazil- Project Piaba**. Universidade do Amazonas, Manaus, 2001.

COLE, B. A manual for commercial production of the gourami, *Trichogaster trichopterus*, a temporary paired spawner. **Center for Tropical and Subtropical Aquaculture**, v. 135, 1999. Disponível em: <http://www.ctsa.org/files/publications/CTSA_1356317779375285017721.pdf>. Acesso em: 18 fev. 2014.

DEGANI, G. The effect of temperature, light, fish size and container size on breeding of *Trichogaster trichopterus* (B&S 1801). **Aquacultural Engineering**, v. 9, p. 367-375, 1990.

FIELDER, D. S. The effects of salinity and temperature on growth and survival of Australian snapper, *Pagrus auratus* larvae. **Aquaculture**, v. 250, p. 201-214, 2005.

GANEKO, L. N. Análise dos ovos de piracanjuba, *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849), durante o desenvolvimento embrionário, sob condições de reprodução induzida. Dissertação (Mestrado em Aquicultura)–Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

GODINHO, H. M.; FENERICH, N. A.; NARAHARA, M. Y. Desenvolvimento embrionário e larval de *Ramdhia hildardi* (Valenciennes, 1840) (Siluriformes, Pimelodidae). **Revista Brasileira de Biologia**, Porto Alegre, p. 51-56, 1978.

GRACIANO, M. M. C. **A teoria biológica de Humberto Maturana e sua repercussão filosófica**. 205 p. Dissertação (Mestrado)–Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1997.

GOVONI, J. J.; BOEHLERT, G. W.; WATANABE, Y. The physiology of digestion in fish larvae. **Environmental Biology of Fishes**, v. 16, p. 59-77, 1986.

HANDELAND, S. O.; IMSLAND, A. K.; STEFANSSON, S. O. The effect of temperature and fish size on growth, feed intake, food conversion efficiency and stomach evacuation rate of Atlantic salmon post-smolts. **Aquaculture**, v. 283, p. 36-42, 2008.

HOWELL, W. H.; CALDWELL, M. A. Influence of temperature on energy utilization and growth of embryonic and pro larval american plaice, *Hippoglossoides platessoides*. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 19, p. 173-189, 1984.

KENDALL JÚNIOR, A. W.; AHLSTROM, E. H.; MOSER, H. G. Early life history stages of fishes and their characters. In: MOSER, H. G. et al. Ontogeny and systematic of fishes: based on the international Symposium dedicated to the memory of Elbert Halvor Ahlstron. Lawrence: **American Society of Ichthyologists and Herpetologists**, p. 11-12, 1983.

KUZNETSOV, V. A.; LUKIYANOV, S. V. Impact of Temperature Fluctuations on Embryonic-larval Development of *Esox lucius l.* (Salmoniformes, Esocidae). **Hydrobiological Journal**, v. 50, n. 1, 2014.

LUZ, R. K. et al. Desenvolvimento embrionário e estágios larvais do mandi amarelo *Pimelodus maculatus*. São Paulo: **Boletim Instituto de Pesca**, 2001.

LOPES, R. N. M. et al. **Desenvolvimento embrionário e larval do matrinxã *Brycon cephalus*. Gunther, 1869 (Pisces, Characidae)**. Pirassununga: CEPTA, 1995.

MARTÍNEZ-PALACIOS C. A. et al. Effect of temperature on growth and survival of *Chirostoma estorestor*, Jordan 1879, monitored using a simple video technique for remote measurement of length and mass of larval and juvenile fishes. **Aquaculture**, v. 209, p. 369-377, 2002.

MEYERS, M. The pet industry view. In: CHAO, P. (Ed.). **Conservation and management of ornamental fish resources of the rio Negro Basin, Amazônia, Brasil**. Project Piaba. Manaus: EDUA, p. 87-108, 2001.

MILLS, D. **You and Your Aquarium**: The complete guide to collecting and keeping aquarium fishes, **DK Publishers**, London, 1995.

NAKATANI, K. et al. **Ovos e larvas de peixes de água doce**: Desenvolvimento e manual de identificação. Maringá: UEM, 2001, 378 p.

OJANGUREN, A. F.; BRAÑA, F. Thermal dependence of embryonic growth and development in Brown Trout. **Journal of Fish Biology**, v. 62, p. 580-590, 2003.

PANNÉ, H. S.; LUCHINI, L. Panorama actual del Comercio Internacional de peces ornamentales. **Dirección de acuicultura**, Argentina, 2008.

PEÑA, R. et al. Effect of incubation temperature on the embryonic development and yolk-sac larvae of the Pacific red snapper *Lutjanus peru* (Nichols & Murphy, 1922). **Aquaculture Research**, v. 45, p. 519-527, 2014.

PEZZATO, L. E.; SCORVO FILHO, J. D. Situação atual da aquicultura na região sudeste. In: VALENTI, W.C. (Ed.) **Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável**. Brasília: CNPq/Ministério da Ciência e Tecnologia, 2000.

PETEREIT, C. et al. The influence of temperature on the development of Baltic Seasprat (*Sprattus sprattus*) eggs and yolk sac larvae. **Marine Biology**, v. 154, p. 295-306, 2008.

PROENÇA, E. C. M.; BITTENCOURT, P. R. L. **Manual de piscicultura tropical**. Brasília: IBAMA, 1994.

RADAEL, M. C. Efeito da temperatura na ontogenia inicial de melanotênia Neon (*Melanotaenia praecox*). Dissertação (Mestrado)—Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2010.

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

ROGER, B. A.; WESTIN, D. T. Laboratory studies on effects of temperature and delayed initial feeding on development of Striped Bass Larvae, **American Fisheries Society**, v. 110, p. 100-110, 1981.

SAMPAIO, L. A. et al. Reprodução e larviculturado Linguado *Paralichthys orbignyanus* : Revisão do conhecimento atual. In: CONGRESSO AQUABIO, 1., 2004, Vitória. **Anais...** Vitória, 2004.

SANCHES, P. V. et al. Caracterização do desenvolvimento inicial de *Leporinus friderici* (Osteichthyes, Anostomidae) da bacia do rio Paraná, Brasil. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 23, n. 2, p. 383-389, 2001.

SOUZA, G. Reprodução induzida, Ontogenia inicial, Etologia Larval e Alevinagem da Piabanha (*Brycon insignis*, STEIDACHNER, 1877). Dissertação (Mestrado)—Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2004.

STICKLAND, N. C. et al. The effect of temperature on Myogenesis and Embryonic development of the Atlantic Salmon (*Salmosalar, L.*). **Anatomy and Embryology**, v. 178, p. 253-257, 1988.

SWANSON, C. Early development of milkfish: effects of salinity on embryonic and larval metabolism. yolk absorption, and growth. **Journal of Fish Biology**, v. 48, p. 405-421, 1996.

VIDAL JÚNIOR, M. V. As boas perspectivas para a piscicultura ornamental. **Panorama da Aquicultura**. v. 12, n. 7, p. 41-45, 2002.

