# MORFOGENIA LARVAL MICROANATÔMICA DO PEIXE-REI MARINHO Odontesthes argentinensis (ATHERINIFORMES, ATHERINOPSIDAE) DO RIO GRANDE DO SUL – BRASIL: ENTRE A ECLOSÃO E O 30° DIA

### Márcia Perazzo Valadares Costa<sup>1</sup> Renato Zacarias Silva<sup>2</sup> Luis André Sampaio<sup>3</sup> João Carlos Brahm Cousin<sup>2</sup> renatinhoterciotti@yahoo.com.br

•

### RESUMO

(Microanatomia larval do peixe-rei marinho Odontesthes argentinensis do Rio Grande do Sul - Brasil) Larvas de Odontesthes argentinensis foram cultivadas sob condições controladas em tanques de 15 litros (temperatura: 21-22,5°C; salinidade: 30-35‰; fotoperíodo 13h claro:11h escuro; aeração e renovação da água constantes; densidade: sete larvas/litro e alimentação: nauplii de Artemia spp.) na Estação Marinha de Aquicultura (EMA) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) para descrição microanatômica e funcional do sistema digestório entre a eclosão e o 30º dia de vida. Amostragens histológicas e biometrias (Regressão Linear: comprimento-idade e peso-idade) respeitaram as idades: recém-eclodidos (zero dias=0D), 1D, 3D, 6D, 12D, 16D, 20D e 30D pós-eclosão com anestesia com MS-222. Para histologia foram fixadas por 12h (0D≥idade≤20D) e por 24h (idade=30D) em líquido de Bouin, submetidas ao protocolo de inclusão em parafina para montagem permanente em Bálsamo do Canadá, coloração com Hematoxilina-Eosina e microtomia de 7µm em orientação sagital. Ao 0D a espécie possui: sistema nervoso e tecido muscular estriado esquelético (miomérico) bem diferenciados; boca funcional; tubo digestório com luz contínua e em diferenciação acelerada (concomitantemente com a rápida formação hepática e pancreática) o que permite uma nutrição mista (endógena e exógena); não há orifício anal ainda formado; cavidade faringiana portadora de brânquias funcionais; vitelo grande e ocupando a maior parte da cavidade visceral. Larvas de 12D apresentam todos os sistemas de órgãos nãogametogênicos caracterizados. Até o 30D O. argentinensis não apresenta estômago e cecos pilóricos. A salinidade parece ser um fator importante para a sobrevivência larval mesmo com o tegumento, o sistema respiratório e o sistema urinário funcionais, o que implica em mortalidade multifatorial.

Palavras-chave: Desenvolvimento larval, organogênese, Odontesthes argentinensis, aquicultura

#### ABSTRACT

(Larval microanatomy of marine silverside *Odontesthes argentinensis* from Rio Grande do Sul – Brazil) Larvae of *Odontesthes argentinensis* were cultured under controlled conditions in 15 liters tanks (temperature: 21-22,5°C; salinity: 30-35‰; photoperiod: 13h light:11h dark; constant aeration and water renewing; density: seven larvae/liter and feeding: *Artemia* spp. *nauplii*) in the Estação Marinha de Aquicultura (EMA) from Universidade Federal do Rio Grande (FURG) to microanatomic and functional describe of the digestory system between hatching and 30° day-old. Histological and biometry samplings follow the ages: hatched (day zero=0D), 1D, 3D, 6D, 12D, 16D, 20D and 30D post-hatching with anesthesia with MS-222. To histology were fixed by 12h (0D≥age≤20D) and 24h (age=30D) in Bouin's fluid to embedding in paraffin and permanent mounting in balsam, staining with Hematoxylin-Eosin under 7µm thickness microtomia in sagittal cut plane. At 0D life the species show: nervous system and striated skeletal muscle tissue (myomera) well differentiated; functional mouth; digestory tube in fast differentiation with a continuous lumen (together with fast hepatic and pancreatic formation) what permits a mixed nutrition (exogenous and endogenous); there is no anus formed; the pharyngeal cavity possess functional gills; the yolk sac is great and inhabit the greatest portion of the visceral cavity. 12D larvae show all internal no-gametal organ systems characterized. Until 30D *O. argentinensis* no develops stomach and pyloric ceca. The salinity can be an important factor to larval surviving although the tegument is present, respiratory and urinary systems were functional, what can denote a multifactorial mortality.

Key words: Larval development, organ development, Odontesthes argentinensis, aquiculture

## INTRODUÇÃO

O gênero *Odontesthes* inclui espécies dulceaqüícolas, estuarinas e marinhas, sendo que o peixe-rei marinho *O. argentinensis* Valenciennes, 1835 é endêmico do extremo Sul do Brasil (PHONLOR; COUSIN,1998). Figueiredo; Menezes (1978) apontam

1 – Instituto Nacional do Desenvolvimento das Pescas (INDP), São Vicente, República de Cabo Verde, África Ocidental, Caixa Postal 132, Via Lisboa. 2 - Universidade Federal do Rio Grande, Instituto de Ciências Biológicas, Laboratório de Morfologia Funcional, Avenida Itália, Km 08 s/n, Caixa Postal 474, Cep: 96201-900, Rio Grande, RS, Brasil. 3 - Universidade Federal do Rio Grande, Instituto de Oceanografia, Estação Marinha de Aqüicultura, Laboratório de Maricultura, Balneário Cassino, Caixa Postal 474, Cep: 96.201-900, Rio Grande, RS, Brasil.

para confusões taxonômicas do grupo decorrentes da sua variação fenotípica.

A aqüicultura representa uma atividade para o enriquecimento nutricional protéico da população humana. Para a região Sul do Brasil esta atividade tem crescido via utilização de espécies exóticas que podem desestabilizar bio-ecologicamente os recursos

BIOCIÊNCIAS, Porto Alegre, v. 17, n. 1, p. 91-105, dez. 2009

pesqueiros através de epizootiologias, invasões de nichos e habitats e por hibridizações (ICES, 1996).

Sampaio (1992) aponta a potencialidade para a aqüicultura de *O. argentinensis*, devido às suas características eurihalinas, bom desempenho zootécnico e seu valor comercial regional. Desta forma, diferentes estudos multidisciplinares com resultados promissores têm sido efetuados, visando tecnologias para aqüicultura da espécie (PHONLOR; SAMPAIO, 1992; SAMPAIO et al., 1995; SAMPAIO; MINILLO, 1995; SAMPAIO; PHONLOR, 1996).

Os estudos do desenvolvimento larval de peixes se concentram, principalmente, nos aspectos externos morfométricos e da pigmentação, buscando categorizar estágios e estádios importantes para atividade pesqueira, oceanográfica e de investigação ecológica; todavia com limitações sobre o desenvolvimento visceral e dos órgãos sensoriais (O'CONNELL, 1981). Entretanto, estudos cronológicos do desenvolvimento de peixes teleósteos são ainda insuficientes, limitando, desta forma, o sucesso do cultivo de espécies marinhas de interesse comercial (KJØRVISK et al., 1991).

Para larvas com vitelo há uma correlação positiva entre o aumento contínuo do consumo do mesmo com o desenvolvimento corporal de estruturas e sistemas de órgãos, gerando modificações de hábitos alimentares, de modelos de locomoção e outras características ecológicas. A diferenciação dos sistemas de órgãos larvais deve envolver suporte ecológico para as capacidades e trocas físio-funcionais (O'CONNELL, 1981). Desta forma, registra o mesmo autor, que a exaustão completa do vitelo deve ocorrer quando a larva está apta para a alimentação exógena, refletindo a concomitância funcional do trato digestório.

