

# **Efeito da temperatura sobre o desenvolvimento embrionário do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*)**

Bruna Umbria<sup>1</sup>, Fernanda Ripel Salgado<sup>1</sup>, Karime Zeidan<sup>1</sup>, Ana Silvia Pedrazzani<sup>2</sup>, Thayzi de Oliveira Zeni<sup>2</sup>, Antônio Ostrenky Neto<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Aluna de Zootecnia da Universidade Federal do Paraná, Curitiba – PR, Brasil. Email: [bru.umbria@gmail.com](mailto:bru.umbria@gmail.com)

<sup>2</sup> Grupo Integrado Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais (GIA), Universidade Federal do Paraná, Rua dos Funcionários 1540, Juvevê, Curitiba – PR, Brasil

## **Resumo**

Para se conhecer e detalhar a biologia reprodutiva de peixes torna-se necessário a identificação das fases de seu desenvolvimento embrionário, sendo a temperatura um dos fatores mais importante nestes primeiros estágios de vida. Desse modo, o objetivo deste estudo foi analisar a influência da temperatura no tempo de desenvolvimento embrionário do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). Os ovos foram obtidos através de desova induzida e expostos às temperaturas de 20°C, 25°C e 30°C. Ao longo do desenvolvimento embrionário foram identificadas as fases de: zigoto, clivagem, blástula, gástrula, organogênese e eclosão. Foi observado que o tempo de desenvolvimento foi maior às temperaturas mais baixas, sendo mais lento nos ovos mantidos a 20°C. Pode-se observar também a presença de larvas eclodidas com malformações às temperaturas de 25°C e 30°C. Os resultados sugerem que a temperatura mais adequada para o desenvolvimento embrionário da espécie em estudo é a 25°C, pois em temperaturas mais baixas o desenvolvimento é muito lento e variável, e em temperaturas mais altas há maior presença de larvas deformadas.

**Palavras-chave: estágios de vida, reprodução, ovos**

## **Abstract**

To know and to detail the reproductive biology of fishes it is necessary to identify the stages of their embryonic development, and temperature is one of the most important factors in these early stages of life. Thus, the aim of this study was to analyze the influence of temperature on the embryonic

development time of the *Astyanax altiparanae*. Eggs were obtained from induced reproduction and exposed to temperatures of 20°C, 25°C and 30°C. During embryonic development the following phases were identified spawning: zygote, cleavage, blastula, gastrula, organogenesis, and hatching. It was observed that the development time was greater at lower temperatures and significantly slower in embryos maintained at 20°C than at other temperatures. One can also observe the presence of defects on hatched larvae at temperatures of 25°C to 30° C. The results suggest that the most suitable temperature for embryonic development of this species is 25°C, for at lower temperatures development is very slow and variable, and at higher temperatures there is more deformed presence of larvae.

**Key-words: stages of life, reproduction, eggs**

## Introdução

O gênero *Astyanax* é o mais comum e diversificado da família Characidae, sendo facilmente encontrado nas bacias hidrográficas brasileiras (GÉRY, 1977; GARUTTI et. al., 2000). Os peixes pertencentes a esse gênero são popularmente conhecidos por lambaris, tambúis ou piabas. Dentre estes, o lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) (GARUTTI et. al., 2000) é uma espécie de pequeno porte, podendo atingir, quando adulto, 15 cm de comprimento, e 60 gramas de peso vivo (PORTO-FORESTI et. al., 2001).

Esta espécie apresenta grande potencial para a aquicultura devido a características acerca de sua biologia e reprodução, tais como sua capacidade de adaptação aos sistemas de cultivo e pelo fato de possuírem desova parcelada (AGOSTINHO et. al., 1984). A reprodução parcelada permite a obtenção de 3 a 4 desovas durante o ano e possibilita um incremento substancial na produção (ALMEIDA, 2007).

O sucesso no cultivo de uma espécie de peixe depende da compreensão de sua biologia inicial, incluindo características da fertilização e desenvolvimento embrionário, que influenciam diretamente nas taxas de fertilização e eclosão das larvas (MATKOVIC et. al., 1985).

