

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CAMILA VALENTE MAIOLINO

DESENVOLVIMENTO INICIAL DO CRÂNIO- MANDÍBULA DE
Rhamdia quelen (Siluriformes: Heptapteridae)

CURITIBA

2009

CAMILA VALENTE MAIOLINO

**DESENVOLVIMENTO INICIAL DO CRÂNIO-MANDÍBULA DE
Rhamdia quelen (Siluriformes: Heptapteridae)**

Monografia apresentada à disciplina de Estágio em Biologia Celular como requisito parcial à conclusão do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof^a Dr^a Flavia Sant'Anna Rios

CURITIBA

2009

Dedico este trabalho a meus pais e avô, que me proporcionaram uma educação adequada para respeitar, estudar e admirar o mundo natural. Devo minha escolha e paixão pela profissão a eles.

Agradeço muito a meus pais, Nancy e Claudio, pela presença e apoio em todas as etapas da minha vida. A minha orientadora Flavia, por toda a paciência e confiança que depositou em mim, além da ajuda profissional. Ao MSc. Fernando A. Sedor (Museu de Ciências Naturais – UFPR) e ao colega André M. Fontanelli pelo auxílio com a técnica. Ao técnico Jorge Daniel Mikos e ao Prof. Dr. Peter G. Kirschnik, pela ajuda e pela utilização das dependências do Setor de Piscicultura (LAPEP - PUCPR) durante as desovas induzidas. Às colegas de trabalho Alana M. Rodrigues-Galdino e Patrícia R. Ströher, pela disposição e auxílio durante a acomodação dos embriões e registro fotográfico.

Um obrigado muito especial a todos os meus amigos queridos da biologia, da equipe do laboratório de Biologia Adaptativa, do Museu de Ciências Naturais e do Colégio Militar de Curitiba, que estiveram sempre ao meu lado, seja em momentos de alegria ou desespero, com os melhores conselhos, piadas e companhia.

A todos vocês, muito obrigada!

RESUMO

A ontogenia inicial do crânio do peixe *Rhamdia quelen* foi descrita durante 13 estádios, sendo o primeiro equivalente ao momento da eclosão, 5 estádios larvais e 7 estádios pós-larvais, totalizando 26 dias de desenvolvimento a 26°C. O objetivo deste estudo foi descrever o desenvolvimento inicial do esqueleto da região cefálica da espécie *Rhamdia quelen*, identificando os principais centros de ossificação, a seqüência de aparecimento e a morfologia de seus principais componentes. Foi empregada a técnica de diafanização e coloração do esqueleto, que precisou ser adaptada para organismos de tamanho reduzido. A análise do material processado foi feita sob estereomicroscópio. No momento da eclosão nenhum componente esquelético cefálico foi visualizado. Após um dia de desenvolvimento, as larvas apresentavam as cartilagens iniciais de formação do neurocrânio e componentes do arco mandibular e hióide (viscerocrânio) em formação. Com 48h de desenvolvimento pós-eclosão (hpe), notou-se grande aumento de complexidade do condrocrânio. As cápsulas óticas e arcos branquiais começam a se desenvolver e as trabéculas marginais partem como processos da porção anterior das cápsulas óticas em formação. Com 72h de desenvolvimento, as trabéculas *cranii* (cartilagens pré-cordais) unem-se anteriormente formando a placa etmoidal. Com 96hpe, verifica-se o aparecimento da lâmina orbitonasal e a união das trabéculas marginais com a placa etmoidal, delimitando a região da narina. De 96hpe até o primeiro estágio pós-larval estudado (7 dias), notam-se poucas alterações no desenvolvimento craniano de *R. quelen*, mas os primeiros centros de ossificação aparecem, sendo estes referentes a placas dérmicas associadas aos últimos arcos branquiais. Em pós-larvas com 11 dias de desenvolvimento pós-eclosão (dpe), verifica-se o aparecimento do centro de ossificação basioccipital, sobre a porção anterior da notocorda e a presença de otólitos (dois por cápsula ótica). Os ossos dentários e opérculos começam a ser formados. Com 14 dpe, os ossos pré-maxilares começam a ossificar. Os centros de ossificação exoccipitais e paraesfenóide aparecem próximos ao basioccipital; as cartilagens hipoiais são formadas e verifica-se o início da ossificação de certos componentes dos arcos branquiais 17 dias após a eclosão. Com 21 dpe, a ponte epifisial é formada e as cartilagens ceratoiais e osso angular começam a ossificar. Os ossos dérmicos maxilares, interoperculares e pteróticos também iniciam seu desenvolvimento. No último estágio analisado neste estudo (25 dpe), a ossificação dos arcos branquiais avança e o centro de ossificação paraesfenóide une seus prolongamentos na região anterior. Os resultados do presente estudo demonstram que, como esperado, o desenvolvimento inicial do crânio de *R. quelen* é semelhante ao descrito para espécies de teleosteos, apresentando algumas particularidades típicas da Ordem Siluriformes, em decorrência da morfologia e hábitos destes animais. Embora as estruturas cranianas apresentem baixa complexidade no momento da eclosão, o aparato bucal necessário para a captura de alimento, bem como o aparato branquial, desenvolve-se durante o período larval e pós-larval, permitindo o início da alimentação exógena.

Palavras-chave: Dermatocrânio. Diafanização. Jundiá. Neurocrânio. Viscerocrânio.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Exemplares juvenis de *Rhamdia quelen*.....2
- Figura 2** - Esquema comparativo da vista dorsal da parte anterior do corpo de (A) *Pimelodella* (Pimelodidae) e (B) *Rhamdia* (Heptapteridae).....4
- Figura 3** - Etapas do processo de diafanização e coloração do esqueleto de pós-larva de *Rhamdia quelen*, 21 dia pós-eclosão.....11
- Figura 4** - Região cefálica de larva de *Rhamdia quelen* recém eclodida, diafanizada e corada.....16
- Figura 5** - Larvas de *Rhamdia quelen* com 24 horas de desenvolvimento pós-eclosão diafanizadas e coradas.....17
- Figura 6** - Larvas de *Rhamdia quelen* com 48 horas de desenvolvimento pós-eclosão diafanizadas e coradas.....18
- Figura 7** - Larvas de *Rhamdia quelen* com 96 horas de desenvolvimento pós-eclosão diafanizadas e coradas.....20
- Figura 8** - Pós-larva de *Rhamdia quelen* com 11 dias de desenvolvimento pós-eclosão, diafanizada e corada.....22
- Figura 9** – Pós-larvas de *Rhamdia quelen* com 17 dias de desenvolvimento pós-eclosão, diafanizadas e coradas.....24
- Figura 10** – Pós-larvas de *Rhamdia quelen* com 21 dias de desenvolvimento pós-eclosão, diafanizadas e coradas.....25
- Figura 11** – Pós-larvas de *Rhamdia quelen* com 25 dias de desenvolvimento pós-eclosão, diafanizadas e coradas.....27

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Principais eventos observados no desenvolvimento inicial do crânio de <i>Rhamdia quelen</i> em cada um dos 13 estádios estudados.....	15
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

- An** – angular (ossificação)
bb I, II e IV – cartilagem basibrânquial I, II e IV
bo – centro de ossificação basioccipital
cb 1, 2, 3, 4 e 5 – cartilagens ceratobrânquiais 1, 2, 3, 4 e 5
ch – cartilagens ceratóias
co – cápsulas óticas
csa – canal semicircular anterior
csp – canal semicircular posterior
De – dentário (ossificação)
eb 1, 2, 3 e 4 – cartilagens epibrânquiais 1, 2, 3 e 4
fbc – forâmen basicapsular
fj – forâmen jugular
hh – cartilagens hipoiais
hm – cartilagens hiomandibulares
hp 1, 2 e 3 – cartilagens hipobrânquiais 1, 2 e 3
ih – cartilagens interiais
lon – lâmina orbitonasal
Mc – cartilagens de Meckel
Mx – maxilar (ossificação)
Op – opérculo (ossificação)
ot – otólitos
pc – cartilagens paracordais
pcor – processo coronóide da cartilagem de Meckel
pd – placa dérmica munidas de dentes
pe – placa etmoidal
Pesf – centro de ossificação paraesfenóide
Pm – pré-maxilar (ossificação)
pop – processo opercular da cartilagem hiomandibular
pp – processo pterigóide
ppe – ponte epifisial
Qu – quadrado (ossificação)

qu – cartilagens quadradas

rb – raios branquiostegais

tc – trabéculas *cranii*

tm – trabéculas marginais

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	8
3 MATERIAL E MÉTODOS	9
3.1. Obtenção e incubação dos embriões.....	9
3.2. Amostragens de larvas e pós-larvas.....	9
3.3. Fixação.....	10
3.4. Diafanização e coloração do esqueleto.....	10
3.5. Captura de imagens.....	13
4 RESULTADOS	15
4.1. Eclosão (Estádio 25).....	16
4.2. Larva 24h (Estádio 27).....	17
4.3. Larva 48h (Estádio 27 ⁺).....	17
4.4. Larva 72h (Estádio 28).....	19
4.5. Larva 96h (Estádio 28 ⁺).....	19
4.6. Larva 120h (Estádio 28 ⁺⁺).....	20
4.7. Pós-larva 7 dias (Estádio 29).....	21
4.8. Pós-larva 11 dias (Estádio 29 ⁺).....	21
4.9. Pós-larva 14 dias (Estádio 29 ⁺⁺).....	23
4.10. Pós-larva 17 dias (Estádio 30 ⁻).....	23
4.11. Pós-larva 21 dias (Estádio 30).....	25
4.12. Pós-larva 23 dias (Estádio 30 ⁺).....	26
4.13. Pós-larva 25 dias (Estádio 30 ⁺⁺).....	27
5 DISCUSSÃO	29
6 CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS	35

1. INTRODUÇÃO

Os peixes exibem grande diversidade na sua morfologia, habitat ocupado e biologia. Primeiramente, é importante esclarecer que o termo “peixe” é utilizado de diversas formas no meio científico. Para alguns, o termo refere-se apenas a gnatostomados (peixes com mandíbula). Para outros, inclui tanto os peixes mandibulados, quanto os agnatos (sem mandíbula). De qualquer maneira não é possível considerar o grupo peixes como monofilético a partir dessas concepções, uma vez que, mesmo possuindo ancestral comum, ele exclui os tetrápodes. Sem caráter filogenético, os peixes podem ser definidos como vertebrados aquáticos, que apresentam brânquias durante a vida e apêndices locomotores (quando presentes) em forma de nadadeiras (NELSON, 1994).

Os “peixes ósseos” (Osteichthyes) constituem o maior grupo vivente de Vertebrata. Seus primeiros fósseis datam do final do Siluriano e, durante o Devoniano, verifica-se uma grande radiação deste grupo, divergindo em peixes com nadadeiras raiadas (Actinopterygii) e peixes com nadadeiras lobadas (Sarcopterygii) (SCHULTZE, 1993). Esta radiação deve-se principalmente a especialização dos mecanismos de alimentação, diretamente relacionada a um aumento da mobilidade dos ossos do crânio e do aparelho bucal (POUGH *et al.*, 2003).

Apesar do nome, a presença de ossos não é uma característica exclusiva dos Osteichthyes. Evidências fósseis sugerem que grupos anteriores não apenas apresentavam ossificação, mas muitos eram mais ossificados do que alguns grupos viventes atualmente (LAGLER *et al.*, 1962). De qualquer forma a antiga classe Osteichthyes hoje é considerada parafilética, mas permanece sendo utilizada como forma de referir-se a Actinopterygii e Sarcopterygii, sem incluir as demais classes de Gnatostomata (NELSON, 1994).

Os Actinopterygii compõem o grupo de gnatostomados do qual se derivou a maioria dos peixes atuais. Apesar da grande diversidade de características derivadas no grupo, sugere-se que seja monofilético. Divide-se nos grupos Condrostei, Holostei e Teleostei, sendo que este último compreende cerca de 96% dos peixes viventes (BONE *et al.*, 1995).

O peixe empregado no presente estudo foi o bagre dulcícola *Rhamdia quelen* (QUOY & GAIMARD, 1824), pertencente à Ordem Siluriformes. Dentre os

teleósteos, a ordem dos siluriformes constitui um grupo de grande sucesso evolutivo, diversidade e distribuição. Porém, suas relações filogenéticas são ainda bastante incertas. Compõe-se de 34 famílias, 412 gêneros e aproximadamente 2400 espécies (NELSON, 1994).

Rhamdia quelen (Fig. 1) é encontrado comumente em rios, lagos e reservatórios na América do Sul e Central (GOMES *et al.*, 2000; PERDICES *et al.*, 2002; SCHULZ; LEUCHTENBERGER, 2006). Popularmente, as espécies do gênero *Rhamdia* são chamadas de jundiá, apresentando diversos sinônimos em todo o território nacional, como jandiá, jundiá-tinga e mandi, dentre outros (BALDISSEROTTO; RADÜNZ-NETO, 2004).



Figura 1 - Exemplos juvenis de *Rhamdia quelen*. FONTE: Imagem gentilmente cedida por Peter G. Kirschnik (PUC-PR).