VIEIRA, V. I. A.; JOHNSTON, I. A. Influence of temperature on muscle-fibre development in larvae of the herring *Clupea harengus*. **Marine Biology**, v. 112, n. 2, p. 333-341, 1992.

ZUANON, J. A. S.; ASSANO, M.; FERNANDES, J. B. K. Desempenho de Tricogaster (*Trichogaster trichopterus*) Submetido a Diferentes Níveis de Arraçoamento e Densidades de Estocagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 1639-1645, 2004;

ANEXO A – Artigo submetido ao periódico *Zygote*

Zygote

The Biology of Gametes and Early Embryos

O artigo desta dissertação está de acordo com as normas estabelecidas pela revista Zygote.

Efeito da temperatura durante desenvolvimento embrionário e primeira alimentação em larvas de *Trichogaster leeri*

Samuel Louzada Pereira¹, Dalcio Ricardo de Andrade², Marcella Costa Radael², João Carlos Fosse Filho², Rafael Vieira Azevedo², Douglas da Cruz Mattos², Manuel Vazquez Vidal Júnior²,

¹Correspondências para Samuel Louzada Pereira. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Departamento de Produção Animal, Laboratório de Zootecnia e Nutrição Animal, CEP - 28013-602, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil. e-mail: samuell_lp@hotmail.com

² Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Departamento de Produção Animal, Laboratório de Zootecnia e Nutrição Animal, CEP, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil.

Resumo: O objetivo deste experimento foi avaliar o efeito da temperatura no desenvolvimento embrionário e larval de *Trichogaster leeri*, descrever o tempo horas pós fertilização (hpf) do surgimento de várias estruturas e determinar a melhor taxa de eclosão e sobrevivência dos animais. Para descrição dos eventos que ocorreram durante o experimento, as observações foram realizadas em períodos regulares sob um microscópio óptico com câmera acoplada onde eram retiradas fotomicrografias dos eventos. Foram utilizadas cinco temperaturas 24, 26, 28, 30 e 32°C separadas por incubadoras com aquecedores que mantinham a estabilidade térmica. Foi observado uma faixa de conforto térmico e melhores resultados durante o período experimental nas temperaturas de 26 à 28°C.

Palavras-chave: Ontogenia, desenvolvimento, embrião, larva, temperatura.

Introdução

O *Trichogaster leeri*, é um peixe pertencente à ordem dos Perciformes, Subordem *Anabantoidei*, Família *Belontiidae* e gênero *Trichogaster*. Atualmente é produzido em inúmeros países apresentando elevado potencial econômico (Zuanon et al. 2004).

Existem 16 gêneros e 50 espécies de *Trichogaster sp.* distribuídas pelo mundo, principalmente ao longo da Ásia e do subcontinente indiano, locais de origem destas espécies (Degani et al. 1992).

O *Trichogaster leeri* é uma boa espécie para servir como modelo para estudos biológicos pelas características que apresenta como gerador de prole numerosa e de fácil reprodução. Além disso, é comum encontrar exemplares sendo comercializados em diversas lojas de peixes ornamentais (Tonini, et al. 2011). Apesar das características individuais dessa espécie, poucos estudos foram realizados com intuito de descrever aspectos da ontogenia inicial. Estudos ontogenéticos são importantes para o conhecimento de aspectos fisiológicos do embrião, gerando informações para conservação da ictiofauna e melhoria nas técnicas de cultivo (Godinho et al. 2003).

Além disso, a descrição de aspectos morfológicos e fisiológicos no desenvolvimento embrionário é extremamente importante para maximizar a taxa de eclosão e sobrevivência no período inicial de vida (Senhorine, 1993; Nakatani, et al. 2001). Os estudos ontogenéticos podem ser utilizados como ferramenta para potencializar informações de cultivo, principalmente quando associados a parâmetros de qualidade de água que interferem diretamente nesta etapa de vida dos peixes.

A temperatura é um dos principais parâmetros observados de modo geral no cultivo de peixes. Os peixes são classificados como pecilotérmicos e as mudanças na temperatura da água podem afetar diretamente seu crescimento além de possibilitar uma mortalidade com grandes alterações da temperatura (Aritaki & Seikai, 2004). Alguns estudos demonstram o efeito da

temperatura em processos como eclosão e absorção de vitelo, sendo o consumo do vitelo lento em temperaturas mais baixas para peixes de clima tropical e o desenvolvimento do animal mais acelerado em temperaturas mais elevadas dentro da faixa de conforto térmico, além de demonstrar também a possibilidade da intervenção da temperatura na capacidade natatória das larvas, tornando-as mais susceptíveis á predação e dificultando sua capacidade de obter alimentos (Howell, et al.1984; Berlinsky, et al. 2004). Assim o objetivo do presente estudo foi verificar o efeito da temperatura, durante todo desenvolvimento embrionário, até o período de primeira alimentação larval.

Material e métodos

Os ovos utilizados para a descrição do desenvolvimento embrionário foram obtidos a partir de desova natural de um casal de *Trichogaster leeri*. Os casais pertenciam ao plantel de reprodutores do setor de aquicultura, do Laboratório de Zootecnia e Nutrição Animal (LZNA) do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil.

Os casais foram mantidos em aquários com capacidade de 20 L, dotados de um sistema de recirculação de água, equipado com um filtro mecânico e biológico. Após a separação dos casais, as fêmeas foram mantidas presas em recipientes transparentes com uma abertura acima da superfície da água para evitar uma possível briga dos animais e estimular a construção de ninho de bolhas pelo macho. Assim que observada a construção do ninho de bolhas em um substrato superficial de poliestireno expandido (EPS), foi realizada a soltura de uma fêmea e, em seguida, o macho pode executar a corte da fêmea e, conseqüentemente iniciava-se a reprodução.

Após o início da desova, cerca de 20 ovos foram observados para avaliar a fase embrionária sob um microscópio óptico com (x 25). Após a observação inicial, a desova foi distribuída em incubadoras de 18 litros da seguinte forma: ovos foram colocados em peneiras flutuantes sendo

que cada incubadora continha 6 peneiras, cada uma com 30 ovos. Cada incubadora possuía um aquecedor acoplado a um termostato, mantendo a temperatura constante durante todo o período experimental. As temperaturas utilizadas em cada incubadora foram: 24, 26, 28, 30 e 32 ° C. Cada incubadora tinha um sistema de oxigenação da água, ligado ao soprador de ar, dotados de mangueira e pedra porosa.

As observações foram realizadas desde a fecundação até o momento em que ocorreu a primeira alimentação por náuplios de artêmia (*Artemia spp.*). Os intervalos de observações variaram de acordo com a fase ontogenética, As observações foram feitas a cada 30 minutos da fecundação até a eclosão; a cada 2 horas da eclosão até a abertura do ânus e a cada 4 horas a partir deste momento até se observar a primeira alimentação dos animais.

Em cada observação, uma amostra de 10 ovos de uma peneira em cada incubadora foi retirada e colocada sobre uma lâmina de vidro escavada para a avaliação com um microscópio óptico ($\times 25$ ou ampliação $\times 100$) com câmera acoplada para obtenção das imagens.

