



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

Morgana Angelo

Eclosão e desenvolvimento de larvas de tainha (*Mugil liza*) e sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) em diferentes temperaturas

FLORIANÓPOLIS

2020

Morgana Angelo

Eclosão e desenvolvimento de larvas de tainha (*Mugil liza*) e sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) em diferentes temperaturas

Dissertação submetida ao Programa de Pós Graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de mestre em Aquicultura.

Orientador: Prof. Dr. Vinicius Ronzani Cerqueira
Coorientador: Dr. Caio César França Magnotti

Florianópolis

2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Angelo, Morgana

Eclosão e desenvolvimento de larvas de tainha (*Mugil liza*) e sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) em diferentes temperaturas / Morgana Angelo ; orientador, Vinicius Ronzani Cerqueira, coorientador, Caio César França Magnotti, 2020.

60 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós Graduação em Aquicultura, Florianópolis, 2020.

Inclui referências.

1. Aquicultura. 2. Larvicultura. 3. Incubação. 4. DNA. 5. Peixe marinho. I. Cerqueira, Vinicius Ronzani. II. Magnotti, Caio César França. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. IV. Título.

Morgana Angelo

Eclosão e desenvolvimento de larvas de tainha (*Mugil liza*) e sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) em diferentes temperaturas

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Vinicius Ronzani Cerqueira, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Monica Tsuzuki, Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Evelise Nazari, Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Aquicultura.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura

Prof. Dr. Vinicius Ronzani Cerqueira
Orientador

Florianópolis, 2020.

Este trabalho é dedicado aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, Henrique e Tânia, que me apoiaram e me deram o suporte necessário durante todo o mestrado, além de me ensinarem tudo que eu sei sobre amor e dedicação.

A minha sobrinha Mariah, que me ensina diariamente o significado do amor e me encoraja a ser uma pessoa melhor.

A todos os meus amigos e colegas que estiveram ao meu lado, e que em cada momento me ensinaram algo novo. A todos que estiveram tanto nos momentos de lazer, como nos acadêmicos, momentos de alegria e desespero, vocês foram mais importantes do que imaginam.

A equipe LAPMAR, que sempre esteve presente para rir do desespero e tornar tudo mais leve. Cada sorvete, café e coletas, ao som de raça negra, fizeram a diferença. Agradecimento especial ao meu colega de trabalho e amigo pra vida Maurício, melhor companhia de experimento que eu poderia ter.

Ao professor Vinicius que me orienta desde a graduação e passa todo o seu conhecimento para os alunos em nossas conversas.

Ao meu coorientador Caio, sem ele, desde a execução, este trabalho não teria sido realizado. Obrigada por toda a paciência, áudios, análises e contribuições, sei que não foi fácil me orientar à distância.

Ao programa de pós-graduação em Aquicultura, por todo trabalho e dedicação, que nos mantém em padrão de excelência.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

A temperatura deve ser mantida dentro de uma faixa ótima para a espécie durante a incubação e larvicultura, pois altera o tempo dos eventos ontogenéticos. O objetivo deste trabalho foi determinar uma faixa de temperatura para a incubação de ovos, sobrevivência e desenvolvimento inicial das larvas de tainha *Mugil liza* e sardinha-verdadeira *Sardinella brasiliensis*. A desova da tainha foi realizada após indução hormonal e os ovos na fase de fechamento do blastóporo (~24 h após a desova a 23 °C) foram incubados em 17, 20, 23, 26 e 29 °C. A desova da sardinha-verdadeira foi natural, os ovos foram incubados, com o fechamento do blastóporo (~12 h após a desova a 27 °C), nas temperaturas 17, 20, 23, 26, 29 e 32 °C. A transferência para os béqueres de 2 L foi realizada com aclimatação por banho termostático. Foi avaliado o desenvolvimento larval (200 ovos L⁻¹), as taxas de eclosão e sobrevivência de larvas (100 ovos L⁻¹), após 24 h da eclosão, e razão RNA:DNA. Para a tainha, foi encontrado que a temperatura 23,2 °C é a ideal para a taxa de eclosão e 23,9 °C a melhor taxa de sobrevivência e a temperatura 16,5 °C causa 70% de mortalidade. A razão RNA:DNA não sofreu alteração pela temperatura. O tempo para abertura de boca variou com a temperatura, entre 48 e 72 h. Também variou o tempo para a pigmentação do olho (36 a 64 h) e absorção do saco vitelino (42 a 48 h). Para a sardinha, foi encontrado que a melhor temperatura para a eclosão dos ovos é 28 °C e para a sobrevivência é 24,7 °C. A razão RNA:DNA não sofreu alteração pela temperatura. Os tempos para o desenvolvimento larval variaram conforme a temperatura. A abertura da boca variou de 24 a 51 h e a pigmentação do olho de 21 a 45 h. O comprimento inicial e final da larva não foi afetado pela temperatura. O intervalo ideal de temperatura para a incubação dos ovos e desenvolvimento da larva (até a abertura da boca) verificado para as duas espécies está de acordo com observações feitas em áreas de desova na natureza.

Palavras-chave: Aquicultura. Larvicultura, Incubação, RNA:DNA, Peixe marinho.

ABSTRACT

The temperature must be kept within an optimum range for a species during incubation and larviculture, as it changes the time of ontogenetic events. The objective of this work was to determine the range of temperature for egg incubation, survival and initial development of lebranche mullet *Mugil liza* and Brazilian sardine *Sardinella brasiliensis* larvae. The mullet spawning was performed after hormonal induction and the eggs in the blastospore closure phase (~ 24 h after spawning at 23 ° C) were incubated at 17, 20, 23, 26 and 29 ° C. The spawning of the true sardine was natural, the eggs were incubated, in the blastospore closure phase (~ 12 h after spawning at 27 ° C), at temperatures 17, 20, 23, 26, 29 and 32 ° C. The transfer was performed with 2 L becker and acclimatization by thermostatic bath. Larval development (200 L⁻¹ eggs) was evaluated, as hatching and larval survival rates (100 L⁻¹ eggs), after 24 h of hatching, and RNA: DNA ratio. For mullet, it was found that the temperature 23.2 ° C is ideal for hatching rate and 23.9 ° C, the best survival rate and temperature 16.5 ° C, causing 70% mortality. RNA:DNA ratio had no change by the temperature. The mouth opening time varies with temperature, between 48 and 72h. The time for eye pigmentation (36 to 64 h) and absorption of the yolk sac (42 to 48 h) was also changed. For sardines, the best temperature was found for the hatching of eggs at 28 ° C and for survival is 24.7 ° C. The RNA: DNA ratio did not suffer with the change in temperature. The times for larval development were changed according to the temperature. The opening of the mouth varies from 24 to 51 h and pigmentation of the eye from 21 to 45 h. The initial and final length of the larva was not affected by temperature. The ideal temperature range for incubation of eggs and larval development (until the mouth opening) recorded for both species is within the range already determined for natural populations.

Keywords: Aquaculture. Larviculture, Incubation, RNA:DNA, Marine Fish.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Ovo flutuante com embrião de tainha (*Mugil liza*) no momento da transferência para o experimento, 24 h após a fertilização.24
- Figura 2. Medidas morfométricas das larvas de tainha (*Mugil liza*): (A) Comprimento total. (B) Altura do corpo no poro anal. (C) Altura e comprimento da gota de óleo. Altura e comprimento do saco vitelino. (D) Altura e comprimento da gota de óleo.26
- Figura 3. Taxa de eclosão e sobrevivência de larvas de tainha (*Mugil liza*) 24h após a eclosão, em diferentes temperaturas. (Eclosão, $n=3$, $p < 0,05$; Sobrevivência, $n=3$, $p < 0,05$).....28
- Figura 4 Larva de tainha (*Mugil liza*) após a absorção do saco vitelino, com olho pigmentado, gota de óleo e boca funcional29
- Figura 5. Cinética da absorção do saco vitelino de larvas de tainha (*Mugil liza*) em diferentes temperaturas.....32
- Figura 6. Medidas morfométricas das larvas de sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*): (A) Comprimento total. (B) Altura e comprimento da gota de óleo. (C) Altura do corpo no poro anal. (D) Altura e comprimento do saco vitelino.42
- Figura 7. Taxa de eclosão e sobrevivência de larvas de sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) após 24h da eclosão, em diferentes temperaturas (Eclosão, $n=3$, $p < 0,05$; Sobrevivência, $n=3$, $p < 0,05$).....44
- Figura 8. Larva de sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) com o olho pigmentado e a boca funcional.....45
- Figura 9. Cinética da absorção da gota de óleo de sardinha (*Sardinella brasiliensis*) em diferentes temperaturas.....48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores médios (\pm desvio padrão) dos parâmetros de qualidade da água para eclosão e desenvolvimento larval, até a abertura de boca, de tainha (<i>Mugil liza</i>) em diferentes temperaturas.	26
Tabela 2. Tempo para o desenvolvimento larval, a partir da eclosão, de tainha (<i>Mugil liza</i>) em diferentes temperaturas.	29
Tabela 3. Valores das medidas morfométricas avaliadas (média \pm desvio padrão), após a eclosão e após a abertura de boca, de larvas de tainha (<i>Mugil liza</i>) mantidas em diferentes temperaturas.	31
Tabela 4. Valores médios (\pm desvio padrão) dos parâmetros de qualidade da água para eclosão e desenvolvimento larval, até a abertura de boca, de sardinha-verdadeira (<i>Sardinella brasiliensis</i>) em diferentes temperaturas.	42
Tabela 5. Tempo para o desenvolvimento larval, a partir da eclosão, de sardinha-verdadeira (<i>Sardinella brasiliensis</i>).....	45
Tabela 6. Valores das medidas morfométricas avaliadas (média \pm desvio padrão), após a eclosão e após a abertura de boca, de larvas de sardinha-verdadeira (<i>Sardinella brasiliensis</i>) mantidas em diferentes temperaturas.	47

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	PRINCIPAIS ASPECTOS DA TAINHA.....	13
1.2	PRINCIPAIS ASPECTOS DA SARDINHA-VERDADEIRA.....	15
1.3	EFEITO DA TEMPERATURA NO DESENVOLVIMENTO DE OVOS DE PEIXES	16
1.4	EFEITO DA TEMPERATURA NO DESENVOLVIMENTO LARVARL DE PEIXES	18
1.5	PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO LARVAL DE PEIXES	19
1.6	OBJETIVOS	20
1.6.1	Objetivo geral	20
1.6.2	Objetivos específicos	20
1.7	ESTRUTURA DO TRABALHO	20
2	ARTIGO CIENTÍFICO 1	21
2.1	ECLOSÃO E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE LARVAS DE TAINHA (<i>Mugil liza</i>) EM DIFERENTES TEMPERATURAS.....	21
	RESUMO.....	21
2.2	INTRODUÇÃO	22
2.3	MATERIAL E MÉTODOS	23
2.3.1	Local	23
2.3.2	Origem dos ovos	23
2.3.3	Delineamento experimental	24
2.3.4	Coleta dos dados	25
2.3.5	Monitoramento da qualidade de água	26
2.3.6	Análise da razão RNA:DNA	27
2.3.7	Análise estatística	27
2.4	RESULTADOS	27
2.4.1	Taxa de eclosão e sobrevivência de larvas	27
2.4.2	Tempo para o desenvolvimento larval	28
2.4.3	Análise morfométrica	29
2.5	DISCUSSÃO	32
2.6	CONCLUSÃO.....	34

2.7	AGRADECIMENTOS	35
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
3	ARTIGO CIENTÍFICO 2	38
3.1	ECLOSÃO E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE LARVAS DE SARDINHA-VERDADEIRA (<i>Sardinella brasiliensis</i>) EM DIFERENTES TEMPERATURAS.....	38
	RESUMO.....	38
3.2	INTRODUÇÃO	38
3.3	MATERIAL E MÉTODOS	39
3.3.1	Local.....	39
3.3.2	Origem dos ovos	40
3.3.3	Delineamento experimental.....	40
3.3.4	Coleta dos dados.....	41
3.3.5	Monitoramento da qualidade da água	42
3.3.6	Análise da razão RNA:DNA.....	43
3.3.7	Análise estatística	43
3.4	RESULTADOS	43
3.4.1	Taxa de eclosão e sobrevivência de larvas.....	43
3.4.2	Tempo para o desenvolvimento larval	44
3.4.3	Análise morfométrica.....	45
3.5	DISCUSSÃO	48
3.6	CONCLUSÃO	50
3.7	AGRADECIMENTOS	50
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
4	CONCLUSÃO GERAL.....	54
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO GERAL	55

1 INTRODUÇÃO

A piscicultura marinha é um ramo da aquicultura que tem crescido muito nos últimos anos, principalmente em razão das novas técnicas desenvolvidas na década de 1960, no Japão, e pelo aumento da demanda de peixe no mercado (CERQUEIRA, 2004; TIDWELL, 2012). A aquicultura continua crescendo mais do que qualquer outro setor da produção de alimentos e ultrapassa a captura de peixes selvagens em 37 países (FAO, 2018). No Brasil, a piscicultura marinha teve início no século XVII (SILVA, 1976), com o povoamento de juvenis de diversas espécies, em viveiros abastecidos com água de variação de marés (CERQUEIRA, 2004). O país possui um grande potencial para a expansão da atividade, que ainda está em desenvolvimento, com produções significativas somente em instituições de pesquisa e fazendas experimentais, sem importância em escala comercial (COSTA FILHO et al., 2013), sendo a falta de legislação, serviços especializados e insumos, as maiores problemáticas para a sua implementação (CAVALLI; DOMINGUES; HAMILTON, 2011). Entretanto, o cultivo de espécies marinhas tende ao crescimento, considerando o decréscimo de praticamente dois milhões de toneladas na captura de peixes marinhos entre 2015 e 2016 (FAO, 2018). A criação mundial de peixes marinhos tem crescido ao longo dos anos, e em 2016, atingiu 28,7 milhões de toneladas, com o continente Asiático responsável por 56,9% desta produção, seguido pela Europa com 27,8% (FAO, 2018).

O litoral brasileiro possui muitas espécies de peixes marinhos com potencial aquícola (CAVALLI; DOMINGUES; HAMILTON, 2011; CAVALLI; HAMILTON, 2009) e destacam-se as seguintes: robalo-peva (*Centropomus parallelus*), robalo-flecha (*Centropomus undecimalis*), linguado (*Paralichthys orbignyanus*), sardinha (*Sardinella brasiliensis*), tainha (*Mugil liza*), cioba (*Lutjanus analis*), ariocó (*Lutjanus synagris*), garoupa verdadeira (*E. marginatus*), pampo (*Trachinotus marginatus*), peixe-rei (*Odonthestes argentinensis*), bijupirá (*Ranchycetron canadum*), arabaiana (*Seriola dumerili*), pargo-rosa (*Pagrus pagrus*), dourado (*Coryphaena hippurus*), carapeba (*Eugerres brasilianus*), mero (*Epinephelus itajara*) e o badejo (*Mycteroperca bonaci*).

A tainha (*Mugil liza*) possui grande importância para a pesca artesanal e industrial no litoral sudeste-sul brasileiro, sobretudo no Estado de Santa Catarina, sendo a sétima espécie mais capturada no Brasil, principalmente pelo interesse do

mercado de exportação das ovas (MPA; MMA, 2015), porém a captura pela pesca artesanal vem decrescendo nos últimos 30 anos, enquanto a pesca industrial possui uma tendência a aumentar (MPA; MMA, 2015). Esta espécie foi considerada sobreexplotada (IBAMA, 2007) e um Plano de Gestão para o seu uso sustentável foi elaborado, considerando a importância e a vulnerabilidade da espécie no Sul e Sudeste do Brasil (MPA; MMA, 2015). Por outro lado, apresenta características favoráveis para a piscicultura como: ampla tolerância à temperatura, salinidade e rápida adaptação a alimentação inerte (CARVALHO et al., 2014; CERQUEIRA, 2004).

A sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) é um peixe pelágico de pequeno porte, formam cardumes e pertencem à ordem Clupeiformes, em que estão alguns dos gêneros mais importantes para o setor pesqueiro, como *Sardinops*, *Sardina* e *Sardinella*, popularmente conhecidas como sardinhas (CERGOLE; DIAS-NETO, 2011). Na costa brasileira, é encontrada entre o Estado do Rio de Janeiro (Cabo de São Tomé, 22°S) e Santa Catarina (ao sul do Cabo de Santa Marta, 29° S) (CERGOLE, 1995; JABLONSKI, 2007). Como já é conhecida pelo consumidor de pescado e houve diminuição de sua captura nas últimas décadas, apresenta potencial para a piscicultura marinha (CERGOLE; DIAS-NETO, 2011). Possuem características favoráveis para o cultivo como um ciclo de vida curto, atingindo a maturidade sexual no primeiro ano de vida, o que facilita a formação dos lotes de reprodutores e o tempo de cultivo para atingir o tamanho comercial, além de altas taxas de fecundidade nas desovas (CERGOLE; DIAS-NETO, 2011).

1.1 PRINCIPAIS ASPECTOS DA TAINHA

A tainha (*Mugil liza* Valenciennes, 1836), pertence à família Mugilidae, ordem Perciformes e classe Actinopterygii e é encontrada desde o Caribe até a Argentina (DURAND et al., 2012; LEMOS et al., 2014; MENEZES et al., 2010). Os adultos, que habitam águas marinhas e lagoas de água salobra, podem ocasionalmente entrar em locais de água doce, porém não são encontrados nas partes altas dos rios (CROSETTI; BLABER, 2015), sendo considerados catádromos (FISCHER et al., 2011). O período de migração para reprodução está relacionado com a diminuição da temperatura a partir de maio, no sul do Brasil e a desova ocorre em mar aberto, com salinidade entre 32 e 35 e temperatura da água de 19 a 21 °C,

principalmente, no mês de julho (CERQUEIRA et al., 2017; LEMOS, 2014). Após a desova os adultos retornam para o estuário e as larvas e juvenis são levados pelas correntes para o sul do Brasil, por até quatro meses após a desova (MPA; MMA, 2015). A Lagoa dos Patos, no Rio Grande do Sul é considerada o maior berçário e habitat desta espécie (VIEIRA et al., 2008).

