

SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ALTAMIRA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO

LEYDIANE DA PAIXÃO SERRA

DESENVOLVIMENTO INICIAL DE Prosomyleus rhomboidalis (CHARACIFORMES, SERRASALMIDAE): UMA ESPÉCIE AMAZÔNICA

ALTAMIRA

2023



LEYDIANE DA PAIXÃO SERRA

DESENVOLVIMENTO INICIAL DE Prosomyleus rhomboidalis (CHARACIFORMES, SERRASALMIDAE): UMA ESPÉCIE AMAZÔNICA

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Pará, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Conservação.

Orientador: Prof. Dr. Leandro Melo de Sousa

Coorientador: Prof. Dr George Shigueki Yasui

ALTAMIRA 2023 Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

 S487d Serra, Leydiane da Paixão. DESENVOLVIMENTO INICIAL DE Prosomyleus rhomboidalis (CHARACIFORMES, SERRASALMIDAE): UMA ESPÉCIE AMAZÔNICA / Leydiane da Paixão Serra. — 2023. 64 f. : il. color.

> Orientador(a): Prof. Dr. Leandro Melo de Sousa Coorientador(a): Prof. Dr. George Shigueki Yasui Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará, Campus Universitário de Altamira, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação, Altamira, 2023.

1. Ontogenia inicial. 2. Descrição morfológica. 3. Reprodução artificial. 4. Pacu-de-seringa. 5. Myleinae. I. Título.

CDD 571.81

LEYDIANE DA PAIXÃO SERRA

TÍTULO: DESENVOLVIMENTO INICIAL DE *Prosomyleus rhomboidalis* (CHARACIFORMES, SERRASALMIDAE): UMA ESPÉCIE AMAZÔNICA

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Pará, como parte das exigências do Programa de Pósgraduação em Biodiversidade e Conservação para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Conservação.

Data da aprovação: ____/__/___

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Amanda Pereira dos Santos Silva

Examinador externo - Laboratório de Biotecnologia de Peixes CEPTA/Pirassununga-SP

Prof. Dr. Diego Maia Zacardi

Examinador interno - Universidade Federal do Oeste do Pará - UFOPA

Prof. Dr. Matheus Pereira dos Santos

Examinador externo - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ

Prof. Dr. Nivaldo Ferreira do Nascimento

Examinador externo - Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha amada família, em especial, à minha querida mãe Alene da Paixão Serra.

AGRADECIMENTOS

Agradeço o financiamento do Projeto Pesquisa e Desenvolvimento Norte Energia/ANEEL(PD-0747-0121/2021), junto à Fundação do Instituto de Biociencias (FUNDIBIO) pelo financiamento e a bolsa concedida. Ao meu orientador, Prof. Dr. Leandro Melo de Sousa, pelos ensinamentos e experiência vividas no Laboratório de Aquicultura de Peixes Ornamentais do Xingu (LAQUAX), e aos meus colegas Mayllon Moura, Rayane Arcanjo, Leticia Maia, Renan Arcanjo, Maria José, Fábio Barros, Thais Nascimento, Kaylane Rodrigues, Cida Lima, Maria do Céu, Eris de Paula, Charli Santos, Edilberto Leonardo Paulo Bezerra, Lucas Peres e Prof^a Tatiana da Silva Pereira pelos momentos de descontração, risadas e conhecimentos compartilhados. Ao meu Coorientador, Prof. Dr George Shigueki Yasui, e ao Prof. Dr José Senhorini por toda dedicação nesse projeto, pela amizade, paciência e parceria deixando as portas do Laboratório de Biotecnologia de Peixes, do Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (CEPTA/ICMBIO), Pirassununga-SP, sempre abertas, onde pude fazer boas amizades, inclusive ganhando uma "tia", obrigada titia Amanda Pereira. Ao Professor Dr. Diego Maia Zacardi, pela amizade, carinho, dedicação e paciência, também por ter me recebido no seu Laboratório de Ecologia do Ictioplâncton e Pesca em Águas Interiores (LEIPAI), lá compartilhei momentos únicos, dividindo a saudade que tinha da minha família e multiplicando o amor através de laços de amizades formadas. A Família LEIPAI me ensinou muito no curto período que estive no laboratório, lá fiz bons amigos, obrigada Zaqueu Santos, Fabiola Silva, Glenda Clisla e Leticia Santos pelos momentos de partilha do pão no café e no horário de almoço em especial a Lucas Oliveira, Ruineres Cajado pela ajuda com as análises dos dados. Ao Professor Dr. Emil Ernandez, pela amizade e ensinamentos. À Universidade Federal do Pará e ao Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação. Aos meus amigos de turma PPGBC2021 (A SELEÇÃO ESPECIAL) Alice Soares, Marina Pereira, Michel Bandeira, Camila Freire e Elzamara Oliveira, que foram pilares, uma verdadeira família e me acolheram desde o primeiro momento que eu entrei no programa, foram tantos momentos compartilhados, com certeza a caminhada não seria a mesma sem vocês, levarei uma parte de vocês comigo. Agradeco a BIOCEV e seus colaboradores, Allan David, Emerson, Reinaldo, Ubiratan, Tonhão, Marzinho e Dico, obrigada pelo suporte para execução das atividades, apoio e amizade. As minhas amigas Joemille Santos e Claudivane Oliveira que sempre compartilharam momentos de felicidades como também momentos de angústias. Ao meu pai (in memoria), seu exemplo de vida sincera, humilde e honesta, será sempre minha base. Aos meus irmãos Leonardo, Leandro, Leomar e Lorena que eu amo incondicionalmente, minhas cunhadas Kassandra Regina, Renata Lima, Renata Silva e meus sobrinho Bruno e minha amada sobrinha Helena Andrade que enche nossas vidas de alegria. A todos os meus amigos que os nomes são impossíveis de serem colocados todos aqui, mas sei que sempre estiveram ao meu lado, mesmo quando distante fisicamente. Gostaria de deixar um

agradecimento especial a mim, por ser corajosa, dedicada, esforçada, proativa, amigável, paciente e principalmente por não desistir!

EPÍGRAFE

"Mar calmo não faz bom marinheiro". (Paulo Guimarães)

Lista de Figuras

Capítulo I:
Figura 1: Oócito de <i>Prosomyleus rhomboidalis</i> não hidratado observado a fresco em estereomicroscópio
Figura 2: Desenvolvimento inicial de <i>Prosomyleus rhomboidalis</i> , durante os estágios de clivagem, blástula, gástrula e segmentação inicial
Figura 3: Embriões de <i>Prosomyleus rhomboidalis</i> , durante os estágios de segmentação, incubados a 27,5°C
Figura 4: Larva normal de Prosomyleus rhomboidalis após a eclosão
Figura 5: Larvas recém-eclodidas de <i>Prosomyleus rhomboidalis</i> , demonstrando padrões morfológicos para larvas normais e anormais
Figura 6: Resumo das principais características observadas durante o desenvolvimento embrionário de <i>Prosomyleus rhomboidalis</i>

Capítulo II:

Figura	1:	Medidas	morfométricas	de	Prosomyleus	rhomboidalis	(Characiformes,
Serrasa	lmic	dae) duran	te o período a) la	arval	l e (b) juvenil.		

Figura	3:	Sinopse	dos	eventos	morfológicos	observados	durante	0	desenvolvimento
inicial	de i	Prosomyl	eus r	homboid	lalis (Cuvier, 1	818)			

Lista de Tabelas

Capítulo I:

Tabela 1: Características morfométricas de oócitos de Prosomyleu rho	omboidalis, antes e
depois da hidratação	

Tabela 2: Percentuais de sobrevivência durante os estágios do desenvolvimento embrionário de *Prosomyleus rhmboidalis* incubados a temperatura de 27,5°C......27

Capítulo II:

Tabela 1: Valores mínimos (Min), máximos (Max), comprimento médio (mm) e desv	io
padrão (DP) de variáveis morfométricas e merísticas obtidas de larvas e juvenis	de
Prosomyleus rhomboidalis (Cuvier, 1818)	55

Tabela 2: Estatísticas de regressão linear, quadrática e por partes para as variáveismorfométricas em relação ao comprimento da cabeça e comprimento padrão de larvas ejuvenis de *Prosomyleus rhomboidalis* (Cuvier, 1818).55

RESUMO

O objetivo deste estudo foi descrever o desenvolvimento inicial de Prosomyleus rhomboidalis (Cuvier, 1818), uma espécie de pacu amazônico de grande importância econômica, ecológica e social para as populações ribeirinhas. Para a caracterização e descrição do período embrionário, larval e juvenil, foram capturados no rio Xingu três casais adultos, e realizada a reprodução com fêmeas capturadas em ambiente natural que apresentavam ovulação espontânea. A incubação dos ovos foi mantida a 27,5°C durante tudo período embrionário. Os oócitos não hidratados apresentaram tamanho médio de 2,12 mm, coloração amarela, formato esférico, não adesivos e demersais, após hidratação houve um aumento de 0,36 mm, referente ao espaço perivitelino. Foram caracterizados os principais estágios de desenvolvimento, zigoto, clivagem, blástula, gástrula segmentação e eclosão. A formação do blastodisco foi observada 55 minutos após fertilização, finalizando com a eclosão com o rompimento do córion pelas larvas 69 horas e 39 minutos após a fertilização. Após a eclosão, foram realizadas coletas nas fases larval e juvenil. Um total de 135 larvas e 23 juvenis foram analisados quanto às variáveis morfológicas, morfométricas e merísticas, além do coeficiente de crescimento alométrico em relação à cabeça, tronco e cauda durante o período de desenvolvimento larval. O comprimento padrão (CP) dos indivíduos variou de 5,03 a 29,97 mm no período larval e de 30,99 a 57,02 mm no período juvenil. Inicialmente as larvas recém eclodidas possuem olhos e o corpo alongado despigmentados, boca fechada, membrana embrionária e trato digestivo indiferenciado. Durante o período larval, foram registrados apenas três estágios de desenvolvimento, larval vitelino, flexão e pós flexão. Indivíduos nas fases finais do desenvolvimento larval, apresentavam corpo em formato romboidal, com presença de cromatóforos dendríticos e puntiformes por todo o corpo. O número total de miômeros varia de 35 a 39 (19-22 pré; 15-17 pós-anal). Os indivíduos juvenis apresentam características morfológicas semelhantes aos adultos com presença de escamas no corpo e nadadeiras formadas e segmentadas: caudal (moda = iii, 9) dorsal (moda = ii+22), anal (moda = ii+30), pélvico (moda = 8) e peitoral (moda = i, 14). Estes resultados contribuem para o conhecimento da biologia reprodutiva dos serrasalmídeos e são relevantes como suporte básico para estudos dos mecanismos de desenvolvimento inicial, determinação de modelos experimentais nessa e em outras espécies de teleósteos, permitir a definição da larvicultura que poderia ser empregada em larga escala servindo como ferramenta para recomposição dos estoques naturais, além de auxiliar na correta identificação dos espécimes em ambiente natural diferenciando de seus congêneres, e dessa forma, possibilitar que os estudos de ictioplâncton realizados na bacia do rio Xingu determinem períodos e áreas críticas à conservação da espécie, ações fundamentais para manutenção dos recursos pesqueiros.

Palavras-chave: Ontogenia inicial; Descrição morfológica; Reprodução artificial; Pacu-de-seringa; Myleinae.

ABSTRACT

The aim of this study was to describe for the first time the initial development of Prosomyleus rhomboidalis a species of Amazonian pacu of great economic, ecological and social importance for riverside populations. For the characterization and description of the embryonic, larval and juvenile period, three adult couples were captured in the Xingu River, and reproduction was carried out with females captured in a natural environment that presented spontaneous ovulation. Egg incubation was maintained at 27.5°C throughout the embryonic period. Unhydrated oocytes have an average diameter of 2.12 mm, yellow color, spherical shape, non-adhesive, demersal, after hydration there was an increase of 0.36 mm, referring to the perivitelline space. The main stages of development were characterized: zygote, cleavage, blastula, gastrula segmentation and hatching. The main stages of development were also characterized. Blastodisc formation was observed 55 minutes after fertilization, ending with hatching with disruption of the chorion by the larvae 69 hours and 39 minutes after fertilization. After hatching, larvae were collected in the larval and juvenile phases. A total of 135 larvae and 23 juveniles were analyzed for morphometric and meristic variables, in addition to the allometric growth coefficient in relation to the head, trunk and tail during the initial development period. The standard length (SL) of individuals ranged from 5.03 to 29.97 mm in the larval period and from 30.99 to 57.02 mm in the juvenile period. Initially, newly hatched larvae have depigmented eyes and elongated body, closed mouth, embryonic membrane and undifferentiated digestive tract. During the larval period, only three stages of development were recorded: yolk larval, flexion and post-flexion. Individuals in the final stages of larval development had a rhomboidal body shape, with the presence of dendritic and punctate chromatophores throughout the body. The total number of myomeres ranges from 35 to 39 (19-22 pre; 15-17 post-anal). Juvenile individuals present morphological characteristics similar to adults with the presence of scales on the body and formed and segmented fins: caudal (mode = iii, 9) dorsal (mode = ii+22), anal (mode = ii+30), pelvic (mode = 8) and chest (mode = i,14). These results contribute to the knowledge of the reproductive biology of serrasalmids and are relevant as a basic support for studies of the mechanisms of initial development, determination of experimental models in this and other teleost species, allowing the definition of larviculture that could be used on a large scale, serving as a tool for the reconstitution of natural stocks, in addition to to assist the correct identification of specimens in a natural environment, differentiating them from their congeners, and thus enabling the ichthyoplankton studies carried out in the Xingu river basin, determine critical periods and areas for the conservation of the species, fundamental actions for the maintenance of fishing resources.

Keywords: Early ontogeny; Morphological description; Artificial reproduction; Fish; Myleinae.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	
2 OBJETIVO GERAL	
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	
3 REFERÊNCIAS	
ARTIGO I	
Capítulo I: Caracterização macroscópica do oócito e do desenvolvimento em Prosomyleus rhomboidalis (Characiformes, Serrasalmidae)	ı <mark>brionário de</mark> 21
RESUMO	
Introdução	
Material e Métodos	24
Local do estudo	24
Origem dos reprodutores e fertilização	24
Desenvolvimento embrionário e tempos de amostragem	
Análise estatística	
Resultados	
Análise macroscópica e morfométricas dos oócitos	
Desenvolvimento embrionário de P. rhomboidalis	
Discussão	
Conclusão	
Referencias	
ARTIGO II	
Capítulo II: Desenvolvimento larval e juvenil de <i>Prosomyleus rhomboidalis</i> (Characiformes, Serrasalmidae) da bacia do rio Xingu, em cativeiro	44
RESUMO	44
INTRODUÇÃO	
MATERIAL E MÉTODOS	
Local do estudo	
Origem dos reprodutores e fertilização	
Coleta e análise de material biológico	
Análises estatísticas	
RESULTADOS	
Período larval	
Período iuvenil	

Análises morfométricas	
Análises de crescimento corporal	
DISCUSSÃO	
CONCLUSÃO	
REFERÊNCIAS	
4 CONCLUSÃO GERAL	64

1 INTRODUÇÃO GERAL

A região amazônica possui uma grande diversidade ictiofaunística, sendo 2.716 espécies válidas incluídas em 529 gêneros, 60 famílias e 18 ordens, com Characiformes e Siluriformes sendo as ordens mais ricas em espécies, assim como em outras bacias Neotropicais (DAGOSTA & PINNA, 2019; FROEHLICH *et al.*, 2017). Dentre os Characiformes, destaca-se a família Serrasalmidae, um clado diversificado composto por piranhas e pacus, atualmente com 94 espécies descritas em 16 gêneros (ANDRADE *et al.*, 2019; MACHADO *et al.*, 2018), dividida em três grandes grupos: Serrasalminae (*Metynnis* + piranhas), Colossomatinae (pacus de grande porte) e Myleinae (pacus de pequeno e médio porte) (KOLMANN *et al.*, 2021), sendo, um grupo morfologicamente, ecologicamente e comportamentalmente diverso.

A família é caracterizada por apresentar um corpo alto e comprimido lateralmente, espinho pré-dorsal e espinhas abdominais e pélvicas formando uma quilha ventral (JÉGU, 2003; MACHADO *et al.*, 2018). Algumas espécies são generalistas quanto ao habitat, mas outras são restritas a tipos específicos, com preferência por rios e várzeas de onde se alimentam de frutos e sementes (GOULDING, 1980; JÉGU & KEITH, 1999), enquanto outras se restringem a habitats de corredeiras com uma variedade de hábito alimentar incluindo carnivoria, insetivoria, onivoria, herbivoria, frugivoria e lepidofagia (LEITE & JÉGU, 1990; PAGEZY & JÉGU, 2002; JÉGU *et al.*, 2003; ANDRADE *et al.*, 2016, 2019).

Prosomyleus rhomboidalis (Cuvier, 1818) é uma espécie de pacu da subfamília Myleinae, apresentando tamanho médio e ocorrendo em rios de corredeiras que drenam os escudos brasileiros e das Guianas (KOLMANN *et al.*, 2021; PAGEZY & JÉGU, 2002). No rio Xingu, é popularmente conhecido como pacu-de-seringa, e 'asitau' ou 'kumaru' na Guiana Francesa. Está presente entre as espécies que tem destaque na pesca comercial e de subsistência, compondo o grupo de espécies de maior interesse na região (NASCIMENTO, 2019; FRANCESCO & CARNEIRO, 2015; ANDRADE *et al.*, 2016). Apesar de ser conhecida, a compreensão da ecologia e morfologia inicial desta espécie é limitada. A ausência de informações sobre os estágios iniciais de vida gera lacunas no reconhecimento de espécimes coletados em ambiente natural, limitando os estudos de ictioplâncton (CAJADO *et al.*, 2021; ZACARDI *et al.*, 2020; OLIVEIRA *et al.*, 2021).

Além disso, a maioria dos peixes desse grupo compartilham os mesmos locais de reprodução e crescimento, em períodos em que as condições ambientais apresentam melhores condições para dispersão e desenvolvimento de seus ovos (ZACARDI *et al.*, 2020), o que acarreta maiores dificuldades na correta identificação das espécies, devido à grande similaridade morfológica encontrada durante o ciclo inicial de vida. (NAKATANI *et al.*, 2001; OLIVEIRA *et al.*, 2020; CAJADO *et al.*, 2023). Dessa forma, a reprodução assistida, apresenta-se como uma aliada para trabalhos de descrição ontogenética, pois permite acompanhar o desenvolvimento inicial desde a fertilização (SANTOS *et al.*, 2022; COELHO *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2022).

