



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

ONTOGENIA DO TRATO DIGESTÓRIO DE LARVAS DE
Centropomus parallelus

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura, como requisito para obtenção do título de Mestre em Aquicultura.

Orientador: Dr. Vinicius Ronzani Cerqueira
Co-Orientadora: Dra. Evelise Maria Nazari

Andressa Teles

Florianópolis
2012

Catálogo na fonte pela Biblioteca Universitária
da
Universidade Federal de Santa Catarina

T269o Teles, Andressa

Ontogenia do trato digestório de larvas de *Centropomus parallelus* [dissertação] / Andressa Teles ; orientador, Vinícius Ronzani Cerqueira. - Florianópolis, SC, 2012.
49 p.: il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura.

Inclui referências

1. Aquicultura. 2. Histologia. 3. Robalo (Peixe) - Larva - Desenvolvimento. 4. Peixe - Criação. I. Cerqueira, Vinícius Ronzani. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. III. Título.

CDU 639.3

Ontogenia do trato digestório de larvas de *Centropomus parallelus*

Por

ANDRESSA TELES

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

MESTRE EM AQUICULTURA

e aprovada em sua forma final pelo Programa de
Pós-Graduação em Aqüicultura.

Prof. Evoy Zaniboni Filho, Dr.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Dr. Vinicius Ronzani Cerqueira – *Orientador*

Dr. Dib Ammar

Dr. Maurício Laterça Martins

Com todo meu amor dedico esta dissertação à minha mãe, que foi e sempre será meu exemplo de amor, força, carinho e honestidade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me permitir a vida e me guiar.

À minha mãe pelos ensinamentos passados a mim durante toda minha vida.

Ao meu orientador, Professor Vinicius Ronzani Cerqueira que permitiu a execução deste trabalho.

À minha co-orientadora, Professora Evelise Maria Nazari pela confiança em mim depositada e ensinamentos.

Ao Professor Dib Ammar que sempre esteve disposto a passar seus conhecimentos.

À Wanessa de Melo Costa, pela fraternidade, parceria e companheirismo.

À família Lapmar pela qual tenho muito carinho.

À equipe do Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal, pelo acolhimento e suporte.

Aos amigos que sempre estiveram ao meu lado nos momentos difíceis e prazerosos durante este período.

RESUMO

Um dos principais fatores que afetam a sobrevivência e crescimento de larvas de peixes marinhos é a formação do sistema digestório, nesse sentido, o conhecimento sobre o desenvolvimento estrutural do sistema digestório é essencial para compreender a fisiologia digestiva de larvas de peixes. O desenvolvimento do trato digestório e das glândulas acessórias em larvas de robalo-peva *Centropomus parallelus* foram examinados em microscopia de luz, desde a eclosão até o 60º dia após a eclosão. No momento da eclosão o trato digestório é reto e composto por uma camada de células cúbicas. A alimentação exógena inicia-se no 3º dia, juntamente com a abertura da boca e com a regionalização do estômago rudimentar e do esôfago. A partir do 4º dia o intestino já apresenta três regiões e são observados vacúolos na sua porção posterior indicando o início da digestão proteica e absorção. Os dentes faríngeos surgem no 9º dia e células caliciformes são observadas a partir do 13º dia no esôfago. O surgimento de glândulas gástricas ocorreu no 30º dia. O desaparecimento de vacúolos supranucleares no intestino posterior foi observado no 35º dia, sugerindo a eficiência da digestão extracelular. Os resultados deste estudo mostraram que as larvas de *C. parallelus* estão aptas a aceitar uma dieta inerte 15 dias antes do previsto em estudos anteriores, diminuindo a dependência do alimento vivo na sua larvicultura.

Palavras-chave: histologia, larvicultura, piscicultura marinha, robalo-peva, desenvolvimento

ABSTRACT

One of the main factors affecting the marine fish larvae survival and growth is the formation of digestive tract, on this way, the knowledge about structural development of the digestive system is essential to understand the digestive physiology of marine fish. The development of the digestive tract and accessory glands in robalo-peva *Centropomus parallelus* larvae was examined using light microscopy, from hatching to 60th day after hatching. At hatching the digestive tract is straight and composed by a cubic cells layer. The exogenous feeding starts on 3rd day, concomitantly with the mouth opening and subdivision of the rudimentary stomach and oesophagus. From 4th day the intestine presents three portions and vacuoles are observed in posterior portion indicating the beginning of protein digestion and absorption. The pharyngeal teeth appear on 9th and goblet cells are observed from 13th day in the oesophagus. The appearance of gastric glands occurred on 30th day. The disappearance of supranuclear vacuoles in posterior intestine was observed on 35th day, suggesting the efficiency of the extracellular digestion. The results of this study showed that the *C. parallelus* larvae is able to accept inert diet 15 days before previewed in former studies, reducing the dependence on live food in its larviculture.

Keywords: histology, larviculture, marine fish farming, fat snook, development.

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1. Comprimento corporal das larvas de *Centropomus parallelus* do dia da eclosão ao 60º dia observado no presente estudo, de acordo com as fases de desenvolvimento larval descritas por Álvarez-Lajonchère et al. (2002a). Dados apresentados como média e desvio padrão..... 26

Fig. 2. Corte sagital de larvas de robalo-peva do momento da eclosão até o 7º dia. (A) Larva recém-eclodida, ponta de seta indica a luz do tubo digestório. (B) Cavidade bucofaríngea (*) em larvas no 1º dia. (C) Bexiga urinária (setas) de larvas do 1º dia acompanhando a curvatura do intestino. (D) Esôfago e estrutura rudimentar do estômago (*) no 3º dia. (E) Vesícula biliar (seta) e fígado delimitado no 4º dia. (F) Larvas do 4º dia. Primeiros vacúolos no intestino posterior (setas), regionalização do intestino. (G) Grânulos de zimogênio (*) presente no pâncreas de larvas do 7º dia. (H) Vacúolos (setas) ocupando o intestino posterior no 7º dia. Abreviaturas: ES, esôfago; ET, estômago; F, fígado; GO, gota de óleo; I, intestino; IA, intestino anterior; IM, intestino médio; IP, intestino posterior; M, músculo esquelético; N, notocorda; P, pâncreas; ; R, rim; V, vitelo. Escalas: (A) 200 µm; (G) 20 µm; (B, C, D, E, F) 50 µm. 29

Fig. 3. Corte sagital de larvas de robalo-peva do 9º ao 15º dia. (A) dentes faríngeos (ponta de seta) em larvas do 9º dia. (B) Válvulas da boca (ponta de seta) no 11º dia. (C) Difusão do pâncreas pela cavidade abdominal no 11º dia. (D) Células caliciformes (ponta de seta) entre esôfago e faringe no 15º dia. (E) Vacúolos (setas) presentes no intestino posterior de larvas do 15º dia. (F) Larva do 15º dia. Verifica-se grande volume do fígado. Abreviaturas: ET, estômago; F, fígado; IA, intestino anterior; IP, intestino posterior; P, pâncreas, VB; vesícula biliar. Escalas: (A, B, C, D e E) 50 µm; (F) 200 µm 30

Fig. 4. Corte sagital de larvas de robalo-peva do 18º ao 27º dia. Larvas do 21º dia. (A) Observa-se a perpendicularidade do intestino em relação ao estômago; (B) Células caliciformes (ponta de seta) na parede do esôfago; (C) Intestino posterior, com redução significativa de vacúolos. Abreviaturas: C; coração; ES, esôfago; F, fígado; I,

intestino; M, músculo esquelético; N, notocorda; P, pâncreas, IP, intestino posterior; *, esôfago. Escalas (A) 200 µm; (B e C) 50 µm 32

Fig. 5. Corte sagital de larvas de robalo-peva do 30° ao 60° dia. Larvas de 30 dias. (A) Vacúolos lipídicos nos intestinos anterior e médio; (B) Glândulas gástricas na parede do estômago. (C) Células caliciformes (ponta de seta) presentes no esôfago de larvas do 55° dia. (D) Regiões do estômago no 40° dia; setas indicam glândulas gástricas. (E) Dentes faríngeos (setas) inseridos na cartilagem. Larvas do 60° dia: (F) apresentando dente (seta) na boca e na foto interna o dente é observado em maior aumento; (G) Cecos pilóricos e invasão do pâncreas (setas) no tecido hepático.....33

SUMÁRIO

Introdução	17
ONTOGENIA DO TRATO DIGESTÓRIO DE LARVAS DE <i>Centropomus parallelus</i>	21
Resumo	21
Abstract.....	22
1. Introdução	22
2. Material e métodos	24
2.1. Obtenção de ovos e larvicultura de <i>C. parallelus</i>	24
2.2. Amostragem e biometria das larvas de <i>C. parallelus</i>	25
2.3. Análise histológica das larvas de <i>C. parallelus</i>	25
3. Resultados	25
3.1. Biometria das larvas.....	25
3.2. Desenvolvimento larval do trato digestório	26
3.2.1. Da eclosão ao 7º dia.....	26
3.2.2. Do 9º ao 15º dia	28
3.2.3. Do 18º ao 27º dia	31
3.2.4. Do 30º ao 60º dia	31
4. Discussão.....	34
5. Considerações finais.....	39
6. Agradecimentos.....	39
Referências	39
Referências da Introdução	46

Introdução

O conhecimento sobre o hábito alimentar das espécies de peixes em condições naturais e de cultivo permite a geração de tecnologia para a intensificação da produção. Portanto, pode-se dizer que o sucesso da aquicultura está associado ao conhecimento das características morfofisiológicas e comportamentais das espécies cultivadas, tanto nas fases adultas quanto nas fases jovens de desenvolvimento (ROTTA, 2003).

Um dos entraves para a produção de peixes nativos é a falta de conhecimento sobre suas fases iniciais de desenvolvimento, principalmente no que diz respeito à alimentação, já que ao eclodir, as larvas se nutrem apenas de vitelo e seus sistemas orgânicos estão imaturos.

Outro fator que afeta a sobrevivência e crescimento de larvas de peixes marinhos é a formação do sistema digestório, que passa por diversas transformações até a fase de juvenil. O canal alimentar das larvas de peixe é morfológicamente, histologicamente e fisiologicamente menos elaborado que o canal alimentar de peixes adultos (GOVONI et al., 1986). No caso específico do período larval dos peixes, deve-se dar ênfase às exigências nutricionais mínimas que asseguram a sobrevivência e o crescimento das larvas, que apresentam uma problemática especial por não terem um sistema digestório completamente formado desde sua eclosão, além de passarem por um processo de transformação até juvenil (CIVERA-CERECEDO et al., 2004). Durante o período de transição, os caracteres larvais desaparecem, e o estômago, os cecos pilóricos, o esqueleto calcificado, a linha lateral, a visão, as brânquias funcionais, as nadadeiras e seus raios e escamas aparecem, além de mudanças de hábito que ocorrem (FALK-PETERSEN, 2005).

