

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA

GEOVANNA CARLA ZACHEO COELHO

**ANÁLISE ONTOGENÉTICA COMPARATIVA PÓS ECLOSÃO
DAS PROGÊNIES PROVENIENTES DA REPRODUÇÃO DE
Pseudoplatystoma reticulatum EIGENMANN & EIGENMANN,
1889, *Leiarius marmoratus* (GILL, 1870) E DO HÍBRIDO
RESULTANTE DO CRUZAMENTO ENTRE ESTAS
ESPÉCIES.**

Ilha Solteira
2017

GEOVANNA CARLA ZACHEO COELHO

**ANÁLISE ONTOGENÉTICA COMPARATIVA PÓS ECLOSÃO
DAS PROGÊNIES PROVENIENTES DA REPRODUÇÃO DE
Pseudoplatystoma reticulatum EIGENMANN & EIGENMANN,
1889, *Leiarius marmoratus* (GILL, 1870) E DO HÍBRIDO
RESULTANTE DO CRUZAMENTO ENTRE ESTAS
ESPÉCIES.**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Engenharia – Unesp, Campus de Ilha
Solteira como parte das exigências para a
obtenção do título de Mestre em Ciências
e Tecnologia Animal.

Prof. Dr. Alexandre Ninhaus Silveira
Orientador:

**Ilha Solteira
2017**

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

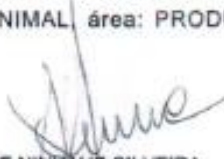
- C672a Coelho, Geovanna Carla Zacheo.
Análise ontogenética comparativa pós eclosão das progênes provenientes da reprodução de *Pseudoplatystoma reticulatum* Eigenmann & Eigenmann, 1889, *Leiarius marmoratus* (Gill, 1870) e do híbrido resultante do cruzamento entre estas espécies. / Geovanna Carla Zacheo Coelho. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2017
97 f. : il.
- Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Produção Animal, 2017
- Orientador: Alexandre Ninhaus Silveira
Inclui bibliografia
1. Ontogenia. 2. Morfologia. 3. Larvas. 4. Híbrido. 5. Jundiá da Amazônia. 6. Cachara.

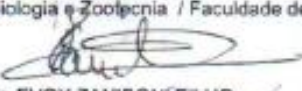
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

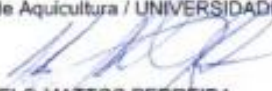
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Análise ontogenética comparativos pós eclosão das progênes provenientes da reprodução de *Pseudoplatystoma reticulatum* Eigenmann & Eigenmann, 1889, *Leiarius marmoratus* (Gill, 1870) e do híbrido resultante do cruzamento entre estas espécies

AUTORA: GEOVANNA CARLA ZACHEO COELHO
ORIENTADOR: ALEXANDRE NINHAUS SILVEIRA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA E TECNOLOGIA ANIMAL, área: PRODUÇÃO ANIMAL pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. ALEXANDRE NINHAUS SILVEIRA
Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira


Professor Associado EVOY ZANIBONI FILHO
Departamento de Aquicultura / UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA


Prof. Dr. MARCELO MATTOS PEDREIRA
Departamento de Zootecnia / Universidade dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

Ilha Solteira, 20 de fevereiro de 2017

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Prof^o Dr. Alexandre Ninhaus Silveira pela oportunidade, orientação concedida, por todo auxílio, paciência e confiança. Juntamente agradeço a Prof^a Dr^a Rosicleire Verissimo Silveira pela oportunidade de trabalhar no Laboratório Ictiologia Neotropical, Unesp/Ilha Solteira.

Mais do que a orientação, sugestões e ensinamentos passados para o desenvolvimento do trabalho fica também reflexos do profissionalismo, caráter e personalidade de vocês orientadores em nossos traços futuro de trabalho.

Agradeço a Prof^a Dr. Eliana do Amaral Gimenes e a Prof^a Dr. Andreia Estela Moreira. O apoio, confiança e amizade de vocês foram fundamental para continuar essa etapa e vou levar para toda a vida os ensinamentos transmitidos, profissionais e pessoais.

A todos os amigos do Laboratório de Ictiologia Neotropical (LINEO), aos que formam a equipe atual, Elis, Renata, Ricardo, Naiara, Caio, Evelyn, João, Laís, Maira, Marcelo e também aqueles que estiveram no laboratório no início do mestrado, Fabrício, Laiza, Jumma, Douglas, Diogenes e Priscila.

Nesses dois anos tive a plena convicção de que as pessoas não entram por acaso em nossas vidas, estão ali por algum proposito maior e sabem exatamente o momento ideal para se fazer presente, diante disso quero agradecer a Cristiane, Amanda e Patrícia, obrigada pela amizade, pela confiança, por me ouvir e pelas inúmeras ajudas. Espero ter deixado algo de útil para vocês, assim como deixaram diversas marcas positivas em mim, foi um prazer enorme conhecer vocês, pessoas que além de amigas se tornaram minha família aqui em Ilha.

Ao Raphael, pelo incentivo e acreditar em mim desde o estágio, agradeço pelo suporte, conversas e por ser a mão que me amparou em diversos momento de dificuldade, já mais esquecerei tudo que fez por mim, muito obrigada!

Ao Renan, que compartilhou comigo mais uma etapa, dividindo inúmeros momentos de dor e sofrimento (rs) e também de muitas alegrias, obrigada pela paciência e por suportar minhas variações de humor.

Agradeço aos amigos da Pós, Carolina, Rosemary e Erica.

Agradeço a Piscicultura Colpani, na pessoa do Martinho Colpani pelo fornecimento dos animais para o desenvolvimento desse trabalho e também pela paciência, ajuda e dicas.

Ao Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais (CEPTA/ICMBio) em nome do Dr. José Augusto Senhorini, pela utilização das instalações e suprimindo diversas necessidades.

Agradeço de forma especial e com muito carinho aos funcionários e colaboradores do CEPTA/ICMBio, Dr. José Augusto Senhorini, Dr. Paulo Cicarelli, Dr. Leonardo Calado, Ricardo, Gordo, Tim, Dalton, Nilva, Natalia, Claudine, Manoel e aos demais que o nome não me vem à cabeça, a ajuda, ensinamento, paciência e amizade de vocês foram fundamentais para tornarem minha estadia no CEPTA mais fácil e tranquila.

Ao Laboratório de Biotecnologia do CEPTA/ICMBio em nome do Dr. George Shigueki Yasui e a toda sua equipe, muito obrigada pelo acolhimento, pelo apoio e auxílio em diversos momentos.

Aos amigos de alojamento que o CEPTA me deu, Kelly, Lucia, Priscila e Júlio, a parceria de vocês durante os quase 4 meses foram essenciais, tornando os momentos mais alegres e também pela troca de conhecimento. Agradeço em especial ao Dilberto que me ajudou de todas as formas possíveis, esteve ao meu lado, não me deixando desanimar e por muitas vezes aguentou meus desesperos e lamentações. Sou muito grata a todos vocês e sempre me lembrarei com muito carinho.

Ao Laboratório Ecologia do Parasitismo (LECOP), Unesp/Ilha Solteira em nome do Profº Dr. Luciano Alves dos Anjos e a toda sua equipe, obrigada pelo apoio e auxílio em diversos momentos.

Aos membros da banca de qualificação, Prof. Dr. Francisco Langeani Neto, Prof. Dr. Igor Paiva Ramos e Profa. Dra. Cristiele da Silva Ribeiro, pelas contribuições e colaboração para este trabalho final.

Aos membros da banca desta defesa, Prof. Dr. Evoy Zaniboni Filho, Prof. Dr. Marcelo Mattos Pedreira, Profa. Dra. Cristiele da Silva Ribeiro e Prof. Dr. Francisco Langeani Neto que gentilmente aceitaram o convite para fazer parte desta etapa final do mestrado.

As minhas amigas que mesmo distante sempre estiveram presente, acreditando e me dando força para seguir em busca de meus objetivos.

Sou eternamente grata a minha família, minha mãe Marisa, meu pai Messias e ao meu irmão Giuseppe, por serem minha base, estarem sempre ao meu lado, apoiando e corrigindo, por serem exemplos para a construção do meu caráter, por aceitarem minhas escolhas e permitirem que eu saísse em busca dos meus sonhos, sempre me dando a certeza de que diante as dificuldades da vida tenho com quem contar, pois serão sempre os meus pilares de sustentação. Eu amo vocês!

Por fim, a Deus, por estar presente nos pequenos detalhes da vida, no qual apenas quem acredita é capaz de enxergar.

RESUMO

O estudo ontogenético de ovos e larvas em peixes proporciona informações acerca do conhecimento da história de vida inicial e da biologia destas espécies, sendo ferramenta importante para os estudos taxonômicos, evolutivos e para a produção em cativeiro. Este estudo teve como objetivo analisar e descrever as principais mudanças morfológicas ao longo da ontogenia larval das espécies *Pseudoplatystoma reticulatum* e *Leiarius marmoratus* e do híbrido resultante do cruzamento destas espécies (*P. reticulatum* ♀ x *L. marmoratus* ♂), buscando informações que permitam identificar corretamente as formas iniciais de vida (larval e juvenil) dos híbridos e seus parentais. Para tal, foram analisados 205 indivíduos de *L. marmoratus*, 210 de *P. reticulatum* e 205 de híbridos, sendo todos obtidos por meio de reproduções induzidas, utilizando o plantel de reprodutores pertencentes à Colpani Piscicultura, em Mococa, SP e posteriormente mantidos no CEPTA/ICMBIO, em Pirassununga, SP. As análises foram realizadas desde o momento da eclosão até o 30º dia após eclosão. Foram avaliadas 19 características morfométricas, 5 merísticas e a distribuição e forma dos cromatóforos. Para isso, os espécimes foram classificados em dois períodos: larval (estágios: vitelínico, pré-flexão, flexão, pós-flexão) e juvenil. As larvas recém-eclodidas apresentaram-se pouco desenvolvidas, transparentes e com escassez de cromatóforos. Durante os primeiros estágios do desenvolvimento larval, os três grupos apresentaram semelhanças na aparência, dimensões proporcionais dificultando a identificação visual. No entanto, a partir do final do estágio de pós-flexão e no período juvenil, em indivíduos com aproximadamente 2 cm de comprimento padrão foi possível por meio da associação de caracteres morfométricos, merísticos e pigmentares a discriminação entre híbridos e suas espécies parentais. Desde as primeiras análises, o híbrido apesar de ocupar uma posição intermediária aos parentais, demonstra forma e tamanho mais semelhante ao parental materno *P. reticulatum*.

Palavras-chave: Ontogenia. Morfologia. Larvas. Híbrido. Jundiá da Amazônia. Cachara.

ABSTRACT

The ontogenetic study of eggs and larvae in fish provides information about initial life history knowledge and biology of species, being an important tool for taxonomic and evolutionary studies, as well as for captivity production. The aim of this study was to analyze and describe the main morphological changes along larval ontogeny of *Pseudoplatystoma reticulatum* and *Leiarius marmoratus* species, including its hybrid (♀ *P. reticulatum* x ♂ *L. marmoratus*), looking for evidences that provides a correctly identification of these species and its hybrid at early life stages (larvae and juvenile). Were analyzed 205 *L. marmoratus*, 210 *P. reticulatum* and 205 hybrids specimens, all of them were obtained through induced reproduction, from Colpani fish-farming broodstock, Mococa, São Paulo State, and them kept at CEPTA / ICMBIO, Pirassununga, São Paulo State. Analyzes were performed since hatching moment until the 30th day post hatching. It was evaluated 19 morphometric and 5 meristic characteristics, chromatophores shape and its distribution. The specimens were classified into two periods: LARVAL (Stages: yolk sac, pre-flexion, flexion, post-flexion) and JUVENILE. Newly hatched larvae were poorly developed, transparent, and presented scarce chromatophores. During the early stages of larval development, the three groups showed similarities in appearance, and proportional dimensions that hindered visual identification. However, from the end of post-flexion stage and at juvenile period, which individuals were with approximately 2 cm of standard length, it was able by morphometric character association, meristic and pigment characters, the discrimination between hybrids and their parental species. Since the first analyzes, the hybrid, despite of occupying an intermediate position in relationship to its parental, exhibit shape and size more similar to *P. reticulatum*, its maternal parental.

Keywords: Ontogeny. Morphology. Larvae. Hybrid. Amazonic Jundiá. Cachara.

LISTA DE TABELA

Tabela 1: Características morfométricas avaliadas nos estágios vitelínico, pré-flexão, flexão e pós-flexão e período juvenil.	33
Tabela 2: Características merísticas avaliadas a partir do estágio de flexão.	37
Tabela 3 - Valores máximo (Máx) e mínimo (Mín) e média (X), desvio padrão (DP) para as variáveis morfométricas (mm) e merísticas obtidas de larvas e juvenis de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i>	44
Tabela 4 - Valores máximo (Máx) e mínimo (Mín) e média (X), desvio padrão (DP) para as variáveis morfométricas (mm) e merísticas obtidas larvas e juvenis de <i>Leiarius marmoratus</i>	46
Tabela 5 - Valores máximo (Máx) e mínimo (Mín) e média (X), desvio padrão (DP) para as variáveis morfométricas (mm) e merísticas obtidas de larvas e juvenis de Híbrido.....	48
Tabela 6: Valores das relações corporais (%), máximo (Máx) e mínimo (Mín) e média (Med) para as variáveis morfométricas (mm) que tiveram melhor representatividade no estágio vitelínico	89
Tabela 7: Valores das relações corporais (%), máximo (Máx) e mínimo (Mín) e média (Med) para as variáveis morfométricas (mm) que tiveram melhor representatividade no estágio pré-flexão.....	89
Tabela 8 :Valores das relações corporais (%), máximo (Máx) e mínimo (Mín) e média (Med) para as variáveis morfométricas (mm) que tiveram melhor representatividade no estágio flexão.	89
Tabela 9: Valores das relações corporais (%), máximo (Máx) e mínimo (Mín) e média (Med) para as variáveis morfométricas (mm) que tiveram melhor representatividade no estágio pós-flexão.	90
Tabela 10: Valores das relações corporais (%), máximo (Máx) e mínimo (Mín) e média (Med) para as variáveis morfométricas (mm) que tiveram melhor representatividade no período juvenil.....	91
Tabela 11 - Medidas descritivas do tamanho e forma do corpo para <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> expressas em proporção ao comprimento do corpo e comprimento da cabeça.	93

Tabela 12 - Medidas descritivas do tamanho e forma do corpo para *Leiarius marmoratus* expressas em proporção ao comprimento do corpo e comprimento da cabeça.....95

Tabela 13 - medidas descritivas do tamanho e forma do corpo para Híbrido expressas em proporção ao comprimento do corpo e comprimento da cabeça.97

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: A) Exemplar de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> e B) Exemplar de <i>Leiarius marmoratus</i>	27
Figura 2: Caixas com as séries de desenvolvimento larval, com oxigenação e renovação de água.....	29
Figura 3: Diagrama esquemático das medidas.	35
Figura 4 - Principais eventos morfológicos observados durante o desenvolvimento larval e juvenil de Híbrido, <i>Leiarius marmoratus</i> e <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i>	43
Figura 5 - Desenvolvimento inicial de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i>	45
Figura 6 - Desenvolvimento inicial de <i>Leiarius marmoratus</i>	47
Figura 7 - Desenvolvimento inicial do Híbrido	49
Figura 8 - Formação de órgãos e estruturas corporais durante o estágio vitelínico ..	50
Figura 9 - Formação de órgãos e estruturas corporais durante o estágio de pré-flexão.....	51
Figura 10 - Desenvolvimento das nadadeiras: Estágio Flexão e Pós-Flexão	52
Figura 11 - Projeção dos escores dos indivíduos durante o estágio vitelínico	53
Figura 12 - Caracteres morfométricos que tiveram melhor representatividade no estágio vitelínico.....	54
Figura 13 - Projeção dos escores dos indivíduos durante o estágio de Pré-Flexão..	55
Figura 14 - Caracteres morfométricos que tiveram melhor representatividade no estágio pré-flexão.....	56
Figura 15 - Projeção dos escores dos indivíduos durante o estágio de Flexão.....	57
Figura 16 - Caracteres morfométricos que tiveram melhor representatividade no estágio flexão..	58
Figura 17 - Projeção dos escores dos indivíduos durante o estágio de Pós-Flexão.	59
Figura 18 - Caracteres morfométricos que tiveram melhor representatividade no estágio pós-flexão	60
Figura 19 - Projeção dos escores dos indivíduos durante o período Juvenil.....	61

Figura 20 - Caracteres morfométricos que tiveram melhor representatividade no período juvenil.	62
Figura 21 - Padrão de pigmentação durante o estágio vitelínico.....	66
Figura 22 - Padrão de pigmentação durante o estágio pré-flexão.....	67
Figura 23 - Padrão de pigmentação durante o estágio flexão e início de pós-flexão.	68
Figura 24 - Padrão de pigmentação durante o final do estágio pós-flexão e período juvenil..	69
Figura 25 - Padrão de pigmentação durante o final do estágio pós-flexão e período juvenil pela vista dorsal	70
Figura 26 - Exemplar de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> no período juvenil	92
Figura 27- Exemplar de <i>Leiarius marmoratus</i> no período juvenil	94
Figura 28 - Exemplar de Híbrido no período juvenil	96

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	Espécies estudadas	14
1.2	Piscicultura e híbridos	18
1.3	Desenvolvimento larval em peixes	21
1.4	Ontogenia	23
2	OBJETIVOS	26
2.1	Objetivo geral	26
2.2	Objetivos específicos	26
3	MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1	Local de realização e obtenção de larvas e juvenis	27
3.2	Forma de coleta	29
3.3	Descrição larval e técnicas de preparo	30
3.3.1	<i>Fases de desenvolvimento</i>	30
3.3.2	<i>Histologia</i>	32
3.3.3	<i>Pigmentação</i>	32
3.3.4	<i>Avaliação morfométrica e merística</i>	33
3.4	Análise estatística	37
4	RESULTADOS	38
4.1	Caracterização morfológica	38
4.2	Análise comparativa aplicada na discriminação do híbrido resultante do cruzamento entre <i>P. reticulatum</i> (♀) e <i>L. marmoratus</i> (♂) e seus parentais durante os estágios de desenvolvimento inicial.	53
4.2.1	<i>Morfometria</i>	53
4.2.2	<i>Características Merísticas</i>	63
4.2.3	<i>Padrão de Pigmentação</i>	63
5	DISCUSSÃO	71
5.1	Caracterização morfológica	71
5.2	Análise comparativa aplicada na discriminação do híbrido resultante do cruzamento entre <i>P. reticulatum</i> (♀) e <i>L. marmoratus</i> (♂) e seus parentais durante os estágios de desenvolvimento inicial.	73
6	CONCLUSÃO	77
	REFERÊNCIAS	78

Apêndice A – Valores das relações corporais para as variáveis morfométricas que tiveram melhor representatividade por estágio de desenvolvimento	89
Apêndice B – Diagnose <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i>	92
Apêndice C – Diagnose <i>Leiarius marmoratus</i>	94
Apêndice D – Diagnose Híbrido (<i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> X <i>Leiarius marmoratus</i>)	96

1 INTRODUÇÃO

1.1 Espécies estudadas

Os peixes são as formas de vida que predominam o ambiente aquático entre os grupos de vertebrados. Representam a maior irradiação dos vertebrados com aproximadamente 33.395 espécies viventes descritas. Dentre esse total cerca de 23.400 são teleósteos, com 41% das espécies restritas a ambientes de água doce (ESCHMEYER; FONG, 2016). De acordo com Reis; Kullander e Ferraris-Jr (2003), a região Neotropical abriga aproximadamente 4.500 espécies de peixes de água doce.

O Brasil possui uma rica fauna de peixes dulcícolas, sendo registradas cerca de 2.800 espécies (ICMBIO, 2015). A grande diversidade de peixes encontrada em águas doces brasileiras pertence ao grupo dos Actinopterygii. As ordens com maior número de espécies registradas são Characiformes (lambaris, piabas, piranhas, piraicanjuba, matrinhãs, traíras, pacus, dourado etc.), Siluriformes (bagres e cascudos), Perciformes (acarás, tucunarés, jacundás, pescadas), Cyprinodontiformes (guarus e peixes-anuais) e Gymnotiformes (tuviras, ituí, poraquê). (ROSA; LIMA, 2010).

A ordem Siluriformes corresponde ao grupo mais diversificado e bem distribuído na região Neotropical, apresenta cerca de 35 famílias, 446 gêneros e mais de 2.740 espécies de água doce. Inclui os peixes conhecidos popularmente como bagres e cascudos, sendo caracterizados por apresentarem barbilhões, normalmente três pares, um par maxilar e dois mentonianos, corpo desprovido de escamas e ausência de ossos intermusculares. A maioria apresenta hábitos noturnos ou crepusculares. (NELSON, 2006; NAKATANI et al., 2001). Diversas espécies pertencentes a essa ordem têm sido estudadas devido a seus aspectos biológicos particulares como, grande porte, qualidade da carne e pela importância socioeconômica, sendo de grande utilização para pisciculturas, pescadores esportivos e aquarofilia. (KUBITZA; CAMPO; BRUM, 1998).

A família Pimelodidae é considerada atualmente como um grupo monofilético (LUNDBERG; MAGO-LECCIA; NASS, 1991) e representa um dos grupos mais diversificados de peixes. Somam aproximadamente 109 espécies, distribuídas em

cerca de 33 gêneros. (ESCHMEYER; FONG, 2016). São espécies de água doce endêmicas na região Neotropical, onde a maior diversidade ocorre nas bacias dos rios Amazonas, Paraná, Orinoco e nos grandes rios da Guiana (QUEIROZ et al. 2013). Dentro desta família, apresentam-se os maiores representantes de Siluriformes, destacam-se as espécies pertencentes aos gêneros *Brachyplatystoma* (piraíbas e douradas), *Pseudoplatystoma* (pintado e surubins) e *Zungaro* (jaús), devido à sua importância tanto na pesca comercial, quanto na esportiva, a qualidade da carne e desempenho em sistemas de produção (BRITSKI, 1972).

As espécies pertencentes a essa família apresentam pele nua, sem presença de escamas ou revestimento de placas ósseas, nadadeira adiposa sempre presente e bem desenvolvida, presença de espinhos pungentes (acúleo ósseo) na nadadeira dorsal e peitoral, cabeça deprimida e alongada. (NAKATANI et al, 2001). Os Pimelodidae são diversificados em cores e padrão pigmentação, sendo comum apresentarem combinações de listras ou manchas em um fundo de preto, cinza ou marrom, sobreposto a um branco ou creme, formando um degradê de cores. São espécies migradoras e apresentam hábitos alimentares carnívoros ou onívoros (LUNDBERG; LITTMANN, 2003).

As espécies do gênero *Pseudoplatystoma*, conhecidos popularmente como pintados, cachara ou surubins, perfazem um total de oito espécies que formam um grupo monofilético com dois clados, corroborados por características anatômicas, esqueléticas e musculares. O clado "*P. tigrinum*" (*P. tigrinum* e *P. metaense*) é restrito às bacias do Orinoco e Amazonas, e o clado "*P. fasciatum*" (*P. fasciatum*, *P. puncifer*, *P. reticulatum*, *P. orinocoense*, *P. magdaleniatum* e *P. corruscans*) pode ser encontrado nas Guianas, Orinoco, Amazonas e bacia do Prata. (BUIRAGO-SUÁREZ; BURR, 2007).

Esses bagres podem viver em diversos habitats tais como grandes rios, lagos e florestas alagadas da região Neotropical. São de hábitos carnívoros, apresentam pigmentação distinta que consiste em bandas escuras e pálidas, bandas reticuladas e manchas circulares escuras. (BUIRAGO-SUÁREZ, 2006). São caracterizados por apresentarem cabeça deprimida dorso-ventralmente e uma fontanela muito longa (BUIRAGO-SUÁREZ; BURR, 2007). Sua importância econômica é significativa.

Esses animais possuem um alto valor comercial devido à qualidade de suas carnes (coloração clara, sabor suave, com baixo teor de gordura e presença de poucos espinhos), sendo fonte importante de proteína, com grande relevância na pesca comercial e na piscicultura, além de serem apreciados na pesca esportiva. (MANGETTI, 2006; FAUSTINO et al. 2007).

Pseudoplatystoma reticulatum conhecido popularmente como cachara ou surubim, é um peixe de grande porte, podendo chegar a 1 (um) metro de comprimento. É uma espécie de corpo alongado, com coloração acinzentada e corpo coberto por listras verticais que podem ser dorsalmente delimitadas. As listras conectam entre si formando células, na cabeça e nadadeiras há presença de pintas. (BUIRAGO-SUAREZ; BURR, 2007). O cachara pode ser encontrado em parte da bacia do rio Amazonas e da bacia do rio Paraná. (BUIRAGO-SUAREZ; BURR, 2007; TORRICO, et al. 2009). Possui hábito alimentar piscívoro, o que lhe confere importante papel como predador nos rios em que se encontra. Para que possam se reproduzir migram longas distâncias, reproduzindo-se no leito dos rios durante a estação chuvosa, principalmente de dezembro a fevereiro. Possuem desova total e não apresentam cuidado parental. (RESENDE et al., 1995 e 1996; ABREU et al. 2009). Diversas informações a respeito dos aspectos reprodutivos de cachara foram realizadas em seu ambiente natural (RESENDE et al. 1995) e em cativeiro (ROMAGOSA et al. 2003; BATLOUNI, ROMAGOSA, BORELLA, 2006; STREIT JR. et al. 2012)

Pseudoplatystoma reticulatum está entre as espécies de água doce que possuem uma grande perspectiva de aumento da sua produção na piscicultura brasileira, pois apresenta carne com alto valor de mercado (firme, saborosa, com baixo teor de gordura e ausência de espinhos intramusculares). Além do interesse pelos seus alevinos no comércio de peixes ornamentais e para pesca esportiva ligada ao setor de “Pesque-Pague”. (KUBITIZA, CAMPOS, BRUM, 1998; ROMAGOSA et al., 2003; CREPALDI et al. 2006 e 2008; RESENDE et al. 2010).

Leiarius marmoratus também pertencente à família Pimelodidae, é conhecido como jundiá da Amazônia ou peixe onça. Pode ser encontrado nas bacias dos rios Amazonas, Essequibo e Orinoco, sendo rara sua presença na maioria dos rios Amazônicos, porém, pode ser registrado com certa frequência nos rios Essequibo e

Orinoco, onde existem longos trechos de corredeiras. Seu padrão de coloração é peculiar, constituído de manchas escuras sobre um fundo marrom claro, além de caracterizar-se por possuir um maior número de raios ramificados na nadadeira dorsal, que é composta por mais de 10 raios, diferenciando-se das demais espécies de pimelodídeos. Essa espécie pode atingir aproximadamente 1 (um) metro de comprimento e cerca de 12 quilos. (QUEIROZ et al. 2013).

Essa espécie possui hábitos alimentares piscívoro em seu habitat natural, no entanto, apresenta forte tendência ao comportamento onívoro. (LAYMAN et al. 2005; SÁNCHEZ; MOYETONES; CERDÁ, 2009; RAMIREZ-MERLANO et al., 2010). Em função deste fato, adapta-se com facilidade à alimentação artificial (consumo de dietas secas) e ao confinamento. (CRUZ-CASALLAS et al., 2008). Devido a essas características, *L. marmoratus* tem sido escolhido para produção de híbridos, em cruzamento com *P. reticulatum*, *P. fasciatum*, *P. corruscans*. (MATEO, ROJAS, 2005; MATEO; DELGADO; LOPEZ, 2008; OLIVEIRA, 2013; OLIVEIRA-ALMEIDA, 2014).

Como ocorre com a maioria das espécies migradoras, quando em cativeiro, os reprodutores de *L. marmoratus* têm que ser induzidos a espermiacção e a desova pela utilização de hormônios hipotalâmicos ou/e hipofisários. O processo de reprodução artificial por meio de indução hormonal em *L. marmoratus* tem se sucedido desde 1986. (KOSSOWSKI, 1986; ESCOBAR; MOJICA, 1997). Entretanto, ainda ocorrem dificuldades na obtenção de gametas masculinos, devido aos testículos possuírem numerosas formações digitiformes, dificultando assim a extrusão manual do esperma, além do estresse causado pelas condições de cativeiro. (MIRA; MEDINA-ROBLES; CRUZ-CASALLAS, 2010a; MIRA; MEDINA-ROBLES, CRUZ-CASALLEAS, 2010b). Alguns estudos têm sido feitos sobre sua fisiologia reprodutiva (POLEO; MORA, 2008; MIRA; MEDINA-ROBLES, CRUZ-CASALLAS, 2010b) e desenvolvimento embrionário (OLIVEIRA-ALMEIDA et al., 2014), porém há escassez de dados na literatura sobre a fisiologia reprodutiva de fêmeas, metodologias para reprodução e descrição sobre sua biologia, sendo necessários maiores estudos.

1.2 Piscicultura e híbridos

A aquicultura é uma atividade desenvolvida no mundo inteiro, desde a antiguidade, e se destina ao cultivo de organismos aquáticos. As atividades aquícolas globais têm crescido de forma constante nas últimas cinco décadas, em 2012 o cultivo de peixes chegou a 90,4 milhões de toneladas. A produção mundial expandiu em média anual de 6,2% no período de 2000 a 2012, passando de 32,4 milhões de toneladas em 2000 para 66,6 milhões de toneladas em 2012 (FAO, 2014).

Devido à grande diversidade em espécies de peixes e condições climáticas favoráveis, o Brasil destaca-se como um dos países de maior potencial para a expansão da aquicultura. De acordo com a Revista Panorama da Aquicultura (2016), a produção aquícola nacional no ano de 2015 foi de 574,164 toneladas. A piscicultura nas águas continentais, principalmente os peixes criados em viveiros, tanques-rede e outros sistemas, totalizaram 483.241 toneladas, demonstrando um crescimento de 1,88% em relação ao ano de 2014, sendo a região Sudeste responsável por 12,7% da produção nacional, ficando o estado de São Paulo responsável pela produção de 31.141,584 toneladas.

O Brasil possui uma gama considerável de peixes de água doce com potencial para utilização na piscicultura, destacando-se espécies da ordem Characiformes (dourado, pacus, tambaqui, matrinxãs) e Siluriformes (surubins, pintados, cacharas e jundiás). Aproximadamente 70% das espécies nativas produzidas em território nacional pertencem às famílias Characidae e Pimelodidae, com representantes presentes nas principais bacias hidrográficas, a exemplo a bacia Amazônica, Paraná-Paraguai e São Francisco. Além disso as espécies pertencentes as ordens Siluriformes e Characiformes, destacam-se na contribuição para a produção de híbridos utilizados na piscicultura brasileira (ALVES et al., 2014).