Em larvas de peixe o trato digestório é morfofuncionalmente menos elaborado do que em adultos, passando por mudanças anátomo-tróficas com o processo de crescimento (GOVONI et al., 1986; LAVENS et al., 1996). Silveira (1999) indica que a sobrevivência e o crescimento ideal larval estão intimamente ligados à adequação com a primeira dieta oferecida; mas Kjørsvisk et al. (1991) e Otake et al. (1995) consideram o desconhecimento das necessidades nutricionais e das funções digestórias dos peixes em cultivo um mecanismo gerador de falhas na manutenção das espécies. A ampla literatura relacionada ao trato digestório e às funções fisiológicas da digestão em teleósteos, geralmente não comtempla informações sobre a ontogenia inicial e as transformações intestinais que acompanham o crescimento (q.v. BISBAL; BENGTSON, 1995).

O estudo descreve em larvas cultivadas de *O*. *argentinensis* a morfogênese e investiga a funcionalidade do sistema digestório entre a eclosão (0D) e o trigésimo dia (30D) de vida.

#### **MATERIAL E MÉTODOS**

Ovos fertilizados foram coletados de materiais diversos (entulhos, restos de rede, etc.) depositados na praia do Cassino (32° 30'S, 52° 30'W) durante o período de maré alta. O material coletado foi examinado para seleção dos ovos no laboratório da Estação Marinha de Aqüicultura (EMA) da Fundação Universidade Federal do Rio Grande (FURG). A seleção dos ovos foi efetuada sob microscópio óptico estereoscópico buscando aqueles com menor grau de desenvolvimento, ou seja, com o olho não pigmentado. Os ovos foram acondicionados em Placas de Petri, lavados com água do mar filtrada. A incubação foi efetuada em recipientes plásticos de dois litros, abastecidos com água do mar filtrada renovada diariamente; temperatura entre 21-22,5°C; salinidade entre 30-35%, fotoperíodo de 13h claro:11h escuro e aeração constante. Diariamente os ovos foram investigados ao microscópio óptico esteroscópico para observação do estado geral e remoção daqueles inviáveis (opacos ou sem batimento cardíaco).

Larvas foram coletadas com puçá (1mm de malha) e transportadas em baldes com água do mar filtrada para tanques de 15 litros em uma densidade de sete larvas por litro, sendo mantidas sob as mesmas condições utilizadas para os ovos. A categorização do estágio de desenvolvimento respeitou Balon (1975).

A alimentação se constituiu de náuplios de *Artemia* spp. fornecidas desde a eclosão até o 30° dia do estudo. Restos alimentares, dejetos e larvas mortas foram removidos diariamente.

Coletas para análises histológicas respeitaram os períodos: recém-eclodidos (zero dias=0D), 1D, 3D, 6D, 12D, 16D, 20D e 30D pós-eclosão. As larvas foram capturadas com pipeta, depositadas em Placas de Petri com água do cultivo e anestesiadas com MS-222 (ROBERTS, 1981). Biometrias foram efetuadas em larvas 0D, 1D, 6D, 12D e 30D pós-eclosão para o comprimento padrão (com ocular micrométrica) e para o peso (sob balança eletrônica SARTORIOS-MC1; precisão de 1mg) para a construção da Regressão Linear entre o comprimento-idade e peso-idade. Antes de serem pesadas as larvas foram secas com papel filtro (EHRLICH, 1974; CETTA; CAPUZZO, 1982).

Larvas destinadas ao estudo microanatômico foram fixadas em líquido de Bouin por 12horas (0D≥idade≤20D) e por 24 horas (idade=30D) sendo submetidas ao protocolo de inclusão em parafina e coloração com Hematoxilina-Eosina para montagem permanente em Bálsamo do Canadá sob microtomia de 7µm em orientação sagital.

#### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

**Sobrevivência e crescimento:** A taxa de sobrevivência larval no estudo foi de 57%. O crescimento em comprimento e em peso após 30D foi de 2,7 e de 47,6 vezes daquele no momento da eclosão, respectivamente. A Tabela 1 apresenta os valores médios do comprimento e do peso larval entre 0D e 30D. As Figs. 1A e 1B apresentam as regressões lineares com as equações da reta para comprimento-idade e peso-idade larval, respectivamente.

**Morfologia externa das larvas:** As larvas de *O. argentinensis* 0D são filiformes, com nadadeiras peitorais transparentes e melanóforos dispersos pela

cabeça e dorso. A boca está constituída e aberta. Podese observar a clara notocorda entre a massa muscular corporal e o olho pigmentado. A grande massa de vitelo ventral tende a regredir com o desenvolvimento de tecidos e órgãos.

Ao 1D, sob microscopia estereoscópica, se nota que abaixo da epiderme transparente há mioseptos presentes que separam a musculatura estriada esquelética corporal em miômeros. Há o aumento dos melanóforos quantitativamente e no segundo dia estes se distribuem também pela membrana do vitelo. A pigmentação da linha lateral começa a se diferenciar, as nadadeiras peitorais apresentam-se membranosas e com três raios e o orifício anal está definido.

Em 6D o número de raios das nadadeiras aumenta. Aos 12D a membrana dorsal se diferenciou em nadadeira dorsal, sendo que a nadadeira ventral é bilobada. Entre o 12D-16D a pigmentação da linha lateral se define macroscopicamente.

Histogênese da Orofaringe e Esôfago: Em 0D o tubo digestório está aberto ao exterior (através da cavidade bucal na porção corporal anterior) e está disposto acima do vitelo. Células indiferenciadas, prismáticas e em marcado processo de mitose constituem o sistema digestório. A cavidade bucal é atapetada por epitélio simples pavimentoso com lâmina basal bem desenvolvida. A língua aparece no assoalho da boca como uma prega do conjuntivo estando revestida por um epitélio cuboidal simples (Figs. 2A e 2B). A orofaringe em continuidade da cavidade bucal é limitada em sua luz por um epitélio cuboidal simples. Este epitélio se estratifica rumo às estruturas branquiais em desenvolvimento inicial. De modo geral para a cavidade orofaringeana um delicado tecido conjuntivo frouxo vascularizado que demonstra um grau de celularidade variada jaz abaixo do epitélio. O esôfago apresenta epitélio cuboidal simples cranialmente e fortemente mitótico rumo caudal. A mitose esofageana acompanha o surgimento de pregas longitudinais e o aparecimento de células mucíparas. O esôfago segue rumo caudal na cavidade visceral profundamente, ocupando grande espaço e constituindo, assim, uma porção anátomo-funcional destacada. bem Histologicamente, não é perceptível a transição entre as porções anátomo-funcionais do tubo digestório (Figs. 2A e 2C).

Em 1D a cavidade bucal apresenta no assoalho da região anterior a língua botonal em formação. Esta língua é atapetada por epitélio cuboidal simples e jaz sobre um arcabouço de tecido conjuntivo frouxo que abriga estruturas do condrocrânio larval. Duas válvulas orais de epitélio pavimentoso simples formam evaginações para a cavidade bucal. Botões gustativos estão presentes no assoalho bucal e germens de dentes faringianos ocorrem na orofaringe. A parte anterior do esôfago apresenta um epitélio estratificado mais alto, com ondulações e invaginações rasas, grande quantidade de células mucíparas distribuídas ao acaso entre as células epiteliais de revestimento. Rumo posterior, o esôfago demonstra um epitélio simples, com amplas dobras longitudinais para a luz esofageal e diminuição da quantidade de células mucíparas que estão mais isoladas. O epitélio esofágico assenta-se sobre um delicado tecido conjuntivo frouxo e uma túnica muscular se apresenta constituída por uma faixa circular de músculo liso (Figs. 2D, 2E e 2F).