As tainhas, como são conhecidas popularmente, possuem grande interesse para a pesca artesanal e comercial no Brasil, gerando renda para pescadores artesanais (REIS; D'INCAO, 2000). Em Santa Catarina, a pesca da tainha, foi considerada patrimônio histórico, artístico e cultural do Estado, devido à sua importância na pesca costeira artesanal, como fonte de alimento para as comunidades litorâneas (MPA; MMA, 2015). A pesca desta espécie é realizada durante todo o ano no sul e sudeste do país, os adultos pela pesca industrial e artesanal, durante sua migração, no ambiente marinho e os juvenis, por pescadores artesanais, dentro de estuários e lagoas (MPA; MMA, 2015).

Além do consumo da carne, a tainha possui mercado para consumo da gônada feminina (ova), como caviar, principalmente para exportação, atraindo a pesca industrial e comprometendo os estoques naturais da espécie (CERQUEIRA et al., 2017; IBAMA, 2007). Considerando estes fatores, a aquicultura poderia suprir a necessidade do mercado, uma vez que a tainha possui características favoráveis para a piscicultura por ser eurialina e euritérmica, tolerando altas mudanças na salinidade (0 a 90) e na temperatura (3 a 36 °C), além de o hábito alimentar ser planctófago quando juvenil e iliófago quando adulto, o que favorece a adaptação dos peixes a uma dieta inerte (CERQUEIRA et al., 2017; MIRANDA-FILHO et al., 2010).

Os primeiros estudos de criação da tainha no Brasil foram realizados no Instituto de Pesquisas da Marinha no Rio de Janeiro, com reprodução em cativeiro, e posteriormente na Universidade Federal de Santa Catarina (ANDREATTA et al., 1981; ANDREATTA et al., 1983; BENETTI; FAGUNDES NETO, 1980; BENETTI; FAGUNDES NETO, 1983). Também em Cuba, na mesma época, foi realizada a desova e larvicultura desta espécie (ALVAREZ-LAJONCHERE et al., 1988). Recentemente, diversos estudos foram realizados no Laboratório de Piscicultura Marinha da Universidade Federal de Santa Catarina sobre preservação e qualidade de sêmen, desova e larvicultura da tainha (CARVALHO et al., 2014, CARVALHO et al., 2019; CASTRO et al., 2019; MAGNOTTI et al., 2018).

1.2 PRINCIPAIS ASPECTOS DA SARDINHA-VERDADEIRA

A espécie sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*, Steindachner 1879), pertence à Família Clupeidae e está isolada dos demais grupos do gênero *Sardinella* no Oceano Atlântico (CERGOLE; DIAS-NETO, 2011). No Brasil, esta espécie pode ser encontrada entre os Estados do Rio de Janeiro e Santa Catarina, e geralmente entre 30 e 100 m de profundidade (CERGOLE, 1995; CERGOLE; DIAS-NETO, 2011; JABLONSKI, 2007).

As sardinhas possuem corpo pequeno, ciclo de vida curto, rápido crescimento e são caracterizadas por uma alta mortalidade na natureza (CERGOLE; DIAS-NETO, 2011; GANIAS; SOMARAKIS; NUNES, 2014). Possuem grande importância para o ecossistema marinho, pois são base da cadeia alimentar de diversos peixes e pássaros marinhos, sendo amplamente distribuídas ao redor do mundo e habitando principalmente águas quentes (SCHWEIGERT, 2002).

A maturação ovariana, desova e recuperação gonadal dos peixes ocorre entre a primavera e o verão (entre outubro e março), ocorrendo a desova principalmente entre dezembro e janeiro, podendo sofrer variações conforme as condições oceanográficas (CERGOLE; DIAS-NETO, 2011). As desovas no oceano são parceladas e cada fêmea libera diversos lotes de ovócitos durante uma única estação, em temperaturas entre 22 e 28 °C e salinidade 35 (GIGLIOTTI et al., 2009; MATSUURA, 1983, 1998). A eclosão dos ovos ocorre após 19 horas da fecundação, em temperatura de 24 °C (MATSUURA, 1998). O intervalo de desova é de quatro a onze dias, sendo os ovos livres, planctônicos e flutuantes (CERGOLE; DIAS-NETO, 2011).

É um importante recurso pesqueiro, sustentando a maior pesca comercial do sul e sudeste do Brasil em volume de produção (CERGOLE et al., 2002; PAIVA, 2000). Em 2009 a captura foi de 83.286 t e em 2010 diminuiu 25,4%, sendo de 62.134 t (MPA, 2012). Em Santa Catarina, a queda foi ainda maior, de 50% para o mesmo ano. Este declínio da pesca nos últimos 40 anos, está sendo associado com as mudanças climáticas ambientais e a sobrepesca (JABLONSKI, 2007). A pesca desta espécie tem dois objetivos distintos: a captura de juvenis para o uso como isca-viva, na pesca do atum, e a captura de indivíduos adultos, para o processamento industrial e venda de enlatados (CERGOLE; DIAS-NETO, 2011).

Por ser uma espécie com interesse aquícola, pesquisas em laboratório iniciaram com a coleta de ovos na natureza e cultivo das larvas em laboratório (YONEDA; MATSUURA, 1987). Mais recentemente, em 2010, iniciou-se a criação intensiva da sardinha em cativeiro, no Laboratório de Piscicultura Marinha, da Universidade Federal de Santa Catarina, com o projeto intitulado “Isca Viva”. Já foram realizadas pesquisas com a adaptação em cativeiro (PEREIRA, 2010), reprodução induzida por hormônio (PASSINI et al., 2013; SILVA, 2013), desovas espontâneas, alimentação de larvas e juvenis (BALOI et al., 2016; BALOI et al., 2017; STERZELECKI et al., 2018), sistemas de cultivo (GUINLE, 2014; SILVA, 2013), criação em tanque-rede (TATSCH, 2015), dose letal de amônia (BALOI et al., 2018) e maturação em cativeiro (MANZONI et al., 2014; 2015).

Apesar dos estudos já desenvolvidos com estas duas espécies, as pesquisas sobre a ontogenia de larvas de peixes brasileiros são escassas, porém, de extrema importância para o conhecimento da vida inicial e larvicultura do peixe (GODINHO et al., 2003). Os fatores ambientais abióticos, como temperatura, salinidade e oxigênio dissolvido, afetam o crescimento, desenvolvimento e sobrevivência durante a embriogênese e o início da vida dos peixes, sendo a embriogênese o período mais sensível a estes fatores (GREEN; BROWN, 2013).

1.3 EFEITO DA TEMPERATURA NO DESENVOLVIMENTO DE OVOS DE PEIXES

A temperatura é um dos fatores ambientais mais importantes, pois, além de afetar a ontogenia nos primeiros estágios da vida dos peixes, afeta diretamente o metabolismo, o consumo de oxigênio, o crescimento e a sobrevivência (JIAN et al., 2003; NEELMANI et al., 2019). Também altera as medidas morfométricas como o comprimento, peso, tamanho do saco vitelino e altura do corpo (IMSLAND et al., 2019; JIAN et al., 2003; NEELMANI et al., 2019), assim, deve mantida dentro de uma faixa ótima para cada espécie (GREEN; BROWN, 2013). É possível dizer que a temperatura durante a incubação apresenta uma relação positiva com a taxa de eclosão das larvas e uma relação negativa com o tempo e o tamanho da larva após a eclosão (GREEN; BROWN, 2013), podendo causar mortalidade dos ovos, e conseqüentemente, baixas taxas de eclosão no cultivo (IMSLAND et al., 2019). O efeito da temperatura durante a ontogenia é determinado pelas reações enzimáticas,

que irão influenciar diretamente no desenvolvimento do embrião e da larva (BLAXTER, 1969).

O tempo de desenvolvimento do embrião e o tempo de eclosão são relacionados com a temperatura e é espécie-específica (CROSETTI; BLABER, 2015). Larvas com desenvolvimento precoce geralmente possuem mais energia endógena e maior armazenamento de energia no saco vitelino, em contraste, larvas com desenvolvimento prolongado são pouco desenvolvidas na eclosão e possuem menos energia de reserva (GREEN; BROWN, 2013). Para *Mugil liza*, o tempo de incubação pode durar entre 45 e 48 h em temperatura de 23 e 20 °C, respectivamente, resultando em uma taxa de eclosão de 60 e 96 % (CARVALHO et al., 2019; CERQUEIRA et al., 2017). Uma temperatura de incubação, para a tainha *M. cephalus*, acima de 25 °C causa inibição da eclosão e uma mortalidade acima de 90% ou total (CROSETTI; BLABER, 2015). Isto ocorre, pois altas temperaturas aumentam a atividade das glândulas de eclosão e a motilidade dos embriões resultando em larvas menores, além de diminuir o oxigênio na água do cultivo (KAMLER, 2002). O desenvolvimento dos ovos de *Mugil macrolepis* ocorrem entre 26 e 29 °C (SEBASTIAN; NAIR, 1975), já a *Mugil cephalus* é incubada em diferentes temperaturas: 22 °C (NASH et al., 1974), 25 ± 1 °C (EL-GHARABAWY; ASSEM, 2006), 22 e 24 °C (KUO et al., 1973). Baixas temperaturas podem aumentar o tempo de eclosão dos ovos de *M. cephalus* como observaram Kuo et al.(1973), em temperatura de 24 °C, eclosão 36 a 38 horas após a fertilização, em temperatura de 22 °C, eclosão 48 a 50 horas após a fertilização. Em temperaturas ainda mais baixas (18,2 a 19,5 °C) o tempo de incubação chega a 60 horas (YANG; KIM, 1962). Além de a temperatura influenciar o tempo de incubação e o desenvolvimento larval, as larvas podem ser afetadas pela eclosão tardia ou antecipada (KAMLER, 2002).

Os ovos de *Sardinella aurata* na natureza são encontrados, principalmente no verão e outono, em uma temperatura média de 25,5 °C (ZARRAD et al., 2007), com as desovas ocorrendo em temperatura de 26,5 °C (ZARRAD et al., 2018). Para as desovas de *Sardinella brasiliensis*, que também ocorrem em águas quentes, a temperatura média é de 23,7 °C e salinidade 35 (CERGOLE; DIAS-NETO, 2011). Em uma temperatura de incubação de 24 °C, o tempo de incubação dos ovos de *S. brasiliensis* é de 19 horas, resultando em uma taxa de eclosão de 68,25%. (CERGOLE; DIAS-NETO, 2011; CERQUEIRA et al., 2017). Em temperaturas mais

baixas, o tempo de incubação dos ovos aumenta, chegando até 71 h, em temperatura de 21 °C, para a espécie *Alosa sapidissima* (GAO et al., 2018)

Sendo assim, o controle da temperatura durante a embriogênese pode influenciar sua duração, o tamanho das larvas na eclosão, pode promover maior homogeneidade dos lotes e ajudar a calcular a taxa de sobrevivência após a eclosão (GREEN; BROWN, 2013).

1.4 EFEITO DA TEMPERATURA NO DESENVOLVIMENTO LARVAL DE PEIXES

O desenvolvimento larval é dependente da temperatura, portanto, o seu controle rigoroso durante a incubação dos ovos é importante, pois influencia a condição do saco vitelino no momento em que a larva eclode (CROSSETI et al., 2015; KAMLER, 2008). O aumento da temperatura acelera o desenvolvimento e altera algumas características morfológicas, assim como o tempo necessário para desenvolver a nadadeira peitoral, abertura de boca e pigmentação do olho (GREEN; BROWN, 2013; FUKUHARA, 1990). Segundo Barón-Aguilar et al. (2015), os parâmetros de morfologia da larva do robalo-flecha (*Centropomus undecimalis*) que mais tiveram relação com a temperatura foram: comprimento padrão, volume do saco vitelino e volume da gota de óleo.

Nas primeiras 24 h após a eclosão, a larva utiliza entre 87 a 98% da reserva vitelina, e ocorre um aumento do consumo em temperaturas ainda mais altas em *Centropomus undecimalis* (BARÓN-AGUILAR et al., 2015). Altas temperaturas também podem acelerar o metabolismo e o consumo das reservas energéticas, podendo ocorrer a morte da larva (BARÓN-AGUILAR et al., 2015; PEÑA et al., 2014).

Em temperaturas de incubação mais baixas, as larvas de robalo-flecha, recém-eclodidas são mais longas, mais pesadas e o corpo é mais espesso (IMSLAND et al., 2019). Existe também uma influência negativa da incubação em baixas temperaturas, onde ocorre a eclosão de larvas malformadas, que não são ideais para o cultivo aquícola (BARÓN-AGUILAR et al., 2015).

Na natureza, as larvas de sardinha-verdadeira são encontradas, com maior frequência, em temperaturas entre 23 e 27 °C (GIGLIOTTI et al., 2009). Experimentos com ovos coletados da natureza foram realizados, mantendo a temperatura de eclosão e cultivo a 25 °C (YONEDA; MATSUURA, 1987). Já para *M.*

liza, a larvicultura deve ser realizada com temperaturas entre 20 e 23 °C (CARVALHO et al., 2019; CERQUEIRA et al., 2004). Nestas condições, a larva eclode com 2,95 mm, a reserva vitelina dura 5 dias e a gota de óleo entre 8 e 11 dias (CARVALHO et al., 2019; CERQUEIRA et al., 2004). A larvicultura de *M. cephalus* realizada em 25 e 20 °C, resulta em um tempo de incubação de 26 e 48 horas, respectivamente, e larvas recém-eclodidas de 2 mm (EL-GHARABAWY et al., 2006; YOUSIF et al., 2010).

1.5 PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO LARVAL DE PEIXES

Existem muitos métodos para descrever o desenvolvimento das larvas de peixes, como a medição do crescimento, as estruturas corporais, a observação do comportamento e na medição de parâmetros fisiológicos (PEREZ-DOMINGUEZ; DAHM, 2011). O peso e o comprimento padrão são muito utilizados para avaliar o crescimento, porém outros métodos mais elaborados, como teor de proteína, quantidade de energia e análise de ácido nucleico (razão RNA:DNA) podem ser utilizados para obter dados mais precisos (BUCKLEY; CALDARONE; CLEMMESSEN, 2008; PEREZ-DOMINGUEZ; DAHM, 2011).

A razão RNA:DNA é proposta como um método sensível para avaliar o crescimento de peixes jovens e uma ferramenta para avaliar as condições de uma larvicultura (SALEH et al., 2019; WEBER et al., 2003). A quantidade de RNA na larva reflete a síntese de proteína, o crescimento e a condição nutricional, enquanto o acúmulo de DNA está relacionado com o número de células individuais permanentes e constantes (FOLEY et al., 2016; KAMLER, 2008; WEBER et al., 2003). Durante o desenvolvimento inicial de larvas, em condições favoráveis para o crescimento, esta taxa será mais alta, do que em larvas em condições ambientais ou nutricionais desfavoráveis (PEREZ-DOMINGUEZ; DAHM, 2011). Esta razão é aceita como um índice de crescimento potencial em diversos organismos aquáticos (KAMLER, 2008). Alguns estudos já mostraram que esta razão diminui com o aumento da temperatura da água, podendo ser utilizada diretamente para verificar a atividade do RNA no organismo, em diferentes temperaturas (BUCKLEY et al., 2008; BUCKLEY et al., 1999). Temperatura e RNA:DNA juntos, conseguem explicar a variabilidade nas taxas de crescimento (BUCKLEY et al., 1999), podendo ser explicado pelos processos metabólicos que tendem a aumentar diretamente com a temperatura

(FOLEY et al., 2016). Peixes com uma alta razão RNA:DNA, podem ser considerados em uma melhor condição, pois possuem um maior potencial de síntese proteica (BUCKLEY et al., 2008).

O conhecimento do comportamento larval e da morfogênese é importante para ajudar no cultivo em larga escala de qualquer espécie, além de ajudar a compreender melhor o seu comportamento no ambiente natural (FUKUHARA, 1990).

Identificar o ambiente adequado para o cultivo de tainha e sardinha-verdadeira é um requisito importante para a aquicultura, considerando que a temperatura ótima para a eclosão, sobrevivência e desenvolvimento inicial de larvas, ainda não foram definidos.

1.6 OBJETIVOS

1.6.1 Objetivo geral

Determinar uma faixa ótima de temperatura para a embriogênese final e o desenvolvimento inicial das larvas de tainha *Mugil liza* e sardinha-verdadeira *Sardinella brasiliensis*.

1.6.2 Objetivos específicos

- Em um intervalo de temperatura de 17 – 29 °C para tainha e 17 – 32 °C para sardinha-verdadeira, determinar:
- O valor de taxa de eclosão de ovos e sobrevivência de larvas, após 24 h da eclosão;
- O tempo para abertura de boca;
- O tempo para consumo das reservas enegéticas;
- A razão RNA:DNA.

1.7 ESTRUTURA DO TRABALHO

A dissertação foi organizada em dois artigos científicos, formatados conforme as normas da revista Aquaculture Research.

2ARTIGO CIENTÍFICO 1

2.1 ECLOSÃO E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE LARVAS DE TAINHA (*Mugil liza*) EM DIFERENTES TEMPERATURAS.

Morgana Angelo*; Maurício Koch Lisboa; Caio Magnotti; Mariana Rangel Pilotto; Vinicius Ronzani Cerqueira.

Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR), Departamento de Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias (CCA), Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brasil.

*morganaangelo@hotmail.com (autor para correspondência)

RESUMO

A temperatura é um dos fatores mais importantes para o desenvolvimento de embriões e larvas de peixes, que deve ser mantida dentro de uma faixa ótima. O objetivo deste trabalho foi determinar um faixa de temperatura para a incubação de ovos, sobrevivência e o desenvolvimento inicial das larvas de tainha *Mugil liza*. A desova foi realizada após indução hormonal e os ovos na fase de fechamento do blastóporo (~24 h após a desova a 23 °C) foram incubados em 17, 20, 23, 26 e 29 °C em béqueres com temperatura controlada por banho termostático. Foram avaliados o desenvolvimento larval (200 ovos L⁻¹), taxas de eclosão dos ovos e sobrevivência de larvas (100 ovos L⁻¹), após 24 h da eclosão e RNA:DNA. Foi encontrado que a temperatura 23,2 °C é a melhor para a eclosão, 23,9 °C a melhor para a sobrevivência e que a 16,5 °C ocorre 70% de mortalidade das larvas. A razão RNA:DNA teve uma tendência a ser maior na temperatura mais baixa, indicando variação no metabolismo. O tempo para abertura de boca variou com a temperatura, 48 a 72h. Também variou o tempo para a pigmentação do olho (36 a 64 h) e absorção do saco vitelino (42 a 48 h).

Palavras-chave: RNA:DNA, incubação, mugilidae, larvicultura.

2.2 INTRODUÇÃO

A tainha (*Mugil liza* Valenciennes, 1836) possui grande importância para a pesca artesanal e industrial do estado de Santa Catarina, sendo a sétima espécie mais capturada no Brasil, principalmente pelo interesse do mercado de exportação das ovas (MPA; MMA, 2015), porém a captura pela pesca artesanal vem decrescendo nos últimos 30 anos, enquanto a pesca industrial possui uma tendência a aumentar (MPA; MMA, 2015). Esta espécie foi considerada sobreexplorada (IBAMA, 2007) e um Plano de Gestão para o uso sustentável da tainha foi elaborado, considerando a importância e a vulnerabilidade da espécie no Sul e Sudeste do Brasil (MPA; MMA, 2015). Entretanto a espécie apresenta características favoráveis para a piscicultura como: ampla tolerância à temperatura, salinidade e se adapta facilmente a alimentação inerte (Carvalho et al., 2014; Cerqueira, 2004).

A temperatura é um dos fatores ambientais mais importantes, pois, além de afetar a ontogenia nos primeiros estágios da vida das larvas, afeta diretamente o metabolismo, o consumo de oxigênio, crescimento, sobrevivência, e também altera as medidas morfométricas como o comprimento, peso, tamanho do saco vitelino e altura do corpo dos organismos marinhos (Imsland, Danielsen, Jonassen, Hangstad, & Falk-Petersen, 2019; Neelmani, Pal, Sarman, Vyas, & Munuya, 2019; Jian, Cheng, & Chen, 2003). O aumento da temperatura acelera o desenvolvimento e altera as características morfológicas, como o tempo para desenvolver a nadadeira peitoral, abertura de boca e pigmentação do olho (Green & Brown, 2013; Fukuhara, 1990).

O peso e o comprimento padrão são muito utilizados para avaliar o crescimento, porém outros métodos mais elaborados, como teor de proteína, quantidade de energia e análise de ácido nucleico (razão RNA:DNA) podem ser utilizados para obter dados mais precisos (Perez-Dominguez & Dahm, 2011; Buckley, Caldarone, & Clemmesen, 2008). A razão RNA:DNA é aceita como um índice de potencial crescimento em diversos organismos aquáticos (Kamler, 2008) e estudos já mostraram que esta taxa diminui, com o aumento da temperatura da água do cultivo, sendo possível ser utilizada como um fator de condição direto para verificar a atividade do RNA no organismo, em diferentes temperaturas (Buckley, Caldarone, & Clemmesen, 2008; Buckley, Caldarone, & Ong, 1999).

Identificar o ambiente adequado para o cultivo desta espécie é um aspecto importante para a aquicultura, considerando que a temperatura ótima para a

eclosão, sobrevivência e desenvolvimento inicial de larvas de tainha, ainda não foi definido. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi determinar a faixa de temperatura mais adequada para a embriogênese, sobrevivência e desenvolvimento inicial das larvas de tainha *M. liza*.

2.3 MATERIAL E MÉTODOS

2.3.1 Local

O experimento foi realizado no Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR) da Universidade Federal de Santa Catarina – Brasil, no mês de julho de 2018. Todos os procedimentos foram previamente aprovados e autorizados pelo Comitê de Ética e Uso de Animais (CEUA) pelo projeto nº 7759170919.

2.3.2 Origem dos ovos

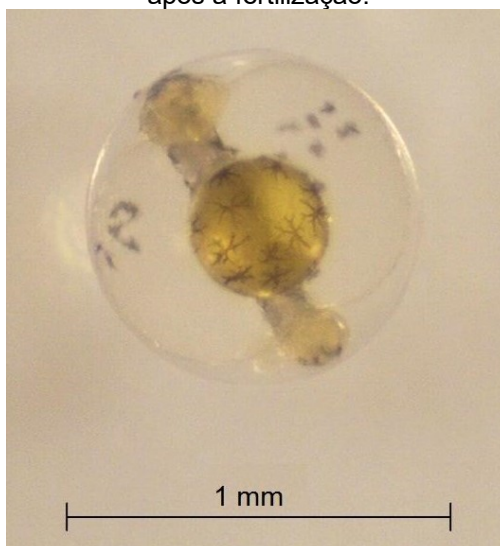
Os reprodutores selvagens foram capturados em julho de 2018 e os ovos foram provenientes de uma desova com indução hormonal de uma fêmea, com peso de 2,3 kg, e dois machos, pesando 1,5 e 1,7 kg, seguindo a metodologia de Cerqueira et al. (2017).

Os peixes induzidos por hormônio foram mantidos em um tanque circular de 2000 L, fotoperíodo natural (latitude 27° S), fluxo contínuo de água, salinidade 35 e temperatura de 23 °C. A desova ocorreu com a extrusão manual dos ovos da fêmea e fertilização artificial com um pool de sêmen dos dois machos, e adicionado água salgada, para a ativação dos espermatozóides. Os ovos foram alocados em incubadora cilindro-cônica de 35 L, malha de 500 µm e com fluxo contínuo da água do tanque dos reprodutores. Os ovos flutuantes (Figura 1) ficaram na incubadora, até o estágio de fechamento do blastóporo (~24 h após a fertilização), quando se tornam mais resistentes ao manejo. O tempo de incubação considerado não incluiu essas 24 h iniciais antes do experimento, quando os ovos não sofreram influência das temperaturas experimentais.

A transferência dos ovos para as unidades experimentais foi realizada com um béquer de 2 L com água na mesma temperatura de desova (23 °C), seguida da aclimação por banho termostático do béquer, no tanque com a temperatura

experimental. A aclimação teve duração de 2 h, tempo em que a água do béquer atingiu a temperatura experimental desejada. A contagem dos ovos foi realizada a olho nu com o auxílio de uma pipeta de 10 mL.

Figura 1. Ovo flutuante com embrião de tainha (*Mugil liza*) no momento da transferência para o experimento, 24 h após a fertilização.



Fonte: Morgana Angelo

2.3.3 Delineamento experimental

Foram testadas cinco temperaturas nominais (17, 20, 23, 26 e 29 °C), em cinco tanques circulares de 100 L com aquecedores elétricos de 300 W e termostato nas temperaturas experimentais (20, 23, 26 e 29 °C). A temperatura de 17 °C foi mantida com a climatização da sala experimental por ar-condicionado. Em cada tanque foram alocados cinco béqueres de vidro de 2 L, com volume útil de 1,5 L. Cada tanque contava com uma aeração individual, para que a temperatura se mantivesse constante em todo o volume de água. Os béqueres foram mantidos em banho termostático nos tanques, com aeração individual, fotoperíodo contínuo (24 h luz), água com salinidade 35 e temperatura controlada conforme o tratamento.

Dois béqueres foram utilizados para acompanhar o desenvolvimento larval, com densidade inicial de 200 ovos L⁻¹. Após a eclosão, as larvas foram mantidas nessas unidades até ser constatada a abertura de boca. Nos demais béqueres, em triplicata, com densidade inicial de 100 ovos L⁻¹, foram verificadas as taxas de eclosão dos ovos e sobrevivência das larvas, 24 horas após a eclosão.

2.3.4 Coleta dos dados

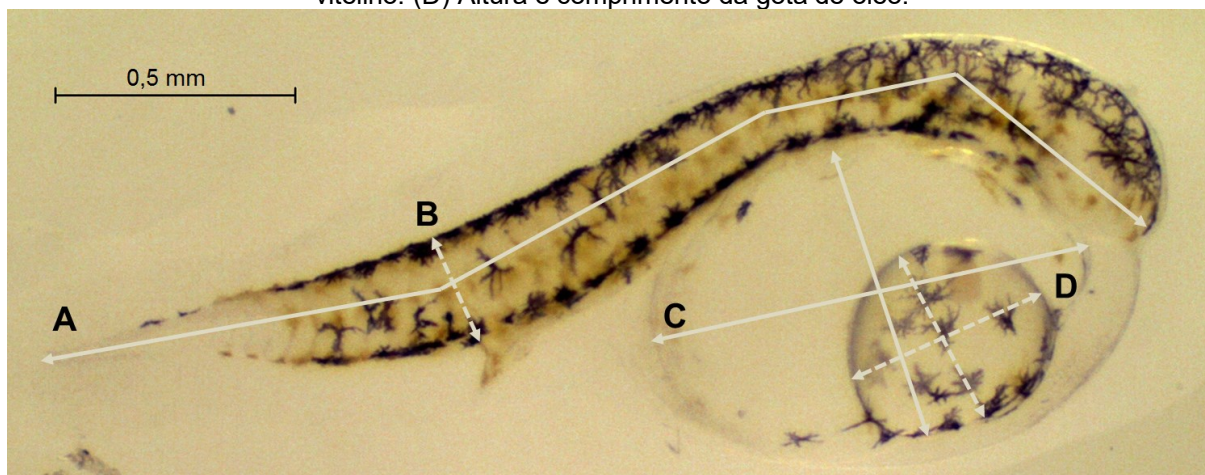
A cada hora após o povoamento foram checadas as duas unidades experimentais para a observação do horário de eclosão das larvas em cada tratamento. O horário de eclosão foi considerado quando observadas pelo menos 20 larvas nas unidades experimentais. Cinco larvas de cada unidade foram coletadas para fotografia, com o auxílio de microscópio estereoscópio com câmera acoplada (EZ4HD, Leica) e posterior medição. As amostragens se repetiram a cada 6 horas até ser constatada a abertura de boca das larvas.

Para a taxa de eclosão e sobrevivência, foram contados todos os indivíduos nas três unidades experimentais, 24 h após a eclosão das larvas. Foram contados as larvas vivas, larvas mortas e ovos mortos. Os resultados para taxa de eclosão e sobrevivência foram calculados em porcentagem onde, taxa de sobrevivência de larvas: $\% = (\text{Número de larvas vivas})/(\text{Número de larvas eclodidas}) * 100$ e taxa de eclosão: $\% = (\text{Número de larvas vivas} + \text{Número de larvas mortas})/(\text{Número de ovos incubados}) * 100$.

As medições das larvas foram realizadas com o auxílio de um aplicativo específico (LAZ EZ 2.1.0, Suíça). As seguintes medidas foram obtidas: comprimento padrão (Figura 2A), volume da gota de óleo (Figura 2B), altura do corpo da larva no poro anal (Figura 2C) e volume do saco vitelino (Figura 2D). Também foi observado, o horário de pigmentação total do olho e o tempo para abertura da boca da larva, a partir da eclosão (tempo 0). O n amostral para estes parâmetros, variou entre 5 e 30 larvas.

O volume do saco vitelino e da gota de óleo foi calculado pela fórmula $V = 4/3 * \pi l h^2$ onde: l=comprimento e h=altura) (Barón-Aguilar et al., 2015).

Figura 2. Medidas morfométricas das larvas de tainha (*Mugil liza*): (A) Comprimento total. (B) Altura do corpo no poro anal. (C) Altura e comprimento da gota de óleo. Altura e comprimento do saco vitelino. (D) Altura e comprimento da gota de óleo.



Fonte: Morgana Angelo

2.3.5 Monitoramento da qualidade de água

Foram aferidos diariamente a temperatura e o oxigênio dissolvido com um oxímetro portátil (YSI Pro 20, Yellow Springs Instruments, OH, USA), salinidade com um refratômetro manual (RTS-101ATC, Instrutherm Instrumentos de Medição Ltda., São Paulo, Brasil) e pH com pHmetro portátil (YSI EcoSense pH 10, Yellow Springs Instruments, OH, USA) (Tabela 1).

A salinidade foi mantida em 35. O oxigênio dissolvido, apesar de apresentar diferença estatística entre os tratamentos ($p < 0,05$), ficou com média de 102% de saturação e dentro dos valores ideais para o cultivo de peixes (Vinatea, 2003).

Tabela 1. Valores médios (\pm desvio padrão) dos parâmetros de qualidade da água para eclosão e desenvolvimento larval, até a abertura de boca, de tainha (*Mugil liza*) em diferentes temperaturas.

Parâmetros	Tratamentos (Temperatura nominal °C)				
	17	20	23	26	29
Temperatura medida (°C)	16,5 \pm 0,4 ^e	19,3 \pm 0,2 ^d	23,4 \pm 0,2 ^c	25,3 \pm 0,2 ^b	28,4 \pm 0,1 ^a
Oxigênio (mg L ⁻¹)	8,88 \pm 0,59 ^a	7,93 \pm 0,72 ^{ab}	7,03 \pm 1,28 ^{bc}	6,72 \pm 1,44 ^{bc}	6,12 \pm 1,78 ^c
pH	9,03 \pm 0,04	9,03 \pm 0,06	9,00 \pm 0,08	9,00 \pm 0,09	8,93 \pm 0,11

Letras sobrescritas diferentes, na mesma linha, demonstram diferença significativa identificadas com teste Anova e Duncan ($p < 0,05$).

2.3.6 Análise da razão RNA:DNA

A quantificação de RNA e DNA foi realizada em larvas, coletadas e congeladas 24 horas após a eclosão, de acordo com Kaplan et al. (2001). Foi realizado um pool das larvas, descongeladas previamente e digeridas por 2 h, em uma temperatura de 55 °C em uma solução (w:y 1:10) contendo 0,1 M NaCl, 0,2% SDS e 10 µg mL⁻¹ de um Proteinase K. Após isto, as amostras foram centrifugadas a 9.000 g durante 10 min. Um volume de 10 µL do sobrenadante diluído (1:100) foi usado para medir o DNA com um kit (Quant-iT™ PicoGreen™ ds DNA, Invitrogen, USA). Para quantificar o RNA (Quant-iT™ RiboGreen™ ds RNA, Invitrogen, USA), uma alíquota do sobrenadante que foi previamente digerido em uma solução contendo DNAase recombinante, livre de RNAase (4 unidades por DNA µg, Sigma-Aldrich, ref (4716728001), foi utilizado. A leitura foi realizada com método fluorimétrico e lido em espectrofotômetro (Spectramax Plus-384, Molecular devices, Sunnyvale, CA).

2.3.7 Análise estatística

Os dados de taxa de sobrevivência e taxa de eclosão, foram transformados para arco seno(x)^{0,5} antes da análise estatística. Foi utilizado o teste Levene para verificar a homocedasticidade e o teste Shapiro Wilk para verificar a normalidade. Os resultados de qualidade de água foram submetidos ao teste ANOVA e Duncan, e os demais resultados foram submetidos à análise de regressão polinomial quadrática $y = ax^2 + bx + c$ e identificação do ponto máximo da curva pela equação $w = -b(2 * a) - 1$. Todos os testes foram realizados considerando um nível de significância $p < 0,05$

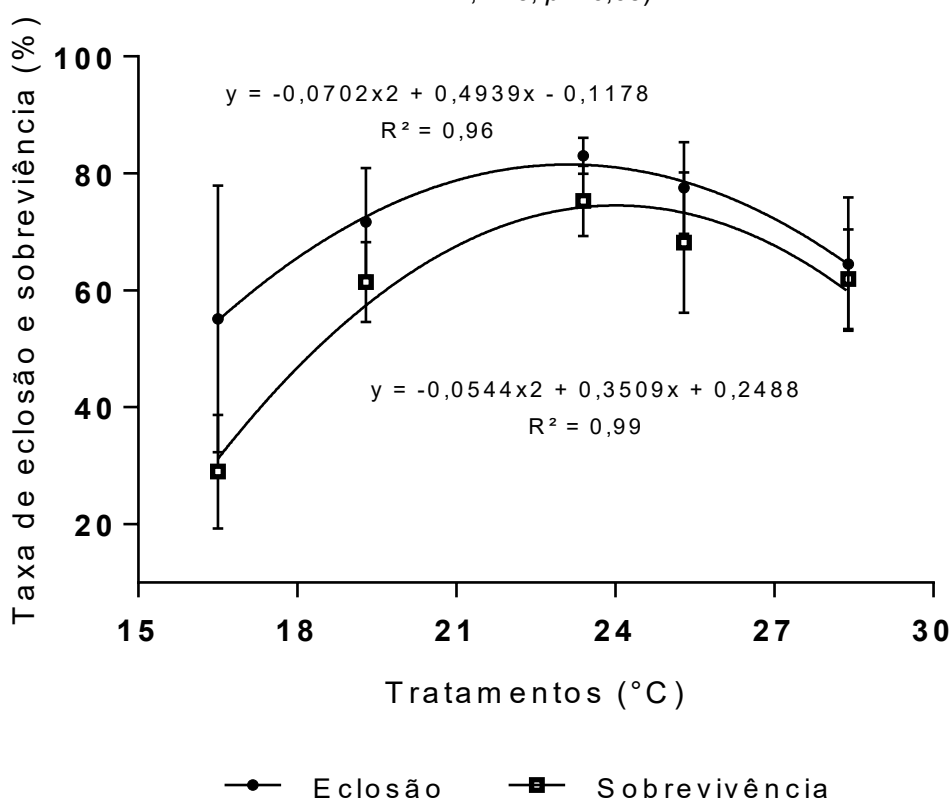
2.4 RESULTADOS

2.4.1 Taxa de eclosão e sobrevivência de larvas

Segundo o ponto máximo da curva de regressão, foi encontrado que a melhor temperatura para a eclosão dos ovos de *M. liza* foi 23,2 °C. Já para a taxa de sobrevivência, após 24 h da eclosão, de acordo com o ponto máximo, a temperatura ideal foi de 23,9 °C.