A classificação deste gênero ainda é bastante discutida, sendo inicialmente inserido na família Pimelodidae, com quase 100 espécies. Em 1996, Silfvergrip¹ (*apud* BALDISSEROTTO; RADÜNZ-NETO, 2004; GOMES *et al.*, 2000) realizou uma revisão taxonômica baseada em morfologias internas e concluiu que para este gênero havia apenas 11 espécies. No entanto, muitos pesquisadores acreditam que a classificação de *Rhamdia quelen* esteja incorreta, sendo comum entre os especialistas em Siluriformes dividir a família Pimelodidae em Pimelodidae, Heptapteridae e Pseudopimelodidae. Nesta classificação, *R. quelen* pertenceria à família Heptapteridae (BALDISSEROTTO; RADÜNZ-NETO, 2004; FROESE; PAULY, 2007). A espécie *R. quelen* também é referida em textos mais antigos como

¹ SILFVERGRIP, A.M.C. (1996). **A systematic revision of the neotropical catfish genus *Rhamdia* (Teleostei, Pimelodidae)**. PhD (Thesis) – Department of Zoology, Stockholm University and Department of Vertebrate Zoology, Swedish Museum of Natural History, Stockholm, Sweden, 156p.

R. branneri, *R. sapo*, *R. hilarii*, e *R. sebae*. Por ser uma espécie endêmica, de fácil reprodução e outras propriedades zootécnicas apropriadas, seu cultivo vem aumentando no sul do Brasil, apresentando boa aceitação pelo mercado consumidor (GOMES *et al.*, 2000).

De modo geral, formas jovens de bagres facilitam estudos de desenvolvimento morfológico, uma vez que esses peixes produzem grande número de ovos, normalmente maiores do que outras espécies de teleósteos, facilitando assim seu manuseio para estudos descritivos e experimentais (NORTHCUTT, 2003). No caso do jundiá particularmente os ovos não se destacam pelo tamanho, medindo aproximadamente 1 mm de diâmetro, mas são produzidos em grande quantidade e não são adesivos (GOMES *et al.*, 2000), o que facilita a sua incubação e coleta.

Os principais estádios de desenvolvimento da espécie foram previamente descritos (GODINHO *et al.*, 1978², *apud* PEREIRA *et al.* 2006, LUCHINI; RANCEL, 1981; PEREIRA *et al.*, 2006; RODRIGUES-GALDINO, 2006; RODRIGUES-GALDINO *et al.*, *in press*). Seus ovos são esféricos e translúcidos, com espaço perivitelínico bem definido e córion resistente. Suas larvas, quando incubadas a 26°C, eclodem com cerca de 27 horas após a fertilização (RODRIGUES-GALDINO, 2006) e parecem ter certa aversão a luz, chegando a se alimentar melhor e crescer mais rapidamente quando incubadas em ambientes escuros (PIAIA *et al.*, 1999; BEHR *et al.*, 1999). Este comportamento pode ser decorrente dos próprios hábitos da espécie, que é onívora e noturna (SCHULZ; LEUCHTENBERGER, 2006).

R. quelen possui desenvolvimento similar ao de outras espécies do gênero *Rhamdia*, todavia poucas informações a respeito da osteologia deste gênero encontram-se descritas (BICHUETTE; TRAJANO, 2005). Podem ser consideradas autapomorfias osteológicas do gênero a presença de fontanela interrompida no nível da borda posterior do olho e o processo occipital estreito e curto, não atingindo a placa pré-dorsal (Fig. 2). A superfície superior do crânio normalmente é recoberta por uma pele fina e a cabeça é comprimida dorso-ventralmente (BRITSKI *et al.*, 1999).

² GODINHO, H. M., FENERICH, N. A., NARAHARA, M. Y. (1978) Desenvolvimento embrionário e larval de *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1840) (Siluriformes, Pimelodidae). **Revista Brasileira de Biologia**, 38 (1): 151-156.

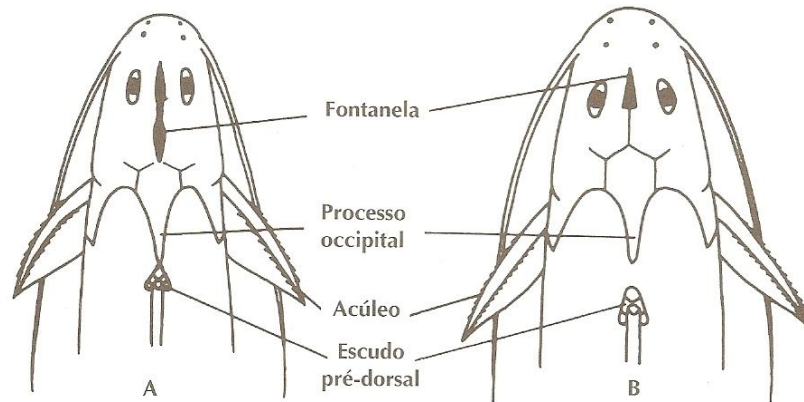


Figura 2 – Esquema comparativo da vista dorsal da parte anterior do corpo de (A) *Pimelodella* (Pimelodidae) e (B) *Rhamdia* (Heptapteridae). FONTE: Britski *et al.*, (1999), p. 175.

Para os vertebrados de forma geral, o crânio corresponde à estrutura mais amplamente estudada e documentada sob o ponto de vista morfogenético (TORREY, 1978). Para Adriaens e Verraes (1997), no entanto, grande parte dos estudos referentes a peixes prioriza componentes ósseos do crânio e, em alguns casos, somente no indivíduo adulto. Em 1937, de Beer reuniu seus trabalhos anteriores publicando um dos livros mais importantes sobre o desenvolvimento do crânio de vertebrados, padronizando nomenclaturas até então bastante diversas.

Nas últimas décadas o interesse pelo estudo do crânio dos vertebrados, seu desenvolvimento e evolução tem aumentado. Segundo Hanken e Hall (1993), isso se deve a diversos fatores, como o aumento de tecnologias empregadas e o grande desenvolvimento da sistemática de vertebrados, o que torna o crânio uma fonte importante para a busca de características que possam ser usados no estudo filogenético. Também se observa o surgimento de uma nova tendência para o estudo ontogenético, relacionando-o com o processo evolutivo. Segundo Carroll (2006, p.8): “O desenvolvimento está intimamente ligado à evolução, porque a diversidade morfológica surge por meio de alterações nos embriões.” O crânio torna-se especialmente importante nesse tipo de estudo por possuir a função de proteção do cérebro e de grande parte dos órgãos sensoriais localizados na cabeça (CHAI; MAXSON, 2006). Tal função acarreta em pouca flexibilidade para mudanças evolutivas, tornando essa porção do esqueleto bastante conservadora e conseqüentemente de grande importância para análises filogenéticas.

O desenvolvimento do crânio e mandíbula é bastante complexo por existirem origens distintas para cada uma de suas porções, além de diferentes tipos

e graus de ossificação (ROMER; PARSONS, 1985). Basicamente, os materiais que compõem o crânio são dois tipos de tecidos conjuntivos de origem mesenquimal: cartilagens e ossos. No entanto, esse mesênquima pode ser derivado tanto do tubo neural (crista neural), como ocorre com grande parte das cartilagens formadoras do neurocrânio, quanto da mesoderme envolvida na formação do canal alimentar (mesoderme esplâncnica), formando cartilagens do esqueleto visceral e também parte do neurocrânio (de BEER, 1937; THOROGOOD, 1993). A ossificação ainda pode ter uma terceira origem, sendo o resultado da invasão de cartilagens por vasos sanguíneos e osteoblastos, formando centros de ossificação. Neste caso a ossificação é conhecida como endocondral e os ossos resultantes deste processo, ossos de substituição. Ossos formados diretamente de precursores mesenquimais são chamados de ossos intramembranosos (de BEER, 1937).

Acredita-se que muitos ossos, especialmente alguns da cabeça, tenham evoluído de placas dérmicas, o que poderia indicar a passagem de um esqueleto externo para interno nos ancestrais dos vertebrados (TORREY, 1978). Por isso, ossos intramembranosos eventualmente também são chamados de ossos dérmicos.

Ao longo do desenvolvimento embrionário, o crânio dos vertebrados pode passar então por três estádios sucessivos: um estágio membranoso, um cartilaginoso (que se mantém em *Condrichthyes* adultos) e finalmente um estágio ósseo, em que a cartilagem é substituída por tecido ósseo, total ou parcialmente (DEVILLERS, 1958). Segundo Depew e Simpson (2006) ainda, os gnatostomados apresentam três crânios estruturalmente diferentes ao longo de sua ontogenia. Tipicamente, um crânio larval, um juvenil e finalmente um crânio adulto.

O termo crânio, assim como o termo peixes discutido anteriormente, é empregado de forma bastante variada. Normalmente, no senso comum, o termo equivale aos elementos do esqueleto cefálico. Para alguns autores, no entanto, o crânio é formado apenas por dermatocrânio e neurocrânio, excluindo-se o viscerocrânio (formado por elementos derivados dos primeiros arcos branquiais) (KENT, 2001). Para outros, o termo crânio deve ser evitado, referindo-se somente aos seus três componentes (ROMER; PARSONS, 1985).

O início do desenvolvimento do esqueleto cefálico em gnatostomados se dá com a formação de um condrocrânio, formado por cartilagens e elementos endocondrais. Este condrocrânio é composto por dois elementos chamados neurocrânio e viscerocrânio (KENT, 2001; DEPEW; SIMPSON, 2006). Num

segundo momento, a ontogenia do crânio é marcada pelo aparecimento do dermatocrânio, composto por ossos intramembranosos que recobrem e desenvolvem juntamente com o condrocrânio, sendo normalmente classificados topologicamente (DEPEW; SIMPSON, 2006).

O neurocrânio, também chamado caixa craniana (ROMER; PARSONS, 1985), constitui a base do crânio e serve de proteção para o cérebro e alguns órgãos sensoriais. Seu desenvolvimento é bastante similar em todos os gnatostomados, iniciando com o surgimento de algumas cartilagens isoladas que se desenvolvem até que possam se unir, formando placas maiores que, por sua vez, desenvolvem-se e constituem um neurocrânio cartilaginoso (KENT, 2001). Acredita-se que também a porção anterior da notocorda tenha participação na indução da formação do neurocrânio (DEPEW; SIMPSON, 2006). Ao longo do desenvolvimento do neurocrânio são formados vários centros de ossificação nas regiões occipital, esfenóide, etmóide e ótica, que se ampliam até que a estrutura se torne parcial ou totalmente ossificada (KENT, 2001).

O viscerocrânio, também chamado esplanococrânio (ADRIAENS; VERRAES, 1997; DEPEW; SIMPSON, 2006), complexo palatino (ROMER; PARSONS, 1985) ou simplesmente, esqueleto visceral (de BEER, 1937; SCHULTZE, 1993), corresponde ao esqueleto formado por elementos derivados de arcos branquiais, os quais formam a base da arcada superior e inferior, ou arco mandibular (ROMER; PARSONS, 1985; DEPEW; SIMPSON, 2006) e arco hióide (KENT, 2001). Alguns autores incluem também os arcos branquiais como esqueleto visceral. Basicamente, podem ser reconhecidos dois elementos principais no arco mandibular: o palato quadrado (dorsalmente) e a cartilagem de Meckel (ventralmente) (KENT, 2001). Dentes podem estar conectados ao tecido conjuntivo sobre estas estruturas ou nos ossos dérmicos que as recobrem (SCHULTZE, 1993). O arco hióide, normalmente sustenta a arcada superior e inferior e os arcos branquiais, apresentando o maior número de segmentos, sustentam as brânquias e por vezes, placas dérmicas com dentes (KENT, 2001).

O dermatocrânio, também conhecido por escudo dérmico (ROMER; PARSONS, 1985) é o conjunto de ossos intramembranosos do crânio. Seus componentes são os ossos dérmicos que recobrem o neurocrânio sobre o cérebro, ossos dérmicos da arcada superior, ossos dérmicos do primeiro palato e ossos operculares (KENT, 2001). As variações encontradas nessa porção do crânio dentro

do grupo Actinopterygii são extremas, contando com variações nas proporções entre os ossos, número, forma e espessura (SCHULTZE, 1993).

Por ser um grupo bastante diversificado, os peixes apresentam diferentes especializações, de acordo com as adaptações ocorridas em cada grupo. O estudo comparativo do esqueleto cefálico de grupos relacionados pode facilitar a compreensão da história evolutiva desses grupos e a forma como a estrutura modificou-se ao longo do tempo (KURATANI, 2007). Ao longo da evolução, o que se observa é uma tendência à redução do número de ossos da cabeça (GREGORY, 1965). Isto significa que em peixes, normalmente existem muito mais estruturas para serem visualizadas, compreendidas e identificadas, aumentando a complexidade de seu estudo.