A hibridização, mesmo aparentando ser uma prática totalmente artificial, pode acontecer de forma espontânea na natureza (FERNANDES, 2010), sendo mais comum o relato de híbridos naturais em espécies de água doce, em que a frequência de hibridização é maior do que em espécies marinhas, onde os casos são mais raros. (EPIFANIO; NIELSEN, 2001). Em geral, as formas de hibridização podem ser classificadas de três tipos: (1) Intraespecífica, quando ocorre entre

indivíduos da mesma espécie, mas de tipos ou variedades diferentes; (2) Interespecífica, ocorre entre espécies distintas, porém do mesmo gênero; e (3) Intergenérica, quando os cruzamentos ocorrem entre espécies de diferentes gêneros. (FERNANDES, 2010).

A grande maioria dos híbridos encontrados atualmente, são aqueles produzidos artificialmente em pisciculturas, visando atender a produção comercial alimentícia e a pesca esportiva em pesqueiros. As tecnologias com reprodução artificial induzida hormonalmente ou não, tornaram relativamente simples as práticas de hibridação em peixes, embora seja comum observar problemas na produção, como alta mortalidade em fases iniciais (embrionária e larval) e deformidades morfológicas nos indivíduos jovens. (FERNANDES, 2010).

As técnicas de hibridação aplicadas na aquicultura têm recebido atenção especial dos produtores e pesquisadores, com vistas ao aproveitamento das características favoráveis das espécies parentais, o que pode também ser chamado de vigor híbrido ou heterose. Essa técnica pode resultar em melhor taxa de crescimento, melhoria na qualidade da carne, tolerância as variações ambientais e resistência a doenças, de maneira que os sistemas de produção se tornem mais competitivos, obtendo um produto final com maior aceitação por parte dos consumidores. (BARTLEY; RANA; IMMINR, 2001; BOTERO et al., 2004).

A produção de peixes híbridos no Brasil se tornou nas últimas décadas a forma mais usual de melhoramento de produtividade. Porém, é importante que os resultados obtidos a partir da utilização de técnicas de hibridização, sejam cuidadosamente interpretados, perante os riscos biológicos que os híbridos podem representar para o ambiente. (PORTO-FORESTI et al., 2008).

A produção e comercialização de híbridos, sem qualquer tipo de monitoramento, pode estabelecer riscos biológicos ao ambiente e as populações, podendo contaminar geneticamente os estoques por meio da introgressão pelos híbridos. (PORTO-FORESTI et al., 2010). As preocupações com peixes híbridos também estão relacionadas com os escapes que ocorrem em pisciculturas e empreendimentos de lazer para ambientes naturais, representando uma ameaça a conservação das espécies nativas, uma vez que podem ocorrer híbridos férteis, tendo a capacidade de retrocruzar com espécies parentais, além de restrições de

locais de desova e a competição por alimentos e espaço. (ALLENDORF et al. 2001, PORTO-FORESTI et al. 2008, PORTO-FORESTI et al 2010, ALVES et al., 2014).

Um dos primeiros híbridos a ser produzido e estabelecido nas pisciculturas brasileiras foi o tambacu, resultante do cruzamento da fêmea de Tambaqui (*Colossoma macropomum*) com o macho do pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Este híbrido apresenta como características maior resistência a baixas temperaturas da água, rusticidade e rápido crescimento (ALVES et al., 2014). Recentemente têm-se produzido híbridos interespecífico de bagres (*catfish*), utilizando-se principalmente as espécies pertencentes ao gênero *Pseudoplatystoma* como o pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) e o cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum* e *Pseudoplatystoma fasciatum*), espécies de alto valor comercial, por apresentarem qualidades organolépticas (ISHIKAWA et al., 2012). O primeiro híbrido interespecífico produzido a partir de bagres na aquicultura foi o cachapinta ou ponto e vírgula, cruzamento de *P. reticulatum* ♀ X *P. coruscans* ♂. (HASHIMOTO et al. 2015).

Híbridos intergenéricos a partir de cruzamentos de bagres também vêm sendo explorados na produção aquícola. A espécie *L. marmoratus* tem sido bastante utilizada nos cruzamentos com espécies do gênero *Pseudoplatystoma* spp, (ISHIKAWA et. al., 2012; HASHIMOTO et al., 2015), uma vez que, apresenta baixo canibalismo, possui hábito onívoro, mostrando uma melhor aceitação da ração formulada a seco (CAMPOS, 2010). Estes são geralmente cruzamentos entre cachara (*P. fasciatum* ou *P. reticulatum*) X jundiá (*L. marmoratus*) e entre o pintado (*P. corruscans*) X jundiá (*L. marmoratus*), sendo denominados de “cachandiá”, “pintado-amazônico” ou “pintadiá”, esses são bons exemplo de vigor híbrido, apresentando características de grande importância, como baixo canibalismo, comportamento alimentar onívoro, além da docilidade e resistência ao manejo. Outra espécie comumente utilizada nas hibridizações intergenérica é a pirarara (*Phractocephalus hemiliopterus*), utilizada no cruzamento de cachara (*P. fasciatum* ou *P. reticulatum*) X pirarara (*P. hemiliopterus*), resultando em híbrido com boa resistência e que vem despertando o interesse dos pescueiros comerciais. (HILSDORF; ORFÃO, 2011; ALVES et al., 2014; HASHIMOTO et al., 2015).

Alves et al. (2014) destaca seis espécies híbridos produzidos nas pisciculturas brasileiras, são eles: o tambacu, cruzamento de tambaqui (*Colossoma macropomum* ♀) X pacu (*Piaractus mesopotamicus* ♂); a tambatinga, cruzamento de tambaqui (*Colossoma macropomum* ♀) X pirapitinga (*Piaractus brachypomus* ♂); a Cachapinta, proveniente do cruzamento de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatus* ♀) e pintado (*Pseudoplatystoma coruscans* ♂); o pintachara ou “ponto e vírgula”, cruzamento entre Pintado (*Pseudoplatystoma coruscans* ♀) X Cachara (*P. reticulatum* ♂); o Cachandiá ou “Pintado da Amazônia”, Cachara (*Pseudoplatystoma punctifera* ♀) X Jundiá da Amazônia (*Leiarius marmoratus* ♂); e o Pintadiá, produzido pelo cruzamento entre Pintado (*Pseudoplatystoma coruscans* ♀) com Jundiá da Amazônia (*Leiarius marmoratus* ♂).

Muitos híbridos produzidos ainda são desconhecidos e/ou não foram explorados em larga escala, portanto, assim visando nos preparar para atuar sobre impactos, principalmente ambientais, que podem vir juntamente com a sua produção em larga escala, há a necessidade de desenvolver maiores estudos sobre a sua biologia, características morfológicas, fisiológicas e desenvolvimento ontogênico. (FAUSTINO et al., 2007).

1.3 Desenvolvimento larval em peixes

Após a eclosão, as larvas ainda não estão completamente formadas, pois os órgãos (organogênese) ainda não se encontra completamente desenvolvida. A maioria das larvas de peixe de água doce eclode completamente transparente, apresentando poucos cromatóforos, a boca e ânus ainda não estão completamente formados, e saco vitelínico é grande (NAKATANI et al., 2001; INOUE et al. 2009; ISHIKAWA et al., 2012). Neste período as larvas consomem o alimento endógeno, nutrindo-se pelo vitelo, que é absorvido constantemente por meio de endocitose via camada sincicial vitelínica (ISHIKAWA et al., 2012).

Com aproximadamente de dois a três dias, as larvas apresentam abertura da boca, absorção do saco vitelínico e sistema digestório funcional, iniciando-se a alimentação exógena. A primeira alimentação é realizada com náuplios de artêmia recém-eclodidas. Esse tipo de alimentação pode ser exclusivo durante toda a

larvicultura, ou substituída gradativamente ou total por zooplâncton. Visando condicionar as larvas a receberem ração artificial extrusada, inicia-se a partir do 10º a 15º dia o treinamento alimentar. É necessário a transição gradativa para o alimento inerte, uma vez que, nessa fase as larvas não comem imediatamente alimentos inertes. Durante o início do treinamento é fornecida ração farelada de proteína bruta com adição de coração de boi ou gônada de peixe. Além disso, pode realizar a suplementação adicional com vitamina C e aditivos alimentares como imunomoduladores (β -glucanas) e prebióticos (mananoligossacarídeos), a fim de promover melhorias na saúde intestinal e tornarem as larvas mais resistentes. Neste período de transição para alimentação com ração, os cuidados com a manutenção da qualidade da água devem ser redobrados (INOUE et al., 2009; ISHIKAWA et al., 2012).

Durante todo o desenvolvimento larval, ocorre um processo de metamorfose até o período juvenil, passando por diferenciações progressivas. As larvas duplicam seu comprimento e aumentam o peso, o sangue torna-se pigmentado, as escamas e os pigmentos aparecem na superfície do corpo e as nadadeiras e ossificação do esqueleto são completamente formadas, de tal modo que, as larvas passam a ser consideradas como juvenis, assemelhando-se a pequenos adultos (NAKATANI et al., 2001).

O período larval e juvenil pode durar de alguns dias a meses, dependendo da temperatura e também da espécie. Nesse tempo, vários eventos são relevantes e devem ser observados como: pigmentação dos olhos, abertura bucal e anal, formação do sistema digestório, duração da absorção do saco vitelínico, padrões de pigmentação e desenvolvimento das nadadeiras. A abordagem desses aspectos é crucial para a larvicultura, assim como, para os estudos de sistemática, taxonomia, ecologia e ontogenia de espécies nativas, sejam estes migradores ou não (GODINHO, 2007; SANTOS; GODINHO, 2002).

1.4 Ontogenia

O desenvolvimento ontogênico em peixes descreve as mudanças envolvidas durante sua formação, desde a fertilização até sua forma adulta (maturação reprodutiva), abrangendo todo o período do ciclo biológico que compreende ovos, embriões, larvas e fase jovem (NAKATANI et. al, 2001). O estudo ontogenético de ovos e larvas em peixes proporciona importantes informações acerca do conhecimento da história de vida inicial e da biologia das espécies, sendo ferramenta importante para larvicultura, além de fornecer subsídio para estudos evolutivos (taxonomia e sistemática) (GODINHO; SANTOS; SATO, 2003).

Segundo Leis e Carson-Ewart (2000), as larvas podem apresentar diferenças com seus respectivos adultos, sabidamente nos aspectos morfológicos e ecológicos, podendo ter alimentação e uso de habitat distintos e apresentar particularidades dos padrões de comportamento. Tais diferenças geram confusão na interpretação de informações e, conseqüentemente, algumas larvas são identificadas de forma errônea, muitas vezes em famílias diferentes dos adultos ou mesmo descritas como novos táxons.

Uma dificuldade encontrada na identificação, durante fases iniciais de desenvolvimento de uma determinada espécie, pode estar relacionada com a triagem da desova, uma vez que espécies semelhantes, muitas vezes de um mesmo gênero, possuem hábitos similares, desovando em uma mesma área no mesmo período (NAKATANI et al., 2001). A escassez de literatura com enfoque taxonômico durante o desenvolvimento ontogênico de peixes, juntamente com o alto número de espécies que apresentam similaridades entre si durante a sua ontogenia inicial, tem dificultado o trabalho de taxonomistas (BIALETZKI et al., 2008). A identificação de espécies híbridas pode ser ainda mais complexa, existindo contradições corriqueiras, uma vez que a mistura gênica pode conter proporções diferentes de conjuntos gênicos dos parentais, e assim, as características morfológicas podem se assemelhar com qualquer uma das espécies (TRIGO, 2008).

Para compreensão das mudanças que ocorrem durante a ontogenia é necessário relacionar informações sobre padrões de crescimento, características morfométricas e morfológicas, juntamente com caracteres merísticos, estruturais e

pigmentares, permitindo a verificação e categorização dos surgimentos de características corporais específicas, auxiliando na identificação de espécies e reconhecimento de variações inter e intra-específica (BIALETZKI et al., 2001).

A morfometria tem como principal objetivo a análise da forma do corpo e do tamanho, e de como estas variáveis se relacionam entre si, proporcionando interpretações, comparações e descrições de organismos, por meio de padrões de variações de caracteres quantitativos (CAVALCANTE; LOPES, 1990; PERES-NETO; VALENTIN; FERNANDES, 1995; GELVARTAS, 2010).

O conhecimento acerca da morfologia óssea é de grande utilidade para as pesquisas ictiológicas, pois permite delimitar caracteres específicos, auxiliando em uma melhor definição dos grupos e de características individuais (CAMPELLO; BEMVENUTI, 2002).

Assim como a osteologia, os cromatóforos são características de grande importância para estudos taxonômicos de larvas de peixes, uma vez que cada espécie apresenta padrões de pigmentação distintos definidos geneticamente, variando em número, localização, posição, formato e tamanho. (KENDALL; AHLSTROM; MOSER, 1984; CORREIA et al., 2010). Em peixes, assim como em outros vertebrados, os cromatóforos se originam a partir de células da crista neural embrionária, diferenciando-se durante a sua migração ou após a distribuição. A coloração em peixes ocorre principalmente nas camadas da derme, podendo estar presentes na superfície da epiderme ou em camadas mais profundas (ALVES, 2007; CORREIA et al., 2010).

Apesar do grande número de espécies de teleósteos de água doce atualmente conhecidas, poucos estudos abordam os aspectos ontogênicos. Parte dos trabalhos dão enfoque evolutivo, ecológico ou descritivo como Bialezki et al. (2001), Gavaia; Dinis e Cancela (2002), Sfakianakis et al. (2005), Miquelarena; Ortubay e Cussac (2005), Bemvenuti (2005), Britz e Conway (2009), Silva (2010), Carvalho (2010), Costa e Neto (2012), Bensimon-Brito et al. (2012a), Bensimon-Brito et al. (2012b), Zacardi et al. (2014), Andrade et al. (2014), Faustino, et al. (2015), Assega, et al. (2016), Andrade, et al. (2016), Vrtílek; Reichard (2016), ficando uma lacuna de conhecimento que dá suporte a estudos taxonômicos e aplicação na biologia pesqueira. Esta falta de informação é ainda maior quando se refere a

aspectos básicos das fases iniciais de híbridos interespecíficos e intergenéricos (FAUSTINO et al. 2007).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Descrever as principais mudanças morfológicas ao longo da ontogenia larval, da eclosão até o 30º dia após a eclosão, das espécies *P. reticulatum* Eigenmann & Eigenmann, 1889, *L. marmoratus* (Gill, 1870) e o híbrido resultante do cruzamento entre ambas (*P. reticulatum* ♀ x *L. marmoratus* ♂), visando obter uma diagnose para o reconhecimento das duas espécies e seu híbrido em suas fases iniciais de vida.

2.2 Objetivos específicos

Como objetivos específicos visamos:

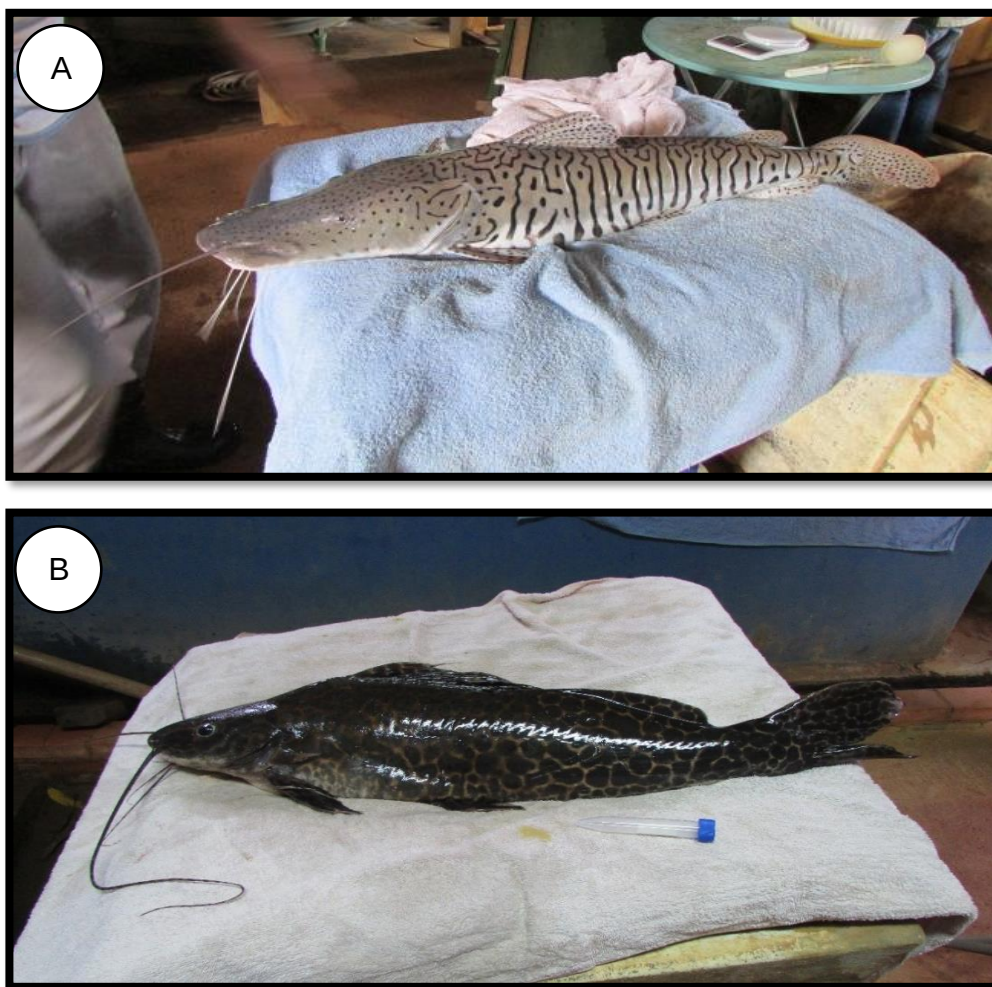
- (1) Descrever morfo-temporalmente os estágios iniciais durante a ontogenia larval, da eclosão até o 30º dia após a eclosão, por meio de caracteres morfométricos, merísticos e padrão de pigmentação das espécies parentais e do híbrido;
- (2) Comparar características morfológicas, morfométricas e merísticas do híbrido com seus parentais, diagnosticando as alterações morfológicas resultantes da hibridação;
- (3) Construir uma diagnose que permita identificar as formas iniciais de vida (larvas e juvenis) do híbrido e seus parentais.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de realização e obtenção de larvas e juvenis

O experimento foi realizado no período de dezembro de 2015 a fevereiro de 2016, que corresponde ao período reprodutivo dos parentais *Pseudoplatystoma reticulatum* (Fig. 1A) e *Leiarius marmoratus* (Fig. 1B). Para obtenção das larvas e juvenis foram realizadas reproduções induzidas, utilizando o plantel de reprodutores pertencentes à Colpani Piscicultura, localizada no município de Mococa/SP.

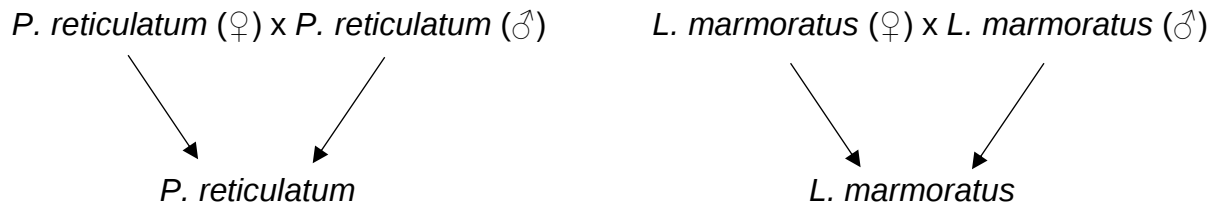
Figura 1: A) Exemplar de *Pseudoplatystoma reticulatum* (80 cm; 7 kg aprox.) e B) Exemplar de *Leiarius marmoratus* (60 cm; 5 kg aprox.).



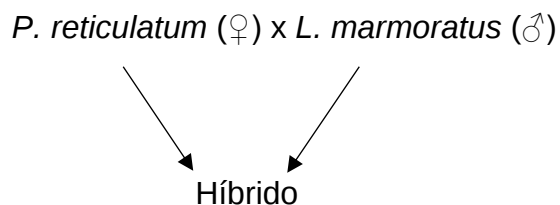
Fonte: Próprio autor.

As séries de desenvolvimento (larvas e juvenis) foram obtidas a partir de 3 cruzamentos, sendo eles:

Para obtenção de espécies puras:



Para obtenção do híbrido: (ao citar um cruzamento de híbridos utiliza-se o nome da fêmea primeiro e depois o nome no macho).



As larvas recém-eclodidas foram transferidas e mantidas até o 30º após eclosão (final do experimento) no Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais – CEPTA/ICMBIO, em Pirassununga – SP.

Inicialmente foram colocadas em torno de 2000 larvas em 01 caixa de fibra de vidro, com capacidade para 250 L (Fig. 2). Na medida em que os peixes foram crescendo, foram sendo divididos e transferidos para mais 01 caixa, totalizando no final do experimento 02 caixas por espécie. A temperatura da água variou entre 26°C a 29°C. A oxigenação e renovação de água foram constantes durante todo o experimento.

As larvas começaram a ser alimentadas com dois dias após a eclosão, 5 vezes ao dia com náuplios de artêmia até aproximadamente o 16º dia de experimento. Após esse período, foi realizado o treinamento para aceitação de ração, utilizou-se ração comercial farelada de proteína bruta (proteína 55%; extrato

etéreo 10%; fibra bruta 4%; matéria mineral 20%; umidade 10%; vitamina C 600mg/kg), intercalado com o náuplio de artêmia.

As coletas, procedimentos e manejos foram submetidos e autorizados pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) do CEPTA/ICMbio (Processo 02031.000034/2015-57).

Figura 2: Caixas com as séries de desenvolvimento larval, com oxigenação e renovação de água.



Fonte: Próprio autor.

3.2 Forma de coleta

Foram analisadas 30 séries de desenvolvimento, com início das coletas na eclosão até o 30º dia pós-eclosão. Para avaliação do desenvolvimento inicial, as amostras foram coletadas em intervalos de seis em seis horas até a primeira alimentação exógena, em seguida de 12 em 12 horas por cinco dias e por fim as coletas aconteceram periodicamente a cada 24 horas até o 30º após a eclosão. Para cada coleta foram amostrados de 10 a 15 larvas ou juvenis.

Durante o período estudado, foram analisados 205 indivíduos de *Leiarius marmoratus* (25 em larval vitelínico, 55 em pré-flexão, 20 em flexão, 45 em pós-flexão e 60 juvenil inicial), 210 indivíduos de *Pseudoplatystoma reticulatum* (35 em larval vitelínico, 45 em pré-flexão, 40 em flexão, 35 em pós-flexão e 55 em juvenil

inicial) e 205 indivíduos híbridos (*Pseudoplatystoma reticulatum* X *Leiarius marmoratus*) (35 em larval vitelínico, 35 em pré-flexão, 25 em flexão, 40 em pós-flexão e 70 em juvenil inicial).

As larvas e juvenis coletados foram previamente anestesiados em solução 0,5% de benzocaína e posteriormente fixadas em karnovsky e principalmente em formaldeído a 10%, utilizando tampão fosfato, preparado com $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$ (fosfato de sódio monobásico) e Na_2HPO_4 (fosfato de sódio dibásico anidro) por 24 a 48 horas, dependendo do tamanho das larvas. Após fixação, o material foi conservado em álcool 70%.

O material testemunho referente às espécies utilizadas neste trabalho, bem como as séries de desenvolvimento ontogenética, foram depositadas no Laboratório de Ictiologia Neotropical (LINEO), Departamento de Biologia e Zootecnia vinculado à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEIS), UNESP, Câmpus de Ilha Solteira/SP. Os exemplares que não foram coletados permaneceram no Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais – CEPTA/ICMBIO, em Pirassununga – SP.

3.3 Descrição larval e técnicas de preparo

3.3.1 Fases de desenvolvimento

As larvas foram classificadas em estágios de desenvolvimento, de acordo com o grau de flexão da notocorda e desenvolvimento da nadadeira caudal e baseada nos principais eventos morfológicos, seguindo a terminologia descrita por Kendal, Ahlstron e Moser (1984) modificadas por Nakatani et al. (2001). A classificação compreende a dois períodos:

Período Larval: ocorre entre a eclosão e a perda completa dos caracteres embrionários. Neste período ocorrem as principais mudanças ontogênicas, entre sequência e desenvolvimento de estruturas, como a formação das nadadeiras, início e processo de pigmentação. Um dos principais eventos desse desenvolvimento é a completa flexão dorsal da notocorda, subsequente o desenvolvimento hipocordal da

nadadeira caudal. Portanto, é conveniente subdividir o período larval em estágios: vitelínico, pré-flexão, flexão e pós-flexão.

- **Estágio vitelínico:** estágio de desenvolvimento que vai da eclosão até o início da alimentação exógena. As larvas nesta fase podem apresentar olhos parcialmente ou completamente pigmentados e início da abertura da boca e ânus.

- **Estágio pré-flexão:** vai desde o início da alimentação exógena até início da flexão da notocorda, com o surgimento dos primeiros elementos de suporte da nadadeira caudal. Nesta fase as larvas podem manter-se com vitelo ou resíduos do mesmo.

- **Estágio flexão:** compreende ao estágio em que se inicia a flexão dorsal da notocorda, com o aparecimento dos elementos de suporte da nadadeira caudal até a completa flexão da mesma. Nesta fase começam os botões da nadadeira pélvica e o início da segmentação dos raios incipientes da nadadeira dorsal e anal. O estágio de flexão, na maioria dos peixes, é acompanhado de um rápido desenvolvimento dos raios das nadadeiras, mudança na forma do corpo, mudanças na habilidade de locomoção e em técnicas alimentares.

- **Estágio pós-flexão:** são consideradas as larvas que apresentam completa flexão da notocorda, assim como, formação dos raios da nadadeira caudal e que já apresentam vestígios dos elementos de suporte das nadadeiras dorsal, anal, peitorais e pélvicas, até a completa formação dos raios das nadadeiras, absorção da nadadeira embrionária.

- **Período Juvenil:** é caracterizado pelo término do processo larval, com a completa absorção da nadadeira embrionária e formação das nadadeiras dorsal, anal, peitoral e pélvica, passando por mudanças nas proporções do corpo, pigmentação e hábitos de um adulto até a primeira maturação sexual, podendo ser considerados pequenos adultos.

Para cada fase de desenvolvimento foram descritas as principais características morfológicas, desenvolvimento de estruturas e órgão, e a pigmentação das larvas, que consiste na verificação da presença, distribuição e forma dos cromatóforos; as descrições destas características foram realizada com

auxílio do microscópio estereoscópio Motican SMZ-168 e microscópio Zeiss Scope A1, equipado com câmera AxioCam MRc5.

3.3.2 Histologia

Para as observações histológicas, as larvas foram fixadas em solução de Karnovsky modificado (glutaraldeído a 2,5% e paraformaldeído a 4% em tampão fosfato pH 7,2 e 0,2M) por 24 horas e conservados em álcool 70%. A seguir, o material foi destinado à rotina de inclusão em historesina IC80 HD (Leica®, Germany) no Laboratório de Ictiologia Neotropical.

O procedimento de inclusão em historesina seguiu as seguintes etapas: após a fixação do material as amostras foram desidratadas em séries graduadas de álcool, com 3 repetições de 30 minutos cada em álcool 80%, 90%, 95% e álcool absoluto sequencialmente. Em seguida, foram mantidos por 24 horas em solução de pré-infiltração de resina e álcool absoluto na proporção 1:1. A seguir, as amostras permaneceram por 24 horas em solução de infiltração de resina para posteriormente serem incluídas em histomoldes contendo resina com solução endurecedora. Os histomoldes foram mantidos por 48 horas em estufa (60°C) para completar a polimerização da resina. Secções histológicas de 1-3µm de espessura foram realizadas com navalhas de vidro, em micrótomo automático LEICA RM 2245.

As secções histológicas em historesina foram submetidas à rotina de coloração com Azul de Toluidina a 1% pH 7 ou Hematoxilina/Eosina (HE) (BANCROFT; GAMBLE, 2002).

3.3.3 Pigmentação

Foram analisadas as características morfológicas da pigmentação das larvas e juvenis, que consiste na verificação da presença, distribuição e forma dos cromatóforos e o padrão de coloração das espécies, a descrição destas características foi realizada com auxílio de um microscópio estereoscópio (Motic SMZ-168) e por fotografias realizadas com o auxílio de um estereomicroscópio *Leica S8 APO*, acoplado com uma câmera digital para microscópios *Leica DFC295*, conectada a um computador e câmera fotográfica Nikon D3100.

3.3.4 Avaliação morfométrica e merística

Para caracterização morfométrica das larvas foram avaliadas 19 características (tabela 1) baseadas no trabalho de Buitrago-Suárez; Burr (2007), Bialetzki et al. (2008) e Andrade et al. (2014), com modificações. Os exemplares de tamanho diminuto (recém-eclodidos até aproximadamente estágio de flexão) foram fotografados com o auxílio de um estereomicroscópio *Leica S8 APO*, acoplado a uma câmera digital para microscópios *Leica DFC295*, conectada a um computador. Os indivíduos de maior tamanho (entre o estágio de pós-flexão até juvenis) foram fotografados com câmera fotográfica Nikon D3100. As larvas e juvenis foram corretamente posicionadas, sempre do lado esquerdo do corpo. Posteriormente foram realizadas as mensuras dos caracteres morfométrico com o auxílio do programa ImageJ (Fig 3).

Tabela 1: Características morfométricas avaliadas nos estágios vitelínico, pré-flexão, flexão e pós-flexão e período juvenil.