O uso de biotecnologias reprodutivas é uma alternativa essencial para reduzir a pressão sofrida pelos estoques pesqueiros e colaborar com os esforços de conservação de espécies nativas de peixes (HILSDORF et al., 2022; OLIVEIRA et al., 2015), e ameaçadas, devido ao declínio das populações em ambiente natural (GANECO-KIRSCHNIK et al., 2018). Além disso, pode servir como ferramenta para recomposição dos estoques, uma vez que, os crescentes impactos antropogênicos, como a construção de barragens que compromete a dinâmica e a manutenção da biodiversidade de peixes (KEPPELER et al., 2022). Dessa forma, os estudos de caracterização dos gametas e descrição das fases iniciais de espécies de peixes são de grande importância para explicar os mecanismos de reprodução e fertilização nas espécies (SANTOS et al., 2016). Enquanto os aspectos relacionados à sua morfologia, morfometria e caracteres merísticos são variáveis importantes para o conhecimento da ecologia da espécie, elaboração de documentos que contribuem para estudos em ictioplâncton que auxiliam e esclarecem o estado de conservação, determinação de áreas e períodos de desova que subsidiam ações de manejo e conservação relacionadas aos recursos pesqueiros (OLIVEIRA et al., 2022).

Diante desse contexto, esta Dissertação divide-se em dois capítulos que são apresentados em formato de artigos:

Capítulo I: Caracterização macroscópica da morfologia do óocito e desenvolvimento embrionário de *Prosomyleus rhomboidalis* (Characiformes, Serrasalmidae).

Capítulo II: Desenvolvimento larval de *Prosomyleus rhomboidalis* (Characiformes, Serrasalmidae) da bacia do rio Xingu em cativeiro.

17

2 OBJETIVO GERAL

Descrever a ontogenia inicial de Prosomyleus rhomboidalis em cativeiro

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Caracterizar macroscopicamente a morfologia do óocito de *Prosomyleus rhomboidalis*.

Descrever de forma detalhada o desenvolvimento embrionário do *Prosomyleus rhomboidalis*.

Descrever o desenvolvimento larval e juvenil da espécie Prosomyleus rhomboidalis.

Estabelecer as relações morfométricas e identificar os padrões de crescimento corporais durante a ontogenia inicial.

Destacar as principais diferenças entre *P. rhomboidalis* e seus parentais/congêneres, fornecendo subsídios para a correta identificação larval em espécimes coletados em ambiente natural.

3 REFERÊNCIAS

ANDRADE, M. C., JÉGU, M., & GIARRIZZO, T. (2016). A new large species of *Myloplus* (Characiformes, Serrasalmidae) from the rio Madeira basin, Brazil. **ZooKeys**, 571, 153–167.

ANDRADE, M. C., FITZGERALD, D. B., WINEMILLER, K. O., BARBOSA, P. S. & GIARRIZZO, T. (2019). Trophic niche segregation among herbivorous serrasalmids from rapids of the lower Xingu River, Brazilian Amazon. **Hydrobiologia**, 829(1), 265–280. https://doi.org/10.1007/s10750-018-3838-y

CAJADO, R. A., OLIVEIRA, L. S., SILVA, F. K. S. & ZACARDI, D. M. (2021). Early development of the Neotropical fish known as long sardine *Triportheus auritus* (Valenciennes 1850) (Characiformes, Triportheidae). **Journal of Applied Ichthyology**, 37(5), 759–769. https://doi.org/10.1111/jai.14228

CAJADO, R. A., SILVA, F. K. S., OLIVEIRA, L. S., SANTOS, Z., BIALETZKI, A. & ZACARDI, D. M. (2023). Early life history of two Neotropical Triportheidae fish (Characiformes). **Neotropical Ichthyology**, 21(1), 1–23. https://doi.org/10.1590/1982-0224-2022-0102

CHOUERI, R. B. & NASCIMENTO, E. P. (2019). O papel do licenciamento ambiental federal como ferramenta para gerir conflitos relacionados à biodiversidade aquática e

pesca: o caso da UHE Belo Monte. Novos Cadernos NAEA, 22(2), 143–163. https://doi.org/10.5801/ncn.v22i2.7234

COELHO, G. C. Z., ARASHIRO, D. R., DISSELLI, T., SANTOS, M. P., MIRA-LÓPEZ, T. M., MONZANI, P. S., SENHORINI, J. A., FUJIMOTO, T. & YASUI, G. S. (2021). Developmental stages, incubation temperature, and in vivo traceability of primordial germ cell in an important aquaculture species *Piaractus mesopotamicus*. **Aquaculture**, 535. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736381

DAGOSTA, F. C. P. & PINNA, M. DE. (2019). The Fishes of the Amazon: distribution and biogeographical patterns, with a comprehensive list of species. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, 431(1), 1–163. https://doi.org/10.1206/0003-0090.431.1.1

FRANCESCO, A. & CARNEIRO, C. (2015). Atlas do impatos da UHE Belo Monte sobre a pesca. Instituto Socioambiental, p. 54–55.

FROEHLICH, O., CAVALLARO, M., SABINO, J., SÚAREZ, Y. R. & VILELA, M. J. A. (2017). Checklist da ictiofauna do estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Iheringia -Serie Zoologia**, 107, 1–14. https://doi.org/10.1590/1678-4766e2017151

GANECO-KIRSCHNIK, L. N., FRANCESCHINI-VICENTINI, I. B., PAES, M. D. C. F., & NAKAGHI, L. S. O. (2018). Embryonic development of teleost *Brycon orbignyanus*. **Zygote**, 26(4), 294–300. https://doi.org/10.1017/S0967199418000229

HILSDORF, A. W. S., HALLERMAN, E., VALLADÃO, G. M. R., ZAMINHAN-HASSEMER, M., HASHIMOTO, D. T., DAIRIKI, J. K., TAKAHASHI, L. S., ALBERGARIA, F. C., GOMES, M. E. S., VENTURIERI, R. L. L., MOREIRA, R. G. & CYRINO, J. E. P. (2022). The farming and husbandry of *Colossoma macropomum*: From Amazonian waters to sustainable production. **Reviews in** Aquaculture, 14(2), 993–1027. https://doi.org/10.1111/raq.12638

JÉGU, M. (2003). Subfamily Serrasalminae (pacus and piranhas). In: Reis R.E., Kullander S.O., Ferraris C.J. (Eds.) Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America, Porto Alegre : Edipucrs, 182–196.

KEPPELER, F. W., ANDRADE, M. C., TRINDADE, P. A. A., SOUSA, L. M., ARANTES, C. C., WINEMILLER, K. O., JENSEN, O. P. & GIARRIZZO, T. (2022). Early impacts of the largest Amazonian hydropower project on fish communities. Science of The Total Environment, 838, 155951. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155951

KOLMANN, M. A., HUGHES, L. C., HERNANDEZ, L. P., ARCILA, D., BETANCUR-R, R., SABAJ, M. H., LÓPEZ-FERNÁNDEZ, H. & ORTÍ, G. (2021). Phylogenomics of piranhas and pacus (Serrasalmidae) uncovers how dietary convergence and parallelism obfuscate traditional morphological taxonomy. **Systematic Biology**, 70(3), 576–592. https://doi.org/10.1093/sysbio/syaa065

LEITE, R. G. & JÉGU, M. (1990). Régime alimentaire de deux espèces d'Acnodon (Characiformes, Serrasalmidae) et habitudes lépidophages de *A. normani*. **Cybium**, **14**(4), 353–360.

MACHADO, V. N., COLLINS, R. A., OTA, R. P., ANDRADE, M. C., FARIAS, I. P. & HRBEK, T. (2018). One thousand DNA barcodes of piranhas and pacus reveal geographic structure and unrecognised diversity in the Amazon. **Scientific Reports**, *8*(1), 8387. https://doi.org/10.1038/s41598-018-26550-x

OLIVEIRA, C. C., SUZUKI, M. A. D. L., OLIVEIRA, L. S. & ZACARDI, D. M. (2020). Description of the initial development and temporal distribution of *Microphilypnus tapajosensis* larvae and juveniles in a reservoir in the Eastern Amazon. **Ciência e Natura**, 42, e49. https://doi.org/10.5902/2179460X41542

OLIVEIRA, D. J., ASHIKAGA, F. Y., FORESTI, F. & SENHORINI, J. A. (2015). Indução a reprodução artificial e caracterização espermática da piracanjuba *Brycon orbignyanus* (Bryconidae, Characiformes), espécie em perigo de extinção. **Evolução e Conservação da Biodiversidade**, *5*(2), 10–19. https://doi.org/10.7902/ecb.v5i2.71

OLIVEIRA, L. S., CAJADO, R. A., SILVA, F. K. S., ANDRADE, M. C. & ZACARDI, D. M. (2022). Early development of two commercially valuable fish from the lower Amazon River, Brazil (Characiformes: Serrasalmidae). **Neotropical Ichthyology**, *20*(1), e210024. https://doi.org/10.1590/1982-0224-2021-0024

PAGEZY, H. & JÉGU, M. (2002). Valeur patrimoniale de Serrasalminae herbivores du haut maroni (Guyane Française): approches biologique et socioculturelle en pays wayana. **Bulletin Français de La Pêche et de La Pisciculture**, 364, 49–69.

SANTOS, M. P., YASUI, G. S., XAVIER, P. L. P., ADAMOV, N. S. M., NASCIMENTO, N. F., FUJIMOTO, T., SENHORINI, J. A. & NAKAGHI, L. S. O. (2016). Morphology of gametes, post-fertilization events and the effect of temperature on the embryonic development of *Astyanax altiparanae* (Teleostei, Characidae). **Zygote**, 24(6), 795–807. https://doi.org/10.1017/S0967199416000101

SANTOS, Z., OLIVEIRA, L. S., CAJADO, R. A., SILVA, F. K. S., SILVA, L. V. F. & ZACARDI, D. M. (2022). Early ontogeny of the commercially valuable fish red-bellied pacu *Piaractus brachypomus* (Characiformes, Serrasalmidae) from the Amazon, Brazil. **Journal of Fish Biology**, *102*(1), 214–224. https://doi.org/10.1111/jfb.15253

SILVA, F. K. S., CAJADO, R. A., OLIVEIRA, L. S., SANTOS, Z., SANTOS, J. A., SILVA, L. V. F., SOUSA, R. G. C. & ZACARDI, D. M. (2022). Early development of *Prochilodus nigricans* Spix & Agassiz 1829 (Characiformes: Prochilodontidae) in captivity. **Aquaculture Research**, 53(12), 4540–4555. https://doi.org/10.1111/are.15951 Este capítulo está formatado nas normas da revista Zygote, disponível em:

https://www.cambridge.org/core/journals/zygote

Zygote | Cambridge Core

ARTIGO I

Capítulo I: Caracterização macroscópica do oócito e do desenvolvimento embrionário de *Prosomyleus rhomboidalis* (Characiformes, Serrasalmidae)

Macroscopic characterization and embryonic development of *Prosomyleus rhomboidalis*

(Characiformes, Serrasalmidae)

Leydiane da Paixão Serra¹, Alice Xavier Soares², Marina Pereira da Siva³, George Shigueki Yasui⁴, Leandro Melo de Sousa⁵

1 – Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação, Laboratório de Aquicultura de Peixes Ornamentais do Xingu, Universidade Federal do Pará - Campus de Altamira – UFPA, CEP: 68372-040, Altamira, PA, Brasil. (autor correspondente) leydianeserra@hotmail.com <u>https://orcid.org/0009-0008-5208-2462</u>

2 – Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação, Laboratório de Aquicultura de Peixes Ornamentais do Xingu, Universidade Federal do Pará - Campus de Altamira – UFPA, CEP: 68372-040, Altamira, PA, Brasil. <u>https://orcid.org/0009-0001-0030-1001</u>

3 – Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação, Laboratório de Aquicultura de Peixes Ornamentais do Xingu, Universidade Federal do Pará - Campus de Altamira – UFPA, CEP: 68372-040, Altamira, PA, Brasil. <u>https://orcid.org/0009-0002-3469-0217</u>

5 - Laboratório de Biotecnologia de Peixes, Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, Pirassununga, São Paulo, Brasil.

4 – Faculdade de Ciências Biológicas, Laboratório de Aquicultura de Peixes Ornamentais do Xingu, Universidade Federal do Pará - Campus de Altamira – UFPA, CEP: 68372-040, Altamira, PA, Brasil. <u>https://orcid.org/0000-0002-0793-9737</u>

RESUMO

O objetivo deste estudo foi caracterizar macroscopicamente o gameta feminino, avaliar o percentual de sobrevivência dos embriões gerados in vitro, bem como descrever detalhadamente o desenvolvimento embrionário de Prosomyleus rhomboidalis. Foram capturados no rio Xingu três casais adultos da espécie em estudo, em seguida realizada a reprodução artificial de fêmeas selvagens que apresentavam ovulação espontânea. A incubação dos ovos foi mantida a temperatura constante de 27,5°C, durante todo período embrionário. Os resultados mostraram que o oócito não hidratado apresenta tamanho médio de 2,12 mm, coloração amarela, formato esférico, são não adesivos, após hidratação houve um aumento de 0.36 mm, referente ao espaco perivitelino, apresentando maior densidade que a água. O percentual de fertilização e eclosão de larvas normais foi considerado satisfatório (96%). Foram caracterizados e fotodocumentados os principais estágios de desenvolvimento embrionário após a fertilização do oócito. A formação do blastodisco foi observada 55 minutos após fertilização, finalizando com a eclosão das larvas 69 horas e 39 minutos. P. rhomboidalis apresentou características de tamanho do oócitos, do espaço perivitelino, e período embrionário maior quando comparado a outras espécies da mesma família. Os resultados deste trabalho servirão como suporte básico para novos estudos, sendo de extrema importância para fundamentar pesquisas com diferentes temperaturas, manipulação cromossômica e embrionária nessa espécie e em outros teleósteos.

Palavras-chave: Ontogenia inicial; Aquicultura; Reprodução artificial; Pacu-de-seringa; Myleinae.

ABSTRACT

The objective of this study was to characterize macroscopically the female gametes, evaluate the survival rates, as well as describe in detail the embryonic development of *Prosomyleus* rhomboidalis. Three adult pairs of the species under study were captured in the Xingu River, followed by reproduction with females from a natural environment that showed spontaneous ovulation. Egg incubation was maintained at a constant temperature of 27.5°C throughout the embryonic period. The results showed that the non-hydrated oocyte has an average size of 2124.43 mm, yellow color, spherical shape, are non-adhesive, after hydration there was an increase of 0.36 mm, referring to the perivitelline space, presenting a greater density than water. The percentage of fertilization and hatching of normal larvae was considered satisfactory, with hatching above 96% of normal larvae. The main stages of development after egg fertilization were characterized and photographed for the first time in this species. The formation of the blastodisc was observed 55 minutes after fertilization ending with the hatching of the larvae 69 hours and 39 minutes after fertilization, P. rhomboidalis presented characteristics of oocyte size, perivitelline space, and longer embryonic period when compared to other species of the same family. The results of this work will serve as basic support for new studies, being extremely important to support research with different temperatures, chromosomal and embryonic manipulation in this species and in other teleost species.

Key-words: Initial ontogeny; Aquaculture; Artificial reproduction; Fish; Myleinae.

Introdução

Os crescentes impactos antropogênicos, tais como poluição, construção de barragens e pesca predatória, comprometem a dinâmica e a manutenção da biodiversidade de peixes (Bem *et al.*, 2021; Botta *et al.*, 2010; Ilha *et al.*, 2019; Pelicice *et al.*, 2017; Reis *et al.*, 2016). Esses impactos podem gerar declínio na diversidade taxonômica e funcional da ictiofauna, além de interferir negativamente nos aspectos reprodutivos das populações selvagens (Keppeler *et al.*, 2022). A reprodução artificial pode ser considerada uma alternativa viável para reduzir a pressão sofrida pelos estoques pesqueiros e colaborar com os esforços de conservação de espécies nativas (Hilsdorf *et al.*, 2022; Oliveira *et al.*, 2015).

Conhecimentos prévios relacionados a características do oócito e eventos pósfertilização fornecem informações importantes que explicam os mecanismos de reprodução e fertilização das espécies, detalhando os primeiros estágios de vida e auxiliam na compreensão da dinâmica reprodutiva das populações de peixes (Albert *et al.*, 2020; Santos *et al.*, 2016). Essas informações são consideradas ferramentas essenciais e servem de subsídios para novos estudos com aplicação de biotecnologias utilizadas na reprodução de peixes (SILVA *et al.*, 2017), no transplante de células germinativas, na manipulação de embriões (Coelho *et al.*, 2019), e têm sido aplicadas principalmente para espécies de interesse comercial (Coelho *et al.*, 2021a), e em espécies ameaçadas, devido ao declínio dos estoques em ambiente natural (Ganeco-Kirschnik *et al.*, 2018; Oliveira *et al.*, 2015).

Algumas espécies de Serrasalmidae, principalmente os pacus da subfamília Myleinae, têm se destacado por apresentar características econômicas desejáveis, explorados tanto para consumo quanto para comercialização (Francesco & Carneiro, 2015). Os pacus de grande porte estão entre as principais espécies produzidas e criadas no Brasil (Peixe BR, 2021; Ricardo & YASUI, 2003). Para alguns indivíduos dessa família, como *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) e *Colossoma macropomum (Cuvier, 1816)* (Coelho *et al.*, 2021; Leite *et al.*, 2013) já foram realizados alguns estudos descrevendo os estágios de desenvolvimento embrionário e temperatura ideal para incubação, bem como para outros teleósteos (Araújo *et al.*, 2020; Santos *et al.*, 2016, 2021; Kimmel *et al.*, 1995; Mattox *et al.*, 2014), informações que subsidiam estudos que envolvem manipulação de embriões.

Prosomyleus rhomboidalis (Cuvier, 1818) é uma espécie de médio porte que ocorre em rios de corredeiras que drenam os escudos brasileiros e das Guianas (Kolmann *et al.*, 2021). No rio Xingu, é popularmente conhecido como pacu-de-seringa e está presente entre as espécies que têm destaque na pesca comercial e de subsistência, estando entre as espécies de maior desembarque (Choueri & Nascimento, 2019; Francesco & Carneiro, 2015; Magalhães *et al.*, 2016). Recentemente, tem sido relatado pelos pescadores a dificuldade de captura dessa espécie, podendo estar relacionada com os crescentes impactos antrópicos, como por exemplo, barramentos, uma vez que esses empreendimentos comprometem a dinâmica e a manutenção da biodiversidade de peixes (Keppeler *et al.*, 2022).

Diante disso, o objetivo desse trabalho é caracterizar macroscopicamente o gameta feminino, avaliar o percentual de sobrevivência dos embriões gerados *in vitro* e descrever detalhadamente os principais estágios e fases pós-fertilização do desenvolvimento embrionário de *P. rhomboidalis*.

Material e Métodos

Local do estudo

O estudo foi conduzido no Laboratório de Aquicultura de Peixes Ornamentais do Xingu (LAQUAX), da Universidade Federal do Pará, campus de Altamira, e no Laboratório do Centro de Estudos Ambientais (CEA), Vitoria do Xingu - PA. As matrizes de *P. rhomboidalis* utilizadas no experimento foram obtidas através de coletas em habitat natural, autorizadas de acordo com as normas do SISBIO (licença número 79124-2). Todos os procedimentos foram realizados de acordo com o Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA número 4751220822).