O conhecimento a respeito das fases de desenvolvimento embrionário de uma espécie constitui ferramenta útil na localização de áreas de desova e

no estudo do crescimento da espécie em ambiente natural (REYNALTE-TATAJE et. al., 2001). Isso permite uma melhor avaliação da espécie, e a detecção das alterações relacionadas aos fatores ambientais nas incubadoras, as quais poderão acarretar más formações larvais e baixas produtividades (ALVES et. al., 1992).

Dentre os fatores que interferem no desenvolvimento e crescimento dos peixes, a temperatura tem um importante papel (BLAXTER, 1992; KAMLER, 1992; BERMUDES et. al., 1999). A temperatura da água altera o metabolismo dos embriões afetando seu desenvolvimento (KINNE et. al., 1962; SAKA et. al., 2004; COOK et. al., 2005). A duração dos estágios iniciais, o tamanho da larva eclodida e a eficiência na utilização do vitelo também podem sofrer variações (JOHNS et. al., 1980; KAMLER, 1992; KLIMMOGIANNI et. al., 2004).

Entretanto, para se conhecer e detalhar a biologia reprodutiva do lambari-do-rabo-amarelo torna-se necessário a identificação das fases do desenvolvimento embrionário, assim como a importância da temperatura nestes primeiros estágios de vida.

Portanto, o objetivo deste estudo foi analisar a influência da temperatura no tempo de desenvolvimento embrionário do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*).

## **Material e Métodos**

O experimento foi realizado no laboratório do Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais (GIA), da Universidade Federal do Paraná (UFPR), localizado em Curitiba – PR, entre os meses de outubro e novembro de 2013.

Reprodutores de lambari foram adquiridos da Central de Abastecimento do Paraná S/A (CEASA/PR). Os animais permaneceram durante um período de 20 dias em tanques de polietileno (1000L) dotados de sistema fechado de circulação de água, contendo filtragem física e biológica. Os animais foram mantidos sob aeração constante e temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . A alimentação foi fornecida duas vezes ao dia, *ad libitum*, com ração comercial peletizada contendo 45% de proteína bruta.

Após a fase de aclimação, foram selecionados 88 machos e 44 fêmeas. Estas foram selecionadas com base em características morfológicas de maturação gonadal, como o ventre abaulado e poro urogenital avermelhado. Estes exemplares receberam aplicação de extrato de hipófise de carpa diluído em soro fisiológico para indução da reprodução. A dose do hormônio foi única, sendo 4 mg/kg para fêmeas e 1 mg/kg para os machos.

Posterior a aplicação, os animais foram acondicionados em aquários de 25 litros a 25°C, sendo duas fêmeas e quatro machos por aquário para reprodução, e assim, a ocorrência da desova livre.

Os ovos obtidos foram distribuídos em três tratamentos: 20°C, 25°C e 30°C, sendo cada realizado em duplicata. O processo de transferência dos ovos levou entre 10 e 20 minutos. Estes foram acondicionados em aquários de 25 litros adaptados com tela de nylon de 0,5 mm, para evitar a perda dos ovos e garantir a aeração.

Assim como a temperatura, o oxigênio dissolvido e o oxigênio saturado foram mantidos e monitorados periodicamente por um oxímetro YSI – 550<sup>a</sup> a 7,0 mg/L e 86% respectivamente, por aeração controlada. A circulação da água também foi controlada através de bombas submersas garantindo a oxigenação.

Para avaliar o desenvolvimento embrionário, os ovos foram coletados, com auxílio de pipeta, no momento em que houve desova (tempo 0), 1, 3, 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos após a mesma. Após este período foram realizadas coletas a cada hora até o momento da eclosão. Cada amostra foi composta por aproximadamente 10 ovos/larvas.

Os ovos e larvas foram observados a fresco, logo após o tempo de amostragem, para identificação das fases de desenvolvimento e análise da morfologia externa, e fotografados com câmera digital DinoEye Eyepiece AM-423X acoplada em estereomicroscópio Olympus SZ61.

## **Resultados**

Das 44 fêmeas submetidas à indução da reprodução, apenas 6 responderam ao tratamento (12,5%), com a liberação de ovócitos férteis. As demais fêmeas (87,5%) não desovaram ou liberaram pequena quantidade de

ovócitos, inviabilizando as coletas. As desovas ocorreram entre 180 a 200 horas-grau.