Existe uma estreita relação de interdependência entre a nutrição, o habitat e a organização do aparelho digestório, a qual se manifesta especialmente por adaptações e modificações, que são variações morfológicas provocadas pela ação de fatores ambientais sobre o organismo e podem apresentar caráter permanente, produzidas na evolução filogenética, como no caso das adaptações, ou caráter temporário, produzidas no ciclo ontogenético (ROTTA, 2003).

O conhecimento sobre o desenvolvimento estrutural do sistema digestório é essencial para compreender a fisiologia digestiva, determinar o período mais adequado para cada dieta e identificar fatores limitantes durante a larvicultura, a fim de reduzir os entraves na

produção, sincronizando o estágio de desenvolvimento com a tecnologia de cultivo com as práticas alimentares das larvas de peixes (HAMLIN et al., 2000; CAHU; ZAMBONINO-INFANTE, 2001).

Nos peixes existem dois tipos de ontogenia: ontogenia indireta e ontogenia direta (não possui período larval) (CIVERA-CERECEDO et al., 2004). Os peixes de ontogenia indireta são os que apresentam uma problemática mais complexa para sua nutrição e alimentação, como é o caso da espécie em estudo *Centropomus parallelus*.

Pesquisas sobre organogênese, histomorfologia e funcionalidade de tecidos e órgãos durante os primeiros estágios de vida de peixes marinhos são escassas (FALK-PETERSEN, 2005). Estas pesquisas vêm sendo conduzidas com o objetivo de desenvolver dietas formuladas para substituição de alimento vivo em laboratórios (ZAMBONINO-INFANTE, 2001), pois um grande problema em cultivos intensivos de larvas de peixes marinhos, e em geral para a maioria das espécies de peixes, é a dependência de zooplâncton durante o estágio larval (KOLKOVSKI, 2001). Person-Le Ruyet et al. (1993) calcularam os custos envolvidos na produção de *Dicentrarchus labrax* e o alimento vivo consistiu 79% do custo de produção de juvenis.

Um dos principais problemas encontrados em larviculturas de peixes é determinar o momento mais adequado para a inclusão de alimento inerte na dieta (desmame). O início da alimentação exógena e a fase de desmame são momentos críticos no desenvolvimento da larva. Estes períodos têm sido associados a altas taxas de mortalidade, e para que as larvas sobrevivam, é necessário que todas as estruturas e órgãos relacionados com a absorção, digestão e assimilação de alimentos estejam formados em tempo útil e o alimento apropriado esteja disponível (YÚFERA e DARIAS, 2007; YANG et al., 2010), já que o estômago, o pâncreas e o intestino não estão totalmente formados no momento da eclosão (ZAMBONINO-INFANTE 2001). As baixas taxas de sobrevivência na larvicultura de peixe marinho devem-se, em parte, ao conhecimento inadequado do desenvolvimento funcional do sistema digestório, além do desconhecimento acerca das exigências nutricionais (HAMLIN et al, 2000). Segundo Sarasquete et al. (1995), um melhor conhecimento do sistema digestório e suas capacidades funcionais em relação à idade são de grande interesse para o progresso das técnicas de larvicultura de peixes marinhos.

Técnicas histológicas padrão, microscopia de luz, microscopia eletrônica de transmissão e de varredura, têm contribuído para a compreensão da estrutura e da função do canal alimentar das larvas de peixes (GOVONI et al., 1986), sendo importantes ferramentas para

avaliar o potencial de diferentes dietas (ONAL et al., 2008). Diversos estudos estão focados no desenvolvimento de enzimas digestórias e histoquímica do trato, porém, a histomorfologia caracteriza-se como o primeiro passo para o conhecimento das mudanças fisiológicas ocorridas durante a fase larval.

A ontogenia do trato digestório de larvas de peixe marinho foi objeto de diversos estudos nos últimos 20 anos (HACHERO-CRUZADO et al., 2009), tendo sido descrita para várias espécies de interesse comercial como *Solea senegalensis* (RIBEIRO et al., 1999), *D. labrax* (GARCÍA-HERNÁNDEZ et al., 2001), *Seriola lalandi* (CHEN et al., 2006), *Diplodus puntazzo* (KAMACI et al., 2009), *Pagellus erythrinus* (MICALE, et al. 2006), *Paralichthys californicus* (GISBERT et al., 2004), *Chelon labrosus* (ZOUTEN et al., 2008), *Paralabrax maculatofasciatus* (PEÑA et al., 2003), *Pagrus auriga* (SÁNCHEZ-AMAYA et al., 2007), *Umbrina cirrosa* (ZAISS et al., 2006; PAPADAKIS et al., 2009), entre outros. Porém, com o robalo-peva, *C. parallelus*, espécie de interesse para a piscicultura marinha no Brasil, estes estudos ainda não existem.

Os robalos são peixes carnívoros encontrados em águas costeiras do Sudeste dos Estados Unidos até o Sul do Brasil, em regiões marinhas, estuarinas e lagunares (CERQUEIRA, 2002; CERQUEIRA, 2005). Apresentam carne de alta qualidade e elevado preço de mercado, além de apresentarem viabilidade para a produção em larga escala de juvenis (CERQUEIRA e TSUZUKI, 2009).

Álvarez-Lajonchère et al. (2002a) realizaram estudo sobre o desenvolvimento dos ovos e primeiros estágios larvais do robalo-peva, porém não há informação disponível sobre a descrição do trato gastrointestinal dessa espécie.

O objetivo deste trabalho é descrever o desenvolvimento do trato digestório de larvas de robalo-peva *C. parallelus* cultivadas em laboratório.

ONTOGENIA DO TRATO DIGESTÓRIO DE LARVAS DE
Centropomus parallelus

A. Teles^a, W. M. Costa^a, D. Ammar^b, E. M. Nazari^b, Yara Maria Rauh
Muller^b, V. R. Cerqueira^a

^aLaboratório de Piscicultura Marinha, Universidade Federal de Santa Catarina, Beco dos Coroas s/n Barra da Lagoa, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil

^bLaboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal, Universidade Federal de Santa Catarina, CP 460 Florianópolis, Santa Catarina, Brasil

Resumo

O desenvolvimento do trato digestório e das glândulas acessórias em larvas de robalo-peva *Centropomus parallelus* foi examinado em microscopia de luz, desde a eclosão até o 60º dia após a eclosão. No momento da eclosão o trato digestório é reto e composto por uma camada de células cúbicas. A alimentação exógena inicia-se no 3º dia, juntamente com a abertura da boca e com a regionalização do estômago rudimentar e do esôfago. A partir do 4º dia o intestino já apresenta três regiões e são observados vacúolos na sua porção posterior indicando o início da digestão protéica e absorção. Os dentes faríngeos surgem no 9º dia e células caliciformes são observadas a partir do 13º dia no esôfago. O surgimento de glândulas gástricas ocorreu no 30º dia marca o início do período de desmame. O desaparecimento de vacúolos supranucleares no intestino posterior foi observado no 35º dia, sugerindo a eficiência da digestão extracelular. Os resultados deste estudo mostraram que as larvas de *C. parallelus* estão aptas a iniciar o período de desmame 15 dias antes do previsto em estudos anteriores, incrementando o sucesso de sua larvicultura.

Palavras chave: histologia, larvicultura, piscicultura marinha, robalo-peva, desenvolvimento.

Abstract

The development of the digestive tract and accessory glands in the fat snook *Centropomus parallelus* larvae was examined using light microscopy, from hatching to 60th day after hatching. At hatching the digestive tract is straight and composed by a cubic cells layer. The exogenous feeding starts on 3rd day, concomitantly with the mouth opening and subdivision of the rudimentary stomach and oesophagus. From 4th day the intestine presents three portions and vacuoles are observed in posterior portion indicating the beginning of protein digestion and absorption. The pharyngeal teeth appear on 9th day and goblet cells are observed from 13th day in oesophagus. The appearance of gastric glands occurred on 30th day, marking the beginning of weaning period. The disappearance of supranuclear vacuoles in posterior intestine was observed on 35th day, suggesting the efficiency of extracellular digestion. The results of this study showed that the *C. parallelus* larvae is able to start the weaning period 15 days before previewed in former studies, increasing the success of its larviculture.

Keywords: histology, larviculture, marine fish farming, fat snook, development.

* Endereço para correspondência. Rua Beco dos Coroas s/n., Barra da Lagoa, Florianópolis, SC, Brasil. Tel. +55 48 32327532
Endereço de e-mail: a.teles@yahoo.com.br

1. Introdução

O desenvolvimento adequado do sistema digestório é crucial para a sobrevivência e para o crescimento das larvas de peixes, permitindo a captura, a ingestão, a digestão e absorção dos alimentos. O conhecimento sobre o desenvolvimento estrutural do sistema digestório é importante para compreender a fisiologia digestiva, determinar o tempo apropriado para o início da inclusão de alimento inerte na dieta (desmame) e identificar fatores limitantes durante a larvicultura, a fim de reduzir os entraves, sincronizando o estágio de desenvolvimento com a tecnologia de cultivo e práticas alimentares das larvas de peixes (Hamlin et al, 2000; Cahu; Zambonino-Infante, 2001).

Um dos principais problemas encontrados em larviculturas de peixes é o momento adequado para a transição de alimento. O início da alimentação exógena e a fase de desmame são momentos críticos no desenvolvimento dessas larvas. Estes períodos têm sido associados a altas taxas de mortalidade, e para obter sucesso durante estes períodos, é necessário que todas as estruturas e órgãos relacionados com absorção, digestão e assimilação de alimentos estejam formados em tempo útil e o alimento apropriado esteja disponível (Yúfera e Darias, 2007; Yang et al., 2010).

As baixas taxas de sobrevivência na larvicultura de peixes marinhos devem-se em parte, ao conhecimento inadequado do desenvolvimento funcional do sistema digestório, além de exigências nutricionais (Hamlin et al, 2000). Ressalta-se ainda que um melhor conhecimento do sistema digestório e suas capacidades funcionais em relação à idade são de grande interesse para o progresso das técnicas de larvicultura de peixes marinhos (Sarasquete et al., 1995).

Uma importante ferramenta para avaliar o potencial de diferentes dietas é o estudo da organogênese através da histomorfologia (Onal et al., 2008). Diversos estudos estão focados no desenvolvimento de enzimas digestórias e histoquímica do trato, porém, a histomorfologia caracteriza-se como o primeiro passo para o conhecimento das mudanças fisiológicas ocorridas durante a fase larvária.