O tratamento 16,5 °C apresentou a menor taxa de eclosão e sobrevivência, com $55,1 \pm 22,8$ e $29 \pm 9,7\%$, respectivamente ($p < 0,05$). O tratamento 28,4 °C também apresentou uma baixa taxa de eclosão, $64,5 \pm 11,4\%$ ($p < 0,05$).

Figura 3. Taxa de eclosão e sobrevivência de larvas de tainha (*Mugil liza*) 24 h após a eclosão, em diferentes temperaturas. (Eclosão, $n=3$, $p < 0,05$; Sobrevivência, $n=3$, $p < 0,05$).



2.4.2 Tempo para o desenvolvimento larval

No tratamento 16,5 °C houve mortalidade total das larvas 42 h após o início da eclosão. Dessa maneira não foi possível observar pigmentação do olho, abertura de boca e absorção total do saco vitelino. O tempo de incubação deste tratamento foi de 43 h.

A temperatura influenciou diretamente os tempos para o desenvolvimento larval. Na temperatura de 28,4 °C houve pigmentação completa do olho após 36 h e total absorção do saco vitelino após 42 h (Figura 4). A abertura de boca ocorreu com 48 h (Figura 4) e tempo de incubação de 11 h 30 min, inferior aos demais tratamentos (Tabela 2). A total absorção do saco vitelino não ocorreu no tratamento 19,3 °C, que ao final do experimento, ainda continha 12 μm^3 de vitelo. Este

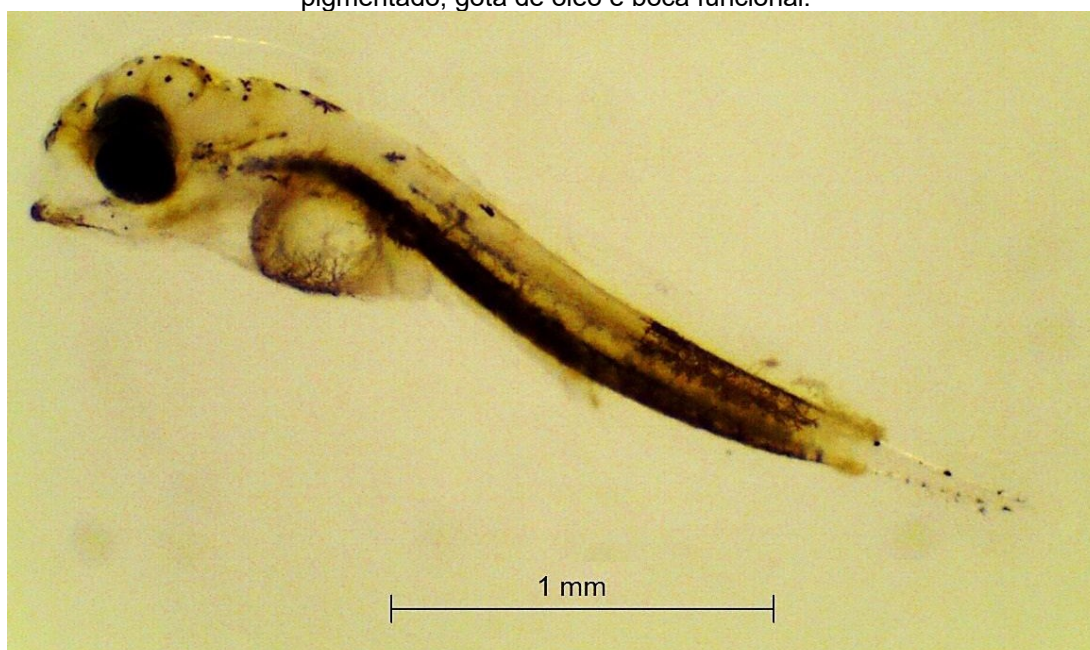
tratamento teve o tempo de desenvolvimento mais longo, com 72 h para a abertura de boca e 64 h para a pigmentação do olho.

Tabela 2. Tempo para o desenvolvimento larval, a partir da eclosão, de tainha (*Mugil liza*) em diferentes temperaturas.

Tratamentos (°C)	Incubação† (h:min)	Pigmentação do olho (h)	Abertura de boca (h)	Absorção total do saco vitelino (h)
19,3	28:00	64	72	#
23,4	18:00	48	54	48
25,3	15:00	48	54	42
28,4	11:30	36	48	42

(†) Tempo de incubação sob a influência das temperaturas. Para obter o tempo total de incubação, adicionar 24 h. (#) Saco vitelino não foi totalmente absorvido até a abertura da boca, ponto final de controle.

Figura 4. Larva de tainha (*Mugil liza*) após a absorção do saco vitelino, com olho pigmentado, gota de óleo e boca funcional.



Fonte: Morgana Angelo

2.4.3 Análise morfométrica

No momento da eclosão, as larvas do tratamento 16,5 °C obtiveram comprimento total 2,41 mm, altura do corpo no poro anal 0,21 mm, volume do saco vitelino 1804 μm^3 e volume da gota de óleo 247,0 μm^3 . Como neste tratamento todas as larvas morreram antes da abertura de boca, o mesmo foi desconsiderado nas análises seguintes.

A temperatura influenciou todas as medidas iniciais ($p < 0,05$), onde verificou-se que temperaturas mais elevadas, levaram a eclosão de larvas menores e com volume menor de reserva energética (Tabela 3). Na eclosão, em 28,4 °C a larva apresentou 2,09 mm de comprimento e 686 μm^3 de saco vitelino, o que equivale a metade da reserva das larvas mantidas em temperatura de 19,3 °C, que tiveram 1300 μm^3 de saco vitelino e 2,29 mm de comprimento.

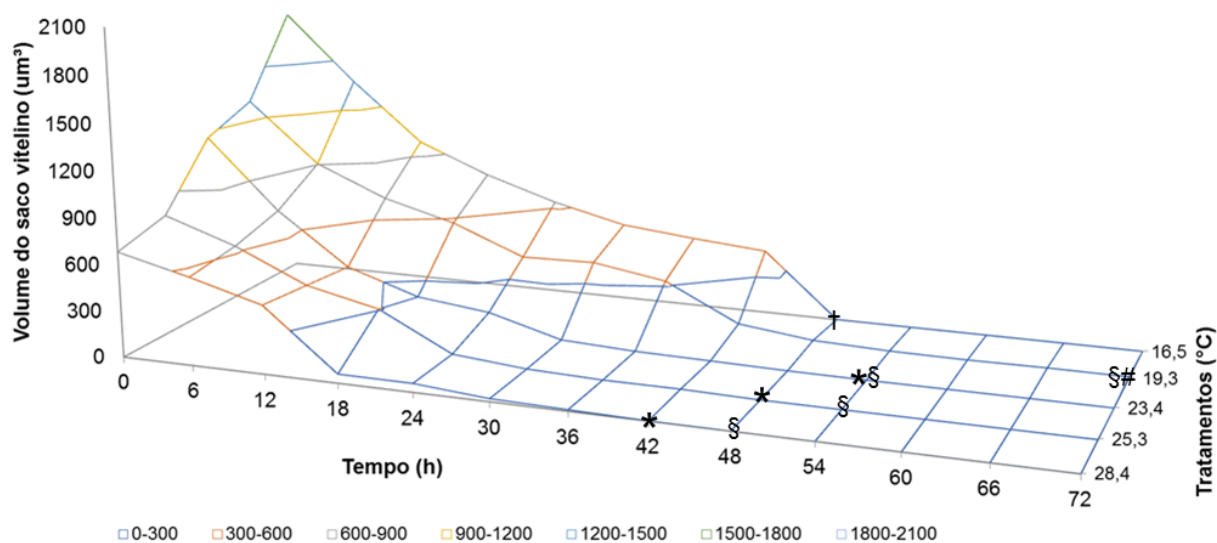
No momento de abertura de boca, o volume médio da gota de óleo dos tratamentos foi de 153 μm^3 . Já o saco vitelino foi totalmente consumido em praticamente todas as temperaturas, somente em 19,3 °C havia um resquício do mesmo. Na temperatura 23,5 °C o consumo total do saco vitelino ocorreu no mesmo momento da abertura da boca, 54 h após a eclosão e nas temperaturas 23,5 e 28,4 °C, o saco vitelino foi completamente consumido após 6 h da abertura da boca da larva (Figura 5).

Não foi observada diferença estatística entre os tratamentos para a razão RNA:DNA (Tabela 3).

Tabela 3. Valores das medidas morfométricas avaliadas (média ± desvio padrão), após a eclosão e após a abertura de boca, de larvas de tainha (*Mugil liza*) mantidas em diferentes temperaturas.

Comprimento total		
Tratamentos (°C)	Inicial (mm)	Final (mm)
19,3	2,29 ± 0,33	2,79 ± 0,11
23,4	2,35 ± 0,13	2,74 ± 0,08
25,3	2,20 ± 0,23	2,51 ± 0,10
28,4	2,09 ± 0,10	2,56 ± 0,11
Equação de regressão	$y = -0,0054x^2 + 0,2347x - 0,2124$ $R^2 = 0,90$ $p < 0,05$	$y = 0,0049x^2 - 0,1738x + 4,078$ $R^2 = 0,91$ $p < 0,05$
Altura do corpo		
Tratamentos (°C)	Inicial (mm)	Final (mm)
19,3	0,23 ± 0,06	0,27 ± 0,03
23,4	0,22 ± 0,01	0,24 ± 0,03
25,3	0,19 ± 0,02	0,25 ± 0,02
28,4	0,18 ± 0,01	0,24 ± 0,02
Equação de regressão	$y = -0,0003x^2 + 0,0098x + 0,1663$ $R^2 = 0,92$ $p < 0,05$	$y = 0,0009x^2 - 0,0406x + 0,6942$ $R^2 = 0,70$ $p > 0,05$
Saco vitelino		
Tratamentos (°C)	Inicial (um ³)	Final (um ³)
19,3	1300 ± 281	12 ± 5
23,4	1169 ± 174	0 ± 0
25,3	779 ± 416	0 ± 0
28,4	686 ± 193	0 ± 0
Equação de regressão	$y = -1,4738x^2 - 3,3244x + 1933$ $R^2 = 0,88$ $p < 0,05$	$y = 0,377x^2 - 16,865x + 186,43$ $R^2 = 0,93$ $p < 0,05$
Gota de óleo		
Tratamentos (°C)	Inicial (um ³)	Final (um ³)
19,3	238,0 ± 31,5	156,0 ± 39,7
23,4	221,0 ± 22,7	158,2 ± 67,5
25,3	173,5 ± 43,7	142,8 ± 16,6
28,4	158,4 ± 24,3	154,6 ± 29,9
Equação de regressão	$y = -0,277x^2 + 3,7413x + 271,17$ $R^2 = 0,89$ $p < 0,05$	$y = 0,4325x^2 - 17,306x + 320,43$ $R^2 = 0,49$ $p > 0,05$
Razão RNA:DNA		
		Final
		2,16 ± 0,55
		1,39 ± 0,77
		1,40 ± 0,08
		1,39 ± 0,29
		1,18 ± 0,57
Equação de regressão		$y = 0,0087x^2 - 0,4638x + 7,4345$ $R^2 = 0,82$ $p > 0,05$

Figura 5. Cinética da absorção do saco vitelino de larvas de tainha (*Mugil liza*) em diferentes temperaturas.



(*) Hora em que o saco vitelino foi totalmente consumido. (§) Hora da abertura de boca. (#) Saco vitelino não foi totalmente absorvido. (†) Larvas do tratamento não sobreviveram.

2.5 DISCUSSÃO

A mudança de temperatura no período de incubação e eclosão dos ovos afeta o tempo e as taxas de eclosão (Nash & Kuo, 1974), influenciando diretamente a sobrevivência de larvas (Imsland et al., 2019). Além disso, altera as medidas morfométricas (Fukuhara, 1990; Willians, Papanikos, Phelps, & Shardo, 2004) e o tempo em que cada etapa de desenvolvimento irá ocorrer, como a pigmentação do olho e a abertura de boca (Green-Brown, 2013; Fukuhara, 1990). Isto se dá, pois a temperatura altera as características fisiológicas dos peixes, sendo inversamente proporcional a temperatura (Crosetti, 2015; Sfakianakis, Leris, & Kentouri, et al., 2011)

Para a tainha (*M. liza*) as maiores taxas de eclosão e sobrevivência foram encontradas entre 23,2 e 23,9 °C, o que coincide com as temperaturas de desova da espécie no ambiente natural (Cerqueira et al., 2017; Lemos, 2014) e em laboratório já realizados (Alvarez-Lajonchere, Arritola, Averhoff, & Bellido, 1988; Carvalho, et al., 2019) e para *Mugil cephalus* (Kuo, Shehadeh, & Milisen, 1973; Walsh, Swanson, & Lee, 1991; Walsh, Swanson, Lee, Banno, & Eda, 1989; Yousif, Fatah, Krishna Kum, Minh, & Hung, 2010).

Para *M. liza* a temperatura baixa afetou negativamente na taxa de sobrevivência e no tempo de eclosão. Os embriões são incapazes de regular a fluidez de suas membranas celulares e de se aclimatarem a diferentes temperaturas,

sendo mais suscetíveis às mudanças térmicas (Rombough, 1997). Resultados semelhantes foram verificados em *M. cephalus*, onde foi verificado o aumento do tempo de incubação em temperatura mais baixa (Kuo et al., 1973; Walsh et al., 1991). e outras espécies de peixes marinhos (Green & Brown, 2013), assim como o menor tempo de incubação será em temperaturas mais elevadas (Kamler, 2002). Em temperaturas mais baixas, pode ocorrer a mortalidade de até 27% das larvas de *Cyclopterus lumpus* (Imsland et al., 2019) e 40% de *Mugil cephalus* (Walsh et al., 1991). Isto pode ser explicado, pois quanto maior o tempo de incubação, maior a chance da proliferação de fungos e bactérias, afetando a sobrevivência das larvas (Imsland et al., 2019).

No momento da eclosão, as larvas submetidas a temperaturas mais baixas, apresentaram um maior comprimento padrão, equivalente ao encontrado por Carvalho et al., (2019) com *M. liza*, onde sob temperatura de incubação de 20 °C, as larvas eclodiram com 2,95 mm. Em temperaturas de cultivo entre 23 e 24 °C, a larva eclode com o tamanho de aproximadamente 2,3 mm, assim como descrito para *Mugil cephalus* (Yousif et al., 2010). A tendência da redução de tamanho das larvas quando os ovos são incubados em temperaturas elevadas pode ser verificada por Rombough (1997), que obteve larvas com comprimento de 2,09 mm quando eclodidas a 28,4 °C.

O tempo de pigmentação total dos olhos, observado próximo no momento de abertura de boca da larva, também foi relatado para *M. cephalus* (El-Gharabawy & Assem, 2006). Esta etapa do desenvolvimento, antes da abertura da boca, permite que a larva identifique o alimento, quando a alimentação exógena se inicia (El-Gharabawy & Assem, 2006) e o sistema digestório é funcional (Kvenseth, Pittman, & Helvik, 1996).

Existe uma relação direta da temperatura na taxa de absorção e no tamanho do saco vitelino. Em temperaturas mais elevadas existe a tendência de eclodirem larvas com um menor volume de reserva energética, o que influencia na dinâmica do consumo desta reserva (Fukuhara, 1990). No momento de abertura de boca, a quantidade remanescente de vitelo é maior em temperaturas mais baixas (Houde, 1974). Para *M. cephalus* e outras espécies marinhas o consumo total do saco vitelino foi observado no momento de abertura de boca da larva (El-Gharabawy & Assem, 2006; Fotedar, 2017; Fukuhara, 1990; Kuo et al., 1973). Para *M. liza* foi verificado que somente no tratamento 20,5 °C as larvas possuíam um volume

reduzido de vitelo no momento de abertura da boca, podendo ser uma característica vantajosa para a sobrevivência das larvas, em situações de baixa disponibilidade de alimento (Fukuhara, 1990).

Em relação à gota de óleo, é observado que no momento de abertura de boca, a larva ainda possui reserva, que pode permanecer por até 10 dias após a eclosão (Carvalho et al., 2019; Nash, Kuo & McConnel, 1974). Essa reserva endógena mais duradoura é muito importante, pois durante os primeiros dias de desenvolvimento, as larvas possuem baixa mobilidade, sendo a captura de alimento durante esta fase, mais difícil (Nash, Kuo, & McConnel, 1974).