Morfométricas
1 - CP - Comprimento padrão - da extremidade do focinho ao final da coluna vertebral (todos os estágios)
2 - CT - Comprimento total - da extremidade do focinho ao final da nadadeira caudal (todos os estágios)
3 - DFND – Distância focinho-nadadeira dorsal - da extremidade do focinho à origem da nadadeira dorsal (a partir do estágio de flexão)
4 - DFNA – Distância focinho-nadadeira anal - da extremidade do focinho à origem da nadadeira anal (a partir do estágio de flexão)
5 - DFNP – Distância focinho-nadadeira peitoral - da extremidade do focinho à porção anterior da nadadeira peitoral (a partir do estágio de flexão)
6 - DFNPv – Distância focinho-nadadeira pélvica - da extremidade do focinho à origem da nadadeira pélvica (a partir do estágio de flexão)
7 - CSV - Comprimento do saco vitelino - da extremidade anterior à extremidade posterior da região ventral (estágio vitelínico)
8 - LSV - Largura do saco vitelino - largura na região mediana do saco vitelínico na posição ventral (estágio vitelínico)

9 - Aco - Altura do corpo - altura do corpo na região de origem dos miômeros logo após a cabeça (todos os estágios)

10 - CC - Comprimento da cabeça - da extremidade do focinho à extremidade posterior do opérculo (todos os estágios)

11 - AC - Altura da cabeça - altura na extremidade posterior do supraoccipital (todos os estágios)

12 - Apc - Altura do pedúnculo caudal - na vertical que passa pelo fim do comprimento da nadadeira anal (a partir do estágio de flexão)

13 - Cca - Comprimento da cauda – do poro urogenital ao final da coluna vertebral (todos os estágios)

14 - Ctr - Comprimento do tronco - do final da cabeça ao poro urogenital (todos os estágios)

15 - CF - Comprimento do focinho - extremidade do focinho a origem da órbita ocular (todos os estágios)

16 - BND - Base da nadadeira dorsal - da origem ao fim da base da nadadeira dorsal (a partir do estágio de flexão)

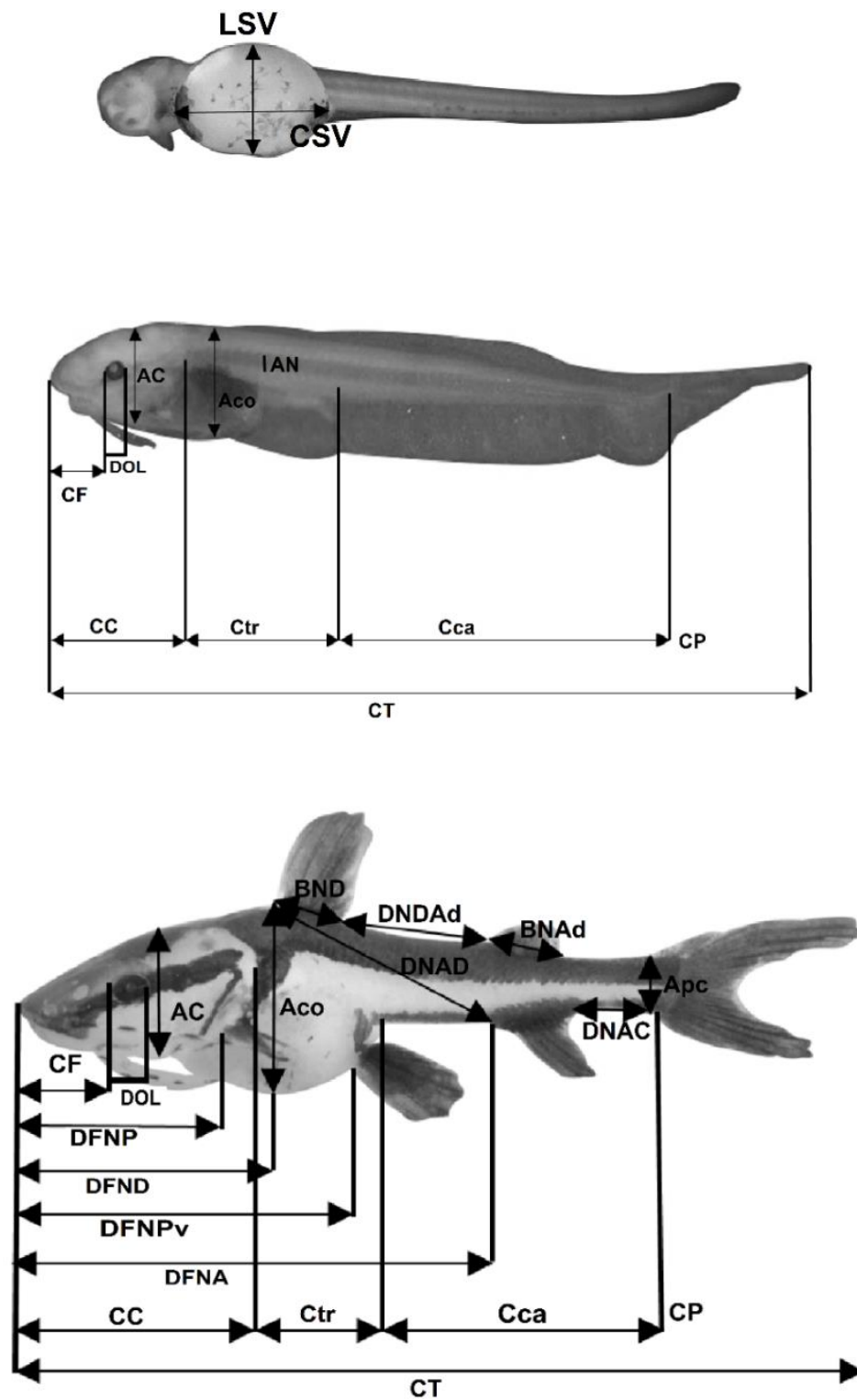
17 - DOL - Diâmetro do olho - Diâmetro da orbital (todos os estágios)

18 - BNAd - Base da nadadeira adiposa – da origem ao final da nadadeira adiposa (a partir do estágio de pós-flexão)

19 – DND-Ad – Distância nadadeira dorsal-adiposa – do final da nadadeira dorsal à origem da nadadeira adiposa (a partir do estágio de flexão)

Fonte: Próprio autor.

Figura 3 - Diagrama esquemático das medidas.



Fonte: Próprio autor.

Foram avaliadas, quando possível, cinco características merísticas (tabela 2), baseadas no trabalho de Buitrago-Suarez e Burr (2007). Para realização das análises das características merísticas, nos exemplares cuja ossificação já esteja presente (estágio de pós-flexão a juvenis), foi utilizado o método de diafanização seguindo o protocolo de Taylor e Van Dike (1985) e Carvalho (2010). Este processo consiste em clarear o material por meio de enzimas proteolíticas e corar cartilagem por meio do Azul de Alcian 8 vezes e ossos por meio do corante Alizarina red. As amostras foram analisadas e fotografadas sob microscópio estereoscópio (Motic SMZ-168 equipado com câmera Moticam 2500).

No protocolo abaixo está descrita a sequência dos procedimentos para realização do método de diafanização. O tempo de permanência nas soluções pode ser alterado para menos ou para mais, de acordo com o tamanho dos exemplares:

- 1 – Álcool 80% (1 a 3 h)
- 2 – Álcool 90% (1 a 3 h)
- 3 – Álcool 100% (1 a 3 h)
- Opcional: Xilol, banho até clareamento
- 4 – Azul de Alcian 20% ac. ("overnight" 10 mg corante/100ml sol.) (9 a 16h)
- 5 – Clareamento -10~20% H₂O₂ (3%) + 80~90% KOH (0,5~1%) – somente para larvas com pigmentação (cromatóforos) (Acompanhando)
- 6 - Enzima (30% S.S. Bórax + 70% H₂O destilada) – ¼ colher chá tripsina /100 ml sol. Para larvas menores, deixar pouco tempo (20 min.) – 36°C
- 7 – Enxágue rápido em H₂O destilada
- Opcional: Xilol, banho até clareamento
- 8 - Vermelho de Alizarina + KOH (0,5 ~ 1%) - "vermelho escuro" - se necessária a preservação de musculatura, diluir em álcool (4 a 12h)
- Opcional: Xilol, banho até clareamento.
- 9 - Lavagem em H₂O destilada ou volta rápida para enzima para remoção do excesso de corante - opcional
- 10 – Para remoção de guanina, solução KOH 2 a 4%, algumas horas, acompanhando (Opcional)
- 11 – Glicerina 25% (1:3) em H₂O, ou KOH (0,5~1%) para mais clareamento – Todas as soluções de glicerina devem descansar para a eliminação das bolhas (3h)

12 – Glicerina 50% (1:1) em H₂O, ou KOH (0,5~1%) (3h)

13 – Glicerina 75% (3:1) em H₂O, ou KOH (0,5~1%) (3h)

14 – Glicerina 100% em H₂O + timol (O timol pode ser diluído em uma gota (literalmente) de álcool absoluto e, então, adicionado a glicerina. Deste modo, melhora-se a solubilização do timol sem alteração a concentração da glicerina)

Tabela 2: Características merísticas avaliadas a partir do estágio de flexão.

Merísticas
1. Raios da nadadeira dorsal
2. Raios da nadadeira peitoral
3. Raios da nadadeira pélvica
4. Raios da nadadeira anal
5. Quantificação e distribuição dos miômeros

Fonte: Próprio autor.

3.4 Análise estatística

Foi utilizada a Análise Discriminante, livre de tamanho (no sentido de controlar e corrigir a variação de formas), por permitir diferenciar populações por meio das variáveis observadas (características morfométricas), definindo a função discriminante entre os grupos e a partir dela, classificar os espécimes em cada um dos grupos (PERES-NETO; VALENTIN; FERNANDEZ, 1995).

Posteriormente as variáveis morfométricas utilizadas por estágio do desenvolvimento, foram avaliadas pelo teste não paramétrico de Kurskal-wallis ($p>0,05$) por não atenderem à premissa de normalidade, quando aplicado o teste de Shapiro-Willk ($p>0,05$), a fim de aferir as possíveis diferenças das variáveis morfométricas entre os grupos.

Nas análises das relações corporais, as variáveis morfométricas foram expressas como porcentagens do comprimento padrão e comprimento da cabeça ao longo do desenvolvimento: DFND, DFNA, DFNP, DFNPv, CSV, LSV, Aco, CC, Apc, Cca, Ctr, BND, BNAd, DND-Ad foram relacionadas com o comprimento padrão e AC, CF, DOL foram relacionadas com o comprimento da cabeça.

4 RESULTADOS

4.1 Caracterização morfológica

Período Larval

Larval Vitelínico: (Fig. 4) o comprimento padrão varia, neste estágio, de 2,16 a 3,74 mm (Média (X_m) = 2,96 mm $\pm$ 0,48) em *L. marmoratus* (Tab. 4; Fig. 6A), 3,12 a 5,15 mm (X_m = 4,14 mm $\pm$ 0,57) em *P. reticulatum* (Tab. 3; Fig. 5A), e no híbrido de 2,54 a 5,48 mm (X_m = 4,11 mm $\pm$ 0,79) (Tab. 5; Fig. 7A).

Os exemplares em estágio vitelínico apresentaram notocorda visíveis por transparência e os olhos parcialmente pigmentados no início do estágio (Fig. 8). O saco vitelínico inicialmente é grande e com formato elíptico e parcialmente absorvido no final do estágio (Fig. 8). Foram constatados os primórdios do coração, a formação inicial dos arcos branquiais e intestino, que se apresenta curto, com sua parte terminal não ultrapassando a metade do corpo, vesícula encefálica e vesícula ótica com dois otólitos (Fig. 8). A boca e ânus encontravam-se fechados. A nadadeira embrionária (*finfold*) contorna todo o corpo, com início na extremidade posterior do saco vitelínico contornando o pedúnculo caudal, seguindo dorsalmente em direção à cabeça, aproximadamente a região mediana do vitelo (Figs. 5A, 6A, 7A e 8).

A cabeça apresenta-se curvada para baixo, aderida à extremidade anterior do saco vitelínico. No final do estágio, alinha-se ao eixo longitudinal do corpo, desprendendo do saco vitelínico. Inicia-se o desenvolvimento de dois pares de barbilhões, um maxilar e um mentoniano.

As larvas permaneceram transparentes durante todo estágio, com pigmentação escassa. Nas duas espécies parentais e no híbrido era bem evidente o agrupamento de cromatóforos (dendríticos) nas extremidades anterior e posterior do saco vitelínico. Em *L. marmoratus* havia alguns cromatóforos (dendríticos) espalhados na região ventral do corpo. Nos exemplares de *P. reticulatum* também foram observados na região ventral e na parte inferior do saco vitelínico. Esse mesmo padrão foi verificado nos híbridos, além de apresentarem cromatóforos dendríticos na cabeça e entre os olhos (Figs. 5A, 6A e 7A).

Pré-Flexão: (Fig. 4) nesse estágio o comprimento padrão variou em *L. marmoratus* de 3,60 a 5,60 mm ($X_m = 4,43 \text{ mm} \pm 0,52$) (Tab. 4; Fig. 6B), em *P. reticulatum* foi de 4,73 a 5,34 mm ($X_m = 5,34 \text{ mm} \pm 0,28$) (Tab. 3; Fig. 5B) e no híbrido de 4,91 a 6,69 mm ($X_m = 5,73 \text{ mm} \pm 0,50$) (Tab. 5, Fig. 7B). O número total de miômeros, variou de 49 a 53 em *L. marmoratus* (18 a 21 pré e 31 a 32 pós-anal), em *P. reticulatum* variou de 45 a 48 (13 a 17 pré e 30 a 32 pós-anal) e o híbrido de 48 a 50 (15 a 17 pré e 33 pós-anal).

No início deste estágio, houve a completa absorção do saco vitelínico. Também foi observada a formação do intestino, que permanece com sua parte terminal não ultrapassando a metade do corpo. Boca e ânus encontram-se abertos (Fig. 9). Os olhos estavam completamente pigmentados. A nadadeira embrionária permaneceu com o mesmo padrão de distribuição do estágio anterior, sem apresentar delimitações das nadadeiras, exceto a nadadeira caudal no final do estágio, quando ocorre o começo da flexão da notocorda e a formação incipiente dos ossos hipurais (Fig. 9). O opérculo começa a apresentar definição, sobrepondo o botão da nadadeira peitoral que está em início de desenvolvimento, ainda sem raios, nos exemplares maiores.

Estavam formados os três pares de barbilhões, 1 maxilar e 2 mentonianos. As larvas continuaram transparentes, mantendo o padrão de pigmentação do estágio anterior. Para os exemplares de *P. reticulatum* houve aparecimento de cromatóforos (dendríticos) na região superior do estômago e próximo aos olhos (Figs. 5B e 9).

Flexão: (Fig. 4) o comprimento padrão dos exemplares de *L. marmoratus* variou de 5,18 a 7,83 mm (Média (X_m) $6,48 \text{ mm} \pm 0,81$) (Tab. 4; Fig. 6C), os de *P. reticulatum* 5,37 a 8,32 mm ($X_m = 6,62 \text{ mm} \pm 0,90$) (Tab. 3; Fig. 5C) e os híbridos variaram de 6,27 a 9,08 mm ($X_m = 7,38 \text{ mm} \pm 0,72$) (Tab. 5, Fig. 7C). O número de miômeros totais foi de 51 a 52 (19 pré e 32 a 33 pós-anal) em *L. marmoratus*, nas larvas de *P. reticulatum* ficou entre 45 a 48 (13 a 15 pré e 32 a 33 pós-anal), nos híbridos variou de 49 a 51 (16 a 18 pré e 32 a 33 pós-anal).

A notocorda ainda visível por transparência inicia a flexão, sendo visível nesse estágio o desenvolvimento dos raios da nadadeira caudal. A nadadeira embrionária esteve presente por todo o estágio, porém apresentando moderada absorção e começando a delimitar as nadadeiras anal e dorsal (Fig. 10A). A

visualização da nadadeira peitoral tornou-se melhor, e os raios rudimentares foram observados nas larvas de *L. marmoratus* e do híbrido a partir de 6,11 mm e 6,27 mm de CP respectivamente. Já nas larvas de *P. reticulatum* foi possível observar a partir de 5,82 mm de CP (Fig. 10C).

No final do estágio foi possível observar com clareza o desenvolvimento inicial dos raios das nadadeiras anal e dorsal (Fig. 10A e 10C). Em *L. marmoratus* e *P. reticulatum* a formação aconteceu aproximadamente em indivíduos com 6,61 mm e 7,53 mm de CP, respectivamente. Nos híbridos, os raios incipientes da nadadeira anal apareceram com 7,14 mm de CP e da nadadeira dorsal com 8,14 mm de CP.

As larvas mantiveram-se transparentes, sendo que nas larvas de *L. marmoratus* houve incremento de cromatóforos (dendríticos) na região superior da cabeça, porém seguindo basicamente o mesmo padrão de pigmentação dos estágios anteriores (Fig. 6C). Em *P. reticulatum* houve intensificação dos cromatóforos dendríticos na região do estômago, sendo que no final do estágio foi observado a formação de uma faixa contornando o opérculo. A pigmentação na região dos olhos também aumentou, formando uma faixa longitudinal por toda extensão da cabeça. No final do estágio, em exemplares maiores, a pigmentação também estava presente na nadadeira caudal e iniciando a formação de uma faixa na região dorsal do corpo (Fig. 5C). Apenas em *P. reticulatum* os barbilhões maxilares apresentaram começo de pigmentação.

Nos híbridos também houve aumento de cromatóforos (dendríticos) na cabeça e na região dorsal do corpo. Nos exemplares maiores era possível ver uma formação discreta de uma faixa na região dos olhos e outra no final da cabeça, contornando o opérculo (Fig. 7C).

Pós-Flexão: (Fig. 4) nesse estágio o comprimento padrão variou nas larvas de *L. marmoratus* de 7,78 a 19,70 mm (Média (X_m) = 12,34 mm $\pm$ 3,25) (Tab. 4; Fig. 6D e E), em *P. reticulatum* foi de 7,25 a 17,29 mm (X_m = 10,92 mm $\pm$ 2,53) (Tab. 3; Fig. 5D e E) e nos Híbridos de 7,76 a 22,88 mm (X_m = 13,13 mm $\pm$ 4,15) (Tab. 5; Fig. 8D e E). Os miômeros totais variaram de 49 a 56 (17 a 20 pré e 32 a 37 pós-anal) em *L. marmoratus*, em *P. reticulatum* variaram de 47 a 49 (13 a 15 pré e 34 a 36 pós-anal), nos exemplares de híbridos os miômeros totais foram de 56 (19 pré e 37 pós-anal).

A nadadeira embrionária ainda é visível nesse estágio, porém nos exemplares mais desenvolvidos apresentou absorção quase completa. A absorção aconteceu no sentido da cabeça para região caudal. No final do estágio, os vestígios observados eram na região da nadadeira adiposa e anal, que se apresentavam interligados por essa membrana ao pedúnculo caudal. Inicialmente, a notocorda é visível por transparência em toda sua extensão, deixando evidente a completa flexão, depois é encoberta por tecido muscular e pigmentação, impedindo sua observação.

No estágio de pós-flexão é observada a formação de todas as nadadeiras (Figs. 10B e 10C). O desenvolvimento inicial da nadadeira pélvica e adiposa ocorreu nas larvas de *P. reticulatum* a partir de 9,07 mm de CP. Em *L. marmoratus* a pélvica esteve presente nas larvas a partir de 10,31 mm de CP e a adiposa a partir de 10,64. Já nos Híbridos, as nadadeiras pélvica e adiposa apresentaram início de formação nas larvas a partir de 11,41 mm e 11,53 mm de CP, respectivamente.

Nos exemplares de *L. marmoratus* a pigmentação intensificou na cabeça, tronco e cauda. No final do estágio é possível observar aglomerados de cromatóforos formando faixas longitudinais na cabeça. No corpo uma faixa é formada entre o final da cabeça e início da nadadeira dorsal até a nadadeira pélvica (Fig. 6D e 6E). Em *P. reticulatum* também houve aumento de cromatóforos, sendo possível observar duas faixas na cabeça, uma na região dos olhos e outra na região superior dos olhos. No corpo também foram constatadas duas faixas longitudinais, uma dorsal e outra ventral, que se unem no pedúnculo caudal (Fig. 5D e 5E). O padrão de pigmentação observado nas larvas de *P. reticulatum* também pode ser notado nos híbridos, além da presença de cromatóforos de forma espalhada na região inferior dos olhos e a formação de uma faixa no final da cabeça e início da nadadeira dorsal até o meio do corpo, semelhante à observada em *L. marmoratus*. As nadadeiras também apresentaram pigmentação no final do estágio (Fig. 7D e 7E).

Período Juvenil: (Fig. 4) o comprimento padrão variou no período de juvenil de 16,63 a 28,84 mm (Média (X_m) = 23,36 mm $\pm$ 2,67) em *L. marmoratus* (Tab. 4; Fig. 6F), já nos juvenis de *P. reticulatum* foi de 15,71 a 35,64 mm (X_m = 23,60 mm $\pm$ 4,67) (Tab. 3; Fig. 5F) e nos híbridos foi de 18,23 a 45,18 mm (X_m = 32,94 mm $\pm$

7,12) (Tab. 5; Fig. 7F). Os miômeros e a notocorda já não eram mais visualizados por transparência.

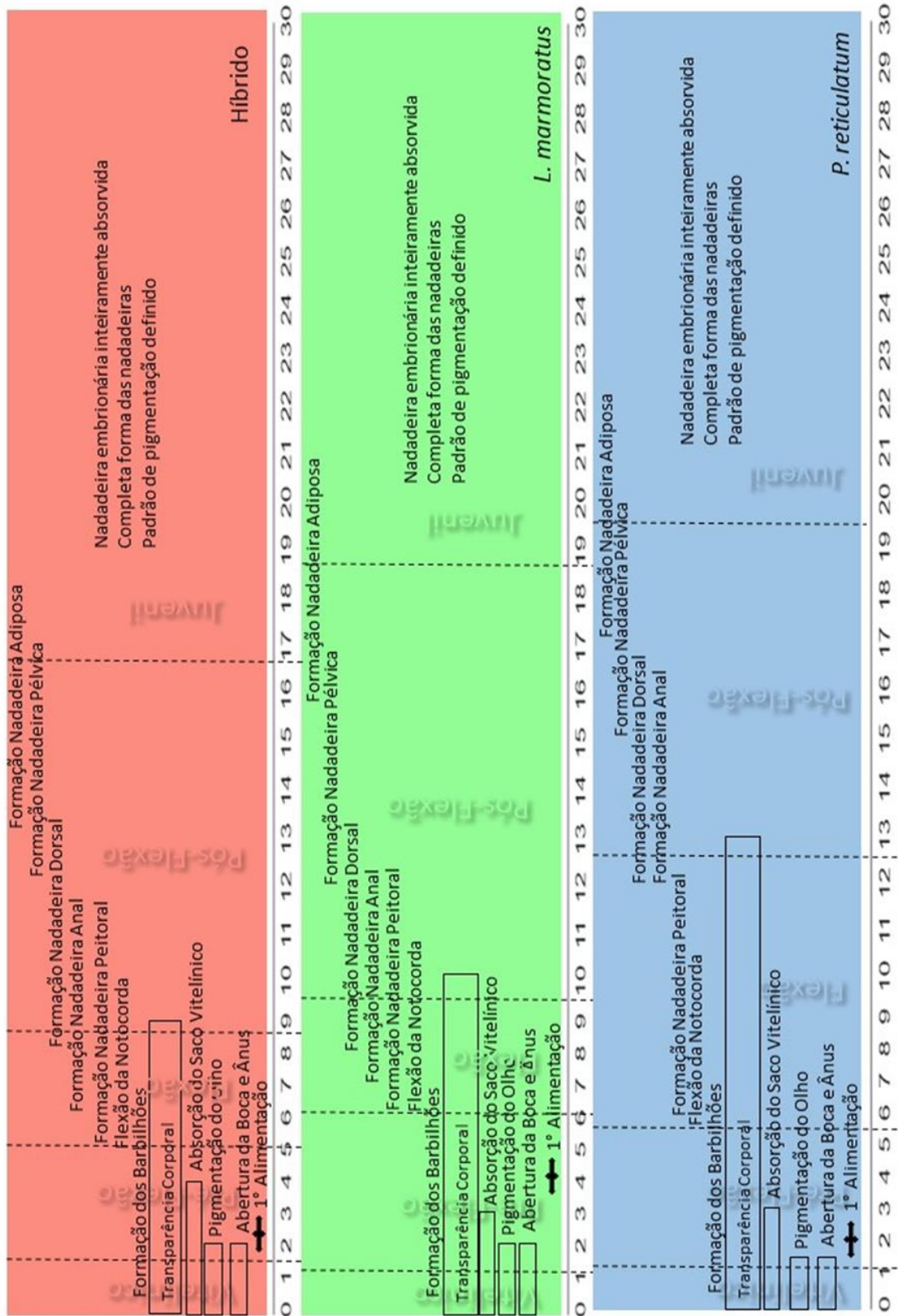
A nadadeira embrionária já estava inteiramente absorvida e as nadadeiras praticamente todas formadas. O número total de raios nas nadadeiras por espécie foi: *L. marmoratus* - dorsal 9 a 16, peitoral 6 a 11, pélvica 6 e anal 10 a 19, em alguns exemplares não houve formação da nadadeira peitoral e em outros apenas do lado direito do corpo; *P. reticulatum* - dorsal 7 a 8, peitoral 5 a 10, pélvica 6 e anal 6 a 20; *Híbrido* - dorsal 7 a 9, peitoral 4 a 11, pélvica 6 e anal 10 a 18.

Em *L. marmoratus* a pigmentação intensificou-se por toda a região lateral, sendo possível observar faixas no corpo, uma entre o final da cabeça e início da nadadeira dorsal até a nadadeira pélvica, outra com início na dorsal até o pedúnculo caudal, passando pela linha lateral, além de quatro faixas longitudinais na cabeça (Fig. 6F).

Nos juvenis de *P. reticulatum*, a pigmentação obedeceu basicamente ao mesmo padrão da fase anterior (pós-flexão), apresentando no corpo duas faixas longitudinais, uma dorsal e outra ventral, que se unem no pedúnculo caudal, além da intensificação de cromatóforos na cabeça, permanecendo uma faixa mais escura na região dos olhos. A parte superior ficou pigmentada por completo, com tonalidade mais clara. Nas nadadeiras observou-se a presença de pintas mais escuras (Fig. 5F).

Nos Híbridos a pigmentação intensificou-se. Na cabeça observou-se uma faixa na região dos olhos, sendo a pigmentação de forma irregular, na parte inferior dos olhos e na região superior há sob a forma de pintas. No corpo pela vista lateral foi observada a formação de faixas, uma entre o final da cabeça e início da nadadeira dorsal até um pouco abaixo da linha lateral, uma outra com início aproximadamente entre o segundo e terceiro raio da nadadeira dorsal até o pedúnculo caudal, passando pela linha lateral. Essa faixa apresentou algumas pintas por toda sua extensão. Na região ventral também é possível visualizar uma faixa, não tão intensa de cromatóforos e também apresentando pintas por sua extensão. As nadadeiras além de pigmentadas apresentaram a formação de pintas mais escuras (Fig. 7F).

Figura 4 - Principais eventos morfológicos observados durante o desenvolvimento larval e juvenil de Híbrido, *Leiarius marmoratus* e *Pseudoplatystoma reticulatum*.



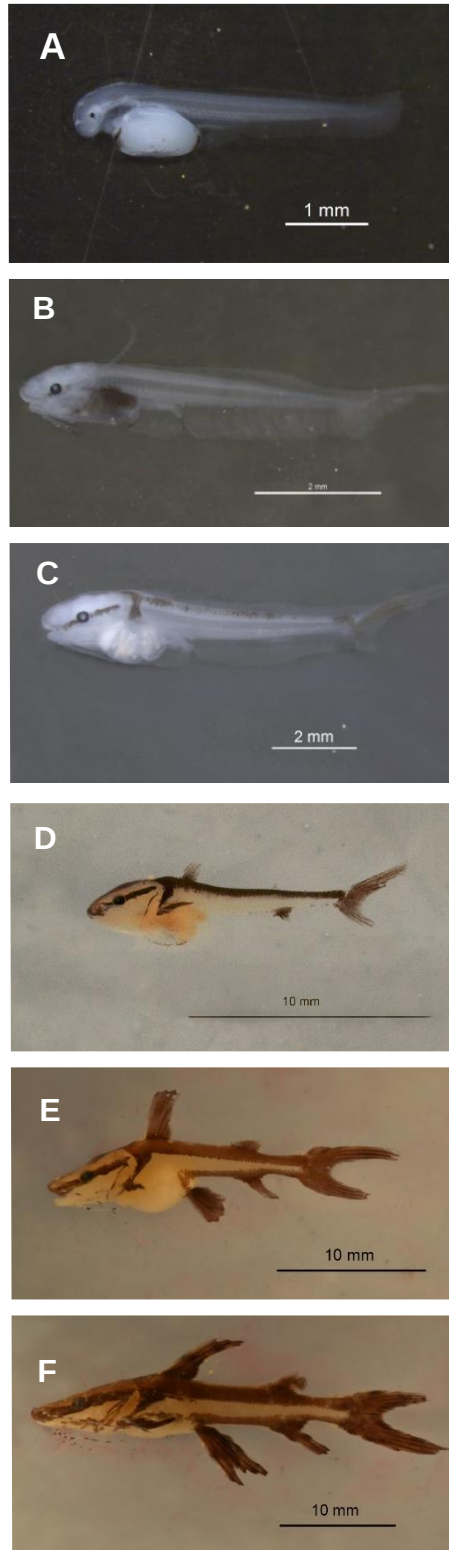
Fonte: Próprio autor.

Tabela 3. Valores máximo (Máx) e mínimo (Min) e média (X), desvio padrão (DP) para as variáveis morfométricas (mm) e merísticas obtidas de larvas e juvenis de *Pseudoplatystoma reticulatum*; (CP, comprimento padrão; CT, comprimento total; DFND, comprimento pré-dorsal; DFNA, comprimento pré-anal; DFNP, comprimento pré-peitoral; DFNPv, comprimento pré-pélvica; CSV, comprimento saco vitelínico; LSV, largura saco vitelínico; Aco, altura do corpo; CC, comprimento da cabeça; AC, altura da cabeça; Apc, altura pedúnculo caudal; Cca comprimento da cauda; Ctr, comprimento do tronco; CF comprimento do focinho; BND, base da nadadeira dorsal; DOL, diâmetro do olho; BNAd, base da nadadeira adiposa; DND-Ad, distância dorsal-adiposa; N, nadadeira).