A ontogenia do trato digestório de larvas de peixe marinho foi objeto de diversos estudos nos últimos 20 anos (Hachero-Cruzado et al., 2009), tendo sido descrita para várias espécies de peixes de interesse comercial como *Solea senegalensis* (Ribeiro et al., 1999); *Dicentrarchus labrax* (García-Hernández et al, 2001); *Seriola lalandi* (Chen et. al, 2006); *Diplodus puntazzo* (Kamaci et. al., 2009); *Pagellus erythrinus* (Micale, et al. 2006); *Paralichthys californicus* (Gisbert et al., 2004); *Chelon labrosus* (Zouiten et al., 2008); *Paralabrax maculatofasciatus* (Peña et al., 2003); *Pagrus auriga* (Sánchez-Amaya et al., 2007); *Umbrina cirrosa* (Zaïss et al., 2006; Papadakis et al., 2009) entre outras. Porém, com robalo-peva *Centropomus parallelus*, espécie de interesse para a piscicultura marinha, estes estudos são ainda inexistentes, estando descritos apenas o desenvolvimento dos ovos e primeiros estádios (Álavarez-Lajonchère et al., 2002a).

Os robalos são peixes carnívoros encontrados em águas costeiras do Sudeste dos Estados Unidos até o Sul do Brasil, em regiões marinhas, estuarinas e lagunares (Cerqueira, 2002; Cerqueira, 2005). Apresentam carne de alta qualidade e elevado preço de mercado, além

de viabilidade para a produção massiva de juvenis (Cerqueira e Tsuzuki, 2009).

Considerando a importância das espécies de robalo para a piscicultura marinha, voltada tanto para a produção em escala comercial, quanto para o repovoamento de estuários e águas interiores, o presente trabalho tem por objetivo caracterizar o desenvolvimento do trato digestório de larvas de robalo-peva, *C. parallelus*, cultivadas em laboratório, visando o aperfeiçoamento de sua larvicultura.

2. Material e métodos

2.1. Obtenção de ovos e larvicultura de *Centropomus parallelus*

Os ovos foram obtidos de um lote de reprodutores de *C. parallelus* mantido em confinamento no laboratório de piscicultura marinha (LAPMAR) da Universidade Federal de Santa Catarina, através de desova induzida pelo hormônio liberador do hormônio luteinizante (LHRH-a) (Ferraz et al., 2002). Os ovos produzidos foram transferidos para tanques de incubação através de coletor automático instalado nos tanques dos reprodutores e após a total coleta, foram para tanques de larvicultura, com volume de água de 5000 L a uma densidade média de 50 ovos L⁻¹. A temperatura durante o cultivo foi mantida em 25,1±1,02 °C, a concentração de oxigênio dissolvido em 6,43±0,65 mg.L⁻¹ e a salinidade entre 33-35 mg L⁻¹.

Após a eclosão e durante os primeiros 8 dias, as larvas foram mantidas num sistema sem renovação de água. A partir do 8º dia, foi realizado sifonamento diário do fundo dos tanques para evitar acúmulo de matéria orgânica e elevação da amônia, resultando numa renovação parcial da água (10%), aumentada gradualmente até 100% no 50º dia. Cada tanque foi provido de pontos de aeração, entrada e saída de água e limpadores de superfície (Álvarez-Lajonchère et al., 2002a).

As larvas foram alimentadas do 3º ao 24º dia com rotíferos (*Brachionus plicatilis*+*B. rotundiformis*) a uma densidade de 1-20 rotíferos mL⁻¹ em combinação com microalga *Nannochloropsis oculata* a uma densidade de 0,5x10⁶ células mL⁻¹. Além da microalga, os rotíferos foram alimentados com dieta artificial comercial Culture Selco® Plus (INVE Aquaculture) e enriquecidos com Protein Selco® (INVE Aquaculture).

A partir do 19º dia passou-se a fornecer náuplios de *Artemia franciscana* (0,15-2,4 náuplios mL⁻¹), e no 23º dia houve a total substituição do rotífero. No 28º dia, iniciou-se o fornecimento de

metanúplios de *Artemia* a uma densidade de $0,5-1,2 \text{ mL}^{-1}$ enriquecidos com emulsão comercial DHA Selco® (INVE Aquaculture) até o 53º dia.

A transição do alimento vivo para o inerte (desmame) iniciou no 42º dia com dieta inerte (NRD - INVE Aquaculture), sendo que a partir do 54º dia as larvas recebiam apenas dieta inerte.

2.2. Amostragem e biometria das larvas de *Centropomus parallelus*

Para analisar o desenvolvimento do trato digestório, as larvas foram amostradas ($n=20$) no tanque de larvicultura do dia da eclosão até o 60º dia após a eclosão, de acordo com o seguinte regime: diariamente do dia da eclosão ao 7º dia; a cada dois dias do 7º ao 15º dia; a cada três dias do 15º ao 30º dia; a cada cinco dias do 30º ao 60º dia. Para analisar o crescimento corporal das larvas, o comprimento padrão foi medido da extremidade anterior do maxilar à extremidade posterior da notocorda utilizando cinco larvas de cada dia de amostragem (Lau e Shafland, 1982).

2.3. Análise histológica das larvas de *Centropomus parallelus*

Em cada dia de amostragem as larvas foram anestesiadas ($n=20$) em solução de benzocaína (50 mg/L) e fixadas em solução de Bouin aquoso de 6 até 16 h, dependendo da idade, e então preservadas em etanol 70%. As larvas foram incluídas em parafina, seccionadas no plano sagital (5 a 8 μm) em micrótomo rotativo (Olympus) e coradas com tricrômico de Mallory. As lâminas com os cortes foram montadas permanentemente com Entellan®. A captura das imagens (3,3 megapixel Q-Color 3C) foi realizada com microscópio de luz (Olympus BX41) e analisada com software Q-capture Pro 5.1.

3. Resultados

3.1. Biometria das larvas

As larvas de *C. parallelus* apresentaram comprimento corporal que variou de 1,71 mm ($\pm 0,042$) no dia da eclosão a 16,9 ($\pm 2,31$) mm no 60º dia. Entre o dia da eclosão e o 18º dia, que compreenderam as fases larvais denominadas vitelínica e pré-flexão da notocorda, o crescimento corporal foi lento e gradual. Do 21º ao 60º dia, que compreendem as fases de flexão e pós-flexão da notocorda, o crescimento passou a ser mais rápido e acentuado (Fig. 1).

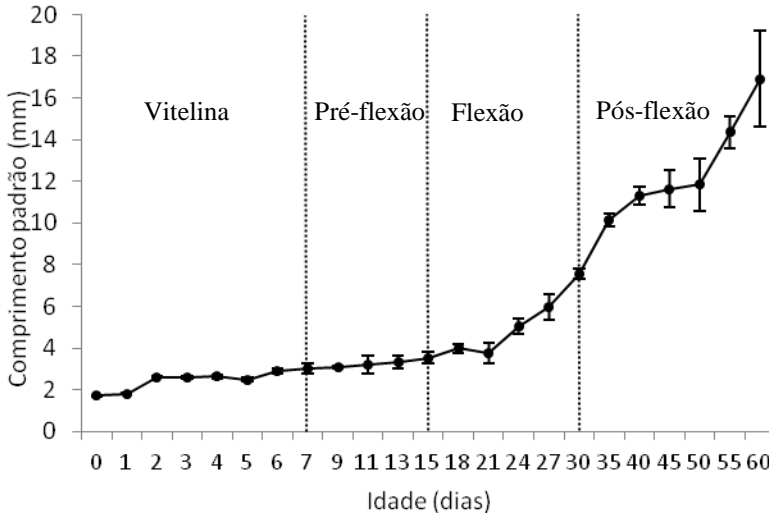


Fig. 1. Comprimento corporal das larvas de *Centropomus parallelus* do dia da eclosão ao 60º dia observado no presente estudo, de acordo com as fases de desenvolvimento larval descritas por Álvarez-Lajonchère et al. (2002a). Dados apresentados como média e desvio padrão.

3.2. Desenvolvimento larval do trato digestório

Os resultados histomorfológicos do presente estudo serão apresentados em intervalos de dias após a eclosão, sendo considerada na definição destes intervalos, as similaridades dos eventos morfológicos observados no trato digestório de *C. parallelus*.

3.2.1. Da eclosão ao 7º dia (Larva vitelina)

No dia da eclosão, o tubo digestório é reto e fechado, não apresentando abertura para o exterior nas regiões anterior e posterior, é curto e formado por uma parede com epitélio cúbico simples com os núcleos das células dispostos na região basal. Já é possível observar a luz no interior de suas regiões média e posterior (Fig. 2a). Logo abaixo do tubo observa-se uma massa de vitelo com uma grande gota de óleo na porção anterior, e acima, é possível identificar os túbulos renais. A cavidade bucofaríngea ainda não está formada e o esôfago apresenta-se como um tubo simples, composto por um epitélio cúbico, estando contínuo ao intestino incipiente.

No 1º dia o esôfago apresenta sua cavidade contornada por um epitélio cúbico simples conectando a cavidade bucofaríngea (Fig. 2b) ao canal que dará origem ao intestino anterior. O intestino incipiente apresenta uma luz ligeiramente maior que a da fase anterior, sendo revestida por um epitélio cúbico simples (Fig. 2c). Entre o intestino e a musculatura esquelética, observa-se a formação do rim e na porção final deste, a bexiga urinária que acompanha a curvatura da porção final do intestino (Fig. 2c). Ainda no 1º dia a curvatura da região posterior do tubo digestório forma um ângulo de aproximadamente 90º em direção à cavidade que dará origem ao ânus.

No 2º dia observa-se um conjunto de células ovaladas, que dará origem aos hepatócitos, localizado entre a massa de vitelo e o intestino e próximo a este, há outro conjunto celular que corresponde às células pancreáticas. Nos 2º e 3º dias houve uma redução significativa na quantidade de vitelo e a gota de óleo ainda estava presente.

A abertura completa da boca e ânus foi observada no 3º dia, juntamente com o início da regionalização do tubo digestório. A faringe é formada por um epitélio estratificado, seguida pelo esôfago e pela estrutura rudimentar do estômago que apresenta um epitélio cúbico simples (Fig. 2d). Os hepatócitos apresentam núcleo grande e citoplasma homogêneo. O pâncreas em formação mostra maior abundância de células, em relação ao dia anterior.