Ao longo do desenvolvimento embrionário foram identificadas as seguintes fases: zigoto, clivagem, blástula, gástrula, organogênese e eclosão. A fase de zigoto se estendeu da fertilização à formação do pólo animal, conhecido também como célula-ovo. Durante a fase de clivagem foram observados embriões com 2, 4, 8, 16, 32 e 64 blastômeros. A fase de gástrula, por sua vez, foi caracterizada pelo início do movimento de epibolia, ou seja, a migração das células embrionárias. No presente estudo foram observados embriões com 25, 50, 75 e 90% de epibolia. A organogênese teve início com o processo de diferenciação das regiões cefálica e caudal, e terminou com a presença de 24 pares de somitos. Após esta fase, a cauda se tornou livre e os embriões começaram a se movimentar. Foi então observada a eclosão das larvas, caracterizadas pelo rompimento do córion. As fases descritas estão representadas na figuras 1.

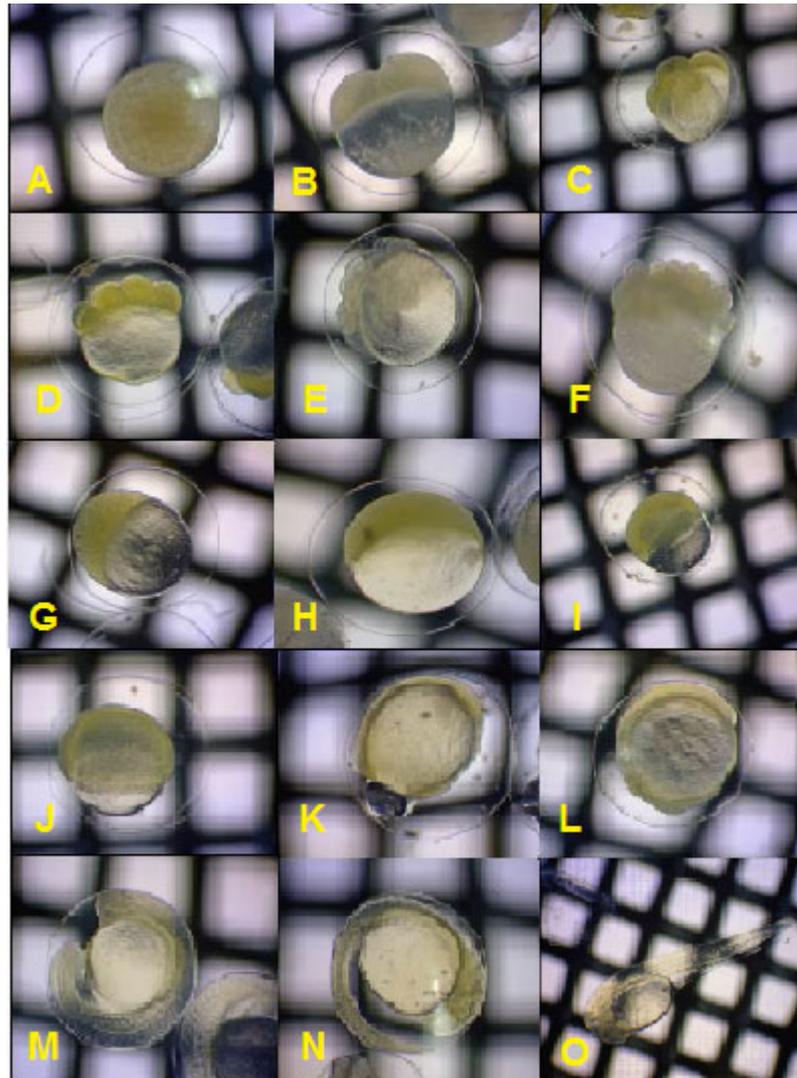


Figura 1. Ovos de *Astyanax altiparanae* (lambari-do-rabo-amarelo) nas fases de desenvolvimento – A = zigoto; B = clivagem – 2 blastômeros; C = clivagem – 4 blastômeros; D = clivagem – 8 blastômeros; E = clivagem – 16 a 32 blastômeros; F = clivagem 64 blastômeros; G = blástula; H = gástrula – 25% epibolia; I = gástrula – 50% epibolia; J = gástrula - 75% epibolia; K = gástrula – 90% epibolia; L = organogênese inicial; M = organogênese final; N = cauda livre; O = larva eclodida.