Não existem trabalhos publicados acerca do desenvolvimento da região craniana da espécie *Rhamdia quelen*. No presente estudo, a formação do esqueleto cefálico do jundiá (*R. quelen*) foi analisada desde o momento da eclosão até o início do período juvenil (30 dias após a eclosão), visando contribuir com o acúmulo de informações acerca da espécie. Por ser uma espécie de posição taxonômica ainda discutível, o estudo ontogenético do crânio pode fornecer grande número de características, que possibilitem o melhor posicionamento taxonômico e filogenético da espécie. No entanto, não se pretende neste momento fazer interpretações e discussões filogenéticas com base nos resultados obtidos, sendo esta uma possibilidade para trabalhos futuros.

2. OBJETIVOS

Objetivo Geral:

- Descrever o desenvolvimento inicial do esqueleto da região cefálica do peixe jundiá (*Rhamdia quelen*) no período larval e pós-larval.

Objetivos Específicos:

- Descrever a seqüência ontogenética da formação do esqueleto na região cefálica de *R. quelen*.
- Descrever a morfologia das principais estruturas do neurocrânio viscerocrânio e dermatocrânio durante a sua formação.
- Identificar os principais centros de ossificação do crânio.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção e incubação dos embriões

Os ovos utilizados foram obtidos e fertilizados no Laboratório de Pesquisas em Piscicultura (LAPEP) da PUC-PR (São José dos Pinhais – PR) em 25/03/09.

As matrizes foram selecionadas de acordo com o grau de maturação sexual e para a indução da desova, foi administrado extrato hipofisário de carpa diluído em soro fisiológico, seguindo o protocolo Baldisserotto e Radünz-Neto (2004). Os gametas extraídos foram armazenados em recipientes individuais para análise de volume e viabilidade até o momento da fertilização.

A mistura dos gametas foi realizada primeiramente a seco, para em seguida ser hidratada com pequena quantidade de água das incubadoras, proporcionando a fecundação de fato.

Os embriões foram transportados para o Laboratório de Biologia Adaptativa, Departamento de Biologia Celular, Setor de Ciências Biológicas da UFPR, onde foram incubados em recipientes plásticos com aproximadamente 6L, com sistema estático, aeração constante e temperatura de 26° C controlada por termostato . Devido ao pequeno tamanho dos ovos, optou-se pela não utilização de filtros, sendo por isso necessário que as incubadoras fossem sifonadas diariamente e a água renovada a cada semana. O acompanhamento do desenvolvimento foi realizado ao microscópio óptico. A partir do segundo dia após a eclosão, as larvas foram alimentadas de duas a três vezes por dia, com náuplios de artêmias vivos, incubados em água salobra com aeração a temperatura de 28°C.

3.2 Amostragens de larvas e pós-larvas

As larvas e pós-larvas foram coletadas com o uso de pipetas e transferidas primeiramente para placas de Petri, para facilitar sua captura com o mínimo de água possível.

Foram amostrados no total 13 estádios, compreendendo o momento da eclosão, 5 estádios larvais (coleta diária) e 7 estádios pós-larvais (duas coletas por semana). Cada amostra consistiu de 6 indivíduos.

3.3 Fixação

As amostras foram divididas no momento da fixação, sendo 3 indivíduos de cada estágio fixados em paraformaldeído 4% diluído em tampão PBS 0,1 M, pH 7,2 (PFA4%) e os outros 3 indivíduos fixados em formaldeído 5%. Em ambos os casos o tempo de fixação foi de 3 a 6 horas e após este período as amostras eram transferidas para álcool 70%, armazenadas sem exposição à luz e em temperatura ambiente, até o momento da diafanização, por no máximo 30 dias. O pH do fixador é extremamente importante para a preservação de estruturas mineralizadas, sendo por isso neutralizado previamente e armazenado sob refrigeração com a mínima exposição à luz, para evitar a formação de ácido (VANZOLINI, 1967)

3.4 Diafanização e coloração do esqueleto

A diafanização consiste em clarear os tecidos, possibilitando o estudo de estruturas internas. Juntamente com o uso de colorações específicas, a técnica é bastante útil para o estudo de esqueletos delicados, uma vez que mantém todos os seus componentes em suas posições originais (SOUZA, 2002). No presente estudo, a técnica foi testada e adaptada para a obtenção de melhores resultados para o material biológico em estudo, uma vez que não havia informação na literatura desta técnica em formas jovens de peixes.

Todo o material foi processado individualmente em placas de Petri de 3,5 ou 6,0 cm de diâmetro, de acordo com o tamanho do exemplar.

Antes de iniciar o processo de diafanização e coloração, os exemplares foram imersos em água de torneira por um período de 1 a 4h, para retirar o excesso de fixador ou álcool (Fig. 3 A).

Para a coloração de cartilagens, o material foi imerso em uma solução alcoólica de Azul de Alcian 8GX 0,2 mg/mL preparada conforme se segue (modificado a partir de DINGERKUS; UHLER, 1977), em volume suficiente para cobrir o exemplar (Fig. 3 B):

- 1mg de Azul de Alcian 8GX
- 4mL de álcool 95% P.A.
- 1mL de ácido acético glacial

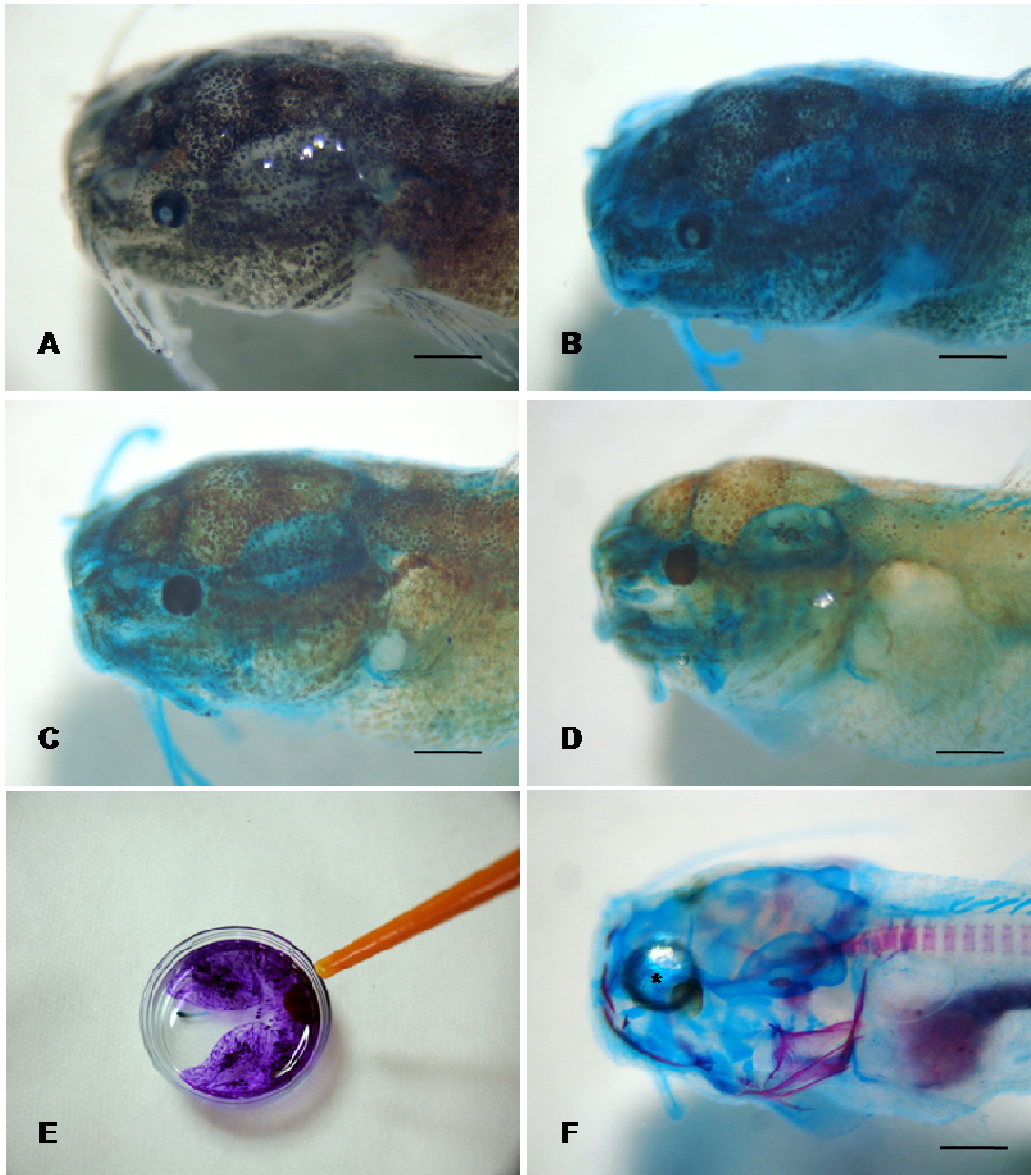


Figura 3 - Etapas do processo de diafanização e coloração do esqueleto de pós-larva de *Rhamdia quelen*, 21 dias pós-eclosão. (A) Lavagem do material em água de torneira. (B) Coloração de cartilagens com Azul de Alcian. (C) Ação inicial da solução diafanizadora (KOH 6%). (D) Larva após tratamento inicial de KOH 6%, seguido de tratamento com água oxigenada 10V por 3 minutos. (E) Adição de uma gota de solução supersaturada de Vermelho de Alizarina S. Destaque para a mudança de cor do laranja ao púrpura, quando em contato com a solução básica KOH 6%. (E) Larva diafanizada e corada, armazenada em glicerina pura. *bolha de ar presa na cavidade faríngea, formada devido ao tratamento anterior com água oxigenada 10V. Escala: 0,5 mm.

O tempo de imersão na solução corante foi definido por meio da observação do exemplar sob um estereomicroscópio, verificando a coloração nos pontos em que a presença de cartilagens é esperada, como a região cefálica e nadadeiras. Notou-se que este período varia de acordo com o fixador utilizado. Para algumas larvas fixadas em PFA 4% o tempo de coloração foi menor, levando menos de 2 horas, enquanto larvas de mesmo estágio fixadas em formaldeído 5% levaram de 5

a 7 horas para ficarem bem coradas. Segundo Hanken & Wassersug (1981), os exemplares não devem ser deixados excessivamente na solução de Alcian Blue, para evitar que tecidos ósseos comecem a perder cálcio. Isto é ainda mais preocupante no estudo do desenvolvimento, pois alguns estádios são marcados pelo primeiro aparecimento de estruturas ósseas, o que pode ser mascarado pela má administração desta etapa.

Após a coloração de cartilagens, a solução de Azul de Alcian é substituída por álcool 95% e após 15min, por álcool 70%, tendo permanecido nesta solução por mais tempo se necessário para acomodação de horários, ou iniciado o processo de diafanização após 15min.

Para o processo de diafanização, utilizaram-se soluções aquosas de hidróxido de potássio (KOH) na concentração de 6%. Os exemplares ficaram imersos nestas soluções até ser possível a visualização de estruturas internas do animal, como o olho do lado oposto ou até mesmo componentes esqueléticos (Fig. 3 C). Neste momento, procedeu-se a coloração das estruturas mineralizadas.

Exemplares muito pigmentados (normalmente pós-larvas) foram submetidos também a um tratamento com água oxigenada 10 volumes, durante o processo de diafanização. Para isso, estas amostras foram inicialmente embebidas pela solução diafanizadora (KOH 6 ou 12%) e quando encontravam-se parcialmente clarificadas, mas ainda com forte pigmentação superficial, eram transferidas para a água oxigenada 10 volumes, por um período de 3 a 5 minutos (Fig. 3 D). Depois retornavam para um novo KOH de mesma concentração anterior, aonde aguardariam um maior grau de clarificação para que suas estruturas mineralizadas pudessem ser coradas. Infelizmente, o tratamento com água oxigenada pode resultar na formação de bolhas no interior do material, muitas vezes dificultando sua análise. No entanto, sua aplicação é de grande valia para a total despigmentação do pele, o que também seria prejudicial para a análise.

Para a coloração das estruturas mineralizadas utilizou-se uma solução supersaturada de Vermelho de Alizarina S em ácido acético glacial (modificado a partir de WASSERSUG, 1976). Essa solução é utilizada em pequena quantidade (1 a 2 gotas por amostra), que deve ser adicionada à placa contendo a solução de KOH supracitada. O Vermelho de Alizarina S é freqüentemente usado como corante para estruturas contendo cálcio (LILLIE, 1977), embora possa ser também considerado como indicador ácido-base, alterando-se do amarelo para o púrpura na

faixa de pH 3,7-5,2 (Fig. 3 E) (LONG, 1961³ *apud*. LILLIE, 1977). É importante então que a solução supersaturada de Vermelho de Alizarina S seja adicionada exatamente nesta etapa, pois os tecidos estando parcialmente macerados permitem a penetração do corante

Para que os exemplares não fossem danificados por ação excessiva do hidróxido nesta etapa de coloração, em alguns casos adicionou-se pequena quantidade de glicerina. A glicerina é neutra e, portanto não interfere na coloração, mas sua consistência permite uma melhor sustentação das larvas, evitando rupturas até o fim da diafanização.

O tempo de imersão na mistura básica contendo Vermelho de Alizarina S foi variável, de 1 a 5 horas, dependendo apenas do grau de diafanização procurado.