Mudanças estruturais no intestino das larvas ocorreram entre o 3º e o 4º dia, quando a larva já havia iniciado sua alimentação exógena. Ao redor do epitélio do tubo digestório há uma delgada camada de tecido conjuntivo sem presença de músculo. No 4º dia o estômago começa a apresentar pregas, e a formar o esfíncter pilórico, separando-o do esôfago. Entre o pâncreas e o fígado observa-se a vesícula biliar, que é formada por um epitélio pavimentoso simples (Fig. 2e). O fígado está bem delimitado, sendo formado por células grandes e vacuoladas e no pâncreas observa-se o arranjo acinar das células (Fig. 2e). Verifica-se o início da formação da válvula intestinal na porção final do tubo, que passa a separar o intestino anterior e médio do posterior e torna-se possível observar a presença de células vacuoladas na porção posterior do intestino, indicando o início da digestão proteica e absorção (Fig. 2f).

No 7º dia no pâncreas, identifica-se a presença de inúmeros grânulos de zimogênio (Fig. 2g) e percebe-se a formação do esfíncter pilórico, entre o estômago e o intestino. Observa-se a válvula intestinal bem desenvolvida que separa o intestino posterior do restante do tubo digestório, e um estreitamento na porção média sendo possível observar a separação do intestino anterior do médio, apresentando agora, três

compartimentos bem distintos. Na porção final do tubo digestório, as células epiteliais apresentam núcleo e nucléolo únicos, havendo um aumento significativo no número de vacúolos (Fig. 2h). Observa-se ainda a organização das primeiras vilosidades intestinais.

3.2.2. Do 9º ao 15º dia (Pré-flexão)

No 9º dia observa-se a presença dos dentes faríngeos (Fig. 3a) que aumentaram em número conforme o crescimento da larva e são visíveis as microvilosidades no intestino anterior. Observam-se as primeiras células musculares nas paredes do esôfago e do estômago, sendo que na região do primeiro estreitamento, que separa o esôfago do estômago, há aumento na espessura da parede do tubo.

No 11º dia as válvulas orais aparecem como filamentos na maxila e na mandíbula (Fig.3b). Após o início da alimentação exógena, o tamanho do pâncreas e a quantidade de grânulos de zimogênio aumentam até o 11º dia, quando se nota uma difusão deste órgão pela cavidade abdominal ao longo do intestino (Fig. 3c). No estômago há a diferenciação entre duas regiões, tornando-se mais alongado e a divisão entre o estômago e o esôfago é diferenciada por uma acentuada mudança de epitélio cúbico simples, para epitélio escamoso, respectivamente.

No momento da primeira alimentação, o esôfago não apresenta células mucosas e tampouco pregas, sendo que a partir do 13º dia, estas já são visíveis.

No 15º dia, na faringe, há um maior destaque para as papilas gustativas que conforme o desenvolvimento da larva, aumentam em quantidade, sendo que células caliciformes passam a ocupar a região deste órgão (Fig. 3d). Há um aumento significativo no número de vacúolos na região posterior do intestino (Fig. 3e). A torção do tubo fica mais evidente nessa idade assim como há uma maior abundância de vilosidades intestinais e aumento significativo no volume do fígado (Fig.3f).

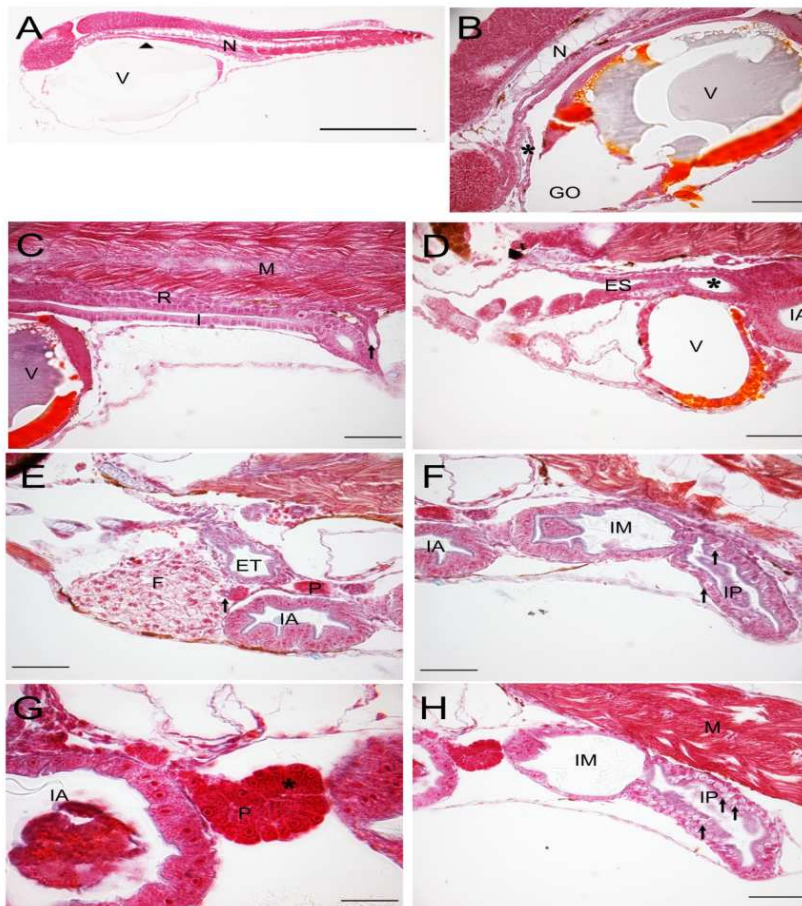


Fig. 2. Corte sagital de larvas de robalo-peva do momento da eclosão até o 7º dia. (A) Larva recém eclodida, ponta de seta indica a luz do tubo digestório. (B) Cavidade bucofaríngea (*) em larvas no 1º dia. (C) Bexiga urinária (setas) de larvas do 1º dia acompanhando a curvatura do intestino. (D) Esôfago e estrutura rudimentar do estômago (*) no 3º dia. (E) Vesícula biliar (seta) e fígado delimitado no 4º dia. (F) Larvas do 4º dia. Primeiros vacúolos no intestino posterior (setas), regionalização do intestino. (G) Grânulos de zimogênio (*) presente no pâncreas de larvas do 7º dia. (H) Vacúolos (setas) ocupando o intestino posterior no 7º dia. Abreviaturas: ES, esôfago; ET, estômago; F, fígado; GO, gota de óleo; I, intestino; IA, intestino anterior; IM, intestino médio; IP, intestino posterior; M, músculo esquelético; N, notocorda; P, pâncreas; ; R, rim; V, vitelo. Barras: (A) 200 µm; (G) 20 µm; (B, C, D, E, F) 50 µm.

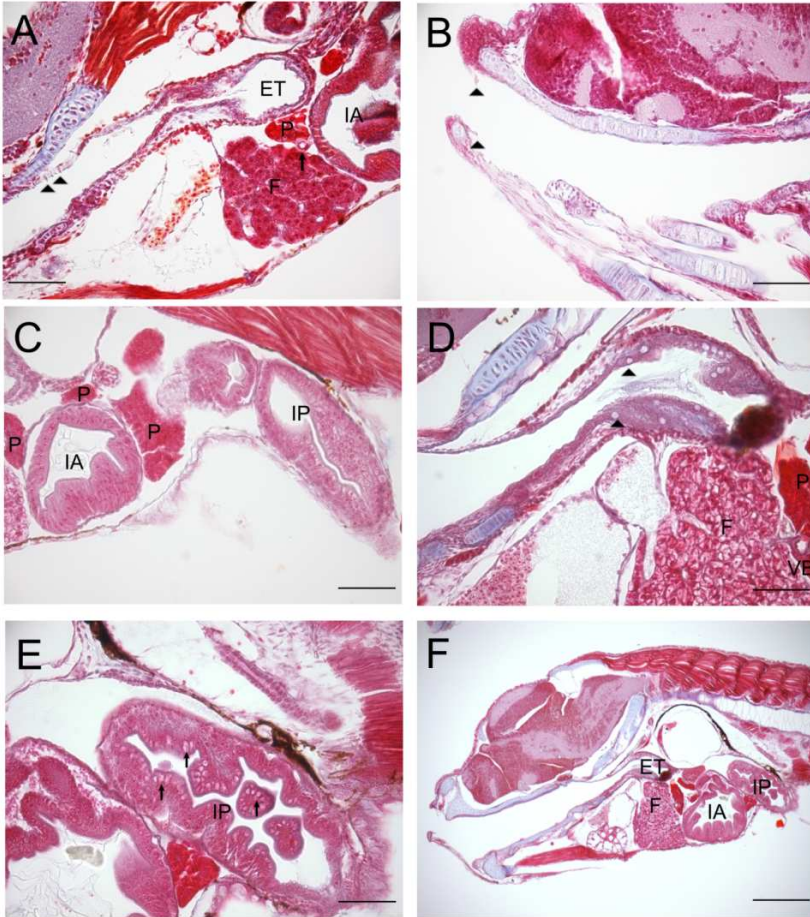


Fig. 3. Corte sagital de larvas de robalo-peva do 9^o ao 15^o dia. (A) dentes faríngeos (ponta de seta) em larvas do 9^o dia. (B) Válvulas da boca (ponta de seta) no 11^o dia. (C) Difusão do pâncreas pela cavidade abdominal no 11^o dia. (D) Células caliciformes (ponta de seta) entre esôfago e faringe no 15^o dia. (E) Vacúolos (setas) presentes no intestino posterior de larvas do 15^o dia. (F) Larva do 15^o dia. Verifica-se grande volume do fígado. Abreviaturas: ET, estômago; F, fígado; IA, intestino anterior; IP, intestino posterior; P, pâncreas, VB; vesícula biliar. Barras: (A, B, C, D e E) 50 μ m; (F) 200 μ m.

3.2.3. Do 18° ao 27° dia (Flexão)

No 18° dia há uma grande quantidade de fibras musculares ao redor do esôfago. No 21° dia há uma maior torção do tubo digestório, que fica bem marcada pela perpendicularidade do intestino médio em relação ao estômago (Fig. 4a) e há um grande número de células caliciformes na mucosa do esôfago (Fig. 4b). Nesta idade, verifica-se redução significativa de vacúolos no intestino posterior (Fig. 4c).

3.2.4. Do 30° ao 60° dia (Pós-flexão)

No 30° dia, observa-se nos intestinos anterior e médio, a presença de vacúolos lipídicos (Fig. 5a) e surgimento das primeiras glândulas gástricas (Fig. 5b).

No esôfago, o número de pregas aumentou do 15° dia ao 35° dia, e o número de células mucosas aumentou conforme a idade da larva (Fig. 5c). Nessa idade não são observados vacúolos no intestino posterior, indicando uma funcionalidade na digestão extracelular.