A razão RNA:DNA é influenciada pela temperatura, e pode ser relacionada ao risco de mortalidade e o estresse metabólico da larva (Buckley et al., 2008; Foley, 2016). Uma diferença de 2 °C é necessária para ocorrer a modificação neste parâmetro (Buckley et al., 1999). A razão RNA:DNA é explicada pelos processos metabólicos, que tendem a diminuir em águas mais frias (Foley, 2016), sendo a redução da atividade do RNA parte de um sistema compensatório da larva (Goolish, Barron, & Adelman, 1984). Para as larvas de tainha, após a eclosão, não foi encontrada diferenças significativas entre os tratamentos para a razão RNA:DNA.

2.6 CONCLUSÃO

A temperatura de incubação afetou a eclosão, sobrevivência, medidas morfométricas, e o tempo para o desenvolvimento morfológico das larvas de tainha (*M. liza*). Foi encontrado que o intervalo entre 23,2 e 23,9 °C resulta em melhores taxas de eclosão e sobrevivência de larvas e em 16,5 °C resultou na menor taxa de sobrevivência e eclosão. O tempo para o desenvolvimento larval também foi alterado conforme a temperatura, sendo as mais altas responsáveis pelo desenvolvimento mais acelerado. A pigmentação do olho variou entre 36 e 64 h, a abertura de boca entre 48 e 72 h e a absorção total do saco vitelino entre 42 e 48 h. Para a razão RNA:DNA, como não houve diferença estatística entre os tratamentos, deve ser mais estudada para definir se, nesta etapa de desenvolvimento, pode ser utilizada como um método para avaliar o crescimento de larvas.

2.7 AGRADECIMENTOS

Agradeço a toda equipe do LAPMAR – UFSC, ao CNPq (Universal CNPq 422460/2016-8; Universal CNPq 430770/2018-9) e CAPES (Ciências do Mar 2, CAPES nº 43/2013 AUXPE nº 1969/2014) pelo apoio aos projetos de pesquisa e à CAPES pela bolsa de Mestrado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarez-Lajonchere, L., Arritola, J. B., Averhoff, O. L., & Bellido, S. D. (1988). Positive results of induced spawning and larval rearing experiments with *Mugil liza* Val., a grey mullet from Cuban waters. *Aquaculture*, 73(1-4), 349-355.
- Barón-Aguilar, C. C., Rhody, N. R., Brennan, N. P., Main, K. L., Peebles, E. B., & Muller-Karger, F. E. (2015). Influence of temperature on yolk resorption in common snook *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) larvae. *Aquaculture Research*, 46(7), 1679-1687. <https://doi.org/10.1111/are.12323>.
- Buckley, L. J., Caldarone, E. M., & Clemmesen, C. (2008). Multi-species larval fish growth model based on temperature and fluorometrically derived RNA/DNA ratios: results from a meta-analysis. *Marine Ecology Progress Series*, 371, 221-232. <https://doi.org/10.3354/meps07648>
- Buckley, L., Caldarone, E., & Ong, T. L. (1999). RNA–DNA ratio and other nucleic acid-based indicators for growth and condition of marine fishes. *Hydrobiologia*, 401, 265-277.
- Carvalho, C. V. A., Passini, G., Sterzelecki, F. C., Baloi, M. F., & Cerqueira, V. R. (2019). Maturation, spawning and larviculture of the mullet *Mugil liza* under laboratory conditions. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 43(1), 31-36.
- Carvalho, C. V. A.; Passini, G.; Costa, S. W., Silva, F. M., Andreatta, E. R., Cerqueira, V. R. (2014) Produção de juvenis de tainha *Mugil liza* no estado de santa catarina. In: *FENACAM*, Brasil.
- Cerqueira, V. R. (2004) Cultivo de peixes marinhos. In: Poli, C.R. et al. *Aquicultura: Experiências brasileiras*. Florianópolis: Multitarefa. pp. 369-406.
- Cerqueira, V. R., Carvalho, C. V. C., Sanches, E. G., Passini, G., Baloi, M., E Rodrigues, R. V. (2017). Manejo de reprodutores e controle da reprodução de peixes marinhos da costa brasileira. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 41, 94-102.
- Crosetti, D., & Blaber, S. J. (Eds.). (2015). Biology, ecology and culture of grey mullets (Mugilidae). *CRC Press*.
- El-Gharabawy, M., & Assem, S. (2006). Spawning induction in the Mediterranean grey mullet *Mugil cephalus* and larval developmental stages. *African Journal of Biotechnology*, 5(19), 1836-1845.

- Foley, C. J., Bradley, D. L., & Höök, T. O. (2016). A review and assessment of the potential use of RNA: DNA ratios to assess the condition of entrained fish larvae. *Ecological indicators*, 60, 346-357.
- Fotedar, R. (2017). Yolk utilization and growth during the early larval life of the Silver Perch, *Bidyanus bidyanus* (Mitchell, 1838). *International Aquatic Research*, 9(2), 107-116. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.07.005>
- Fukuhara, O. (1990). Effects of temperature on yolk utilization, initial growth, and behaviour of unfed marine fish-larvae. *Marine Biology*, 106(2), 169-174.
- Goolish, E. M., Barron, M. G., & Adelman, I. R. (1984). Thermoacclimatory response of nucleic acid and protein content of carp muscle tissue: influence of growth rate and relationship to glycine uptake by scales. *Canadian Journal of Zoology*, 62(11), 2164-2170.
- Green, C. C.; Brown, C. A. (2013). Roles of Temperature and Salinity on early development and larval rearing. *Larval fish aquaculture* Nova publishers. p. 1-24.
- Houde, E. D. (1974). Effects of temperature and delayed feeding on growth and survival of larvae of three species of subtropical marine fishes. *Marine Biology*, 26(3), 271-285.
- IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. (2007) *Relatório de reunião Técnica para ordenamento da pesca da tainha (Mugil platanus, M. liza)* na região Sudeste/Sul do Brasil. Itajaí, SC, 85p.
- Imsland, A. K. D., Danielsen, M., Jonassen, T. M., Hangstad, T. A., & Falk-Petersen, I. B. (2019). Effect of incubation temperature on eggs and larvae of lumpfish (*Cyclopterus lumpus*). *Aquaculture*, 498, 217-222. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.08.061>
- Jian, C. Y., Cheng, S. Y., & Chen, J. C. (2003). Temperature and salinity tolerances of yellowfin sea bream, *Acanthopagrus latus*, at different salinity and temperature levels. *Aquaculture Research*, 34(2), 175-185. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2003.00800.x>
- Kamler, E. (2002). Ontogeny of yolk-feeding fish: an ecological perspective. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 12(1), 79-103.
- Kamler, E. (2008). Resource allocation in yolk-feeding fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 18(2), 143.
- Kaplan, L. A., Leamon, J., & Crivello, J. F. (2001). The development of a rapid and sensitive, high-through-put protocol for RNA: DNA ratio analysis. *Journal of Aquatic Animal Health*, 13(3), 276-279. [https://doi.org/10.1577/1548-8667\(2001\)013<0276:TDOARA>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8667(2001)013<0276:TDOARA>2.0.CO;2)
- Kuo, C. M., Shehadeh, Z. H., & Milken, K. K. (1973). A preliminary report on the development, growth and survival of laboratory reared larvae of the grey mullet, *Mugil cephalus* L. *Journal of Fish Biology*, 5(4), 459-470..

- Kvenseth, A. M., Pittman, K., & Helvik, J. V. (1996). Eye development in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): differentiation and development of the retina from early yolk sac stages through metamorphosis. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53(11), 2524-2532.
- Lemos, V. M., Varela, A. S., Schwingel, P. R., Muelbert, J. H., & Vieira, J. P. (2014). Migration and reproductive biology of *Mugil liza* (Teleostei: Mugilidae) in south Brazil. *Journal of Fish Biology*, 85(3), 671-687. <https://doi.org/10.1111/jfb.12452>
- MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA (MPA); MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA) (2015). Plano de gestão para o uso sustentável da tainha, *Mugil liza* Valenciennes, 1836, no sudeste e sul do Brasil. (eds MPA; MMA), Brasília pp. 238.
- Nash, C. E., Kuo, C. M., & McConnel, S. C. (1974). Operational procedures for rearing larvae of the grey mullet (*Mugil cephalus* L.). *Aquaculture*, 3(1), 15-24.
- Neelmani, R. C., Pal, M., Sarman, V., Vyas, U. D., & Muniya, T. N. (2019). Impacts of climate change on marine biodiversity. *Journal os Entomology ans Zoology Studies*.
- Perez-Dominguez, R., & Dahm, R. (2011). Methods for assessing embryonic and larval growth in fish. *Larval fish nutrition*, 373-402.
- Rombough, P. J. (1997). The effects of temperature on embryonic and larval development. In Seminar Series-Society For Experimental Biology (Vol. 61, pp. 177-224). *Cambridge University Press*.
- Sfakianakis, D. G., Leris, I., & Kentouri, M. (2011). Effect of developmental temperature on swimming performance of zebrafish (*Danio rerio*) juveniles. *Environmental Biology of Fishes*, 90(4), 421-427.
- Vinatea, L. (2003). Princípios químicos da qualidade da água. Princípios químicos da qualidade da água em aqüicultura. 2a Ed. *Editora da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)*. Florianópolis.
- Walsh, W. A., Swanson, C., & Lee, C. S. (1991). Combined effects of temperature and salinity on embryonic development and hatching of striped mullet, *Mugil cephalus*. *Aquaculture*, 97(2-3), 281-289.
- Walsh, W. A., Swanson, C., Lee, C. S., Banno, J. E., & Eda, H. (1989). Oxygen consumption by eggs and larvae of striped mullet, *Mugil cephalus*, in relation to development, salinity and temperature. *Journal of Fish Biology*, 35(3), 347-358.
- Williams, K., Papanikos, N., Phelps, R. P., & Shardo, J. D. (2004). Development, growth, and yolk utilization of hatchery-reared red snapper *Lutjanus campechanus* larvae. *Marine Ecology Progress Series*, 275, 231-239. doi:10.3354/meps275231
- Yousif, O. M., Fatah, A. A., Krishna Kumar, K., Minh, D. V., & Hung, B. V. (2010). Induced spawning and larviculture of grey mullet, *Mugil cephalus* (Linnaeus 1758) in the Emirate of Abu Dhabi. *Aquaculture Asia*, 15(1), 41-43.

3 ARTIGO CIENTÍFICO 2

3.1 ECLOSÃO E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE LARVAS DE SARDINHA-VERDADEIRA (*Sardinella brasiliensis*) EM DIFERENTES TEMPERATURAS.

Morgana Angelo*; Maurício Koch Lisboa; Caio Magnotti; Mariana Rangel Pilotto; Vinicius Ronzani Cerqueira.

Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR), Departamento de Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias (CCA), Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brasil.

*morganaangelo@hotmail.com (autor para correspondência)

RESUMO

A temperatura altera o tempo dos eventos ontogenéticos e deve ser mantida dentro de uma faixa ótima para a espécie. O objetivo deste trabalho foi determinar uma faixa de temperatura para a incubação de ovos, sobrevivência e desenvolvimento inicial das larvas de sardinha-verdadeira *Sardinella brasiliensis*. Os ovos foram obtidos por desova espontânea e incubados em béqueres de 2 L, após o fechamento do blastóporo (~12 h após a desova a 27 °C), nas temperaturas 17, 20, 23, 26, 29 e 32 °C. Foram avaliadas as taxas de eclosão e de sobrevivência de larvas (100 ovos L⁻¹) e a razão RNA:DNA após 24 h da eclosão e o desenvolvimento larval (200 ovos L⁻¹) até a abertura da boca. Foi encontrado que a melhor temperatura para a eclosão dos ovos é 28 °C, e para a sobrevivência após 24 h é 24,7 °C e houve mortalidade de 100% em 18,4 °C. A razão RNA:DNA não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. Os tempos para o desenvolvimento larval variaram com a temperatura. A abertura da boca variou entre 24 e 51 h e a pigmentação do olho entre 21 e 45 h.

Palavras-chave: RNA:DNA, incubação, larvicultura, clupeidae.

3.2 INTRODUÇÃO

A sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*, Steindachner 1879), pertence à Família Clupeidae e está isolada dos demais grupos do gênero *Sardinella* no Oceano Atlântico (Cergole & Dias-Neto, 2011). No Brasil, esta espécie pode ser encontrada entre os Estados do Rio de Janeiro e Santa Catarina e geralmente entre

30 e 100 m de profundidade (Cergole, 1995; Cergole & Dias-Neto, 2011; Jablonski, 2007). As desovas são parceladas e cada fêmea libera diversos lotes de ovócitos maduros durante uma única estação e ocorrem no oceano em temperaturas entre 22 e 28 °C e salinidade 35 (Gigliotti et al., 2009; Matsuura, 1983, 1998). A eclosão dos ovos ocorre 19 horas após a fecundação, a 24 °C (Matsuura, 1998).

A temperatura, um dos fatores ambientais mais importantes durante o desenvolvimento larval de peixes marinhos e deve ser mantida dentro de uma faixa ótima para a espécie, uma vez que altera o tempo dos eventos ontogenéticos como flexão da notocorda, taxas metabólicas e transição para a alimentação exógena (Green & Brown, 2013). O efeito da temperatura durante a ontogenia é determinado pelas reações enzimáticas, que irão influenciar diretamente no desenvolvimento do embrião e da larva (Blaxter, 1969). Segundo Barón-Aguilar et al. (2015), no caso do robalo-flecha (*Centropomus undecimalis*) os parâmetros de morfologia que mais possuem relação com a temperatura são: comprimento padrão, volume do saco vitelino e volume da gota de óleo. A razão RNA:DNA também é proposta como um método para avaliar o crescimento de peixes jovens e uma ferramenta para avaliar as condições de uma larvicultura (Saleh, Mustafa, & Al-Azad, 2019; Weber, Higgins, Carlson, & Jans, 2003).

As pesquisas sobre a ontogenia de larvas de peixes brasileiros são escassas, porém, de extrema importância para o conhecimento da vida inicial e larvicultura das espécies (Godinho, Santos, & Sato, 2003). Neste contexto, o objetivo deste trabalho, foi determinar uma faixa de temperatura para a incubação de ovos, sobrevivência e descrever a influência desse parâmetro no desenvolvimento inicial das larvas de sardinha-verdadeira *Sardinella brasiliensis*.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1 Local

O experimento foi realizado no Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR) da Universidade Federal de Santa Catarina – Brasil, no mês de janeiro de 2019. Todos os procedimentos foram previamente aprovados e autorizados pelo Comitê de Ética e Uso de Animais (CEUA) pelo projeto n° 9027020718.

3.3.2 Origem dos ovos

Os ovos de sardinha foram provenientes de uma desova espontânea em laboratório, de um lote de reprodutores de segunda geração (F1). Os reprodutores foram mantidos em tanques circulares de 8000 L, com biomassa máxima de 1 kg m^3 e fluxo de água contínuo. Fotoperíodo (27° S) e temperatura da água variaram com o ambiente ($17 - 30^\circ \text{ C}$), a alimentação foi realizada com dieta comercial, tamanho de 0,8-1,0 mm (45% proteína bruta, 4500 cal/kg, 13% umidade, 9% lipídio e 3,6% fibra), três vezes ao dia, até saciedade aparente.

A desova ocorreu no tanque de manutenção dos reprodutores e a coleta dos ovos flutuantes foi realizada automaticamente por uma coletora de ovos cilindro cônica, localizada ao lado do tanque, de 35 L, malha de $500 \mu\text{m}$ e fluxo de água contínuo. A desova ocorreu em temperatura de 27° C e salinidade 35.

A retirada dos ovos da incubadora foi realizada após 12 h da desova, na fase de fechamento do blastóporo, quando os ovos estão mais resistentes ao manejo. Com um béquer de 2 L, os ovos foram coletados da incubadora e transferidos para o experimento, na mesma temperatura de desova (27° C) seguida da aclimação por banho termostático do béquer, no tanque com a temperatura experimental. A aclimação teve duração de 1 h, tempo em que a água do béquer atingiu a temperatura experimental desejada. A contagem dos ovos foi realizada a olho nu com o auxílio de uma pipeta de 10 mL.

3.3.3 Delineamento experimental

Foram testadas seis temperaturas nominais ($17, 20, 23, 26, 29$ e 32° C), em seis tanques circulares de 100 L com aquecedores elétricos de 300 W e termostato nas temperaturas experimentais ($20, 23, 26, 29$ e 32° C), a temperatura de 17° C foi mantida com a climatização da sala experimental por ar-condicionado. Em cada tanque foram alocados cinco béqueres de vidro de 2 L, com volume útil de 1,5 L. Cada tanque contava com uma aeração individual, para que a temperatura se mantivesse constante em todo o volume de água. Os béqueres foram mantidos nos tanques, com aeração individual, fotoperíodo contínuo (24 h luz), água com salinidade 35 e temperatura controlada conforme o tratamento.

Dois béqueres foram utilizados para acompanhar o desenvolvimento larval, com densidade inicial de 200 ovos L⁻¹. Após a eclosão, as larvas foram mantidas nessas unidades até ser constatada a abertura de boca. Nos demais béqueres, em triplicata, com densidade inicial de 100 ovos L⁻¹, foram verificadas as taxas de eclosão dos ovos e de sobrevivência das larvas, 24 h após a eclosão. Foram contados todas as larvas vivas, larvas mortas e ovos mortos, em cada unidade experimental.