Medidas	Larval										Juvenil			
	Larval Vitelino					Pré-Flexão					Flexão			
	Min	Max	Med	DP		Min	Max	Med	DP		Min	Max	Med	DP
CP	3,12	5,15	4,14	0,57	4,73	5,87	5,34	0,28			5,37	8,32	6,62	0,90
CT	3,33	5,52	4,44	0,63	4,97	7,09	6,19	0,55			6,52	10,70	8,28	1,27
DFND											2,75	3,16	2,96	0,21
DFNA											5,47	6,00	5,82	0,25
DFNP											1,30	2,37	1,87	0,33
DFNPv											4,78	9,25	6,31	1,18
CSV	0,76	1,13	0,89	0,10										
LSV	0,28	0,70	0,54	0,12										
Aco	0,72	0,85	0,81	0,04	0,70	1,16	0,88	0,10			0,75	2,33	1,37	0,46
CC	0,44	1,02	0,77	0,17	1,01	1,34	1,15	0,10			1,17	2,49	1,68	0,38
AC	0,30	0,79	0,59	0,16	0,70	0,92	0,80	0,05			0,73	1,66	1,10	0,29
Apc											0,26	0,70	0,41	0,12
Cca	1,28	2,80	2,03	0,42	2,46	3,27	2,85	0,18			2,88	4,25	3,47	0,40
Ctr	1,16	1,50	1,33	0,09	1,08	1,66	1,34	0,13			1,13	1,77	1,47	0,18
CF	0,16	0,39	0,29	0,07	0,31	0,58	0,46	0,07			0,39	1,04	0,67	0,16
BND											0,70	0,73	0,71	0,02
DOL	0,03	0,13	0,08	0,03	0,12	0,19	0,16	0,02			0,12	0,38	0,22	0,07
BNAd														
DND-Ad														
Miômeros					45	48					45	48		
Pré-anal					13	17					13	15		
Pós-anal					30	32					32	33		
N. Dorsal														
N. Peitoral														
N. Pélvica														
N. Anal														

Fonte: Próprio autor.

Figura 5 - Desenvolvimento inicial de *Pseudoplatystoma reticulatum*: A) Estágio vitelínico (3,66mm); B) Estágio de pré-flexão (5,52mm); C) Estágio de flexão (7,32mm); D) Estágio de pós-flexão (8,57mm); E) Estágio de pós-flexão (17,29mm); F) Período de juvenil (28,20mm).



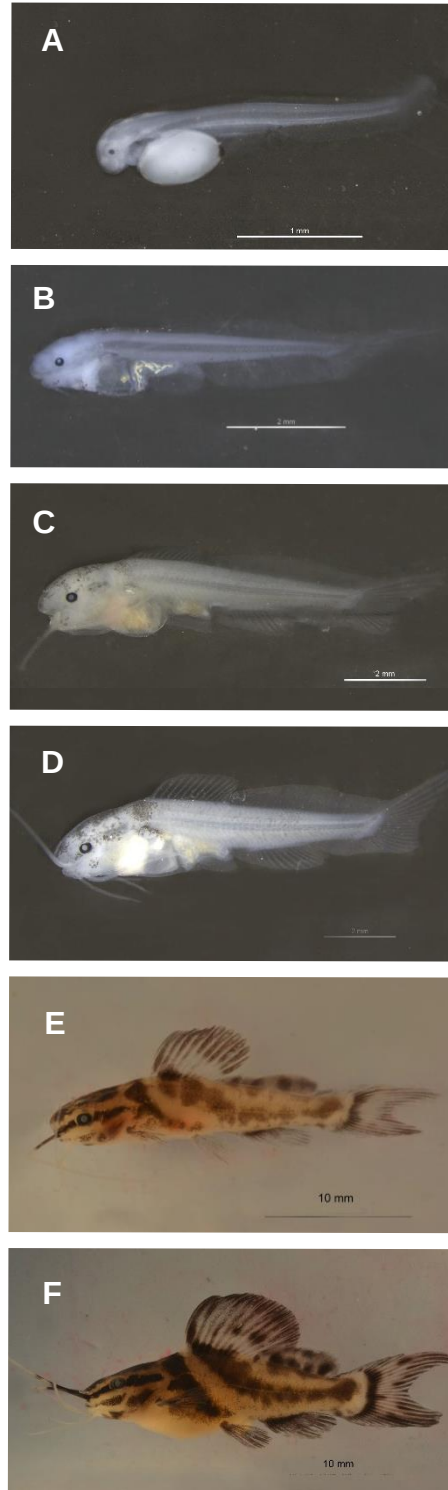
Fonte: Próprio autor.

Tabela 4. Valores máximo (Máx) e mínimo (Min) e média (X), desvio padrão (DP) para as variáveis morfométricas (mm) e merísticas obtidas larvas e juvenis de *Leiarius marmoratus*; (CP, comprimento padrão; CT comprimento total; DFND, comprimento pré-dorsal; DFNA, comprimento pré-anal; DFNP, comprimento pré-peitoral; DFNPv; comprimento pré-pelvíca; CSV, comprimento saco vitelínico; LSV, largura saco vitelínico; Aco, altura do corpo; CC, comprimento da cabeça; AC, altura da cabeça; Apc, altura pedúnculo caudal; Cca comprimento da cauda; Ctr, comprimento do tronco; CF comprimento do focinho; BND, base da nadadeira dorsal; DOL, diâmetro do olho; BNAd, base da nadadeira adiposa; DND-Ad, distância dorsal-adiposa; N, nadadeira).

Medidas	Larval												Juvenil							
	Larval Vitelino						Pré-Flexão			Flexão			Pós-Flexão			Inicial				
	Min	Max	Med	DP	Min	Max	Med	DP	Min	Max	Med	DP	Min	Max	Med	DP	Min	Max	Med	DP
CP	2,16	3,74	2,96	0,48	3,60	5,60	4,43	0,52	5,18	7,83	6,48	0,81	7,78	19,70	12,34	3,25	16,63	28,84	23,36	2,67
CT	2,36	4,07	3,18	0,53	3,97	6,64	5,14	0,70	6,26	9,96	7,93	1,12	9,63	26,19	15,67	4,56	21,63	38,83	31,02	3,72
DFND									2,09	2,54	2,38	0,14	2,52	6,98	4,32	1,22	5,75	10,11	8,21	0,94
DFNA									4,01	4,76	4,41	0,24	4,72	12,38	7,63	2,13	10,03	18,18	14,68	1,86
DFNP									1,38	2,07	1,75	0,19	2,12	5,10	3,37	0,89	4,27	7,82	6,02	0,71
DFNPv													4,34	9,38	6,50	1,33	7,57	13,76	11,14	1,37
CSV	0,61	0,77	0,67	0,05																
LSV	0,36	0,56	0,44	0,05																
Aco	0,56	0,74	0,64	0,05	0,50	1,17	0,78	0,17	0,90	2,00	1,40	0,32	1,50	4,58	3,04	0,85	4,25	7,46	5,25	0,65
CC	0,34	0,72	0,55	0,12	0,68	1,36	0,93	0,17	1,18	2,11	1,59	0,28	2,04	5,65	3,48	1,01	4,54	8,55	6,75	0,83
AC	0,27	0,62	0,46	0,12	0,52	0,97	0,69	0,12	0,74	1,58	1,15	0,21	1,27	3,70	2,40	0,65	3,20	5,19	4,25	0,45
Apc									0,38	0,68	0,52	0,09	0,58	2,04	1,16	0,40	1,76	3,58	2,58	0,41
Cca	0,87	1,89	1,31	0,32	1,74	2,49	2,05	0,20	2,38	3,63	2,93	0,36	3,33	8,93	5,39	1,53	7,72	12,78	10,58	1,11
Ctr	0,91	1,33	1,09	0,10	1,14	1,91	1,44	0,18	1,47	2,38	1,96	0,24	2,10	5,13	3,47	0,78	4,36	8,14	6,00	0,90
CF	0,11	0,27	0,20	0,04	0,22	0,46	0,31	0,06	0,35	0,77	0,55	0,13	0,60	1,78	1,12	0,31	1,37	2,89	2,14	0,31
BND									1,18	1,64	1,43	0,15	1,62	4,77	2,80	0,80	3,75	6,86	5,35	0,69
DOL	0,02	0,08	0,05	0,02	0,08	0,16	0,11	0,02	0,13	0,25	0,20	0,04	0,26	0,97	0,55	0,19	0,78	1,59	1,25	0,20
BNAd													2,90	6,71	5,15	0,97	5,51	9,46	7,85	0,90
DND-Ad													0,27	0,77	0,42	0,14	0,18	0,44	0,30	0,06
Miômeros					49	53			51	52			49	56						
Pré-anal					18	21			19				17	20						
Pós-anal					31	32			32	33			32	37						
N. Dorsal																	I + 8 - 15			
N. Peitoral																	I + 5 - 10			
N. Pélvica																	6			
N. Anal																	10 - 18			

Fonte: Próprio autor.

Figura 6 - Desenvolvimento inicial de *Leiarius marmoratus*: A) Estágio vitelínico (2,57mm); B) Estágio de pré-flexão (5,34mm); C) Estágio de flexão (7,73mm); D) Estágio de pós-flexão (9,20mm); E) Estágio de pós-flexão (19,70mm); F) Estágio de juvenil (27,30mm).



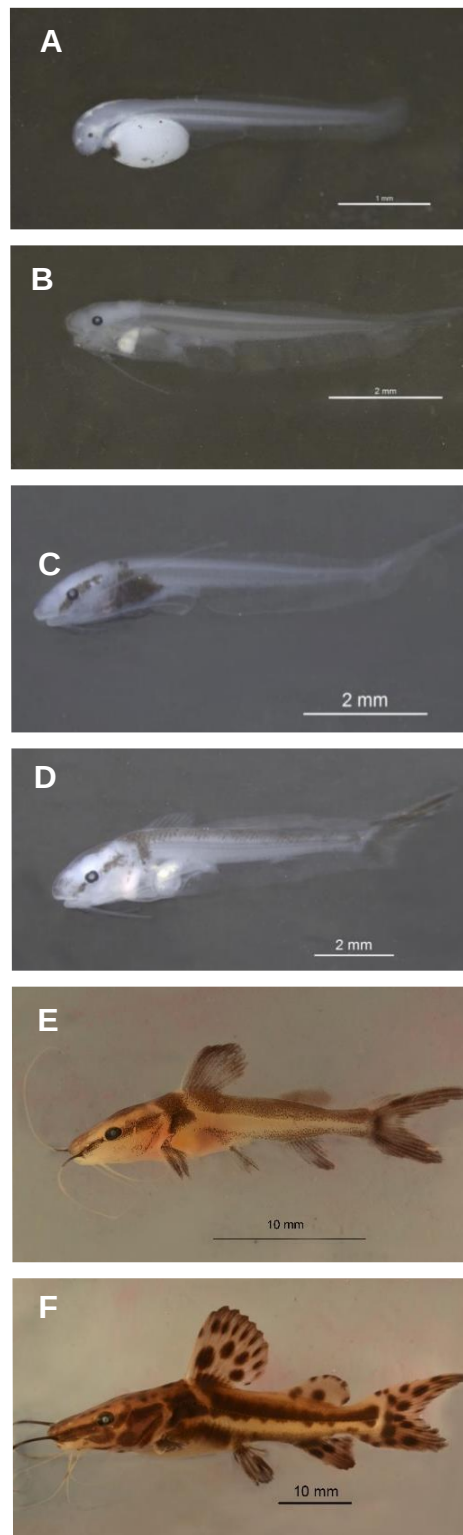
Fonte: Próprio autor.

Tabela 5. Valores máximo (Máx) e mínimo (Min) e média (X), desvio padrão (DP) para as variáveis morfométricas (mm) e merísticas obtidas de larvas e juvenis de Híbrido; (CP, comprimento padrão; CT comprimento total; DFND, comprimento pré-dorsal; DFNA, comprimento pré-anal; DFNP, comprimento pré-peitoral; DFNPv; comprimento pré-pélvica; CSV, comprimento saco vitelínico; LSV, largura saco vitelínico; Aco, altura do corpo; CC, comprimento da cabeça; AC, altura da cabeça; Apc, altura pedúnculo caudal; Cca comprimento da cauda; Ctr, comprimento do tronco; CF comprimento do focinho; BND, base da nadadeira dorsal; DOL, diâmetro do olho; BNAd, base da nadadeira adiposa; DND-Ad, distância dorsal-adiposa; N, nadadeira).

Medidas	Larval										Juvenil														
	Larval Vitelino					Pré-Flexão					Flexão					Pós-Flexão					Inicial				
	Min	Max	Med	DP		Min	Max	Med	DP		Min	Max	Med	DP		Min	Max	Med	DP		Min	Max	Med	DP	
CP	2,54	5,48	4,11	0,79		4,91	6,69	5,73	0,50		6,27	9,08	7,38	0,72		7,76	21,88	13,13	4,15		18,23	45,18	32,94	7,12	
CT	2,73	5,76	4,34	0,87		5,63	7,98	6,70	0,70		6,67	11,15	8,95	1,07		9,19	29,01	17,07	5,65		23,99	59,38	42,86	9,02	
DFND											2,56	3,16	2,87	0,21		2,54	9,00	5,12	1,85		7,30	19,30	13,57	3,12	
DFNA											4,78	5,90	5,38	0,42		5,30	15,70	9,25	2,97		12,70	32,66	23,50	5,39	
DFNP											1,38	2,30	1,76	0,24		2,05	6,28	3,81	1,31		5,31	14,22	9,70	2,24	
DFNPv																5,37	11,16	8,11	1,73		9,19	29,27	17,49	4,28	
CSV	0,76	1,09	0,92	0,07																					
LSV	0,25	0,67	0,49	0,12																					
Aco	0,60	0,84	0,75	0,07		0,70	1,37	0,99	0,17		1,05	2,21	1,53	0,31		1,52	5,13	3,27	1,03		4,25	9,92	6,95	1,32	
CC	0,33	1,01	0,74	0,17		0,94	1,59	1,25	0,18		1,46	2,47	1,86	0,27		2,10	7,24	4,16	1,61		6,08	16,90	11,56	2,70	
AC	0,23	0,79	0,56	0,18		0,64	1,10	0,86	0,11		0,91	1,73	1,23	0,20		1,31	3,89	2,42	0,73		3,21	7,71	5,57	1,13	
Apc											0,38	0,68	0,51	0,08		0,38	2,14	1,14	0,50		1,64	3,74	2,85	0,55	
Cca	1,13	2,98	1,99	0,53		2,50	3,40	2,91	0,24		3,17	4,59	3,63	0,36		3,50	8,57	5,61	1,38		7,25	19,55	12,95	2,94	
Ctr	1,07	1,70	1,38	0,15		1,34	1,87	1,57	0,12		1,64	2,18	1,89	0,13		1,87	6,08	3,37	1,20		4,49	11,48	8,44	1,65	
CF	0,15	0,41	0,27	0,08		0,33	0,65	0,48	0,07		0,49	0,90	0,69	0,09		0,64	2,59	1,45	0,58		2,07	6,81	4,32	1,19	
BND											1,10	1,25	1,15	0,06		0,98	3,16	1,88	0,63		2,21	6,92	4,84	1,07	
DOL	0,02	0,13	0,07	0,03		0,12	0,22	0,17	0,03		0,18	0,35	0,25	0,04		0,28	1,14	0,64	0,27		0,94	2,35	1,72	0,37	
BNAd																2,23	4,21	3,04	0,55		3,38	11,46	7,07	1,90	
DND-Ad																2,35	3,77	3,04	0,35		2,82	6,03	4,50	0,72	
Miômeros						48	50				49	51				56									
Pré-anal						15	17				16	18				19									
Pós-anal						33					32	33				37									
N. Dorsal																					I + 6 - 8				
N. Peitoral																					I + 3 - 10				
N. Pélvica																					6				
N. Anal																					10 - 18				

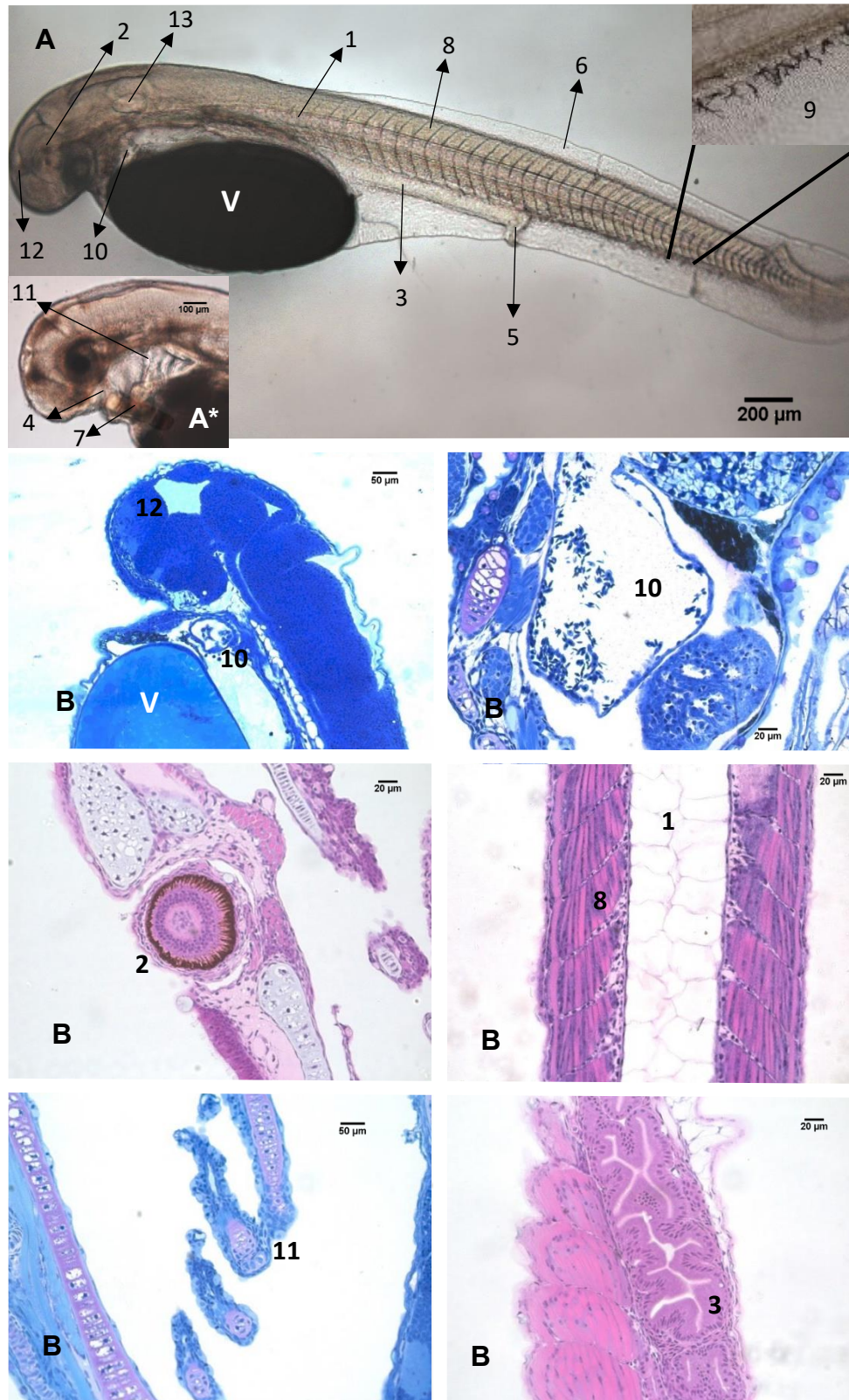
Fonte: Próprio autor.

Figura 7 - Desenvolvimento inicial do Híbrido: A) Estágio vitelínico (3,38mm); B) Estágio de pré-flexão (4,43mm); C) Estágio de flexão (8,14mm); D) Estágio de pós-flexão (8,12mm); E) Estágio de pós-flexão (19,40mm); F) Estágio de juvenil (44,13mm).



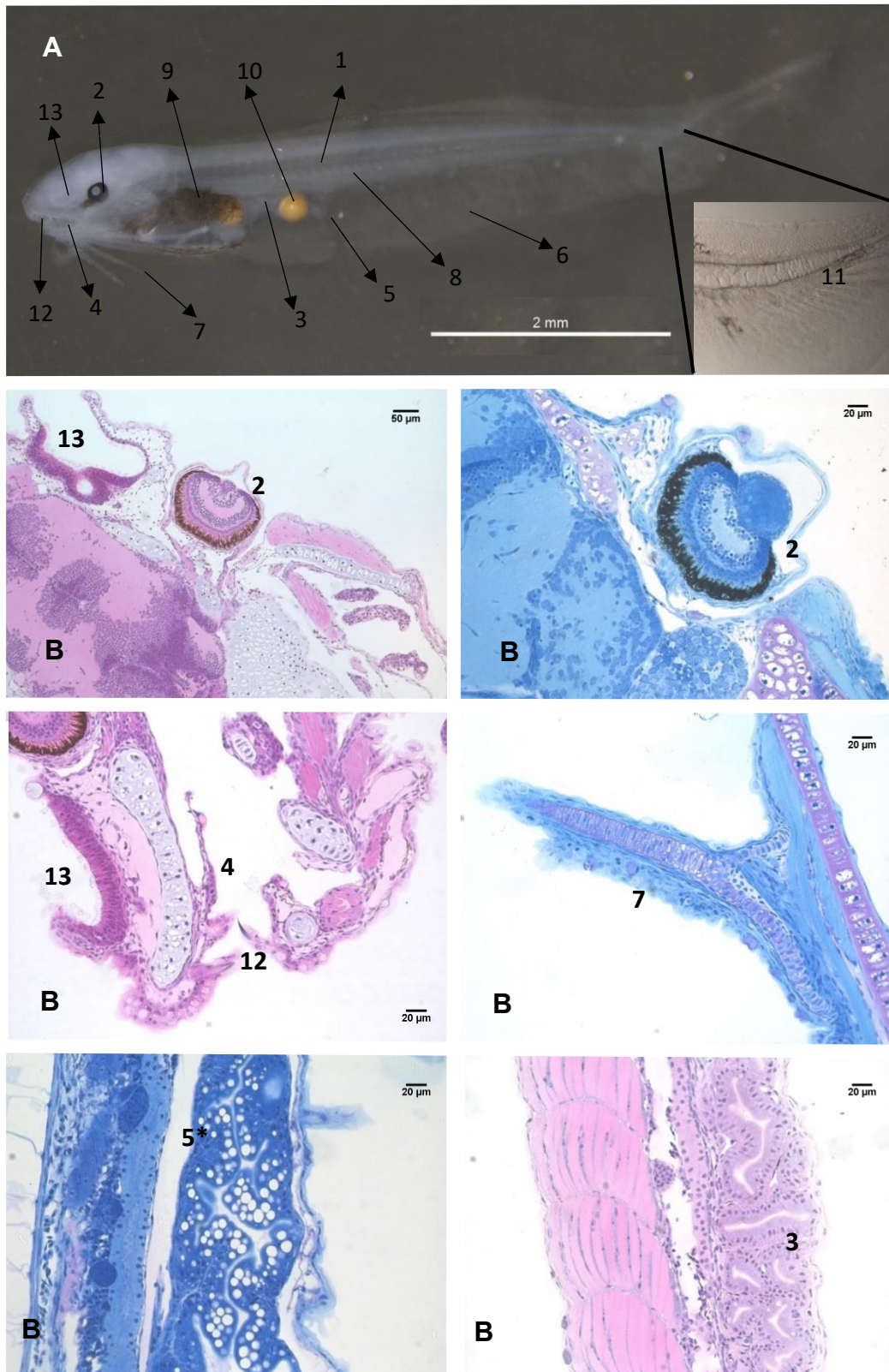
Fonte: Próprio autor.

Figura 8 - Formação de órgãos e estruturas corporais durante o estágio vitelínico: A (Híbrido) - Vitelino inicial; A*- Vitelino final; B (Híbrido) - Observação por análise histológica; 1- Notocorda; 2- Olho; 3- Intestino; 4- Boca; 5- Ânus, 6- Nadadeira Embrionária; 7- Barbilhão; 8- Miômeros; 9- Pigmentação; 10- Coração; 11- Rastros branquiais; 12- Vesícula Encefálica; 13- Vesícula ótica com dois otólitos; V- Vitelo.



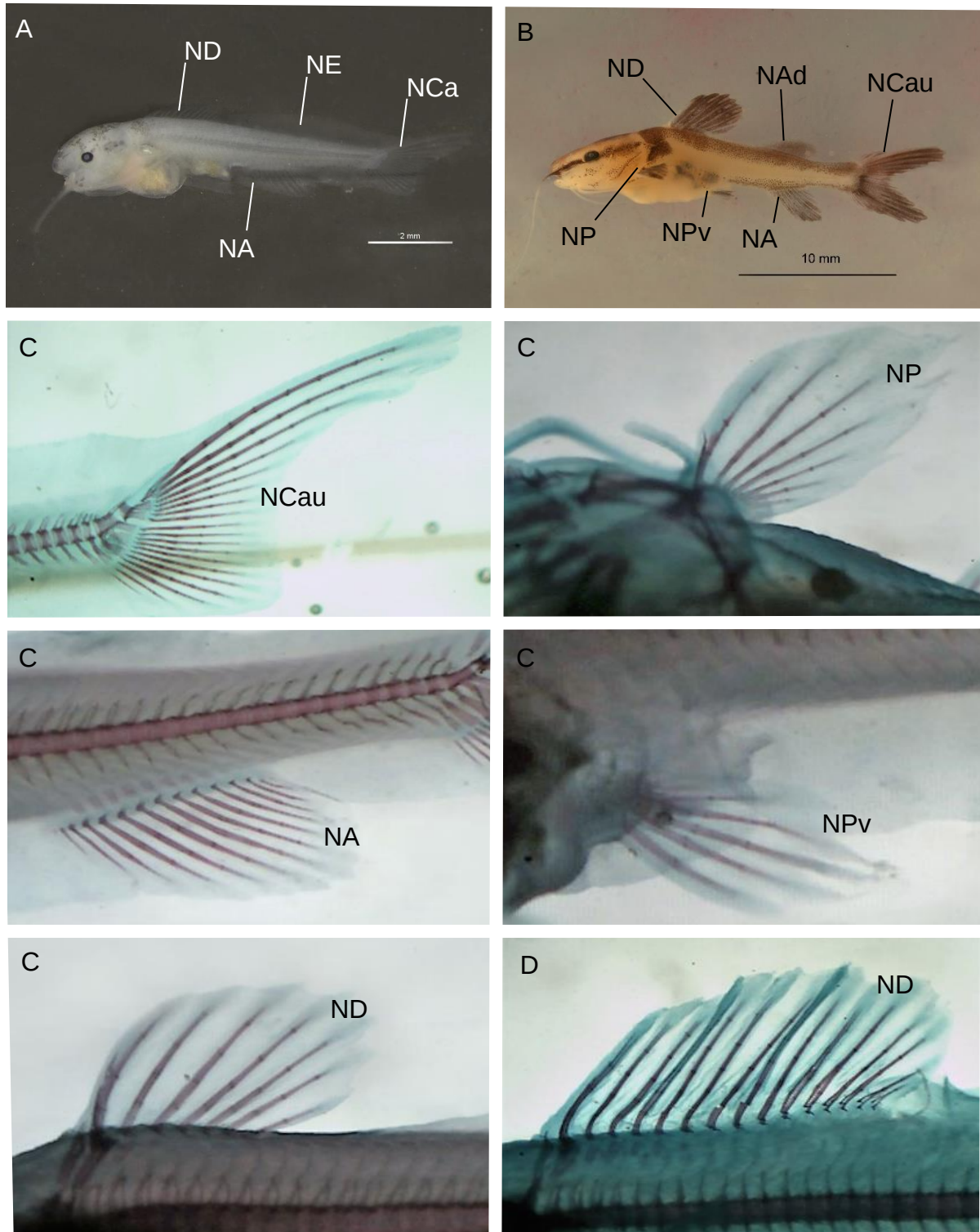
Fonte: Próprio autor.

Figura 9 - Formação de órgãos e estruturas corporais durante o estágio de pré-flexão: A (*Pseudoplatystoma reticulatum*) - Larva em pré-flexão; B (Híbrido) - Observação por análise histológica; 1- Notocorda; 2- Olho; 3- Intestino; 4- Boca; 5- Ânus - 5*- Reto; 6- Nadadeira Embrionária; 7- Barbilhão; 8- Miômeros; 9- Pigmentação; 10- Alimento; 11- Ossos hipurais; 12- Dente; 13- Fossa olfativa.



Fonte: Próprio autor.

Figura 10 - Desenvolvimento das nadadeiras: Estágio Flexão e Pós-Flexão: A (*Leiarius marmoratus*) – Flexão; B (*Leiarius marmoratus*) – Pós-Flexão; C (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e D (*Leiarius marmoratus*) – Raios das nadadeiras pelo processo de diafanização; NCau – caudal; NP – Nadadeira Peitoral; NA – Nadadeira Anal; ND – Nadadeira Dorsal; NPv – Nadadeira Pélvica; NAd – Nadadeira adiposa; NE – Nadadeira Embrionária.



Fonte: Próprio autor.

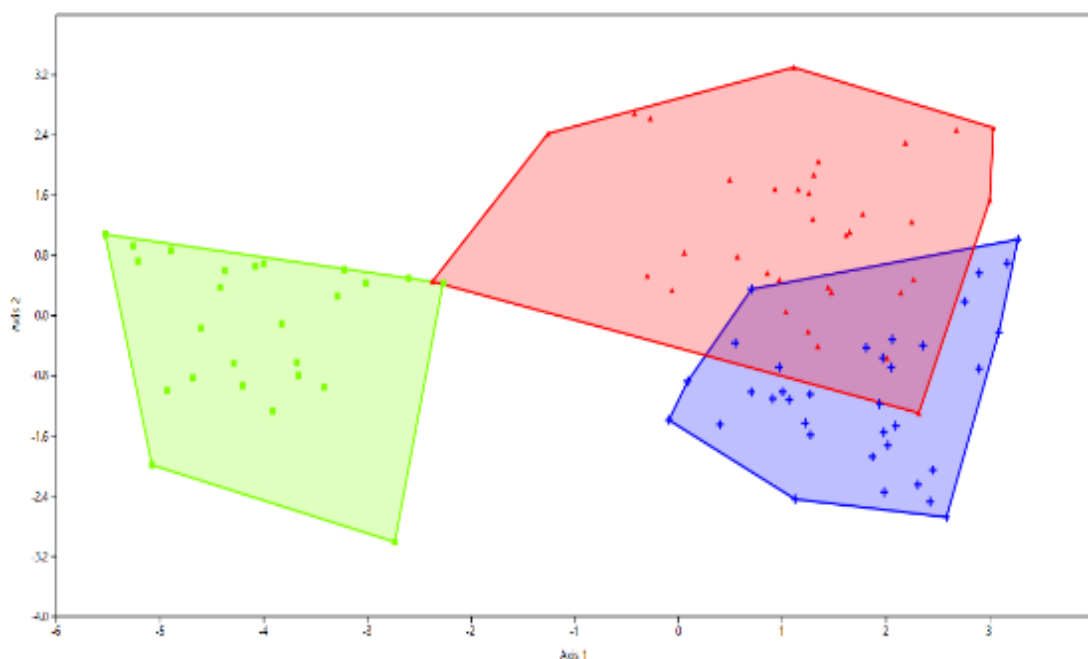
4.2 Análise comparativa aplicada na discriminação do híbrido resultante do cruzamento entre *P. reticulatum* (♀) e *L. marmoratus* (♂) e seus parentais durante os estágios de desenvolvimento inicial.