No 40° dia não são observadas as células caliciformes no estômago o qual apresenta as regiões cárdica, pilórica e fúndica bem definidas (Fig. 5d). Na região fúndica há a presença de muitas glândulas gástricas, apresentando um formato arredondado, com uma luz interna clara e um ducto que se abre para a luz do órgão. Após esta idade, mudanças morfológicas não são acentuadas neste órgão.

O citoplasma do hepatócito no 45° dia está repleto de vacúolos lipídicos. O pâncreas exócrino aumenta conforme a idade da larva, porém, não há mudanças significativas neste órgão após o 45° dia.

No 55° dia verifica-se que os dentes faríngeos tornam-se pontiagudos e estão inseridos na cartilagem (Fig. 5e).

No 60° dia é possível observar o desenvolvimento dos dentes da boca (Fig. 5f). Os cecos pilóricos bem desenvolvidos são observados e é possível verificar a invasão do pâncreas no tecido hepático (Fig. 5g), assim como ocorre em diversas espécies de peixes em sua fase adulta.

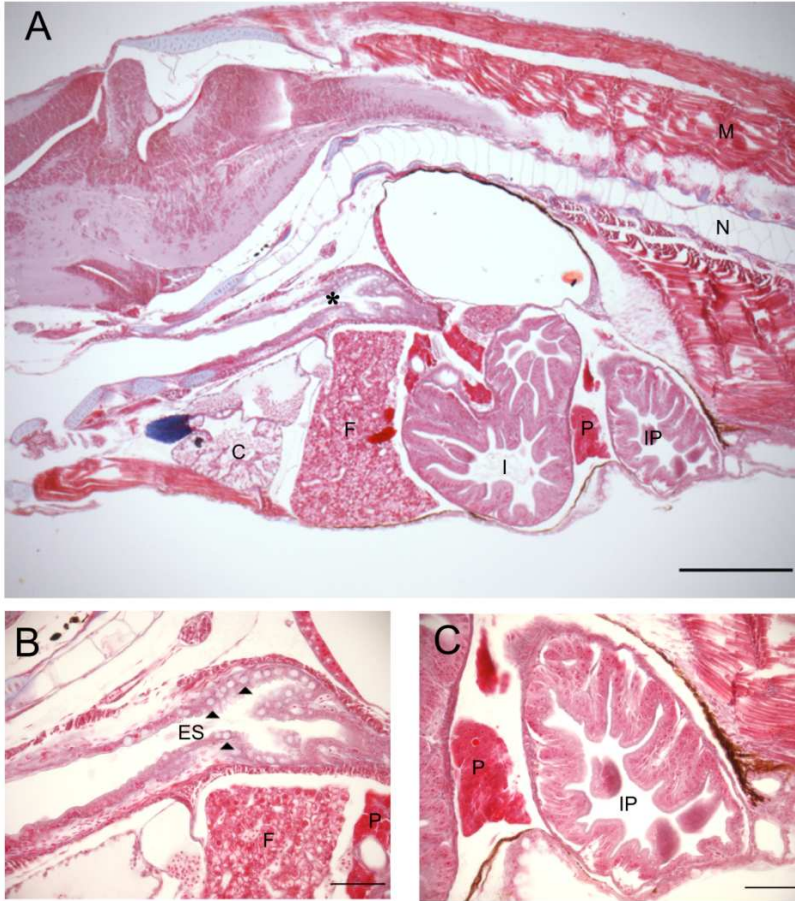


Fig. 4. Corte sagital de larvas de robalo-peva do 18º ao 27º dia. Larvas do 21º dia. (A) Observa-se a perpendicularidade do intestino em relação ao estômago; (B) Células caliciformes (ponta de seta) na parede do esôfago; (C) Intestino posterior, com redução significativa de vacúolos. Abreviaturas: C; coração; ES, esôfago; F, fígado; I, intestino; M, músculo esquelético; N, notocorda; P, pâncreas, IP, intestino posterior; *, esôfago. Barras (A) 200 µm; (B e C) 50 µm.

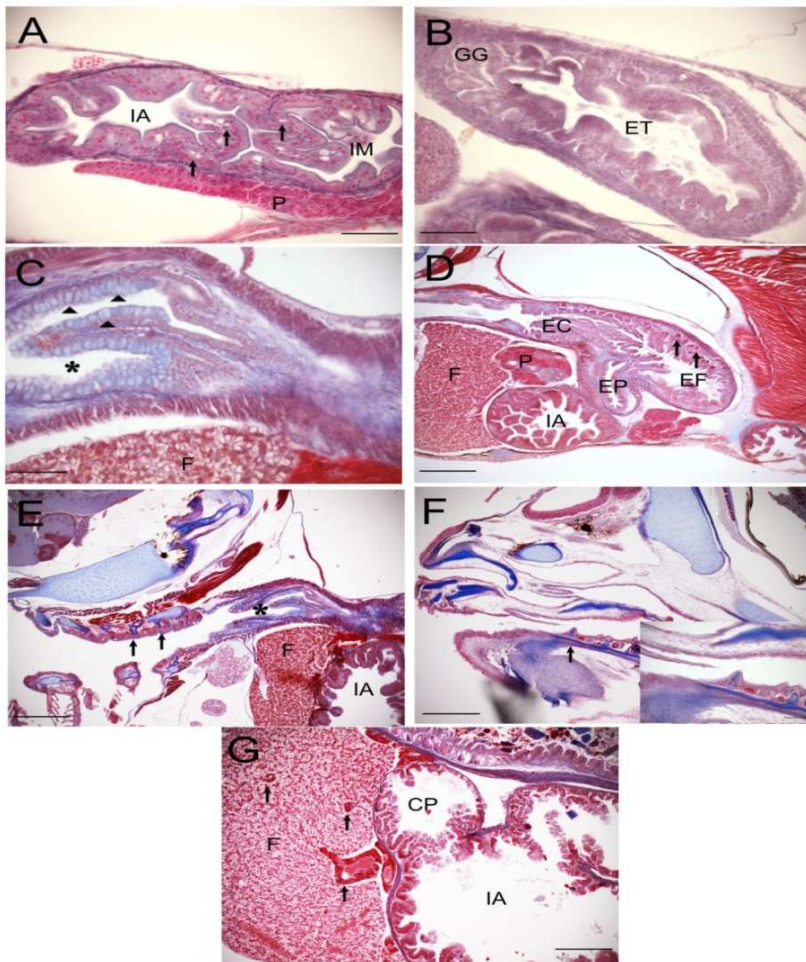


Fig. 5. Corte sagital de larvas de robalo-peva do 30° ao 60° dia. Larvas de 30 dias. (A) Vacúolos lipídicos nos intestinos anterior e médio; (B) Glândulas gástricas na parede do estômago. (C) Células calciformes (ponta de seta) presentes no esôfago de larvas do 55° dia. (D) Regiões do estômago no 40° dia; setas indicam glândulas gástricas. (E) Dentes faríngeos (setas) inseridos na cartilagem. Larvas do 60° dia: (F) apresentando dente (seta) na boca e na foto interna o dente é observado em maior aumento; (G) Cecos pilóricos e invasão do pâncreas (setas) no tecido hepático. Abreviaturas: CP, cecos pilóricos; EC, estômago cárdico; EF, estômago fúndico, EP, estômago pilórico; ET, estômago; F, fígado; GG, glândulas gástricas; IA, intestino anterior; IM, intestino médio; P, pâncreas; *, esôfago. Barras: (A, B e C) 50 μ m; (D, F e G) 200 μ m.

4. Discussão

No presente trabalho a biometria das larvas durante o período de amostragem indicou desenvolvimento larval normal, esperado para a espécie *C. parallelus*, de acordo com Álvarez-Lajonchère et al. (2002). Desta forma acredita-se que a caracterização histomorfológica corresponde temporalmente aos eventos ontogenéticos do trato digestório de larvas do robalo-peva. Adicionalmente, a caracterização morfológica dos eventos do desenvolvimento do trato digestório em intervalos de dias após a eclosão coincidiu com a classificação das fases larvais adotadas de forma geral para teleósteos (Gisbert et al., 2004).

Considerando a inexistência de trabalhos sobre o desenvolvimento do trato digestório de larvas de robalo-peva, toda a caracterização desta espécie era embasada no estudo de outras espécies de teleósteos, como *Acipenser baeri* (Gisbert et al., 1998; Gisbert et al., 1999), *Acipenser medirostris* (Gisbert e Doroshov., 2003), *Sparus aurata* (Elbal et al., 2004), *Rachycentron canadum* (Faulk et al., 2007), *Atractoscion nobilis* (Galaviz et al., 2011a), *Dicentrarchus labrax* (Giffard-Mena et al., 2006), *Oplegnathus fasciatus* (He et al., 2011), *Dentex dentex* (Santamaria et al., 2004), *Umbrina cirrosa* (Koumoundouros et al., 2005; Zaiss et al., 2006), *Pseudosciaena crocea* (Mai et al., 2005). É importante considerar que, embora os mecanismos básicos do desenvolvimento larval não se diferenciem muito entre teleósteos, há variabilidades interespecíficas no tempo em que os eventos ontogenéticos ocorrem (Santamaria et al., 2004). O momento para o início da alimentação exógena é espécie-específico e afetado por condições ambientais, de acordo com a revisão de Yúfera e Darias (2007) que trata da alimentação de larvas de peixes.

A diferenciação do trato digestório de *C. parallelus* em bucofaringe, esôfago, estômago rudimentar e intestino foi estabelecida no momento da abertura da boca, coincidindo com o momento da alimentação exógena. As características anatômicas requeridas para início da alimentação exógena são aquelas relacionadas com a localização da presa (órgãos quimiossensoriais e olhos), captura (boca, nadadeira e músculos), ingestão e digestão (sistema digestório) (Yúfera e Darias, 2007).

Qualquer falha ou limitação de nutrientes e obtenção de energia durante o período de início da alimentação afeta o correto desenvolvimento de órgãos e estruturas, e conseqüentemente, o posterior crescimento e a sobrevivência. (Yúfera e Darias, 2007), já que durante o desenvolvimento de larvas de peixes, há mudanças

morfológicas e fisiológicas que estão relacionadas a seu hábito alimentar (Georgalas et al., 2007).

No momento da abertura da boca células caliciformes secretoras de muco estão ausentes ou escassas no esôfago e na bucofaringe e surgem alguns dias mais tarde em algumas espécies (Yúfera e Darias, 2007), como observado para larvas de *C. parallelus* no presente estudo. Mucossubstâncias produzidas por células caliciformes escassas entre o epitélio escamoso estratificado do esôfago possuem papel importante na lubrificação e na integridade do epitélio (Yang et al., 2010). Fernández-Díaz et al. (1994) observaram que larvas de *S. aurata* alimentadas com partículas macias, selecionaram tamanhos maiores que quando alimentadas com partículas mais duras. Isto é um aspecto importante, pois muitas espécies têm carência de células mucosas no esôfago durante essa fase, e a presa tem que se acomodar ao diâmetro do tubo do esôfago para evitar abrasão da parede (Yúfera e Darias, 2007).