3.3.4 Coleta dos dados

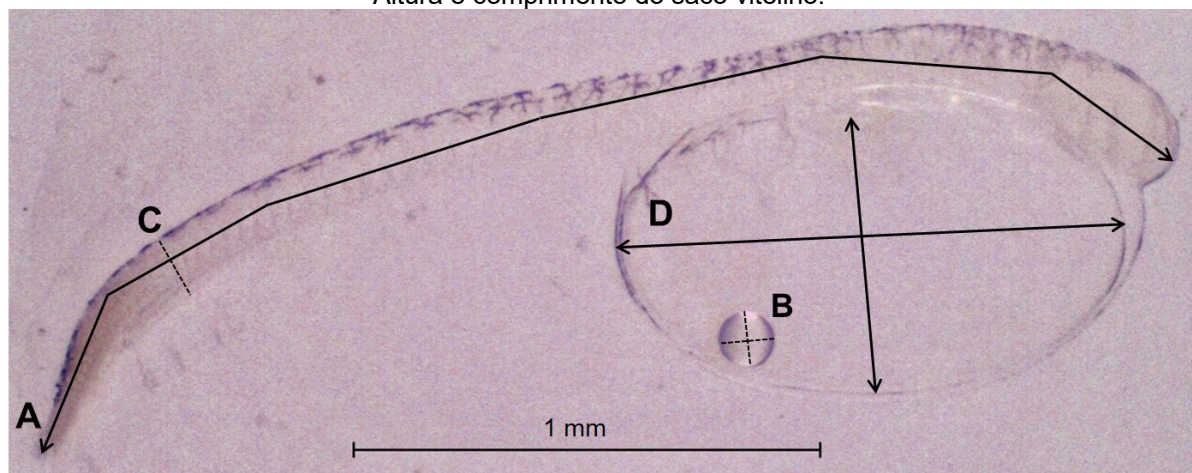
A cada hora após o povoamento foram checadas as duas unidades experimentais para a observação do horário de eclosão das larvas em cada tratamento. O horário de eclosão foi considerado quando observadas pelo menos 20 larvas nas unidades experimentais. Cinco larvas de cada unidade foram coletadas para fotografia, com o auxílio de microscópio estereoscópio com câmera acoplada (EZ4HD, Leica) e posterior medição. As amostragens se repetiram a cada 6 horas até ser constatada a abertura de boca das larvas.

Os resultados para taxa de eclosão e sobrevivência foram calculados em porcentagem onde, taxa de sobrevivência de larvas: $\% = (\text{Número de larvas vivas}) / (\text{Número de larvas eclodidas}) * 100$ e taxa de eclosão: $\% = (\text{Número de larvas vivas} + \text{Número de larvas mortas}) / (\text{Número de ovos incubados}) * 100$.

As medições das larvas foram realizadas com o auxílio de um aplicativo específico (LAZ EZ 2.1.0, Suíça). As seguintes medidas foram obtidas: comprimento total (Figura 6A), volume da gota de óleo (Figura 6B), altura do corpo da larva no poro anal (Figura 6C) e volume do saco vitelino (Figura 6D). Também foi observado, o horário de pigmentação total do olho e o tempo para abertura da boca da larva, a partir da eclosão (tempo 0). O número amostral para estes parâmetros, variou entre 5 e 20 larvas.

O volume do saco vitelino e da gota de óleo foi calculado pela fórmula $V = 4/3 * \pi l h^2$ (onde: l=comprimento e h=altura) (Barón-Aguilar et al., 2015).

Figura 6. Medidas morfométricas das larvas de sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*): (A) Comprimento total. (B) Altura e comprimento da gota de óleo. (C) Altura do corpo no poro anal. (D) Altura e comprimento do saco vitelino.



Fonte: Morgana Angelo

3.3.5 Monitoramento da qualidade da água

Foram aferidos diariamente a temperatura e o oxigênio dissolvido com um oxímetro portátil (YSI Pro 20, Yellow Springs Instruments, OH, USA), salinidade com um refratômetro manual (RTS-101ATC, Instrutherm Instrumentos de Medição Ltda., São Paulo, Brasil) e pH com pHmetro portátil (YSI EcoSense pH 10, Yellow Springs Instruments, OH, USA) (Tabela 4).

A salinidade foi mantida em 35. O oxigênio dissolvido, apesar de apresentar diferença estatística entre os tratamentos, ficou com média de 114% de saturação ($p < 0,05$) e dentro dos valores ideais para o cultivo de peixes (Vinatea, 2003).

Tabela 4. Valores médios (\pm desvio padrão) dos parâmetros de qualidade da água para eclosão e desenvolvimento larval, até a abertura de boca, de sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) em diferentes temperaturas.

Parâmetros	Tratamentos (Temperatura nominal °C)					
	17	20	23	26	29	32
Temperatura medida (°C)	18,4 \pm 0,1 ^f	19,4 \pm 0,4 ^e	22,9 \pm 0,4 ^d	25,7 \pm 0,1 ^c	28,5 \pm 0,14 ^b	30,3 \pm 0,4 ^a
Oxigênio (mg L ⁻¹)	7,6 \pm 0,28 ^a	6,8 \pm 1,41 ^{ab}	5,55 \pm 0,21 ^{bc}	5,9 \pm 0,14 ^{bc}	5,7 \pm 0,0 ^{bc}	4,9 \pm 0,28 ^c
pH	8,95	8,6	8,71	8,7	8,69	8,54

Letras sobrescritas diferentes, na mesma linha, demonstram diferença significativa identificadas com teste Anova e Duncan ($p < 0,05$)

3.3.6 Análise da razão RNA:DNA

A quantificação de RNA e DNA foi realizada em larvas, coletadas e congeladas 24 horas após a eclosão, de acordo com Kaplan et al. (2001). As larvas foram congeladas após a contagem. Foi realizado um pool das larvas, descongeladas previamente e digeridas por 2 h, em uma temperatura de 55 °C em uma solução (w:y 1:10) contendo 0,1 M NaCl, 0,2% SDS e 10 µg mL⁻¹ de um Proteinase K. Após isto, as amostras foram centrifugadas a 9.000 g durante 10 min. Um volume de 10 µL do sobrenadante diluído (1:100) foi usado para medir o DNA com um kit (Quant-iT™ PicoGreen™ ds DNA, Invitrogen, USA). Para quantificar o RNA (Quant-iT™ RiboGreen™ ds RNA, Invitrogen, USA), uma alíquota do sobrenadante que foi previamente digerido em uma solução contendo DNAase recombinante, livre de RNAase (4 unidades por DNA µg, Sigma-Aldrich, ref (4716728001), foi utilizado. A leitura foi realizada por método fluorimétrico e lido em espectrofotômetro (Spectramax Plus-384, Molecular devices, Sunnyvale, CA).

3.3.7 Análise estatística

Os dados de taxa de sobrevivência e taxa de eclosão, foram demonstrados em porcentagem, entretanto transformados para $\arcseno(x)^{0,5}$ antes da análise estatística. Foi utilizado o teste Levene para verificar a homocedasticidade e o teste Shapiro Wilk para verificar a normalidade dos dados obtidos. Os resultados de qualidade de água foram submetidos ao teste ANOVA e Duncan, e os demais resultados foram submetidos à análise de regressão polinomial quadrática $y = ax^2 + bx + c$ e a identificação do ponto máximo da curva pela equação $w = -b(2 * a) - 1$. Todos os testes foram realizados considerando um nível de significância $p < 0,05$.

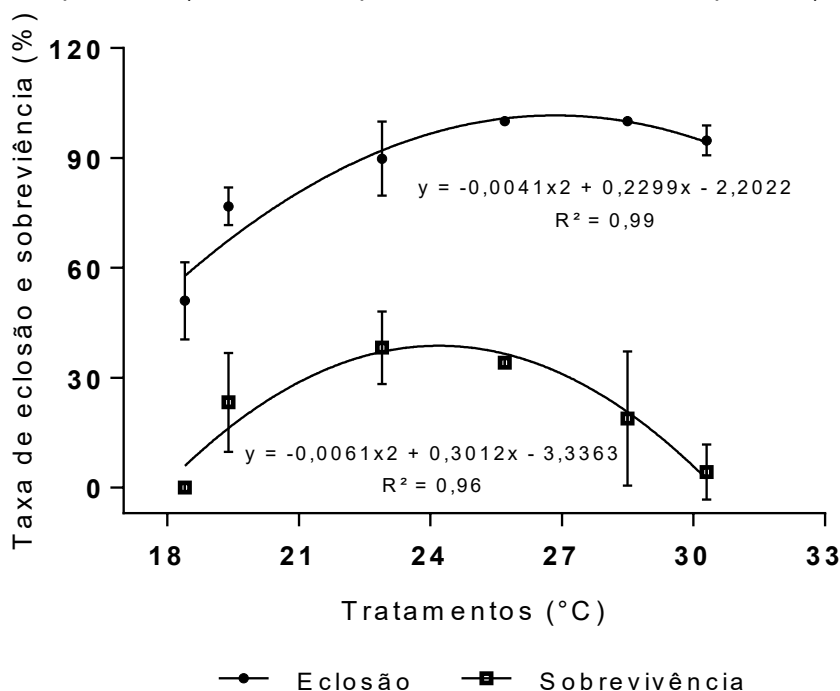
3.4 RESULTADOS

3.4.1 Taxa de eclosão e sobrevivência de larvas

Segundo o ponto de máximo da curva de regressão, a taxa de eclosão mais alta corresponde a temperatura de 28 °C. A taxa de eclosão mais baixa foi de $51 \pm 10,5\%$ ($p < 0,05$) no tratamento com a temperatura mais baixa, de 18,4 °C (Figura 6).

Para a sobrevivência de larvas após 24h da eclosão, segundo a regressão, foi encontrado que a temperatura melhor temperatura foi 24,7 °C. Os tratamentos com temperatura 18,4 e 30,3 °C apresentaram baixas taxas de sobrevivência de 0 ± 0 e $4,3 \pm 7,5\%$ ($p < 0,05$), respectivamente (Figura 6).

Figura 7. Taxa de eclosão e sobrevivência de larvas de sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) após 24 h da eclosão, em diferentes temperaturas (Eclosão, $n=3$, $p < 0,05$; Sobrevivência, $n=3$, $p < 0,05$).



3.4.2 Tempo para o desenvolvimento larval

No tratamento 18,4 °C houve mortalidade total das larvas após 24h do início da eclosão, não atingindo a fase de pigmentação do olho e abertura de boca. O tempo de incubação deste tratamento foi de 48 h, após a transferência para o experimento.

A temperatura influenciou diretamente o tempo de desenvolvimento de cada parâmetro observado, para os tratamentos 22,9, 25,7 e 28,5 °C, o tempo para a pigmentação total do olho foi de 24 h e para a abertura de boca foi de 30h, sendo o tempo de incubação o diferencial entre estes tratamentos (Tabela 5). As larvas da temperatura 19,4 °C tiveram o desenvolvimento mais lento entre os tratamentos, levando 51 h para a abertura de boca e 45 h para a pigmentação do olho (Figura 7). O tempo de incubação, neste tratamento, foi o mais alto, levando 25 h para a eclosão das larvas, após a transferência para o experimento. Na temperatura 30,3

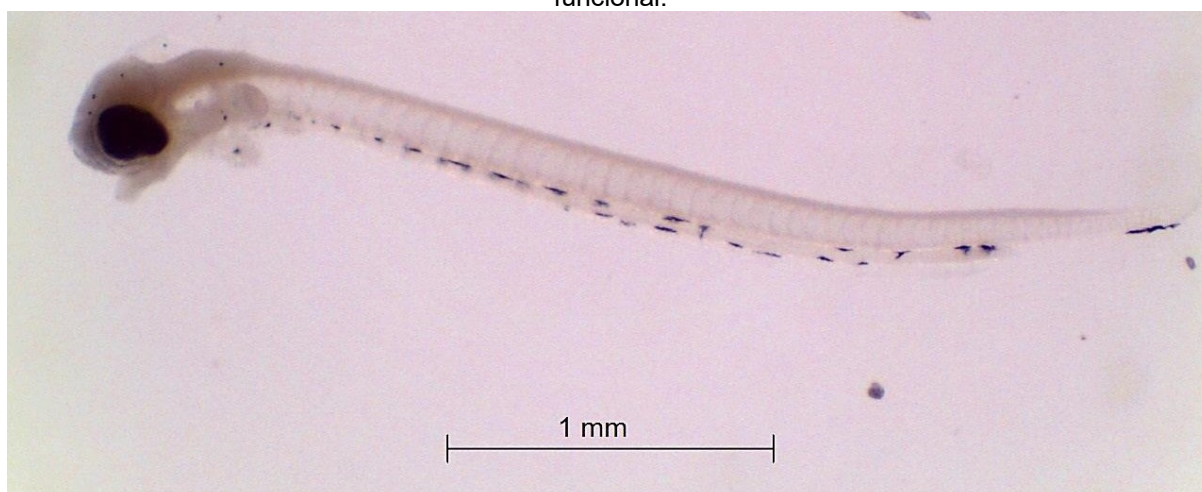
°C a abertura de boca ocorreu 24 h após a transferência e o tempo de incubação de 8 h.

Tabela 5. Tempo para o desenvolvimento larval, a partir da eclosão, de sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*).

Tratamentos (°C)	Incubação [†] (h)	Pigmentação do olho (h)	Abertura de boca (h)
19,4	25	45	51
22,9	19	24	30
25,7	12	24	30
28,5	10	24	30
30,3	8	21	24

(†) Tempo de incubação sob a influência das temperaturas. Para obter o tempo total de incubação, adicionar 12h.

Figura 8. Larva de sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) com o olho pigmentado e a boca funcional.



Fonte: Morgana Angelo – Acervo LAPMAR

3.4.3 Análise morfométrica

No momento da eclosão, as larvas do tratamento 18,4 °C tiveram comprimento total de $3,3 \pm 0,3$ mm, volume do saco vitelino de $1221 \pm 316 \mu\text{m}^3$, volume da gota de óleo de $10,1 \pm 3,4 \mu\text{m}^3$ e não foi possível obter a medida da altura no poro anal da larva. Ocorreu mortalidade total após 24 h de experimento, antes da abertura de boca das larvas, e desta maneira este tratamento foi desconsiderado para as análises estatísticas subsequentes.

Para as medidas de comprimento total, altura do corpo no poro anal e volume da gota de óleo, não foram encontrados diferenças entre os tratamentos ($p > 0,05$), no momento da eclosão e de abertura de boca.

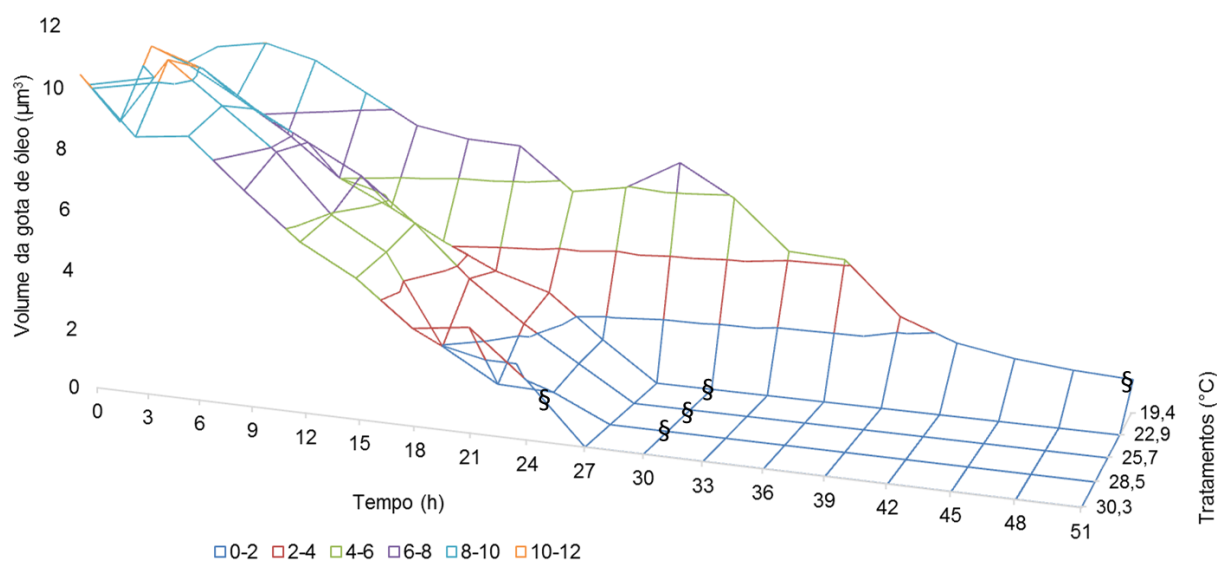
O volume do saco vitelino foi afetado pela temperatura, sendo as temperaturas mais altas, responsáveis pela eclosão de larvas com um maior volume de reserva energética. No tratamento 30,3 e 19,4 °C, o volume do saco vitelino no momento da eclosão era 3287 ± 513 e $2634 \pm 296 \mu\text{m}^3$, respectivamente. Já para o momento de abertura de boca, as larvas que foram mantidas em temperaturas mais baixas, possuíam um volume maior de reserva. Na hora da abertura da boca, a larva do tratamento 30,3 °C tinha $15 \pm 4 \mu\text{m}^3$ de vitelo disponível, volume inferior aos tratamentos 19,4 e 22,9 °C que tinham 146 ± 115 e $203 \pm 92 \mu\text{m}^3$ de reserva disponível, respectivamente.

O consumo total da gota de óleo não foi observado ao fim do experimento, quando foi constatada a abertura de boca, porém a dinâmica do consumo foi diferente entre os tratamentos, principalmente em temperatura mais baixa (Figura 9). Não foi observada diferença estatística entre os tratamentos para a razão RNA:DNA (Tabela 6).

Tabela 6. Valores das medidas morfométricas avaliadas (média \pm desvio padrão), após a eclosão e após a abertura de boca, de larvas de sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) mantidas em diferentes temperaturas.