4.2.1 Morfometria

Vitelínico: No estágio vitelínico, nove características morfométricas foram avaliadas (CSV, LSV, Aco, AC, Cca, Ctr, CC, CF, DOL; como citado na tabela 1). Por meio dos resultados obtidos pela Análise Discriminante é possível verificar a separação entre *L. marmoratus* e *P. reticulatum* diferenciam-se totalmente. Porém, as larvas resultantes do processo de hibridização apresentam maior sobreposição de escores com relação ao parental materno *P. reticulatum* e discreta com o parental paterno *L. marmoratus* (Fig. 11).

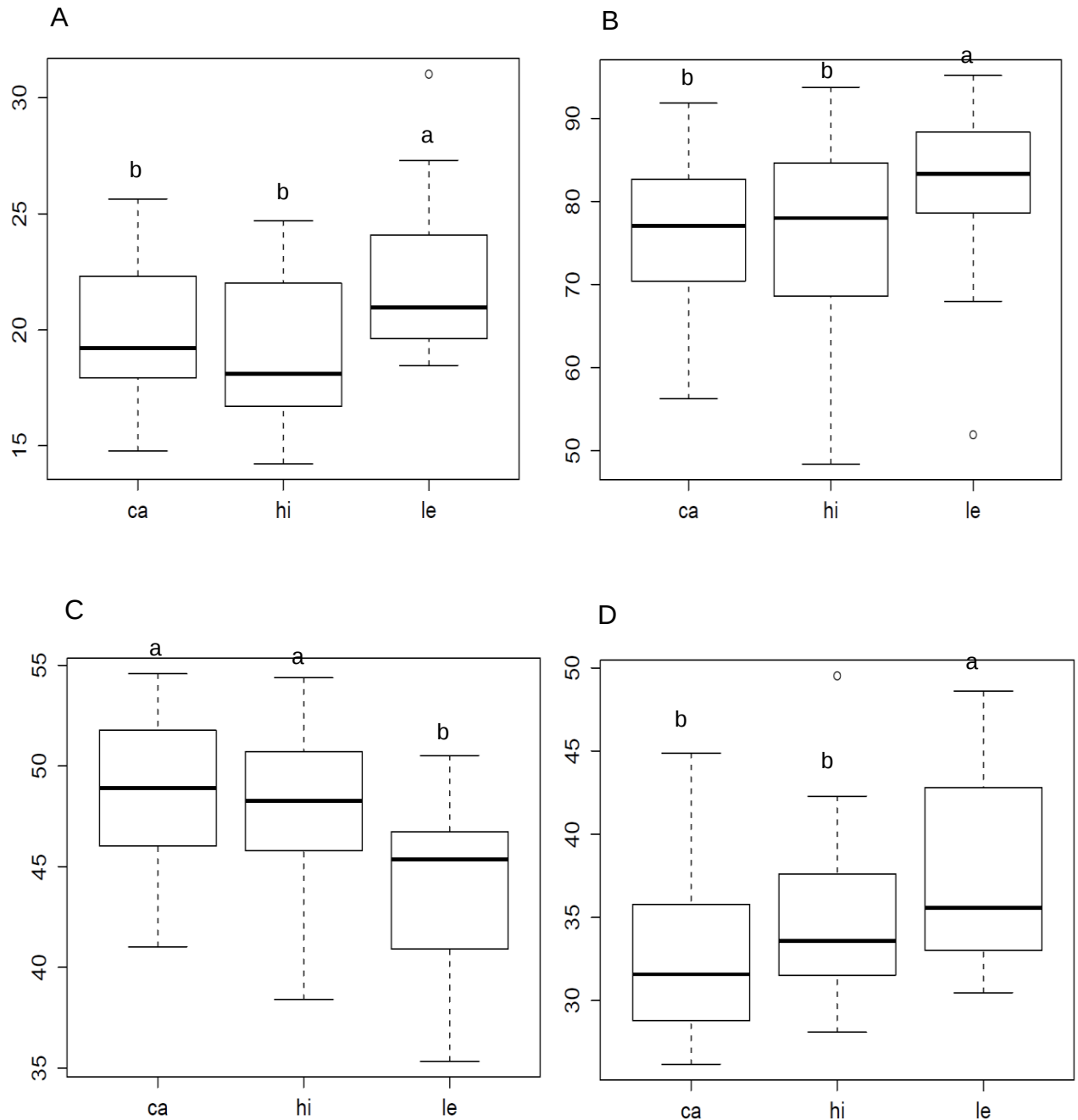
Das nove características utilizadas quatro delas foram as que mais contribuíram para diferenciação entre *L. marmoratus* e *P. reticulatum*, sendo elas: Aco (altura do corpo), AC (altura da cabeça), Cca (comprimento da cauda) e Ctr (comprimento do tronco). No entanto, as medidas quando avaliadas separadamente apresentaram sobreposição entre os intervalos amostrais (Fig. 12; Apêndice A-Tabela 6).

Figura 11 - Projeção dos escores dos indivíduos durante o estágio vitelínico. (+) *Pseudoplatystoma reticulatum*; (■) *Leiarius marmoratus*; (▲) Híbrido.



Fonte: Próprio autor.

Figura 12 - Caracteres morfométricos que tiveram melhor representatividade no estágio vitelínico: A) Altura do corpo; B) Altura da cabeça; C) Comprimento da cauda; D) Comprimento do tronco. Ca – *Pseudoplatystoma reticulatum*; Le – *Leiarius marmoratus*; Hi – Híbrido. Letras diferentes representam diferenças significativas.

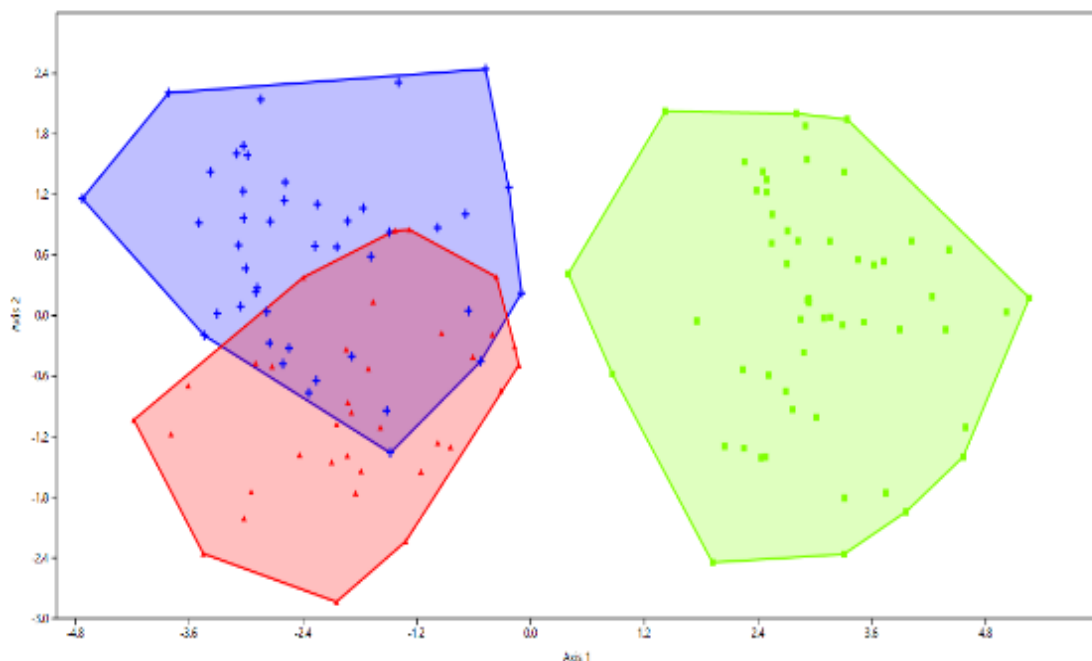


Fonte: Próprio autor.

Pré-Flexão: Para análise deste estágio foram utilizadas sete características morfométricas (Aco, AC, Ctr, Cca, CC, CF, DOL; como citado na tabela 1), que permitiram por meio da Análise Discriminante diferenciar *L. marmoratus* dos outros dois grupos. Não sendo permitido separar os três grupos amostrais, devido à forte sobreposição de medidas entre o híbrido e o parental materno *P. reticulatum* (Fig. 13).

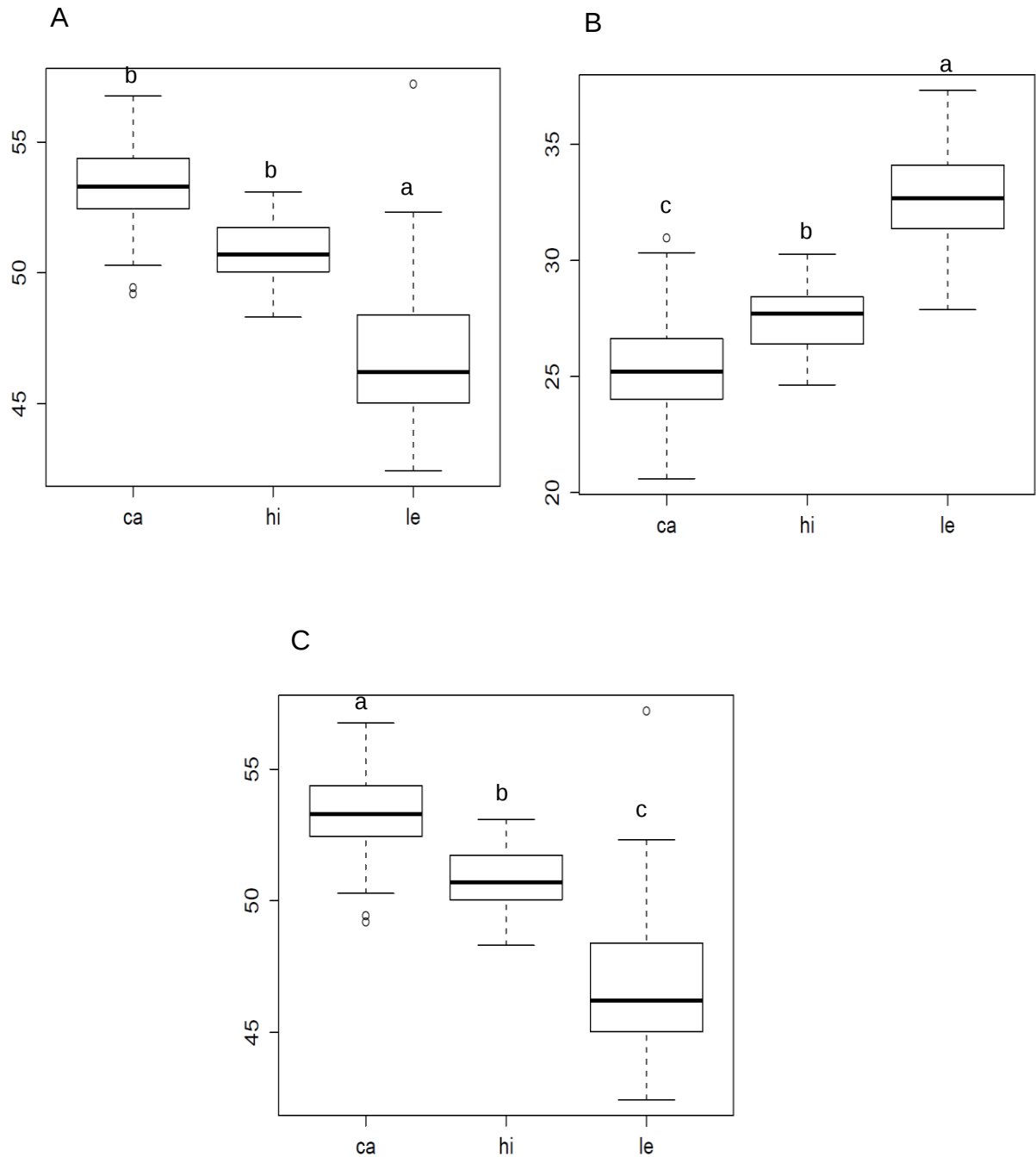
Das sete características morfométricas utilizadas, três delas foram as que mais contribuíram para este resultado, sendo elas: AC (altura da cabeça), Cca (comprimento da cauda) e Ctr (comprimento do tronco). Contudo, as medidas avaliadas separadamente apresentam sobreposição nos intervalos amostrais (Fig. 14; Apêndice A-Tabela 7).

Figura 13 - Projeção dos escores dos indivíduos durante o estágio de Pré-Flexão. (+) *Pseudoplatystoma reticulatum*; (■) *Leiarius marmoratus*; (▲) Híbrido.



Fonte: Próprio autor.

Figura 14: Caracteres morfométricos que tiveram melhor representatividade no estágio pré-flexão – A) Altura da Cabeça; B) Comprimento do tronco; C) Comprimento da cauda. Ca – *Pseudoplatystoma reticulatum*; Le – *Leiarius marmoratus*; Hi – Híbrido. Letras diferentes representam diferenças significativas.

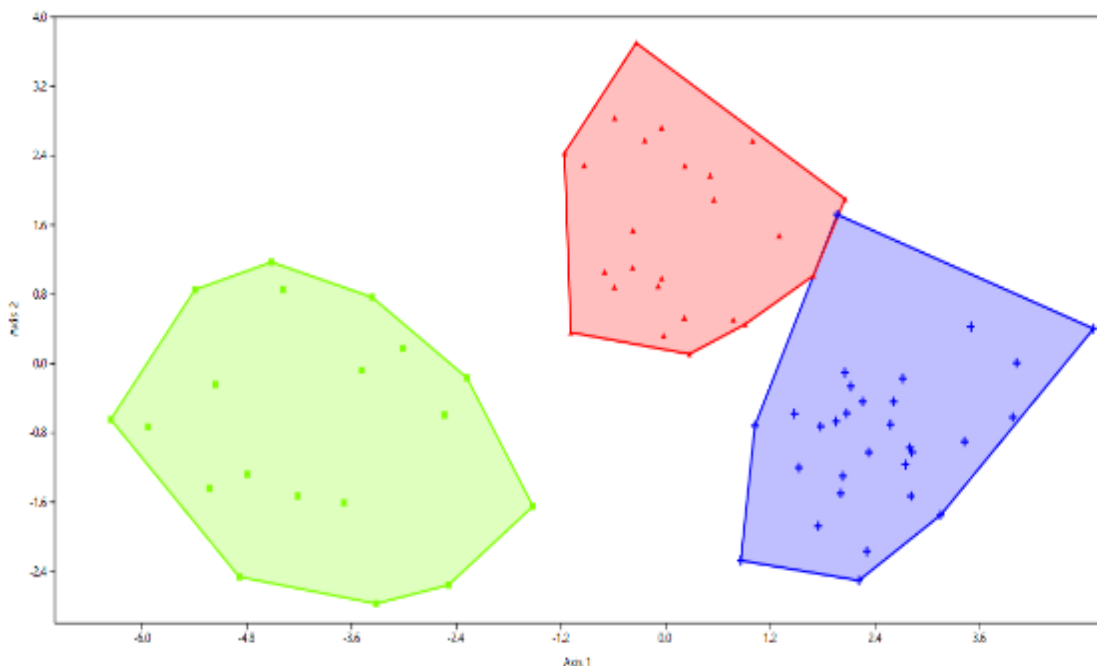


Fonte: Próprio autor.

Flexão: Neste estágio foram avaliadas oito características morfométricas (Ctr, Cca, AC, Apc, CF, Aco, CC, DOL; como citado na tabela 1), que permitiram por meio da Análise Discriminante a separação de *L. marmoratus* e discreta sobreposição de medidas entre o híbrido e o parental materno *P. reticulatum* (Fig. 15).

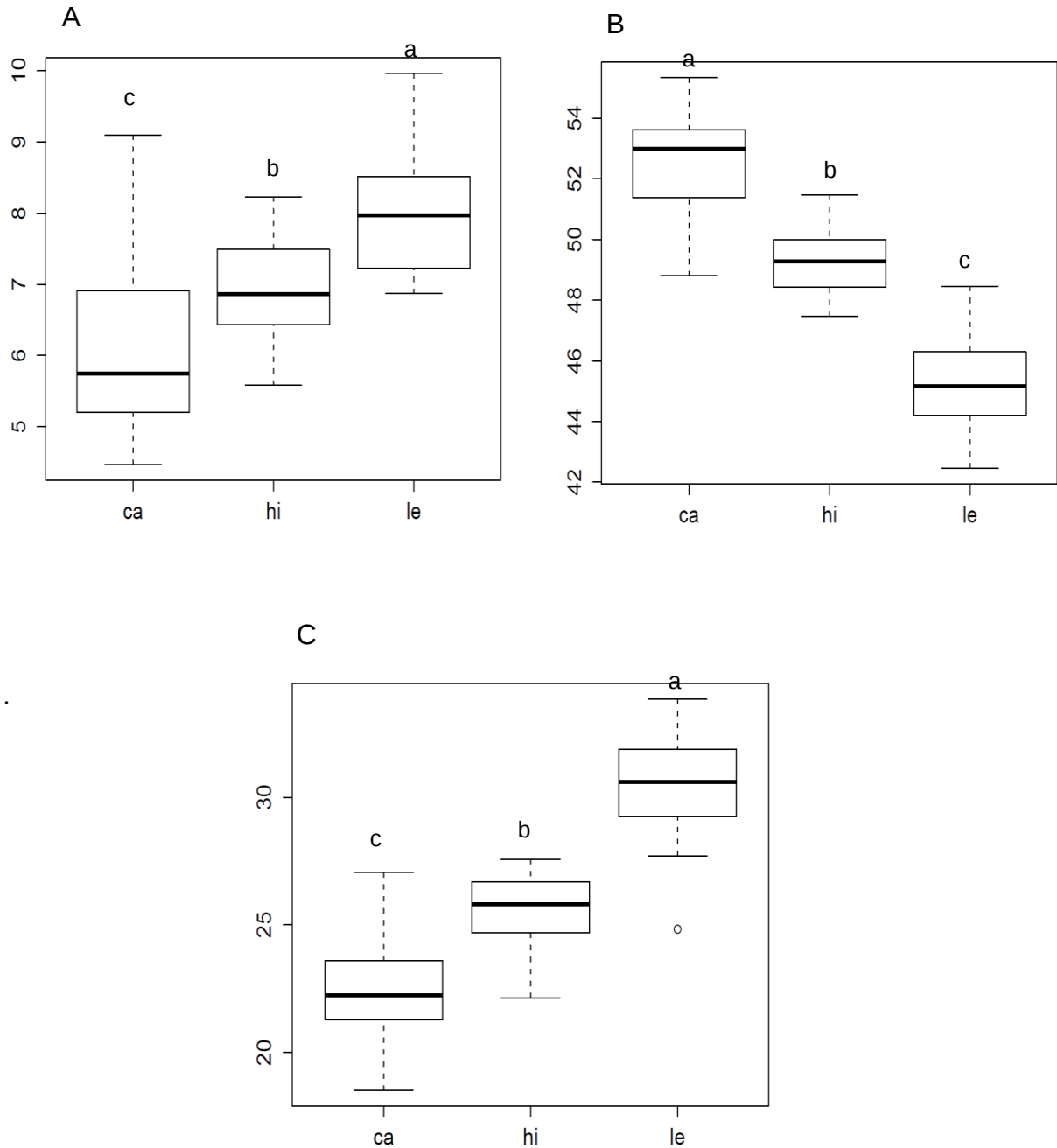
Das oito características utilizadas, três delas foram as que melhor contribuíram para este resultado, sendo elas: Cca (comprimento da cauda), Ctr (comprimento do tronco) e Apc (altura do pedúnculo caudal). No entanto, as medidas quando avaliadas separadamente apresentaram sobreposição nos intervalos amostrais, com exceção de Cca, que permitiu separar *L. marmoratus* de *P. reticulatum* sem qualquer sobreposição entre os intervalos amostrais (Fig. 16; Apêndice A-Tabela 8).

Figura 15 - Projeção dos escores dos indivíduos durante o estágio de Flexão. (+) *Pseudoplatystoma reticulatum*; (■) *Leiarius marmoratus*; (▲) Híbrido.



Fonte: Próprio autor.

Figura 16 - Caracteres morfométricos que tiveram melhor representatividade no estágio flexão. – A) Altura do Pedúnculo Caudal; B) Comprimento da Cauda; C) Comprimento do Tronco. Ca – *Pseudoplatystoma reticulatum*; Le – *Leiarius marmoratus*; Hi – Híbrido. Letras diferentes representam diferenças significativas.

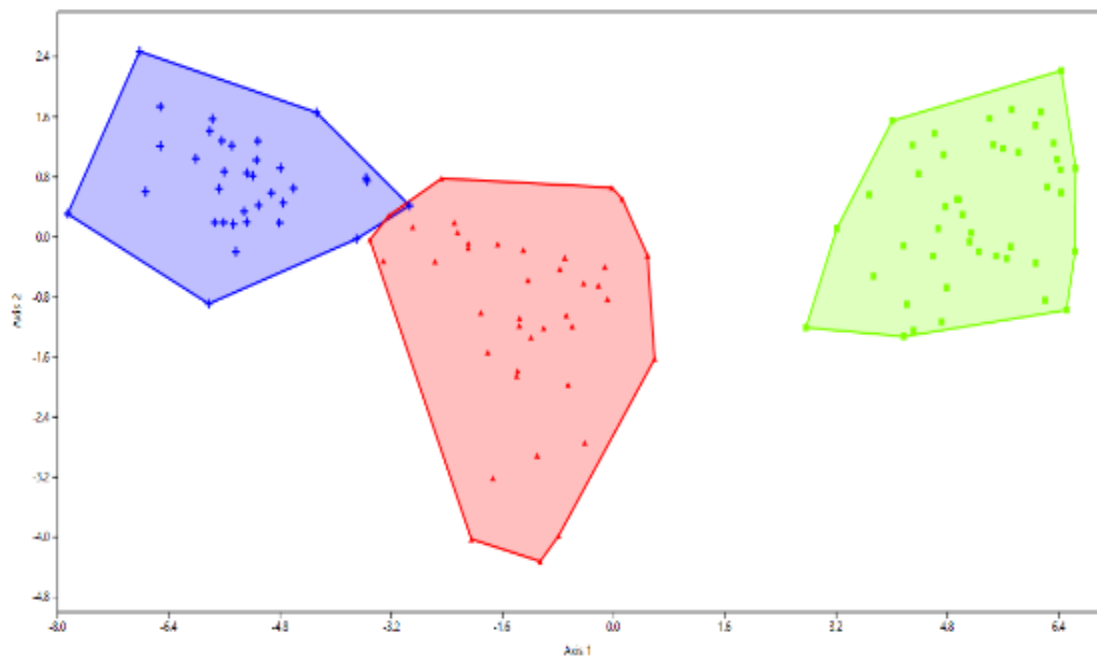


Fonte: Próprio autor.

Pós-Flexão: Em pós-flexão 12 características morfométricas (BND, DFNA, Ctr, AC, Aco, CC, DOL, Apc, DFND, DFNP, Cca, CF; como citado na tabela 1) foram avaliadas. Os resultados obtidos por meio da Análise Discriminante foram semelhantes aos observados em flexão, diferenciando *L. marmoratus* dos outros dois grupos e discreta sobreposição entre o híbrido e o parental materno *P. reticulatum* (Fig. 17).

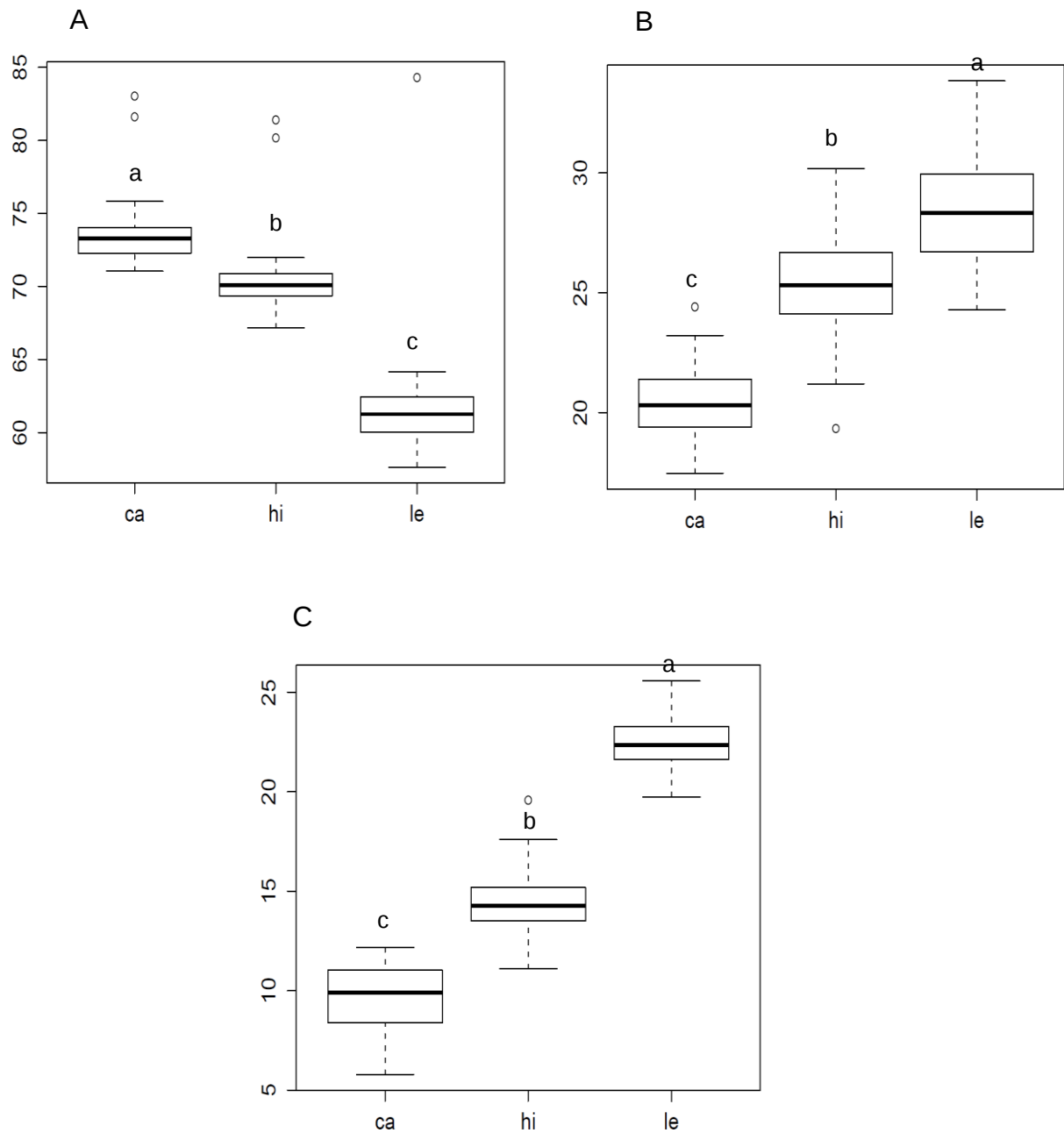
Das 12 características morfométricas avaliadas, três foram as que mais contribuíram para este resultado, sendo elas: Ctr (comprimento do tronco), DFNA (distância focinho nadadeira anal) e BND (base da nadadeira dorsal). Entretanto, quando avaliadas separadamente a medida DFNA apresentou sobreposição entre os três grupos, porém, as medidas Ctr e BND separaram *L. marmoratus* de *P. reticulatum* sem sobreposição entre os intervalos amostrais (Fig. 18; Apêndice A-Tabela 9).

Figura 17 - Projeção dos escores dos indivíduos durante o estágio de Pós-Flexão. (+) *Pseudoplatystoma reticulatum*; (■) *Leiarius marmoratus*; (▲) Híbrido.



Fonte: Próprio autor.

Figura 18 - Caracteres morfométricos que tiveram melhor representatividade no estágio pós-flexão – A) Comprimento tronco; B) DFNA (Distancia Focinho Nadadeira Anal; C) Base Nadadeira Dorsal. Ca – *Pseudoplatystoma reticulatum*; Le – *Leiarius marmoratus*; Hi – Híbrido. Letras diferentes representam diferenças significativas.

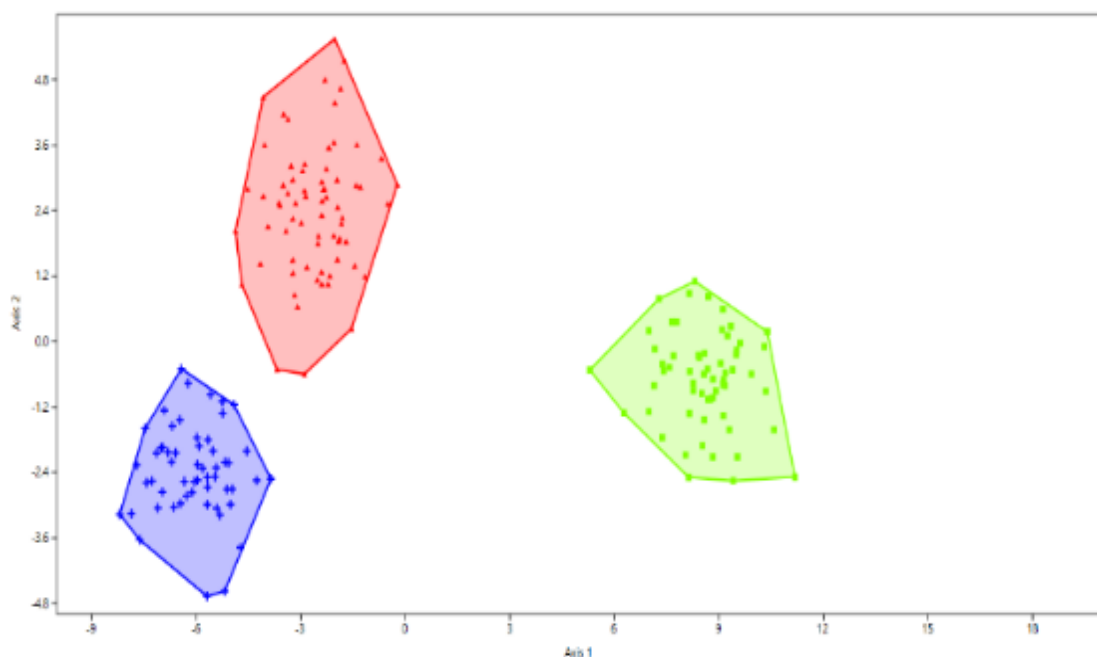


Fonte: Próprio autor.