Aos 3D ocorrem células mucíparas mescladas ao epitélio oral e as válvulas orais estão mais conspícuas. Neste período observa-se que alguns dentes faringeanos emergem no epitélio oral (Fig. 3A). Entre 3D-5D, a quantidade de botões gustativos e dos dentes faringeanos aumenta consideravelmente. Para o esôfago temos aumento do número de células mucíparas e da quantidade de dobras longitudinais na porção posterior, concomitantemente com o início da diferenciação da camada muscular longitudinal externa. Entre 6D-12D o epitélio oral se estratifica e se pregueia, atingindo seu máximo de estratificação aos 16D e com o espessamento da túnica muscular. Aos 20D o epitélio oral demonstra botões gustativos persistentes de idades anteriores e mais dispersos pelo epitélio oral. Há o aumento no número de dobras, na espessura epitelial e no número de suas células mucíparas esofageanas. A túnica muscular está dividida em uma camada longitudinal externa e uma camada circular interna (Fig. 3C). Um esfíncter muscular surge na transição esofagointestinal.

Com 30D a língua tem um suporte cartilaginoso bem marcado e seu epitélio é o do mesmo tipo do restante da cavidade oral. O tecido conjuntivo frouxo demonstra ser mais celular, ou seja, com maior número de fibroblastos característicos presentes.

**Histogênese Intestinal:** Aos 0D na região posterior da cavidade visceral, o reto está em formação pelo tracionamento do tecido conjuntivo subjacente ao epitélio do tubo digestório que se curva para baixo, próximo à dilatação uretérica caudal (bexiga urinária). O ânus ainda não está formado. Em algumas larvas a massa do vitelo ocupa quase toda a cavidade visceral, e uma massa hepatogênica ocorre próxima à massa de vitelo.

O intestino no 1D é constituído por um epitélio de células que tendem a ser prismáticas, com núcleos basais, nucléolo evidente e microvilosidades perceptíveis no ápice celular. O epitélio repousa sobre característico e delicado tecido conjuntivo frouxo. Acinturamentos semelhantes a esfíncteres, ocorrem na estrutura intestinal e configuram a porção ântero-média intestinal, a porção posterior intestinal e a área retal.

Entre 1D-2D se observa o aumento das vilosidades intestinais quantitativamente e a ocorrência da divisão intestinal em região anterior, média e posterior. A porção anterior desenvolve vilosidades mais profundas na sua metade cranial e ondulações suaves na sua metade caudal. O epitélio é cilíndrico simples de citoplasma homogêneo e núcleo basal com células mucíparas. A porção média intestinal é marcada por amplas e claras inclusões apicais (lipídicas) que forçam os núcleos enterocíticos para a base celular e por vilosidades baixas e onduliformes. A porção posterior demonstra vilosidades mais largas do que altas e seus enterócitos contém inclusões eosinofílicas apicais (protéicas) e núcleos basais (Fig. 3B).

Os ductos excretores, de epitélio cúbico simples, do pâncreas e do fígado já estão formados e desembocam no intestino médio entre 1D-2D.

Em 1D o epitélio caudal do intestino posterior é projetado para a sua luz, devido ao espessamento do conjuntivo subjacente formando o limite anterior do reto. O reto é então acinturado na porção cranial e se amplifica luminalmente na sua porção média formando uma ampola retal. Rumo caudal o reto se afunila novamente pelos músculos anais e se abre ao exterior via ânus. Após 20D surgem no epitélio retal células mucíparas denotando a formação final do mesmo.

Entre o 3D-11D, o intestino aumenta em comprimento e consequentemente em número de dobras dentro da cavidade visceral e em número de vilosidades na luz intestinal. Células mucíparas aumentam quantitativamente na porção anterior.

Aos 20D ocorre a estratificação parietal intestinal em: epitélio cilíndrico simples com microvilos e células caliciformes, lâmina basal, estreito tecido conjuntivo frouxo, camada muscular circular interna, camada muscular longitudinal externa e uma delicada serosa de mesotélio típico. Até 30D há o aumento quantitativo de células mucíparas e da vascularização do conjuntivo frouxo que caracterizará a futura submucosa.

**Histogênese Hepática:** Na idade 0D este é constituído por uma massa de células cúbico-poliédricas de núcleos esféricos. Há um parênquima hepático primordial vascularizado que apresenta hemácias em capilares não sunisoidais no seu interior. Estes hepatócitos em citodiferenciação apresentam citoplasma homogêneo (sem vacuolizações) (Fig. 3D).

Entre 0 1D-2D fígado 0 cresce consideravelmente e ocupa parte do espaço que foi ocupado pelo vitelo. Os hepatócitos estão característicos (poliédricos) e agora vacuolados com inclusões de reservas nutricionais se arrumam cordonalmente. Sinusóides hepáticos se apresentam na estrutura do fígado (Figs. 3B e 3E). Aos 3D, lateralmente ao fígado, a vesícula biliar está presente como uma pequena bolsa de epitélio pavimentoso e escasso conjuntivo. Entre 6D-11D o órgão ocupa completamente o espaco que era do vitelo.

**Histogênese Pancreática:** Em larvas de 0D o órgão está constituído por massas de células basofílicas que se depositam mescladas ao tubo digestório, predominantemente na parte distal do mesmo.

Em 1D existem pancreócitos formando ácinos típicos com grânulos de zimogênio visíveis na porção central dos ácinos (Fig. 3F).

O pâncreas cresce dimensionalmente, paralela e concomitantemente à expansão do tubo digestório. Entre 4D-6D surge a porção endócrina (Ilhotas de Langerhans) do pâncreas (Fig. 3G).

**Histogênese de outros órgãos:** Em 0D o revestimento externo corporal larval é constituído por uma delicada epiderme de duas a três camadas celulares pavimentoso-cuboidais e com células mucíparas, dependendo da porção corporal. Cefalicamente, no tegumento larval, se encontram células fortemente eosinofílicas, esferóides, de natureza glandular que constituem as glândulas ectodermais (=glândulas de

eclosão) (Fig. 3H e 3I). Uma delicada derme ocorre abaixo do epitélio de revestimento desde 0D. Esta derme é menos desenvolvida no condrocrânio e mais conspícua nas demais áreas corporais. As glândulas ectodermais desaparecem entre o 3D-5D. Progressivamente o epitélio de revestimento corporal se desenvolve e os neuromastos surgem como corpúsculos multicelulares intra-epitelialmente entre 3D-5D. Entre 6D-11D o epitélio se espessa e constitui a clássica camada Malpighiana de células cubo-poliédricas, apresentando grande quantidade de células mitóticas.

O encéfalo e a medula espinhal, conjuntamente com o sistema muscular esquelético (miomérico), já constituem os tipos mais diferenciados ao 0D e se caracterizam estruturalmente com o avançar da idade (Figs. 2A, 2B, 2C, 3B e 3H).

