

ECOLOGIA E ONTOGENIA INICIAL DE OVOS E LARVAS DE PEIXES DO CURSO  
MÉDIO INFERIOR DO RIO PARAÍBA DO SUL E DOS SEUS TRIBUTÁRIOS

GUILHERME SOUZA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO-UENF  
CAMPOS DOS GOYTACAZES-RJ

DEZEMBRO DE 2015

ECOLOGIA E ONTOGENIA INICIAL DE OVOS E LARVAS DE PEIXES DO CURSO  
MÉDIO INFERIOR DO RIO PARAÍBA DO SUL E DOS SEUS TRIBUTÁRIOS

Tese apresentada ao Centro de Biociências e Biotecnologia, da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ecologia e Recursos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Leandro Rabello Monteiro

Co-orientação: Prof.<sup>a</sup> Dra. Erica Pellegrini Caramaschi

CAMPOS DOS GOYTACAZES-RJ

DEZEMBRO DE 2015

ECOLOGIA E ONTOGENIA INICIAL DE OVOS E LARVAS DE PEIXES DO CURSO  
MÉDIO INFERIOR DO RIO PARAÍBA DO SUL E DOS SEUS TRIBUTÁRIOS

Tese apresentada ao Centro de  
Biotecnologia e Biociências, da  
Universidade Estadual do Norte  
Fluminense Darcy Ribeiro, como parte  
das exigências para a obtenção do título  
de Doutor em Ecologia e Recursos  
Naturais.

Comissão examinadora:

---

Prof.<sup>a</sup> Andrea Bialetzki (Doutora em Ciências) - NUPÉLIA

---

Prof. Manuel Vazquez Vidal Junior (Doutor em Zootecnia) – UENF

---

Prof.<sup>a</sup>. Marina Satika Suzuki (Doutora em Biociências e Biotecnologia) – UENF

---

Prof. Leandro Rabello Monteiro (Doutor em Ciências Biológicas, Zoologia)- UENF.  
(Orientador)

## **Agradecimentos**

Às fontes de financiamento da pesquisa: CNPq (bolsa de doutorado); Sr. José Roberto Marinho e Associação dos Pescadores e Amigos do Rio Paraíba do Sul/Projeto Piabanha.

Ao Dr. Leandro Rabello Monteiro, pela orientação, apoio e amizade, que contribuíram significativamente para a minha formação profissional.

A Dr<sup>a</sup> Erica Pelegrini Caramaschi, pela co-orientação, carinho e apoio nas horas mais difíceis.

Aos Professores e as Professoras do CBB pelas informações repassadas durante suas aulas.

Aos membros do meu conselho acadêmico: Prof. Dalcio Ricardo de Andrade e Prof<sup>a</sup> Marina Satika Suzuki pelas críticas e sugestões durante essa fase acadêmica.

Aos membros da banca de examinação: Profa<sup>a</sup>. Andréa Bialezki, Prof. Manuel Vazquez Vidal Jr. e Prof<sup>a</sup>. Marina Satika Suzuki.

Aos amigos do Projeto Piabanha: Felipe Daudt, Thiago Berriel, Natália Soares, Evódio Peçanha, Marcela Mafort, Marcelo Machado, Marcelo Piabanha, Osvaldo Soares, Andreza, José Roberto Marinho e Josemar, que nunca deixaram de acreditar e apoiar essa linha de pesquisa.

A Empresa de Pesquisas Agropecuárias do Estado do Rio de Janeiro – PESAGRO por ceder espaço físico para o desenvolvimento dessa iniciativa científica.

A Catia Medeiros Souza pelo apoio, amizade e carinho durante essa árdua trajetória acadêmica. Sem você tal conquista seria impossível!

Ao meu filho Pablo e filhas Mariana e Camila pelos abraços e beijos de apoio.

A minha querida mãe Déa e pai Divaldo pelo apoio incondicional.

Ao casal, Vera e Wanderley Medeiros, que estiveram presente em grande parte dessa jornada acadêmica.

Ao meu Mestre e “paizão” Dalcio Ricardo de Andrade por fazer esse sonho se tornar realidade.

Aos amigos Carlos Veiga, Edézio, Salomão, Novelli e Flávio pelos momentos de aconselhamentos e descontração dentro e fora do Campus Universitário.

A Cristiane Melo pelo carinho nessa etapa final da conclusão da pós-graduação.

Aos amigos do Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais – CEPTA pela amizade e troca de informações.

A Michelle pelo apoio e carinho.

A Vivi pela ajuda na elaboração do mapa.