Após a coloração das estruturas ósseas e diafanização completa das amostras, todas foram transferidas para a glicerina pura. Após alguns dias essa glicerina precisou ser trocada por nova, pois o excesso de corante a tornava levemente rosada.

Em todos os exemplares larvais e pós-larvais processados notou-se o aparecimento de pontos azuis por toda a pele do espécime. Essas pontuações são coradas pelo Alcian Blue e podem indicar a presença de células produtoras de muco. Em alguns exemplares mais tardios, ao final do processo de diafanização a pele estava rompida, sendo por isso delicadamente removida com o auxílio de agulhas. Nos espécimes mais jovens, devido à fragilidade do material esse procedimento não pode ser realizado. As amostras permanecem armazenadas em glicerina pura, abrigadas da luz (para evitar seu desbotamento), em pequenos frascos de vidro ou em placas de 24 poços, facilitando o estudo do desenvolvimento. Para garantir maior durabilidade do material processado, foram adicionados alguns cristais de Timol em todas as amostras armazenadas (DINGERKUS; UHLER, 1977; HANKEN; WASSERSUG, 1981).

3.5 Captura de imagens e identificação das estruturas

As amostras foram analisadas sobre um estereomicroscópio binocular ZEISS Stemi 2000-C. Para facilitar a compreensão e exposição do trabalho, foi feito

³ LONG, C. (1961). **Biochemist's Handbook**. Princeton, N.J.: D.Van Nostrand Co., Inc.

o registro fotográfico das várias etapas do desenvolvimento ósseo. As imagens digitais dos exemplares diafanizados e corados foram obtidas por meio de uma câmera Sony-Cyber Shot 13.6 MP, acoplada ao mesmo estereomicroscópio utilizado em sua análise.

O estadiamento da espécie foi feito de acordo com Rodrigues-Galdino *et. al.* (*in press*). A terminologia anatômica adotada neste trabalho corresponde a nomenclatura utilizada por de Beer (1937), considerando-se pequena alteração devido à tradução.

4. RESULTADOS

Os principais eventos do desenvolvimento inicial do esqueleto cefálico da espécie *Rhamdia quelen*, quando incubada a 26°C, sob condições laboratoriais, foram identificados e descritos.

A Tabela 1 resume as principais alterações observadas em cada estágio, acerca do desenvolvimento da região cefálica. Os três principais componentes do crânio (neurocrânio, dermatocrânio e viscerocrânio) foram analisados separadamente para cada estágio e encontram-se descritos a seguir. Uma vez que o dermatocrânio só começa a se formar 7 dias após a eclosão, este componente começa a ser descrito a partir deste estágio.

TABELA 1. Principais eventos observados no desenvolvimento inicial do crânio de *Rhamdia quelen* em cada um dos 13 estádios estudados.

Idade	Nº	Observações	Figura
Eclosão (Estádio 25)	5	Provável início de formação das cartilagens paracordais.	Fig. 4
Larva 24h (Estádio 27)	5	Início da formação das cartilagens pré-cordais do neurocrânio; aparecimento das cartilagens de Meckel, hiomandibulares, quadradas, interiais e início da formação das cartilagens ceratoiais do viscerocrânio.	Fig. 5
Larva 48h (Estádio 27 ⁺)	5	Início do desenvolvimento das cápsulas óticas e aparecimento das trabéculas marginais no neurocrânio. Processo pterigóide da cartilagem quadrada começa a se desenvolver. Cartilagens ceratoiais e as três primeiras ceratobranquiais formadas.	Fig. 6
Larva 72h (Estádio 28)	5	Trabéculas <i>cranii</i> unidas anteriormente, formando a placa etmoidal. A ponte epifisial começa a ser formada. As cartilagens basibrânquial I, ceratobranquiais 4 e epibrânquiais 1, 2 e 3 coram-se fracamente, indicando uma formação inicial.	_____
Larva 96h (Estádio 28 ⁺)	5	Aparecimento da lâmina orbitonasal e união das trabéculas marginais a placa etmoidal (delimitação da cavidade olfativa). As cartilagens paracordais unem-se formando a placa basal.	Fig. 7
Larva 120h (Estádio 28 ⁺⁺)	5	Formação dos pares de cartilagem epibrânquiais 4 e ceratobranquiais 5.	_____
Pós-larva 7dias (Estádio 29)	5	Alongamento da porção do processo pterigóide ligada a cartilagem quadrada. Primeiros sinais de ossificação com placas dérmicas sendo formadas próximas as cartilagens epibrânquiais 4.	_____
Pós-larva 11 dias (Estádio 29 ⁺)	5	Aparecimento do centro de ossificação basioccipital e visualização de otólitos (dois em cada cápsula ótica). Processo coronóide da cartilagem de Meckel está bem desenvolvido. Início da ossificação dos opérculos e aparecimento de dois pares de raios branquiostegais. O dentário começa a ser formado.	Fig. 8
Pós-larva 14 dias	5	Aparecimento das cartilagens hipobranquiais 1, 2 e 3 e	_____

(Estádio 29 ⁺⁺)		início da ossificação dos pré-maxilares e das cartilagens ceratobranquiais 5. Quatro pares de raios branquiostegais são visíveis.	
Pós-larva 17 dias (Estádio 30 ⁺)	5	Aparecimento dos centros de ossificação exoccipitais e paraesfenóide. O centro de ossificação basioccipital desenvolve expansões e reentrâncias. Aparecimento das cartilagens hipoiais e início da ossificação das cartilagens basibranquial I, ceratobranquiais 3 e 4 e epibrânquiais 3 e 4.	Fig. 9
Pós-larva 21 dias (Estádio 30)	4	A ponte epifisial é formada. As cartilagens ceratiais começam a ossificar, bem como suas articulações com as cartilagens interiais. A cartilagem de Meckel começa a ossificar em sua extremidade dorsal (formação do osso angular). Ossos maxilares, interoperculares e pteróticos (possivelmente) começam a se formar. Dentários e pré-maxilares bem ossificados na porção rostral.	Fig. 10
Pós-larva 23 dias (Estádio 30 ⁺)	6	O centro de ossificação paraesfenóide une-se anteriormente, assumindo a forma de uma seta. Todas as cartilagens ceratobranquiais e as epibrânquiais 2, 3 e 4 iniciaram sua ossificação	_____
Pós-larva 25 dias (Estádio 30 ⁺⁺)	6	Os processos operculares das cartilagens hiomandibulares e o primeiro par de cartilagens epibrânquiais começam a ossificar.	Fig. 11

N° = número de exemplares processados e analisados em cada estágio.

4.1. Eclosão (Estádio 25)

No momento da eclosão, aparentemente não existe nenhum componente esquelético formado. Em apenas um dos cinco exemplares processados, notam-se duas manchas azuis, próximas à porção anterior da notocorda. A posição ocupada por tais estruturas indica que seriam os primórdios das cartilagens paracordais (Fig.4).

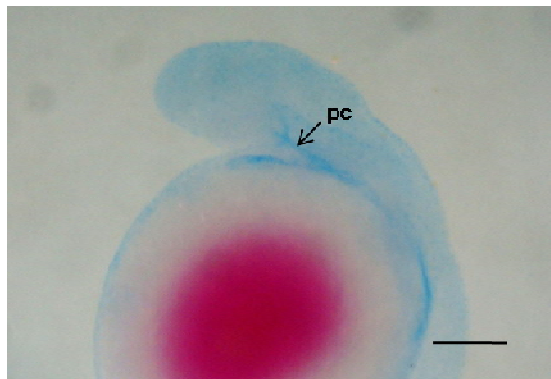


Figura 4 – Região cefálica de larva de *Rhamdia quelen* recém eclodida, diafanizada e corada. pc - cartilagens paracordais. Escala: 0,2 mm.

4.2. Larva 24h (Estádio 27)

Neurocrânio

Com um dia de desenvolvimento após a eclosão, poucas estruturas do neurocrânio estão formadas (Fig. 5). Notam-se as cartilagens paracordais, ainda pouco desenvolvidas, posteriores ao olho e próximas da cartilagem hiomandibular (viscerocrânio). Notam-se também duas manchas alongadas fracamente coradas, conectadas as cartilagens paracordais e alcançando o nível da margem anterior do olho. Por sua localização, essas marcas provavelmente representam as cartilagens pré-cordais (trabécula *cranii*) em formação.

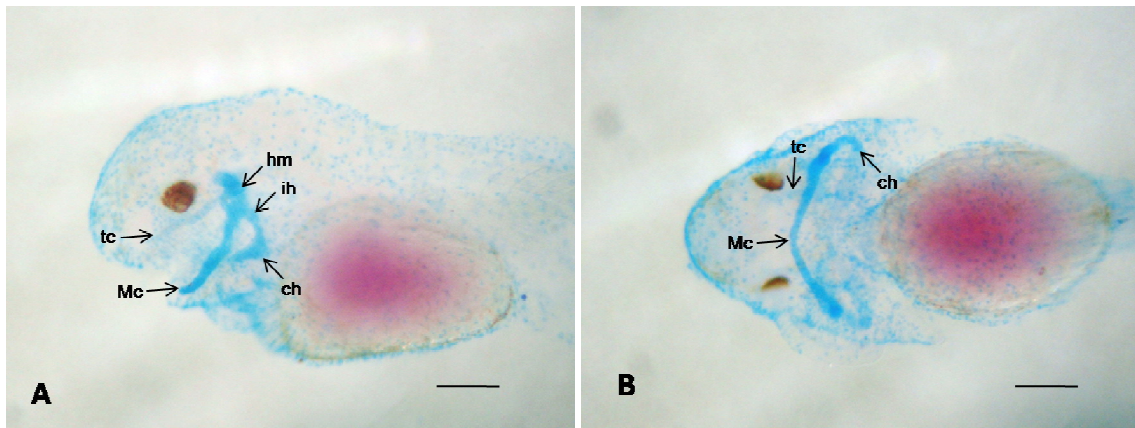


Figura 5 – Larvas de *Rhamdia quelen* com 24 horas de desenvolvimento pós-eclosão diafanizadas e coradas. (A) vista lateral; (B) vista ventral. Cartilagens: ch - ceratoial; hm - hiomandibular; ih - interial; Mc - de Meckel; tc – trabécula *cranii*. Escala: 0,2 mm

Viscerocrânio

As larvas apresentam as cartilagens de Meckel já formadas e unidas rostralmente, cartilagens hiomandibulares com o forâmen para o nervo facial definido, cartilagens quadradas e interiais, conectadas respectivamente a cartilagem de Meckel e a cartilagem ceratoial em formação. Na porção ventral da cartilagem interial, sob vista lateral, observa-se uma expansão, a qual resultará na formação da cartilagem ceratoial. (Fig. 5)

4.3. Larva 48h (Estádio 27⁺)

Neurocrânio

Ao segundo dia de desenvolvimento, observa-se um grande aumento de complexidade do neurocrânio (Fig. 6). As cartilagens pré-cordais são estruturas alongadas, que passam ventralmente próximas aos olhos. Ainda não estão unidas

em sua extremidade anterior, onde formaram a placa etmoidal. Na outra extremidade, estão unidas as cartilagens paracordais, que acompanham lateralmente a porção anterior da notocorda. A cápsula ótica começa a se desenvolver neste estágio, sendo visível uma fenestra grande na base de cada uma, com um formato irregular, pois ainda está se diferenciando em fenestras basicapsulares e forâmen jugular. As paredes laterais externas e posteriores das cápsulas óticas também começam a se erguer, sendo identificados os canais semicirculares anterior e posterior. Conectadas aos canais semicirculares anteriores, existem duas barras que se projetam para a porção anterior do crânio, paralelas às cartilagens pré-cordais, chamadas de trabéculas marginais. Embora paralelas às trabéculas *cranii*, essas cartilagens não são tão longas e passam dorsalmente próximas aos olhos.

Viscerocrânio

Neste estágio, o processo pterigóide da cartilagem quadrada começa a se desenvolver. Uma porção rostral desse processo também aparece, próxima ao barbilhão maxilar. As cartilagens ceratoiais formaram-se e quase se unem em sua porção anterior. Os três primeiros arcos branquiais começam a se formar, sendo visíveis, no entanto apenas suas cartilagens ceratobranquiais. (Fig. 6).