Em 0D os olhos já são pigmentados. O cristalino é esferóide e demonstra na sua porção anterior um epitélio subcapsular cúbico simples. A retina está desenvolvida e demonstra todas as camadas retinais (Figs. 2A, 2B e 4A). O epitélio pigmentar, localizado abaixo da túnica vascular, demonstra sua característica e densa pigmentação escura de melanina; a camada de cones e de bastonetes tem aspecto estriado; a membrana limitante externa (perceptível em altas magnificâncias=40x10 e 100x10) se apresenta como uma delicada linha refringente na base externa da camada de cones e bastonetes; a camada nuclear externa, fortemente basofilica, corresponde aos núcleos esferóides das células cones e bastonetes; a camada plexiforme externa é estreita e eosinofílica e está formada por zonas de sinapses axodendríticas entre cones e bastonetes e outras células neuronais; a camada nuclear interna, fortemente basofílica, corresponde aos núcleos esferóides das células Müllerianas, bipolares e outros tipos neuronais; camada plexiforme interna, fracamente eosinofílica corresponde a sinapses axodendríticas das células ganglionares, bipolares e amácrinas; a camada de células ganglionares é constituída por somas de grandes neurônios multipolares dos quais partem axônios que elaboram a camada de fibras do nervo óptico, por fim há a membrana limitante interna que é a lâmina basal das células Müllerianas. A íris está formada e a estrutura ocular demonstra as câmaras anterior e posterior bem estruturadas (Figs. 4A e 4B). Com o desenvolvimento larval as camadas retinais aumentam suavemente em espessura e se tornam mais conspícuas em idades mais avançadas.

Células sangüíneas, especialmente eritrócitos, estão presentes em 0D e dispersos pelo sistema vascular. Fronto-ventralmente ao corpo e frontalmente ao saco vitelino, está depositado o coração larval formado por suas duas cavidades de músculo estriado cardíaco parietalmente. A mais expandida é o átrio e a menos expandida é o ventrículo. O ventrículo é reconhecido por seu interior apresentar uma conformação músculo-trabecular (Fig. 4C). Em 1D as estruturas musculares do ventrículo crescem em diâmetro se equiparando ao átrio. Aos 12D as cavidades cardíacas estão totalmente definidas e suas válvulas estão completamente formadas (4D).

O rim pronefrônico, em 0D, está depositado retroperitonealmente entre o tubo digestório e o tecido muscular esquelético dorsal (Fig. 3B). Tecido hematopoiético renal está mesclado com elementos excretores-endócrinos tais como os túbulos arquinéfricos (Fig. 4E). Aos 3D há aumento quantitativo para os túbulos uriníferos e hiperplasia do tecido hematopoiético com células sanguíneas evidentes em sinusóides renais. Aos 6D os corpúsculos renais (Malpighianos) e porções dos túbulos uriníferos estão melhor caracterizados entre o tecido hematopoiético renal (Fig. 4F). Também nesta idade surge uma bexiga urinária formada a partir da fusão e expansão luminal de ductos coletores, constituída parietalmente por epitélio cuboidal simples. Os túbulos uriníferos têm paredes formadas por epitélio cúbico eosinofílico de núcleo e nucléolo evidentes. O rim se torna mesonéfrico aos 6D com segmentos secundários dos túbulos uriníferos evidentes no interior renal, apresentando epitélio fortemente basofílico.

A bexiga gasosa é formada pela glândula de gás, pela *rete mirabile* e pelo ducto pneumático (que já está ligado ao esôfago) ao 1D. A glândula de gás se deposita na porção posterior do órgão e mostra uma luz limitada por epitélio estratificado (que tende ao pavimentoso) na parte proximal da *rete mirabile* e epitélio esferóide em sua região distal. A *rete mirabile*, intimamente associada à glândula de gás, apresenta grande quantidade de eritrócitos, denotando sua ampla vascularização. Uma camada fibrosa recobre externamente o órgão (Figs. 4G e 4H). Ao 3D o órgão desenvolve sua estrutura característica.

Brânquias estão presentes desde 0D já constituídas por arcos branquiais de onde partem filamentos branquiais e destes as lamelas branquiais em crescimento. Seu desenvolvimento acompanha o crescimento larval e com 12 dias as estruturas anátomofuncionais branquiais características dos teleósteos (Figs. 4I e 4J).

As pseudobrânquias estão presentes desde 1D se localizando em uma depressão rasa no teto da cavidade faringeana e estando constituídas por um filamento com várias lamelas periféricas em aspecto peniforme. Aos 12D as pseudobrânquias estão totalmente formadas e enriquecidas numericamente por lamelas e a depressão rasa ao seu redor aumenta e se torna uma concavidade arciforme (Fig. 4K).

As Tabelas 2 e 3 demonstram aspectos gerais da histogênese para o sistema digestório e para outros sistemas de órgãos das larvas de *O. argentinensis*, respectivamente.

A histodiferenciação dos sistemas de órgãos nãogametogênicos demonstra estar completa até os 12D nas larvas de *O. argentinensis* e a partir desta idade se efetua o crescimento estrutural visceral (Tabela 3). Não há a histogênese estomacal e gonadal até a idade máxima analisada neste trabalho.

#### DISCUSSÃO

A taxa de sobrevivência larval de *O. argentinensis* no estudo (57%) é diferente daquela obtida por Sampaio; Phonlor (1996) (95%) em

condições de cultivo semelhantes (salinidade de  $20\%_{o}$  numa densidade de 15 larvas/litro). As diferenças encontradas podem estar relacionadas às diferenças de salinidade e de densidade entre metodologias empregadas entre os estudos.

Outros fatores importantes para a sobrevivência das larvas de O. argentinensis podem estar relacionados com a população celular da epiderme, com o estado de desenvolvimento das brânquias e das pseudobrânquias e a estrutura renal. No tegumento, as células mucíparas possuem grande importância no mecanismo de defesa do organismo contra o pH marinho e estão presentes na espécie em estudo já no momento da eclosão. Este tipo celular presente no início da vida livre larval pode estar relacionado ao pH 8,2 da água do mar, desta forma. normalmente alcalino (ODUM, 1988). Uma vez que a acidez natural, a alcalinidade e o pH são fatores que podem definir o estado de saúde dos peixes (ROBERTS, 1981), as células mucíparas epidermais presentes já na eclosão larval de O. argentinensis representam um mecanismo tampão importante sobre o pH ao qual as larvas estão sujeitas em ambiente marinho no meio de cultivo. Também a osmorregulação branquial e do rim (acorpuscular até 6D) mais as prováveis funções de controle bárico, endócrino e sensorial pelas pseudobrânquias (MUNSHI; HUGHES, 1981; ROBERTS, 1981; FERGUSON, 1989) em formação nas larvas de O. argentinensis podem ter sido ainda ineficientes para a osmorregulação, contribuindo para as taxas de sobrevivência encontradas neste experimento sob as condições de salinidade do estudo. Todavia o fator salinidade pode, segundo Phonlor; Cousin (1998) não representar uma variável que implique em altas taxas de mortalidade no cultivo da espécie, observando que as larvas de 0D demonstram vestígios da glândula tireóide, importante órgão mantedor da tolerância às variações de salinidade em peixes, pelo aumento das concentrações de tiroxina. Phonlor; Sampaio (1992) citam que a água doce, quanto salinidade, pode representar um fator limitante para a espécie de estudo. A sobrevivência larval da espécie implica, segundo os resultados, ser multifatorial e necessita ser investigada mais profundamente na sua relação com os tipos celulares branquiais e pseudobranquiais (células de cloreto), com a formação renal (desenvolvimento corpuscular) e com a formação e função hipofisária larval, por exemplo.

O comprimento padrão médio para a espécie, ao eclodir, é maior do que para outros telósteos de outras famílias utilizadas para cultivo como, por exemplo, *Engraulis mordax* (3mm) (O'CONNELL, 1981); *Paralichthys orbignyanus* (1,8mm) (SILVEIRA, 1999); *Scophthalmus maximus* (3mm) (COUSIN; BAUDIN-LAURENCIN, 1985) e *Leiostomus xanthurus* (1,6mm) (GOVONI, 1980). A morfogênese larval de teleósteos respeita dois amplos modelos de desenvolvimento relacionados ao tipo de ovo e seu comportamento na coluna d'água. De ovos pequenos e flutuantes eclodem larvas com muitos sistemas de órgãos não funcionais (O'CONNELL, 1981) como, por exemplo, um sistema digestório pouco desenvolvido; todavia, de ovos não flutuantes e de grandes proporções, eclodem larvas com

sistemas de órgãos mais desenvolvidos (TANAKA, 1969; GOVONI et al., 1986), indicando que a organogênese é incompleta no momento da eclosão da maioria dos peixes ósseos (SILVEIRA, 1999). As larvas de *O. argentinensis* nascem de ovos grandes não flutuantes, corroborando com as informações dos autores acima.