Juvenil: 15 características morfométricas (BNAd, DNDA, BND, DFNA, Cca, CC, Aco, AC, Ctr, CF, DFND, DFNP, DFNPv, DOL, Apc; como citado na tabela 1) foram utilizadas no período juvenil, que permitiram a completa separação dos três grupos (Fig. 19).

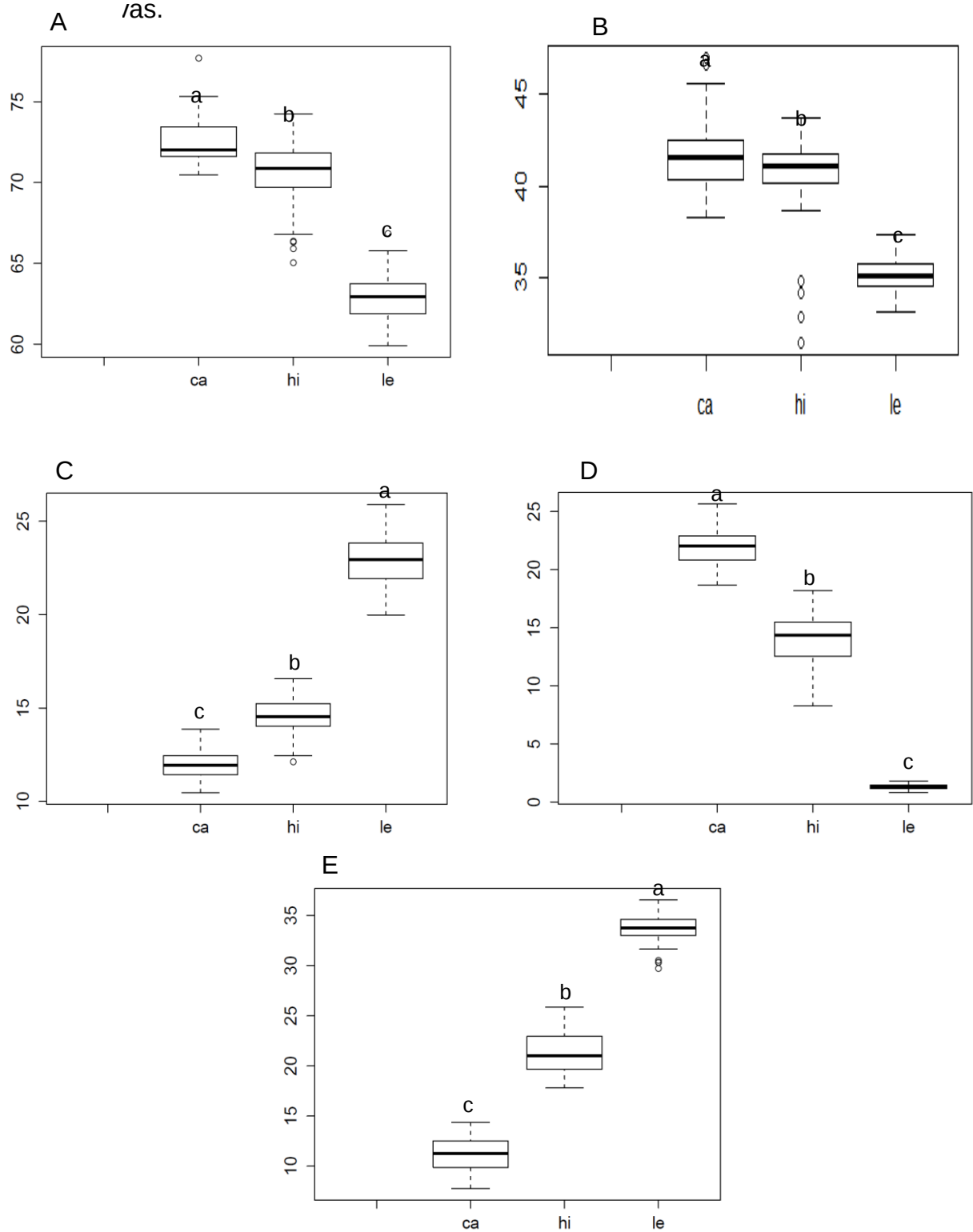
Das 15 características morfométricas avaliadas 5 foram as que mais contribuíram para a separação dos três grupos, sendo elas: BND (base da nadadeira dorsal), DFNA (distância focinho nadadeira anal), DFND (distância focinho nadadeira dorsal), entretanto, quando avaliadas separadamente, diferenciam apenas *L. marmoratus* dos demais grupos sem sobreposição nos intervalos amostrais e as medidas BNAd (base da nadadeira adiposa) e DNDA (distância nadadeira dorsal adiposa) que separam os três grupos sem sobrepor os intervalos amostrais (Fig. 20; Apêndice A-Tabela 10).

Figura 19 - Projeção dos escores dos indivíduos durante o período Juvenil . (+) *Pseudoplatystoma reticulatum*; (■) *Leiarius marmoratus*; (▲) Híbrido.



Fonte: Próprio autor.

Figura 20 - Caracteres morfométricos que tiveram melhor representatividade no período juvenil – A) Distancia Focinho Nadadeira Anal; B) Distancia Focinho Nadadeira Dorsal; C) Base Nadadeira Dorsal; D) Distancia Nadadeira Dorsal-Adiposa; E) Base Nadadeira Adiposa. Ca – *Pseudoplatystoma reticulatum*; Le – *Leiarius marmoratus*; Hi – Híbrido. Letras diferentes representam diferenças



Fonte: Próprio autor.

4. 2. 2 Características Merísticas

Os caracteres merísticos, como contagem das nadadeiras e miômeros, também podem ser um indicativo para separação dos grupos. Por meio da quantidade de raios da nadadeira dorsal é possível diferenciar *L. marmoratus* (I + 8 – 15) de *P. reticulatum* (I + 6 – 7) e híbrido (I + 6 - 8). As demais nadadeiras apresentaram sobreposição na quantidade de raios entre os grupos (Tab. 3, 4, 5); no entanto, a formação apesar de ser em fases iguais para os três, ocorrem em tamanhos distintos como relatado no item 4.1 Caracterização Morfológica. O número total de miômeros pode auxiliar na diferenciação de *P. reticulatum* (45 – 49), uma vez que não apresenta sobreposição com os outros dois grupos, não permitindo separar *L. marmoratus* (49 – 56) e Híbrido (48 – 56) (Tab. 3, 4, 5).

4. 2. 3 Padrão de Pigmentação

O padrão de pigmentação também teve influência na separação dos grupos, uma vez que ao longo do desenvolvimento, o número de cromatóforo intensificou-se, distribuindo-se e criando formas diferentes em cada espécie.

No estágio vitelínico, a pigmentação é muito semelhante entres os três grupos, com aglomerado de cromatóforos na extremidade anterior e posterior do saco vitelínico, e no final do estágio alguns cromatóforos na região superior da cabeça e região ventral do corpo (Fig. 21). Esse mesmo padrão de pigmentação continuou em pré-flexão (Fig. 22), sendo que apenas os exemplares de *P. reticulatum* apresentaram uma faixa na região dos olhos e um agrupamento de cromatóforos na região do estômago (Fig. 22A1"). Em flexão e início de pós-flexão, *L. marmoratus* apresentou intensificação da pigmentação na cabeça e tronco (Fig. 23B* e B"), enquanto *P. reticulatum* (Fig. 23A* e A") e Híbrido (Fig. 23C* e C") estavam basicamente iguais, com uma faixa na região dorsal do corpo, uma nos olhos e outra faixa contornando o opérculo, as nadadeiras de ambos os grupos começaram a ser pigmentadas.

A melhor definição para os diferentes padrões de pigmentação ocorreu no final do estágio de pós-flexão e no período de juvenil, segue abaixo a descrição por espécie:

Pseudoplatystoma reticulatum

Corpo: duas faixas longitudinais, uma dorsal e outra ventral, que se unem no pedúnculo caudal, a faixa dorsal contorna o opérculo até a nadadeira peitoral (Fig. 24A).

Cabeça: uma faixa escura na região dos olhos (Fig. 24A*). Em exemplares maiores, uma faixa no maxilar estende-se até a faixa da região do olho, contornando a cabeça (Fig. 24A"). Pela visão superior da cabeça, é formado um triângulo na região dos olhos (base indo de um olho a outro e ápice sentido nadadeira dorsal), em exemplares menores segue uma coloração mais escura até o focinho (Fig. 25).

Nadadeira: todas pigmentadas e escuras, com algumas pintas, porém, sem padronização (Fig. 25A).

Leiarius marmoratus

Corpo: duas faixas, uma entre o final da cabeça e início da nadadeira dorsal (primeiro raio da dorsal) estendendo até a nadadeira pélvica, e a outra com início entre o segundo e terceiro raio da nadadeira dorsal, estendendo até o pedúnculo caudal, passando pela linha lateral. O início dessa faixa forma uma base mais escura na nadadeira dorsal (Fig. 24B).

Cabeça: quatro faixas longitudinais são formadas (Fig. 24B). Da vista superior, duas manchas próximas ao focinho e duas próximas aos olhos (Fig. 25B).

Nadadeira: Dorsal: forma uma faixa mais escura na base e outra na extremidade superior, podendo haver pintas no centro da nadadeira, formando uma faixa. Adiposa: base mais escura e algumas pintas grandes espalhadas por toda a nadadeira. Caudal: base e final mais escuro, em exemplares maiores algumas pintas no centro, formando uma faixa. Anal, Peitoral e Pélvica: com base mais escura e segue com pigmentação entre os raios (Fig. 24B). A pigmentação somente entre os raios das nadadeiras é um padrão entre as larvas e juvenil de *L. marmoratus*.

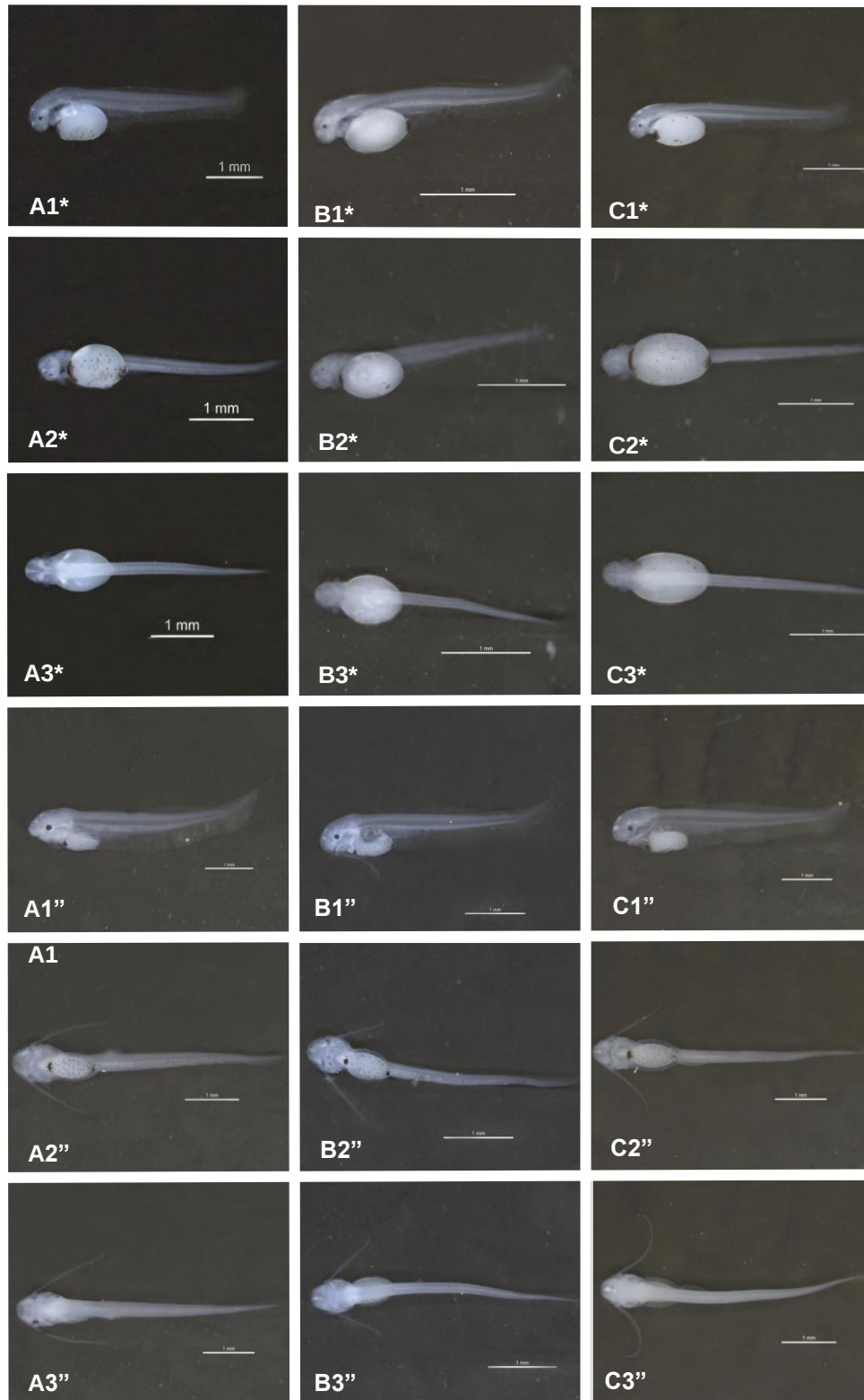
Híbrido

Corpo: uma faixa do final da cabeça até o primeiro raio da nadadeira dorsal, contornando o opérculo até aproximadamente a linha lateral, outra faixa saindo do segundo raio da dorsal até o pedúnculo caudal, passando acima da linha lateral, estão presentes algumas pintas por toda a extensão, acima desta faixa há uma tonalidade mais clara, na região ventral é formada uma outra faixa, em exemplares maiores tornam-se pintas (Fig. 24C).

Cabeça: uma faixa na região dos olhos, abaixo tonalidade escura e acima a coloração é mais clara e apresenta pintas (Fig. 24C). Pela visão superior da cabeça, nos exemplares menores é formado um triângulo na região dos olhos (base indo de um olho a outro e ápice sentido nadadeira dorsal) e nos exemplares maiores esse “triângulo” forma um pentágono, com 5 pintas mais escuras, ligadas por uma pigmentação mais escura, no centro a tonalidade é mais clara, algumas pintas espalhadas pela cabeça (Fig. 25C).

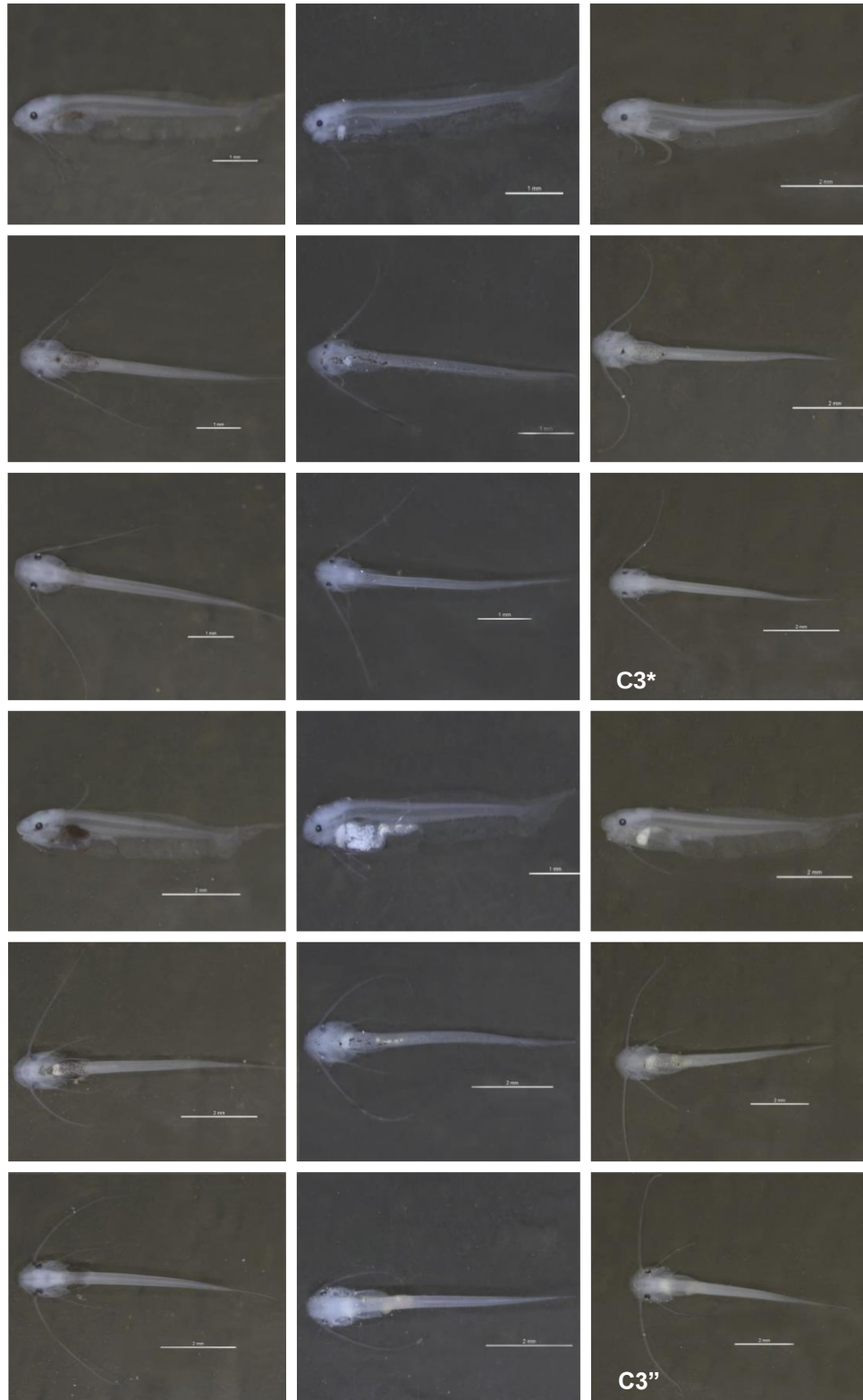
Nadadeira: Dorsal: clara, com base escura e duas faixas de pintas, uma na extremidade e outra aproximadamente ao meio da nadadeira. Adiposa: base com pintas grandes e extremidade superior com pintas pequenas. Caudal: base mais escura e diversas pintas por toda a nadadeira. Anal, Peitoral e Pélvica: escuras e com várias pintas (Fig. 24C).

Figura 21 - Padrão de pigmentação durante o estágio vitelínico. A - *Pseudoplatystoma reticulatum*; B - *Leiarius marmoratus*; C – Híbrido; 1 - vista lateral; 2 - vista ventral; 3 - vista dorsal; * - Início do estágio vitelínico; “ – Final do estágio vitelínico.



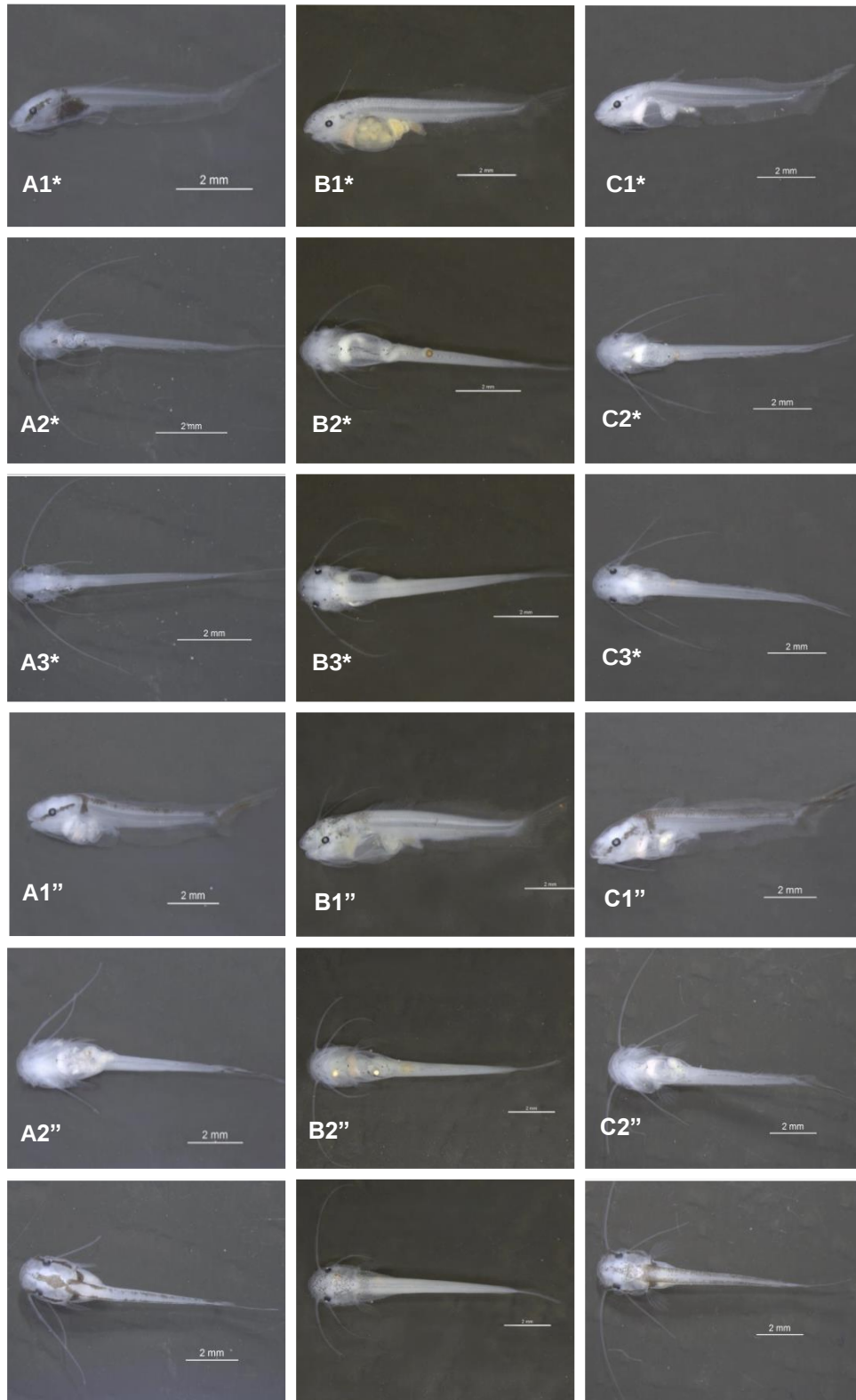
Fonte: Próprio autor.

Figura 22 - Padrão de pigmentação durante o estágio pré-flexão. A - *Pseudoplatystoma reticulatum*; B - *Leiarius marmoratus*; C – Híbrido; 1 - vista lateral; 2 - vista ventral; 3 - vista dorsal; * - Início de pré-flexão; “ – Final de pré-flexão.



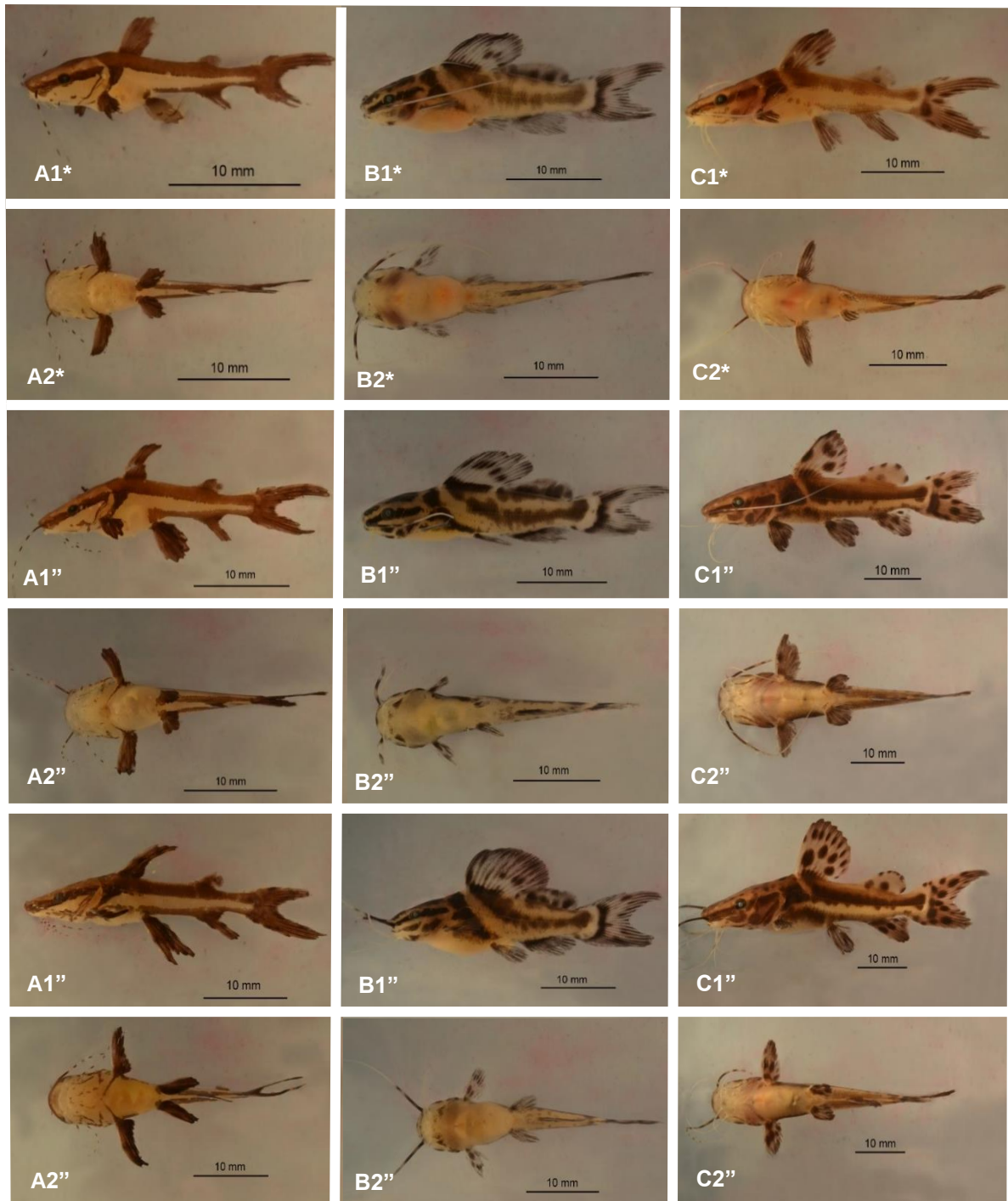
Fonte: Próprio autor.

Figura 23 - Padrão de pigmentação durante o estágio flexão e início de pós-flexão. A - *Pseudoplatystoma reticulatum*; B - *Leiarius marmoratus*; C – Híbrido; 1 - vista lateral; 2 - vista ventral; 3 - vista dorsal; * - Estágio flexão; “ – Início do estágio de pós-flexão.



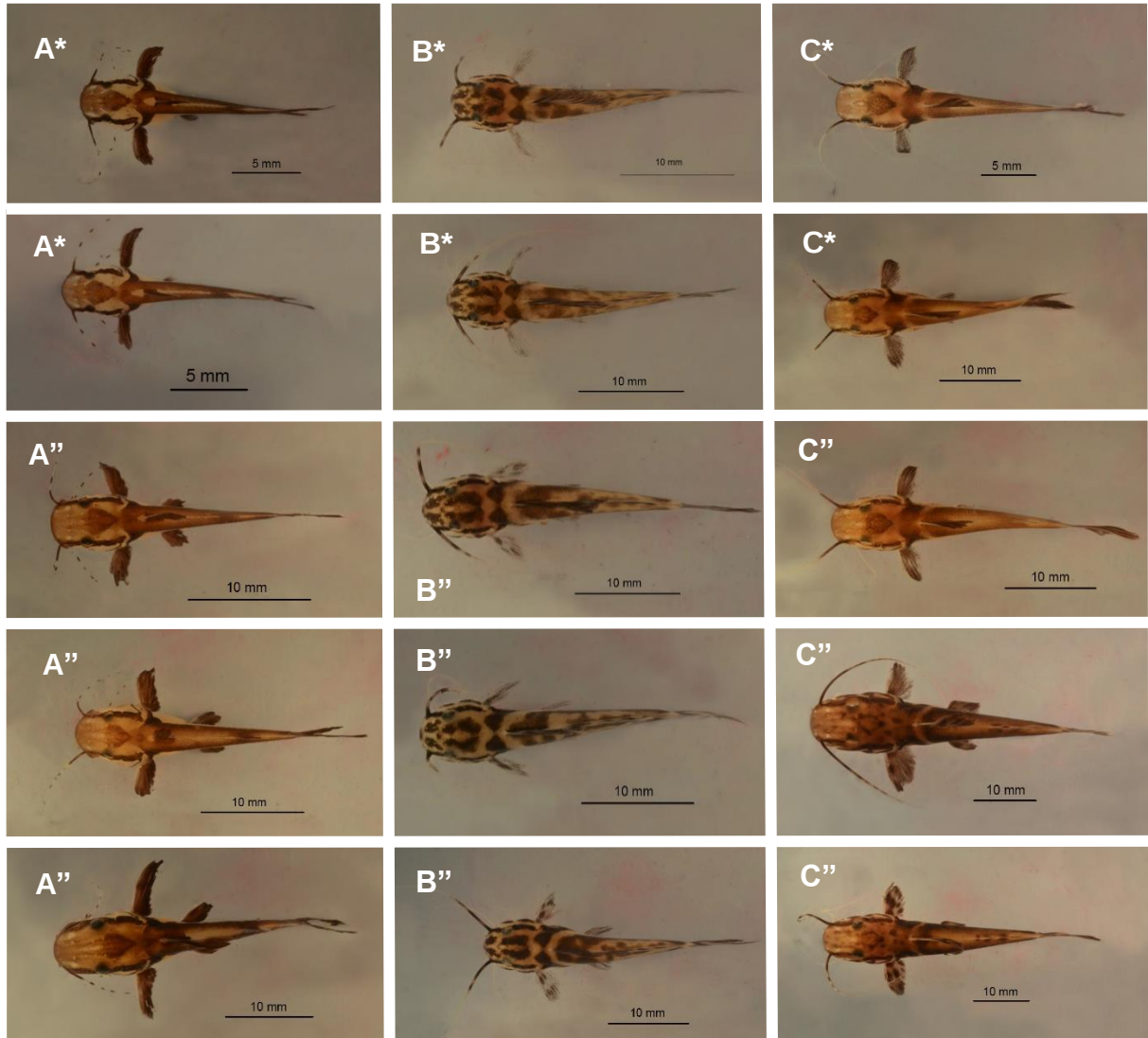
Fonte: Próprio autor.