Origem dos reprodutores e fertilização

As matrizes adultas de *P. rhomboidalis* utilizadas nesse experimento foram capturadas por pescadores locais durante a época da estação chuvosa, de novembro de 2022 a janeiro de 2023, com redes de espera de 18 mm entre nós opostos, no trecho conhecido como Volta Grande do Xingu. Os espécimes capturados foram transportados através de embarcação em caixas de 250 L, até as margens, onde está localizado o CEA (-3,3755S, -51,9398W). Após extrusão dos gametas, os peixes foram aclimatados e mantidos em tanques de 3000 L em um sistema aberto de circulação com água bombeada diretamente do rio garantindo a troca constante, mantendo a qualidade da água de acordo com os padrões naturais do rio Xingu, com níveis de pH variando entre 6,5 e 7,0, temperaturas entre 28-32°C e leituras de condutividade elétrica mantidas abaixo de 100 mS·cm^{−3} (Sawakuchi *et al.*, 2015), até o momento de soltura das matrizes ao ambiente natural.

Para a fertilização in vitro, os indivíduos foram previamente anestesiados com eugenol 100 mg/L (Phytoterápica, Guarulhos/SP, Brasil) (COELHO et al., 2021), sexados com base na morfologia da nadadeira anal, sendo a fêmea identificada por apresentar um lobolo, enquanto a macho apresentava dois lobolos na nadadeira anal, em seguida, foi realizada a extrusão dos gametas. Os machos $(1,604 \pm 0,11 \text{ g e } 33,16 \pm 0,32 \text{ cm})$ não apresentavam espermiação durante massagem abdominal, sendo então eutanasiados e sacrificados com o uso de eugenol 300 mg/L. Os espermatozoides foram coletados por maceração testicular em tubo de 15 mL contendo 5 mL de solução de Ringer modificada (128.3 mM NaCl, 23,6 mM KCl, 3,6 mM CaCl2, 2,1 mM MgCl2) utilizado como meio imobilizador e mantido a ~ 2,5°C (Yasui *et al.* 2015). As fêmeas (1,784 \pm 0,13 g e 33,26 \pm 0.72 cm) apresentavam início de desova espontânea, sendo os óocitos amostrados por meio de massagem abdominal no sentido craniocaudal em recipientes plásticos com capacidade de 500 mL. Uma amostra dos ovos foi coletada no momento da extrusão (não-fertilizados) e após fertilização (tempo zero). A massa de ovos da fêmea foi inseminada com 5 mL de sêmem diluído, na sequência adicionou-se 100 mL de água para ativação e hidratação dos ovos. Esses procedimentos foram realizados em ambiente aberto, e após 2 minutos, foram transferidos para incubadoras do tipo peneira (formato horizontal) com capacidade de 5 L. As estruturas de incubação foram distribuídas em aquários de 30 litros equipados com bomba de recirculação e termostato com temperatura controlada a 27,5°C, garantindo condições ideais para o desenvolvimento embrionário. Após a eclosão a temperatura foi aumentada para 30°C. Para o estudo de desenvolvimento embrionário foram utilizados três casais e consideradas como uma repetição cada desova que chegasse à eclosão.

Desenvolvimento embrionário e tempos de amostragem

Após a extrusão e fertilização, as coletas dos embriões foram realizadas de acordo com o desenvolvimento celular. Alíquotas de 10 a 20 embriões foram selecionadas aleatoriamente e observadas em estereomicroscópio binocular (Nikon SMZ 800N, Tokyo, Japan). Para que cada intervalo fosse classificado em um determinado estágio de desenvolvimento, a alíquota observada *in vivo* (metade ou mais da metade) deveriam apresentar as mesmas características morfológicas.

Em seguida, eram selecionados e fotodocumentados três embriões, considerando os indivíduos que melhor representavam o desenvolvimento em cada estágio (zigoto, clivagem inicial, blástula, gástrula, segmentação e eclosão) baseadas em estudos anteriores (Fujimoto *et al.* 2006; Kimmel *et al.* 1995). As imagens digitais foram obtidas usando uma câmera de dispositivo de carga acoplada (CCD) (PrimeCam, INTERVISION SNZ12, DC 12V3A, China), conectada ao microscópio usando o software Prime Life Science, calibrada em mm. Em seguida, três embriões de cada desova foram fixados em glutaraldeído 2,5% em solução salina tamponada com fosfato Dulbeccofs (Sigma # D5773, St. Louis, EUA) (D-PBS). O material fixado era armazenado em tubos criogênicos de 2 ml, para posterior descrição das fases de desenvolvimento, o restante foi devolvido para a incubadora de origem.

Os embriões foram observados nos seguintes intervalos: a cada quinze minutos até 60 minutos pós-fertilização (mpf); a cada 5 minutos de 60 mpf até 5 h pós-fertilização (hpf); a cada 20 min a partir de 5 hpf até 7 hpf; a cada 30 min de 7 hpf até 11 hpf; a cada 30 minutos de 11 hpf até 24 hpf; e a cada 60 minutos de 24 hpf até a eclosão, com adaptações (Coelho et al. 2021b). Uma pequena alíquota foi separada e mantida sob as mesmas condições para quantificação do percentual de fertilização nos respectivos estágios (clivagem inicial, blástula, gástrula, somito e eclosão) e as porcentagens de larva normal e anormal. As Larvas eclodidas com padrões que possibilitavam sua livre natação e com ausência de más formações na distribuição de vitelo, no desenvolvimento da cauda ou na cabeça eram classificadas como normais. Aquelas que eclodiram com dificuldade em livrar-se de resíduos de córion, com problemas de natação devido às más formações na cauda, na cabeça ou mesmo no tamanho e conformação do vitelo, foram classificadas como anormais. Durante o período de desenvolvimento, a água do aquário foi substituída uma vez por dia, para manter melhores condições de qualidade. As medidas e imagens digitais que compõe esse trabalho são de embriões vivos, obtidas com software NIS-Ar Elements (Nikon) e calibradas em milímetros. Para a caracterização do desenvolvimento embrionário, foram obtidas as seguintes variáveis: diâmetro total (DO) antes e depois de hidratado; diâmetro do vitelo (DSV) e espaço perivitelino (EP) todas em milímetros (Nakatani, et al., 2001).

Análise estatística

Os dados são apresentados como média \pm erro padrão. Todas as análises foram obtidas a partir de triplicatas, sendo cada desova considerada uma réplica. O tempo de desenvolvimento dos embriões em cada estágio sob a mesma temperatura de incubação foi

analisado usando Excel (2016). O percentual de clivagem, ovos não fertilizados, clivagem inicial, blástula, gástrula, segmentação e eclosão (com porcentagens de larvas normais e anormais) foram verificadas normalidade pelo teste de Lilliefors e depois analisados pela análise de variância (ANOVA) e múltiplo de Tukey teste de intervalo, com nível de significância de P < 0.05.

Resultados

As análises descritivas do desenvolvimento inicial de *P. rhomboidalis* realizadas neste estudo seguem eventos cronológicos: inicia-se com a extrusão e fertilização dos gametas, seguidos da hidratação dos ovos e a formação do espaço perivitelino (Fig. 1), posteriormente ocorre a divisão de dois polos na célula, o animal onde ocorram divisões meroblásticos parciais, enquanto o vitelo está concentrado no polo vegetal. O desenvolvimento embrionário foi dividido nos estágios de zigoto, clivagem inicial, blástula, gástrula, segmentação e eclosão. Cada período foi subdividido em várias fases, nomeados com base em características morfológicas.



Figura 1: Oócito de *Prosomyleus rhomboidalis* não hidratado observado a fresco em estereomicroscópio (A); Vista do ovo recém fertilizado com ênfase para o espaço perivitelino formado, representado pela seta, após a hidratação tornando visível a estrutura que confere proteção mecânica e química ao embrião, denominada córion (*) (B).

Os ovos apresentam coloração amarelada de formato esférico, sendo não adesivos, com espaço perivitelino pequeno e translucido, sendo maior densidade que a água e permanecendo no fundo da incubadora, característica de ovos demersais.

Análise macroscópica e morfométricas dos oócitos

Os oócitos não hidratados da espécie tinham média de 2,15 mm com aumento para 2,51 mm de diâmetro após a hidratação, como apresentado na Tabela 1, resultando em um aumento de 0,36 mm correspondente ao espaço perivitelino (Fig. 1B).

Tabela 1: Características morfométricas de oócitos de Prosomyleu rhomboidalis, antes e depois da hidratação.

Oócitos	Não-hidratados	Pós-hidratação	Fig.
Média (mm)	2,15	2,51	1A
$\pm EP$	\pm 0,02	\pm 0,02	1B

Desenvolvimento embrionário de P. rhomboidalis

Durante o período embrionário, acompanhou-se o percentual dos não fertilizados e os que foram morrendo ao longo de cada estágio de desenvolvimento, esses dados são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Percentuais de sobrevivência durante os estágios do desenvolvimento embrionário de *Prosomyleus rhomboidalis* incubados a temperatura de 27,5°C.

27,5°C	Total	Não -	2 - 64	Blástula	Gástrula	Segmentação	Eclosão		
	de ovos	Fertilizados	os Células				Normais	Anormais	
Média	439	1,83%	98,17%	98,17%	97,71%	96,79%	96,35%	3,65%	
± EP		$\pm 0,53\%$	$\pm 0,53\%$	$\pm 4,90\%$	$\pm 3,75\%$	$\pm 9,36\%$	$\pm 1,96\%$	\pm 1,96%	

No geral, os embriões incubados a 27,5°C apresentaram percentuais de sobrevivência satisfatórios, durante o desenvolvimento até a eclosão, embora observou-se maiores taxas de mortalidade na fase de gástrula.

Embriogênese

O desenvolvimento embrionário durou 69 horas (h) e 39 minutos (min) desde a fertilização até a eclosão. O estágio de zigoto foi caracterizado desde a fertilização do ovo até que ocorresse a primeira clivagem. Em seguida o estágio de clivagem apresentando as fases de 2 a 64 células, logo após, o estágio de blástula que acontece de 128 a mais de 1000 células. Posteriormente o estágio de gástrula, marcado pela involução até a completa invaginação do vitelo na fase de 100% de epibolia. No estágio de segmentação, foi possível observar o surgimento e crescimento de diversos órgãos e sistemas rudimentares do embrião até a sua completa formação, após isso, ocorreu a eclosão, o último estágio de desenvolvimento embrionário, finalizado com o rompimento do córion, membrana que protege o embrião durante esse período, as principais características observadas no desenvolvimento embrionário estão apresentadas na Figura 6. A temperatura de incubação foi mantida constante durante todo o período embrionário, conforme mostrado na Tabela 3.

	F	Temperatura de incubação	T !-
Estagio	rases	27,5 °C	гıg
7:acto	Invaginação do polo animal	36 min	1B
Zigoto	Blástodisco	55 min	2A
	2 Células	1 h 20 min	2B
	4 Células	1 h 40 min	2C
	8 Células	2 h 02 min	2D
Chvagem	16 Células	2 h 22 min	2E
	32 Células	2 h 35 min	2F
	64 Células	3 h 12 min	2G
	128 Células	3 h 34 min	2H
	256 Células	3 h 50 min	2I
	512 Células	4 h 22 min	2J
Blástula	1000 Células	5 h 50 min	2K
	Alongamento	6 h 20 min	2L
	Esférico	7 h 37 min	2M
	Cúpula	8 h 57 min	2N
	25% Epibolia	10 h 30 min	20
	50% Epibolia	16 h 49 min	2P
Gástrula	75% Epibolia	17 h 57 min	2Q
	90% Epibolia	19 h 33 min	2R
	100% Epibolia	20 h 51 min	2S
	Estágio de Nêurula	19 h 54 min	2T
	3 a 5 Somitos	20 h 21 min	3A
	Vesícula Óptica	26 h 33 min	3D
Segmentação	Vesícula Otica	27 h 04 min	3G
Segmentação	Vesícula de Kupffer	28 h 04 min	3F
	Desaparecimento da Vesícula de Kupffer	31 h 10 min	3I
	Embrião Cauda Livre	40 h 41 min	3J
	Batimento Cardíaco	49 h 45 min	3K
Eclosão	Rompimento do Córion	69 h 39 min	4A

Tabela 3: Intervalos pós-fertilização do desenvolvimento embrionário de *Prosomyleus rhomboidalis*, incubados sob a temperatura de 27,5°C.

Estágio de zigoto

Após a fertilização e hidratação, determinada como Hora zero Pós-Fertilização (HPF), o córion começa a expandir, induzindo o crescimento do espaço perivitelino. O ovo recém fertilizado está no período do zigoto. Nesse estágio, o citoplasma migra em direção ao pólo animal da célula, essa segregação rica em grânulos de vitelo dá início a formação do blastodisco que recobre o pólo animal (Fig. 1B) até que ocorra a primeira clivagem. O zigoto tem cerca de 2,51 mm de diâmetro total (Tabela 1), após 55 minutos, é possível observar a formação do blastodisco (Tabela 3) (Fig. 2A).



Figura 2: Desenvolvimento inicial de *Prosomyleus rhomboidalis*, durante os estágios de clivagem, blástula, gástrula e segmentação inicial. A, zigoto; B, fase de duas células; C, fase de quatro células; D, fase de oito células; E, fase de 16 células; F, fase de 32 células; G, fase de 64 células; H, estágio de blástula inicial, com 128 blastômeros; I, fase de 256 blastômeros; J, fase de 512 blastômeros, K, fase com mais de 1000 blastômeros; L, fase de alongamento; M, fase esférica; N, fase de cúpula; O, estágio de gástrula, fase de 25% de epibolia; P, fase com 50% de epibolia e apresenta os anéis germinativos indicados pelas setas; Q, fase com 75% de epibolia; R, fase com 90% de epibolia, embrião com escudo inicial; S, fase com 100% de epibolia, o asterisco indica a formação do tubo neural; T, embrião em segmentação inicial.

Estágio de clivagem (2 a 64 células)

Após a primeira clivagem, as células, ou blastômeros, dividiu-se em intervalos de aproximadamente 20 minutos (Tabela 3). As divisões citoplasmáticas são meroblásticas e parciais, características observadas em outras espécies de peixes teleósteos, apresentando divisões celulares exclusivamente no polo animal. O estágio de clivagem compreende seis fases (Fig. 2 B; G), em cada uma delas foi possível visualizar quantos blastômeros estavam presentes por meio de sua disposição. Durante este estágio os blastômeros dividiram-se simultaneamente quase que de forma sincronizada, ao mesmo tempo que correu a diminuição no diâmetro de cada blastômero, finalizado após 3 horas e 12 minutos pós-fertilização (Tabela 3).

Fase de 2 células

Nessa fase ocorreu a primeira divisão mitótica no plano vertical, com aproximadamente 1 hora e 20 minutos pós-fertilização, dando origem a dois blastômeros de tamanhos similares (Fig. 2B).

Fase de 4 células

Na fase de quatro blastômeros, segunda clivagem, os dois blastômeros se dividem transversalmente formando ângulos retos com o plano da primeira clivagem, após 20 minutos da divisão anterior. Neste momento, é possível observar quatro blastômeros em uma matriz 2 x 2 sobre o vitelo (Fig. 2C).

Fase de 8 células

A terceira clivagem, caracterizou a fase de oito células, formado verticalmente ao segundo sulco de clivagem nos quatro blastômeros (Fig. 2D). O blastodisco neste estágio consistiu em oito blastômeros alocados em uma matriz de 2 x 4.

Fase de 16 células

A quarta divisão celular da origem a dezesseis blastômeros, após 02 horas e 22 minutos HPF, dispostos em um padrão de matriz 4x4.

Fase de 32 células

O quinto ciclo de clivagens produz trinta e duas células, que ocorrem ao longo de quatro planos paralelos, em uma vista lateral, geralmente apresentando monocamada irregular de blastômeros no plano horizontal entre a margem e o polo animal (Fig. 2F), as células estão presentes em um arranjo de 4 x 8.

Fase de 64 células

O estágio de clivagem finaliza com a sexta divisão, dando origem a duas camadas de células sobrepostas, totalizando sessenta e quatro blastômeros, após 3 horas e 12 minutos HPF, como descrito na Tabela 3. Em uma visão frontal dessa fase, vê-se duas camadas de células (Fig. 2G), o arranjo de blastômeros pode parecer semelhante ao estágio de 32 células, embora as células sejam menores. Durante as fases do estágio de clivagem, observou-se um aumento gradual no número de blastômeros, devido as divisões, e, portanto, uma diminuição gradual no tamanho da célula, provocando a formação de espaços irregulares.

Estágio de blástula (128 a 1024 células)

No período da blástula as divisões continuam, este estágio é caracterizado por ocorrerem processos importantes como a transição na sincronia da divisão dos blastômeros, formação da camada sincicial do vitelo (CSV), seguido do início da epibolia.

A blástula foi definida como inicial e final de acordo com as características apresentadas em cada fases, segundo a metodologia descrita por Fujimoto et al. (2006) e Pereira-Santos et al. (2016), compreendendo as fases de 128, 256, 512 e 1024 blastômeros, incluindo as fases de alongamento, esférica e de cúpula. Durante este estágio, o padrão de divisão e as características morfológicas do embrião estão descritos nas fases a seguir.

Fase de 128 blastômeros

A sétima clivagem da origem a fase de 128 blastômeros após 3 horas e 34 minutos pós-fertilização, no qual o blastodisco tende a assumir um formato mais alto comparado as clivagens anteriores, à medida que vão se formando camadas celulares com a constante divisão dos blastômeros (Fig. 2H).

Fase de 256 e 512 blastômeros

Nessas fases o diâmetro dos blastômeros torna-se visivelmente menor comparado à fase anterior de 128 blastômeros, o blastodisco apresenta um formato ainda mais elevado e liso, devido à sobreposição de camadas celulares e diminuição dos espaços entre elas (Figs. 2I, J).

Fase de 1024 blastômeros

A décima clivagem produziu mais de 1000 blastômeros, sendo essa fase caracterizada pela assincronia das clivagens no blastodisco. Por volta dessa fase, forma-se a camada sincicial externa do vitelo (CSV). A CSV é formada pela proliferação celular da camada marginal, presente entre o vitelo e os demais blastômeros e borda do blastodisco, aumentando o contato com o vitelo durante o período de epibolia (Fig. 2K).

Fase de alongamento

Nessa fase os embriões adquirem um formato elipsoidal (Fig. 2L).

Fase esférica

A protuberância visível da fase anterior (formato elipsoidal) adquire uma forma mais plana conferindo ao embrião um formato arredondado como ilustrado na Fig. 2M.

Fase de cúpula

Nessa fase começou a epibolia, após 8 horas e 57 minutos pós-fertilização como mostrado na Tabela 3, dando início ao estágio de gástrula. As células da blastoderme assumiram formato de cúpula devido a involução da camada sincicial que recobre do vitelo em direção ao pólo animal (Fig. 2N). Os embriões desenvolveram até 25% do estágio de epibolia, o que significa que o blastoderma cobriu cerca de 25% da célula, um quarto do vitelo (Fig. 2O), caracterizando o final dessa fase.