Os estágios de desenvolvimento embrionário foram descritos somente quando 50% dos ovos observados em cada amostra atingiram o mesmo estágio de desenvolvimento embrionário. Os valores de temperatura, pH e oxigênio dissolvido foram mensurados a cada duas horas com o auxílio de um termômetro digital, medidor de pH e oxímetro digitais, respectivamente. A classificação de eventos foi baseada em características morfológicas de acordo com a metodologia utilizada por Fujimoto et al. (2006). O termo Horas pós fertilização (hpf) foi usado para correlacionar eventos morfofisiológicos. O hpf corresponde ao tempo após a fertilização (H0 – horário zero ou seja imediatamente após a fecundação). Após a conclusão da fase de desenvolvimento embrionário e larval, outra desova foi realizada a partir da mesma família de obter a taxa de sobrevivência e de eclosão (HR) e o índice de eficiência de desova, através das equações:

Taxa de eclosão (HR): $N_i \div N_h \times 100$,

Taxa de Sobrevivência larval (LSR): $NL \div Nd \times 100$,

Índice de Eficiência da Desova (EIS): $HR \times LSR \div 100$,

Onde:

Ni: número inicial de ovos,

Nh: Número de ovos eclodidos,

NL: Número de larvas vivas após a eclosão

Nd: Número de larvas mortas.

Os resultados obtidos durante o período experimental foram submetidos à análise estatística, através da “*Correlação de Pearson*” para determinar a correlação entre variáveis e uma “*Regressão Polinomial*” para prescrever melhor tempo de ocorrência das variáveis e eventos estudados.

Resultados

Os parâmetros físico-químicos da água das incubadoras estão representados na Tabela 1.

Tabela 1. Valores médios da temperatura (°C), Oxigênio dissolvido (OD) e pH da água nas incubadoras utilizadas durante o período experimental.

Tratamento	Temperaturas				
	24°C	26°C	28°C	30°C	32°C
Temperatura média (°C)	24,01 ± 0,20	26 ± 0,17	28,29 ± 0,17	30,09 ± 0,14	32,01 ± 0,18
pH	7,33 ± 0,17	7,23 ± 0,19	7,24 ± 0,14	7,19 ± 0,28	7,28 ± 0,21
Oxigênio dissolvido(mg/L)	7,73 ± 0,62	7,28 ± 0,39	6,71 ± 0,58	6,60 ± 0,49	6,23 ± 0,53

Não foram observadas grandes alterações na temperatura, oxigênio e pH da água. O pH e oxigênio dissolvido apresentaram valores aceitáveis para cultivo segundo Cole et al. (1999).

O diâmetro médio dos ovos de *Trichogaster* para as diferentes temperaturas foi de 0,863 ± 0,26 03mm. Os ovos fecundados de *Trichogaster leeri* apresentaram forma esférica, com o córion e a vesícula vitelínica translúcidos (Fig.1.A).

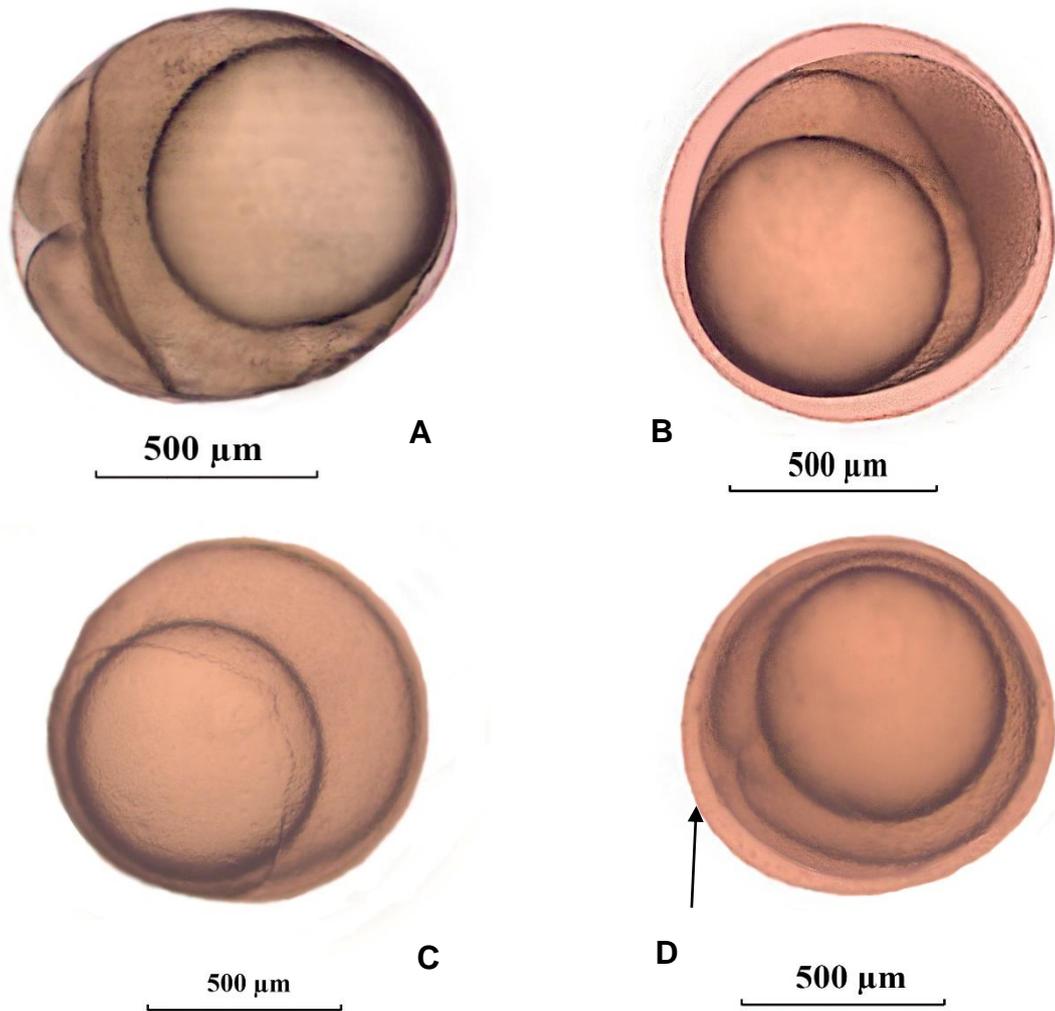


Figura 1. Etapas do início da clivagem até o fechamento do blastóporo. A: Visualização do início da clivagem (duas blastômeros). B: Clivagem em estágio avançado. C: Visualização do ovo em gastrulação. D: Fechamento do blastóporo.

O córion demonstrou-se pouco rígido e sua textura era semelhante à de pequenas “esferas gelatinosas”. Os ovos continham apenas uma gota de óleo na região inferior da vesícula vitelínica, possivelmente para ajustar a densidade à flutuação (NAKATANI et al. 2001)

O padrão de clivagem observado nos embriões estudados, assim como em outros teleósteos, foi meroblástico. A divisão inicial dos blastômeros foi muito acelerada e intensa, sendo marcado tempo inicial da clivagem a partir do momento em que os ovos apresentavam dois blastômeros, até o momento em que os ovos apresentavam o blastodisco em formato esférico, determinando o fim da clivagem e início da gastrulação.