Otake et al. (1995) investigando a histoquímica e histologia do canal alimentar de Muraenesox cinereus (Osteichthyes, Muraenesocidae), registram a morfodiferenciação e físio-funcionalidade do trato alimentar aos três dias após a eclosão. Durante a mudança da nutrição endógena para a exógena há a diferenciação das porções anátomo-funcionais do tubo digestório (GILSBERT et al., 1986) e vacuolizações enterocíticas que indicam a funcionalidade do canal alimentar em peixes (GOVONI et al., 1986). As diferenciações célulo-tissulares na cavidade oral de O. argentinensis com a redução da massa de vitelo, indicam as transformações da dieta que da larva e a preparação para a ingestão e assimilação de itens alimentares do ambiente. O aumento quantitativo das células mucíparas no sistema digestório e dos níveis de estratificação epitelial reduzem as chances de lesão ao assoalho da cavidade oral na captura de alimentos rígidos (REIFEL; TRAVILL, 1977). Dentes faringeanos emergidos precocemente e em formação até o 20° dia apontam para as necessidades alimentares exógenas da espécie e se relacionam com a quebra de elementos rígidos como, por exemplo, paredes celulósicas vegetais por peixes herbívoros (ANDERSON, 1991; TIBBETTS, 1997) ou elementos quitinosos dos naupli de Artemia spp. fornecidos às larvas. Todavia apesar de ocorrer uma nutrição mista desde a eclosão, as larvas de O. argentinensis não atingem o desenvolvimento morfo-funcional bucal e faringeano antes do 16º dia pós-eclosão.

Como características morfológicas avançadas no desenvolvimento de *O. argentinesis*, podemos citar a diferenciação do tubo digestório em cavidade bucal, orofaringe, esôfago, glândulas anexas (fígado e pâncreas) e intestinos; diferentemente de *E. mordax* que nasce com intestino rudimentar (O'CONNELL, 1981) ou como Pleuronectiformes que nascem com tubo digestório fechado (COUSIN; BAUDIN-LAURENCIN, 1985; SILVEIRA, 1999).

Diferentemente do que registram Kuz'Mina; Gel'Man (1998) para muitas espécies de peixes e Bisbal; Bengtson (1995) para Pleuronectiformes, O. argentinensis apresentou concomitantemente a presença de vitelo, abertura bucal ao meio externo e de botões gustativos. Segundo os autores, os botões gustativos surgem após a completa exaustão do vitelo e com o início da primeira alimentação exógena; visto que segundo Govoni (1980) estas estruturas servem para a seleção de itens alimentares. A simultaneidade destas estruturas em O. argentinensis reforça o modelo de larvas oriundas de ovos demersais, mas menos complexas do que sistemas de órgãos encontrados em adultos, como apontado por Tanaka (1969) e Govoni et al. (1986). A reserva vitelina ainda não assimilada não impede as larvas de O. argentinensis de se alimentarem exogenamente, o que caracteriza uma nutrição mista (exógena e endógena). Tal comportamento alimentar é contrário às descrições efetuadas por outros autores que indicam o início da nutrição exógena com o fim das reservas de vitelo em peixes teleósteos (O'CONNELL, 1981; BISBAL; BENGTSON, 1995; KUZ'MINA; GEL'MAN, 1998).

Pode-se relacionar а cronologia do desenvolvimento e a funcionalidade entre estruturas do sistema digestório em O. argentinensis. O tecido pancreático é caracteristicamente difuso pela cavidade visceral como na maioria dos teleósteos (ROBERTS, 1981) e em O. argentinensis há o desenvolvimento de adenômeros pancreáticos e grânulos de zimogênio já perceptíveis ao 1º dia. Este padrão pranceático de desenvolvimento é semelhantemente ao de *P. olivaceus* antes de iniciar sua alimentação exógena (KUROKAWA; SUZUKI, 1996). A concomitância da zonação do tubo digestório, da presença do fígado, da capacidade de natação (nadadeiras peitorais formadas), do sistema visual e dos neuromastos, também concordam com o desenvolvimento sincronizado dos órgãos da visão, locomoção e digestão encontrados em Coregonus lavaretus ludoga (BOGDANOVA, 1972).

0 esôfago de 0. argentinensis é morfologicamente distinto da maioria dos teleósteos, por se apresentar em duas partes distintas, diferenciáveis pela distribuição das células mucíparas, formato das pregas da mucosa e o tipo de epitélio como em Pleuronectes ferruginea (BAGLOLE et al., 1997). Todavia em P. ferruginea as células mucíparas estão mais densamente concentradas na porção caudal esofageal. A maioria dos teleósteos apresenta um esôfago contínuo e curto, músculo-tubular, de ligação entre a faringe e o estômago ou intestino anterior, quando larva ou adulto. Em Ascipenser baeri (esturjão siberiano) o esôfago é diferenciado anatomicamente com epitélio pseudo-estratificado cilíndrico com células mucíparas cranialmente (para lubrificação) e epitélio estratificado com células ciliadas caudalmente (para transporte alimentar) (GILSBERT et al., 1998).

Outras características para O. argentinensis são distintas da maioria dos teleósteos, como ausência de estômago e de cecos pilóricos até 30D pós-eclosão. A ausência de estômago e de cecos pilóricos é característica para algumas espécies de peixes como Arrhamphus sclerolepis krefftii Steindachner (Hemiramphidae) em fase adulta; todavia é comum nos primeiros estágios de desenvolvimento larval de teleósteos. Desta forma a digestão intracelular surge como conseqüência da ausência de células oxinticopépticas estomacais; com a digestão protéica efetuada no intestino que tem suas funções aumentadas com o início da funcionalidade do pâncreas exócrino (KUZ'MINA; GEL'MAN, 1998). Yamamoto (1966) e Stroband (1977) correlacionam a falta de digestão peptídica em teleósteos adultos sem estômago e o grau de inclusões intracelulares enterocíticas, registrando que a assimilação de macromoléculas protéicas compensa a proteólise incompleta no caso das larvas de peixes. Segundo Bisbal; Bengtson (1995) as inclusões intracelulares supra-nucleares de células absortivas são

formas de reserva e as mesmas se evidenciam depois da primeira alimentação exógena. Existem evidências que absorção de macromoléculas protéicas está а relacionada com a ausência de estômago (STROBAND; KROON, 1981) sendo confirmada através de métodos de marcação interna que evidencia a quebra de proteínas em dipeptídeos e aminoácidos na luz intestinal de Clarias lazera (Siluriformes: Clariidae) absorvidos enterociticamente. As inclusões supranucleares são percebidas histologicamente no intestino de O. argentinensis ao 3º dia após a eclosão e as características tintoriais destas inclusões, ou seja, sua forte eosinofilia corrobora com os apontamentos de Cousin; Laudin-Laurencin (1985) para inclusões de natureza protéica. As grandes inclusões claras e esferóides supra-nucleares também presentes no intestino do aterinopsídeo pesquisado neste estudo, indicam serem de natureza lipídica, pela ausência de afinidade tintorial pela Hematoxilina-Eosina e pela propriedade solvente de gorduras que o diafanizador (xilol) utilizado na técnica histológica possui, configurando uma lacuna no preparado caracteristicamente observada como estudo de Iwai (1969) com larvas de Carassius auratus (Cyprinidae).