Estágio de gástrula (epibolia)

As fases desse estágio, nomeado movimento de epibolia, caracteriza a cúpula da célula vitelina pela extensão do blastoderma, definida pelo percentual como fração ao longo do eixo polar da célula animal-vegetal, em que o vitelo é coberto.

Nesse estágio ocorrem os movimentos morfogenéticos descritos como involução, convergência e extensão, que darão início ao anel germinativo e eixo embrionário cabeçacauda, com o aumento do movimento de epibolia. Definimos o período da gástrula como finalizado quando a epibolia está 100% completa com o fechamento do blastóporo e a diferenciação das células cefálica e caudal do embrião.

Estágio de 50% de epibolia e surgimento do anel germinativo

Após atingir 50% do movimento de epibolia, como mostrado na Fig. 2P, após 16 horas e 49 minutos pós-fertilização, com os movimentos de involução é possível observar o início da formação do anel germinativo, é possível observar diferentes camadas, sendo elas compostas por uma camada superficial, o epiblasto, e uma interna, o hipoblasto.

Fase de 75% de epibolia e escudo embrionário

Três quartos do vitelo foram cobertos pelo movimento de epibolia pela blastoderme (Fig. 2Q).

Fase de 90% de epibolia e escudo embrionário

O movimento da blastoderme avançou e cobriu aproximadamente 90% do vitelo, nessa fase fica visível o eixo embrionário cabeça-cauda (Fig. 2R), atingindo essa fase 19 horas e 33 minutos pós-fertilização.

Fase de 100% de epibolia

A blastoderme cobriu completamente o vitelo com o fechamento do blastóporo por meio do movimento de epibolia (100% epibolia), e assim pode-se observar a formação do tubo neural (Figs. 2S, T).

Estágio de segmentação

No estágio de segmentação ocorreram importantes eventos como a neurulação e a somitogênese classificada em inicial e tardia, junto a isso, o desenvolvimento dos órgãos primários, início do desenvolvimento das vesículas óptica e ótica, aumento no número de somitos e alongamento do embrião, com o desenvolvimento da cauda, após isso ocorreram os primeiros movimentos do corpo do embrião. Além disso, à medida que a cauda desenvolve com o aumento do número de somitos, consequentemente houve crescimento no comprimento total do corpo do embrião.

A somitogênese, surgimento e aumento progressivo do número de somitos, ocorreu até um pouco antes do final desse estágio, quando inicia-se a eclosão. Os primeiros somitos foram observados após 20 horas depois da fertilização (Tabela 3). À medida que o embrião se desenvolveu e o número de somitos aumentou, os órgãos visuais e auditivos do embrião tornam-se visíveis, constituindo características morfológicas úteis para identificar os estágios de desenvolvimento.

Os somitos consistem em blocos de células mesodérmicas que ao se desenvolver são separados por um miosepto constituído por tecido conjuntivo, também conhecidos como segmentos musculares ou miômeros. À medida que os músculos pioneiros se alongam, os somitos assumem uma forma de Chevron (V). Portanto, definimos os estágios de desenvolvimento com base nas características morfológicas acima mencionadas e no número de somitos.



Figura 3: Embriões de *Prosomyleus rhomboidalis*, durante os estágios de segmentação, incubados a 27,5°C. A, fase de neurulação inicial (a seta indica a região de formação dos primeiros somitos); **B**, fase de 5 somitos; **C**, fase de 10 somitos; **D**, fase de 14 somitos (a seta indica a formação da vesícula óptica); **E**, fase de 18 somitos, (o sterisco indica a mudança morfológica no formato dos somitos); **F**, fase de 20 somitos (o asterisco indica a formação da vesícula de Kupffer); **G**, fase de 24 somitos, (a seta indica o surgimento da vesícula ótica); **H**, a cauda começa a se desprender do vitelo; **I**, fase de 27 somitos, a vesícula de Kupffer é vista pela última vez; **J**, fase de 28 somitos, regiões anterior e caudal é evidente, mas a cauda ainda está presa (o asterisco indica a localização que a cauda apresenta presa ao vitelo); **K**, ainda no estágio de 28 somitos, é possível observar o coração (localização indicada pela seta); **L**, fase de 30 somitos, embrião no período de segmentação tardia, com o aumento do número de somitos; **M**, ainda na fase de mais de 30 somitos, é possível observar a diminuição do espaço perivitelino; **N**, embrião totalmente formado, cauda completamente desprendida, com intensa movimentação dentro do córion e contendo ampla reserva de vitelo.

Fase de nêurula

Na fase de neurulação o tubo neural pôde ser visto quando os embriões foram analisados dorsalmente, caracterizando esta fase, com o surgimento dos primeiros somitos (de um a três somitos) (Figs. 2S, 3A), visualizados às 19 horas e 54 minutos pós-fertilização, iniciando a somitogenese.

Fase de 5 somitos

Nessa fase inicial era visível um par de vesículas ópticas rudimentares na região do encéfalo (Fig. 3B).

Fase de 14 a 18 somitos

A vesícula óptica torna-se evidente (Fig. 3D), os somitos agora se formam a uma taxa de cerca de dois por hora, e os pioneiros apresentam aparência em forma de V que indica a futura divisão dos miômeros em feixes musculares dorsal (epaxial) e ventral (hipaxial) (Fig. 3E). Nestas fases todos os embriões apresentavam a cauda ligada ao vitelo.

Fase de 20 a 30 somitos

Ao início dessa fase, foi possível identificar a vesícula de Kupffer uma estrutura proeminente no final da nadadeira caudal (Fig. 3F), a vesícula ótica torna-se visível quando o embrião apresenta 24 somitos (Fig. 3G), em seguida a cauda começa a se desprender do corpo do embrião (Fig. 3H), Aos 27 somitos, a vesícula de Kupffer desapareceu (Fig. 3I), fase de 28 somitos, a soltura da caudal é evidente (Fig. 3J), foi possível observar o surgimento do coração quando o embrião apresentou a fase de 28 somitos (Fig. 3K), na cavidade ventral entre a região entre as vesículas óptica e ótica, com leves batimentos cardíacos.

Fase de mais de 30 somitos

Esta fase, conhecida como segmentação tardia, é o período em que há um aumento no número final de somitos (Fig. 3L), aumentando o tamanho do embrião e diminuindo o espaço perivitelino (Fig. 3M), no final dessa fase, o embrião apresenta cauda completamente desprendida com intensa movimentação dentro do córion e contendo ampla reserva de vitelo (Fig. 3N), as contrações tornam-se mais fortes, mais coordenadas e mais frequentes até o rompimento do córion.

Eclosão

Os embriões apresentaram período médio de incubação de 69 horas e 39 minutos pósfertilização, até o rompimento do córion. As larvas recém-eclodidas normais eram transparentes e apresentavam entre 35 e 39 miômeros, com medidas de comprimento das larvas e do saco vitelino logo após a eclosão apresentadas na Tabela 4. Apresentavam uma postura distendida, boca e ânus fechados sendo o ânus posicionado ne região mediana do corpo (Figs, 4A,5A), olhos não pigmentados, vesícula óptica (Fig. 4B(8)) vesícula ótica bem delimitada sem pigmentação exibindo dois otólitos (Fig. 4B(9)), nadadeira embrionária cobrindo toda a região caudal (Fig. 4A(4)). A cabeça estava posicionada ventralmente e aderida à porção anterior do saco vitelino, que apresentava um formato circular (Figs. 4A(2)). Além disso, as larvas recém eclodidas permaneciam no fundo da incubadora, com pouca movimentação na vertical, provavelmente devido ao tamanho do vitelo e ausência de nadadeiras.

Tabela 4: Comprimento total (mm) das larva	s de Prosomyleus rhomboidalis	s (CT); comprimento do	vitelo (CV)
e altura do vitelo (AV) em mm.			

27,5°C	СТ	CV	AV	Fig
Média (mm)	5,98	2,25	1,91	4A
$\pm EP$	0,19	0,04	0,05	



Figura 4: Larva normal de *Prosomyleus rhomboidalis* após a eclosão. **A**, Larvas com sistema nervoso central (notocorda indicada pelo asterisco), cavidade pericárdica com coração em desenvolvimento (1) indicada pela seta, saco vitelino circular (2), presença de miômeros (3), membrana embrionária em toda região caudal (4); **B**, presença do sistema nervoso central prosencéfalo (5), mesencéfalo (6) e rombencéfalo (7), vesícula óptica completamente despigmentada (8), vesícula ótica, com presença de dois otólitos (9).



As taxas de larvas normais e anormais são apresentadas na Tabela 2.

Figura 5: Larvas recém-eclodidas de *Prosomyleus rhomboidalis*, demonstrando padrões morfológicos para larvas normais e anormais. **A**, Larva normal com 38 somitos (o asterisco indica a formação e posição do ânus); **B**, Larva contendo anormalidade na região caudal (a seta indica a região do final da notocorda danificada); **C**, Larva eclodida com anormalidades na região caudal. O vitelo apresenta um padrão normal, mas a região da

cauda apresenta-se curvada para cima. **D**, Larva do mesmo lote com anormalidade na região da cauda curvada para baixo; **E**, Larva apresenta diversas anormalidades, na região cefálica (indicada pela seta), apresentando mal formação e cauda completamente curvada (região indicada pelo asterisco); **F**, Larva apresenta diversas anormalidades morfológicas na região caudal e região do vitelo (indicada pelas setas).

Foram observadas algumas deformidades como malformação da cauda, curta ou flexionada para cima ou para baixo (Fig. 5 B; F); cavidade pericárdica aumentada (edema); extravasamento de vitelo (Fig. 5 F); cabeça deformada; microcefalia (regiões cefálicas reduzidas ou ausentes) (Fig. 5 E, F). As larvas com deformidades na cabeça, como microcefalia, morreram horas após a eclosão.

Zigoto	Clivagem	B	lástula		Gástrula			Segmentação						Eclosão →
Divisão dos polos animal e vegetal Formação do blastodisco	Divisão meroblásticas de 2 até 64 células	 Divisão celulares de 128 até 1024 blastômeros 	Fases de alongamento, esférica e início de cúpula		Do início até a completa cobertura do vitelo pelo blastoderma	Formação do anel germinativo	Presença do eixo embrionário cabeça-cauda	Formação do tubo neural	Aumento progressivo no número de somitos	Vesícula óptica e ótica	Vesícula de Kupffer	Inicio de movimentos fracos até a completo	desprendimento da cauda Batimentos cardíacos	Rompimento do córin
0	1 2	4	6	8	12	16	5 20	3	0	40	4	50	60	70

Características do estágio de desenvolvimento embrionário

Figura 6: Resumo das principais características observadas durante o desenvolvimento embrionário de *Prosomyleus rhomboidalis*.

Discussão

As características morfológicas e morfométricas dos ovos provenientes de *Prosomyleus rhomboidalis*, de apresentam características semelhantes a maioria dos peixes de água doce, são demersais, isto é, possuem gravidade específica maior do que a da água (Reynalte- Tataje & Zaniboni- Filho, 2008), coloração amarela, esféricos, não adesivos, medindo 2,15 mm de diâmetro e após a hidratação apresentou espaço perivitelino reduzido, baixa fecundidade e com longa duração da embriogênese atributos que de acordo com Nakatani *et al.* (2001) e Rizzo & Bazzoli, (2020), significa que essa espécie difere das demais espécies da família, indicando que esta pode apresentar algum tipo de cuidado com a prole. A espécie em questão possui oócitos de diâmetro superior ao descritos por alguns indivíduos da ordem Characiformes, variando de 1,03 a 1,46 mm de diâmetro (Isaú *et al.*, 2013; Nakaghi *et al.*, 2014; Weber *et al.*, 2013), e de algumas espécies da mesma família

como o *C. macropomun* e *P. mesopotamicus* com diâmetro de 1 mm (Leite *et al.*, 2013; Romagosa *et al.*, 1990).

O conhecimento dos estágios iniciais de desenvolvimento observados em *P. rhomboidalis* são semelhantes às da maioria dos teleósteos de água doce, em termos de eventos pós-fertilização, no entanto, com um período embrionário mais longo comparado a outras espécies (Coelho *et al.*, 2021b; Santos *et al.*, 2016; Fujimoto *et al.*, 2006; Isaú *et al.*, 2013; Kimmel *et al.*, 1995; Maria *et al.*, 2017).

Leite *et al.* (2013) observaram o desenvolvimento embrionário de *C. macropomun* quando incubados a 27,5°C, mesma temperatura do presente trabalho, no entanto, a eclosão ocorreu em um período de 13 horas pós-fertilização. Isso pode estar relacionado à estratégia reprodutiva da espécie e temperatura de incubação durante a embriogênese. Coelho *et al.* (2021), trabalhando com *P. mesopotamicus*, que pertence a mesma família, afirmaram que a duração da embriogênese é temperatura-dependente, sendo mais longa em temperaturas mais baixas e mais curta em temperaturas mais elevadas, influenciando no tempo de desenvolvimento do embrião, nas porcentagens de sobrevivência e de larvas com malformações (Arashiro *et al.*, 2018; Coelho *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2017; Santos *et al.*, 2016).

A eclosão em *P. rhomboidalis* foi superior a 96% na temperatura de 27,5 °C, e o percentual de larvas anormais (deformadas) foi de 3,65%, considerados bons resultados quando comparados com os relatados por Pereira-Santos *et al.* (2016) em *Astyanax altiparanae* incubados a temperatura de 26 °C e Coelho *et al.* (2021) com *P. mesopotamicus* nas mesmas temperaturas. Esses resultados são considerados satisfatórios, uma vez que se refere a reprodução de matrizes selvagens sem registros científicos da sua reprodução em cativeiro.

A temperatura de incubação é considerada um dos principais fatores que afetam diretamente no desenvolvimento embrionário (Silva *et al.*, 2017). A maioria das espécies de peixes neotropicais desovam durante a estação chuvosa, período em que a temperatura da água geralmente atinge um limite ideal para o desenvolvimento inicial das espécies. Portanto, isso pode explicar o comportamento de desova de peixes migratórios em que a chuva é o principal gatilho para induzir a desova na estação reprodutiva, visto que, temperaturas mais quentes aumentam a velocidade de desenvolvimento e a possibilidade de má formação embrionária, até a inviabilidade dos indivíduos (Arashiro *et al.*, 2018; Coelho *et al.*, 2021b; Ojanguren *et al.*, 1999; Galdino *et al.*, 2010).

Os principais eventos morfológicos registrados foram semelhante aos descritos por (Kimmel *et al.* 1995), diferenciando-se apenas na cronologia dos eventos, o tempo decorrente que varia de acordo com a espécie, tamanho do ovo e com a temperatura da água de incubação, assim como foi possível observar com indivíduos da mesma família, *P. mesopotamicus* 20 horas (Coelho *et al.*, 2021), *C. macropomum*, 13 horas (Leite *et al.*, 2013), e seu híbrido (Botero *et al.*, 2004) com eclosão 12 horas após a fertilização, em temperatura semelhante ao do presente estudo.

O período de clivagem é caracterizado por sucessivas divisões celulares meroblásticas semelhante ao observado na maioria dos teleósteos, sendo a primeira clivagem originalmente no centro do blastodisco até a fase de 64 células, como caracterizado por Sividanes *et al.*

(2013) estudando o desenvolvimento de *Leporinus copelandii* observou a primeira divisão aos 25 minutos pós- fertilização, Nakauth *et al.* (2016) com *Bricon amazonicus* após 20 minutos, Ganeco-Kirschnik *et al.* (2018) com *B. orbignyanus* após 20 minutos e Santos *et al.* (2020) com *Astyanax lacustres* 1 hora após fertilização. Segundo Faustino *et al.* (2011), o número de blastômeros aumentou à medida que o diâmetro dos mesmos foram reduzido durante esse período, característica observada em nosso trabalho com *P. rhomboidalis*.

No estágio de blástula, de acordo com Kimmel *et al.* (1995), dá início a formação da camada sincicial do vitelo (CSV) uma estrutura extraembrionária com atributos de um órgão que não contribuirá para a formação do embrião. Faustino *et al.* (2011) afirma que a CSV desempenha um papel importante uma vez que, antes de se alimentar de fontes exógenas, o embrião se alimenta do vitelo que é constantemente reabsorvida via camada sincicial. O aparecimento da CSV também foi relatado no estágio de blástula por outros autores, como (Silva *et al.*, 2017; Fujimoto *et al.*, 2006; Coelho *et al.*, 2019).

As células movem-se de forma convergente para formar o eixo embrionário, assim como observado por Botta *et al.* (2010) em *Prochilodus lineatus*, também notou-se neste estudo. Segundo Leite *et al.* (2013), durante o estágio de gástrula, movimento característico conhecido como epibolia ocorreram no sentido do polo animal ao polo vegetativo. Os mesmos eventos deste estágio também foram observados de forma semelhante por *Nakauth et al.* (2016) para *B. amazonicus*, finalizando a gastrulação quando a blastoderme recobre completamente o vitelo, caracterizando a fase de 100% de epibolia.

Em *P. rhomboidalis*, posteriormente ao fechamento do blástoporo, foi observada a região da placa neural do sistema nervoso do embrião, assim como observado por Ganeco-Kirschnik *et al.* (2018) e Kimmel *et al.* (1995), dar-se início ao período de segmentação, uma série de acontecimentos ocorrem, como encontrados por Nakauth *et al.* (2016) com o surgimento de somitos em ambos os lados da notocorda, O surgimento das cápsulas oculares e auditivas (Coelho *et al.*, 2021b), vesícula de kupffer (Faustino *et al.*, 2007), sendo identificado por Ninhaus-Silveira *et al.* (2006) após o surgimento do 13 somitos e desaparecendo após a fase de 24 somitos, enquanto que no presente trabalho foi observado com 20 somitos e desapareceu após 27 somitos. Essner *et al.* (2005) afirmam que esse órgão transitório é necessário durante a somitogênese para a padronização da relação esquerda direita no cérebro, coração e intestino dos indivíduos.

Com o desenvolvimento do embrião e o aumento progressivo no número de somitos, assim como encontrado por Faustino *et al.* (2011) em *B. gouldingi*, Kimmel *et al.* (1995) em *D. rerio* e Silva *et al.* (2017) com *B. amazonicus* a região cefálica foi expandida, dando origem ao cérebro anterior (prosencéfalo), cérebro médio (mesencéfalo) e cérebro posterior (rombencéfalo), torna-se visíveis os órgãos primários como coração (Faustino *et al.* 2011), a cauda aumenta de tamanho, intensificando os movimentos corporais até o rompimento do córion, conforme ocorreu com o *P. rhomboidalis*.