Os valores de hpf para cada temperatura, de todos os eventos podem ser visualizados na Tabela 2.

Tabela 2. Cronologia dos eventos descritos durante o desenvolvimento embrionário e larval de *Trichogaster leeri*

EVENTOS	Cronologia da ocorrência dos eventos (hpf) em diferentes temperaturas				
	24 °C	26 °C	28 °C	30 °C	32 °C
Início da clivagem	0	0	0	0	0
Fim da clivagem	4,83	4,17	3,3	3,22	2,63
Início da gastrulação	4,83	4,17	3,3	3,22	2,63
Fim da gastrulação	8,22	8,05	7,38	6,72	5,85
Fechamento do blastóporo	8,22	8,05	7,38	6,72	5,85
Início diferenciação cabeça e cauda	11,05	9,38	8,97	7,37	6,63
Surgimento Primórdio óptico	13,9	10,05	9,38	8,02	7,13
Visualização inicial Somitos	17,77	13,77	12,25	8,93	8,22
Surgimento Condocrânio	18,13	15,02	14,75	10,35	8,72
Vesícula de Kuppfer	17,77	14,78	13,35	9,52	8,72
Melanóforos	18,13	13,77	13,35	10,02	9,22
Vesícula ótica	21,4	17,28	15,22	10,77	9,22
Otólitos	24,3	18,02	18,72	14,02	11,88
Início Batimentos cardíacos e circulação sanguínea	24,75	19,92	19,82	14,48	12,65
Início Contração do embrião	28,05	19,92	19,82	15,08	13,18
Início eclosão	32,63	27,22	21,3	19,6	14,55
Fim Eclosão ovos	39,13	27,72	24,47	21,98	19,22
Larvas recém eclodidas	39,63	28,22	24,97	22,48	19,72
Nadadeira caudal	48,13	42,22	39,22	33,48	32,72
Nadadeira peitoral	64,13	46,22	43,22	37,48	32,72
Movimentação dos olhos	72,13	66,22	51,22	45,48	40,72
Abertura de boca	84,13	66,22	67,22	45,48	40,72
Natação na horizontal	84,13	66,22	67,22	49,48	44,72
Abertura de ânus	100,13	71,22	70,22	53,48	52,72
Primeira alimentação	120,13	95,22	98,22	91,48	76,72

As etapas como clivagem, gastrulação e fechamento do blastóporo, aconteceram rapidamente em todas as temperaturas avaliadas. A gastrulação é a etapa em que, por movimentos de epibolia, as células blastodérmicas recobrem a massa vitelínica e ocorre a migração das células mais internas do blastoderme, deslocando-se dorsal e convergentemente, formando o eixo embrionário. O fim da gastrulação foi determinado quando era visualizado o fechamento de blastóporo nos ovos de *Trichogasterleeri*(Fig. 1.D).

Com o final do período de gástrula iniciou-se a organogênese, que foi observada até o momento de pré-eclosão. Durante a organogênese, os tecidos e os órgãos se diferenciaram. O início da

diferenciação da cabeça e cauda do embrião foi observado com 6,63; 7,37; 8,97; 9,38; 11,05hpf nas temperaturas de 32, 30, 28, 26 e 24°C, respectivamente. É possível notar que logo em seguida a visualização da cabeça e cauda do embrião, ocorre o surgimento do primórdio óptico, que apresentou correlação positiva de 97,96% com o início da visualização dos somitos (Fig. 2 A e B).

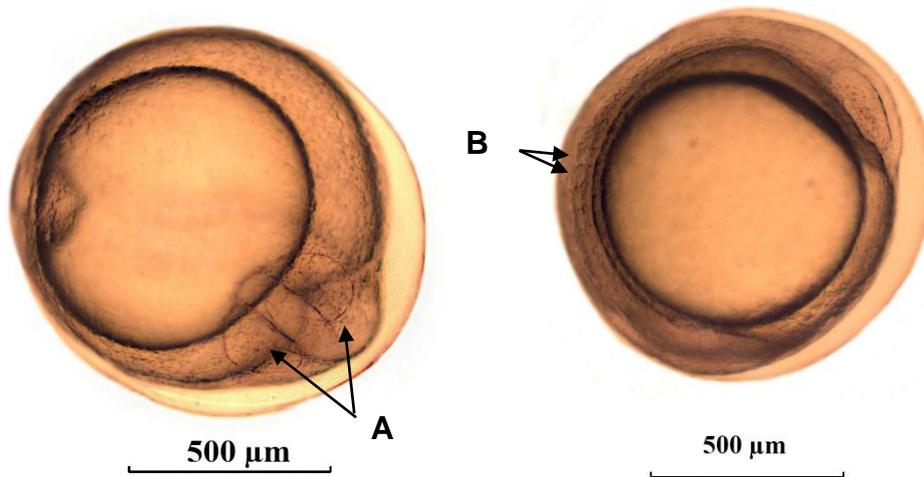


Figura 2. Início da diferenciação de estruturas durante a organogênese. A: Primórdio óptico. B: Visualização de somitos no eixo embrionário.

Durante a organogênese, é possível observar que o início da visualização de somitos possui uma correlação positiva com o surgimento do condocrânio de 97,53%. Nesse estágio foi possível visualizar o surgimento do condocrânio, uma estrutura cranial cartilaginosa do embrião na região cefálica, que dará origem à base do crânio que sustenta o encéfalo. Foi observada uma correlação positiva ainda mais elevada de 98,93% do condocrânio, com o surgimento da vesícula de Kupffer, que possui função excretora (Moura, 1991).

No presente trabalho foi possível observar que o surgimento de melanóforos ocorreu antes do surgimento do condocrânio, exceto na temperatura de 32°C.

Foi possível observar o início do surgimento da vesícula ótica, na região posterior da vesícula óptica, e em seguida o surgimento dos otólitos, com visualização de apenas um par até

momentos antes da eclosão com uma correlação entre vesícula ótica e otólitos de 97,51%. (Fig. 3 A e B).