Assim como *O. bonariensis* pesquisados por Godoi (1946), *O. argentinensis* apresenta os olhos pigmentados ao OD. Pleuronectiformes como *P. orbignyanus* não demonstram esta característica ao nascer, surgindo pigmentação ocular ao 3º dia (SILVEIRA, 1999). Para *E. mordax* (Engraulidae) o comprimento larval de 4mm marca a pigmentação ocular (O'CONNELL, 1981). Estas diferenças estão relacionadas a padrões eco-ontogenéticos típicos para cada grupo.

presença А de tecido sanguíneo, da hematopoiese renal e de brânquias funcionais em O. argentinensis ao 0D indicam a capacidade que as larvas apresentam de efetuarem trocas gasosas eficientes intra extra-corporalmente. Em Р. orbignyanus е (Pleuronectiformes), os eritrócitos surgem ao 4º dia após a eclosão (SILVEIRA, 1999) e ao 10º dia em E. mordax (O'CONNELL, 1981), isto indica para estas espécies a ausência do intercâmbio gasoso com os tecidos e com o meio ambiente via sangue até as idades apontadas, por exemplo.

A percepção da *rete mirabile* e da glândula de gás na estrutura da bexiga gasosa em *S. maximus* se dá aos três ou quatro dias de vida (COUSIN; BAUDIN-LAURENCIN, 1985), enquanto que em *O. argentinensis* o ducto pneumático se liga ao esôfago no 1º dia de vida, corroborando com Phonlor; Cousin (1998).

### CONCLUSÃO

Até a idade de 30 dias *O. argentinensis* não apresenta estômago e cecos pilóricos. Ao nascer a espécie possui: sistema nervoso e tecido muscular esquelético (miomérico) bem diferenciados; boca funcional e, seu tubo digestório em diferenciação acelerada demonstra uma luz contínua e rápida formação hepática e pancreática, porém não há orifício anal ainda formado; a cavidade faringeana é portadora de brânquias funcionais. A fase larval da espécie é marcada por nutrição; mista (endógena e exógena). Aos 12 dias pós-eclosão as larvas apresentam todos os sistemas de órgãos não-gametogênicos caracterizados. A salinidade parece ser um fator importante para a sobrevivência larval, mesmo apresentando tegumento formado, sistema respiratório e urinário funcionais, o que implica em mortalidade multifatorial; desta forma a

## REFERÊNCIAS

formação e função da hipófise devem ser investigadas

nas larvas da espécie.

ANDERSON, T. A. Mechanisms of digestion in the marine herbivore, the luderick, *Girella tricuspidata* (Quoy and Gaimard). **Journal of Fish Biology**, London, v. 39, p. 535-547, 1991.

BAGLOLE et al. Ontogeny of the digestive tract during larval development of yellow tail flounder: a light microscopic and mucoushistochemical study. **Journal of Fish Biology**, London, v. 51, p. 120-134, 1997.

BALON, E. K. Terminology of intervals in fish development. Journal of Fisheries Research Board Canadian, Canada, v. 32, n. 9, p. 1663-1670, 1975. BISBAL, G. A.; BENGTSON, D. A. Development of the digestive tract in larval summer flounder. Journal of Fish Biology, London, v. 47, p. 277-291, 1995.

BOGDANOVA, L. S. The transition to exogenous feeding in the larval of *Coregonus larvaretus ludoga* Poljakov (the Lake Ladoga "ludoga" whitefish). **Journal of Ichthyology**, Russian, v. 12, n. 3, p. 531-537, 1972.

CETTA, C. M. & CAPUZZO, J. M. Physiological and biochemical aspects of embryonic and larval development of the winter flounder *Pseudopeuronectes americanus*. **Marine Biology**, Springer Berlin / Heidelberg, v. 71, p. 327-337, 1982.

COUSIN, J. C. B. & LAURENCIN, B. (1985). Morphogenese de l'appariel digestif et de la vessie gazeise du turbot, *Scophthalmus maximus* L. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 47, p. 305-319, 1985.

EHRLICH, K. F. Chemical changes during growth and starvation of larval *Pleuronectes platessa*. Marine **Biology**, Springer Berlin / Heidelberg, v. 24, p. 39-48, 1974.

FERGUSON, H. W. Systemic pathology of fish: a text and atlas of comparative tissue responses in diseases of teleosts. Ames: Iowa State University Press, 1989. ix, 263p.

GILSBERT et al. A histological study of the development of the tract of Siberian sturgeon

(*Acipenser baeri*) during early ontogeny. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 167, p. 195-209, 1998.

GODOI, M. P. Contribuição à biologia do peixe-rei *Odontesthes bonariensis*. **Revista Brasileira de Biologia**, Curitiba, v. 6, n. 3, p. 373-379, 1946.

GOVONI, J. J. Morphological, histological and functional aspects of alimentary canal and associated organ development in larval *Leiostomus xanthurus*. **Canadian Journal of Biology**, Ottawa, v. 39, n. 2, p. 69-80, 1980.

GOVONI, J. J.; BOEHLERT, G. W.; WATANABE, Y. The physiology of digestion in fish larval. **Environmental Biology of Fisheries**, v. 16, n. 1-3, p. 59-77, 1986.

IWAI, T. Fine structure of gut epithelial cells of larval and juvenile carp during absorption of fat and protein. **Japanese Archives of Histology**, Tokyo, v. 30, p. 183-109, 1969.

KJØRSVIK, E. T. et al. Early development of the digestive tract of cod larvae, *Gadus morhua* L., during start-feeding and starvation. **Journal of Fish Biology**, London, v. 38, p. 1-15, 1991.

KUROKAWA, T.; SUZUKI, T. Formation of the diffuse pancreas and the development of the digestive enzyme synthesis in larvae of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture, Amsterdam, v. 141, p. 267-276, 1996.

KUZ'MINA, V. V.; GEL'MAN, A. G. Traits in the development of digestive function in fishes. **Journal of Ichthyology**, Russian, v. 38, n. 1, p. 106-115, 1998.

LAVENS, P. et al. Larval foods. In: BROMAGE, N. R.; ROBERTS, R. J. (Eds.). Broodstock management and egg and larval quality. New York: Blaccell Science, 1996. p. 373-397.

MUNSHI, J. S. D.; HUGHES, G. M. Gross and fine structures of the pseudobranch of the climbing perch, Anabas testudineus (Bloch). **Journal of Fish Biology**, London, v. 19, p. 427-438, 1981.

O'CONNELL, C. P. Development of systems in the Northern anchovy, *Engraulis mordax*, and others teleosts. **American Zoology**, U. S. A., v. 21, p. 429-446, 1981.

ODUM, E. P. **Ecologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A., 1988. 434p.

OTAKE, T. et al. Fine structure and function of the gut epithelium of pike eel larvae. **Journal of Fish Biology**, London, v. 47, p. 126-142, 1995.

PHONLOR, G.; COUSIN, J. C. B. Biologia e desenvolvimento de ovos e larvas de aterinídeos. In:

SEELIGER, U; ODEBRECHT, C.; CASTELLO, J. P. (Eds.). Os ecossitemas costeiro e marinho do extremo Sul do Brasil. Rio Grande: Ecoscientia, 1998. p. 152-157.

PHONLOR, G.; SAMPAIO, L. A. Effect of salinity on growth and survival of *Odontesthes argentinensis* larvae. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 35, p. 153-155, 1992.