Em geral, o período embrionário varia de acordo com a estratégia da espécie, tamanho do ovo e temperatura de incubação, sendo que, as espécies migradoras geralmente apresentam embriogênese mais rápida do que em peixes não migratórios, como por exemplo *P. mesopotamicus* (20 h a 26 °C) e *C. macropomum* (12 horas a 28 °C), (Galo *et al.*, 2015; Coelho *et al.*, 2021b), enquanto que para *P. rhomboidalis* foi de 69 horas a 27,5 °C. O período de incubação variou para outros teleósteos como observado por Paschoalini *et al.*

(2021) trabalhando com *Salminus franciscanus* com 20 horas a 24°C e Araújo *et al.* (2020) com *S hilarii* 21 horas e 17 min a 26°C, Sividanes *et al.* (2013) com *Leporinus copelandii* durou 22 horas e 50 minutos a 27,7 °C, Faustino *et al.* (2011) analisando *B. gouldingi* com 13,9 horas a 26,4°C, enquanto *B. orbignyanus* durou 13 horas a 27°C, Nakauth *et al.* (2016).

Após a eclosão, as larvas de *P. rhomboidalis* apresentavam um grande saco vitelino, olhos desenvolvidos, mas sem pigmentação, e a boca na posição subterminal e não funcional, as brânquias eram ausentes, atributos semelhante aos encontrados por Santos *et al.* (2020) ao trabalhar com *A. lacustris*, Nakauth *et al.* (2016) com *B. amazonicus* e Faustino *et al.* (2011) com *B. gouldingi*. Segundo Nakatani *et al.* (2001), as larvas recém-eclodidas que possuem essas características são consideradas altriciais, ou seja, são pouco desenvolvidas na eclosão. Além disso, observou-se que as larvas recém-eclodidas permaneceram no fundo das incubadoras, com pouca natação vertical. Essa estratégia é considerada uma importante vantagem, pois as espécies de peixes com este perfil têm mais reserva alimentar consequentemente mais tempo para completar seu desenvolvimento e encontrar alimento disponível.

Conclusão

Prosomyleus rhomboidalis possui ovos de diâmetro maior que de outros peixes da mesma família, com curto espaço perivitelino, de coloração amarelo e com densidade maior que a água. O percentual de fertilização e eclosão em temperatura de incubação de 27,5 °C, foi acima de 96% de larvas normais, considerado satisfatório. Além disso, foi possível acompanhar e descrever os principais eventos morfológicos e suas fases, concluindo que a espécie possui desenvolvimento embrionário longo, característica distinta comparado a outros Characiformes.

As investigações levantadas no presente estudo são descritas pela primeira vez, sendo importante conhecimento para novas pesquisas principalmente nas áreas de genética e biotecnologia, além de ser uma ferramenta para estudos taxonômicos, ecológicos e conservacionistas desta espécie. A descrição detalhada de cada estágio do desenvolvimento, servirão como suporte para novos estudos, desde testes com diferentes temperaturas ao desenvolvimento de técnicas de produção de quimeras germinativas em *P. rhomboidalis*, além disso, nossos dados podem ser aplicáveis em outros teleósteos, especialmente em espécies neotropicais da mesma família.

Referencias

- Albert, J. S., Tagliacollo, V. A., & Dagosta, F. (2020). Diversification of Neotropical Freshwater Fishes. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **51**(1), 27–53.
- Arashiro, D. R., Yasui, G. S., Calado, L. L., ... Senhorini, J. A. (2018). Synchronizing developmental stages in Neotropical catfishes for application in germ cell transplantation. *Zygote*, 26(2), 135–148.
- Araújo, B. C., Mello, P. H., Moreira, R. G., Hilsdorf, A. W. S., Marques, V. H., & Honji, R. M. (2020). Spawning induction and embryonic development of *Salminus hilarii* (Characiformes: Characidae). *Zygote*, 28(5), 377–387.
- Associação Brasileira da Piscicultura, P. (2021). Peixe BR da Piscicultura. *Anuario 2021*, 1–140.
- Bem, J. de, Ribolli, J., Röpke, C., Winemiller, K. O., & Zaniboni-Filho, E. (2021). A cascade of dams affects fish spatial distributions and functional groups of local assemblages in a subtropical river. *Neotropical Ichthyology*, **19**(3), 7–10.
- Botero, M., Acui, S., Ms, A. F., ... Agr, S. (2004). Descripción del desarrollo embrionario de zigotos híbridos obtenidos por el cruce de machos de Cachama Blanca (*Piaractus brachypomus*) y hembras de Cachama Negra (*Colossoma macropomum*). *Rev Col Cienc Pec*, **17**(1), 38–45.
- Botta, P., Sciara, A., Arranz, S., Murgas, L., Pereira, G., & Oberlender, G. (2010). Estudio del desarrollo embrionario del sábalo (*Prochilodus lineatus*). Archivos de Medicina Veterinaria, **42**(2), 109–114.
- Choueri, R. B., & Nascimento, E. P. do. (2019). O papel do licenciamento ambiental federal como ferramenta para gerir conflitos relacionados à biodiversidade aquática e pesca: o caso da UHE Belo Monte. *Novos Cadernos NAEA*, **22**(2), 143–163.
- Coelho, G. C. Z., Arashiro, D. R., Disselli, T., ... Yasui, G. S. (2021a). Developmental stages, incubation temperature, and in vivo traceability of primordial germ cell in an important aquaculture species *Piaractus mesopotamicus*. *Aquaculture*, **535**. doi:10.1016/j.aquaculture.2021.736381
- Coelho, G. C. Z., Yo, I. S., Mira-López, T. M., ... Yasui, G. S. (2019b). Preparation of a fish embryo for micromanipulation: staging of development, removal of the chorion and traceability of PGCs in *Prochilodus lineatus*. *The International Journal of Developmental Biology*, 63(1–2), 57–65.
- Essner, J. J., Amack, J. D., Nyholm, M. K., Harris, E. B., & Yost, H. J. (2005). Kupffer's vesicle is a ciliated organ of asymmetry in the zebrafish embryo that initiates left-right development of the brain, heart and gut. *Development*, **132**(6), 1247–1260.
- Francesco, A., & Carneiro, C. (2015). *Atlas do impatos da UHE Belo Monte sobre a pesca*. Instituto Socioambiental, p. 54–55.
- Faustino, F., Nakaghi, L. S. O., Marques, C., Makino, L. C., & Senhorini, J. A. (2007). 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, 29(1). doi:10.4025/actascibiolsci.v29i1.126

- Faustino, F., Nakaghi, L. S. O., & Neumann, E. (2011). *Brycon gouldingi* (Teleostei, Characidae): aspects of the embryonic development in a new fish species with aquaculture potential. *Zygote*, **19**(4), 351–363.
- Fujimoto, T., Kataoka, T., Sakao, S., Saito, T., Yamaha, E., & Arai, K. (2006). Developmental Stages and Germ Cell Lineage of the Loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). Zoological Science, 23(11), 977–989.
- Galdino, A. M. R., Maiolino, C. V., Forgati, M., ... Rios, F. S. A. (2010). Development of the neotropical catfish *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Heptapteridae) incubated in different temperature regimes. *Zygote*, **18**(2), 131–144.
- Ganeco-Kirschnik, L. N., Franceschini-Vicentini, I. B., Faria Paes, M. D. C., & Nakaghi, L. S. O. (2018). Embryonic development of teleost *Brycon orbignyanus*. *Zygote*, 26(4), 294–300.
- Hilsdorf, A. W. S., Hallerman, E., Valladão, G. M. R., ... Cyrino, J. E. P. (2022). The farming and husbandry of *Colossoma macropomum*: From Amazonian waters to sustainable production. *Reviews in Aquaculture*, **14**(2), 993–1027.
- Ilha, P., Rosso, S., & Schiesari, L. (2019). Effects of deforestation on headwater stream fish assemblages in the Upper Xingu River Basin, Southeastern Amazonia. *Neotropical Ichthyology*, **17**(1), 1–12.
- Isaú, Z. A., Rizzo, E., Amaral, T. B., Mourad, N. M. N., & Viveiros, A. T. M. (2013). Structural analysis of oocytes, post-fertilization events and embryonic development of the Brazilian endangered teleost *Brycon insignis* (Characiformes). *Zygote*, 21(1), 85–94.
- Kimmel, C. B., Ballard, W. W., Kimmel, S. R., Ullmann, B., & Schilling, T. F. (1995). Stages of embryonic development of the zebrafish. *Developmental Dynamics*, 203(3), 253–310.
- Kolmann, M. A., Hughes, L. C., Hernandez, L. P., ... Ortí, G. (2021). Phylogenomics of Piranhas and Pacus (Serrasalmidae) Uncovers How Dietary Convergence and Parallelism Obfuscate Traditional Morphological Taxonomy. *Systematic Biology*, **70**(3), 576–592.
- Leite, L. V., Melo, M. A. P., Oliveira, F. C. E., ... Salmito-Vanderley, C. S. B. (2013). Determinação da dose inseminante e embriogênese na fertilização artificial de tambaqui (*Colossoma macropomum*). Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 65(2), 421–429.
- Magalhães, S. B., Silva, Y. Y. P. da, & Vidal, C. D. L. (2016). Não há peixe para pescar neste verão: efeitos socioambientais durante a construção de grandes barragens – o caso Belo Monte. *Desenvolvimento e Meio Ambiente*, **37**. doi:10.5380/dma.v37i0.45595
- Maria, A. N., Silveira, A. N., Orfão, L. H., & Viveiros, A. T. M. (2017). Embryonic development and larval growth of *Brycon nattereri* Günther, 1864 (Characidae) and its implications for captive rearing. *Zygote*, 25(6), 711–718.
- Mattox, G. M. T., Hoffmann, M., & Hoffmann, P. (2014). Ontogenetic development of *Heterocharax macrolepis* Eigenmann (Ostariophysi: Characiformes: Characidae) with comments on the form of the yolk sac in the Heterocharacinae. *Neotropical Ichthyology*, 12(2), 353–363.
- Nakaghi, L. S. O., Neumann, E., Faustino, F., Mendes, J. M. R., & de Braga, F. M. (2014).

Moments of induced spawning and embryonic development of *Brycon amazonicus* (Teleostei, Characidae). *Zygote*, **22**(4), 549–557.

- Nakatani, K., Agostinho, A. A., Bialetzki, A., Baumgartner, G., Sanches, P. V., Makrakis, M., & Pavanelli, C. S. (2001). Ovos e larvas de peixes de água doce: Desenvolvimento manual de identificação de ovos e larvas de peixes brasileiros de água doce (pp. 378). Maringá: EDUEM.
- Nakauth, A. C. S. S., Villacorta-Correa, M. A., Figueiredo, M. R., Bernardino, G., & França, J. M. (2016). Embryonic and larval development of *Brycon amazonicus* (SPIX & amp; AGASSIZ, 1829). *Brazilian Journal of Biology*, **76**(1), 109–116.
- Ninhaus-Silveira, A., Foresti, F., & de Azevedo, A. (2006). Structural and ultrastructural analysis of embryonic development of *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) (Characiforme; Prochilodontidae). *Zygote*, **14**(3), 217–229.
- Ojanguren, A. F., Reyes-Gavilán, F. G., & Rodríguez Muñoz, R. R. (1999). Effects of temperature on growth and efficiency of yolk utilisation in eggs and pre-feeding larval stages of Atlantic salmon. *Aquaculture International*, **7**(2), 81–87.
- Oliveira, D. J. de, Ashikaga, F. Y., Foresti, F., & Senhorini, J. A. (2015). INDUÇÃO A REPRODUÇÃO ARTIFICIAL E CARACTERIZAÇÃO ESPERMÁTICA DA PIRACANJUBA Brycon orbignyanus (BRYCONIDAE, CHARACIFORMES), ESPÉCIE EM PERIGO DE EXTINÇÃO. Evolução e Conservação Da Biodiversidade, 5(2), 10.
- Paschoalini, A. L., Eloi, M. R., dos Santos, J. E., dos Santos, J. C. E., Rizzo, E., & Bazzoli, N. (2021). Induced reproduction and early development in dourado, *Salminus franciscanus* Lima & Britski, 2007 (Pisces: Characiformes). *Zygote*, **29**(4), 270–275.
- Pelicice, F. M., Santos, V. M. A., Vitule, J. R. S., ... Agostinho, A. A. (2017). Neotropical freshwater fishes imperilled by unsustainable policies. *Fish and Fisheries*, 18(6), 1119– 1133.
- Reis, R. E., Albert, J. S., Di Dario, F., Mincarone, M. M., Petry, P., & Rocha, L. A. (2016). Fish biodiversity and conservation in South America. *Journal of Fish Biology*, 89(1), 12–47.
- Ricardo, D., & YASUI, G. S. (2003). O Manejo Da Reprodução Natural E Artificial E Sua Importância Na Produção De Peixes No Brasil (Natural and Artificial Breeding Management and Its Importance in Fish Production in Brazil). *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 27(October 2014), 166–172.
- Rizzo, E., & Bazzoli, N. (2020). Reproduction and embryogenesis. In *Biology and Physiology of Freshwater Neotropical Fish*, Elsevier, , pp. 287–313.
- Rizzo, E. & H. P. Godinho. Superfície de ovos de peixes Characiformes e Siluriformes, p. 115-132. In: H. P. Godinho & A. L. Godinho (org.). Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais. Belo Horizonte: PUC Minas, 2003. 468p.
- Romagosa, E., De Paiva, P., & Godinho, H. M. (1990). Pattern of oocyte diameter frequency distribution in females of the pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1887) (=Colossoma mitrei Berg 1895), induced to spawn. *Aquaculture*, **86**(1), 105–110.
- Santos, J. A., Soares, C. M., & Bialetzki, A. (2020). Early ontogeny of yellowtail tetra fish *Astyanax lacustris* (Characiformes: Characidae). *Aquaculture Research*, **51**(10), 4030–

4042.

- Santos, M. P., Yasui, G. S., Xavier, P. L. P., Nakaghi, L. S. O. (2016). Morphology of gametes, post-fertilization events and the effect of temperature on the embryonic development of Astyanax altiparanae (Teleostei, Characidae). Zygote, 24(6), 795–807.
- Santos, R. S., Rodrigues, J. R., Cordeiro, J. G., ... Siqueira-Silva, D. H. De. (2021). Embryonic development of the fire-eye-tetra *Moenkhausia oligolepis* (Characiformes: Characidae). *Zygote*, **29**(3), 194–198.
- Sawakuchi, A. O., Hartmann, G. A., Sawakuchi, H. O., Pupim, F. N., Bertassoli, D. J., Parra, M., Antinao, J. L., Sousa, L. M., Sabaj Pérez, M. H., Oliveira, P. E., Santos, R. A., Savian, J. F., Grohmann, C. H., Medeiros, V. B., McGlue, M. M., Bicudo, D. C., and Faustino, S. B.: The Volta Grande do Xingu: reconstruction of past environments and forecasting of future scenarios of a unique Amazonian fluvial landscape, Sci. Dril., 20, 21–32, https://doi.org/10.5194/sd-20-21-2015, 2015.
- Silva, C. R., Santos, M. P., Senhorini, J. A., ... Nakaghi, L. S. O. (2017). The effect of temperature on the initial development of *Brycon amazonicus* Spix & Agassiz, 1829 as tool for micromanipulation of embryos. *Zygote*, 25(5), 637–651.
- Sividanes, V. P., Fries, E. M., Decarli, J. A., Feiden, A., & Hermes, C. A. (2013). Desenvolvimento Embrionário do Piau Vermelho Leporinus copelandii (Steindachner, 1875). Cultivando o Saber, 6(1), 85–94.
- Weber, A. A., Arantes, F. P., Sato, Y., Rizzo, E., & Bazzoli, N. (2013). Oocyte adhesiveness and embryonic development of *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758) (Pisces: Characidae). *Zygote*, **21**(2), 198–202.
- Yasui, G. S., Senhorini, J. A., Shimoda, E., ... Silva, L. A. (2015). Improvement of gamete quality and its short-term storage: an approach for biotechnology in laboratory fish. *Animal*, 9(3), 464–470.

Este capítulo está formatado nas normas da revista Aquaculture Research, disponível em:

https://www.hindawi.com/journals/are/

are - For Authors | Hindawi

ARTIGO II

Capítulo II: Desenvolvimento larval e juvenil de *Prosomyleus rhomboidalis* (Characiformes, Serrasalmidae) da bacia do rio Xingu, em cativeiro

Larval and juvenile development of *Prosomyleus rhomboidalis* (Characiformes, Serrasalmidae) from the Xingu River basin, in captivity

Leydiane da Paixão Serra¹, Alice Xavier Soares², Lucas Silva de Oliveira³, Ruineres Almada Cajado⁴, George Shigueki Yasui⁵, Leandro Melo de Sousa⁶

1 – Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação, Laboratório de Aquicultura de Peixes Ornamentais do Xingu, Universidade Federal do Pará - Campus de Altamira – UFPA, CEP: 68372-040, Altamira, PA, Brasil. (autor correspondente) leydianeserra@hotmail.com <u>https://orcid.org/0009-0008-5208-2462</u>

2 – Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação, Laboratório de Aquicultura de Peixes Ornamentais do Xingu, Universidade Federal do Pará - Campus de Altamira – UFPA, CEP: 68372-040, Altamira, PA, Brasil. <u>https://orcid.org/0009-0001-0030-1001</u>

3 – Programa de Pós-Graduação em Ecologia– Universidade Federal do Pará – UFPA, CEP: 66075-110, Belém, PA, Brasil. <u>https://orcid.org/0000-0002-1631-0498</u>

4 – Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aquática e Pesca – Universidade Federal do Pará – UFPA, CEP: 66075-110, Belém, PA, Brasil. <u>https://orcid.org/0000-0002-7047-0302</u>

5 – Laboratório de Biotecnologia de Peixes, Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, Pirassununga, São Paulo, Brasil. <u>https://orcid.org/0000-0002-6105-8308</u>

6 – Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação, Laboratório de Aquicultura de Peixes Ornamentais do Xingu, Universidade Federal do Pará - Campus de Altamira – UFPA, CEP: 68372-040, Altamira, PA, Brasil. <u>https://orcid.org/0000-0002-0793-9737</u>

RESUMO

O objetivo deste estudo foi descrever o desenvolvimento larval e juvenil de *Prosomyleus rhomboidalis* (Cuvier, 1818), uma espécie de pacu do rio Xingu, com grande importância

ecológica, cultural e socioeconômica sendo fonte de alimento e renda para diversas famílias ribeirinhas. Um total de 135 larvas e 23 juvenis proveniente de reprodução artificial, foram analisados quanto as variáveis morfológicas, morfométricas e merísticas, além do coeficiente de crescimento. O comprimento padrão (CP) dos indivíduos variou de 5,03 a 57,02 mm com a maioria das medidas apresentando aumento proporcional ao longo do desenvolvimento. Inicialmente as larvas possuem olhos e o corpo alongado despigmentados, boca fechada, membrana embrionária e trato digestivo indiferenciado. Durante a ontogenia inicial, os espécimes têm variação corporal de muito longo á muito alto, cabeça variando de pequena a grande e os olhos de moderado a grande. Nos estágios finais do desenvolvimento larval, o corpo assume o formato romboidal, apresentando um padrão de pigmentação com agrupamento de pigmentos formando manchas que se espalham e se intensificam pelo corpo. O número total de miômeros varia de 35 a 39 segmentos (19-22 pré; 15-17 pós-anal). Os juvenis a partir de 38,15 mm de CP apresentam características morfológicas semelhantes aos adultos com o corpo completamente coberto por escamas e nadadeiras formadas e segmentadas: caudal (moda = iii, 9) dorsal (moda = ii+22), anal (moda = ii+30), pélvico (moda = 8) e peitoral (moda = i, 14). As análises de crescimento indicaram que maiores mudanças ocorrem no limiar de pós-flexão para o período juvenil, indicando alterações morfológicas no formato do corpo. Estes resultados contribuem para a correta identificação dos espécimes em ambiente natural diferenciando de seus congêneres, além de possibilitar que os estudos de ictioplâncton realizados na bacia do rio Xingu, determinem períodos e áreas críticas à conservação da espécie, ações fundamentais para manutenção dos recursos pesqueiros.