Comprimento total		
Tratamentos (°C)	Inicial (mm)	Final (mm)
19,4	2,7 \pm 0,1	3,5 \pm 0,2
22,9	2,8 \pm 0,2	3,6 \pm 0,4
25,7	2,7 \pm 0,5	3,5 \pm 0,5
28,5	2,8 \pm 0,1	3,8 \pm 0,3
30,3	2,5 \pm 0,2	3,5 \pm 0,2
Equação de	$y = -0,0056x^2 + 0,267x - 0,3323,$ $p > 0,05$	$y = -0,0067x^2 + 0,3168x -$ $p > 0,05$
Altura do corpo		
Tratamentos (°C)	Inicial (mm)	Final (mm)
19,4	0,13 \pm 0,02	0,12 \pm 0,0
22,9	0,15 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01
25,7	0,14 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01
28,5	0,14 \pm 0,02	0,13 \pm 0,01
30,3	0,15 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01
Equação de	$y = 0,0003x^2 - 0,014x + 0,3115,$ $p > 0,05$	$y = -0,0005x^2 + 0,0199x -$ $p > 0,05$
Saco vitelino		
Tratamentos (°C)	Inicial (um ³)	Final (um ³)
19,4	2634 \pm 296	146 \pm 115
22,9	1179 \pm 603	203 \pm 92
25,7	1680 \pm 551	98 \pm 93
28,5	2150 \pm 673	67 \pm 80
30,3	3287 \pm 513	15 \pm 4
Equação de	$y = 53,867x^2 - 2609,6x + 32907,$ $p < 0,05$	$y = -10,297x^2 + 101,75x -$ $p < 0,05$
Gota de óleo		
Tratamentos (°C)	Inicial (um ³)	Final (um ³)
19,4	9,8 \pm 1,6	1,2 \pm 0,8
22,9	9,6 \pm 1,6	1,3 \pm 0,9
25,7	10,6 \pm 2,1	1,1 \pm 0,7
28,5	8,4 \pm 2,8	0,9 \pm 0,6
30,3	10,4 \pm 1,5	1,9 \pm 1,1
Equação de	$y = 0,0028x^2 - 0,1404x +$ $p > 0,05$	$y = 0,0131x^2 - 0,6307x +$ $p > 0,05$
Razão RNA:DNA		
Tratamentos (°C)	Final (um ³)	
19,4	11,5 \pm 6,6	
22,9	6,9 \pm 2,7	
25,7	5,2 \pm 1,4	
28,5	5,4 \pm 0,4	
30,3	4,3 \pm 0,1	
Equação de	$y = 0,0702x^2 - 4,1805x + 66,647$ $R^2 = 0,95$ $p > 0,05$	

Figura 9. Cinética da absorção da gota de óleo de sardinha (*Sardinella brasiliensis*) em diferentes temperaturas.



(§) Hora da abertura de boca.

3.5 DISCUSSÃO

A temperatura ideal para a taxa de eclosão foi 28 °C, e para a taxa de sobrevivência foi de 24,7 °C, o que coincide com a temperatura de desova e eclosão dos ovos de *S. brasiliensis* selvagens (Gigliotti et al., 2009; Jablonski, 2007; Jablonski & Legey, 2004; Matsuura, 1983, 1998) e com a temperatura que as larvas são encontradas no ambiente natural (Garcia, Reynalte-Tataje, Zaniboni-Filho, 2015; Gigliotti et al., 2009). A espécie *Sardinella aurita*, possui um padrão de desova similar na natureza, ocorrendo em temperaturas médias de 26,5 °C (Zarrad, Alemany, Jarboui, Missaoui, & Garcia, 2018) e com ovos encontrados em temperatura 25,5 °C (Zarrad, Missaoui, Romdhane, Jarboui, & M'Rabet, 2007).

Para *S. brasiliensis*, as temperaturas extremas influenciaram negativamente no tempo de eclosão e na taxa de sobrevivência. Os embriões são incapazes de regular a fluidez de suas membranas celulares e de se aclimatarem a diferentes temperaturas, sendo mais suscetíveis às mudanças térmicas (Rombough, 1997). Resultados semelhantes foram verificados para a sardinha *Alosa sapidissima*, onde o aumento do tempo de eclosão foi verificado, levando até 71 horas para a eclosão em temperatura de 21 °C (Gao et al., 2018). O aumento do tempo de incubação

aumenta a chance de contaminação dos ovos por fungos e bactérias afetando diretamente a sobrevivência das larvas (Imsland et al., 2019).

O tempo de pigmentação total do olho foi observado próximo ao tempo de abertura da boca da larva. Essa característica já havia sido relatada para a espécie quando mantida em temperatura de 25 °C, após 24 h da eclosão (Yoneda & Matsuura, 1987). Esta sequência de desenvolvimento é estratégica, ajudando a larva a visualizar as suas presas quando ocorre a abertura da boca, momento em que inicia a alimentação exógena (El-Gharabawy & Assem, 2006). No momento da eclosão e na abertura de boca da larva, o comprimento padrão, foi igual para todos os tratamentos. Sendo a média inicial de 2,8 mm, similar ao já descrito para *Sardinella aurita* (Ditty, Houde, Shaw, 1994) e a média final de 3,6 mm, que condiz com o descrito por Yoneda & Matsuura (1987) para *S. brasiliensis*.

Existe uma relação direta da temperatura na taxa de absorção das reservas energéticas. Tanto o saco vitelino, como a gota de óleo, não se esgotaram no momento da abertura de boca da larva, momento em que a larva começa a alimentação exógena. Essa reserva endógena mais duradoura, ajuda no crescimento, pois a larva não passa por um período de inanição nos primeiros dias após a abertura da boca, quando possuem baixa mobilidade, o que dificulta a captura de alimento nesta fase e assim, tendo uma correlação positiva com a sobrevivência (Bagarinao, 1986; Nash, Kuo, & McConnel, 1974; Williams et al., 2004).

As altas temperaturas são prejudiciais para as larvas, mesmo com o maior volume de vitelo, pois eclodem mais rápido, são mais vulneráveis ao ambiente e aos desafios digestivos, levando a altas mortalidades (Sund & Falk-Petersen, 2005). Diferente do observado por Fukuhara (1990) com larvas de *Pagrus mahor*, *Acanthopagrus schlegeli*, *Engraulis japonica* e *Paralichtys olivaceus*, para *Sardinella brasiliensis*, a temperatura mais alta, eclodiu larvas com o maior volume de saco vitelino. Nessas condições, o consumo de vitelo foi mais acelerado, porém no momento de abertura de boca, houve uma tendência a conterem menos reserva que temperaturas mais baixas (Houde, 1974). As altas taxas de consumo do saco vitelino estão relacionadas com a velocidade do desenvolvimento larval, pois este é o período com maiores mudanças na aparência, órgãos e estruturas larvais (Williams, Papanikos, Phelps, & Shardo, 2004).

A razão RNA:DNA é baseada no conceito em que a quantidade de DNA por célula, não é variável, enquanto a quantidade de RNA varia dependendo da fisiologia e do crescimento do peixe (Buckley et al., 1999). Esta taxa pode variar com a temperatura (Buckley et al., 2008) e uma diferença de 2 °C é necessária para ocorrer a modificação deste parâmetro (Buckley et al., 1999). A temperatura afeta diretamente a razão RNA:DNA e os processos metabólicos, que aumentam em altas temperaturas (Foley, 2016), sendo os baixos valores de RNA, parte de um sistema compensatório da larva (Goolish, Barron, & Adelman, 1984). Nas larvas de sardinha-verdadeira esta razão não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, podendo estar relacionado com o tempo de desenvolvimento da larva. Em laboratório a sardinha-verdadeira demonstra que a taxa RNA:DNA diminui rapidamente quando as larvas são submetidas a altas temperaturas e atingem um mínimo necessário, somente para a sobrevivência (del Bianco Rossi-Wongtschow et al, 2003).

3.6 CONCLUSÃO

A temperatura de incubação afetou a eclosão, sobrevivência, tempo para o desenvolvimento morfológico e tempo para consumo do saco vitelino das larvas de sardinha-verdadeira (*S. brasiliensis*). Foi encontrado que o intervalo entre 24,7 e 28 °C resulta nas melhores taxas de eclosão sobrevivência de larvas e que os extremos 18,4 e 30,3 °C resultam em 100 e 96% de mortalidade, respectivamente. Os tempos para o desenvolvimento larval foram alterados conforme a temperatura, sendo mais rápido em temperaturas mais altas. O comprimento inicial e final das larvas não sofreram alterações. Como para a razão RNA:DNA não houve diferença estatística entre os tratamentos, deve ser mais estudada para definir se, nesta etapa de desenvolvimento, pode ser utilizada como um método para avaliar o crescimento de larvas.

3.7 AGRADECIMENTOS

Agradeço a toda equipe do LAPMAR – UFSC e ao CNPq pelo apoio aos projetos de pesquisa e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de Mestrado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bagarinao, T. (1986). Yolk resorption, onset of feeding and survival potential of larvae of three tropical marine fish species reared in the hatchery. *Marine Biology*, 91(4), 449-459.
- Barón-Aguilar, C. C., Rhody, N. R., Brennan, N. P., Main, K. L., Peebles, E. B., & Muller-Karger, F. E. (2015). Influence of temperature on yolk resorption in common snook *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) larvae. *Aquaculture research*, 46(7), 1679-1687. <https://doi.org/10.1111/are.12323>
- Blaxter JHS (1969) Development: eggs and larvae. In: Hoar WS and Randall, DJ (eds.), *Fish Physiology*, vol. 3. Academic Press, New York, pp. 178–252
- Buckley, L. J., Caldarone, E. M., & Clemmesen, C. (2008). Multi-species larval fish growth model based on temperature and fluorometrically derived RNA/DNA ratios: results from a meta-analysis. *Marine Ecology Progress Series*, 371, 221-232. <https://doi.org/10.3354/meps07648>
- Buckley, L., Caldarone, E., & Ong, T. L. (1999). RNA–DNA ratio and other nucleic acid-based indicators for growth and condition of marine fishes. *Hydrobiologia*, 401, 265-277.
- Cergole, M. C. (1995). Stock assessment of the Brazilian sardine, *Sardinella brasiliensis*, of the south-eastern coast of Brazil. *Scientia Marina (España)*.
- Cergole, M. C., & Dias-Neto, J. (2011). Plano de gestão para o uso sustentável da sardinha-verdadeira *Sardinella brasiliensis* no Brasil. Brasília: *Ibama*.
- Crosetti, D., & Blaber, S. J. (Eds.). (2015). Biology, ecology and culture of grey mullets (Mugilidae). *CRC Press*.
- del Bianco Rossi-Wongtschow, C. L., Clemmesen, C., Ueberschär, B., & Dias, J. F. (2003). Larval condition and growth of *Sardinella brasiliensis* (Steindachner, 1879): preliminary results from laboratory studies. *Scientia Marina*, 67(1), 13-23. <https://doi.org/10.3989/scimar.2003.67n113>
- Ditty, J. G., Houde, E. D., & Shaw, R. F. (1994). Egg and larval development of Spanish sardine, *Sardinella aurita* (Family Clupeidae), with a synopsis of characters to identify clupeid larvae from the northern Gulf of Mexico. *Bulletin of Marine Science*, 54(2), 367-380.
- El-Gharabawy, M., & Assem, S. (2006). Spawning induction in the Mediterranean grey mullet *Mugil cephalus* and larval developmental stages. *African Journal of Biotechnology*, 5(19), 1836-1845.
- Fukuhara, O. (1990). Effects of temperature on yolk utilization, initial growth, and behaviour of unfed marine fish-larvae. *Marine Biology*, 106(2), 169-174.
- Gao, X. Q., Liu, Z. F., Guan, C. T., Huang, B., Liu, B. L., Jia, Y. D., & Hong, L. (2018). Skeletal development and abnormalities of the vertebral column and fins in larval

stage of hatchery reared American shad, *Alosa sapidissima*. *Aquaculture research*, 49(7), 2376-2392. <https://doi.org/10.1111/are.13696>

Garcia, V., Augusto Reynalte-Tataje, D., & Zaniboni-Filho, E. (2015). Distribution of eggs and larvae of brazilian sardine in the coastal region of Santa Catarina state, Brazil. *B. Instituto de Pesca*, 619-631.

Gigliotti, E., Paes, E, Guimarães, A. S., Moraes, L. E., Gherardi, D. F., Souza. R. B., & Katsuragawa. M. (2009) Variações da abundância de larvas da sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) na Plataforma Continental Sudeste do Brasil e suas relações com a temperatura superficial do oceano. *Anais XIV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto*, Natal.

Godinho, H. P., Santos, J. E., & Sato, Y. (2003). Ontogênese larval de cinco espécies de peixes do São Francisco. *Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais*, 133-148.

Goolish, E. M., Barron, M. G., & Adelman, I. R. (1984). Thermoacclimatory response of nucleic acid and protein content of carp muscle tissue: influence of growth rate and relationship to glycine uptake by scales. *Canadian Journal of Zoology*, 62(11), 2164-2170.

Green & Brown.(2013) Larval fish aquaculture. Roles of Temperature and Salinity on early development and larval rearing. Nova publishers. p. 1-24.

Houde, E. D. (1974). Effects of temperature and delayed feeding on growth and survival of larvae of three species of subtropical marine fishes. *Marine biology*, 26(3), 271-285.

Imsland, A. K. D., Danielsen, M., Jonassen, T. M., Hangstad, T. A., & Falk-Petersen, I. B. (2019). Effect of incubation temperature on eggs and larvae of lumpfish (*Cyclopterus lumpus*). *Aquaculture*, 498, 217-222. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.08.061>

Jablonski, S. I. L. V. I. O. (2007). The Brazilian sardine. Is there any room for modelling. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 2(2), 86-93.

Jablonski, S., & Legey, L. F. L. (2004). Quantifying environmental effects on the recruitment of the Brazilian sardine (*Sardinella brasiliensis*), 1977-1993. *Scientia Marina*, 68(3), 385-398. <https://doi.org/10.3989/scimar.2004.68n3385>

Matsuura, Y. (1983). Estudo comparativo das fases iniciais do ciclo de vida da sardinha-verdadeira, *Sardinella brasiliensis* e da sardinha-cascuda, *Harengula jaguana*, (Pisces: Clupeidae) e nota sobre a dinâmica da população da sardinha-verdadeira na região sudeste do Brasil (*Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico*).

Matsuura, Y. (1998). Brazilian sardine (*Sardinella brasiliensis*) spawning in the southeast Brazilian Bight over the period 1976-1993. *Revista Brasileira de Oceanografia*, 46(1), 33-43.

Nash, C. E., Kuo, C. M., & McConnel, S. C. (1974). Operational procedures for rearing larvae of the grey mullet (*Mugil cephalus* L.). *Aquaculture*, 3(1), 15-24.

Rombough, P. J. (1997). The effects of temperature on embryonic and larval development. In Seminar Series-Society For Experimental Biology (Vol. 61, pp. 177-224). *Cambridge University Press*.

Saleh, R., Shaleh, S. R. M., Mustafa, S., & Al-Azad, S. (2019). RNA/DNA ratio in milkfish (*Chanos Chanos*) larvae reared at different stocking densities. *Borneo Journal of Marine Science and Aquaculture* (BJoMSA), 3(1), 13-17.

Sund, T., & Falk-Petersen, I. B. (2005). Effects of incubation temperature on development and yolk sac conversion efficiencies of spotted wolffish (*Anarhichas minor* Olafsen) embryos until hatch. *Aquaculture research*, 36(11), 1133-1143.

Vinatea, L. (2003). Princípios químicos da qualidade da água. *Princípios químicos da qualidade da água em aqüicultura. 2a Ed. Editora da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)*. Florianópolis, 1-166.

Weber, L. P., Higgins, P. S., Carlson, R. I., & Janz, D. M. (2003). Development and validation of methods for measuring multiple biochemical indices of condition in juvenile fishes. *Journal of Fish Biology*, 63(3), 637-658.
<https://doi.org/10.1046/j.1095-8649.2003.00178.x>

Williams, K., Papanikos, N., Phelps, R. P., & Shardo, J. D. (2004). Development, growth, and yolk utilization of hatchery-reared red snapper *Lutjanus campechanus* larvae. *Marine Ecology Progress Series*, 275, 231-239. doi:10.3354/meps275231

Yoneda, N. T., & Matsuura, Y. (1987). Criacao em laboratorio de larvas da sardinha verdadeira, *Sardinella brasiliensis* e estudo dos incrementos diarios nos otolitos. *Universidade de São Paulo*.

Zarrad, R., Alemany, F., Jarboui, O., Missaoui, H., & Garcia, A. (2018). Spawning habitats of two small pelagic species (*Engraulis encrasicolus* and *Sardinella aurita*) in the Gulf of Gabès (Central Mediterranean). *Hydrobiologia*, 821(1), 11-24.

Zarrad, R., Missaoui, H., Romdhane, M. S., Jarboui, O., & M'Rabet, R. (2007). *Sardinella aurita* egg and larval distributions and sea temperature in the Tunis Gulf. *Rapporte de la Communauté Internationale de la Mer Méditerranée*, 38, 640.