REIFEL, C. W.; TRAVILL, A. A. Structure and carbohydrate histochemistry of the oesophagus in ten teleostean species. **Journal of Morfology**, Sylva, North California, v. 152, p. 303-314, 1977.

ROBERTS, R. J. **Patologia de los peces**. Madri: Ediciones Mundi-Prensa, 1981. xvii+369p.

SAMPAIO, L. A.; PHONLOR, G. Effects of stoking density on growth and survival of the marine silverside, *Odontesthes argentinensis* (Pisces: Atherinidae). **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 39, n. 2, p. 443-449, 1996.

SILVEIRA, M. P. M. Ciclo reprodutivo e desenvolvimento ontogenético do linguado *Paralichthys orbignyanus* (Teleostei: Paralichthyidae) do Sul do Brasil. 122f. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) – Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 1999.

STROBAND, H. W. J. Growth and diet dependent structural adaptations of the digestive tract in juvenile grasscarp (*Ctenopharyngodon idella* Val.). Journal of Fish Biology, London, v. 11, p. 167-174, 1977.

STROBAND, H. W. J.; KROON, A. G. The development of the stomach in *Clarias lazera* and the intestinal absorption of protein macromolecules. **Cell and Tissue Research**, Netherlands, v. 215, p. 397-415, 1981.

TANAKA, M. S. Studies on the structure and function of the digestive system in teleost larvae. II. Characteristics of digestive system in larvae at stage of first feeding. **Japanese Journal of Ichthyology**, Japan, v. 16, n. 2., p. 41-49, 1969.

TIBBETTS, I. R. The distribution and function of mucous cells and their secretions in the alimentary tract of *Arrhamphus sclerolepis krefftiii*. Journal of Fish Biology, London, v. 50, p. 809-820, 1997.

YAMAMOTO, T. An electron microscope study of the columnar epithelial cell in the intestine of freshwater teleostei: goldfish (*Carassius auratus*) and rainbow trout (*Salmo irideus*). **Z. Zellforsch**, Germany, v. 72, p. 66-76, 1966.

Idade	Comprimento padrão (mm)	Peso (mg)		
(dias)	(média±dp)	(média±dp)		
Zero	6,6±0,2	1,4±0,4		
1	$7,5\pm0,2$	$1,4\pm0,4$		
6	8,9±1,1	5,4±1,0		
12	13,3±0,5	9,4±1,9		
30	20,3±0,6	66,6±6,9		

TABELA 1 – Comprimento padrão médio e peso médio e desvios padrão (média±dp) das larvas de *Odontesthes* argentinensis cultivados em diferentes idades – Rio Grande do Sul - Brasil

Período			Tecidos e Órgãos				Glândul	as Anexas	
Dias (D)	Cavidade Bucal	Cavidade Faringeana	Esôfago	Intestino	Reto	Ânus	Fígado	Pâncreas	
0D	<ul> <li>Aberta; epitélio pavimentoso simples de revestimento; língua (prega do conjuntivo) com epitélio cuboidal simples</li> </ul>	■ Epitélio cuboidal simples sobre tecido conjuntivo frouxo vascularizado	<ul> <li>Epitélio cuboidal simples fortemente mitótico; pregas longitudinais e células mucíparas caudalmente; não há transição esofagoestomacal</li> </ul>	<ul> <li>Enterócitos indiferenciados (cuboidais); massa vitelina ocupando quase toda cavidade visceral</li> </ul>	■ Formando	Ausente	<ul> <li>Massa hepatogênica (células cúbico- poliédricas) cefálica próxima ao vitelo; parênquima hepático primordial com hemácias em capilares</li> </ul>	<ul> <li>Massa celular basofílica associada ao tubo digestório distal (futuro pâncreas exócrino)</li> </ul>	
1D-3D	<ul> <li>Duas válvulas orais (epitélio pavimentoso simples); língua botonal em formação (epitélio cúbico simples); botões gustativos no assoalho bucal</li> </ul>	<ul> <li>Germes dentários presentes;</li> </ul>	<ul> <li>Estratificação epitelial; ondulações e invaginações circulares rasas; grande quantidade de células mucíparas (distribuídas ao acaso); amplas dobras longitudinais; túnica muscular em formação (faixa de musculatura lisa)</li> </ul>	<ul> <li>Epitélio prismático simples; microvilosidades presentes; divisão em anterior, médio e posterior; intestino médio com inclusões citoplasmáticas lipídicas; intestino posterior com inclusões protéicas; ductos excretores hepáticos e pancreáticos desembocando no intestino médio</li> </ul>	■ Demarcado	Formado	<ul> <li>Crescimento considerável ocupando parcialmente o espaço vitelino inicial; hepatócitos vacuolizados; arranjo hepatocítico cordonal; sinusóides presentes; vesícula biliar presente (bolsa de epitélio pavimentoso simples lateral ao fígado)</li> </ul>	<ul> <li>Pâncreas exócrino presente (pancreócitos formando ácinos típicos com grânulos de zimogênio); crescimento dimensional concomitante àquele do tubo digestório</li> </ul>	
4D-6D	<ul> <li>Células mucíparas no epitélio oral; válvulas orais mais conspícuas; aumento quantitativo dos dentes faringianos e dos botões gustativos</li> </ul>	<ul> <li>Aumento quantitativo de dentes faringianos</li> </ul>	<ul> <li>Aumento no número de células mucíparas e das dobras longitudinais caudalmente; aparecimento da camada muscular longitudinal externa</li> </ul>	Crescimento em comprimento				Pâncreas endócrino presente (surgem as Ilhotas de Langerhans); crescimento inter-visceral	
7D-12D	<ul> <li>Estratificação e pregueamento epitelial</li> </ul>	<ul> <li>Escassas células mucíparas</li> </ul>					<ul> <li>Ocupação completa do espaço vitelino inicial; crescimento inter-visceral</li> </ul>		
13D-16D	<ul> <li>Máximo da estratificação epitelial</li> </ul>								
17D-20D	<ul> <li>Persistência dos botões gustativos de idades anteriores; maior dispersão dos botões gustativos</li> </ul>	<ul> <li>Epitélio estratificado; abundância de células mucíparas</li> </ul>	<ul> <li>Aumento no número de dobras, na espessura e no número de células mucíparas; túnica muscular dividida em: camada longitudinal externa e camada circular interna; esfíncter na transição esofagointestinal; crescimento em comprimento</li> </ul>	<ul> <li>Estratificação tissular parietal</li> </ul>					
21D-30D	<ul> <li>Língua demonstra suporte cartilaginoso bem marcado; epitélio lingual igual ao da cavidade oral</li> </ul>			<ul> <li>Expansão em comprimento do intestino anterior; células mucíparas em todo o intestino</li> </ul>	Células mucíparas				

TABELA 2 – Aspectos gerais para a histogênese do sistema digestório das larvas de *Odontesthes argentinensis* cultivados em diferentes idades – Rio Grande do Sul – Brasil