Palavras-chave: Descrição morfológica; Pacu-de-seringa; Myleinae; Criação em cativeiro; Crescimento isométrico.

ABSTRACT

The aim of this study was to describe the larval and juvenile development of *Prosomyleus* rhomboidalis (Cuvier, 1818), a species of pacu from the Xingu River with great ecological, cultural and socioeconomic importance, being a source of food and income for several riverside families. A total of 135 larvae and 23 juveniles from artificial reproduction, were analyzed for morphological, morphometric and meristic variables, in addition to the allometric growth coefficient in relation to the head, trunk and tail during the larval and early juvenile period. The standard length (SL) of the individuals ranged from 5.03 to 57.02 mm, with most measures showing a proportional increase throughout development. Initially, newly hatched larvae have depigmented eyes and elongated body, closed mouth, finfold and undifferentiated digestive tract. During early ontogeny, specimens have body variations from very long to very tall, heads ranging from small to large and eyes ranging from moderate to large. In the final stages of larval development, the body assumes a rhomboidal shape, presenting a pigmentation pattern with groups of pigments forming spots that spread and intensify across the body. The total number of myomeres ranges from 35 to 39 (19-22 pre; 15-17 post-anal). Juveniles from 38.15 mm of SL present morphological characteristics similar to adults, with the body completely covered by scales and formed and segmented fins: caudal (mode = iii, 9), dorsal (mode = ii+22), anal (mode = ii+30), pelvic (mode = 8) and pectoral (mode = I, 14). Growth analyzes indicated that greater changes occur in the postflexion threshold for the juvenile period, indicating morphological changes in body shape. These results contribute to the correct identification of specimens in the natural environment, differentiating them from their congeners, in addition to allowing ichthyoplankton studies carried out in the Xingu River basin to determine critical periods and areas for the conservation of the species, fundamental actions for the maintenance of fishing resources.

Keywords: Morphological description; Fish; Myleinae; Captive breeding; Isometric growth.

INTRODUÇÃO

A região amazônica possui uma grande diversidade ictiofaunística, abrangendo 2.716 espécies válidas (Dagosta & Pinna, 2019). As espécies pertencentes a Serrasalmidade é um clado diversificado conhecidos popularmente por piranhas e pacus, atualmente com 94 espécies descritas em 16 gêneros (ANDRADE *et al.*, 2019; MACHADO *et al.*, 2018), dividida em três grandes grupos: Serrasalminae (*Metynnis* + piranhas), Colossomatinae (pacus de grande porte) e Myleinae (pacus de pequeno e médio porte) (KOLMANN *et al.*, 2021), caracterizada por apresentar um corpo alto e comprimido lateralmente, espinho prédorsal e espinhas abdominais e pélvicas formando uma quilha ventral (JÉGU, 2003; MACHADO *et al.*, 2018).

Prosomyleus rhomboidalis (Cuvier, 1818) pertencentes a subfamília Myleinae, apresenta tamanho médio e ocorre em rios de corredeiras que drenam os escudos brasileiros e das Guianas (Kolmann et al., 2021). No rio Xingu é popularmente conhecido como pacu-deseringa, está presente entre as espécies que tem destaque na pesca comercial e de subsistência, sendo fonte de renda e de alimento para as comunidades ribeirinhas da região amazônica (Pagezy & Jégu, 2002; Choueri & Nascimento, 2019; Francesco & Carneiro, 2015). No entanto, existe uma grande lacuna de conhecimento sobre a ecologia e morfologia inicial desta espécie.

A ausência de informações taxonômicas sobre os estágios iniciais de vida de uma espécie de peixe influencia negativamente o reconhecimento específico de novas populações em um ambiente natural e limita os estudos sobre ictioplâncton (Cajado et al., 2021; Zacardi et al., 2020; Oliveira et al., 2021). O uso de biotecnologias como fertilização *in vitro* permite acompanhar o desenvolvimento ontogenético das espécies, e tem sido empregado principalmente para espécies de interesse comercial (Santos et al., 2022; Coelho et al., 2021; Silva et al., 2022), e ameaçadas, devido ao declínio dos estoques em ambiente natural (Ganeco-Kirschnik et al., 2018), além disso, pode servir como ferramenta para recomposição dos estoques naturais. A fertilização *in vitro* também confirma a origem dos peixes parentais e suas progênies, portanto certifica-se de que as larvas são puras ou híbridas (Botero et al., 2004; Faustino et al., 2007), esse conhecimento prévio é fundamental para trabalhos de ictioplâncton (Santos et al., 2022).

Recentemente, tem sido relatado pelos pescadores locais a dificuldade de captura dessa espécie, o que justifica ampliar os esforços de reprodução e larvicultura para possível reposição de estoque, além de ser uma ferramenta importante para uma melhor compreensão da biologia, estudos de identificação e avaliação de recursos pesqueiros (Magalhães et al., 2016; Santos et al., 2020). Neste contexto, realizou-se a reprodução artificial em cativeiro, com o objetivo de descrever por meio de caracteres morfológicos, morfométricos e merísticos o desenvolvimento larval e juvenil da espécie *P. rhomboidalis* e identificar os padrões de crescimento corporais durante a ontogenia inicial.

Essas informações constituirão em ferramentas essenciais para a correta identificação dos espécimes em ambiente natural, assim como para a determinação das

possíveis épocas e áreas de desova e locais de criadouros naturais, fundamentais para a implementação de medidas de orientação e proteção dos ambientes e do recurso pesqueiro, possibilitando a manutenção de uma pesca sustentada.

MATERIAL E MÉTODOS

Local do estudo

A reprodução artificial foi conduzida no Centro de Estudos Ambientais (CEA) – Localizado em Vitória do Xingu, no Laboratório de Aquicultura de Peixes Ornamentais do Xingu (LAQUAX), da Universidade Federal do Pará, campus de Altamira, e as análises morfológicas, merísticas, morfométricas e de crescimento, no Laboratório de Ecologia do Ictioplâncton e Pesca em Águas Interiores (LEIPAI), da Universidade Federal do Oeste do Pará, campus Tapajós. As matrizes de *P. rhomboidalis* utilizados no experimento foram obtidas através de coletas em habitat natural seguindo as normas do SISBIO (licença número 79124-2). Todos os procedimentos foram realizados de acordo com o Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA número 4751220822).

Origem dos reprodutores e fertilização

As matrizes adultas de *P. rhomboidalis* foram capturadas por pescadores locais com redes de espera de 60 m de comprimento, 1,5 de altura e malha 18 de centímetros entre nós opostos, no trecho conhecido como Volta Grande do Xingu, durante a estação reprodutiva, de novembro de 2022 a janeiro de 2023, caracterizados pelo período mais chuvoso e aumento do nível fluviométrico. de. Os espécimes foram alocados em caixas de 500L e transportados até o CEA onde foi realizado a reprodução artificial em condições laboratoriais. Após extrusão dos gametas, os peixes foram aclimatados e mantidos em tanques de 3000 L em um sistema aberto de circulação com água bombeada diretamente do rio garantindo a qualidade da água de acordo com os padrões naturais do rio Xingu, com níveis de pH variando entre 6,5 e 7,0, temperaturas entre 28-32°C e condutividade elétrica abaixo de 100 mS \cdot cm³.

Para a fertilização in vitro, os indivíduos foram sexados, anestesiados com eugenol 100 mg/L (COELHO et al., 2021), e realizada a extrusão dos gametas. Os machos (1.604 \pm 0,11 g e 33,16 \pm 0,32 cm) foram eutanasiados com o uso eugenol 300 mg/L, os espermatozoides foram coletados por maceração testicular em tubo de 15 mL contendo 5 mL de solução de Ringer modificada (128.3 mM NaCl, 23,6 mM KCl, 3,6 mM CaCl₂, 2,1 mM MgCl₂) e mantido a 2,5°C (Yasui et al., 2015). As fêmeas $(1,784 \pm 0,13 \text{ g e } 33,26 \pm 0,72 \text{ cm})$ apresentaram ovulação espontânea. A massa de oócitos foi inseminada em recipientes plásticos com capacidade de 500 mL, com 5 mL de sêmen diluído, na sequência adicionou-se 100 mL de água para ativação e hidratação. Os ovos foram transferidos para incubadoras flutuantes com capacidade de 5 L e alocadas em aquários de 30 L equipados com aeração constante e temperatura controlada a 27,5°C. Após o período de incubação, as larvas recémnascidas foram transferidas para aquários de seis litros com aeração constante e temperatura de 30°C, por 10 dias. Posteriormente a absorção parcial do vitelo as larvas foram transferidas para aquários com capacidade de 60 L (10 larvas/L), introduzindo-se alimentação exógena viva e inerte (náuplio de Artêmia e ração 0.2-0.5 mm, 60% PB). Trinta dias após a eclosão foi ofertado apenas ração inerte (0.5-0.8 mm) até atingirem a fase de juvenil, quando foram transferidos para aquários de 500 L (1,2 larvas/L) e alimentados com ração comercial (1mm, 42% PB), três vezes ao dia (8, 13 e 17 horas) até saciedade aparente, em todas as fases do desenvolvimento.

Coleta e análise de material biológico

Para análise e caracterização dos diferentes estágios e períodos de desenvolvimento larval e juvenil de *P. rhomboidalis*, os indivíduos foram coletados com o auxílio de uma pipeta de Pasteur nos seguintes intervalos: 2 larvas por dia até o 10º dia (20 larvas) horas após a eclosão (hpe), em seguida, coletados aleatoriamente até que todos os estágios de desenvolvimento larval fossem obtidos: larval vitelino (25 indivíduos), flexão (76 indivíduos), pós-flexão (34 indivíduos) e juvenis (23 indivíduos).

Todo o material coletado foi anestesiado com imersão em solução de eugenol (30 mg/L) por aproximadamente um minuto e, em seguida, fixados em formaldeído a 4%, tamponado com carbonato de cálcio, e mantidos em frascos de vidro devidamente etiquetados para posterior análise. O período larval foi categorizado de acordo com a flexão da seção final da notocorda e a sequência de desenvolvimento das nadadeiras e seus elementos de suporte, nos respectivos estágios: larval vitelino, flexão e pós-flexão, este último marcado pelo aparecimento do botão d nadadeira pélvica até a completa absorção da nadadeira embrionária, formação completa dos raios de todas as nadadeiras e a presença de escamas–de acordo com Ahlstrom e Moser (1976), modificado por Nakatani et al. (2001), e o período juvenil. Essas classificações são amplamente utilizadas em diversos estudos de descrição e caracterização morfológica dos estágios iniciais de vida de peixes de água doce (Cajado et al., 2021; Oliveira et al., 2021; Santos et al., 2020; Silva et al., 2021).

Para caracterização morfométrica das séries de desenvolvimento larval e juvenil foram realizadas as seguintes medidas corporais (Figura 1), como proposto por Ahlstrom et al. (1976) e expressas em milímetros (mm): comprimento padrão (CP), comprimento do focinho (CF), diâmetro do olho (DOL), altura da cabeça (AC), altura do corpo (ACO), comprimento da cabeça (CC) e distância do focinho a origem das nadadeiras: anal (DPA), dorsal (DPD), peitoral (DPP) e pélvica (DPV), quando possível, os dados merísticos foram registrados, através da contagem do número de raios duros segmentados não ramificados e raios moles segmentados e ramificados das nadadeiras dorsal (D), anal (A), peitorais (P) e pélvicas (V) e o número de miômeros pré-anal (MPA), pós-anal (MPA) e total (MT). Todos os espécimes analisados estão depositados na Coleção de Ovos e Larvas de Peixes (CROLP-LEIPAI), da Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA (catálogo número: 00674).



Figura 6: Medidas morfométricas de *Prosomyleus rhomboidalis* (Characiformes, Serrasalmidae) durante o período a) larval e (b) juvenil. CP, comprimento padrão; CF, comprimento do focinho; DOL, diâmetro do olho; AC, altura da cabeça; ACO, altura do corpo; CC, comprimento da cabeça; DPA, distância do focinho a nadadeira anal; DPD, distância do focinho a nadadeira dorsal; DPP, distância do focinho a nadadeira peitoral; DPV, distância do focinho a nadadeira ventral; MPA, miômeros pré-anal e MPS, miômeros pós-anal.

A descrição de cada estágio e período foi baseada no grau de desenvolvimento e na ocorrência dos principais eventos morfológicos. Para representar a morfologia de cada fase foram selecionados os indivíduos que continham as melhores características de cada estágio e período, fotodocumentados com auxílio de câmera digital acoplada ao estereomicroscópio, servindo de base para a elaboração de pranchas com desenhos ilustrativos.

Análises estatísticas

Para avaliar as relações morfométricas de crescimento corporal ao longo do desenvolvimento inicial da espécie, as medidas ACO, CC e DOL foram apresentadas como porcentagens do comprimento da cabeça (CC), enquanto CC, AC, DPD, DPA, DPP e DPV, foram apresentadas como porcentagens do comprimento padrão (CP). As relações corporais para a altura do corpo (ACO/CP), comprimento da cabeça (CC/CP) e diâmetro do olho (DOL/CC) foram estabelecidas utilizando-se os critérios sugeridos por Leis e Trnski (1989)..

Para avaliar o crescimento corporal, modelos de regressão analítica foram utilizados em que as variáveis morfométricas (dependentes) estavam relacionadas com comprimentos padrão e cabeça (independente), e suas relações foram descritos por diferentes modelos de crescimento, o que pode representar distintos processos biológicos (Kováč et al., 1999). Primeiramente, testou-se a hipótese de crescimento isométrico contínuo das relações corporais, através de um modelo de regressão linear simples. Ao mesmo tempo as hipóteses alternativas: crescimento gradualmente alométrico (regressão quadrática) e, crescimento isométrico descontínuo (regressão por partes – *Piecewise*, que é marcada por pontos de quebra que refletem diferentes taxas de crescimento), caracterizado por ocorrer mudanças abruptas, marcadas por pontos de interrupção, no qual refletem taxas de crescimento divergentes. Os modelos ideais para cada variável morfométrica em relação ao tamanho do corpo e da cabeça foram determinados usando testes F (Sokal & Rohlf, 1981). As análises foram realizadas no ambiente R e adotado nível de significância de p <0,05.

RESULTADOS

Período larval

Foram analisados 158 indivíduos de *P. rhomboidalis*, 25 em estágio larval vitelino, 76 em flexão, 34 em pós-flexão e 23 juvenis. A descrição morfológica de cada fase é apresentada a seguir, na figura 2, com a ilustrações e fotos dos espécimes que melhor representaram as fases larvais e o período juvenil. Os resultados referentes aos valores morfométricos e merísticos estão apresentados na Tabela 1.

Larval vitelino (Figura 2 a, b; Tabela 1): O comprimento padrão (CP) variou de 5,03 a 10,48 mm (7,69 mm \pm 1,75) (0 – 144 hpe, período compreendido até o 6° dia). A presentam reserva vitelina grande ocupando mais de 1/3 do comprimento do corpo. Notocorda reta e visível por transparência, membrana embrionária hialina bem desenvolvida, com início na região anterior mesodorsal do corpo até a extremidade final do saco vitelino. A cabeça posicionada ventralmente e aderida ao saco vitelino, focinho arredondado, brânquias ausentes e presença de vesícula ótica bem delimitada sem pigmentação ocular, boca e ânus fechados. Intestino reto, com o ânus situado em posição posteriormente ao meio do corpo. A partir de 7,31 mm CP (36 hpe), torna-se visível o botão da nadadeira peitoral sem raios presente na região superior do saco vitelino. Os olhos são totalmente pigmentados a partir de aproximadamente 8,94 mm CP (68 hpe), quando se observa a abertura da boca e a presença de brânquias. A pigmentação corporal na forma de cromatóforos dendríticos e puntiformes, surge em larvas com 9,19 mm CP (91 hpe), na região superior do vitelo e seção final da notocorda. O número de miômeros totais variou de 37 a 39 (20 a 22 pré-anal e 15 a 17 pós-anal), moda = 37.

Flexão (Figura 2 c, d): O comprimento padrão das larvas variou de 7,94 a 11,23 mm CP (9,60 mm \pm 0,59) (145 – 648 hpe, finalizada no 27° dia). O início da flexão da notocorda foi observada em larvas com 7,94 mm CP (99 hpe), com a formação dos primeiros elementos de suporte dos raios da nadadeira caudal (hipurais). A membrana embrionária ainda é bastante desenvolvida, entretanto é possível observar o delineamento e o desenvolvimento dos primeiros raios das nadadeiras dorsal, anal e caudal. Com 9,50 mm CP (243 hpe) o saco vitelino encontra-se totalmente absorvido. O focinho se torna menos arredondado que o estágio anterior, sendo visível um par de narinas simples, boca aberta em posição terminal,

olhos bem pigmentados e esféricos, e brânquias, o opérculo ainda não se encontra diferenciado. Intestino relativamente longo situado na região posterior do corpo. A bexiga natatória é visível por transparência e encontra-se inflada. A pigmentação segue o mesmo padrão do estágio anterior, porém existe um incremento de cromatóforos dendríticos e puntiformes distribuídos na cabeça, focinho, intestino, na nadadeira embrionária entre os raios formadores da dorsal e caudal, delineando toda a margem superior e inferior do corpo, sob a notocorda e na base dos raios da nadadeira anal. No final do estágio, os pigmentos de coloração acastanhados se intensificam e distribuem-se irregularmente por todo o corpo, concentrados na região mais posterior. O botão da nadadeira peitoral permanece sem raios. O número total de miômeros variou de 35 a 39 (20 a 22 pré-anal e 15 a 17 pós-anal), moda = 38.