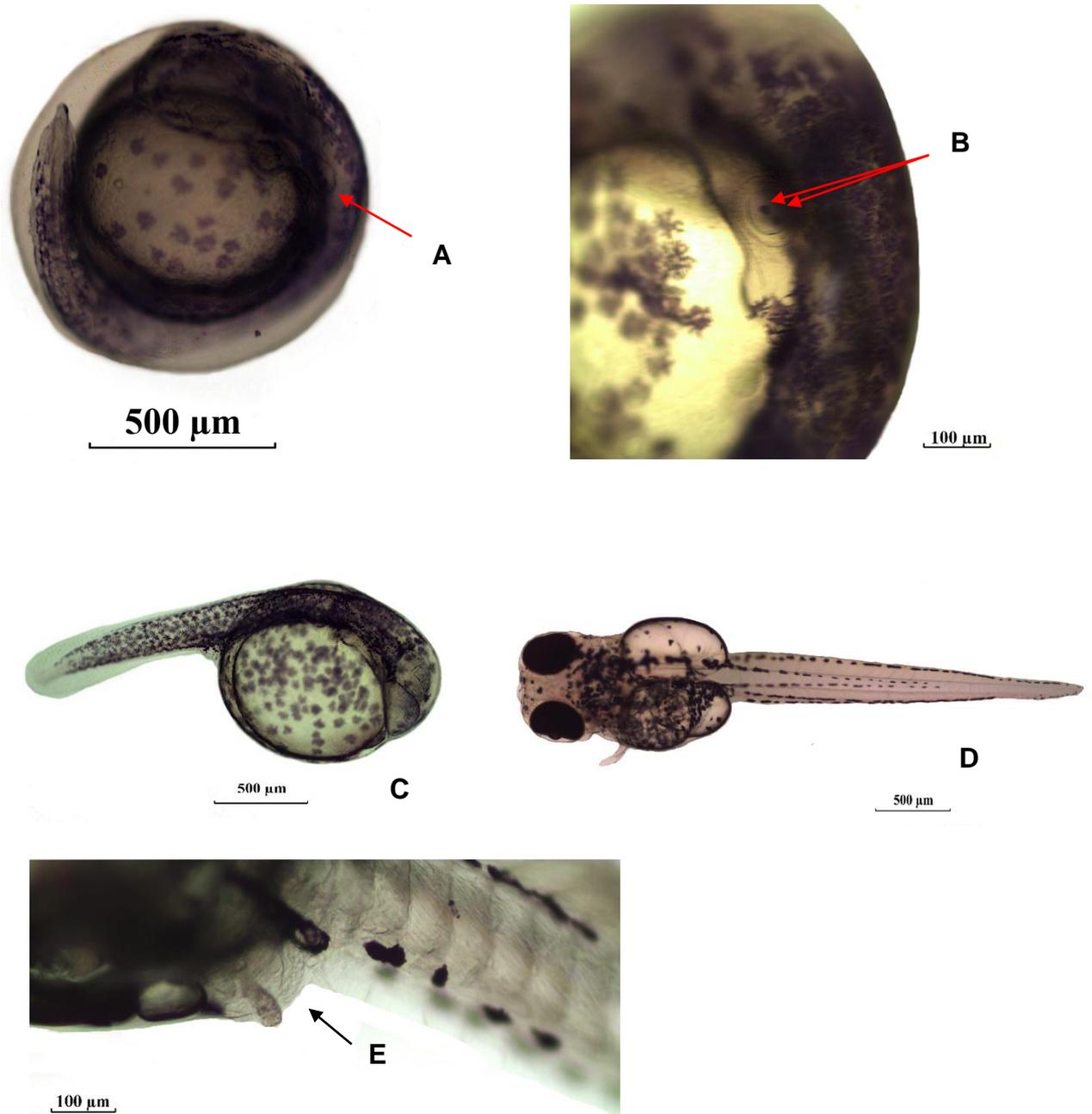


Figura 3. Fotomicrografias dos embriões em momentos pré/pós-eclosão. A: Vesícula ótica do embrião pré-eclosão. B: Vesícula ótica com maior ampliação da imagem. C: Larva de *Trichogaster leeri* recém eclodida. D: Larva com abertura de boca, nadadeiras desenvolvidas e com vitelo exaurido. E: Abertura de anãs.

O início dos batimentos cardíacos apresentou uma correlação positiva de 98,14% com o início das contrações do embrião, este momento foi seguido pelo início das eclosões com hpf de: 14,55; 19,6; 21,3; 27,22 e 32,63 nas temperaturas de 32, 30, 28, 26 e 24°C, respectivamente.

O fim da eclosão ocorreu com grande intervalo entre a temperatura de 32°C e 24°C, registrado com 19,22 e 39,13 hpf, respectivamente.

A nadadeira caudal foi visualizada nas larvas com 32,72; 33,48; 39,22; 42,22 e 48,13 nas temperaturas de 32, 30, 28, 26 e 24°C, respectivamente. A movimentação dos olhos só foi evidenciada após o desenvolvimento da pigmentação do cristalino e da pigmentação da retina. O momento da primeira alimentação foi descrito como o momento em que as larvas de *Trichogaster leeri*, quando visualizadas em microscópio óptico, apresentavam pigmentação alaranjada em toda região do trato digestório, ainda em formação.

A taxa de eclosão apresentou os melhores resultados na faixa térmica de 26 à 30°C, observando-se ponto de máxima em 28,79°C (Fig. 4).

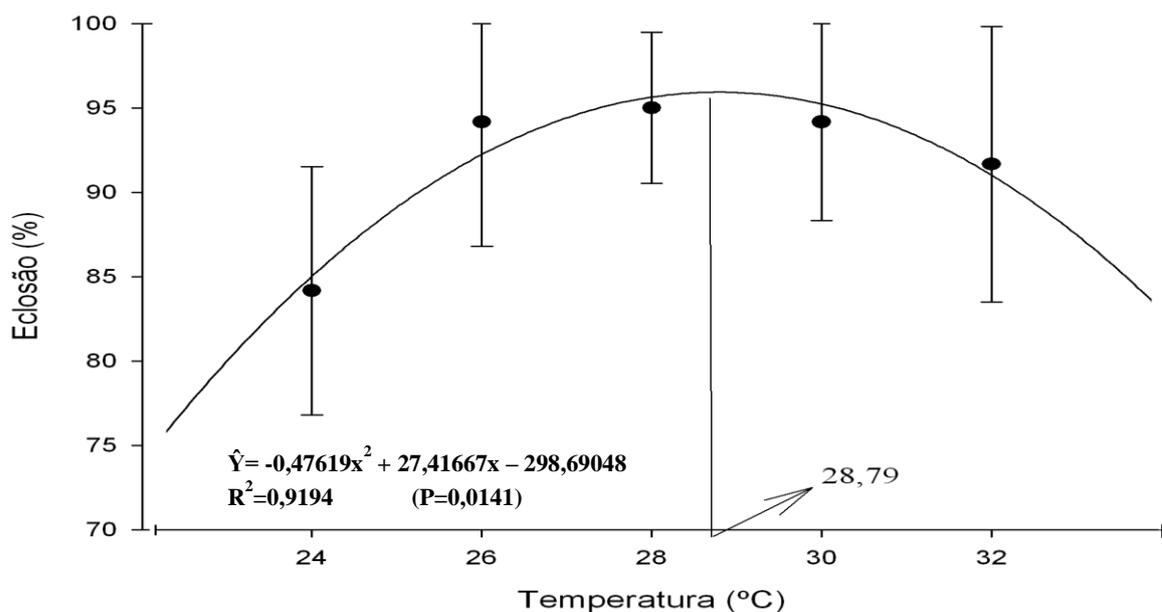


Figura 4. Efeito da temperatura na taxa de eclosão dos ovos de *Trichogaster leeri*

A taxa de sobrevivência das larvas, observadas nas temperaturas de 26 e 28°C, apresentou um ponto de máxima de 27,40°C (Fig.5).