Figura 24 - Padrão de pigmentação durante o final do estágio pós-flexão e período juvenil. A - *Pseudoplatystoma reticulatum*; B - *Leiarius marmoratus*; C – Híbrido; 1 - vista lateral; 2 - vista ventral; * - Final do estágio de pós-flexão; “ - Período juvenil.



Fonte: Próprio autor.

Figura 25 - Padrão de pigmentação durante o final do estágio pós-flexão e período juvenil pela vista dorsal. A - *Pseudoplatystoma reticulatum*; B - *Leiarius marmoratus*; C – Híbrido; * - Final do estágio de pós-flexão; “ – Período juvenil.



Fonte: Próprio autor.

5 DISCUSSÃO

5.1 Caracterização morfológica

As larvas de *L. marmoratus*, *P. reticulatum* e do híbrido (cruzamento de *P. reticulatum* x *L. marmoratus*), apresentaram algumas características em comum durante os estágios de desenvolvimento. No primeiro estágio (vitelínico) após a eclosão, *L. marmoratus*, *P. reticulatum* e híbrido apresentaram-se pouco desenvolvidas, com $2,16 \text{ mm} \pm 0,48$; $3,12 \text{ mm} \pm 0,57$ e $2,54 \text{ mm} \pm 0,79$ de comprimento padrão, respectivamente, podendo assim, ser consideradas como “altriciais”. As larvas de *L. marmoratus* e do híbrido apresentaram-se em média menores, enquanto as de *P. reticulatum* são relativamente maiores quando comparadas a espécies como: *P. fasciatum*, 3,01 mm (PÉREZ, BOCANEGRA, ORBE, 2001), *P. corruscans*, 2,69 mm (NAKATANI et al. 2001), *Pimelodus maculatus*, 2,56 mm (LUZ et al. 2001), *Rhamdia quelen* 2,93 mm (NAKATANI et al. 2001). Complementando, Fuiman (2002) relata que larvas altriciais, ou seja, pouco desenvolvidas à eclosão, apresentam tamanho pequeno e possuem transparência corporal.

De acordo com as descrições realizadas por Nakatani et al. (2001), em Pimelodidae, é comum nessa fase a escassez de pigmentação nos olhos, além da boca e intestino não funcionais. Para as espécies aqui estudadas, a pigmentação dos olhos e a funcionalidade da boca e intestino ocorreram na transição entre o estágio vitelínico e pré-flexão. Nas larvas de *L. marmoratus*, a completa abertura da boca aconteceu mais tardiamente, juntamente com o início da alimentação exógena e absorção do saco vitelínico, o que soma as afirmações de Lasker et al. (1970) que a abertura da boca e a pigmentação dos olhos estão diretamente relacionados com o início da alimentação exógena, e são eventos que ocorrem simultaneamente durante o desenvolvimento.

Em *P. reticulatum* e no híbrido, o início da alimentação exógena ocorreu quando ainda havia vestígios de vitelo, observando então, um período de alimentação mista. Foi possível observar a presença de alimento no intestino a partir do 2º dia após eclosão, enquanto a completa absorção do vitelo ocorreu no 3º e 4º dia, respectivamente. Nesse mesmo sentido, Andrade et al. (2016), Pérez,

Bocanegra, Orbe (2001) relatam o mesmo padrão de transição de alimentação e absorção do vitelo para *P. reticulatum* e *P. fasciatum*. Já as larvas de *L. marmoratus* consumiram toda a reserva vitelínica antes de ser observada a captura de alimento exógeno. A absorção do vitelo se deu por completo na maioria das larvas no 3º dia e só foi possível visualizar alimentos no intestino depois do 4º dia após eclosão. As larvas de *L. marmoratus* apresentaram dificuldades para iniciar a alimentação exógena. O tamanho dos naúplios de artêmia pode ter prejudicado a captura devido ao tamanho reduzido de sua boca, pois as larvas de gênero *Leirarius* são pequenas quando comparadas com larvas de gênero *Pseudoplatystoma* na mesma idade. O fornecimento de alimentação exógena como pequenos rotíferos pode ser o ponto chave para o sucesso destas espécies, uma vez que o fornecimento da alimentação inicial adequada é fundamental nos primeiros dias de vidas das larvas (CÔRTEZ e TSUZUKI, 2010). Kamler (1992) considera a transição de endógena para alimentação exógena uma fase crítica, em que a larva precisa encontrar o alimento adequado para a sua sobrevivência antes do esgotamento das reservas.

Com relação às nadadeiras, a primeira a surgir é embrionária (*"findfold"*), e consequentemente, dá suporte para formação das ímpares. A primeira nadadeira a formar-se é a caudal, desenvolvendo-se junto com a flexão da notocorda. Para Blaxter (1988), esses dois eventos, a flexão da notocorda e o desenvolvimento da nadadeira caudal, estão diretamente relacionados à natação. Em seguida, surge a nadadeira peitoral, anal, dorsal, pélvica e por último a adiposa. Esse mesmo padrão de desenvolvimento das nadadeiras é semelhante para outras espécies de Siluriformes.

Os resultados obtidos para *P. reticulatum* nos estágios de desenvolvimento e alterações morfológicas estão em conformidade com os descritos por Andrade et al. (2016) para larvas da mesma espécie, porém a classificação de tamanho e distribuição de dias por estágios diferem entre os estudos. As descrições do desenvolvimento inicial por Pérez, Bocanegra, Orbe (2001) para *P. fasciatum* e por Nakatani et al. (2001) para *P. corruscans*, também se assemelham com as reportados neste estudo, assim como para outras espécies da mesma família, como *L. marmoratus* aqui descrito, além de *Hemisorubim platyrhynchos* (ANDRADE et al. 2014) e *Lophiosilurus alexandri* (ASSEGA et al., 2016). As condições de cultivo

(programação de alimentação e temperatura) ou fatores genéticos podem explicar essas diferenças. Associando-se a isso, o trabalho de Senhorini et al. (1988), Lopes et al. (1996), Luz et al. (2001), Smerman et al. (2002), Luz, Zaniboni-Filho (2002) e Côrtes, Tsuzuki (2010) relatam que além das taxas de sobrevivência, o crescimento e desenvolvimento de larvas e alevinos estão relacionados a alguns fatores limitantes, como: fornecimento e disponibilidade de alimento, densidade, local de experimento e/ou criação, temperatura e o tipo de estratégia reprodutiva adotada pelos pais.

5.2 Análise comparativa aplicada na discriminação do híbrido resultante do cruzamento entre *P. reticulatum* (♀) e *L. marmoratus* (♂) e seus parentais durante os estágios de desenvolvimento inicial.

Os padrões de discriminação morfométrica no presente estudo revelam evidências de heterogeneidade entre os grupos de *L. marmoratus*, *P. reticulatum* e o híbrido resultante do cruzamento entre ambos. A existência de grupos morfologicamente distintos é evidenciada principalmente nos últimos estágios do desenvolvimento inicial.

Através da análise de função discriminante os indivíduos amostrados foram alocados em suas respectivas espécies. Nos estágios iniciais, apesar da estreita semelhança entre os três grupos na aparência, dimensões proporcionais e relativa dificuldade na identificação visual, os resultados obtidos evidenciaram que há variações morfométricas entre os grupos. As larvas pertencentes às espécies *L. marmoratus* e *P. reticulatum* diferenciaram-se desde o primeiro estágio do período larval (Vitelínico), entre os estágios de Pré-Flexão, Flexão e Pós-Flexão foi possível a diferenciação de *L. marmoratus* dos demais grupos. Apenas no período juvenil foi possível encontrar características que apresentavam padrões totalmente distintos entre os grupos, sendo então um indicador da separação entre as espécies parentais e híbrido. O híbrido mesmo com a separação total, é geralmente localizado numa posição intermediária em relação a seus parentais, demonstrando uma plasticidade e que herdaram características de ambos os progenitores.

A separação dos três grupos, nos últimos estágios do desenvolvimento inicial, está relacionada com as modificações e formação de estruturas corporais, uma vez

que após a eclosão, a maioria dos sistemas funcionais em peixes são incompletos, e durante o período larval, diversas adaptações e funções embrionárias são substituídas por definitivas, como respiração branquial, alimentação exógena e natação. Tais modificações envolvem drásticas alterações na relação do peixe com o ambiente onde está inserido, que refletem em alterações progressivas na forma do corpo das larvas para a forma juvenil e/ou adulto sendo essa uma característica comum para larvas de Teleostei (GISBERT, 1999).

As semelhanças e sobreposições de caracteres morfométricos entre *P. reticulatum* e o híbrido estão associadas aos relatos de Campos (2010) de que o híbrido entre o cruzamento de fêmeas de *Pseudoplatystoma punctifer* e machos de *Leiarius marmoratus* possui características de onívoria e baixa predação entre os alevinos herdadas do parental *L. marmoratus* e taxa de crescimento herdada do parental *P. punctifer*.

Em estudos da fase embrionária como de Oliveira (2011) com *P. corruscans*, *L. marmoratus* e os híbridos do cruzamento entre ambos e o de Oliveira (2013) com o híbrido resultantes do cruzamento entre *P. reticulatum* e *L. marmoratus* e o parental *L. marmoratus*, não apresentaram alterações morfológicas significativas dos embriões entre parentais e seus híbridos. Já no estudo realizado por Mateo, Delgado, López (2008) com híbrido de *Pseudoplatystoma fasciatum* e *Leiarius marmoratus* e seus parentais, com indivíduos entre 133,80 mm e 478,20 mm, usado 10 marcos anatômicos. Nas análises da matriz de covariância para forma geral do corpo, o híbrido ocupou aproximadamente uma posição intermediária em relação aos parentais, por outro lado, na região da cabeça e tronco anterior os padrões assemelharam-se entre híbrido e *P. fasciatum*, enquanto que na parte média, região do tronco posterior e a cauda, a relação esteve próxima entre híbrido e *L. marmoratus*.

Considerando os 19 caracteres morfométricos utilizados simultaneamente de acordo com o estágio de desenvolvimento e as estruturas corporais formadas, a diferença dos grupos está principalmente relacionadas e reduzidas a 10 variáveis, que combinadas permitem discriminar as espécies parentais e híbridos.

Quanto às contribuições das estruturas corporais para o desenvolvimento e distinção das espécies, observou-se que inicialmente as medidas relacionadas à

cabeça e tronco tiveram maiores evidências e colaboração, apresentando taxas de crescimento diferente para os três grupos. Já nas fases finais do desenvolvimento, observa-se forte contribuição do desenvolvimento das nadadeiras. De acordo com Gisbert (1999), o padrão de crescimento das partes corporais respeita a necessidade específica para a sobrevivência, seguindo primeiramente pelas necessidades sensoriais, que contribuem na percepção e busca por alimentos, além de transformações corporais como desenvolvimento e funcionalidade do sistema digestório e respiratório, e posteriormente a necessidade locomotora, para fuga e disposição no ambiente.

Alves et al. (2014) relatam que a morfologia de híbridos resultante do cruzamento entre dois animais puros de espécies distintas, como o cruzamento de *L. marmoratus* e *P. punctifer* acabam favorecendo a identificação, devido às diferenças apresentadas entre os gêneros, porém a identificação torna-se mais complexa, como no caso do “ponto e vírgula” resultado do cruzamento entre *P. corruscans* e *P. reticulatum*, ou em casos de híbrido de segunda geração, uma vez que esses híbridos apresentaram características morfológicas predominantemente das espécies na qual realizarem o retrocruzamento, tornando a identificação de um animal puro e híbrido segunda geração (F2) ainda mais abstrusa.

Com base nos caracteres merísticos, o número total ou parcial de miômeros (número total de vértebras menos um) é considerado uma importante variável na identificação de larvas de peixes (SNYDER, 1979), podendo ser uma característica importante na separação de espécies, especialmente nos estágios de pré-flexão e flexão (CAVICCHIOLI; NAKATANI; SHIBATTA, 1997). Em relação às espécies estudadas são possíveis diferenciar por meio do número miômeros *P. reticulatum* (45-49), de *L. marmoratus* (49-56) e híbrido (48-56). Por meio da contagem de raios, apenas a nadadeira dorsal apresentou diferença, sendo possível distinguir *L. marmoratus* (I+8-15) dos demais grupos. O alto número de raios da nadadeira dorsal caracteriza o gênero *Leiarius* (ROCHA, 2012; QUEIROZ et al., 2013). Não foram encontrados na literatura estudos realizados com a espécie *L. marmoratus* e híbridos, contudo, *P. reticulatum* no estudo de Andrade et al. (2014) com larvas e juvenis, apresentou resultados similares, assim como, *P. corruscans* e *Sorubim* cf. *lima* descritos por Nakatini et al. (2001) e *H. plathyrrhynchus*, por Andrade et al.

(2014) demonstraram algumas sobreposições de caracteres, o que dificulta a separação das espécies pertencentes a uma mesma família.

O padrão de pigmentação apresentado pelas larvas pode representar um caractere de grande importância para estudos taxonômicos, sendo fundamental na identificação de espécies (NASCIMENTO; ARAUJO-LIMA, 1993; GODINHO, SANTOS, SATO, 2003). Segundo Kendall, Ahlstrom, Moser (1984) cada espécie exibe padrões de pigmentação distintos, que são definidos geneticamente, variando em número, localização, formato e tamanho dos melanóforos. O padrão de pigmentação logo após eclosão foi semelhante para as três espécies em estudo, como, transparência corporal e concentrados de cromatóforos nas regiões anterior e posterior do saco vitelínico. *Leiarius marmoratus* apresentou alguns cromatóforos espalhados na região ventral do corpo e o Híbrido de forma esparsa na parte frontal da cabeça, porém esse tipo de padronização parece estar presente em diversas espécies da família Pimelodidae (*H. plathyrrhynchus*, *P. coruscans*, *P. maculatus*), tornando-se difícil a diferenciação nesta fase do desenvolvimento quando ocorre na mesma bacia hidrográfica.

A partir do estágio de pós-flexão, momento em que se intensifica a pigmentação, é possível visualizar padrões que possibilitam a distinção para as três espécies. Comparado com a descrição realizada por Nakatani et al. (2001) para *P. coruscans* é possível notar uma grande similaridade com as larvas e juvenis de *P. reticulatum*.

A comercialização de bagres inicia-se com indivíduos entre 6 a 8 cm, quando estão treinados à alimentação com ração artificial. A separação entre as espécies parentais *P. reticulatum*, *L. marmoratus* e o híbrido aqui descrita por meio da associação de caracteres morfométricos, merísticos e pigmentares (Apêndice B, C e D), ocorreram aproximadamente em exemplares entre 2 cm (final de pós-flexão) a 5 cm (juvenil). A possível distinção desses grupos, momentos antes de iniciar a comercialização, pode evitar erros e possíveis tentativas de fraudes no comércio pesqueiro.

6 CONCLUSÃO

Com base nas observações realizadas durante a elaboração deste trabalho que visou ao estudo comparativo ao longo da ontogenia larval das espécies *Pseudoplatystoma reticulatum*, *Leiarius marmoratus* e o híbrido intergenérico proveniente do cruzamento de *Pseudoplatystoma reticulatum* (♀) x *Leiarius marmoratus* (♂), concluímos que:

- O padrão morfo-temporal apresentado nos estágios iniciais, durante a ontogenia larval, foi similar entre o híbrido e suas espécies parentais.
- Apesar das semelhanças entre os três grupos na aparência e dimensões proporcionais, é possível por meio de caracteres morfométricos separar *Leiarius marmoratus* de *Pseudoplatystoma reticulatum*, desde as primeiras fases do desenvolvimento inicial pós-eclosão.
- A partir do estágio de pós-flexão, com aproximadamente 2 cm de comprimento padrão é possível discriminar os três grupos amostrados por meio da associação de caracteres morfométricos, merísticos e pigmentares (Apêndices B, C e D).

REFERÊNCIAS

- ABREU, M. M.; PEREIRA, L. H. G.; VILA, V. B.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. Genetic variability of two populations of *Pseudoplatystoma reticulatum* from the Upper Paraguay River Basin. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirao Preto, v. 32, 4. p. 868-873. 2009.
- ALLENDORF, F. W.; LEARY, R. F.; SPRUELL, P.; WENBURG, J. K. The problems with hybrids: setting conservation guidelines. **Trends Ecology. Evolution**, Kidlington, v. 16, n. 11, p. 613-622. 2001.
- ALVES, F. C. M. **Reprodução e desenvolvimento larval do “ciclídeo-anão amazônico”, *Apistogramma cacatuoides*, Hoedeman, 1951 (Perciformes: Cichlidae) em laboratório**. 2007. 81 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesca, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Aba, São Paulo, 2007.
- ALVES, A. L.; VARELA, E. S.; MORO, G. V.; KIRSCHNIK, L. N. G. **Riscos genéticos da produção de híbridos de peixes nativos**. Palmas: Embrapa Pesca e Aquicultura, 2014. 60 p.
- ANDRADE, F. F.; MAKRAKIS, M. C.; LIMA, A. F.; ASSUMPÇÃO, L.; MAKRAKIS, S.; PINI, S. F. R. Desenvolvimento embrionário, larval e juvenil de *Hemisorubim platyrhynchos* (Siluriformes, Pimelodidae) da bacia do rio Paraná. **Iheringia, Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 104, n. 1, p. 70-80, 2014.
- ANDRADE, F. F.; LIMA, A. F.; ASSUMPÇÃO, L.; MAKRAKS, S.; KASAI, R. I. D.; MAKRAKIS, M. C. Characterization of the early development of *Pseudoplatystoma reticulatum* Eigenmann & Eigenmann, 1889 (Siluriformes: Pimelodidae) from the Paraguay River Basin. **Neotropical Ichthyology**, Sao Paulo, v. 14, n. 2, p. 150032, 2016.
- ASSEGA, F. M.; BIRINDELLI, J. L. O.; BIALETZKI, A.; SHIBATTA, O. A. External Morphology of *Lophiosilurus alexandri* Steindachner, 1876 during Early Stages of Development, and Its Implications for the Evolution of Pseudopimelodidae (Siluriformes). **PLoS ONE**, San Francisco, v. 11, n. 4, p. 0153123. Doi: 10.1371/journal.pone.0153123. 2016.
- BARTLEY, D. M.; RANA, K.; IMMINK, A. J. The use of inter-specific hybrids in aquiculture and fisheries. **Reviews In Fish Biology And Fisheries**, Dordrecht, n. 10, p. 325-337, 2001.
- BATLOUNI, S. R.; ROMAGOSA, E.; BORELLA, M. I. The reproductive cycle of male catfish *Pseudoplatystoma fasciatum* (Teleostei, Pimelodidae) revealed by changes of the germinal epithelium an approach addressed to aquaculture. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 96, n. 1-2, p. 116-131, 2006.

BEMVENUTI, M. A. Osteologia comparada entre as espécies de peixes-rei *Ondotesthes Evermann & Kendall* (Osteichthyes, Atherinopsidae) do sistema lagunar Patos-Mirim, no extremo sul do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 22, n. 2, p. 293-305, 2005.

BENSIMON-BRITO, A.; CARDEIRA, J.; CANCELA, M. L.; HUYSSEUNE, A.; WITTEN, P. E. **Distinct patterns of notochord mineralization in zebrafish coincide with the localization of Osteocalcin isoform 1 during early vertebral centra formation**. London: BioMed Central, 2012a. 14 p.

BENSIMON-BRITO, A.; CANCELA, M. L.; HUYSSEUNE, A.; WITTEN, P. E. Vestiges, rudiments and fusion events: the zebrafish caudal fin endoskeleton in an evo-devo perspective. **Evolution & Development**, Jena, v. 14, p. 116–127, 2012b.

BIALETZKI, A.; BAUMGARTNER, G.; SANCHES, P. V.; GALUCH, A. V.; LUVISUTO, M. A.; NAKATANI, K.; CAVICCHIOLI-MAKRAKIS, M.; BORGES, M. E. E. Caracterização do desenvolvimento inicial de *Auchenipterus osteomystax* (Osteichthyes, Auchenipteridae) da bacia do rio Paraná, Brasil. **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, Maringá, v. 23, n. 2, p. 377-382, 2001.

BIALETZKI, A.; NAKATANI, K.; SANCHES, P. V.; BAUMGARTNER, G.; MAKRAKIS, M. C.; TAGUTI, T. L. Desenvolvimento inicial de *Hoplias aff. malabaricus* (Bloch, 1794) (Osteichthyes, Erythrinidae) da planície alagável do alto rio Paraná, Brasil. **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, Maringá, v. 30, n. 2, p. 141-149, 2008.

BLAXTER, J. H. S. Pattern and variety in development. In: HOAR, W. S.; RANDALL, D. J. (Ed.). **Fish physiology**. London: Academic, 1988. v. 11, pt. A, p. 1-58.

BOTERO, M.; FRESNEDA, A.; MONTOYA, A. F.; OLIVEIRA-ANGEL, M. Desarrollo embrionario de zigotos híbridos obtenidos por cruzamiento de machos de Cachama Blanca (*Piaractus brachypomus*) y hembras de Cachama Negra (*Colossoma macropomum*). **Revista Aquatic**, Los Angeles, n. 21, p. 52-61, 2004.

BRITSKI, H. A. Peixes de água doce do Estado de São Paulo-Sistemática. In: COMISSÃO INTERESTADUAL DA BACIA PARANÁ-PARAGUAI. **Poluição e piscicultura**. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; Instituto de Pesca, 1972. p. 79-108.

BRITZ, R.; CONWAY, K. W. Osteology of *Paedocypris*, a Miniature and Highly Developmentally Truncated Fish (Teleostei: Ostariophysi: Cyprinidae). **Journal of Morphology**, Hoboken, p. 389–412, 2009.

BITRAGO-SUÁREZ, U. A. Anatomía comparada y evolución de las especies de *Pseudoplatystoma* Bleeker 1862 (Siluriformes: Pimelodidae). Rev. **Acad. Colomb. Cienc.**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 114, p. 117-141, 2006.

BITRAGO-SUAREZ, U. A.; BURR, B. M. Taxonomy of the catfish genus *Pseudoplatystoma* Bleeker (Siluriformes: Pimelodidae) with recognition of eight species. **Zootaxa**, Auckland, v. 1512, n. 1512, p. 1-38, 2007.

CAMPELLO, F. D.; BEMVENUTI, M. A. Diferenciação morfométrica e osteológica entre *Ramnogaster arcuata* (Jenyns) e *Platanichthys platana* (Regan) (Teleostei, Clupeidae). **Revista brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 19, n. 3, p. 757-766, 2002.

CAMPOS, J. L. O cultivo do pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*; Spix; Agassiz; 1829); outras espécies do gênero *Pseudoplatystoma* e seus híbridos. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (Ed.). **Espécies nativas para a piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2010. p. 335-361.

CARVALHO FILHO, J. Piscicultura cresce 1,88% em 2015, apesar da produção de tilápia no período ter crescido 9,7% em relação a 2014. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 2016, p. 1, 2016. Disponível em <<http://www.panoramadaaquicultura.com.br/novosite/?p=6342>> Acesso em: 03 out. 2016.

CARVALHO, M. **Ontogenia comparada do esplanocrânio, aparelho de Weber e esqueleto caudal de três espécies de Otophysi, com ênfase em Siluriformes (Pisces, Teleostei)**. 2010. 342 f. Thesis (Phd) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

CAVALCANTI, M. J.; LOPES, P. R. D. Morfometria comparada de *Ctenosclaena gracilicirrillus*, *Paralichthys brasiliensis* E *Micropogonias furnieri* (TELEOSTEI: SCIAENIDAE) pela análise multivariada de redes de treliças. **Rev. bras. Zool.**, Curitiba, v. 7, 4, p. 627-635. 1990.

CAVICCHIOLI, M.; NAKATANI, K.; SHIBATTA, O. A. Morphometric variation of larvae and juveniles of the piranhas *Serrasalmus spilopleura* and *S. marginatus* (Characidae: Serrasalminae) of the Paraná basin, Brazil. **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, Munich, v. 8, p. 97-106. 1997

CORREIA, M. A.; MACIEL, C. M. R. R.; NASCIMENTO, L. S.; JÚNIOR, A. M. Ontogenia da pigmentação das larvas de três espécies de Characiformes, criadas em incubatório. **Enciclopédia Biosfera**, , Goiânia, v. 6, n. 11, p. 1-14, 2010.

CÔRTEZ, G. F.; TSUZUKI, M. Y. Efeito do tamanho do rotífero na sobrevivência e no crescimento de neon goby *Elacatinus fígaro* durante as fases iniciais de larvicultura. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 36, n. 3, p. 205-212, 2010.

COSTA, M. R.; NETO, J. S. Caracterização Morfométrica da Guaivira *Oligoplites Saliens* (Block, 1793) (Pisces, Carangidae) nas Baías de Caraguatatuba e Ubatuba, São Paulo, Brasil. **Revista Eletrônica de Biologia**, Sorocaba, v. 5, n. 3, p. 59-76. 2012.

CREPALDI, D. V.; FARIA, P. M. C.; TEIXEIRA, E. A.; RIBEIRO, L. P.; COSTA, A. A. P.; MELO, D. C.; CINTRA, A. P. R.; PRADO, S. A.; COSTA, F. A. A.; DRUMOND, M. L.; LOPES, V. E.; MORAES, M. E. O surubim na aquacultura do Brasil. **Rev Bras Reprod Anim**, Belo Horizonte, v. 30, n. 3/4, p. 150-158. 2006.

CREPALDI, D. V.; TEIXEIRA, E. A.; FARIA, P. M.; RIBEIRO, L. P.; MELO, D. C.; OLIVEIRA, D. A. A.; TURRA, E. M.; QUEIROZ, B. M. Rendimento de carcaça em surubim (*Pseudoplatystoma* spp.) avaliado por ultra-som. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, Salvador, v. 9, n. 4, p. 813-824. 2008.

CRUZ-CASALLAS, N. E. et. al. Acondicionamiento a dieta seca de larvas de yaque (*Leiarius marmoratus*) obtenidas por reproducción artificial. **Revista Colombiana de Ciências Pecuárias**, Medellin, v. 21, p. 455-522, 2008.

EPIFANIO, J.; NIELSEN, J. The role of hybridization in the distribution conservation and management of aquatic species. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, Dordrecht, p. 245–251, 2001.

ESCOBAR, L.; MOJICA, H. O. Ensayos preliminares de reproducción inducida del yaque, *Leiarius marmoratus* (Gill, 1870) (Pisces: Siluriformes: Pimelodiade) en la Orinoquía colombiana. **Boletim de Ciencias INPA**, Manaus, v. 5, p. 9- 26, 1997.

ESCHMEYER, N. M.; FONG, J. D. **Catalog of fishes**. California academy of sciences. Disponível em: <<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>>. Acesso em: 19 jul. 2016.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Roma, 2014.

FAUSTINO, F.; NAKAGHI, L. S. O.; MARQUES, C.; MAKINO, L. C.; SENHORINI, J. A. Fertilização e desenvolvimento embrionário: morfometria e análise estereomicroscópica dos ovos dos híbridos de surubins (pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* x cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum*). **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, Maringá, v. 29, n. 1, p. 49-55, 2007.

FAUSTINO, F.; MAKINO, L. C.; NEUMANN, E.; NAKAGHI, L. S. O. Morphological and morphometric aspects of early life stages of piabanha *Brycon gouldingi* (Characidae). **Journal of Fish Biology**, Chichester, v. 86, p. 1491–1506, 2015.

FERNANDES, J. B. K. **Produção de híbridos na piscicultura**. [S. l.], 2010. Disponível em: <<http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Newsletter.asp?id=21564&secao=Colunas%20e%20Artigos>>. Acesso em: 25 fev. 2015.

FUIMAN, L. A. Special considerations of fish eggs and larvae. In: FUIMAN, L. A.; WERNER, R. G. (Ed). **Fishery science: the unique contributions of early life stages**. United Kingdom: Blackwell Science, 2002. p. 1-32.

GAVAIA, P. J.; DINIS, M. T.; CANCELA, M. L. Osteological development and abnormalities of the vertebral column and caudal skeleton in larval and juvenile stages of hatchery-reared Senegal sole (*Solea senegalensis*). Faro, Portugal. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 211, p. 305–323. 2002.

GELVARTAS, J. **Geometric morphometrics**. Edinburgh: The University of Edinburgh, 2010.

GISBERT, E. Early development and allometric growth patterns in Siberian sturgeon and their ecological significance. **Journal of Fish Biology**, Chichester, p. 852-862, 1999.

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

GODINHO, H. P. Estratégias reprodutivas de peixes aplicadas à aquicultura: bases para o desenvolvimento de tecnologias de produção. **Rev Bras Reprod Anim**, Belo Horizonte, v. 31, n. 3, p. 351-360, 2007.

HASHIMOTO, D. T.; PRADO, F. D.; SENHORINI, J. A.; FORETI, F.; PORTO-FORETI, F. Aquaculture of neotropical catfish hybrids: genetic strategies for conservation and management. In: REGAN, B. **Carp and catfish : biology, behavior, and conservation strategies**. New York: Nova Science Publishers, 2015. p. 1-30.