Em larvas de *Epinephelus bruneus* a partir do 12º dia surgem células mucosas na cavidade faríngea e dentes faríngeos são formados (Kato et al., 2004). As primeiras células mucosas na cavidade bucofaríngea de larvas de *Paralichthys californicus*, apareceram entre os dias 7 e 9 (Gisbert et al., 2004). No caso de *C. parallelus*, o aparecimento destas estruturas mostrou-se um pouco tardio, a partir do 15º dia.

Em *Rachycentron canadum*, no dia 3, a válvula intestinal entre o intestino anterior e o posterior foi formada (Faulk et al., 2007), idade esta semelhante à espécie do presente estudo. É também nessa idade que surgem células vacuoladas no intestino posterior da larva de robalo, indicando o início da digestão protéica e absorção. Em larvas de *Amphiprion percula*, apesar de no momento da eclosão as larvas já aceitarem alimento exógeno, a primeira evidência de que partículas foram digeridas foi observada somente no dia 5, quando a inclusão supranuclear de proteína foi evidente nas células epiteliais do intestino posterior (Gordon e Hecht, 2002). Corroborando com esse estudo, Onal et al. (2008) observaram, na mesma espécie, o surgimento dessas vesículas no mesmo dia. Esses corpos de inclusão supranucleares do intestino posterior são o resultado da absorção pinocítica de macromoléculas originárias do lúmen do trato (Govoni et al., 1986). No que diz respeito à digestão de proteínas em larvas jovens, acredita-se que a mucosa epitelial do intestino posterior seja o principal local de absorção (Ronnestad et al., 1999). A pinocitose tem sido considerada como um meio alternativo para digestão de proteínas em larvas de teleósteos já que seu sistema de digestão enzimática é pouco

desenvolvido (Sarasquete et al., 1995), sendo que o uso de dietas formuladas para larvas de peixes deve ser evitado até o momento da redução desses vacúolos do epitélio do intestino posterior (Onal et al., 2008). O surgimento de glândulas gástricas e o desaparecimento de vacúolos supranucleares no intestino posterior ocorreram no 35º dia indicando a capacidade de digestão das larvas de *C. parallelus*, já que a coexistência de pinocitose e digestão extracelular em larvas de peixes são consideradas mecanismos de compensação para a incompleta digestão de macromoléculas até a proliferação das glândulas gástricas (Govoni et al., 1986; Chen et al., 2006).

A vesícula biliar em larvas de *P. crocea*, foi observada entre os dias 4 e 5 (Mai et al., 2005). O mesmo ocorreu com as larvas de *C. parallelus* no presente estudo, onde a vesícula biliar foi observada no dia 4, entre o pâncreas e o fígado. A vesícula biliar armazena a bÍlis que contém sais biliares e álcalis, sendo que esta efetua a emulsificação das gorduras e neutralização da acidez do quimo. Esses processos auxiliam a digestão e a absorção de lipídios e vitaminas lipossolúveis que entram no intestino (Rotta, 2003)

Glândulas acessórias (fígado, pâncreas e vesícula biliar) são também funcionais no momento da abertura da boca (Yúfera e Darias, 2007). O pâncreas, com suas células acinares, tem sido muito estudado pela presença de grânulos de zimogênio, pois são os precursores da atividade da tripsina e quimotripsina (Civera-Cerecedo et al., 2004). A tripsina é considerada uma enzima chave, já que ativa outras proteases pancreáticas, por exemplo, a quimotripsina. A análise imunohistoquímica da tripsina mostrou ocorrência de secreção ativa para o lúmen a partir do 3º dia em *Paralichthys olivaceus* (Kurokawa e Suzuki, 1996), e com ensaios enzimáticos, no 3º dia (abertura da boca) para *Pagellus erythrinus* (Suzer et al., 2006). Na larva de esturção-persa a tripsina foi detectada no momento da eclosão e antes da abertura da boca (Babaei et al., 2011). As proteases, amilases, lipases e outras enzimas secretadas pelas células acinares do pâncreas exócrino e bile são essenciais para a hidrólise intestinal de alimento (Buddington e Krogdahl, 2004).

Larvas de peixes que não possuem um estômago funcional têm mecanismos digestivos imaturos, especialmente em termos de digestão protéica (Ribeiro et al., 1999), e por isso, há dificuldades no desenvolvimento de dietas para larvas. A falta de um estômago funcional não significa que o trato digestório não seja funcional, mas o desafio é determinar que nutrientes, moléculas ou partículas o trato pode digerir e absorver (Ronnestad et al., 1999). A ausência do estômago

funcional é uma redução funcional real para a larva, pois este é de extrema importância para a quebra de proteínas a aminoácidos. Sua função na proteinólise é baseada tanto na ação da pepsina quanto na denaturação ácida da proteína dos alimentos (Segner et al., 1994).

O surgimento de glândulas gástricas é considerado um marco no desenvolvimento do trato digestório de larvas de peixes. Segundo Zambonino-Infante e Cahu (2001) o surgimento destas glândulas indica o momento do desenvolvimento do estômago de um ponto de vista histológico. O surgimento das primeiras glândulas gástricas é bastante variável para as diferentes espécies de teleosteos, sendo que, em *C. parallelus* estas foram observadas no 30º dia. Em larvas da espécie ornamental *Amphiprion percula*, que recebe alimentação a partir do momento da eclosão, o surgimento das glândulas gástricas ocorre no 7º dia após a eclosão (Gordon e Hecht, 2002). Em larvas de *D. labrax* somente no 55º dia (García-Hernandez et al., 2001) e larvas de *S. aurata* no 60º dia (Elbal et al., 2004). No esparídeo *Diplodus puntazzo* análises histológicas evidenciaram que glândulas gástricas e estômago completamente formado foram observados no 32º dia e que a partir dessa idade, a digestão de dietas formuladas pode ser mais eficiente (Kamaci et al., 2009).

Govoni et al. (1986) afirmaram que o aumento da eficiência de assimilação do alimento deve ocorrer com o desenvolvimento do estômago funcional, com glândulas gástricas, e cecos pilóricos em transformação, devido à contribuição digestiva da pepsina e ácido clorídrico e o aumento da área superficial absorptiva do canal alimentar. De um ponto de vista histomorfológico, o 30º dia seria a idade de início da transformação de larva para juvenil (metamorfose) para *C. parallelus*, já que o desenvolvimento do estômago e dos cecos se dá durante a metamorfose e constitui a última mudança morfológica do trato digestório (Kolkovski et al., 2001; Civera-Cerecedo et al., 2004; Chen et al., 2006).

Porém, estudos com diversas espécies de peixes marinhos têm demonstrado que nem sempre o surgimento de glândulas gástricas, indica uma funcionalidade do estômago, como no caso de larvas de *Rachycentron canadum*, que, embora apresente essas glândulas entre os dias 9 e 10, as células mucosas não mostram resultado positivo para mucosubstâncias neutrais até o dia 12, indicando falta de funcionalidade das glândulas gástricas até este ponto (Faulk et al., 2007). Gawlicka et al. (2000) concluíram que apesar das larvas de *Hippoglossus hippoglossus*, de um ponto de vista histomorfológico, estarem preparadas para se alimentarem a partir do 15º dia, ensaios enzimáticos

demonstraram que somente a partir do 19º dia é que as larvas estão aptas a receber alimento inerte. Para Yang et al. (2010), a presença de glândulas gástricas e grânulos de pepsinogênio em larvas de *P. fulvidraco*, não significou o início de um estômago funcional.

As glândulas, algumas vezes, apesar de presentes no estômago, ainda não estão aptas para secretar pepsina e ácido clorídrico, substâncias que efetuam as primeiras digestões protéicas, facilitando assim a completa hidrólise de proteínas a peptídeos e aminoácidos através da ação de tripsina, quimotripsina e aminopeptidases no intestino médio e posterior (Govoni et al., 1986). A partir desse momento, pode-se considerar que as larvas possuem capacidade para digerir dieta formulada, já que estas dietas possuem um nível de complexidade protéica grande.

Na maioria das espécies de peixe, a atividade enzimática de pepsina não foi encontrada antes da formação de glândulas gástricas (Kolkovski et al., 2001). Porém, para a larva de *Epinephelus coioides* a atividade da pepsina esteve presente no momento da eclosão e pôde ser detectada a baixos níveis ao longo do período larval até a fase de juvenil antes do completo desenvolvimento, do ponto de vista histológico do estômago, que ocorreu por volta do 50º dia (Feng et al., 2008). O mesmo ocorreu em larvas de *S. aurata* que apresentaram atividade da pepsina antes do surgimento destas glândulas, que estiveram ausentes durante o período larval da espécie (Sarasquete et al., 1995), sendo observadas somente no 60º dia (Elbal et al., 2004),

Em larvas de *Lutjanus guttatus*, o sistema digestório está completamente desenvolvido e funcional entre o 20º e 25º dia, como demonstrado através de observações histológicas e pela quantificação molecular e bioquímica das duas principais proteases, tripsina e pepsina (Galaviz et al., 2011b). Na espécie de águas marinhas cálidas, *Atractoscion nobilis*, o estômago se tornou funcional entre o 16º e 18º dia; nesta fase a larva apresentou um sistema digestório completamente desenvolvido permitindo a digestão de alimento inerte e absorção de nutrientes (Galaviz et al., 2011a). Segundo análises do presente estudo, pôde-se concluir que larvas de *C. parallelus* possuem o sistema digestório completamente desenvolvido no 60º dia, com glândulas gástricas e cecos pilóricos desenvolvidos.

A mudança de um tubo reto e indiferenciado para um trato gastrointestinal diferenciado, incluindo a presença de células gástricas, permite o início do período de transição do alimento vivo para o inerte (Lazo et al. 2007). No caso das larvas de *C. parallelus*, o início do desmame pode ocorrer a partir do dia 30, concomitante ao surgimento

de glândulas gástricas e desaparecimento de vacúolos supranucleares no intestino posterior. Essa idade coincide com o período de desmame para *C. undecimalis*, onde a detecção de elevados picos de atividade de protease ácida (pepsina) indica, para larvas dessa espécie, a presença de um estômago funcional (células gástricas e secreção de ácido clorídrico) (Jimenez et al., 2011). Esses mesmos autores concluíram que o período ideal para o início do desmame da espécie é a partir do 34º dia. Alvarez-Lajonchère et al., (2002b) observaram que a idade para início do desmame de *C. parallelus* poderia ser realizada no 45º dia. Dados do presente estudo indicam que esse período pode ser reduzido em até quinze dias, incrementando a produção de larvas da espécie e reduzindo gastos de produção.