4 CONCLUSÃO GERAL

A temperatura de incubação afetou a eclosão, sobrevivência, medidas morfométricas e tempo para o desenvolvimento morfológico, mas não alterou a razão RNA:DNA das larvas de tainha (*Mugil liza*) e sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*). Para a tainha, foi encontrado que as melhores taxas de eclosão e de sobrevivência foram no intervalo entre 23,2 e 23,9 °C e que 16,5 °C resulta nas menores taxas de sobrevivência e eclosão. Já para a sardinha-verdadeira, o intervalo entre 24,7 e 28 °C resulta nas melhores taxas de eclosão e de sobrevivência de larvas e os extremos 18,4 e 30,3 °C resultam em 100 e 96% de mortalidade, respectivamente. O tempo para o desenvolvimento larval também foi alterado conforme a temperatura, sendo as temperaturas mais altas responsáveis pelo desenvolvimento mais acelerado. Na tainha a pigmentação do olho variou entre 36 e 64 h, a abertura de boca entre 48 e 72 h e a absorção total do saco vitelino entre 42 e 48 h. Para a sardinha-verdadeira a abertura de boca variou entre 24 e 51 h e a pigmentação do olho entre 21 e 45 h.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO GERAL

- ALVAREZ-LAJONCHERE, L. *et al.*. Positive Results of Induced Spawning and Larval Rearing Experiments with *Mugil Liza* Val, a Grey Mullet from Cuban Waters. **Aquaculture** 73, 349-355, 1988.
- ANDREATTA, E.R.; ROCHA, I.P.; RODRIGUES, J.B. Ensaio sobre desova induzida de tainha, *Mugil brasiliensis* Spix et Agassiz (1931). In: **Congresso Brasileiro de Engenharia de Pesca**, 2, Recife pp. 463-468, 1981.
- ANDREATTA, E.R.; SILVA, I.D.; BELTRAME, E. Consideração sobre a incubação de ovos e o cultivo de larvas de tainha, *Mugil liza*, em laboratório. In: **Congresso Brasileiro de Engenharia de Pesca**, 3, 1983, Manaus: AEP-AM, p. 163-174, 1983.
- BALOI, M. F.; STERZELECKI, F. C.; SUGAI, J. K.; PASSINI, G.; CARVALHO, C. V. A.; CERQUEIRA, V. R. Growth performance, body composition and metabolic response to feeding rates in juvenile Brazilian sardine *Sardinella brasiliensis*. **Aquaculture Nutrition**, v. 23, n. 6, p. 1458–1466, 2017
- BALOI, M.; BALOI, M.; CARVALHO, C. V.; STERZELECKI, F. C.; PASSINI, G.; CERQUEIRA, V. R. Effects of feeding frequency on growth, feed efficiency and body composition of juveniles Brazilian sardine, *Sardinella brasiliensis* (Steindacher 1879). **Aquaculture Research**, v. 47, n. 2, p. 554–560, 2016.
- BALOI, M.; MAGNOTTI, C. C. F., STERZELECKI, F. C., RODRIGUES, R. V., & CERQUEIRA, V. R. Toxicidade aguda da amônia em juvenis de sardinha-verdadeira *Sardinella brasiliensis*. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 43, n. 1, p. 135-139, 2018.
- BARÓN-AGUILAR, C. C. et al. Influence of temperature on yolk resorption in common snook *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) larvae. **Aquaculture Research**, v. 46, n. 7, p. 1679-1687, 2015.
- BENETTI D.D.; FAGUNDES NETTO, E.B. Desova, larvicultura e criação de tainhas. In: **Manual de Maricultura**. Ministério da Marinha - Instituto de Pesquisas da Marinha, Rio de Janeiro, pp. 57, 1983.
- BENETTI, D. D.; FAGUNDES NETTO, E. B. Considerações sobre desova e alevinagem da tainha (*Mugil liza* Valenciennes, 1836). **Instituto de Pesquisas da Marinha** 135, 26, 1980.
- Blaxter JHS. Development: eggs and larvae. In: Hoar WS and Randall, DJ (eds.), *Fish Physiology*, vol. 3. Academic Press, New York, pp. 178–252, 1969.
- BUCKLEY, L. J.; CALDARONE, E. M.; CLEMMESSEN, C. Multi-species larval fish growth model based on temperature and fluorometrically derived RNA/DNA ratios: results from a meta-analysis. **Marine Ecology Progress Series**, v. 371, p. 221-232, 2008.
- BUCKLEY, L; CALDARONE, E.; ONG, T.-L. RNA–DNA ratio and other nucleic acid-based indicators for growth and condition of marine fishes. **Hydrobiologia**, v. 401, p. 265-277, 1999.

CARVALHO, C. V. A.; PASSINI, G.; COSTA, S. W., SILVA, F. M., ANDREATTA, E. R., CERQUEIRA, V. R. Produção de juvenis de tainha *Mugil liza* no estado de Santa Catarina. In: **FENACAM**, Brasil. 2014.

CARVALHO, Cristina Vaz Avelar et al. Maturation, spawning and larviculture of the mullet *Mugil liza* under laboratory conditions. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 43, n. 1, p. 31-36, 2019.

CASTRO, J.. MAGNOTTI, C.; ANGELO, M.; STERZELECKI, F.; PEDROTTI, F.; OLIVEIRA, M.; SOLIGO, T.; FRACALOSSO, D.; CERQUEIRA, V. R. et al. "Effect of ascorbic acid supplementation on zootechnical performance, haematological parameters and sperm quality of lebranche mullet *Mugil liza*." **Aquaculture Research** pp 3267-3274, 2019.

CAVALLI, R.; DOMINGUES, E.; HAMILTON, S. Development of open ocean marine fish farming in Brazil: possibilities and constraints. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 40: 155-164, 2011.

CAVALLI, R.O.; HAMILTON, S. Piscicultura marinha no Brasil com ênfase na produção do beijupirá. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.6, p.64-69, 2009.

CERGOLE, M. C. Stock assessment of the Brazilian sardine, *Sardinella brasiliensis*, of the south-eastern Coast of Brazil. **Scientia Marina**. v. 59, p. 597-610, 1995.

CERGOLE, M. C.; DIAS-NETO, J. Plano de Gestão para o Uso Sustentável da Sardinha-verdadeira do Brasil. IBAMA, Série **Plano de Gestão dos Recursos Pesqueiros**, v. 5, p. 90. 2011.

CERGOLE, M. C.; SACCARDO, S. A.; ROSSI-WONGTSCHOWSKI, C. L. D. B. Fluctuations in the spawning stock biomass and recruitment of the Brazilian sardine (*Sardinella brasiliensis*) 1977-1997. **Revista Brasileira de Oceanografia**, v. 50, p. 13-26, 2002.

CERQUEIRA, V. R. Cultivo de peixes marinhos. In: Poli, C.R. et al. **Aquicultura: Experiências brasileiras**. Florianópolis: Multitarefa. pp. 369-406, 2004.

CERQUEIRA, V. R.; CARVALHO, C. V. C.; SANCHES, E. G.; PASSINI, G.; BALOI, M.; RODRIGUES, R. V. Manejo de reprodutores e controle da reprodução de peixes marinhos da costa brasileira. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 41, p. 94-102. 2017.

COSTA FILHO, J.; FABREGAT, T.; ROSA, C. A review of major aspects of snook breeding. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, 12 (3): 317-325, 2013.

CROSETTI, D.; BLABER, S. J. M. (Ed.). Biology, ecology and culture of grey mullets (Mugilidae). **CRC Press**, 2015.

DURAND, J.D. et al. Systematic of the grey mullets (Teleostei: Mugiliformes: Mugilidae): molecular phylogenetic evidence challenges two centuries of morphology-based taxonomy. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 64(1): 79-92, 2012.

EL-GHARABAWY, M.; ASSEM, S. Spawning induction in the Mediterranean grey mullet *Mugil cephalus* and larval developmental stages. **African Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 19, p. 1836-1845, 2006.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). FAO yearbook. **Fishery and Aquaculture Statistics 2018**. Roma, FAO. 2018.

FISCHER, L. G., PEREIRA, L. E. D. & VIEIA, J. P. **Peixes estuarinos e costeiros**, 2nd edn. Rio Grande: Luciano Gomes Fischer. 2011.

FOLEY, C. J.; BRADLEY, D. L.; HÖÖK, T. O. A review and assessment of the potential use of RNA: DNA ratios to assess the condition of entrained fish larvae. **Ecological indicators**, v. 60, p. 346-357, 2016.

FUKUHARA, O. Effects of temperature on yolk utilization, initial growth, and behaviour of unfed marine fish-larvae. **Marine Biology**, v. 106, n. 2, p. 169-174, 1990.

GANIAS, K.; SOMARAKIS, S.; NUNES, C. Reproductive potential. **Biology and Ecology of Sardines and Anchovies**, p. 79-121, 2014.

GAO, Xiao-Qiang et al. Skeletal development and abnormalities of the vertebral column and fins in larval stage of hatchery-reared American shad, *Alosa sapidissima*. **Aquaculture research**, v. 49, n. 7, p. 2376-2392, 2018.

GIGLIOTTI, E.; PAES, E.; GUIMARÃES, A. S.; MORAES, L. E.; GHERARDI, D. F.; SOUZA, R. B.; KATSURAGAWA, M. Variações da abundância de larvas da sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) na Plataforma Continental Sudeste do Brasil e suas relações com a temperatura superficial do oceano. **Anais XIV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**, Natal. 2009.

GODINHO, H. P.; SANTOS, J. E.; SATO, Y. Ontogênese larval de cinco espécies de peixes do São Francisco. **Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais**, p. 133-148, 2003.

GREEN, C. C.; BROWN, C. A. Larval fish aquaculture. **Roles of Temperature and Salinity on early development and larval rearing**. Nova publishers. p. 1-24. 2013

GUINLE, L. V. **Estado atual da produção de juvenis de sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) em laboratório**. 2014. 32 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Relatório de reunião Técnica para ordenamento da pesca da tainha (*Mugil platanus*, *M. liza*) na região Sudeste/Sul do Brasil**. Itajaí, SC, 85p, 2007.

IMSLAND, A.; DANIELSEN, M.; JONASSEN, T.; HANGSTAD, T.; FALK-PETERSEN, I. Effect of incubation temperature on eggs and larvae of lumpfish (*Cyclopterus lumpus*). **Aquaculture**, v. 498, p. 217-222, 2019.

JABLONSKI, S. The Brazilian sardine. Is there any room for modelling? **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v. 2, n. 2, p. 86–93, 2007.

JIAN, C.-Y.; CHENG, S.-Y.; CHEN, J.-C. Temperature and salinity tolerances of yellowfin sea bream, *Acanthopagrus latus*, at different salinity and temperature levels. **Aquaculture Research**, v. 34, n. 2, p. 175-185, 2003.

KAMLER, E. Ontogeny of yolk-feeding fish: an ecological perspective. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, 12, 79–103. 2002.

KAMLER, E. Resource allocation in yolk-feeding. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, 18, 143-200. 2008.

KUO, C-M; SHEHADEH, Z. H.; MILKEN, K. K. A preliminary report on the development, growth and survival of laboratory reared larvae of the grey mullet, *Mugil cephalus* L. **Journal of Fish Biology**, v. 5, n. 4, p. 459-470, 1973.

LEMOS, V. M. et al. Migration and reproductive biology of *Mugil liza* (Teleostei: Mugilidae) in south Brazil. **Journal of Fish Biology**, v. 85, n. 3, p. 671-687, 2014.

MAGNOTTI, C. C. F. et al. Short-term storage of lebranche mullet *Mugil liza* (Valenciennes, 1836) semen in natura and diluted with CF-HBSS. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 40, 2018.

MANZONI, G. C.; DICK, J. L.; ANJOS, J. K.; CUSTÓDIO Jr., G. 2015. Growth of Brazilian Sardine (*Sardinella brasiliensis*) cultivated in net cage in the Itapocoroy Bay - Penha - SC, Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE AQUICULTURA, 9, FENACAM, 15, 2015. **Anais FENACAM**. Fortaleza: ABCC, 2015. p. 316.

MANZONI, G. C.; DICK, J. L.; CUSTÓDIO Jr., G.; SANTOS, A. P. S.; ANJOS, J. K. Relação gonado-somática da sardinha-verdadeira, *Sardinella brasiliensis* cultivada em tanque rede - Penha - SC - Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE AQUICULTURA, 8, FENACAM, 14, 2014. **Anais FENACAM**. Fortaleza: ABCC, 2014.

MENEZES, N.A.; OLIVEIRA, C.; NIRCHIO, M. An old taxonomic dilemma: the identity of the western South Atlantic lebranche mullet (Teleostei: Perciformes: Mugilidae). **Zootaxa**, 2519, 59-68, 2010.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA (MPA); MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA). **Plano de gestão para o uso sustentável da tainha, *Mugil liza Valenciennes*, 1836, no sudeste e sul do Brasil.** (eds MPA; MMA), Brasília pp. 238. 2015.

MIRANDA-FILHO, K. C.; et al. Espécies nativas para a piscicultura no Brasil. **Universidade Federal de Santa Maria**, Santa Maria, 2010. p. 541-552.

NASH, Colin E.; KUO, Ching-Ming; MCCONNEL, Susan C. Operational procedures for rearing larvae of the grey mullet (*Mugil cephalus* L.). **Aquaculture**, v. 3, n. 1, pp. 15-24, 1974.

NEELMANI, R.; PAL, M.; SARMAN, V. Impacts of climate change on marine biodiversity. **Journal of Etmology and Zoology Studies**, v. 7.2, p. 425-430, 2019.

PAIVA, M.P. & P.C.S. MOITA. Cardumes da sardinha-verdadeira, *Sardinella brasiliensis* (Steindachner), em águas costeiras do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 17.2, p. 339-346, 2000.

PASSINI, G.; SILVA, L. A. R.; CARVALHO, C. V. A.; STERZELECK, F.; CERQUEIRA, V. R. Resultados preliminares das primeiras desovas da sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*). In: **Reunião Científica do Instituto de Pesca**, 11, 2013, São Paulo, SP. Instituto de Pesca, 2013. p. 146-148..

PEÑA, Renato et al. Effect of incubation temperature on the embryonic development and yolk-sac larvae of the Pacific red snapper *Lutjanus peru* (Nichols & Murphy, 1922). **Aquaculture Research**, v. 45, n. 3, p. 519-527, 2014.

PEREIRA, H. L. Manejo e maturação em cativeiro da sardinha verdadeira, *Sardinella brasiliensis* (Steindachner, 1879), no sul do Brasil. 2010. 82 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - **Universidade Federal de Santa Catarina**, Florianópolis, 2010.

PEREZ-DOMINGUEZ R.; DAHM, R. Methods for assessing embryonic and larval growth in fish. In: **Larval fish nutrition**. John Wiley & Sons, pp. 373-402. 2011.

REIS, E.G; D'INCAO, F. The present status of artisanal fisheries of extreme Southern Brazil: an effort towards community-based management. **Ocean & Coastal Management**, 43: 585-595, 2000.

SALEH, Rukisah et al. RNA/DNA ratio in milkfish (*Chanos Chanos*) larvae reared at different stocking densities. Borneo **Journal of Marine Science and Aquaculture** (BJoMSA), v. 3, n. 1, p. 13-17, 2019.

SCHWEIGERT, J. F. Update COSEWIC status report on the Pacific sardine *Sardinops sagax* in Canada, in **COSEWIC assessment and update status report on the Pacific sardine *Sardinops sagax* in Canada**. Committee on the Status of Endangered Wildlife in Canada. Ottawa. p. 26. 2002.

SEBASTIAN, M. J.; NAIR, V. Achuthan. The induced spawning of the grey mullet, *Mugil macrolepis* (Aguas) Smith and the large-scale rearing of its larvae. **Aquaculture**, v. 5, n. 1, pp. 41-52, 1975.

SILVA, J. E. Fisiocologia do camorim (*Centropomus undecimalis* BLOCH, 1792). **Estudo experimental de crescimento em ambiente confinado**. São Paulo: USP, 1976. 101p. 1976. Tese de Doutorado. Tese (Doutorado em Ciências e Fisiologia)– Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.

SILVA, L. A. Crescimento de Juvenis, Maturação Sexual, Reprodução e Larvicultura da Sardinha-Verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) em Cativeiro. 2013. 43 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - **Universidade Federal de Santa Catarina**, Florianópolis, 2013.

STERZELECKI, F. C.; SUGAI, J. K.; BALOI, M.; PASSINI, G.; CARVALHO, C. V. A.; FRACALOSI, D. M.; CERQUEIRA, V. R. Effects of increasing protein level on the performance, enzyme activity and body composition of the Brazilian sardine, *Sardinella brasiliensis* (Steindachner, 1879). **Aquaculture Nutrition**, v. 24, n. 1, p.

366–374, 2018.

TATSCH, C. **Alimentação natural de juvenis de sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*), cultivadas em tanques-rede na Enseada da Armação do Itapocoroy (SC)**. 2015. 70 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) - Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, SC, 2015.

TIDWELL, J. **Characterization and Categories of Aquaculture Production Systems. Aquaculture production systems**. John Wiley & Sons, 2012.

VIEIRA, J. P.; GARCIA, A. M.; GRIMM, A. M.. Evidences of El Niño effects on the mullet fishery of the Patos Lagoon estuary. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n. 2, pp. 433-440, 2008.

WEBER, L. P. et al. Development and validation of methods for measuring multiple biochemical indices of condition in juvenile fishes. **Journal of Fish Biology**, v. 63, n. 3, pp. 637-658, 2003.

YANG, W. T.; KIM, U. B. A preliminary report on the artificial culture of grey mullet in Korea. **Proc. Indo-Pacific Fish. Coun.** 9, pp. 62-70, 1962.

YOUSIF, Omer M. et al. Induced spawning and larviculture of grey mullet, *Mugil cephalus* (Linnaeus 1758) in the Emirate of Abu Dhabi. **Aquaculture Asia**, v. 15, n. 1, p. 41-43, 2010.

ZARRAD, R. et al. *Sardinella aurita* egg and larval distributions and sea temperature in the Tunis Gulf. **Rapporte de la Communaute Internationale de la Mer Mediterranee**, v. 38, p. 640, 2007.

ZARRAD, Rafik et al. Spawning habitats of two small pelagic species (*Engraulis encrasicolus* and *Sardinella aurita*) in the Gulf of Gabès (Central Mediterranean). **Hydrobiologia**, v. 821, n. 1, p. 11-24, 2018.