Observou-se que o tempo de desenvolvimento embrionário do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) foi maior às temperaturas mais baixas, sendo mais lento nos ovos mantidos a 20°C, do que nas demais temperaturas. O tempo de desenvolvimento nas temperaturas avaliadas está resumido na Tabela 1.

Tabela 1. Tempo absoluto (h) de desenvolvimento embrionário de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) submetidos a diferentes temperaturas.

		Temperaturas de desenvolvimento					
		20°C A	20°C B	25°C A	25°C B	30°C A	30°C B
Fase de desenvolvimento	Características da fase	Tempo de desenvolvimento (hpf)					
Zigoto	1 célula	00:00	00:00	00:00	00:00	00:00	00:00
Clivagem	2 células	00:20	00:45	00:10	00:30	00:30	00:30
	4 células	00:30	01:00	00:20	*	*	*
	8 células	00:45	01:30	00:45	00:45	00:45	00:45
	16 a 32 células	01:30	02:00	01:00	01:00	01:00	01:00
	64 células	02:00	03:00	01:30	01:30	01:30	01:30
Blástula	100% blástula	03:00	06:00	02:00	02:00	02:00	02:00
Gástrula	25% Epibolia	04:00	07:00	03:00	03:00	03:00	03:00
	50% Epibolia	07:00	08:00	04:00	04:00	04:00	04:00
	75% Epibolia	08:00	09:00	05:00	*	*	*
	90% Epibolia	09:00	12:00	06:00	05:00	05:00	05:00
Organogênese	Inicial	10:00	13:00	07:00	06:00	06:00	06:00
	Final	16:00	20:00	10:00	09:00	08:00	08:00
	100% cauda livre	21:00	32:00	13:00	13:00	*	11:00
Eclosão	100% eclodidas	31:00	40:00	18:00	18:00	15:00	15:00

hpf = horas após a fertilização; \* = nenhum embrião na fase correspondente.

Quando comparadas as fases de desenvolvimento embrionário dentro de cada temperatura, e entre elas, diferenças foram observadas. Foi observada que a repetição B da temperatura de 20°C demorou mais tempo para apresentar larvas eclodidas quando comparado com a repetição A (40 horas e 31 horas, respectivamente).

Entre as repetições da temperatura de 25°C não foi observada diferença no tempo de eclosão, entretanto houve diferença em 1 hora nas fases de organogênese inicial e final.

Na temperatura de 30°C não houve diferença no tempo de desenvolvimento embrionário quando comparadas as duas repetições. Contudo, a eclosão à temperatura de 25°C ocorreu 3 horas depois, e, quando comparado a temperatura de 20°C, houve uma diferença de 16 horas da repetição A e 25 horas da repetição B.

Pode-se observar a presença de larvas eclodidas com malformações nas temperaturas de 25°C e 30°C. Estas corresponderam a 17% e 58% consecutivamente (figura 4).

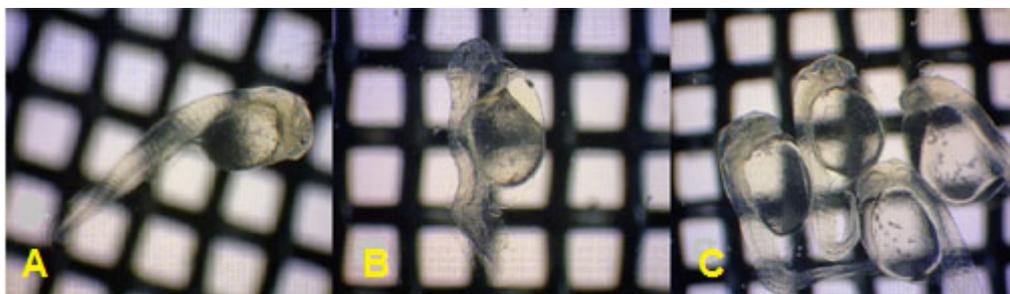


Figura 4. Larvas eclodidas de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). (A) Indivíduo incubado a 25°C normal; (B) Indivíduo incubado a 25°C com malformação; (C) Indivíduos incubados a 30°C com malformações.