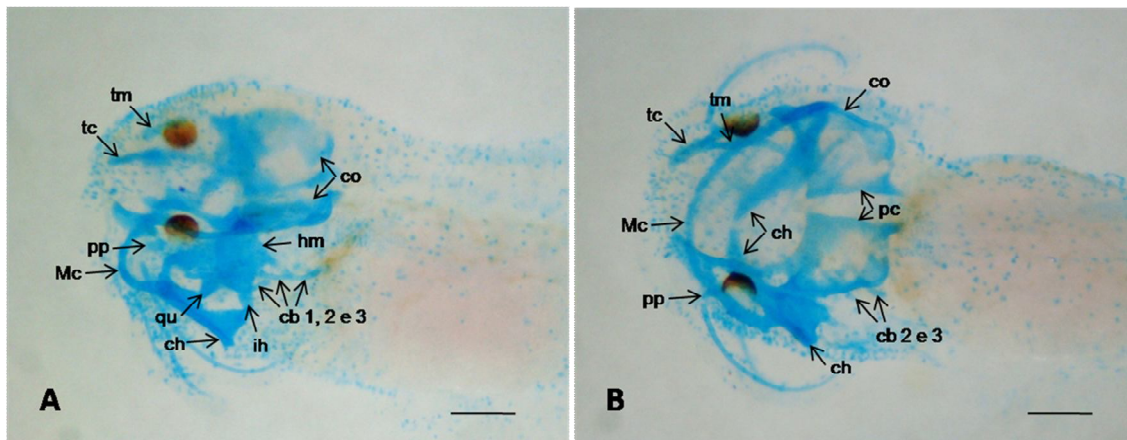


Figura 6 – Larvas de *Rhamdia quelen* com 48 horas de desenvolvimento pós-eclosão diafanizadas e coradas. (A) Vista latero-dorsal; (B) vista dorsal. cb 1, 2 e 3 – cartilagens ceratobranquiais 1, 2 e 3; ch – cartilagem ceratoial; co – cápsulas óticas; fbc - forâmen basicapsular; fj – forâmen jugular em formação; hm - cartilagem hiomandibular; ih - cartilagem interial; Mc – cartilagem de Meckel; pc – cartilagem paracordal; pp – processo pterigóide; qu – cartilagem quadrada; tc – trabécula *cranii*; tm – trabécula marginal. Escala: 0,2 mm.

4.4. Larva 72h (Estádio 28)

Neurocrânio

Com três dias de desenvolvimento, as trabéculas *cranii* chegam a se unir anteriormente, iniciando a formação da placa etmoidal. As cartilagens paracordais também se aproximam, quase se fusionando na extremidade anterior da notocorda. O teto da cápsula ótica começa a se formar, mas em sua base ainda identifica-se um único forâmen de formato irregular. Nas trabéculas marginais, forma-se um processo voltado para a região dorsal do crânio, no nível da margem anterior do olho. Esse processo dará origem à ponte epifisial.

Viscerocrânio

Verifica-se o aparecimento da cartilagem basibrânquial I entre as porções anteriores das cartilagens ceratoiais. Embora bastante próximos, esses três elementos não estão conectados. Os pares de cartilagem ceratobrânquial 1, 2, 3 e 4 e das três primeiras cartilagens epibrânquiais já são visíveis. O processo pterigóide desenvolve-se muito pouco, tanto em sua porção rostral, quanto na porção conectada a cartilagem quadrada. Na cartilagem de Meckel, verifica-se o aparecimento do processo coronóide, próximo ao contato com a cartilagem quadrada, mas voltado para a região dos olhos.

4.5. Larva 96h (Estádio 28⁺)

Neurocrânio

A placa etmoidal se desenvolve e as lâminas orbitonasais surgem como um processo em cada trabécula *cranii*, voltado para a porção dorsal do crânio e imediatamente anterior aos olhos. As trabéculas marginais alcançam a placa etmoidal e a área formada entre a lâmina orbitonasal, a trabécula marginal e a placa etmoidal, delimita a região da narina. As cartilagens paracordais finalmente se unem na extremidade anterior da notocorda, formando a placa basal. (Fig. 7)

Viscerocrânio

Neste estágio o viscerocrânio apresenta poucas alterações, sendo visível um maior desenvolvimento dos três primeiros arcos branquiais. A quarta cartilagem epibrânquial ainda não está visível, e posterior ao basibrânquial I, a segunda

cartilagem basibrânquial está começando a se formar. O processo pterigóide da cartilagem quadrada praticamente não se altera. (Fig. 7)

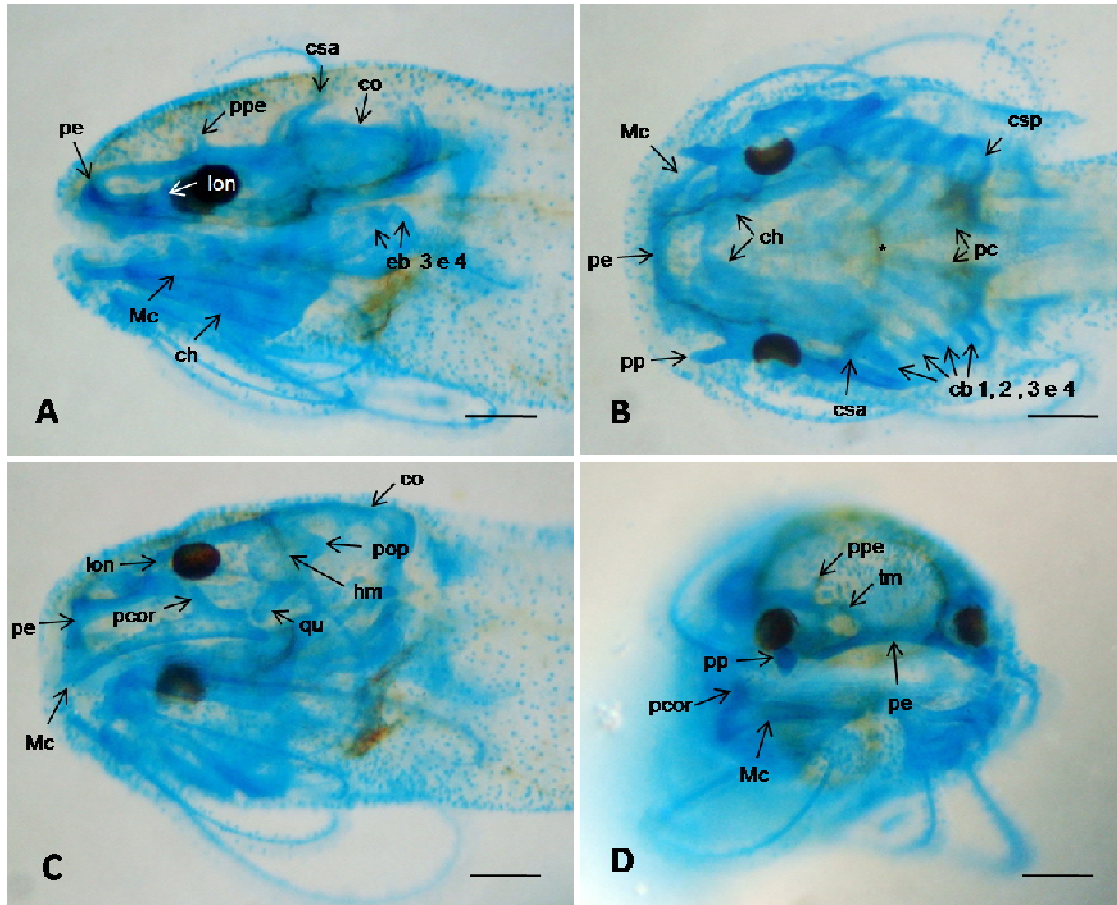


Figura 7 – Larvas de *Rhamdia quelen* com 96 horas de desenvolvimento pós-eclosão diafanizadas e coradas. (A) Vista lateral; (B) vista dorsal; (C) vista latero-ventral; (D) vista anterior, rostral. cb 1, 2, 3 e 4 – cartilagens ceratobranquiais 1, 2, 3 e 4; ch – cartilagem ceratoial; co – cápsula ótica; csa – canal semicircular anterior; csp – canal semicircular posterior; eb 3 e 4 – cartilagens epibrânquiais 3 e 4; hm – cartilagem hiomandibular; lon – lâmina orbitonasal; Mc – cartilagem de Meckel; pc – cartilagem paracordal; pcor – processo coronóide; pe – placa etmoidal; pop – processo opercular; pp – processo pterigóide; ppe: processo formador da ponte epifisial; qu – cartilagem quadrada; tm – trabécula marginal; * placa basal. Escala: 0,2 mm.

4.6. Larva 120h (Estádio 28⁺⁺)

Neurocrânio e viscerocrânio

Comparando-se as larvas de 120 horas de desenvolvimento e 96 horas, praticamente não há alteração. Com relação ao viscerocrânio, os pares de cartilagens epibrânquiais 4 e ceratobranquiais 5 já estão formados.

4.7. Pós-larva 7 dias (Estádio 29)

Neurocrânio e viscerocrânio

O neurocrânio e viscerocrânio permanecem muito similares aos dois estádios anteriores. Os processos das trabéculas marginais que formarão a ponte epifisial desenvolvem-se um pouco mais, mas ainda estão bem distantes um do outro. No viscerocrânio, notam-se que as cartilagens epibrânquiais 1, 2, 3 e 4 e as cartilagens ceratobranquiais 1, 2, 3, 4 e 5 estão mais desenvolvidas, sendo o quinto par de ceratobranquiais um pouco menor que os demais. Também a articulação entre a cartilagem de Meckel e quadrada parece bem formada. As porções posteriores das cartilagens de Meckel apresentam uma fossa perfeita para o encaixe das cartilagens quadradas. Os processos pterigóides destas últimas também estão mais desenvolvidos, alcançando o nível médio dos olhos.

Dermatocrânio

Com 7 dias de desenvolvimento após a eclosão, aparecem os primeiros sinais de ossificação e formação de componentes do dermatocrânio. Próximas e ventrais às quartas cartilagens epibrânquiais do viscerocrânio começa a se formar um par de placas dérmicas, com alguns dentes voltados para baixo (cavidade faríngea). Normalmente, essas placas com dentes são formadas abaixo das cartilagens faringobranquiais ou acima das cartilagens hipobranquiais, uma vez que as cartilagens ceratobranquiais e epibrânquiais sustentam as brânquias (KENT, 2001). No entanto, cartilagens faringobranquiais ainda não são visíveis neste estágio, mas possivelmente correspondem a região do aparecimento destas placas dérmicas. Em alguns exemplares essa ossificação é bastante inicial, sendo visíveis apenas pontuações roxas na região correspondente. Em outros, alguns dentes já podem ser visualizados.

4.8. Pós-larva 11 dias (Estádio 29⁺)

Neurocrânio

A ossificação do neurocrânio inicia-se pela placa basal, com aparecimento de um único centro de ossificação basioccipital, localizado na extremidade anterior da notocorda. Os otólitos tornam-se visíveis (dois em cada cápsula ótica). (Fig. 8).

Viscerocrânio

O processo coronóide da cartilagem de Meckel está bem desenvolvido quase tocando a porção rostral do processo pterigóide. Nenhum componente do viscerocrânio começa de fato a ossificar. No entanto, assim como no estágio anterior algumas de suas cartilagens começam a ser recobertas por ossos dérmicos. Essas ossificações serão comentadas no dermatocrânio, uma vez que não constituem ossificações de cartilagens e sim aparecimento de ossos intramembranosos.

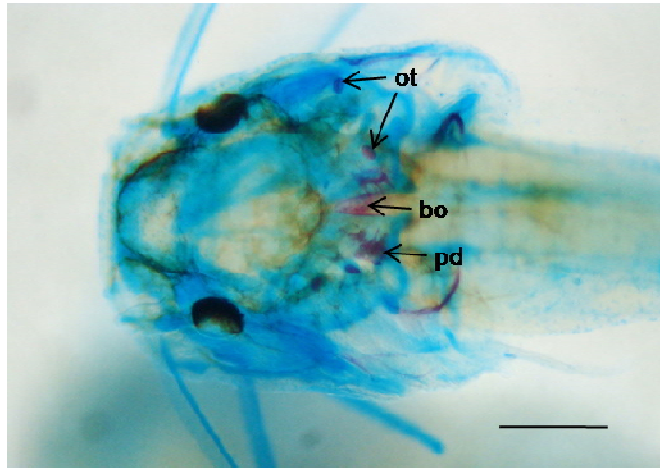


Figura 8 – Pós-larva de *Rhamdia quelen* com 11 dias de desenvolvimento pós-eclosão difanizada e corada. bo – centro de ossificação basioccipital; pd – placa dérmica com dentes; ot – otólitos. Escala: 0,5 mm.

Dermatocrânio

O opérculo começa a ossificar, sob a forma de um triângulo posterior a cartilagem hiomandibular, com apenas duas margens ossificadas. A junção dessas margens coincide com o processo opercular da cartilagem hiomandibular. Dois pares de raios branquiostegais são agora visualizados, como finos arcos de ossificação. O dentário começa a se formar ao redor da porção mais rostral da cartilagem de Meckel. Na arcada superior, são visíveis algumas pontuações abaixo da placa etmoidal, também na porção mais anterior, indicando o início da ossificação dos pré-maxilares. As placas dérmicas com dentes abaixo das quartas cartilagens epibrânquiais estão um pouco maiores e apresentam vários dentes cônicos em sua margem ventral. Posicionam-se abaixo das cápsulas óticas, próximas as margens laterais da notocorda, no entanto em um nível inferior. (Fig. 8).

4.9. Pós-larva 14 dias (Estádio 29⁺⁺)

Neurocrânio

O centro de ossificação basioccipital praticamente não avança, permanecendo ao redor da porção anterior da notocorda (Fig. 10). Os processos das trabéculas marginais tornam-se mais próximos, mas ainda não se encontram para formar a ponte epifisial.