5. Considerações Finais

Considerando a importância do conhecimento sobre o desenvolvimento do trato digestório de larvas de peixes para o aprimoramento de técnicas aplicadas à formulação de dietas e manejo na larvicultura, este trabalho tem contribuição fundamental para o desenvolvimento de tecnologias para a piscicultura, já que há carência de informações deste tipo para a família Centropomidae. Sendo que o presente estudo serve como ferramenta para auxiliar na compreensão da morfologia, da fisiologia e do desenvolvimento das espécies desta família. Futuros estudos devem focar-se no que diz respeito à atividade enzimática e controles hormonais de enzimas para futuras aplicações na formulação de dietas comerciais para larvas de peixes marinhos.

6. Agradecimentos

Este trabalho teve o suporte do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Os autores agradecem a todos os estudantes e o corpo técnico do LAPMAR e do Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento da Universidade Federal de Santa Catarina que colaboraram com essa pesquisa.

Referências

Álvarez-Lajonchère, L., Cerqueira, V. R., Reis, M., 2002. Desarrollo embrionario y primeros estadios larvales del robalo chucumite,

Centropomus parallelus Poey (Pisces, Centropomidae) con interés para su cultivo. *Hidrobiológica* 12(2), 89-100.

Álvarez-Lajonchère, L., Cerqueira, V. R., Silva, I. D., Araujo, J., Reis, M., 2002. Mass Production of Juveniles of the Fat Snook *Centropomus parallelus* in Brazil. *J. World Aquacul. Soc.* 33, 506-516.

Babaei, S. S., Kenari, A. A., Nazari, R., Gisbert, E., 2011. Developmental changes of digestive enzymes in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) during larval ontogeny. *Aquaculture* 318, 138-144. Buddington, R. K., Krogdahl, A., 2004. Hormonal regulation of the fish gastrointestinal tract. *Comp. Biochem. Physiol., Part A* 139, 261-271.

Buentello, J. A., Pohlenz, C., Margulies, D., Scholey, V. P., Wexler, J. B., Tovar-Ramírez, D., Neill, W. H., Hinojosa-Baltazar, P., Gatlin, D. M., 2011. A preliminary study of digestive enzyme activities and amino acid composition of early juvenile yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *Aquaculture* 312, 205-211.

Cahu, C., Zambonino-Infante, J. L., 2001. Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. *Aquaculture* 200, 161-180.

Cerqueira, V.R. Cultivo do robalo: Aspectos da reprodução, larvicultura e engorda. Laboratório de Piscicultura Marinha, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil, 2002, 86p.

Cerqueira, V.R. Cultivo do robalo-peva, *Centropomus parallelus*. In: *Espécies nativas para a piscicultura no Brasil*. Ed. Bernardo Baldissertotto e Levy de Carvalho Gomes. Editora Universidade Federal de Santa Maria, 2005, p. 403-431.

Cerqueira, V. R.; Tsuzuki, M. Y. 2009. A review of spawning induction, larviculture, and juvenile rearing of the fat snook, *Centropomus parallelus*. *Fish Physiol. Biochem.* 35, 17-28.

Chen, B. N.; Qin, J. G.; Kumar, M. S.; Hutchinson, W.; Clarke, S. 2006. Ontogenetic development of the digestive system in yellowtail kingfish *Seriola lalandi* larvae. *Aquaculture* 256, 489-501.

Civera-Cerecedo, R., Álvarez-González, C. A., Moyano-López, F. J., 2004. Nutrición y alimentación de larvas de peces marinos. In: *Avances en Nutrición Acuícola VII*. Ed. Cruz Suárez, L. E., Ricque Marie, D.,

Nieto López, M. G., Villarreal, D., Scholz, U., González, M. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 87p.

Elbal, M. T., García Hernández, M. P., Lozano, M. T., Agulleiro, B., 2004. Development of the digestive tract of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). Light and electron microscopic studies. *Aquaculture* 234, 215-238.

Faulk, C. K., Benninghoff, A. D., Holt, G. J., 2007. Ontogeny of the gastrointestinal tract and selected digestive enzymes in cobia *Rachycentron canadum* (L.). *J. Fish Biol.* 70, 567-583.

Feng, S., Li, W., Lin, H., 2008. Characterization and expression of the pepsinogen C gene and determination of pepsin-like enzyme activity from orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*). *Comp. Biochem. Physiol Part B* 149, 275-284.

Fernández-Díaz, C., Pascual, E., Yúfera, M., 1994. Feeding behaviour and prey size selection of gilthead seabream, *Sparus aurata* L., larvae fed on inert and live food. *Mar. Biol.* 118, 323–328.

Ferraz, E.M., Cerqueira, V. R., Álvarez-Lajonchère, L., Candido, S. 2002. Indução da desova do robalo-peva, *Centropomus parallelus*, através de injeção e implante de LHRHa. *Bol. Inst. Pesca* 28, 125-133.

Galaviz, M. A., García-Gasca, A., Drawbridge, M., Álvarez-González, C. A., López, L. M., 2011. Ontogeny of the digestive tract and enzymatic activity in white seabass, *Atractoscion nobilis*, larvae. *Aquaculture* 318, 162-168.

Galaviz, M. A., García-Ortega, Gisbert, E., López, L. M., García-Gasca, A., 2011. Expression and activity of trypsin and pepsin during larval development of the spotted rose snapper *Lutjanus guttatus*. *Comp. Biochem. Physiol Part B* (**in press**)

García-Hernández, M. P., Lozano, M. T., Elbal, M. T., Agulleiro, B., 2001. Development of the digestive tract of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L). Light and electron microscopic studies. *Anat. Embryol.* 204, 39-57.

Gawlicka, A., Parent, B., Horn, M. H., Ross, N., Opstad, I., Torrissen, O. J., 2000. Activity of digestive enzymes in yolk-sac larvae of Atlantic

halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): indication of readiness for first feeding. *Aquaculture* 184, 303-314.

Georgalas, V., Malavasi, S., Franzoi, P., Torricelli, P., 2007. Swimming activity and feeding behaviour of larval European seabass (*Dicentrarchus labrax*): effects of ontogeny and increasing food density. *Aquaculture* 264, 418-427.

Giffard-Mena, I., Charmantier, G., Grousset, E., Aujoulat, F., Castille, R., 2006. Digestive tract ontogeny of *Dicentrarchus labrax*: Implication in osmoregulation. *Develop. Growth Differ.* 48, 139-151.

Gisbert, E., Doroshov, S. I., 2003. Histology of the developing digestive system and the effect of food deprivation in larval green sturgeon (*Acipenser medirostris*). *Aquat. Liv. Res.* 16, 77-89.

Gisbert, E., Piedrahita, R. H., Conklin, D. E., 2004. Ontogenetic development of the digestive system in California halibut (*Paralichthys californicus*) with notes on feeding practices. *Aquaculture* 232, 455-470.

Gisbert, E., Rodriguez, A., Castelló-Orvay, F., Williot, P., 1998. A histological study of the development of the digestive tract of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) during early ontogeny. *Aquaculture* 167, 195-209.

Gisbert, E., Sarasquete, M. C., Williot, P., Castelló-Orvay, F., 1999. Histochemistry of the development of the digestive system of Siberian sturgeon during early ontogeny. *J. Fish Biol.* 55, 596-616.

Gordon, A., K., Hecht, T., 2002. Histological studies on the development of the digestive system of the clownfish *Amphiprion percula* and the time of weaning. *J. Appl. Ichthyol.* 18, 113-117.

Govoni, J. J., Boehlert, G. W., Watanabe, Y., 1986. The physiology of digestion in fish larvae. *Environm. Biol. Fish.* 16, 59-77.

Hachero-Cruzado, I., Ortiz-Delgado, J. B., Borrega, B., Herrera, M., Navas, J. I., Sarasquete, C., 2009. Larval organogenesis of flatfish brill *Scophthalmus rhombus* L: Histological and histochemical aspects. *Aquaculture* 286, 138-149.

- Hamlin, H. J., von Herbing, I. H., Kling, L. J., 2000. Histological and morphological evaluations of the digestive tract and associated organs of haddock throughout post-hatching ontogeny. *J. Fish Biol.* 57, 716-732.
- He, T., Xiao, Z., Liu, Q., Ma, D., Xu, S., Xiao, Y., Li, J. 2011. Ontogeny of the digestive tract and enzymes in rock bream *Oplegnathus fasciatus* (Temminck et Schlegel 1844) larvae. *Fish Physiol. Biochem.* 38(2), 297-308
- Jimenez-Martinez, L. D., Alvarez-González, C. A., Tovar-Ramírez, D., Gaxiola G., Sanchez-Zamora, A., Moyano, F. J., Alarcón F. J., Márquez-Couturier G., Gisbert, E., Contreras-Sánchez W. M., Perales-García N., Arias-Rodríguez L., Indy, J. R., Páramo-Delgadillo, S., Palomino-Albarrán, I. G., 2011. Digestive enzyme activities during early ontogeny in Common snook (*Centropomus undecimalis*). *Fish. Physiol. Biochem.* 38(2), 441-454
- Kamacı, H. O., Coban, D., Suzer, C., Saka, S., Firat, K., 2009. Development of the gastrointestinal tract in sharpsnout sea bream *Diplodus puntazzo* larvae: histological and enzymatic ontogeny. *J. Anim. Vet. Adv.* 8(12), 2571-2579.
- Kato, K., Ishimaru, K., Sawada, Y., Mutsuro, J., Miyashita, S., Murata, O., Kumai, H., 2004. Ontogeny of digestive and immune system organs of larval and juvenile kelp grouper *Epinephelus bruneus* reared in the laboratory. *Fish. Sci.* 70, 1061-1069.
- Kolkovski, S., 2001. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles-implications and applications to formulated diets. *Aquaculture* 200, 181-201.
- Koumoundouros, G., Kouttoui, S., Georgakopoulou, E., Papadakis, I., Maingot, E., Kaspiris, P., Kiriakou, Y., Georgiou, G., Divanach, P., Kentouri, M., Mylonas, C. C., 2005. Ontogeny of the shi drum *Umbrina cirrosa* (Linnaeus 1758), a candidate new species for aquaculture. *Aquac. Res.* 36, 1265-1272.
- Kurokawa, T., Suzuki, T., 1996. Formation of the diffuse pancreas and the development of digestive enzyme synthesis in larvae of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 141, 267-276.
- Lau, S. R., Shafland, P. L., 1982. Larval development of snook, *Centropomus undecimalis* (Pisces: Centropomidae). *Copeia* 3, 618-627.