### Discussão

A capacidade de seleção de peixes maduros é vital para o sucesso do processo de indução da maturação final e desova, sendo considerada a etapa mais importante para o sucesso da reprodução artificial (CAROSFELD, 1989). Visto que algumas fêmeas não desovaram e outras desovaram em pequenas quantidades, pode-se considerar que as fêmeas selecionadas para a indução a desova não estavam em estágio de desenvolvimento gonadal adequado. Por este motivo, a indução com o extrato de hipófise de carpa não surtiu o efeito esperado.

Embriões e larvas de peixes são organismos muito sensíveis a variações dos parâmetros físicos e químicos que ocorrem na água (LAURENCE et. al., 1981), sendo que a temperatura é considerada um dos fatores que mais afetam o desenvolvimento desses organismos (ROGERS et. al., 1981). Okamoto (2004) comenta que a duração do período embrionário é fortemente influenciada por este parâmetro.

Segundo Lasker (1964), a incubação de ovos em temperaturas elevadas acelera o processo biológico, resultando em um período de incubação menor do que os incubados em temperaturas mais baixas. Esta informação corrobora com os dados obtidos no presente trabalho, visto que o tempo de

desenvolvimento embrionário observado foi menor nas temperaturas de 20°C e 25°C quando comparada a de 30°C.

Segundo Almeida (2007), a eclosão das larvas de lambari (*Astyanax altiparanae*) ocorreu após 8 horas de incubação à temperatura de 26°C ±1. Entretanto, a reprodução foi induzida por extrusão de gametas.

Em estudos realizados por Sato et. al. (2006), por sua vez, a eclosão das larvas de *Astyanax bimaculatus* ocorreu após 17 horas de incubação, estando a água com temperatura entre 24°C e 25°C. No presente trabalho, quando em 20°C, as larvas demoraram de 31 a 40 horas para eclodir, valores próximos as 36 horas observadas por Sato et. al. (2006), com a temperatura da água a 18°C. Quando em 25°C e 30°C, neste trabalho, as larvas eclodiram em 18 e 15 horas, respectivamente. Segundo o mesmo autor, com a temperatura da água a 23°C e 28°C, a eclosão ocorreu em 18 e 15 horas, respectivamente, com *Astyanax bimaculatus*.

Os efeitos da temperatura também podem estar associados à presença de anomalias (Abdel et. al., 2004). Segundo estes autores, em razão da elevação da temperatura, a aceleração do desenvolvimento embrionário e larval pode provocar malformações nos peixes. Os resultados deste estudo mostram que a faixa de temperatura testada extrapola o intervalo ótimo para a incubação de ovos de *Astyanax altiparanae* pela elevada incidência de deformidades em larvas eclodidas a temperatura de 30°C.

### **Conclusão**

Os resultados sugerem que a temperatura mais adequada para o desenvolvimento embrionário do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) é em 25°C ±1°C, pois a temperatura de 20°C ±1°C o desenvolvimento é muito lento e variável, e a temperatura de 30°C há maior presença de larvas deformadas.

### **Referências Bibliográficas**

ABDEL, I.; ABELLÁN, E.; LÓPEZ-ALBORS, O.; 2004. Abnormalities in the juvenile stage of sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*) reared at different

temperatures: types, prevalence and effect on growth. **Aquaculture International**, v.12, n. 6, p. 523–538.

AGOSTINHO, C. A.; MOLINARI, S. L.; AGOSTINHO, A. A.; VERANI, J. R. 1984. Ciclo reprodutivo e primeira maturação sexual de fêmeas do lambari, *Astyanax bimaculatus* (L.) (Osteichthyes – Characidae) do rio Ivaí, Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 44, n.1, p. 31-36.

ALMEIDA, C. B. R. 2007. ***Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes) como modelo biológico de espécie de peixe para exploração zootécnica e biomanipulação**. Tese (Doutorado em aquicultura), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 110p.

ALVES, M. S. D., MOURA, A. 1992. **Estádios de desenvolvimento embrionário de curimatã-pioa *Prochilodus affinis* (Reinhardt, 1874) (Pisces, Prochilodontidae)**. In: ENCONTRO ANUAL DE AQUICULTURA DE MINAS GERAIS. Anais - Três Marias: CODEVASF, p. 61-71.

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

BLAXTER, J. H. S. 1988. The effect of temperature on larval fishes. Netherlands. **Journal of Zoology**, v. 42, p. 336-357.