Viscerocrânio

Neste estágio, os três primeiros arcos branquiais passam a apresentar cartilagens hipobranquiais, que ainda coram pouco, indicando que estão em formação. Estas cartilagens são menores e situam-se em pares, internas as cartilagens ceratobranquiais. A quinta cartilagem ceratobranquial começa a ossificar, também apresentando dentes voltados para a cavidade faringiana. Neste caso, a própria cartilagem parece ossificar, diferentemente do que acontece com a quarta cartilagem epibrânquial nos estádios anteriores, onde uma placa dérmica com dentes aparece próxima a sua porção ventral. Ainda neste estágio, o processo pterigóide da cartilagem quadrada apresenta um enorme desenvolvimento, chegando muito próximo de sua porção rostral.

Dermatocrânio

Os pré-maxilares aparecem como centros de ossificação finos abaixo da placa etmoidal. A ossificação do dentário, ao redor da cartilagem de Meckel avança, alcançando o processo coronóide. Os opérculos se desenvolvem pouco e 4 pares de raios branquiostegais são visíveis neste estágio, parecendo conectados a porção mais larga das cartilagens ceratobranquiais.

4.10. Pós-larva 17 dias (Estádio 30⁻)

Neurocrânio

Novos centros de ossificação do neurocrânio aparecem neste estágio. O paraesfenóide é reconhecido como um único centro de ossificação bastante fino, imediatamente anterior ao basioccipital (Fig. 9). Esse centro é bifurcado anteriormente, formando dois prolongamentos em direção a cartilagem etmoidal, que alcançam o nível da margem posterior dos olhos. Na região occipital, dois novos centros de ossificação podem ser reconhecidos, iniciando a formação dos

ossos exoccipitais (laterais ao forâmen *magnum*). Estes centros aparecem como um par de membranas ósseas, próximas, porém não conectadas, ao basioccipital. O centro de ossificação do basioccipital também começa a se diferenciar, formando duas expansões em sua porção anterior (sobre o paraesfenóide) e duas reentrâncias em sua porção posterior.

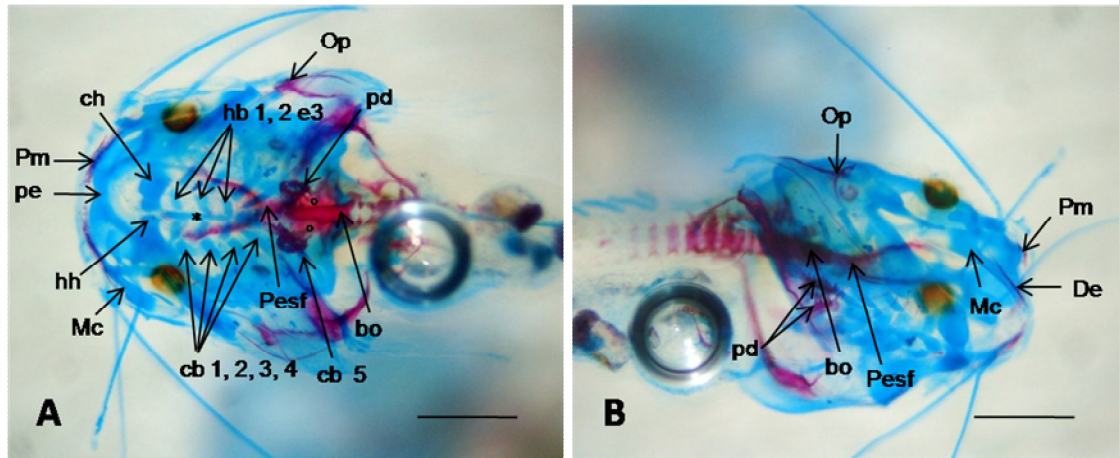


Figura 9 – Pós-larvas de *Rhamdia quelen* com 17 dias de desenvolvimento pós-eclosão, diafanizadas e coradas. (A) vista ventral; (B) Vista latero-ventral. bo – centro de ossificação basioccipital; cb 1, 2, 3, 4 e 5 – cartilagens ceratobranquiais 1, 2, 3, 4 e 5; ch – cartilagem ceratoial; De – dentário; hb 1, 2 e 3 – cartilagens hipobranquiais 1, 2 e 3; hh – cartilagem hipoial; Mc – cartilagem de Meckel; Op – opérculo; pd – placa dérmica com dentes; pe – placa etmoidal; Pesf – centro de ossificação paraesfenóide; Pm – pré-maxilar; * basibrânquio; ° centro de ossificação exoccipital. Escala: 0,5 mm.

Viscerocrânio

Os três primeiros pares de cartilagens hipobranquiais encontram-se bem formados neste estágio, bem como as duas cartilagens hipoiais, conectadas a extremidade mais larga das cartilagens ceratoiais. A cartilagem basibrânquio I começa a ossificar anteriormente. Os pares de cartilagens ceratobranquiais e epibrânquiais 3 e 4 começam a ossificar pelo centro, enquanto o quinto par de cartilagens ceratobranquiais parece mais ossificado que os outros dois, sendo o único com dentes cônicos voltados para a cavidade faríngea. O quarto par de cartilagens epibrânquiais também apresenta dentes, no entanto, como dito anteriormente, esses dentes parecem conectados a uma placa dérmica localizada ventralmente às cartilagens, pois estas ainda estão fracamente ossificadas. (Fig. 9).

Dermatocrânio

Poucas alterações são observadas no pré-maxilar, dentário e opérculos em formação. Um novo par de raios branquistegais é visualizado, totalizando agora seis pares de finos raios ossificados.

4.11. Pós-larva 21 dias (Estádio 30)

Neurocrânio

A ponte epifisial finalmente é formada, pela união dos processos dorsais das trabéculas marginais. (Fig. 10). O centro de ossificação basioccipital aumenta de tamanho e o paraesfenóide avança pouco, mas parece mais ossificado.

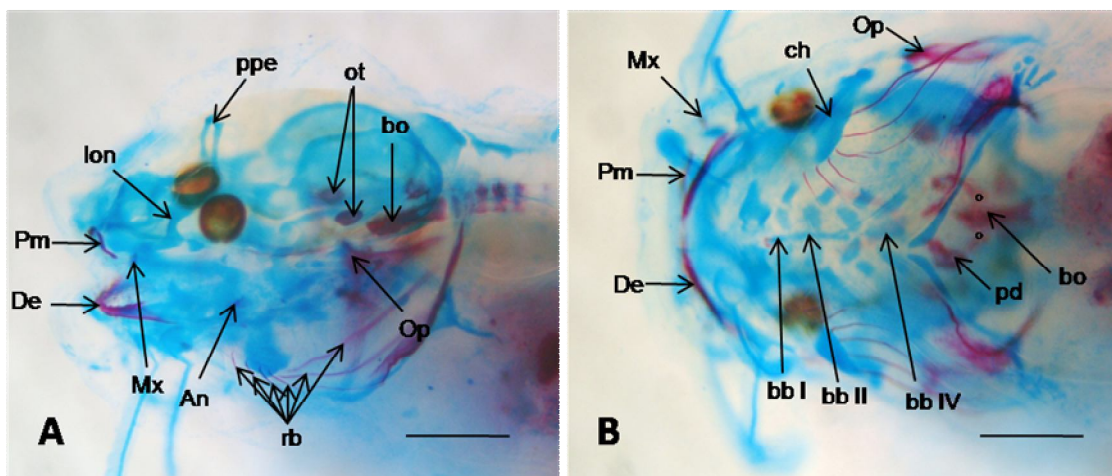


Figura 10 – Pós-larvas de *Rhamdia quelen* com 21 dias de desenvolvimento pós-eclosão, diafanizadas e coradas. (A) vista lateral; (B) vista ventral. An – angular em formação; bbl, II e IV – cartilagem basibrânquial I, II e IV; bo – centro de ossificação basioccipital; ch – cartilagem ceratoial; De – dentário; lon – lâmina orbitonasal; Mc – cartilagem de Meckel; Mx – maxilar; Op – opérculo; ot – otólito; pd – placa dérmica com dentes; Pm – pré-maxilar; rb – raios branquistegais; ° centro de ossificação exoccipital. Escala: 0,5 mm.

Viscerocrânio

As cartilagens ceratoiais começam a ossificar em suas porções anteriores e posteriores e a articulação entre a cartilagem ceratoial e o interial começa também a ossificar. As articulações entre as cartilagens quadradas e as de Meckel encontram-se ainda mais ossificadas e nesta ocasião é a própria cartilagem de Meckel que está ossificando em sua porção posterior, ao contrário do que é observado na porção anterior ou rostral, em que a cartilagem é na verdade recoberta por ossos dérmicos. Essa ossificação da cartilagem de Meckel dará origem ao osso angular. (Fig. 10).

Dermatocrânio

Os ossos maxilares começam a se formar, próximos aos barbilhões maxilares. Os ossos pré-maxilares e dentários apresentam numerosos dentes cônicos e na porção rostral aparecem bem ossificados. Posterior as cápsulas óticas é identificado um par de novas ossificações. Pela posição, podem corresponder aos primórdios dos ossos pteróticos. O opérculo está maior e mais ossificado e apresenta a forma de um grande triângulo (Fig. 10). As duas margens observadas primeiramente na formação deste osso formaram uma articulação tridimensional com o processo opercular da cartilagem hiomandibular. O osso interopercular também começa a ser formado, entre o angular (em formação) e o opérculo.

4.12. Pós-larva 23 dias (Estádio 30⁺)

Neurocrânio

Neste estágio, o centro de ossificação paraesfenóide avança em direção a cartilagem etmoidal, unindo as duas bifurcações na porção anterior e assumindo a forma de uma flecha. No entanto, continua sendo reconhecido como um osso muito fino. Os centros de ossificação exoccipitais se desenvolvem e começam a curvar para a região dorsal.

Viscerocrânio

As cartilagens ceratoiais estão bem ossificadas em uma região central, e nas suas extremidades, permanecem com uma ossificação inicial. A ossificação que acompanha a cartilagem basibrânquial I começa a formar expansões que se assemelham com um V aberto para o sentido posterior. As cartilagens ceratobranquiais 1, 2, 3 e 4 ainda apresentam uma ossificação leve (corada fracamente), mas agora essa ossificação substitui quase toda a cartilagem, faltando apenas suas extremidades. O quinto par de cartilagens ceratobranquiais ainda é o mais ossificado. As cartilagens epibrânquiais 2, 3 e 4 também começaram a ossificar pela região central.

Dermatocrânio

O dermatocrânio apresenta poucas alterações, salvo o aparecimento de um novo par de raios branquiostegais. As expansões laterais observadas na ossificação da cartilagem basibrânquial I (viscerocrânio) são provavelmente ossos

intramembranosos, pois não estão substituindo cartilagens, e por sua forma e localização e provável que dêem origem aos ossos pterigóides do palatoprímario.

4.13. Pós-larva 25 dias (Estádio 30⁺⁺)

Neurocrânio e dermatocrânio

O neurocrânio e o dermatocrânio praticamente não apresentam alterações em relação ao estágio anterior.