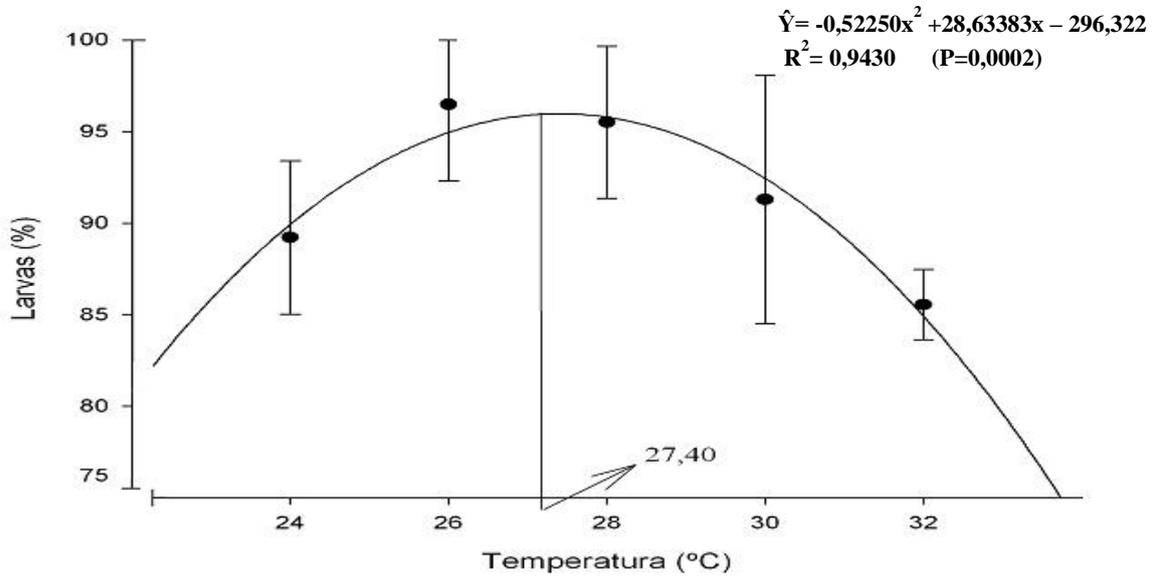


Figura 5. Efeito da temperatura na sobrevivência das larvas.

Em relação à eficiência da desova, obtidas pela relação da taxa de eclosão e sobrevivência das larvas, é possível observar os melhores resultados entre as temperaturas de 26 e 28°C, com o ponto de máxima em 27,40% (Fig .6).

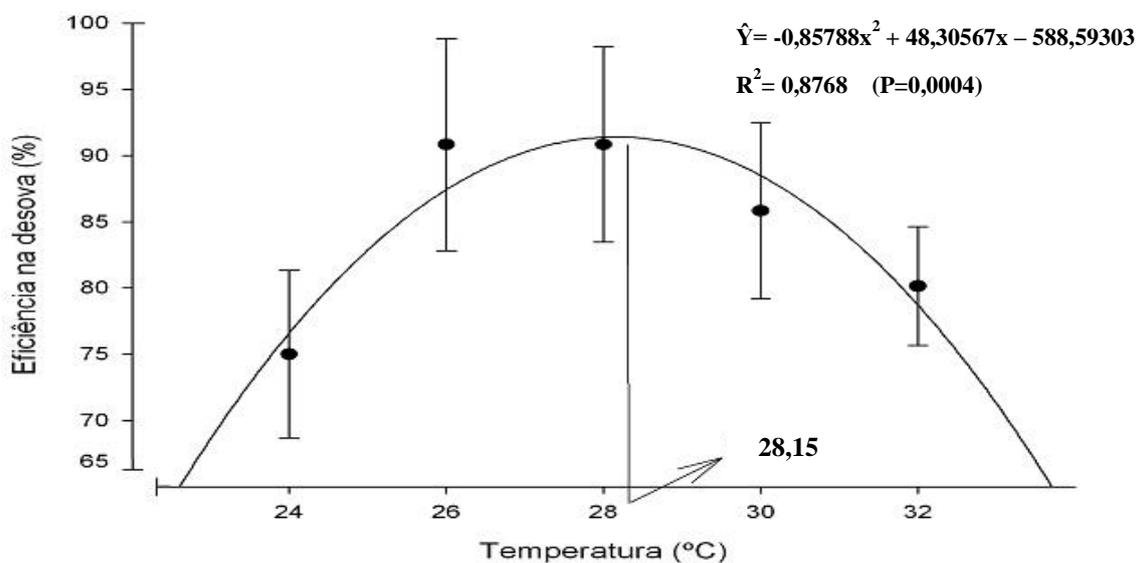


Figura 6. Eficiência da desova, em diferentes temperaturas

Discussão

Durante a desova, o macho de *Trichogaster leeri* deposita os ovos em ninhos de bolhas, apresentando cuidado da prole, como visto por *Betta splendens* e *Hoplosternum littorale* (DUARTE et al. 2012; NAKATANI, et al. 2001).

O tempo de desenvolvimento embrionário no presente estudo, apresentou diferença em função da temperatura experimental utilizada em todos os tratamentos. De modo geral, o tempo de ocorrência para os eventos foi mais rápido que o observado em outros peixes de clima tropical (FERREIRA, 2007; RADAEL et al. 2013; MATTOS et al. 2014). Apesar do tempo decorrido para o desenvolvimento embrionário de *Trichogaster leeri* ter sido mais rápido que em peixes da mesma família, como observado por Duarte et al. (2012), é possível que o tempo para ocorrência dos eventos estejam relacionados ao gênero dos animais, como descrito por Radael et al. (2013).

Houve dificuldade para mensurar o tempo decorrido das divisões celulares no blastodisco. Assim, o tempo da ocorrência do início até o fim da clivagem, foi descrito como momento logo após a fertilização, onde os ovos apresentavam dois blastômeros, terminando com o início da gastrulação, onde eram observados o início da evolução da blastoderme por toda vesícula vitelínica. O fim da gastrulação foi descrito quando toda vesícula vitelínica foi recoberta pelas bordas do blastodisco determinando assim o fechamento do blastóporo. Esta fase tem sido descrita por outros autores, como Puvaneswari et al. (2009) em *Heteropneustes fossilis* com 7 hpf e por Reynalte-Tataje et al. (2004) em *Brycon orbignyanus* em 6,5 hpf para fechar o blastóporo. Esta etapa do desenvolvimento embrionário é um acontecimento importante e é considerado o período em que a fertilização do oócito pode ser confirmada (WOYNAROVICH & HORVÁTH, 1983).

Os eventos acima ocorreram mais rápido em todas as temperaturas quando comparados com Duarte et al. (2012), que determinou tempo até fim da clivagem e término de gastrulação de

7,5 e 14,5hpf respectivamente, para *B. splendens*. Em ovos de híbridos de surubins (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma fasciatum*) observado por Faustino et al. (2007), foi possível observar ocorrência mais rápida em relação ao observado em todas as temperaturas no presente experimento.