HILSDORF, A. W. S.; ORFÃO, L. H. Aspectos gerais do melhoramento genético em peixes no Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Curitiba, v. 40, p. 317-324, 2011.

ICMBIO. **Fauna brasileira**. [S. l.], 2015. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/porta/biodiversidade/fauna-brasileira.html>>. Acesso em: 24 fev. 2015.

INOUE, L. A. K.; HISANO, H.; ISHIKAWA, M. M.; ROTTA, M. A.; SENHORINI, J. A. **Princípios básicos para produção de alevinos de surubins (pintado e cachara)**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2009.

ISHIKAWA, M. M.; PÁDULA, S. B.; VENTURA, A. S.; JERÔNIMO, G. T.; RUSSO, M. R.; CARRIJO-MANAD, J. R.; MARTINS, M. L. **Biologia e estratégias na sanidade de alevinos de bagres carnívoros**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2012.

KAMLER, E. **Early life history of fish: an energetics approach**. London: Chapman & Hall, 1992.

KENDALL JR., A. W.; AHLSTROM, E. H.; MOSER, H. G. Early life history stages of fishes and their characters. In: MOSER, H. G.; RICHARDS, W. J.; COHEN, D. M.; FAHAY, M. P.; KENDALL JÚNIOR., A. W.; RICHARDSON, S. L. (Ed.) **Ontogeny and systematics of fishes**: based on international symposium. Lawrence: American Society of Ichthyologists and Herpetologists, 1984. p. 11-22.

KOSSOWSKI, C. Observaciones preliminares sobre reproducción inducida y ontogénesis temprana del bagre negro, *Leiarius marmoratus* (Piscis, Siluriformes). **Memorias 26ma Convención Anual AsoVAC**. Valencia: Universidad de Carabobo, 1986.

KUBITZA, F.; CAMPOS, J. L.; BRUM, J. A. **Surubim**: produção intensiva no projeto pacu Ltda. e agroeixe Ltda. [S. l.: s. n.], 1998. Disponível em <<http://www.panoramadaaquicultura.com.br/paginas/Revistas/49/SURUBIM.asp>>. Acesso em: 24 fev. 2015.

LASKER, R.; FEDER, H. M.; THEILACKER, G. H.; MAY, R. C. Feeding, growth and survival of *Engraulis mordax* larvae reared in the laboratory. **Mar. Biol.**, Berlin, v. 5, n. 4, p. 345-353, 1970.

LAYMAN, C. A.; WINWMILLER, K. O.; ARRINGTON, D. A.; JEPESSEN, D. B. Body size and trophic position in a diverse tropical food web. **Ecology**, Hoboken, v. 86, n. 9, p. 2530-2535, 2005.

LEIS, J. M.; CARSON-EWART, B. M. **The larvae of Indo-Pacific coastal fishes**: an identification guide to marine fish larvae. Boston: Brill, 2000. Disponível em: <https://repository.si.edu/bitstream/handle/10088/17166/vz_Larvae_IP_Coastal.pdf?sequence=1>. Acesso em: 10 jul. 2016.

LOPES, M. C.; FREIRE, R. A. B.; VICENSOTTO, J. R. M.; SENHORINI, J. A. Alimentação de larvas de surubim pintado, *Pseudoplatystoma coruscans* (Agassiz, 1829) em laboratório, na primeira semana de vida. **Boletim Técnico CEPTA**, Pirassununga, v. 9, p. 11-29, 1996.

LUNDBERG, J. G.; MAGO-LECCIA, F.; NASS, P. *Exallodontus aguanai*, a new genus and species of Pimelodidae (Pisces: Siluriformes) from deep river channels of South America, and delimitation of the subfamily Pimelodinae. **Proceedings of the Biological Society of Washington**, 104(4). p. 840–869. 1991.

LUNDBERG, J. G.; LITTMANN, M. W. Family Pimelodidae (Long-whiskered catfishes). In: REIS, R.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS JÚNIOR, C. J. (Ed.). **Check List of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre: Edipucrs, 2003. p. 432–455.

LUZ, R. K.; REYNALTE-TATAJE, D.; FERREIRA, A. A.; ZANIBONI-FILHO, E. Desenvolvimento embrionário e estágios larvais do mandi-amarelo *Pimelodus maculatus*. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 27, p. 49-55, 2001.

LUZ, R. K.; ZANIBONI-FILHO, E. Larvicultura do Mandi-amarelo *Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803 (Siluriformes: Pimelodidae) em Diferentes Densidades de Estocagem nos Primeiros Dias de Vida. **R. Bras. Zootec.**, Viosa, MG, v. 31, n. 2, p. 560-565, 2002.

MANGETTI, A. J. **Desenvolvimento histomofológico do trato digestório de larvas de pintado *Pseudoplatystoma coruscans* (Agassiz, 1829)**. 2006. 94 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

MATEO, F. J.; ROJAS, H. L. Comparación Alométrica entre los Híbridos Yaque Pintado (*Pseudoplatystoma fasciatum* x *Leiarius marmoratus*) y Chorroscó (*Pseudoplatystoma fasciatum* x *Pimelodus blochi*) (Siluriformes: Pimelodidae). **Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias**, Maracay, v. 46, n. 2, 2005.

MATEO, F. J.; DELGADO, N.; LOPEZ, H. Caracterización Morfométrica del Híbrido Yaque Pintado (*Pseudoplatystoma fasciatum* x *Leiarius marmoratus*) y sus Progenitores (Siluriformes: Pimelodidae). **Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias**, Maracay, v. 49, n. 1, 2008. p. 47-60.

MIQUELARENA, A.; ORTUBAY, S.; CUSSAC, V. Morphology, osteology and reductions in the ontogeny of the scaleless characid *Gymnocharacinus bergi*. **Journal of Applied Ichthyology**, Berlin, v. 21, p. 511–519, 2005.

MIRA, T. M. L.; MEDINA-ROBLES, V. M.; CRUZ-CASALLAS, P. E. Evaluación de tres protocolos hormonales para la inducción de la espermiación en yaque *Leiarius marmoratus*. **Revista MVZ Córdoba**, Córdoba, v. 15, n. 2, p. 2070-2077. 2010a.

MIRA, T. M. L.; MEDINA-ROBLES, V. M.; CRUZ-CASALLAS, P. E. Morfología testicular del yaque *Leiarius marmoratus* (Pisces: Siluridae) en estadio de madurez reproductiva. **International Journal Morphology**, Temuco, v. 28, n. 2, p. 421-420. 2010b.

NAKATANI, K. et al. **Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação**. Maringá: Uem/nupélia, 2001. 378 p.

NASCIMENTO, F. L. ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M. Descrição de larvas de *Psectrogaster amazonica* e *Potamorhina altamazonica* (Curimatidae, Pisces) da Amazonia Central. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 23, n. 4, p. 457-472. 1993.

NELSON, J. S. **Fishes of the world**. Canada: Fourth Edition. 4. ed. 2006. 601 p.

OLIVEIRA, D. **Fase embrionária e larval do híbrido *Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus* e do parental *Leiarius marmoratus***. 2013. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Porto Alegre, 2013.

OLIVEIRA-ALMEIDA, I. R. **Análise do desenvolvimento embrionário de espécimes provenientes dos cruzamentos interespecíficos entre *Pseudoplatystoma corruscans* e *Leiarius marmoratus***. 2011. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.

OLIVEIRA-ALMEIDA, I. R. et. al. Structural analysis of embryogenesis of *Leiarius marmoratus* (Siluriformes: Pimelodidae). **Zygote**, New York, v. 23, n. 5, p. 1-16, 2014.

PÉREZ, P. P. P.; BOCANEGRA, F. A.; ORBE, R. I. Reproducción inducida de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* y desarrollo embrionario-larval. **Folia Amazónica**, Iquitos, v. 12, p. 141- 154. 2001.

PERES-NETO, P. R.; VALENTIN, J. L.; FERNANDES, J. A. S. Introdução a análises morfométrica. **Oecologia Brasilienses**, Rio de Janeiro: UFRJ, 1995. p. 57-89.

POLEO, G. A.; MORA, J. A. Ensayos preliminares de preservación a corto plazo de sêmen de los bagres yaque (*Leiarius marmoratus*) y sierra (*Oxidoras sifontesi*). **Ciencia**, Maracaibo, v. 16, n. 4. p. 396-401. 2008.

PORTO-FORESTI, F.; HASHIMOTO, D. T.; ALVES, A. L.; ALMEIDA, R. B. C.; SENHORINI, J. A.; BORTOLOZZI, J.; FORESTI, R. Cytogenetic markers as diagnoses in the identification of the hybrid between Piauçu (*Leporinus macrocephalus*) and Piapara (*Leporinus elongatus*). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 31, n. 1, p. 195-202, 2008.

PORTO-FORESTI, F.; HASHIMOTO, D. T.; SENHORINI, J. A.; FORESTI, F. Hibridação em piscicultura: monitoramento e perspectivas. In: BALDISSEROTTO, B., GOMES, L. C. (Ed.), **Espécies nativas para a piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2010. p. 589-606.

QUEIROZ, L. J.; TORRENTE-VILARA, G.; OHORA, W. M.; PIRES, T. H. S.; ZUANON, J.; DORIA, C. R. C. **Peixes do rio madeira**. São Paulo: Dialeto Latin American Documentary, 2013. 413 p.

RAMÍREZ-MERLANO, J. A.; OTERO-PATERNINA, A. M.; CORREDOR-SANTAMARÍA, W.; MEDINA-ROBLES, V. M.; CRUZ-CASALLAS, P. E.; VELASCO-SANTAMARÍA, Y. M. Utilización de organismos vivos como primera alimentación de larvas de yaque (*Leiarius marmoratus*) bajo condiciones de laboratorio. **Orinoquia**, Villavicencia, v. 14, n. 1. p. 45-58, 2010.

REIS, R. E; KULLANDER, S. O.; JR-FERRARIS, C. R. **Check list of the freshwater fishes of south and central america**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003. 200 p.

RESENDE, E. K.; CATELLA, A. C.; NASCIMENTO, F. L.; PALMEIRA, S. S.; PEREIRA, R. A. C.; LIMA, M. S.; ALMEIDA, V. L. L. **Biologia do curimatá (*Prochilodus lineatus*), pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) e cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*) na bacia hidrográfica do rio Miranda, Pantanal do Mato Grosso do Sul, Brasil**. Corumbá: Embrapa – CPAP, 1995. 75 p. (Boletim de Pesquisa, 02)

RESENDE, E. K.; PEREIRA, R. A. C.; ALMEIDA, V. L. L.; SILVA, A. G. **Alimentação de peixes carnívoros da planície inundável do rio Miranda, Pantanal, Mato Grosso do Sul, Brasil**. Corumbá: Embrapa – CPAP, 1996. 36 p. (Boletim de Pesquisa, 03).

RESENDE, E. K.; OLIVEIRA, C. A. L.; LEGAT, A. P.; RIBEIRO, R. P. Melhoramento animal no Brasil: uma visão crítica espécies aquáticas. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO ANIMAL, 8., 2010, Maringá. **Anais...** Maringá: Embrapa, 2010. p. 1-5.

ROCHA, M. S. **Sistemática da Família Pimelodidae Swainson, 1838 (TELEOSTEIS: SILURIFORMES)**. 2012. n. f. 306 Tese (Doutorado) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, Manaus, 2012.

ROMAGOSA, E.; PAIVA, P.; ANDRADE-TALMELLI, E. F.; GODINHO, H. M. Biologia reprodutiva de fêmeas de cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum* (Teleostei, Siluriformes, Pimelodidae), mantidas em cativeiro. **B. Inst. Pesca**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 151-159, 2003.

ROSA, R. S.; LIMA, F. C. T. Peixes: os peixes brasileiros ameaçados de extinção. In: MACHADO, A. B. M.; DRUMMOND, G. M.; PAGLIA, A. P. **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção**. Brasília, DF: MMA; Belo Horizonte: Fundação Biodiversistas, 2010. p. 287-324.

SÁNCHEZ, J. A. M.; MOYETONES, F.; CERDÁ, M. J. Influencia del contenido proteico en el crecimiento de alevines de bagre yaque, *Leiarius marmoratus*, alimentados com concentrados comerciales. **Zootecnia Tropical**, Maracay, v. 27, n. 2, p. 187-194. 2009.

SANTOS, J. E.; GODINHO, P. H. Ontogenic events and swimming behavior of larvae of the characid fish *Sa/minus brasiliensis* (Cuvier) (Characiformes, Characidae) under laboratory conditions. **Ver. bras. Zoo.**, Curitiba, v. 19, n. 1, p. 163 - 171, 2002.

SENHORINI, J. A.; FIGUEIREDO, G. M.; FONTES, N. A.; CAROLSFELD, J. Larvicultura e alevinagem de Pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887), Tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) e seus respectivos híbridos. **Boletim Técnico CEPTA**, Pirassununga, v. 1, n. 2, p. 19-30, 1988.

SFAKIANAKIS, D. G.; DOXA, C. K.; KOUTTOUKI, S.; KOUMONDOUROS, G.; MAINGOT, E.; DIVANACH, P.; KENTOURI, M. Osteological development of the vertebral column and of the fins in *Diplodus puntazzo* (Cetti, 1777). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 250, p. 36-46, 2005.

SILVA, A. C. G. **Caracterização do desenvolvimento ontogênico inicial de *Anchoviella vaillanti* (Steindachner, 1908)**. 2010. 47 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Pesca e Aquicultura, Recife, 2010.

SMERMAN, W.; CASTRO, J. G. D.; TOLEDO, J. J.; ROSA, C. A. S.; GODOI, D. S. Larvicultura de Pintado (*Pseudoplatystoma* sp) em Alta Floresta - Mato Grosso. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Macapa, v. 2, n. 1, 2002.

SNYDER, D. E. Myomere and vertebrae counts of the North America cyprinids and catostomids. In: HOYT, R. D. (Ed.) **Proceedings of Third Symposium on Larval Fish**. Bowling Gree: Western Kentucky University, 1979. p. 53-69.

STREIT JÚNIOR, D. P.; SIROL, R. N.; RIBEIRO, R. P.; DIGMAYER, M.; GALO, J. M.; MORAES, G. V.; POVH, J. A. Parâmetros seminais de reprodutores de *Pseudoplatystoma reticulatum*, em cativeiro, pré e pós-indução hormonal. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v. 36, n. 3, p. 188-193, 2012.

TAYLOR, W. R.; VAN DYKE, G. C. Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. **Cybium**, Paris, v. 9, n. 2, p. 107-119, 1985.

TORRICO, J. P.; HUBERT, N.; DESMARAIS, E.; DUPONCHELLE, F.; RODRIGUEZ, J. N.; MONTOYA-BURGO, J.; DAVILA, C. G.; CARVAJAL-VALLEJOS, F. M.; GRAJALES, A. A.; BONHOMME, F.; RENNO, J. F. Molecular phylogeny of the genus *Pseudoplatystoma* (Bleeker, 1862): biogeographic and evolutionary implications. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. San Diego, v. 51, p. 588–594, 2009.

TRIGO T. C.; FREITAS, T. R. O.; KUNZLER, G.; CARDOSO, L.; SILVA, C. R.; JOHNSON, W. E.; O'BRIEN, S. J.; BONATTO, S. L.; EIZIRIK, E. Inter-species hybridization among Neotropical cats of the genus *Leopardus*, and evidence for an introgressive hybrid zone between *L. geoffroyi* and *L. tigrinus* in southern Brazil. **Molecular Ecology**, Chichester, v. 17, p. 4317-4333, 2008.

VRTÍLEK, M.; REICHARD, M. Patterns of morphological variation among populations of the widespread anual killifish *Nothobranchius orthonotus* are independent of genetic divergence and biogeography. **Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research**, Berlin, v. 54, n. 4, p. 289-298, 2016. Doi: 10.1111/jzs.12134.

ZACARDI, D. M.; SILVA, T. C.; BITTERN COURT, S. C. S.; COSTA, S. D.; NAKAYAMA, L. Ocorrência e descrição morfológica das fases iniciais de *Gobiosoma* sp. (Perciformes, Gobiidae) no estuário amazônico, estado do Pará, Brasil. **Actapesca**, [S. l.], v. 2, n. 1, p. 29-41, 2014.

Apêndice A – Valores das relações corporais para as variáveis morfométricas que tiveram melhor representatividade por estágio de desenvolvimento

Tabela 6: Valores das relações corporais (%), máximo (Máx) e mínimo (Mín) e média (Med) para as variáveis morfométricas (mm) que tiveram melhor representatividade no estágio vitelínico. Ca – *Pseudoplatystoma reticulatum*; Le – *Leiarius marmoratus*; Hí – Híbrido

Medidas		Ca	Le	Hí
Altura do Corpo	Min	14,78	18,47	14,23
	Max	25,64	31,02	24,70
	Med	19,83	22,01	18,97
Altura da Cabeça	Min	56,25	51,92	48,39
	Max	91,84	95,16	93,75
	Med	75,83	81,99	75,27
Comprimento da Cauda	Min	41,03	35,34	38,41
	Max	54,58	50,53	54,30
	Med	48,62	43,85	47,70
Comprimento do Tronco	Min	26,17	30,48	28,10
	Max	44,87	48,59	49,52
	Med	33,00	37,57	34,60

Fonte: Próprio autor.

Tabela 7: Valores das relações corporais (%), máximo (Máx) e mínimo (Mín) e média (Med) para as variáveis morfométricas (mm) que tiveram melhor representatividade no estágio pré-flexão. Ca – *Pseudoplatystoma reticulatum*; Le – *Leiarius marmoratus*; Hí – Híbrido. Fonte: Próprio autor.

Medidas		Ca	Le	Hí
Altura da Cabeça	Min	63,20	63,03	61,90
	Max	83,17	89,29	77,14
	Med	69,96	74,56	69,17
Comprimento da Cauda	Min	49,20	42,44	48,31
	Max	56,76	57,22	53,10
	Med	53,31	46,64	50,76
Comprimento do Tronco	Min	20,59	27,87	24,64
	Max	30,97	37,32	30,26
	Med	25,20	32,69	27,48

Fonte: Próprio autor.

Tabela 8 :Valores das relações corporais (%), máximo (Máx) e mínimo (Mín) e média (Med) para as variáveis morfométricas (mm) que tiveram melhor representatividade no estágio flexão. Ca – *Pseudoplatystoma reticulatum*; Le – *Leiarius marmoratus*; Hi – Híbrido

Medidas		Ca	Le	Hí
Altura do Pedúnculo Caudal	Min	4,47	6,87	5,58
	Max	9,10	9,96	8,23
	Med	6,05	8,00	6,95
Comprimento da Cauda	Min	48,80	42,46	47,46
	Max	55,33	48,46	51,46
	Med	52,57	45,15	49,19
Comprimento do Tronco	Min	18,51	24,83	22,14
	Max	27,05	33,85	27,57
	Med	22,34	30,43	25,65

Fonte: Próprio autor.

Tabela 9: Valores das relações corporais (%), máximo (Máx) e mínimo (Mín) e média (Med) para as variáveis morfométricas (mm) que tiveram melhor representatividade no estágio pós-flexão. Ca – *Pseudoplatystoma reticulatum*; Le – *Leiarius marmoratus*; Hi – Híbrido.

Medidas		Ca	Le	Hí
Comprimento do Tronco	Min	17,47	24,28	19,34
	Max	24,41	33,84	30,17
	Med	20,29	28,45	25,41
Distância Focinho Nadadeira Anal	Min	71,04	57,63	67,16
	Max	83,03	84,30	81,40
	Med	73,70	61,65	70,41
Base Nadadeira Dorsal	Min	5,78	19,74	11,10
	Max	12,17	25,57	19,58
	Med	9,58	22,53	14,35

Fonte: Próprio autor.

Tabela 10: Valores das relações corporais (%), máximo (Máx) e mínimo (Mín) e média (Med) para as variáveis morfométricas (mm) que tiveram melhor representatividade no período juvenil. Ca – *Pseudoplatystoma reticulatum*; Le – *Leiarius marmoratus*; Hi – Híbrido.

Medidas		Ca	Le	Hi
Distancia Nadadeira Dorsal-Adiposa	Min	18,68	0,82	8,26
	Max	25,64	1,82	18,19
	Med	22,04	1,30	14,02
Base Nadadeira Dorsal	Min	10,47	19,98	12,12
	Max	13,87	25,88	16,56
	Med	11,96	22,91	14,69
Base Nadadeira Adiposa	Min	7,77	29,71	17,79
	Max	14,36	36,53	25,86
	Med	11,18	33,66	21,27
Distancia Focinho Nadadeira Anal	Min	70,48	59,91	67,83
	Max	77,70	66,85	74,26
	Med	72,43	62,79	71,14
Distancia Focinho Nadadeira Dorsal	Min	38,29	33,10	38,66
	Max	46,97	37,37	43,73
	Med	41,69	35,14	41,08

Fonte: Próprio autor.

Apêndice B – Diagnose *Pseudoplatystoma reticulatum*

Pseudoplatystoma reticulatum Eigenmann & Eigenmann, 1889

(Fig. 26; tabela 11)

Nome Popular: Cachara

Figura 26: Exemplar de *Pseudoplatystoma reticulatum* no período juvenil



Fonte: Próprio autor.

Diagnose: distingue entre o estágio de pós-flexão e período juvenil pela combinação das seguintes características: número total de miômeros (45 – 49) versus (49 - 56) *L. marmoratus* e (48 - 56) híbrido. Padrão de pigmentação a partir de 10,69 mm aproximadamente (final de pós-flexão): Corpo: duas faixas longitudinais, uma dorsal e outra ventral, que se unem no pedúnculo caudal, a faixa dorsal contorna o opérculo até a nadadeira peitoral. Cabeça: uma faixa escura na região dos olhos e outra no maxilar estende-se até a faixa da região dos olhos, contornando a cabeça. Pela visão superior da cabeça, é formado um triângulo na região dos olhos (base indo de um olho a outro e ápice sentido nadadeira dorsal). Nadadeira: todas pigmentadas e escuras, com algumas pintas, porém, sem padronização. Medidas descritivas do tamanho e forma do corpo expressas em

proporção ao comprimento do corpo e comprimento da cabeça são descritas na Tabela 11.

Tabela 11: Medidas descritivas do tamanho e forma do corpo para *Pseudoplatystoma reticulatum* expressas em proporção ao comprimento do corpo e comprimento da cabeça. Aco – altura do corpo; AC – altura da cabeça; Cca – comprimento da cauda; Ctr – comprimento do tronco; Apc – altura do pedúnculo caudal; DFNA – distância focinho nadadeira anal; BND – base nadadeira dorsal; BNAd – base nadadeira adiposa; DNDAd – distância nadadeira dorsal-adiposa; DFND – distancia focinho nadadeira dorsal; V – vitelínico; PrF – pré-flexão; F – flexão; PoF – pós-flexão; J – juvenil; (*) Medidas que não apresentam sobreposição nos intervalos amostrais.

Variáveis	Estágio	Intervalo	Media-DP
Aco	V	14,78 – 25,64	19,83
AC	V	56,25 – 91,84	75,83
	PrF	63,20 – 83,17	69,96
Cca	V	41,03 – 54,58	48,62
	PrF	49,20 -56,76	53,31
	F	48,80 – 55,33	52,57
Ctr	V	26,17 – 44,87	33,00
	PrF	20,59 – 30,97	25,20
	F	18,51 – 27,05	22,34
	PoF	17,47 – 24,41	20,29
Apc	F	4,47 – 9,10	6,05
DFNA	PoF	71,04 – 83,03	73,70
	J	70,48 – 77,70	72,43
BND	PoF	5,78 – 12,17	9,58
	J	10,47 – 13,87	11,96
BNAd (*)	J	7,77 – 14,36	11,18
DNDAd (*)	J	18,68 – 25,64	22,04
DFND	J	38,29 – 46,97	41,69

Fonte: Próprio autor.

Apêndice C – Diagnose *Leiarius marmoratus*

Leiarius marmoratus (Gill, 1870)

(Fig. 27; tabela 12)

Nome Popular: Jundiá da Amazônia

Figura 27: Exemplar de *Leiarius marmoratus* no período juvenil



Fonte: Próprio autor.

Diagnose: distingue entre o estágio de pós-flexão e período juvenil pela combinação das seguintes características: (I + 8-15) raios na nadadeira dorsal versus (I + 6-7) *P. reticulatum* e (I + 6-7) híbrido. Padrão de pigmentação a partir de 15,35 mm aproximadamente (final de pós-flexão): Corpo: duas faixas, uma faixa entre o final da cabeça e início da nadadeira dorsal (primeiro raio da dorsal) estendendo até a nadadeira pélvica e outra com início entre o segundo e terceiro raio da nadadeira dorsal, estendendo até o pedúnculo caudal, passando pela linha lateral. O início dessa faixa forma uma base mais escura na nadadeira dorsal. Cabeça: quatro faixas longitudinais são formadas. Da vista superior, duas manchas próximas ao focinho, e duas próximas aos olhos. Nadadeira: Dorsal: forma uma faixa

mais escura na base e outra na extremidade superior, podendo haver pintas no centro da nadadeira, formando uma faixa. Adiposa: base mais escura e algumas pintas grandes espalhadas por toda a nadadeira. Caudal: base e final mais escuro, podendo apresentar pintas no centro, formando uma faixa. Anal, Peitoral e Pélvica: com base mais escura e segue com pigmentação entre os raios. Medidas descritivas do tamanho e forma do corpo expressas em proporção ao comprimento do corpo e comprimento da cabeça são descritas na Tabela 12.

Tabela 12: Medidas descritivas do tamanho e forma do corpo para *Leiarius marmoratus* expressas em proporção ao comprimento do corpo e comprimento da cabeça. Aco – altura do corpo; AC – altura da cabeça; Cca – comprimento da cauda; Ctr – comprimento do tronco; Apc – altura do pedúnculo caudal; DFNA – distância focinho nadadeira anal; BND – base nadadeira dorsal; BNAd – base nadadeira adiposa; DNDAd – distância nadadeira dorsal-adiposa; DFND – distancia focinho nadadeira dorsal; V – vitelínico; PrF – pré-flexão; F – flexão; PoF – pós-flexão; J – juvenil; (*) Medidas que não apresentam sobreposição nos intervalos amostrais.

Variáveis	Estágio	Intervalo	Media-DP
Aco	V	18,47 – 31,02	22,01
AC	V	51,92 – 95,16	81,99
	PrF	63,03 – 89,29	74,56
Cca	V	35,34 – 50,53	43,85
	PrF	42,44 – 57,22	46,64
	F	41,46 – 48,46	45,15
Ctr	V	30,48 – 48,59	37,57
	PrF	27,87 – 37,32	32,69
	F	24,83 – 33,85	30,43
	PoF	24,28 – 33,84	28,45
Apc	F	6,87 – 9,96	8,00
DFNA	PoF	57,63 – 84,30	61,65
	J	59,91 – 66,85	62,79
BND	PoF	19,74 – 25,57	22,53
	J	19,98 – 25,88	22,91
BNAd (*)	J	29,71 – 36,53	33,66
DNDAd (*)	J	0,82 – 1,82	1,30
DFND	J	33,10 – 37,37	35,14

Fonte: Próprio autor.

Apêndice D – Diagnose Híbrido (*Pseudoplatystoma reticulatum* X *Leiarius marmoratus*)

Híbrido (*Pseudoplatystoma reticulatum* X *Leiarius marmoratus*)
(Fig. 28; tabela 13)

Nome Popular: Cachandiá

Figura 28: Exemplar de Híbrido no período juvenil



Fonte: Próprio autor.

Diagnose: distingue entre o estágio de pós-flexão e período juvenil pela combinação das seguintes características: Padrão de pigmentação a partir de 15,34 mm aproximadamente (final de pós-flexão): Corpo: uma faixa do final da cabeça até o primeiro raio da nadadeira dorsal, contornando o opérculo até aproximadamente a linha lateral, outra faixa saindo do segundo raio da dorsal até o pedúnculo caudal, passando acima da linha lateral; estão presentes algumas pintas por toda a extensão, acima desta faixa há uma tonalidade mais clara, na região ventral é formado uma faixa de pintas. Cabeça: uma faixa na região dos olhos, abaixo tonalidade escura e acima a coloração é mais clara e apresenta pintas. Pela visão superior da cabeça, é formado um pentágono, com 5 pintas mais escuras, ligadas

por uma pigmentação mais escura, no centro a tonalidade é mais clara, algumas pintas espalhadas pela cabeça. Nadadeira: Dorsal: clara, com base escura e duas faixas de pintas, uma na extremidade e outra aproximadamente ao meio da nadadeira. Adiposa: base com pintas grandes e extremidade superior com pintas pequenas. Caudal: base mais escura e diversas pintas por toda a nadadeira. Anal, Peitoral e Pélvica: escuras e com várias pintas. Medidas descritivas do tamanho e forma do corpo expressas em proporção ao comprimento do corpo e comprimento da cabeça são descritas na Tabela 13.

Tabela 13: medidas descritivas do tamanho e forma do corpo para Híbrido expressas em proporção ao comprimento do corpo e comprimento da cabeça. Aco – altura do corpo; AC – altura da cabeça; Cca – comprimento da cauda; Ctr – comprimento do tronco; Apc – altura do pedúnculo caudal; DFNA – distância focinho nadadeira anal; BND – base nadadeira dorsal; BNAd – base nadadeira adiposa; DNDAd – distância nadadeira dorsal-adiposa; DFND – distancia focinho nadadeira dorsal; V – vitelínico; PrF – pré-flexão; F – flexão; PoF – pós-flexão; J – juvenil. (*) Medidas que não apresentam sobreposição nos intervalos amostrais.

Variáveis	Estágio	Intervalo	Media-DP
Aco	V	14,23 – 24,70	18,97
AC	V	48,39 – 93,75	75,27
	PrF	61,90 – 77,14	69,17
Cca	V	38,41 – 54,30	47,70
	PrF	48,31 – 53,10	50,76
	F	47,46 – 51,46	49,19
Ctr	V	28,10 – 49,52	34,60
	PrF	24,64 – 30,26	27,48
	F	22,14 – 27,57	25,65
	PoF	19,34 – 30,17	25,41
Apc	F	5,58 – 8,23	6,95
DFNA	PoF	67,16 – 81,40	70,41
	J	67,83 – 74,26	71,14
BND	PoF	11,10 – 19,58	14,35
	J	12,12 – 16,56	14,69
BNAd (*)	J	17,79 – 25,86	21,27
DNDAd (*)	J	8,26 – 18,19	14,02
DFND	J	38,66 – 43,73	41,08

Fonte: Próprio autor.