BIOCIÊNCIAS, Porto Alegre, v. 17, n. 1, p. 91-105, dez. 2009

Período					Tecidos e Órgãos				
Dias (D)	Tegumento	Sistema Nervoso Central	Olho	Sistema Muscular Esquelético	Coração	Rim	Bexiga Gasosa	Brânquias	Pseudobrânquias
0D	■ 2-3 camadas de células pavimentoso- cuboidais; células mucíparas; glândulas ectodermais cefalicamente; derme delicada	■ Encéfalo e medula espinhal: diferenciação acelerada e crescimento	Pigmentado; cristalino presente; retina com todas as camadas; crescimento em espessura	<ul> <li>Diferenciado (miômeros); crescimento volumétrico</li> </ul>	■ 2 cavidades: átrio amplo (paredes delgadas); ventrículo pequeno (luz músculo-trabecular)	<ul> <li>Pronefrônico; tecido</li> <li>hematopoiético com elementos excretores e endócrinos (túbulos arquinéfricos)</li> </ul>		<ul> <li>Constituição: Arcos branquiais; filamentos branquiais e lamelas branquiais; crescimento</li> </ul>	
1D-3D					<ul> <li>Ventrículo se desenvolve (diâmetro semelhante ao do átrio)</li> </ul>		<ul> <li>Constituição: glândula de gás, rete mirabile e ducto pneumático; crescimento</li> </ul>		<ul> <li>Teto da faringe (depressão rasa): filamento dom várias lamelas; crescimento</li> </ul>
4D-6D	<ul> <li>Regressão e desaparecimento das glândulas ectodermais; surgimento dos neuromastos</li> </ul>					<ul> <li>Aumento quantitativo dos túbulos excretores; hiperplasia do tecido hematopoiético</li> </ul>			
7D-12D	Camada Malpighiana constituída; crescimento em espessura				■ Totalmente definido; válvulas definidas; crescimento	<ul> <li>Corpúsculos renais; se torna mesonéfrico; crescimento</li> </ul>			• teto da faringe (depressão funda arciforme): enriquecimento vascular e lamelar; formação completa; crescimento

TABELA 3 - Aspectos gerais para a histogênese de alguns sistemas de órgãos das larvas de *Odontesthes argentinensis* cultivados em diferentes idades – Rio Grande do Sul - Brasil

BIOCIÊNCIAS, Porto Alegre, v. 17, n. 1, p. 91-105, dez. 2009



**Fig. 1. A:** Regressão linear do crescimento em comprimento-idade de *Odontesthes argentinensis*. **B:** Regressão linear do aumento em peso-idade de *O. argentinensis*. Observar nos dois casos a forte correlação (r) fornecida pela equação da reta.



**Fig. 2.** Fotomicrografias de *Odontesthes argentinensis.* **A:** Larva de 0D em corte sagital. Observar o tubo digestório (td) que se dispõe sobre a massa de vitelo (VT), o olho (O) pigmentado com camadas distinguíveis e a delicada membrana envoltória (M). Encéfalo (EN). Escala: 50μm. O detalhe demonstra uma porção do tudo digestório com uma luz (L) presente e figuras mitóticas epiteliais (setas). **B:** Detalhe da cavidade bucal aberta ao 0D com as válvulas orais (VO) presentes e a língua em formação (LG) revestida por epitélio cúbico simples (e). O - olho. Escala: 10μm. **C:** Detalhe da porção posterior do tubo digestório (TD) em 0D, onde se pode observar sua relação com a bexiga urinária (BU), com o tecido hematopoiético renal (TH) em diferenciação e o tecido muscular estriado esquelético (me) larval. Escala: 50μm. **D:** Região cefálica em larva de 1D demonstrando as válvulas orais (setas), a orofaringe (OF), botões gustativos (bg), língua botonal (\*) e tecido cartilaginoso (c) do condrocrânio. Encéfalo (EN). Escala: 50μm. **E:** Cavidade faringeana em larva de 1D. Observar o epitélio simples (e) de revestimento, os botões gustativos (bg), as porções do condrocrânio (c), o germe dentário (gd), o tecido conjuntivo frouxo (tc), o músculo estriado esquelético (me) e as células mucíparas (cm). Escala: 10μm. **F:** Esôfago em larva de 1D, próximo da massa de vitelo (VT), onde se distingue o esôfago anterior (EA) e o posterior (EP) com células mucíparas (cm) bem desenvolvidas e agrupadas e pregas longitudinais (setas). Escala: 20μm. Coloração para todos os preparados: H-E.



**Fig. 3.** Fotomicrografias de *Odontesthes argentinensis.* **A:** Cavidade faringeana de larva de 3D apresentando botões gustativos (bg); dentes faringeanos (df), o epitélio de revestimento (e) estratificado e células mucíparas (setas) rumo esôfago. Escala: 50µm. **B:** Sistema digestório de larva de 3D. Observar as inclusões de gotículas lipídicas (gl) no intestino médio (im) e as inclusões de grânulos protéicos (gp) no intestino posterior (ip). Intestino anterior (ia); fígado (f); pâncreas (p); baço (b); bexiga gasosa (bg); epiderme ventral (e); medula espinhal (mes); miômeros (m); mioseptos (mi); notocorda (n); reto (r) e rim (ri). Escala: 50µm. **C:** Parede anterior do esôfago em larva de 20D. Epitélio estratificado (e); células mucíparas (seta); fibras da camada muscular longitudinal externa (ml) e fibras da camada muscular circular interna (mc). Escala: 10µm. **D:** Fígado em larva de 0D. Observar a massa hepatocítica sobre o vitelo (VT) com eritrócitos (setas) dentro de sinusóides. Escala: 10µm. **E:** Fígado em larva de 3D com presença de ducto biliar (db), hepatócitos vacuolizados (h), vênulas (v) e sinusóides hepáticos (s). Escala: 10µm. **F:** Pâncreas exócrino em larva de 1D. Observar a estrutura acinar (a) e a pálida região dos grânulos de zimogênio (gz) no centro acinar. Escala: 20µm. **H-I:** Epitélio (e) em larva de 0D. Célula mucípara (seta); tecido nervoso (TN); notocorda (NOT); vitelo (VT) e glândula ecodermal (GE). Escalas: 50µm e 10µm, respectivamente. Coloração para todos os preparados: H-E.



**Fig. 4.** Fotomicrografias de *Odontesthes argentinensis*. **A:** Larva de 0D. Observar o olho bem desenvolvido apresentando a retina (R) com camadas bem demarcadas e o cristalino (C). Ouvido (OV) e faringe (FA). Escala: 50µm. **B:** Detalhe do olho em larva de 1D.Camada pigmentar (cp); camada de cones e bastonetes (ccp); camada nuclear externa (cne); camada plexiforme externa (cpe); camada nuclear interna (cni); camada plexiforme interna e camada de células ganglionares (cg); cristalino (C); íris (ir); córnea (co); câmara posterior (\*\*) e câmara anterior (\*). Escala: 10µm. **C:** Coração em larva de 1D. Ventrículo (v) e átrio (a). Escala: 50µm. **D:** Coração em larva de 12D. Ventrículo (v); átrio (a); seio venoso (sv); válvulas (setas); fígado (f); esôfago (e) e intestino anterior (i). Escala: 50µm. **E:** Rim pronéfrico próximo à massa de vitelo (VT) em larva d0 mostrando o tubo arquinéfrico (ta) e o tecido hematopoiético (h). Escala: 50µm. **F:** Rim mesonéfrico em larva de 6D. Glomérulo renal (g); tecido hematopoiético (h); túbulo renal secundário (ts) e glândula de gás (gg). Escala: 10µm. **G:** Bexiga gasosa (bg) em ligação com o esôfago (e) pelo ducto pneumático (dp) em larva de 1D. Vitelo (VT). Escala: 50µm. **H:** Bexiga gasosa em detalhe de larva de 1D. Glândula de gás (gg); *rete mirabile* (rm) e ducto pneumático (dp). Escala: 10µm. **I-J:** Brânquia ao 0D e aos 12D, respectivamente. Arcos branquiais (ab); filamentos branquiais (fb); lamelas branquiais (lm) e pseudobrânquias (p). Escala: 50µm. **K:** Pseudobrânquia aos 12D na câmara do teto da faringe (TFA). Escala: 50µm. Coloração para todos os preparados: H-E.