Lazo, J. P., Holt, G. J., Arnold, C. R., 2000. Ontogeny of pancreatic enzymes in larval red drum *Sciaenops ocellatus*. *Aquac. Nutr.* 6, 183-192.

Mai, K., Yu, H., MA, H., Duan, Q., Gisbert, E., Zambonino Infante, J. L., Cahu, C. L., 2005. A histological study on the development of the digestive system of *Pseudosciaena crocea* larvae and juveniles. *J. Fish Biol.* 67, 1094-1106.

Micale, V., Garaffo, M., Genovese, L., Spedicato, M. T., Muglia, U., 2006. The ontogeny of the alimentary tract during larval development in common pandora *Pagellus erythrinus* L. *Aquaculture* 251, 354-365.

Onal, U., Langdon, C., Çelik, I., 2008. Ontogeny of the digestive tract of larval percula clownfish, *Amphiprion percula* (Lacépède 1802): a histological perspective. *Aquac. Res.* 39, 1077-1086.

Papadakis, I. E., Zaiss, M. M., Kyriakou, Y., Georgiou, G., Divanach, P., Mylonas, C. C., 2009. Histological evaluation of the elimination of *Artemia* nauplii from larval rearing protocols on the digestive system ontogeny of shi drum (*Umbrina cirrosa* L.). *Aquaculture* 286, 45-52.

Peña, R., Dumas, S., Villalejo-Fuerte, M., Ortíz-Galindo, J. L., 2003. Ontogenetic development of the digestive tract in reared spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* larvae. *Aquaculture*, 219, 633-644.

Ribeiro, L., Sarasquete, C., Dinis, M. T., 1999. Histological and histochemical development of the digestive system of *Solea senegalensis* (Kaup, 1858) larvae. *Aquaculture* 171, 293-308.

Rønnestad, I., Thorsen, A., Finn, R. N., 1999. Fish larval nutrition: a review of recent advances in the roles of amino acids. *Aquaculture* 177, 201-216.

Rotta, M. A., 2003. Aspectos Gerais da Fisiologia e Estrutura do Sistema Digestivo dos Peixes Relacionados à Piscicultura. Embrapa. Brasília 53- 48p.

Sánchez-Amaya, M. I., Ortiz-Delgado, J. B., García-López, Á., Cárdenas, S., Sarasquete, C., 2007. Larval ontogeny of redbanded seabream *Pagrus auriga* Valenciennes, 1843 with special reference to the digestive system. A histological and histochemical approach. *Aquaculture* 263, 259-279.

- Sarasquete, M. C., Polo, A., Yúfera, M., 1995. Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval gilthead seabream, *Sparus aurata* L. *Aquaculture* 130, 79-92.
- Santamaria, C. A., Marín de Mateo, M., Traveset, R., Sala, R., Grau, A., Pastor, E., Sarasquete, C., Crespo, S., 2004. Larval organogenesis in common dentex *Dentex dentex* L. (Sparidae): histological and histochemical aspects *Aquaculture* 237, 207-228.
- Segner, H., Storch, V., Reinecke, M., Kloas, W., Hanke, W., 1994. The development of functional digestive and metabolic organs in turbot, *Scophthalmus maximus*. *Mar. Biol.* 119, 471-486.
- Suzer, C., Firat, K., Saka, S., 2006. Ontogenic development of the digestive enzymes in common pandora, *Pagellus erythrinus*, L. larvae. *Aquac. Res.* 37, 1565-1571.
- Yang, R., Xie, C., Fan, Q., Gao, C., Fang, L., 2010. Ontogeny of the digestive tract in yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* larvae. *Aquaculture* 302, 112-123.
- Yufer, M., Darias, M. J., 2007. The onset of exogenous feeding in marine fish larvae. *Aquaculture* 268, 53-63.
- Zaiss, M. M., Papadakis, I. E., Maingot, E., Divanach, P., Mylonas, C. C., 2006. Ontogeny of the digestive tract in shi drum (*Umbrina cirrosa* L.) reared using the mesocosm larval rearing system. *Aquaculture* 260, 357-368.
- Zambonino Infante, J. L., Cahu, C. L., 2001. Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae. *Comp. Biochem. Physiol. Part C* 130, 477-487.
- Zouiten, D., Khemis, I. B., Besbes, R., Cahu, C. 2008. Ontogeny of the digestive tract of thick lipped grey mullet (*Chelon labrosus*) larvae reared in "mesocosms". *Aquaculture* 279, 166-172.

Referências da Introdução

ÁLVAREZ-LAJONCHÈRE, L., CERQUEIRA, V. R., REIS, M., 2002. Desarrollo embrionario y primeros estadios larvales del robalo chucumite, *Centropomus parallelus* Poey (Pisces, Centropomidae) con interés para su cultivo. *Hidrobiológica* 12(2), 89-100.

CAHU, C., ZAMBONINO-INFANTE, J. L., 2001. Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. *Aquaculture* 200, 161-180.

CERQUEIRA, V. R.; TSUZUKI, M. Y. 2009. A review of spawning induction, larviculture, and juvenile rearing of the fat snook, *Centropomus parallelus*. *Fish Physiol. Biochem.* 35, 17-28.

CERQUEIRA, V.R. Cultivo do robalo: Aspectos da reprodução, larvicultura e engorda. Laboratório de Piscicultura Marinha, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil, 2002, 86p.

CERQUEIRA, V.R. Cultivo do robalo-peva, *Centropomus parallelus*. In: Espécies nativas para a piscicultura no Brasil. Ed. Bernardo Baldissertotto e Levy de Carvalho Gomes. Editora Universidade Federal de Santa Maria, 2005, p. 403-431.

CHEN, B. N.; QIN, J. G.; KUMAR, M. S.; HUTCHINSON, W.; CLARKE, S 2006. Ontogenetic development of the digestive system in yellowtail kingfish *Seriola lalandi* larvae. *Aquaculture*, 256 489-501.

CIVERA-CERECEDO, R., ÁLVAREZ-GONZÁLEZ, C. A., MOYANO-LÓPEZ, F. J., 2004. Nutrición y alimentación de larvas de peces marinos In: Avances en Nutrición Acuícola VII. Ed. CRUZ SUÁREZ, L. E., RICQUE MARIE, D., NIETO LÓPEZ, M. G., VILLARREAL, D., SCHOLZ, U., González, M. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 87p.

FALK-PETERSEN, I. B., 2005. Comparative organ differentiation during early life stages of marine fish. *Fish & Shellfish Immunology* 19, 397-412.

GARCÍA-HERNÁNDEZ, M. P., LOZANO, M. T., ELBAL, M. T., AGULLEIRO, B., 2001. Development of the digestive tract of sea bass

(*Dicentrarchus labrax* L.). Light and electron microscopic studies. *Anat. Embryol.* 204, 39-57.

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

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

HACHERO-CRUZADO, I., ORTIZ-DELGADO, J. B., BORREGA, B., HERRERA, M., NAVAS, J. I., SARASQUETE, C., 2009. Larval organogenesis of flatfish brill *Scophthalmus rhombus* L: Histological and histochemical aspects. *Aquaculture* 286., 138-149.

HAMLIN, H. J., von HERBING, I. H., KLING, L. J., 2000. Histological and morphological evaluations of the digestive tract and associated organs of haddock throughout post-hatching ontogeny. *Journal of Fish Biology* 57, 716-732.

KAMACI, H. O., COBAN, D., SUZER, C., SAKA, S., FIRAT, K., 2009. Development of the gastrointestinal tract in sharpsnout sea bream *Diplodus puntazzo* larvae: histological and enzymatic ontogeny. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 8(12), 2571-2579.

KOLKOVSKI, S., 2001. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles-implications and applications to formulated diets. *Aquaculture* 200, 181-201.

MICALE, V., GARAFFO, M., GENOVESE, L., SPEDICATO, M. T., MUGLIA, U., 2006. The ontogeny of the alimentary tract during larval development in common pandora *Pagellus erythrinus* L.

ONAL, U., LANGDON, C., ÇELIK, I., 2008. Ontogeny of the digestive tract of larval percula clownfish, *Amphiprion percula* (Lacépède 1802): a histological perspective. *Aquaculture Research* 39, 1077-1086.

PAPADAKIS, I. E., ZAISS, M. M., KYRIAKOU, Y., GEORGIU, G., DIVANACH, P., MYLONAS, C. C., 2009. Histological evaluation of the elimination of *Artemia* nauplii from larval rearing protocols on the

digestive system ontogeny of shi drum (*Umbrina cirrosa* L.). *Aquaculture* 286, 45-52.

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

PERSON-LE RUYET, J., ALEXANDRE, J.C., THÉBAUD, U., MUGNIER, C., 1993. Marine fish larvae feeding: formulated diets or live prey? *J. World Aquacult. Soc.* 24, 211-224.

RIBEIRO, L., SARASQUETE, C., DINIS, M. T., 1999. Histological and histochemical development of the digestive system of *Solea senegalensis* (Kaup,1858) larvae. *Aquaculture* 171, 293-308.

ROTTA, M. A., 2003. Aspectos Gerais da Fisiologia e Estrutura do Sistema Digestivo dos Peixes Relacionados à Piscicultura. Embrapa. Documento 53- 48p.

SÁNCHEZ-AMAYA, M. I., ORTIZ-DELGADO, J. B., GARCÍA-LÓPEZ, Á., CÁRDENAS, S., SARASQUETE, C., 2007. Larval ontogeny of redbanded seabream *Pagrus auriga* Valenciennes, 1843 with special reference to the digestive system. A histological and histochemical approach. *Aquaculture* 263, 259-279.

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

YANG, R., XIE, C., FAN, Q., GAO, C., FANG, L., 2010. Ontogeny of the digestive tract in yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* larvae. *Aquaculture* 302, 112-123.

YUFERA, M., DARIAS, M. J., 2007. The onset of exogenous feeding in marine fish larvae. *Aquaculture* 268, 53-63.

ZAISS, M. M., PAPADAKIS, I. E., MAINGOT, E., DIVANACH, P., MYLONAS, C. C., 2006. Ontogeny of the digestive tract in shi drum (*Umbrina cirrosa* L.) reared using the mesocosm larval rearing system. *Aquaculture* 260, 357-368.

ZAMBONINO-INFANTE, J. L., CAHU, C. L., 2001. Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 130, 477-487.

ZOUITEN, D., KHEMIS, I. B., BESBES, R., CAHU, C., 2008. Ontogeny of the digestive tract of thick lipped grey mullet (*Chelon labrosus*) larvae reared in “mesocosms”. *Aquaculture* 279, 166-172.