CAROSFELD, J. 1989. **Reproductive physiology e induced breeding of fish as related to culture of *Colossomas***. In: Armando Hernandez, editor. Cultivo de *Colossoma* (SUDEPE – Colciências - CIID), Canadá, p. 37-73.

COOK, M. A.; GUTHRIE, K. M.; RUST, M. B.; PLESHA, P. D. 2005. Effects of salinity and temperature during incubation on hatching and development of lingcod *Ophiodon elongatus* Girard, embryos. **Aquaculture Research**, v. 36, p. 1298-1303.

GÉRY, J. 1977. **Characoids of the worlds**. New Jersey, T.F.H. Publications, 672 p.

GARUTTI, V.; BRITSKI, H. A. 2000. Descrição de uma espécie nova de *Astyanax* (Teleostei: Characidae) da bacia do alto rio Paraná e considerações sobre as demais espécies do gênero na bacia. **Comunicações do Museu Ciência e Tecnologia, Série Zoologia**, v. 13, p. 65-88.

JOHNS, D. M.; HOWELL, W. H. 1980. Yolk Utilization in Summer Flounder (*Paralichthys dentatus*) Embryos and Larvae Reared at Two Temperatures. **Marine Ecology**, v. 2, p. 1-8.

KAMLER, E. 1992. **Early Life History of Fish: An Energetics Approach**. London: Chapman & Hall. 288p.

KINNE, O.; KINNE, E. M. 1962. Rates of development in embryos of a cyprinodont fish exposed to different temperature-salinity-oxygen combinations. **Canadian Journal of Zoology**, v. 40, p. 231-253.

KLIMOGIANNI, A.; KOUMOUNDOUROS, G.; KASPIRIS, P.; KENTOURI, M. 2004. Effect of temperature on the egg and yolk-sac larval development of common Pandora, *Pagellus erythrinus*. **Marine Biology**, v. 145, n.5, p. 1015-1022.

LASKER, R. 1964. An Experimental study of the effects of temperature on the incubation time, development, and growth of pacific sardine embryos and larvae. **Copeia**, p. 399-405.

LAURENCEL, G. C.; HOWELL, W. H. 1981. Embryology and influence of temperature and salinity on early development and survival of yellowtail flounder *Limanda ferruginea*. **Marine Ecology – Progress Series**, v. 6, p. 11-18.

MATKOVIC, M.; CUSSAC, V. E.; CUKIER, M.; GUERRERO, G. A.; MAGGESE, M.C. 1985. Desarrollo embrionario de *Rhamdia sapo* (Valenciennes, 1840) Eigenmann y Eigenmann, 1888 (Pisces, Pimelodidae). I. Segmentación, morfogénesis y organogénesis temprana. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 45, p. 39-50.

OKAMOTO, M. H. 2004. **Efeitos da temperatura sobre ovos e larvas do linguado *Paralichthys orbignyanus***. Dissertação (Mestrado em aqüicultura), Universidade Federal do Rio Grande, 27p.

PORTO-FORESTI, F.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F.; CASTILHO-ALMEIDA, R. B. 2001. Cultivo do Lambari: Uma espécie de pequeno porte e grandes possibilidades. **Panorama da Aqüicultura**, v.11, n. 67, p. 15-19.

REYNALTE-TATAJE, D.; E. ZANIBONI-FILHO; B. MUELBERT. 2001. Stages of the embryonic development of the piavuçu *Leporinus macrocephalus* (Garavello & Britski, 1988). **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 4, p. 823-827.

ROGERS, B. A.; WESTIN, D. T. 1981. Laboratories studies on effects of temperature and delayed initial feeding on development of striped bass larvae. **American Fisheries Society**, v. 100, p. 100-110.

SAKA, S., FIRAT, K., ÇOBAN, D. 2004. Development of the common dentex (*Dentex dentex*) eggs in relation to temperature. **Aquaculture Research**, v. 35, n. 3, p. 224-231.

SATO, Y; SAMPAIO, E. V.; FENERICH-VERANI, N.; VERANI, J. R. 2006. Biologia reprodutiva de duas espécies de Characidae (Osteichthyes, Characiformes) da bacia do São Francisco, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 23, n. 1, p. 267-273.