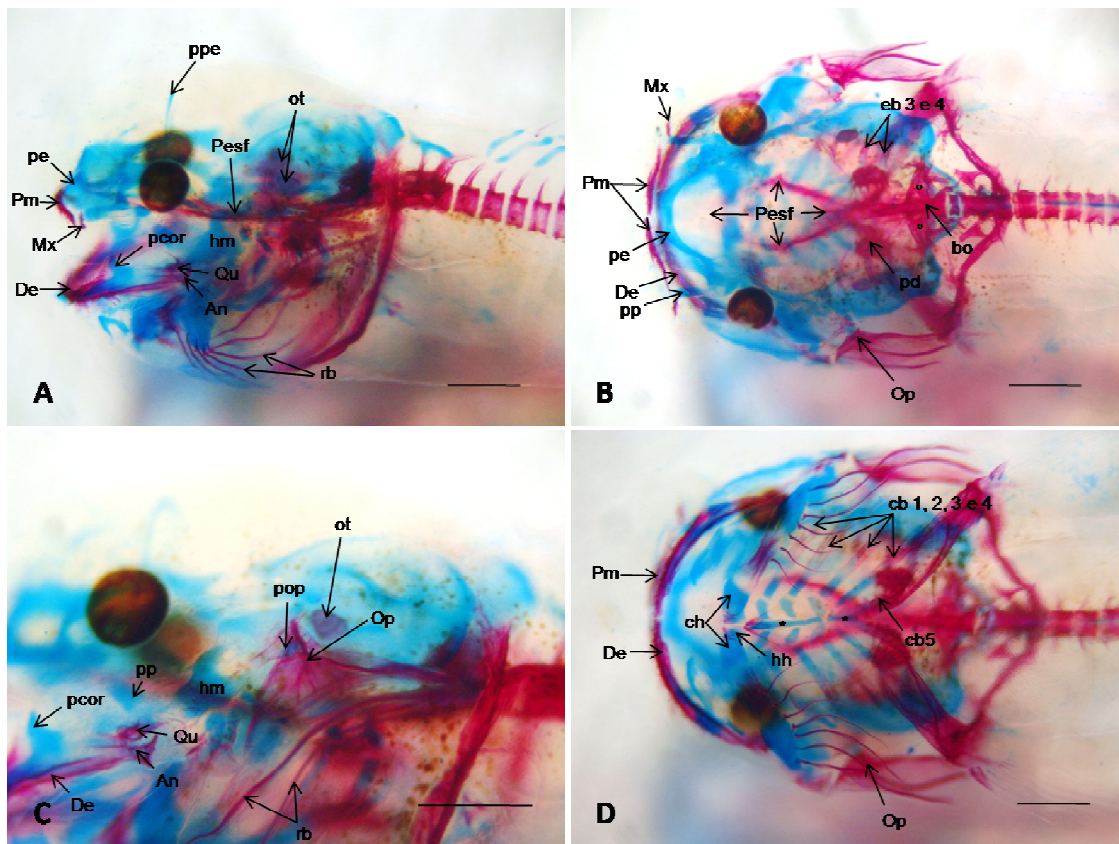


Figura 11 - Pós-larvas de *Rhamdia quelen* com 25 dias de desenvolvimento pós-eclosão, difanizadas e coradas. (A) vista lateral; (B) vista dorsal; (C) vista lateral - detalhe da região opercular; (D) vista ventral. An – angular em formação; bo – centro de ossificação basioccipital; cb 1, 2, 3, 4 e 5 - cartilagens ceratobranquiais 1, 2, 3, 4 e 5; ch – cartilagem ceratoial; De – dentário; eb 3 e 4 – cartilagens epibrânquiais 3 e 4; hh – cartilagem hipoial; hm – cartilagem hiomandibular; Mc – cartilagem de Meckel; Mx – maxilar; Op – opérculo; ot – otólito; pcor – processo coronóide da cartilagem de Meckel; pd – placa dérmica com dentes; pe – placa etmoidal; Pesf – centro de ossificação paraesfenóide; Pm – pré-maxilar; pop – processo opercular da cartilagem hiomandibular; pp – processo pterigóide da cartilagem quadrada; ppe – ponte epifisial; Qu – quadrado em formação (ossificação da cartilagem quadrada); rb – raios branquiostegais; * basibrânquial; ° centro de ossificação exoccipital. Escala: 0,5 mm.

Viscerocrânio

O processo opercular da cartilagem hiomandibular começa a ossificar e as demais porções desta cartilagem estão fracamente coradas em todos os exemplares, como se estivessem sendo reduzidas. Neste estágio, o primeiro par de cartilagens epibrânquiais também começa a ossificar, da mesma forma que os demais, por sua região central. (Fig. 11).

5. DISCUSSÃO

No momento da eclosão, apenas um dos exemplares analisados apresentava cartilagens paracordais no início de sua formação. Os demais não apresentavam nenhuma marcação de componente esquelético neste estágio, indicando que o desenvolvimento do crânio em *Rhamdia quelen* possivelmente inicia-se logo após a eclosão. A forma como o condrocrânio começa a ser formado entre os teleósteos é dita similar (KENT, 2001), mas o momento em que este desenvolvimento é iniciado pode variar bastante. Em *Salmo fario* (Clupeiformes), por exemplo, as primeiras cartilagens formadoras do neurocrânio podem aparecer até seis dias antes da eclosão (de BEER, 1937), enquanto em *Sander lucioperca* (Perciformes), nenhum componente esquelético é visualizado quando as larvas eclodem (LÖFFLER *et al.*, 2008). Dentre os siluriformes, encontram-se espécies como *Galeichthys feliceps* (Ariidae), onde as larvas já eclodem com o crânio ossificado (TILNEY; HECHT, 1993) e *Corydoras aeneus* (Callichthyidae), em que no momento da eclosão as larvas apresentam apenas um neurocrânio rudimentar articulado com alguns elementos do viscerocrânio (HUYSENTRUYT *et al.*, 2008). No entanto, existem outras espécies deste grupo, como *Heterobranchus longifilis* (Clariidae) e *Chrysichthys auratus* (Claroteidae) em que nenhum primórdio do condrocrânio é registrado em larvas recém-eclodidas (VANDEWALLE *et al.*, 1997 e 1999). Normalmente, as espécies de Siluriformes apresentam um limitado grau de complexidade do condrocrânio no momento da eclosão, quando comparadas com outras espécies de teleósteos (HUYSENTRUYT *et al.*, 2008).

A simples comparação temporal do desenvolvimento em peixes é complicada, uma vez que diversos fatores abióticos podem alterar a velocidade de desenvolvimento das espécies, normalmente em proporções diferentes. No entanto, o momento da eclosão, independente do tempo necessário para que ocorra, é um momento crítico, pois logo as larvas esgotarão seu estoque de vitelo e precisarão se alimentar de forma exógena. Dessa maneira, é esperado que ao menos o mínimo do aparato bucal necessário para a captura de alimento seja formado o mais rápido possível nas larvas recém-eclodidas (FAUSTINO; POWER, 2001). Isso poderia justificar o rápido desenvolvimento do condrocrânio observado em *Rhamdia quelen*, entre a eclosão e o segundo dia de desenvolvimento pós-eclosão, coincidindo

inclusive com o momento em que as larvas incubadas foram alimentadas pela primeira vez. A esse respeito, seria esperado um maior desenvolvimento do processo pterigóide da cartilagem quadrada nos primeiros estádios de pós-larva, a fim de auxiliar na alimentação exógena. Na espécie *R. quelen* a sustentação da arcada superior parece embasar-se durante boa parte do desenvolvimento inicial do condrocrânio nas cartilagens trabeculares do neurocrânio. Isso é observado em muitas espécies de peixes e é um dos principais argumentos que defendem uma origem visceral para as trabéculas *cranii*, como componentes do arco mandibular (de BEER, 1937).

A primeira ossificação observada no estágio pós larval com 7 dias de desenvolvimento pode ser também relacionada à alimentação exógena das larvas. Verificou-se que em *R. quelen* os primeiros sinais de ossificação aparecem como o centro de ossificação basioccipital e placas dérmicas com dentes localizadas próximas as cartilagens epibrânquiais, seguidos das ossificações dos opérculos, dentários e pré-maxilares. Geralmente, os primeiros ossos dérmicos a serem formados em gnatostomados são aqueles associados à alimentação e respiração (SCHULTZE, 1993; FAUSTINO; POWER, 2001), como verificado na espécie estudada.

Assim como na maioria dos teleósteos, o início do desenvolvimento do viscerocrânio e neurocrânio foi simultâneo em *R. quelen*. O neurocrânio de *R. quelen* desenvolve-se de forma similar ao padrão encontrado em outros siluriformes. Por serem espécies normalmente bentônicas e noturnas, é comum apresentarem olhos reduzidos e outras estruturas sensoriais como narinas e botões gustativos mais desenvolvidos (BRITSKI *et al.*, 1999), além de apresentarem boca normalmente ventral. Essas características levaram a algumas modificações no crânio destes peixes, que passou a ser mais largo e achatado dorso-ventralmente, facilitando a vida destes organismos no fundo e diminuindo a resistência contra correntes (GOMES *et al.*, 2000). Esse tipo de crânio é dito platibásico, em oposição ao crânio dito tropibásico da maioria dos teleósteos (DAGET, 1964⁴ *apud* ADRIAENS; VERRAES, 1997). Assim como os demais siluriformes, o peixe jundiá apresenta certas particularidades no desenvolvimento craniano em função desta morfologia típica da ordem.

⁴ DAGET, J. (1964). Le crane des Téléostéens. **Mémoires du Musée National d'Histoire Naturelle Serie A** 31: 163-341.

A presença de trabéculas *cranii* bem afastadas observada no desenvolvimento de *R. quelen*, portanto, é comum para espécies de Siluriformes, uma vez que, por possuírem olhos reduzidos, a região do neurocrânio apresenta mais espaço livre, não havendo necessidade dessas trabéculas se unirem mais do que sua extremidade anterior (ADRIAENS; VERRAES, 1997). Isso produz uma placa etmoidal bastante reduzida, estreita na direção antero-posterior, porém larga de lado a lado e, conseqüentemente, uma fenestra hipofisial muito maior do que o padrão para outras espécies de teleósteos. As trabéculas marginais do neurocrânio, normalmente aparecem como cartilagens isoladas em teleósteos, dorsais às trabéculas *cranii* e que se desenvolvem no sentido anterior e posterior (de BEER, 1937). No entanto, em *R. quelen*, essas cartilagens aparecem pela primeira vez claramente conectadas aos processos anteriores das cápsulas óticas, desenvolvendo-se então anteriormente nos estádios seguintes. Esse desenvolvimento foi verificado também em *Clarias gariepinus* (Clariidae) (ARIAENS; VERRAES, 1997) e em *Corydoras aeneus* (Callichthyidae) (HUYSENTRUYT *et al.*, 2008), podendo ser um padrão no desenvolvimento dessas estruturas em Siluriformes.

O aparecimento dos otólitos foi curiosamente registrado apenas em pós-larvas com 11 dias de desenvolvimento. Trabalhos de estadiamento anteriores desta espécie feitos por nosso grupo de pesquisa relacionam o aparecimento dessas estruturas ao final do período de segmentação, muito antes da eclosão (RODRIGUES-GALDINO, 2006; RODRIGUES-GALDINO *et al.*, *in press*). É importante ressaltar que nos estudos mencionados os otólitos foram observados em embriões vivos e sem nenhum procedimento para evidenciação. É possível que esta defasagem seja conseqüência de alterações na composição dessas estruturas ao longo do desenvolvimento, sendo então formadas anteriormente, mas alterando sua composição em estádios pós-larvais, quando então passariam a ser coradas. De qualquer forma, os otólitos não são de fato componentes ósseos. São estruturas importantes para a orientação e locomoção dos peixes, sendo por isso formados ainda nos estádios embrionários da maioria dos teleósteos (POUGH *et al.*, 2003). Inicialmente aparecem como membranas que recobrem a mácula sensorial e gradualmente calcificam-se em formas concêntricas, formando estruturas bem mineralizadas (BONE *et al.*, 1995).

Com relação à morfologia do esqueleto visceral, observou-se em *R. quelen*, que a porção rostral do processo pterigóide da cartilagem quadrada parece não fusionar-se em momento algum com a parte posterior. Essa cartilagem, equivalente a porção rostral do processo pterigóide, recebe diferentes nomes na literatura⁵, podendo não existir em muitos teleósteos, fusionar-se ao processo pterigóide da cartilagem quadrada em outros, ou ficar livre (de BEER, 1937), como observada neste estudo. Segundo Adriaens e Verraes (1997), a descontinuidade desta cartilagem com o processo pterigóide é uma característica sinapomórfica dos siluriformes, podendo este ser o resultado de um novo arranjo que permite uma articulação com os barbilhões maxilares.

A respeito dos arcos branquiais, o desenvolvimento de *R. quelen* também pode ser considerado similar ao padrão encontrado em Siluriformes, iniciando o desenvolvimento dos arcos do mais anterior para o posterior e sempre primeiramente com o aparecimento das cartilagens ceratobranquiais. No entanto, normalmente, o aparecimento das cartilagens ceratobranquiais é seguido da formação de cartilagens hipobranquiais, basibranquiais e só então (quando presentes) as epibrânquias e faringobranquiais (VANDEWALLE *et al.*, 1997; ADRIAENS; VERRAES, 1997). Em *R. quelen*, o aparecimento de cartilagens hipobranquiais só foi verificado no estágio pós-larval com 14 dias de desenvolvimento pós-eclosão, muito após a formação das cartilagens epibrânquias. Talvez essa variação ocorra em decorrência de possuir um desenvolvimento relativamente mais lento, sendo necessária a formação dos segmentos que suportam de fato as brânquias (cartilagens ceratobranquiais e epibrânquias) antes dos demais.

A presença de cartilagens faringobranquiais e o número exato de cartilagens basibranquiais para a espécie *R. quelen* permanece incerto, pois verificou-se claramente que o desenvolvimento do esqueleto cefálico desta espécie não acaba nos estádios pós-larvais. É muito provável que novas estruturas ainda sejam formadas em estádios posteriores, quando a espécie já é considerada juvenil. Quanto à quinta epibrânquia, também não registrada no desenvolvimento de *R. quelen*, é possível que não seja formada, mesmo posteriormente, uma vez que essa

⁵ Cartilagem palatina (ADRIAENS; VERRAES, 1997), rostral (HUYSENTRUYT *et al.*, 2008).

característica é igualmente registrada em outras espécies de Siluriformes descritas (ADRIAENS; VERRAES, 1997).

O desenvolvimento do dermatocrânio em *R. quelen* parece se dar prioritariamente nos estádios juvenis, uma vez que o acompanhamento da ontogenia do esqueleto cefálico durante os estádios larvais e pós-larvais contou com o aparecimento de algumas estruturas dérmicas iniciais e nenhuma chegou a ossificar completamente. A denominação juvenil é normalmente utilizada para definir o momento em que o espécime já apresenta as características morfológicas típicas do adulto. Por meio da análise dos resultados nota-se que o esqueleto cefálico não termina seu desenvolvimento nos estádios pós-larvais. No entanto, é importante lembrar que os indivíduos utilizados neste estudo foram incubados sob condições laboratoriais, sem esconderijos e com a alimentação oferecida de duas a três vezes por dia. Em seus ambientes naturais, esses organismos poderiam alimentar-se constantemente e procurar áreas mais lodosas e profundas (escuras), onde seu crescimento fosse o mais facilitado possível. É provável que em ambientes naturais e até mesmo em centros de piscicultura adequados, essa espécie alcance um tamanho muito maior no período de 25 dias.