Pós-flexão (Figura 2 e, f, g): O comprimento padrão das larvas variou de 11,02 a 29,97 mm CP (18,64 mm \pm 5,82). O desenvolvimento larval finaliza após 1.614 hpe equivalente ao 67° dia. Nota-se o surgimento do botão da nadadeira pélvica. A membrana embrionária ainda se encontra presente, sendo completamente absorvida com 23,71 mm CP (1.149 hpe). A cabeça, os olhos esféricos e a boca terminal estão mais desenvolvidas, o focinho se torna mais afilado que na fase anterior, as narinas são duplas. O corpo apresenta um formato romboidal sendo observado a formação de serras na região ventral posterior a nadadeira pélvica com presença de pequenas escamas a partir de 26,89 mm CP. A pigmentação acastanhada se torna mais intensa que na fase anterior, os cromatóforos puntiformes se aglomeram formando um padrão de manchas concentradas na parte superior dorsal, e menos nítidas na região médio posterior do corpo até o final do pedúnculo caudal. Na cabeça destaca-se maior pigmentação na parte superior e uma faixa longitudinal na região lateral do focinho até os olhos. Pigmentos também são observados nos primeiros raios da nadadeira dorsal e entre os raios das demais nadadeiras marcando toda sua extensão. A nadadeira adiposa é visível em indivíduos com 13,76 mm CP e nadadeira caudal é bifurcada. A contagem do número total de elementos seguindo a sequência de formação das nadadeiras são: caudal (moda = ii, 9), dorsal (moda = i, 22), anal (moda = i, 30), pélvica (moda = 8) e peitoral (moda = 9) (Tabela 1). O aumento da espessura do tecido muscular e a intensificação da pigmentação não permite a visualização da notocorda e segmentos musculares (miômeros).



Figura 7: Desenvolvimento larval e juvenil de *Prosomyleus rhomboidalis* (Characiformes, Serrasalmidae). (a) larval vitelino, 6,22 mm, 5 hpe; (b) larval vitelino, 8,48 mm, 67 hpe; (c) flexão, 9,20 mm, 139 hpe; (d) flexão, 10,36 mm, 309 hpe; (e) pós-flexão, 11,02 mm, 477 hpe; (f) pós-flexão, 16,56 mm, 699 hpe (g) pós-flexão, 24,77 mm, 1.614 hpe; (h) juvenil, 51,33 mm, 2.028 hpe. Barras de escala = 1 mm

Período juvenil

Vinte e três indivíduos juvenis no 67° dia após a eclosão foram analisados e apresentaram variação de 30,99 a 57,02 mm de CP (39,39 mm \pm 7,61) (Figuras 2, h e 3). Exibiram características morfológicas semelhantes aos espécimes adultos, cabeça com perfil dorsal convexo, boca terminal, olhos esféricos, narinas duplas e abertura anal localizada verticalmente sobre a região posterior do corpo. O corpo tem formato romboidal comprimido lateralmente e completamente coberto por pequenas escamas prateadas, linha lateral aparente, presença de quilha ventral composta por espinhos diminutos formando uma serra abdominal. A pigmentação formada por cromatóforos é visível principalmente na da cabeça, ao redor dos olhos, narinas e na parte distal da nadadeira dorsal e anal formando uma faixa na extremidade. Todas as nadadeiras encontram-se completamente formadas e com os raios segmentados, caudal (moda = iii,9) dorsal (moda = ii+22), anal (moda = ii+30), pélvico (moda = 8) e peitoral (moda = i,14), conforme a Tabela 1.



Figura 8: Sinopse dos eventos morfológicos observados durante o desenvolvimento inicial de *Prosomyleus rhomboidalis* (Cuvier, 1818).

Análises morfométricas

Durante o período larval e juvenil, indivíduos de *P. rhomboidalis* apresentaram um aumento proporcional ao longo do desenvolvimento. Inicialmente, na fase larval vitelino os espécimes possuem o corpo variando de muito longo para longo (6,96% para 12,13%), em flexão de longo para moderado (10,36% para 21,06%), em pós-flexão de moderado para alto (20,33% para 51,01%) e o juvenil modifica de alto para muito alto (48,22% para 100,60%). A cabeça varia de pequena a moderada em larval vitelino e flexão (14,10% para 30,32%), tornando-se de moderada a grande na fase de pós-flexão e juvenil (22,96% para 62,55%). Os olhos variam

de moderado a grande (26,23% para 44,26%) durante o período larval e se manteve grande em juvenil (35,15% para 40,93%). A altura da cabeça e o comprimento do focinho aumentaram proporcionalmente ao comprimento da cabeça (35,98% para 121,96% e 11,10% para 27,24% respectivamente). A distância do focinho à origem das nadadeiras dorsal, anal, pélvica e peitoral apresentou aumento em suas proporções ao longo do desenvolvimento (Tabela 1).

Prosomyleus rhomboidalis (Cuvier, 1818)												
Variáveis	Larval vitel	ino (n=25)	Flexão	(n= 76)	Pós-flexão	o (n= 34)	Juvenil (n= 23)					
(mm)	Min-Max	Média±DP	Min-Max	Média±DP	Min-Max	Média±DP	Min-Max	Média±DP				
СР	5,03-10,48	7,69-1,75	7,94-11,23	9,60-0,59	11,02-29,97	18,64-5,82	21,01-57,02	39,39-7,61				
CC	0,85-2,06	1,32-0,41	1,31-3,14	2,48-0,34	3,45-9,27	5,56-1,66	8,81-15,79	11,93-1,71				
CF	0,11-0,43	0,22-0,09	0,14-0,78	0,45-0,11	0,78-2,34	1,33-0,44	2,19-3,89	2,83-0,45				
DO	0,22-0,68	0,43-0,15	0,52-1,11	0,85-0,12	1,15-3,66	2,03-0,65	3,13-5,55	4,44-0,56				
AC	0,34-1,44	0,90-0,40	1,16-2,25	1,79-0,24	2,24-9,92	5,18-2,21	9,26-18,00	12,92-2,04				
ACO	0,35-1,11	0,77-0,25	0,82-1,88	1,39-0,18	2,24-14,82	7,24-3,83	15,86-33,93	21,18-4,83				
DPD	NV	NV	4,03-5,43	4,71-0,29	5,26-14,67	9,13-2,81	14,83-27,44	19,16-3,10				
DPA	NV	NV	5,66-7,29	6,27-0,32	7,41-20,72	12,40-4,05	21,27-40,59	27,64-4,58				
DPP	1,25-2,05	1,62-0,29	1,41-2,88	2,30-0,29	3,06-8,48	4,99-1,46	7,28-12,47	9,99-1,28				
DPV	NV	NV	NV	NV	5,68-15,16	9,40-2,97	15,48-28,40	20,53-3,38				
Proporções morfométricas (%)												
CF/CC	11,10-24,35	16,96-4,01	10,69-26,00	18,32-3,20	19,15-27,71	23,72-1,99	20,81-27,24	23,71-1,63				
DO/CC	26,23-39,34	32,31-4,13	29,69-41,32	34,42-2,42	32,45-44,26	36,54-2,28	35,15-40,93	37,32-1,59				
AC/CC	35,98-97,06	64,20-21,49	59,10-102,14	72,75-7,07	62,75-131,60	90,42-15,43	101,71-121,96	108,22-4,99				
ACO/CP	6,96-12,13	9,75-1,40	10,36-21,06	14,67-1,78	20,33-51,01	37,13-8,42	48,22-100,60	54,31-10,57				
CC/CP	14,10-20,40	16,90-2,02	16,49-30,32	26,07-2,70	22,96-33,62	30,10-2,08	26,68-62,55	31,04-7,00				
DPD/CP	NV	NV	0,00-62,63	42,43-16,83	46,82-5074	49,01-0,86	45,09-92,26	49,56-9,36				
DPA/CP	NV	NV	0,00-67,92	51,05-26,56	63,80-69,82	66,28-1,57	65,17-138,39	71,56-14,63				
DPP/CP	15,21-21,55	10,85-9,15	16,20-28,05	23,96-2,44	23,62-49,14	27,27-4,32	21,87-54,73	26,10-6,44				
DPV/CP	NV	NV	NV	NV	30,27-65,19	50,74-5,08	46,04-100,86	53,33-11,72				
			Ν	úmero de miôn	neros							
	Min-Max	Moda	Min-Max	Moda	Min-Max	Moda	Min-Max	Mode				
Pré-anal	20-22	21	19-22	21	NV	NV	NV	NV				
Pós-anal	15-17	16	14-17	17	NV	NV	NV	NV				
Total	37-39	37	35-39	38	NV	NV	NV	NV				
				Número de ra	ios							
	Min-Max	Moda	Min-Max	Moda	Min-Max	Moda	Min-Max	Moda				
Dorsal	NV	NV	NV	NV	i-ii,20-23	i,22	i-iii,19-23	ii,22				
Anal	NV	NV	NV	NV	i-ii,28-32	i,30	i-iii,28-32	ii,30				
Pélvica	NV	NV	NV	NV	i,8	8	i,7-9	8				
Peitoral	NV	NV	NV	NV	i,8-11	9	i,9-16	i,14				
Caudal	NV	NV	NV	NV	i-iiii,8-10	ii,9	ii-iiiii,8-10	iiii,9				

Tabela 5: Valores mínimos (Min), máximos (Max), comprimento médio (mm) e desvio padrão (DP) de variáveis morfométricas e merísticas obtidas de larvas e juvenis de *Prosomyleus rhomboidalis* (Cuvier, 1818).

CP: comprimento padrão; CC: comprimento da cabeça; CF: comprimento do focinho; DOL: diâmetro do olho; AC: profundidade da cabeça; ACO: profundidade do corpo; DPD: comprimento do focinho à nadadeira dorsal; DPA: comprimento do focinho à nadadeira anal; DPP: comprimento do focinho à nadadeira peitoral; DPV: comprimento do focinho à nadadeira pélvica; NV: estruturas não visíveis.

Análises de crescimento corporal

Ao longo do desenvolvimento dos espécimes de *P. rhomboidalis*, as variáveis morfométricas DPA, DPP e DPV apresentaram crescimento isométrico contínuo, representado por regressão linear simples, indicando taxa de crescimento constante em relação ao CP. Apenas o CC foi melhor representado pelo modelo quadrático, apresentando alometria negativa. O DOL, AC, e a DPD, ACO e CF apresentaram crescimento isométrico descontínuo sendo melhor representado pela regressão linear por partes (Tabela 2). O CF, CC e DOL apresentaram o ponto de quebra no limiar do período larval para juvenil. Enquanto para DPD e ACO o ponto de quebra foi observado no estágio de flexão.

			Prosomy	leus rhomboid	alis				
	R2				Test F		BM	BP	Ν
Measured	L Q S		Q/L	S/Q	S/L				
CC~CF	0,99	0,99	0,99	4,73	8,04	6,49	S	7,67	158
CC~DOL	0,99	0,99	1,00	8,54	36,48	23,49	S	11,42	158
CC~AC	0,99	0,99	0,99	22,08	50,54	39,84	S	3.24	158
CP~ACO	0,99	0,99	1,00	57,20	67,68	74,74	S	10,68	158
CP~CC	0,98	0,99	0,99	44,20	0,00	21,82	Q	-	158
CP~DPA	0,96	0,96	0,97	3,26	0,00	0,00	L	-	129
CP~DPD	0,96	0,96	0,96	3,26	23,32	13,57	S	9,14	132
CP~DPP	0,98	0,96	0,98	3,26	0,00	0,00	L	-	147
CP~DPV	0,99	0,99	0,99	3.48	2.71	3.15	L	-	58

Tabela 6: Estatísticas de regressão linear, quadrática e por partes para as variáveis morfométricas em relação ao comprimento da cabeça e comprimento padrão de larvas e juvenis de *Prosomyleus rhomboidalis* (Cuvier, 1818).

Nota: Valores em negrito apresentados p < 0,05. Abreviaturas: R2, coeficiente de determinação, L, regressão linear; Q, regressão quadrática, S, regressão por partes, BM, melhor modelo, BP, ponto de quebra, N, número de indivíduos analisados.



Figura 9: Relações morfométricas (mm) entre comprimento da cabeça e comprimento do focinho (a), profundidade da cabeça (b) e diâmetro do olho (c); e entre comprimento padrão e, profundidade do corpo (d), comprimento da cabeça (e), distância pré-anal (f), distância pré-dorsal (g), distância pré-peitoral (h), distância pré-pélvica (i) durante o desenvolvimento larval e juvenil de *Prosomyleus rhomboidalis* (Characiformes, Serrasalmidae).

DISCUSSÃO

Prosomyleus rhomboidalis apresenta características reprodutivas pouco conhecidas cientificamente, alguns indicativos como desova parcelada durante o período chuvoso (dezembro a março), baixa fecundidade, ovos de diâmetro médio com pequeno espaço perivitelino e longo período embrionário, são características observadas na espécie, esses atributos estão relacionadas aos padrões de comportamento reprodutivo das espécies e acompanham a filogenia (Rizzo & Godinho, 2003).

As larvas de *P. rhomboidalis* podem ser consideradas altriciais, pois apresentam-se pequenas, transparentes e pouco desenvolvidas à eclosão; boca ausente, ânus e brânquias não funcionais; olhos não pigmentados; saco vitelino relativamente grande, de acordo com Orsi et al. (2016), características também observadas em larvas de outras espécies de Serrasalmidae

como Colossoma macropomum (Albuquerque et al., 1995; Johnston & Vieira, 1996), *Piaractus mesopotamicus* (Paula, 2012), *Piaractus brachypomus* (Santos et al., 2022), e em outros Characiformes como *Characidium orientale* (Ticiani et al., 2022), *Astyanax lacustris* (Santos et al., 2020), *Brycon amazonicus* (Nakauth et al.,2016) e *Brycon gouldingi*(Faustino et al. 2011). Além disso, observou-se que as larvas recém nascidas permaneceram no fundo das incubadoras, com pouca natação vertical, o mesmo foi observado por Santos et al. (2020), o que pode ser justificado pela ausência de nadadeiras, peso e tamanho do saco vitelino e bexiga natatória não inflada (inativa).

O período de absorção do saco vitelino é vital para as larvas, pois, nessa fase, o sistema digestivo ainda se encontra em diferenciação. O período de absorção varia entre as larvas neotropicais de 6,09 mm CP, 6 dias de vida, em *P. mesopotamicus* (Paula, 2012), a 6,33 mm CP, 4 dias de vida em *P. brachypomus* (Santos et al., 2022). A absorção total do vitelo de *P. rhomboidalis* foi registrada com 10,82 mm CP, com 25 dias de vida.

A abertura e funcionamento da boca, a formação dos dentes e a funcionalidade do intestino e do ânus, junto com a pigmentação dos olhos e do corpo são eventos que podem ocorrer em fases distintas em espécies de Serrasalmidae simultaneamente a transição alimentar, descritas nas fases de pré-flexão para *P. brachypomus* (Santos et al., 2022) e *Myloplus asterias* (Oliveira et al., 2022), e outros Characiformes *Markiana nigripinnis* (Souza et al., 2023), *Triportheus albus* e *Triportheus angulatus* (Cajado et al., 2023). *P. rhomboidalis* não apresenta a fase de pré-flexão, esses eventos são observados durante a fase de flexão, isto está associado à necessidade de formação de estruturas sensoriais e locomotoras, que ocorrem simultaneamente na busca por alimentos exógenos.

O olho é um órgão sensorial que desempenha importante papel na detecção de presas e fuga de predadores em ambiente natural (Oliveira et al., 2012; Oliveira et al., 2022), no entanto, para espécies criadas em cativeiro a oferta de alimentação exógena é uma fase de adaptações crucial para o sucesso na aquicultura, uma vez que a alimentação nos primeiros dias de vida é um dos principais obstáculos na produção de alevinos bem nutridos, quando bem sucedida a introdução alimentar contribui evitando mortalidade, canibalismo e garante um crescimento satisfatório dos indivíduos (Senhorini et al., 1998; Faustino et al., 2015), desse modo, a alimentação exógena para larvas de *P. rhomboidalis* iniciaram-se a partir de 7 dias de vida.

A pigmentação é uma característica morfológica importante a ser observada durante a ontogenia inicial, por representar um caráter taxionômico bastante utilizado na identificação de espécies, visto que cada espécie apresenta um padrão distinto (Cajado et al., 2023; Oliveira et al., 2022). No entanto, a intensidade da pigmentação pode variar rapidamente em função do ambiente e da alimentação (Correia et al., 2010; Luo et al., 2021). *P. rhomboidalis* na fase de pós-flexão apresentam pigmentos que formam um padrão de manchas na parte dorsal do corpo que se distribuem até atingirem um padrão homogêneo nos juvenis e uma faixa preta é formada na extremidade na nadadeira dorsal, distinguindo de *P. brachypomus* (Santos et al., 2022), *Myloplus lobatus* e *M. asterias* (Oliveira et al., 2022). Contudo, o padrão de pigmentação são características genéticas das úteis na diferenciação taxonômica, principalmente de larvas de ambiente natural. Associado a isso, são utilizados caracteres merísticos para ajudar na diferenciação entre indivíduos que apresentam padrões de pigmentação similares, como por exemplo, a contagem do número de miômeros, que nada

mais é do que feixes musculares formados entre mioceptos (Cajado et al., 2021; Kimmel et al., 1995).

O número total ou parcial de miômeros pode auxiliar na identificação de larvas de peixes, inclusive na diagnose entre congêneres (Oliveira et al., 2022). *P. rhomboidalis* apresenta de 35 a 39 miômeros, distinguindo de *P. brachypomus* com 39 a 41 miômeros (Santos et al., 2022) e *M. lobatos* de 40 a 41 miômeros (Oliveira et al., 2022), *C. macropomum* variando de 39 a 41 miomeros (Nakatani et al., 2001), no entanto, espécies que apresentam sobreposição na contagem do número total de miômeros, como *Myloplus Arnoldi* (Andrade et al., 2016) e *M. asterias* com 37 a 39 (Oliveira et al., 2022), somente esse caractere não pode ser usado com eficiência para diferenciá-las.

A sequência de formação das nadadeiras encontrados para essa espécie segue o mesmo padrão encontrado para outras espécies de Characiformes: caudal, anal, dorsal, pélvica e peitoral (Silva et al., 2022; Oliveira et al., 2012; Cajado et al., 2023). A nadadeira adiposa aparece na fase de pós-flexão, mostra-se morfologicamente distintas a *M asterias*, *P. brachypomus* (Oliveira et al., Santos et al., 2022), essa estrutura funciona como lemes estabilizadores (Souza et al., 2023). O número de raios das nadadeiras no estágio final de pós-flexão e período juvenil corresponde aos apresentados pela espécie adulta, a variação de 19 a 23 (moda = 22) raios ramificados na dorsal, distingue de *Mylopulos nigrolineatus* (25-29), *M. asterias* (25) *M. rubripinnis* (24-26) *Myloplus tumukumak* (23-25) (Ota et al., 2020; Oliveira et al., 2022; Andrade et al., 2018; Jégu et al., 2004).