A diferenciação da cabeça e cauda no desenvolvimento embrionário o surgimento do primórdio óptico e dos somitos apresentaram valores menores de hpf em todas as temperaturas quando comparados aos resultados obtidos por Marimuthu & Haniffa (2007), Radael et al. (2009) e Mattos et al. (2014)

Vale ressaltar, que estruturas como os somitos, que resultam na formação de vértebras, costelas e musculatura axial, precedem, em alguns estudos, o surgimento de estruturas como vesícula de Kupffer, vesícula ótica e otólitos. Este comportamento pode ser observado no presente estudo, bem como observado em kinguios “*var. cometa*”, por BAZLUR RAHAMAN et al. (2011), com *Carassius auratus* por TSAI et al. (2013) e acará disco, descritos por MATTOS et al. (2013).

Quando os animais começaram a apresentar contrações, geralmente próximas ao período de eclosão, a grande quantidade de melanóforos dendríticos pôde ser observada em todo eixo embrionário (fig. 3).

Os eventos, Início e Fim da eclosão, apresentaram duração curta na temperatura de 26°C. É possível afirmar que este resultado esteja associado à proximidade com a temperatura ótima para sobrevivência das larvas e eficiência da desova. Apesar de não apresentar os valores absolutos superiores para taxa de eclosão em 26°C, os resultados obtidos de sobrevivência das larvas e eficiência da desova apresentaram melhores respostas nesta temperatura.

No presente estudo, as larvas de *Trichogaster leeri* após a eclosão, apresentavam uma grande pigmentação no vitelo e no eixo embrionário, grande reserva de vitelo e pouca movimentação. As larvas de *Trichogaster leeri* apresentam pouco desenvolvimento morfológico ao eclodir,

com pouca motilidade natatória e pouca reserva vitelínica, além de trato digestório morfofisiologicamente incompleto no momento do início da alimentação exógena, aspecto este que pode prejudicar o desenvolvimento dos animais durante e após a larvicultura (PORTELLA, 2004; MATTOS, 2014).

As larvas de *Trichogaster leeri* podem ser caracterizadas como resistentes pois em todas as temperaturas avaliadas foram observados bons resultados de sobrevivência.

A temperatura influenciou o desenvolvimento embrionário de *Trichogaster leeri*. Apesar do presente estudo não avaliar temperaturas críticas ($< 24^{\circ}\text{C}$ ou $> 32^{\circ}\text{C}$), é possível observar os melhores resultados em uma faixa de conforto térmico de 26 à 30°C. O efeito da temperatura é um fator determinante na etapa inicial de vida dos peixes e, temperaturas fora da faixa ideal, podem provocar aumento na mortalidade, ou resultar em anomalias em larvas de peixes como observado por Dionisio et al. (2012). Estes autores afirmaram que a temperatura de incubação do ovo teve um efeito significativo na ocorrência de anomalias em larvas de *Solea senegalensis* quando estas larvas eram cultivadas fora do seu conforto térmico de 18–22°C, sendo esta faixa de temperatura determinada como ideal para esta espécie, conforme Engrola et al. (2005, 2009), Fernandez et al. (2009), Blanco-Vives et al. (2010).

Quando a temperatura da água está fora da faixa de conforto térmico de uma determinada espécie, é possível observar alterações na fisiologia dos animais como: diminuição de atividades como natação, altas taxas de mortalidade quando ocorrem alterações expressivas de temperatura, além de possíveis anormalidades (Sfakianakis, et al. 2011; Landsman, et al. 2012).

Conclusão

O aumento da temperatura antecipou a ocorrência dos eventos estudados. Embora os processos ontogênicos tenham ocorrido de forma mais rápida nas temperaturas mais altas, a taxa de eclosão, sobrevivência das larvas e a eficiência de desova, apresentaram os melhores resultados em 28 ° C. As temperaturas mais baixas provocaram um atraso no tempo de desenvolvimento *Trichogaster leeri* em comparação com a temperatura de 28 ° C. Assim, a incubação de ovos e larvas é indicada para esta espécie em 28 ° C.

Referências

- ALVES, M.S.D. & MOURA, A. (1992). Estádios de desenvolvimento embrionário de curimatá-pioa *Prochilodus affinis* (Reinhardt, 1874) (Pisces, Prochilodontidae). In ***Encontro Anual de Aquicultura de Minas Gerais***, 10, Belo Horizonte (Brasil). 61–71 pp.
- ARITAKI, M.; SEIKAI, T. (2004). Temperatura effects on early development and occurrence of metamorphosis-related morphological Abnormalities. In: Hatchery-Reared Brown Sole *Pseudopleuronectes herzensteini*. ***Aquaculture***. 240:517-530pp.
- BLANCO-VIVES, B.; VILLAMIZAR, N.; RAMOS, J.; BAYARRI, M. J.; CHEREGUINI, O.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J. (2010): Effect of daily thermo- and photo-cycles of different light spectrum on the development of Senegal sole (*Solea senegalensis*) larvae. ***Aquaculture*** 306:137–145pp.
- BAZLUR RAHAMAN, S.M.; MAHMUD, Z.; AHMED, F.; GHOSH, A. K.; SABBIR, W. (2011). Induced Breeding, Embryonic and Larval Development of Comet Gold Fish (*Carassius auratus*). ***Electronic Journal of Biology***, 7:32-39pp.
- BERLIN SKY, D. L.; TAYLOR, J. C.; HOWELL, R. A.; BRADLEY, T. M. (2004). The Effects of Temperature and Salinity on Early Life Stages of Black Sea Bass *Centropristis striata*. ***Journal of the World Aquaculture Society***. 35: n.3.