As primeiras ossificações do dermatocrânio identificadas neste estudo (placas dérmicas com dentes associadas aos arcos branquiais, dentários, pré-maxilares, opérculos e raios branquiostegais) tiveram boa parte de seu desenvolvimento acompanhado e por isso sua identificação foi relativamente fácil. As últimas estruturas do dermatocrânio a serem formadas no período estudado (maxilares, interoperculares e pteróticos) ainda estavam iniciando seu desenvolvimento nos últimos estádios estudados no presente trabalho. Sua identificação foi feita com base na localização e comparações feitas com trabalhos de desenvolvimento e descrições osteológicas de indivíduos adultos da ordem Siluriformes. O estudo do desenvolvimento do crânio em estádios posteriores da espécie *R. quelen*, não abordados neste momento, seria útil para uma identificação mais segura desses elementos.

As descrições do dermatocrânio, tanto relacionadas ao desenvolvimento, quanto em indivíduos adultos são complicadas, uma vez que seus componentes são identificados em geral topograficamente. Não existem evidências de um exocrânio comum a todos os gnatostomados e a nomenclatura utilizada para os ossos do dermatocrânio foi criada para tetrápodes, mais especificamente para humanos e

posteriormente aplicada a peixes (SCHULTZE, 1993). A presença de um número muito maior de elementos dérmicos em peixes torna a identificação de homologias ainda mais complexa.

De modo geral, o desenvolvimento inicial do crânio de *R. quelen* pode ser considerado similar ao observado nas demais espécies de teleósteos, apresentando características comuns às espécies de Siluriformes.

6. CONCLUSÕES

O desenvolvimento inicial do esqueleto cefálico da espécie *Rhamdia quelen* foi descrito com base em 13 estádios, do momento da eclosão ao fim do período pós-larval, permitindo-se concluir que:

- No momento da eclosão as larvas não apresentam nenhum componente esquelético na região cefálica.
- O início do desenvolvimento do neurocrânio e viscerocrânio é simultâneo e dá-se nos estádios de larvas com até 24 horas de desenvolvimento pós-eclosão, para indivíduos incubados a 26°C.
- As primeiras ossificações são observadas em pós-larvas com 7 dias de desenvolvimento pós-eclosão, correspondendo a ossificações do neurocrânio e dermatocrânio.
- Após o aparecimento das primeiras ossificações, aquelas relacionadas à alimentação e respiração crescem mais rapidamente.
- O dermatocrânio apresentou-se pouco desenvolvido até o estádio de 25 dias de desenvolvimento pós-eclosão, sendo possível que grande parte de sua formação se dê nos estádios juvenis (a partir de 30 dias de desenvolvimento).
- A ordem de formação dos segmentos dos arcos branquiais da espécie *R. quelen* não segue a ordem normalmente descrita para outras espécies de Siluriformes, em que primeiro formam-se os segmentos mais ventrais para depois serem formados segmentos dorsais. Os primeiros elementos dos arcos branquiais a serem formados nesta espécie correspondem às cartilagens que suportam as brânquias de fato (cartilagens ceratobranquiais e epibrânquiais).
- A espécie *R. quelen* apresenta um desenvolvimento do esqueleto cefálico esperado para espécies da Ordem Siluriformes, com pequena variação acerca da formação dos arcos branquiais.

REFERÊNCIAS

- ADRIAENS, D.; VERRAES, W. (1997). The ontogeny of the chondrocranium in *Clarias gariepinus*: trends in siluroids. **Journal of Fish Biology**, 50: 1221-1257.
- BALDISSEROTTO, B.; RANDÜNZ-NETO, J. (2004) **Criação de Jundiá**. Santa Maria: UFSM, 232p.
- BEHR, E. R.; RADÜNZ-NETO, J.; TRONCO, A. P.; FONTANA, A. P. (1999). Influência de diferentes níveis de luminosidade sobre o desempenho de larvas de Jundiá (*Rhamdia quelen*) (Quoy e Gaimard, 1824) (Pisces: pimelodidae). **Acta Scientiarum** 21(2): 325-330.
- BICHUETTE, M. E.; TRAJANO, E. (2005) A new cave species of *Rhamdia* (Siluriformes: Heptapteridae) from Serra do Ramalho, northeastern Brazil, with notes on ecology and behavior. **Sociedade Brasileira de Ictiologia**, 3(4): 587-595
- BRITSKI, H. A.; SILIMON, K. Z. de S.; LOPES, B. S. (1999). **Peixes do Pantanal. Manual de Identificação**. Brasília: Embrapa-SPI; Corumbá: Embrapa-CPAP, 184p.
- BONE, Q.; MARSHALL, N.B.; BLAXTER, J.H.S. (1995) **Biology of Fishes**. London: Chapman & Hall. 2^a. Ed. 332p.
- CARROLL, S.B. (2006). **Infinitas formas de grande beleza**. Rio de Janeiro: Jorge Zahar Ed. Ltda. 303p.
- CHAI, Y; MAXSON, R. E. (2006). Recent Advances in Craniofacial Morphogenesis. **Developmental Dynamics**. 235:2353-2375.
- de BEER, G. R. (1937). **The Development of the Vertebrate Skull**. Oxford: Clarendon Press. 552p.
- DEPEW, M. J.; SIMPSON, C. A. (2006). 21st Century Neontology and the Comparative Development of the Vertebrate Skull. **Developmental Dynamics**, 235: 1256-1291.
- DEVILLERS, C. (1958) Le crâne des Poissons. In: GRASSÉ, P.-P eds. *Traité de Zoologie, anatomie, systématique, biologie*. Tome XIII: Agnathes et Poissons,

anatomie, éthologie, systématique. Premier Fascicule. Paris: Masson et Cie Éditeurs. 551-687.

DINGERKUS, G.; UHLER, L. D. (1977) Enzyme clearing of Alcian Blue stained whole small vertebrates for demonstration of cartilage. ***Stain Technology***, 52 (4): 229-232.

FAUSTINO, M.; POWER, D. M. (2001). Osteologic development of the viscerocranial skeleton in sea bream: alternative ossification strategies in teleost fish. ***Journal of Fish Biology***, 58: 537-572.

FROESE, R.; PAULY, D. (Eds.). (2007) **FishBase**. World Wide Web electronic publication. Disponível em <<http://www.fishbase.org>>. Acesso em: 20/7/2008.

GOMES, L. C.; GOLOMBIESKI, J. I.; GOMES, A. G. C.; BALDISSEROTTO, B. (2000) Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). ***Ciência Rural***, 30 (1): 179-185.

GREGORY, W. K. (1965) **Our face from fish to man**. New York: Capricorn Books. 295p.

HANKEN, J.; HALL, B. K. (Eds.). (1993). **The Skull, v. 1: Development**. Chicago: The University of Chicago Press. 587p.

HANKEN, J.; WASSERSUG, R. (1981). The visible skeleton. ***Functional Photography*** 16 (4): 22-44

HUYSENTRUYT, F.; BRUNAIN, M. ADRIAENS, D. (2008) Ontogeny of the Chondrocranium in *Corydoras aeneus* (Gill, 1858) (Callichthyidae, Siluriformes). ***Journal of Morphology***, 269: 522-532.

KENT, G. C. (2001) **Comparative anatomy of the vertebrates**. New York: McGraw-Hill Companies, 9^a.Ed. 524p.

KURATANI, S.; OTA, K. (2007) Primitive versus derived traits in the developmental program of the vertebrate head: Views from Cyclostome developmental studies. ***Journal of Experimental Zoology (Mol Dev Evol)***, 308 B.

LAGLER, K. F.; BARDACH, J. E.; MILLER, R. R. (1962) **Ichthyology, the study of fishes**. New York - London: John Wiley and Sons, Inc. 545p.

LILLIE, R. D. (1977). **H. J. Conn's Biological Stains**. 9ª. Ed. Baltimore, MD: Waverly Press, Inc. 692 p.

LÖFFLER, J.; OTT, A.; AHNELT, H.; KECKEIS, H. (2008). Early development of the skull of *Sander lucioperca* (L.) (Teleostei: Percidar) relating to growth and mortality. **Journal of Fish Biology**, 72: 233-258.

LUCHINI, L.; RANCEL, C. C. (1981). Reproduccion inducida y desarrollo larval del "bagre negro", *Rhamdia sapo*. **Rev. Asoc. Cienc. Nat. Litoral**, 12: 1-7.

NELSON, J.S. (1994). **Fishes of the World**. New York: J. Wiley & Sons, Inc. 3ª.Ed., 600p.

NORTHCUTT, R.G. (2003) Development of the lateral line system in the channel catfish. **The Big Fish Bang**. Proceedings of the 26th Annual Larval Fish Conference, 137-159.

PERDICES, A.; BERMINGHAM, E.; MONTILLA, A.; DOADRIO, I. (2002). Evolutionary history of the genus *Rhamdia* (Teleostei: Pimelodidae) in Central America. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 25: 172-189.

PEREIRA, C. R.; BARCELLOS, L. J. G.; KREUTZ, L. C.; QUEVEDO, R. M.; RITTER, F. & SILVA, L. B. (2006) Embryonic and Larval Development of Jundiá (*Rhamdia quelen*, Quoy & Gaimard, 1824, Pisces, Teleostei), a South American Catfish. **Brazilian Journal of Biology**, 66 (4): 1057-1063.

PIAIA, R.; TOWNSEND, C. R.; BALDISSEROTTO, B. (1999). Growth and survival of fingerlings of silver catfish exposed to different photoperiods. **Aquaculture International** 7: 201-205.

POUGH, F.H.; JANIS, C.M.; HEISER, J.B. (2003). **A Vida dos Vertebrados**. São Paulo: Atheneu. 3ª. Ed. 699p.

RODRIGUES-GALDINO, A. M. (2006). **Estágios do desenvolvimento embrionário e larval do jundiá (*Rhamdia quelen*) (Siluriformes, Heptapteridae)**. 44p. Monografia (Conclusão de curso de graduação em Ciências Biológicas,

Departamento de Biologia Celular) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

RODRIGUES-GALDINO, A. M.; MAIOLINO, C. V.; FORGATI, M.; DONATTI, L. MIKOS, J. D.; CARNEIRO, P.C.F.; RIOS, F. S. Development of the neotropical catfish *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Heptapteridae) incubated in different temperature regimes. **Zygote**, *in press*.

ROMER, A. S.; PARSONS, T. S. (1985) **Anatomia comparada dos vertebrados**. São Paulo: Atheneu, 559p.

SCHULZ, U. H.; LEUCHTENBERGER, C. (2006) Activity Patterns of South American Silver Catfish (*Rhamdia quelen*). **Brazilian Journal of Biology**, 66 (2A): 565-574.

SCHULTZE, H.-P. (1993). Patterns of Diversity in the Skulls of Jawed Fishes. In: HANKEN, J.; HALL, B. K. (eds). **The Skull, volumen 2: Patterns of Structural and Systematic Diversity**. Chicago: The University of Chicago Press. 189-254.

SOUZA, A. M. de (2002). Diafanização. In: AURICCHIO, P. SALOMÃO, M. da G. **Técnicas de coleta e preparação de vertebrados para fins científicos e didáticos**. São Paulo: Arujá, Instituto Pau Brasil de História Natural, 219 – 226.

THOROGOOD, P. (1993). Differentiation and Morphogenesis of Cranial Skeletal Tissues. In: HANKEN, J.; HALL, B. K. (eds). **The Skull, volume 1: Development**. Chicago: The University of Chicago Press. 112-152.

TILNEY, R. L.; HECHT, T. (1993). Early ontogeny of *Galeichthys feliceps* from the south east coast of South Africa. **Journal of Fish Biology**, 43(2): 183-212.

TORREY, T. (1978) **Morfologénesis de los vertebrados**. Mexico, D.F.: Limusa, 576p.

VANDEWALLE, P.; GLUCKMANN, I.; BARAST, E.; HURIAUX, F.; FOCANT, B. (1997). Postembryonic development of the cephalic region in *Heterobranchus longifilis*. **Journal of Fish Biology**, 50(2): 227-253

VANDEWALLE, P.; CHIKOU, A.; LALÉYÉ, P.; PARMENTIER, E.; HURIAUX, F.; FOCANT, B. (1999). Early development of the chondrocranium in *Chrysichthys auratus*. **Journal of Fish Biology**, 55(4): 795-808.

VANZOLINI, P. E.; PAPAVERO, N. (1967) **Manual de coleta e preparação de animais terrestres e de água doce**, São Paulo: Secretária de Agricultura de São Paulo, 223p.

WASSERSUG, R. J. (1976) A procedure for differential staining of cartilage and bone in whole formalin-fixed vertebrates. **Stain Technology**, 51 (2): 131-134.