A variação corporal encontrada para P. rhomboidalis durante o desenvolvimento ontogenético de muito longo a muito alto, também é encontrado para outros indivíduos de Serrasalmidae (Oliveira et al., 2022; Santos et al., 2022), que apresentam corpo alto e comprimido lateralmente conferindo características hidrodinâmicas relacionada habilidades de natação e ao seu habitat (Andrade et al., 2019; Kolmann et al., 2021). O aumento no comprimento da cabeca e diâmetro do olho está associado a diversos fatores, como a expansão e desenvolvimento do cérebro, aparelho branquial, acompanhado de hábitos alimentares com a busca de alimento exógeno a partir da formação e ossificação da boca, prémaxilar, maxilar e dentário (Silva et al., 2022; Cajado et al., 2021), influenciando na variação do comprimento do focinho, o que justifica o modelo de crescimento alométrico para a variável comprimento da cabeça, indicando mudanças continua durante a ontogenia relacionadas as estruturas e hábitos alimentares. O crescimento da região do focinho até as nadadeiras anal, pélvica e peitoral ocorreram sem quebras, isso pode refletir uma melhora no desempenho na natação, possibilitando uma maior interação entre as espécies e o ambiente, consequentemente maximizando o chances de sobrevivência (Oliveira et al., 2012; Silva et al., 2022; Santos et al., 2022).

Os pontos de interrupção observados para as variáveis AC, CF, DO, ACO, DPD mostram mudanças abruptas na forma de crescimento com ponto de quebra no estágio de pós-flexão, aponta o aumento da taxa de crescimento da profundidade cefálica. As demais variáveis apresentam ponto de interrupção no limiar entre as fases de pós-flexão e juvenil, período de maior metamorfose da espécie, com remodelação da forma externa do corpo, e hábitos alimentares exógenos (Pagezy & Jégu, 2002; Silva et al., 2022; Santos et al., 2022; Oliveira et al., 2022). A diminuição da taxa do comprimento do focinho, diâmetro do olho, nadadeira dorsal e o aumento da altura corporal demonstram maior desenvolvimento da

musculatura corporal, por exemplo, formação completa das nadadeiras, mudança na forma do corpo e surgimento da quilha ventral (Cajado et al., 2023; Santos et al., 2020) Segundo Kovác^{*} et al. (1999) variáveis que apresentam crescimento abrupto, ou seja, com ponto de quebra, são consideradas significativas se associadas a algum evento morfológico, fisiológico e/ou de sobrevivência. Nesse caso, mudanças associadas ao desenvolvimento coordenado de suas funções sensoriais, locomotoras e morfologia externa do corpo auxiliam na percepção, identificação de presas e fuga de predadores em ambiente natural, e contribuem para a eficiência natatória (Cajado et al., 2021; Souza et al., 2023).

CONCLUSÃO

As larvas de *P. rhomboidalis* são altriciais logo após a eclosão, possuem grande quantidade de reserva vitelina, inicialmente desenvolvem os órgãos associados à alimentação (olhos, boca e aparelho digestivo) e locomoção (nadadeiras), não apresentando a fase de préflexão. O padrão de pigmentação juntamente a caracteres merísticos, número de miômeros e número de raios da nadadeira dorsal, apresentado pela espécie permite diferenciar indivíduos pertencentes a Serrasalmidae. As maiores modificações morfológicas foram encontradas no limiar entre os estágios de estágio de pós-flexão e juvenil, indicando que, possivelmente neste período, grandes mudanças no formato do corpo, desenvolvimento da musculatura e formação completa das nadadeiras estejam ocorrendo. Uma combinação de características, como posição do ânus, padrão de pigmentação, número de miômeros e raios das nadadeiras, formato da nadadeira adiposa, é útil quando usado de forma integrativa para diferenciar *P. rhomboidalis* de outros Serrasalmidae da bacia amazônica.

REFERÊNCIAS

- Ahlstrom, E. H., Butler, J. L., & Sumida, B. Y. (1976). Pelagic stromateoid fishes (Pisces, Perciformes) of the eastern Pacific: Kinds, distributions, and early life histories and observations on five of these from the Northwest Atlantic. *Bulletin of Marine Science*, 26(3), 285–402.
- ALBUQUERQUE, M. O.; BEZERRA E SILVA, J. W.; KÓVACS, G. Sobre o desenvolvimento do ovo e embrião do tambaqui, Colossoma macropomum Cuvier, 1818. Boletim Técnico DNOCS 47/52, 1/2:1-240, 79-100, 1995.
- Andrade, M.C., Fitzgerald, D.B., Winemiller, K.O., Barbosa, P.S., & Giarrizzo, T., (2019). Trophic niche segregation among herbivorous serrasalmids from rapids of the lower Xingu River, Brazilian Amazon. *Hydrobiologia* 829, 265–280. https://doi.org/10.1007/s10750-018-3838-y
- Andrade, M.C., Jégu, M., & Gama, C.S., (2018). A new species of Myloplus Gill (Characiformes, Serrasalmidae) from the Tumucumaque Mountain Range, Brazil and French Guiana, with comments on *M. rubripinnis*. Zootaxa 4403, 111–122. https://doi.org/10.11646/zootaxa.4403.1.6
- Cajado, R.A., Oliveira, L.S., Silva, F.K.S., & Zacardi, D.M., (2021). Early development of the Neotropical fish known as long sardine *Triportheus auritus* (Valenciennes 1850) (Characiformes, Triportheidae). J. Appl. Ichthyol. 37, 759–769. https://doi.org/10.1111/jai.14228
- Cajado, R.A., Silva, F.K.S., Oliveira, L.S., Santos, Z. dos, Bialetzki, A., & Zacardi, D.M., (2023). Early life history of two Neotropical Triportheidae fish (Characiformes). *Neotrop. Ichthyol.* 21, 1–23. https://doi.org/10.1590/1982-0224-2022-0102
- Choueri, R.B., Nascimento, & E.P. do, (2019). O papel do licenciamento ambiental federal como ferramenta para gerir conflitos relacionados à biodiversidade aquática e pesca: o caso da UHE Belo Monte. *Novos Cad. NAEA* 22, 143–163. https://doi.org/10.5801/ncn.v22i2.7234
- Coelho, G.C.Z., Arashiro, D.R., Disselli, T., Pereira-Santos, M., Mira-López, T.M., Monzani, P.S., Senhorini, J.A., Fujimoto, T., & Yasui, G.S., (2021). Developmental stages, incubation temperature, and in vivo traceability of primordial germ cell in an important aquaculture species *Piaractus mesopotamicus*. *Aquaculture* 535. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736381
- Correia, M.A., Maria, C., Raposo, R., Nascimento, L.S., & Júnior, A.M., (2010). Ontogenia Da Pigmentação Das Larvas De Três Espécies De Characiformes, Criadas Em Incubatório. *Enciclopédia Biosf.* 6, 1–14.
- Dagosta, F.C.P., Pinna, & M. De, (2019). The Fishes of the Amazon: Distribution and Biogeographical Patterns, with a Comprehensive List of Species. *Bull. Am. Museum Nat. Hist.* 431, 1–163. https://doi.org/10.1206/0003-0090.431.1.1
- Francesco, A., & Carneiro, C., (2015). Atlas do impatos da UHE Belo Monte sobre a pesca.
- Faustino, F., Makino, L.C., Neumann, E., & Nakaghi, L.S.O., (2015). Morphological and morphometric aspects of early life stages of piabanha *Brycon gouldingi* (Characidae). J. *Fish Biol.* 86, 1491–1506. https://doi.org/10.1111/jfb.12652

Froehlich, O., Cavallaro, M., Sabino, J., Súarez, Y.R., & Vilela, M.J.A., (2017). Checklist da

ictiofauna do estado de mato Grosso Do Sul, Brasil. *Iheringia - Ser. Zool.* 107, 1–14. https://doi.org/10.1590/1678-4766e2017151

- Ganeco-Kirschnik, L.N., Franceschini-Vicentini, I.B., Faria Paes, M.D.C., & Nakaghi, L.S.O., (2018). Embryonic development of teleost *Brycon orbignyanus*. *Zygote* 26, 294– 300. https://doi.org/10.1017/S0967199418000229
- Gilson, F., New, M.B., Rodrigues, L.A., & Valenti, W.C., (2023). Effect of fish downstream supply chain on wealth creation: the case of tambatinga in the Brazilian Midnorth. *Aquac. Int.* 31, 1401–1421. https://doi.org/10.1007/s10499-023-01056-0
- Jégu. M, & Hubert. N, B.-J., (2004). Gill , 1896 et validation du GenRe Myloplus Gill (chaRacidae : seRRasalMinae) par. *Genre* 28, 119–157.
- JOHNSTON, I. A. & VIEIRA, V. L. A. Larval development in the tambaqui (Colossoma macropomum) and the curimatã-pacú (Procchilodus marggravii). University of St. Andrews. p. 43-55. 1996
- Kimmel, C.B., Ballard, W.W., Kimmel, S.R., Ullmann, B., & Schilling, T.F., (1995). Stages of embryonic development of the zebrafish. *Dev. Dyn.* 203, 253–310. https://doi.org/10.1002/aja.1002030302
- Kolmann, M.A., Hughes, L.C., Hernandez, L.P., Arcila, D., Betancur-R, R., Sabaj, M.H., López-Fernández, H. & Ortí, G., (2021). Phylogenomics of Piranhas and Pacus (Serrasalmidae) Uncovers How Dietary Convergence and Parallelism Obfuscate Traditional Morphological Taxonomy. *Syst. Biol.* 70, 576–592. https://doi.org/10.1093/sysbio/syaa065
- Kováč, V., Copp, G. H., & Francis, M. P. (1999). Morphometry of the stone loach, Barbatula barbatula: Do mensural characters reflect the species'life history thresholds? Environmental Biology of Fishes, 56, 105–115. https://doi.org/10.1023/A:1007570716690
- Luo, M., Lu, G., Yin, H., Wang, L., Atuganile, M. & Dong, Z., (2021). Fish pigmentation and coloration: Molecular mechanisms and aquaculture perspectives. *Rev. Aquac.* 13, 2395– 2412. https://doi.org/10.1111/raq.12583
- Magalhães, S.B., Silva, Y.Y.P. da, & Vidal, C.D.L., (2016). Não há peixe para pescar neste verão: efeitos socioambientais durante a construção de grandes barragens o caso Belo Monte. *Desenvolv. e Meio Ambient.* 37. https://doi.org/10.5380/dma.v37i0.45595
- Nakatani, K., Agostinho, A. A., Bialetzki, A., Baumgartner, G., Sanches, P. V., Makrakis, M., & Pavanelli, C. S. (2001). Ovos e larvas de peixes de água doce: Desenvolvimento manual de identificação de ovos e larvas de peixes brasileiros de água doce (pp. 378). Maringá: EDUEM.
- Oliveira, F.G. de, Bialetzki, A., Gomes, L.C., Santin, M., & Taguti, T.L., (2012). Desenvolvimento larval de *Brycon hilarii* (Characiformes, Characidae). *Iheringia. Série Zool.* 102, 62–70. https://doi.org/10.1590/S0073-47212012000100009
- Oliveira, L.S. de, Cajado, R.A., Silva, F.K.S. da, Andrade, M.C., & Zacardi, D.M., (2022). Early development of two commercially valuable fish from the lower Amazon River, Brazil (Characiformes: Serrasalmidae). *Neotrop. Ichthyol.* 20. https://doi.org/10.1590/1982-0224-2021-0024
- Ota, R.P., Machado, V.N., Andrade, M.C., Collins, R.A., Farias, I.P., & Hrbek, T., (2020).

Integrative taxonomy reveals a new species of pacu (Characiformes: Serrasalmidae: Myloplus) from the Brazilian Amazon. *Neotrop. Ichthyol.* 18, 190112. https://doi.org/10.1590/1982-0224-20190112

- Pagezy, H., & Jégu, M. (2002). VALEUR PATRIMONIALE DE SERRASALMINAE HERBIVORES DU HAUT MARONI (GUYANE FRANÇAISE): APPROCHES BIOLOGIQUE ET SOCIOCULTURELLE EN PAYS WAYANA. Bulletin Français de La Pêche et de La Pisciculture, (364), 49–69.
- Paula, S. Characterization of larval development of pacu, *Piaractus mesopotami*cus (Holmberg, 1887): morphometric and isometric growth. 2012. 45 f. Dissertação (Mestrado em Conservação e Manejo de Recursos Naturais) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2012
- Portella, M.C., Jomori, R.K., Leitão, N.J., Menossi, O.C.C., Freitas, T.M., Kojima, J.T., Lopes, T.S., Clavijo-Ayala, J.A., & Carneiro, D.J., (2014). Larval development of indigenous South American freshwater fish species, with particular reference to pacu (*Piaractus mesopotamicus*): A review. *Aquaculture* 432, 402–417. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.04.032
- Rizzo, E., & Bazzoli, N., (2020). Reproduction and embryogenesis, in: Biology and Physiology of Freshwater Neotropical Fish. *Elsevier*, pp. 287–313. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815872-2.00013-0
- Rizzo, E., & Godinho, H. P. (2003). Superfície de ovos de peixes Characiformes e Siluriformes. In H. P. Godinho, & A. L. Godinho (Eds.), Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais, Belo Horizonte: CNPq/PADCT (pp. 112–130). Belo Horizonte: Ed. PUC Minas
- Santos, L.A., (2022). Larval Development of *Boulengerella cuvieri* (Characiformes: Ctenoluciidae) in the Middle Tapajós River, Eastern Amazon, Brazil. *Int. J. Zool. Anim. Biol.* 5, 1–6. https://doi.org/10.23880/izab-16000411
- Santos, J.A., Soares, C.M., & Bialetzki, A., (2020). Early ontogeny of yellowtail tetra fish Astyanax lacustris (Characiformes: Characidae). Aquac. Res. 51, 4030–4042. https://doi.org/10.1111/are.14746
- Santos, Z., Oliveira, L.S., Cajado, R.A., Silva, F.K.S., Silva, L.V.F., & Zacardi, D.M., (2022). Early ontogeny of the commercially valuable fish red-bellied pacu *Piaractus brachypomus* (Characiformes, Serrasalmidae) from the Amazon, Brazil. J. Fish Biol. 102, 214–224. https://doi.org/10.1111/jfb.15253
- Sawakuchi, A. O., Hartmann, G. A., Sawakuchi, H. O., Pupim, F. N., Bertassoli, D. J., Parra, M., Antinao, J. L., Sousa, L. M., Sabaj Pérez, M. H., Oliveira, P. E., Santos, R. A., Savian, J. F., Grohmann, C. H., Medeiros, V. B., McGlue, M. M., Bicudo, D. C., and Faustino, S. B.: The Volta Grande do Xingu: reconstruction of past environments and forecasting of future scenarios of a unique Amazonian fluvial landscape, Sci. Dril., 20, 21–32, https://doi.org/10.5194/sd-20-21-2015, 2015.
- Silva, F.K.S., Cajado, R.A., de Oliveira, L.S., dos Santos, Z., dos Santos, J.A., da Silva, L.V.F., Sousa, R.G.C., & Zacardi, D.M., (2022). Early development of *Prochilodus nigricans* Spix & Agassiz 1829 (Characiformes: Prochilodontidae) in captivity. *Aquac. Res.* 53, 4540–4555. https://doi.org/10.1111/are.15951
- Souza, M.B.V. de, Tondato-Carvalho, K.K., Gimênes Junior, H., & Bialetzki, A., (2023).

Early ontogeny of tetra *Markiana nigripinnis* (Characiformes: Characidae). *Neotrop*. *Ichthyol*. 21, 1–19. https://doi.org/10.1590/1982-0224-2022-0114

- Taguti, T.L., Kipper, D., Bialetzki, A., Sanches, P.V., Makrakis, M.C., Baumgartner, G., & Fernandes, R., (2009). Desenvolvimento inicial de *Pyrrhulina australis* Eigenmann & amp; Kennedy, 1903 (Characiformes, Lebiasinidae). *Biota Neotrop.* 9, 59–65. https://doi.org/10.1590/S1676-06032009000400006
- Valenti, W.C., Barros, H.P., Moraes-Valenti, P., Bueno, G.W., & Cavalli, R.O., (2021). Aquaculture in Brazil: past, present and future. *Aquac. Reports* 19, 100611. https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100611
- Valladão, G.M.R., Gallani, S.U., & Pilarski, F., (2018). South American fish for continental aquaculture. *Rev. Aquac.* 10, 351–369. https://doi.org/10.1111/raq.12164
- Yasui, G.S., Senhorini, J.A., Shimoda, E., Pereira-Santos, M., Nakaghi, L.S.O., Fujimoto, T., Arias-Rodriguez, L., & Silva, L.A., (2015). Improvement of gamete quality and its short-term storage: an approach for biotechnology in laboratory fish. *Animal* 9, 464–470. https://doi.org/10.1017/S1751731114002511
- Zacardi, D.M., Cristina, S., & Ponte, S., (2021). Seasonality determines patterns of composition and abundance of ichtyoplankton in Maiká lake, Eastern Amazon. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 16(1): 37-51

4 CONCLUSÃO GERAL

Através desse estudo, analisamos as características dos oócitos de *P. rhomboidalis*, e conclui-se que a espécie possui ovos grandes, com curto espaço perivitelino, de coloração amarelo e com densidade maior que a água, o que indica que a espécie possui algum tipo de cuidado parental. Além de possibilitar acompanhar o percentual de fertilização e eclosão em temperatura de incubação de 27,5 °C, obtendo um resultado acima de 96% de larvas normais, considerado satisfatório, bem como, acompanhar e descrever os principais eventos morfológicos e suas fases, a espécie possui desenvolvimento embrionário longo, característica distinta comparado as espécies da mesma família já conhecidas.

As larvas de *P. rhomboidalis* são altriciais logo após a eclosão, possuem grande quantidade de reserva vitelina, inicialmente desenvolvem os órgãos associados à alimentação (olhos, boca e aparelho digestivo) e locomoção (nadadeiras), não apresentando a fase de pré-flexão. O padrão de pigmentação juntamente a caracteres merísticos, número de miômeros e número de raios da nadadeira dorsal, apresentado pela espécie permite diferenciar indivíduos pertencentes a Serrasalmidae. As maiores modificações morfológicas foram encontradas no limiar entre os estágios de estágio de pós-flexão e juvenil, indicando que, possivelmente neste período, grandes mudanças no formato do corpo, desenvolvimento da musculatura e formação completa das nadadeiras estejam ocorrendo

As investigações levantadas no presente estudo são descritas pela primeira vez, sendo importante conhecimento para novas pesquisas principalmente na área de biotecnologia, além de ser uma ferramenta para estudos taxonômicos, ecológicos e conservacionistas desta espécie. A descrição detalhada de cada estágio do desenvolvimento, servirão como suporte para novos estudos em testes com diferentes temperaturas e desenvolvimento de técnicas de produção de quimeras germinativas em *P. rhomboidalis*, além disso, nossos dados podem ser aplicáveis em outros teleósteos, especialmente em espécies neotropicais da mesma família.