- COLE, B.; TAMARU, C.S.; BAILEY, R. *et al.* (1999) A manual for commercial production of the gourami, *Trichogaster trichopterus*, a temporary paired spawner. *Cent. Trop. Subtrop. Aquac.*, 135:37pp.
- DEGANI, G. (1989) The Effect of Temperature, Light, Fish Size and Container Size on Breeding of *Trichogaster trichopterus*. *Bamidgeh*, 41:67-73pp.
- DEGANI, G. (1990) The effect of temperature, light, fish size and container size on breeding of *Trichogaster trichopterus*(B&S 1801). *Aquacultural Engineering*, 9:367-375pp.
- DIONISIO, G.; CAMPOS, C.; VALENTE, L. M. P.; CONCEIÇÃO L. E. C.; CANCELA, M. L.; GAVAIA, P. J. (2012) Effect of egg incubation temperature on the occurrence of skeletal deformities in *Solea senegalensis*. *J. Appl. Ichthyol.* 28:471–476pp.
- DUARTE, S.C., VASCONCELLOS, B.F., VIDAL JR., M.V., FERREIRA, A.V., MATTOS., D.C. &BRANCO, A.T. (2012) Ontogeny and embryonic description of *Bettas splendens*, Perciformes (Regan, 1910). *Rev. Brasileira de Saúde e Produção. Animal*, 13:93–880pp.
- ENGROLA, S.; CONCEIÇÃO, L. E. C.; GAVAIA, P. J.; CANCELA, M. L.; DINIS, M. T., (2005): Effects of pre-weaning feeding frequency on growth, survival, and deformation of Senegalese sole, *Solea senegalensis* (Kaup, 1858). *Isr. J. Aquaculture*. 57, 10–18pp.
- ENGROLA, S.; FIGUEIRA, L.; CONCEIÇÃO, L. E. C.; GAVAIA, P. J.; RIBEIRO, L.; DINIS, M. T., (2009): Co-feeding in Senegalese sole larvae with inert diet from mouth opening promotes growth at weaning. *Aquaculture*.288:264–272pp.
- FAUSTINO, F., L. S. O. NAKAGHI, C. MARQUES, L. C. MAKINO & J. A. SENHORINI. (2007). Fertilização e desenvolvimento embrionário: morfometria e análise estereomicroscópica dos ovos dos híbridos de surubins (pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* x cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum*). *Acta Scien. Bio. Scien*, 29:49-55pp.
- FERNANDEZ, I.; PIMENTEL, M. S.; ORTIZ-DELGADO, J. B.; HONTORIA, F.; SARASQUETE, C.; ESTEVEZ, A.; ZAMBONINO-INFANTE, J. L.; GISBERT, E., (2009): Effect of dietary vitamin A on Senegalese sole (*Solea senegalensis*) skeletogenesis and larval quality. *Aquaculture* 295:250–265pp.
- FERREIRA, A. V. (2007) Ontogenia inicial e consumo de vitelo em malanotênia maçã (*Glossolepis incisus*, Weber, 1907). Dissertação. Universidade Estadual Norte Fluminense - Campos dos Goytacazes, RJ.

- FUJIMOTO, T., KATAOKA, T., OTANI, S., SAITO, T., AITA, T., YAMAHA, E. & ARAI, K. (2004). Embryonic stages from cleavage to gastrula in the loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Zoolog. Sci. Jpn.* 21:747–55pp.
- FUJIMOTO, T., KATAOKA, T., SAKAO, S., SAITO, T., YAMAHA, E. & ARAI, K. (2006). Developmental stages and germ cell lineage of the loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). *Zoolog. Sci. Jpn.* 23:977–89pp.
- GODINHO, H.P., SANTOS, J.E. & SATO, Y. (2003). Ontogênese larval de cinco espécies de peixes do São Francisco, pp.133–148. In H.P. Godinho & A.L. Godinho (eds.). *Águas, Peixes e Pescadores do São Francisco das Minas Gerais*. Belo Horizonte: PUC Minas, 468 pp.
- HOWELL W. H. & CALDWELL, M. A. (1984) Influence of temperature on energy utilization and growth of embryonic and prolarval american plaice, *Hippoglossoides platessoides*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 19:173-189pp.
- MARIMUTHU, K. & HANIFFA, M.A. (2007). Embryonic and larval development of the striped snakehead *Channa striatus*. *Taiwania* 52:84–92pp.
- NAKATANI, K.; AGOSTINHO, A.A; BAUMGARTNER, G.; BIALETZKI, A.; SANCHES, P.V.; MAKRAKIS, M.C.; PAVANELLI, C.S. (2001) Ovos e larvas de peixes de água doce: Desenvolvimento e manual de identificação. **Maringá: UEM**, 378pp.
- PORTELLA, M. C. (2004) Técnicas de criação intensiva de larvas de peixes neotropicais: situação atual e perspectivas. In: *I AquaCiência*, Vitória – ES., 460pp.
- PUVANESWARI, S., MARIMUTHU, K., KARUPPASAMY, R. & HANIFFA, A.M. (2009). Early embryonic and larval development of Indian catfish, *Heteropneustes fossilis*. *J. Bio. Sci.* 3:84–96pp.
- RADAEL, M.C. (2009). Descrição Ontogênica de Embriões de Acará Bandeira (*Pterophyllum scalare* LICHTENSTEIN, 1823) incubados à 28°C. *Monografia (Especialização) Curso de Morfofisiologia Animal*, UFLA, Lavras, 45 pp.
- RADAEL, M.C., CARDOSO, L.D., ANDRADE, D.R., MATTOS, D.C., MOTTA, J.H.S., MANHÃES, J.V. & VIDAL JR, M.V. (2013). Morphophysiological characterization of the embryonic development of *Melanotaenia praecox* (Weber & de Beaufort, 1922). *Zygote* 9:1–7pp.
- REYNALTE-TATAJE, D.R., ZANIBONI-FILHO, E. & MUELBERT, B. (2001). Stages of the embryonic development of the piavuçu *Leporinus macrocephalus*. *Acta Scientiarum* 23,7pp.

- SENHORINE, J.A. (1993). Procedimento para criação de larvas de peixes. IBAMACEPTA. Pirassununga – São Paulo. Apostila 21 pp.
- SFAKIANAKIS, D. G.; LERIS, I.; KENTOURI, M. (2011). Effect of developmental temperature on swimming performance of zebrafish (*Danio rerio*) juveniles. **Environ Biol Fish** 90:421–427pp.
- TSAI, H. Y.; CHANG, M.; LIU, S. C.; ABE, G.;OTA, K. G. (2013). Embryonic Development of Goldfish (*Carassius auratus*): A Model for the Study of Evolutionary Change in Developmental Mechanisms by Artificial Selection. **Developmental Dynamics** 242:1262–1283pp.
- WOYNAROVICH, E. &HORVÁTH, L. (1983).A Propagação Artificial de Peixes de águas tropicais: *Manual de Extensão. Brasília: FAO/CODEVASF/CNPq*, 13 pp.
- ZUANON, J. A. S.; ASSANO, M.; FERNANDES, J. B. K. (2004) Desempenho de Tricogaster (*Trichogaster trichopterus*) Submetido a Diferentes Níveis de Arraçamento e Densidades de Estocagem. **R. Bras. Zootec.**, 33:1639-1645pp.

Resultados seguidos por (*) apresentam significância de ($p < 0,01$) e (**) à ($p < 0,05$);

Descrição dos eventos correlacionados:

1 – Tratamento; 2 - Fim da clivagem; 3 - Início da gastrulação; 4 - Fim da gastrulação; 5 - Fechamento do blastóporo; 6- Início diferenciação cabeça e cauda; 7 - Surgimento Primórdio óptico; 8 - Visualização inicial Somitos; 9 - Surgimento Condocrânio; 10 - Vesícula de Kupffer; 11 – Melanóforos; 12 - Vesícula ótica; 13 – Otólitos; 14 - Início Batimentos cardíacos e circulação sanguínea; 15 - Início Contração do embrião; 16 - Início eclosão; 17 – Término da eclosão; 18 - Larvas recém eclodidas; 19 - Nadadeira caudal; 20 - Nadadeira peitoral; 21 - Movimentação dos olhos; 22 - Abertura de boca; 23 - Natação correta; 24 - Abertura de ânus; 25 - 1ª alimentação; 26 – Eclosão dos ovos; 27 - Larvas recém eclodidas; 28 – Eficiência da Desova;