## SUMÁRIO

### CAPÍTULO 1

1.0 Introdução Geral.....	01
1.1 Migração reprodutiva e ictioplâncton.....	01
1.2 Desenvolvimento Inicial.....	04
1.2.1 Clivagem inicial.....	06
1.2.2 Embrião inicial.....	07
1.2.3 Embrião de cauda livre.....	08
1.2.4 Embrião final.....	08
1.2.5 Larval vitelino.....	08
1.2.6 Pré-flexão.....	10
1.2.7 Flexão.....	10
1.2.8 Pós-flexão.....	11
1.2.9 Juvenil.....	12
1.3 Morfometria.....	13

### CAPÍTULO 2

2.0 Relações entre fatores ambientais e a distribuição de ovos e larvas de peixes do Curso Médio Inferior Rio Paraíba do sul e seus tributários.....	15
2.1 Resumo.....	16
2.2 Abstract.....	17
2.3 Introdução.....	18
2.4 Metodologia.....	19
2.5 Resultados.....	23
2.6 Discussão.....	30
Agradecimentos.....	32
Suporte financeiro.....	33

## CAPÍTULO 3

3.0 Early development and allometric growth patterns of the grumatã ( <i>Prochilodus vimbooides</i> KNER, 1859).....	33
3.1 Resumo.....	35
3.2 Abstract.....	35
3.3 Introduction.....	36
3.4 Material and methods.....	36
3.5 Results.....	39
3.5.1 Early cleavage.....	42
3.5.2 Early embryo.....	44
3.5.3 Free-tailed embryo.....	44
3.5.4 Final embryo.....	44
3.5.5 Larval development.....	45
3.5.6 Yolk-sac larva.....	46
3.5.7 Pre-flexion.....	47
3.5.8 Flexion.....	47
3.5.9 Post-flexion.....	47
3.6 Growth and allometry.....	49
3.7 Discussion.....	52
Acknowledgements.....	55
Financial support.....	55

## CAPÍTULO 4

4.0 Morfometria e alometria de larvas de cinco espécies de peixes Characiformes com ocorrência no Curso Médio Inferior Rio Paraíba do Sul.....	56
4.1 Resumo.....	57
4.2 Abstract.....	58
4.3 Introdução.....	59
4.4 Metodologia.....	60
4.5 Resultados.....	63
4.5.1 Padrões de alometria.....	65

4.5.1.1 Fase pré-flexão.....	65
4.5.1.2 Fases de flexão e pós-flexão.....	67
4.5.2 Morfometria e análise discriminante linear.....	68
4.5.2.1 Fase pré-flexão.....	68
4.5.2.2 Fases flexão e pós-flexão.....	71
4.6 Discussão.....	74
Agradecimentos.....	77
Suporte financeiro.....	77
5.0 Conclusão geral.....	77
6.0 Referências bibliográficas.....	78



## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo 1

Figura 1: Localidades de coleta de ovos e larvas de peixes em quatro supostas rotas migratórias da região do Domínio das Ilhas Fluviais e seu entorno.....	19
Figura 2 a: Séries temporais das variáveis ambientais e abundância de ovos e larvas amostrados no rio Paraíba do Sul, em Itaocara/RJ, durante o período de setembro de 2011 a março de 2012.....	25
Figura 2 b: Séries temporais das variáveis ambientais e abundância de ovos e larvas amostrados no rio Pomba.....	25
Figura 2 c: Séries temporais das variáveis ambientais e abundância de ovos e larvas amostrados no rio Negro.....	26
Figura 2 d: Séries temporais das variáveis ambientais e abundância de ovos e larvas amostrados no ribeirão das Areias, em Itaocara/RJ.....	26
Figura 3: Biplot da análise de componentes principais dentro dos grupos, mostrando escores de unidades amostrais com respectivas datas de amostragem e vetores das variáveis ambientais para o primeiro e terceiro componente.....	27
Figura 4: Biplot da análise de componentes principais dentro dos grupos, mostrando escores de unidades amostrais com respectivas datas de amostragem e vetores das variáveis ambientais para o primeiro e terceiro componente.....	28

### Capítulo 3

Figure 1: Early developmental stages of <i>Prochilodus vimboides</i> .....	43
Figure 2: Early developmental stages of <i>Prochilodus vimboides</i> .....	44
Figure 3: Early developmental stages of <i>Prochilodus vimboides</i> .....	48
Figure 4: Growth curves for the different developmental stages, indicating the models with the best fit.....	49
Figure 5: Allometric regression lines between log-transformed variables (A) head height, (B) head length, (C) eye diameter, (D) rostrum length, (E) body height and (D) snout-dorsal fin distance relative to standard length of <i>Prochilodus vimboides</i> during the	

yolk-sac larva stage (to the left of the vertical dotted line) and pre-flexion, flexion and post-flexion stages (peri-flexion).....	51
---	----

#### Capítulo 4

Figura 1: Variáveis biométricas utilizadas. Larva de <i>Salminus brasiliensis</i> , fase pós-flexão.....	62
Figura 2: Desenvolvimento inicial, estágio pré-flexão, de <i>Brycon insignis</i> .....	67
Figura 3: Desenvolvimento inicial, estágio flexão e pré-flexão <i>Leporinus steindachneri</i> , <i>Prochilodus lineatus</i> , <i>Prochilodus vimboides</i> , <i>Salminus brasiliensis</i> e <i>Brycon insignis</i> .....	69
Figura 4: Ordenação dos escores para os dois eixos discriminantes da fase de pré-flexão.....	70
Figura 5: Ordenação dos escores para os dois primeiros eixos discriminantes das fases de flexão e pré-flexão.....	72
Figura 6: Ordenação dos escores para os eixos discriminantes 1 e 3 das fases de flexão e pós-flexão.....	73

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo 1

Tabela 1: Localizações geográficas e descrições físicas das quatro Estações de coletas na Bacia do Rio Paraíba do Sul.....	20
Tabela 2: Distância dos empreendimentos hidrelétricos até as estações de coletas.....	20
Tabela 3: Distribuições das frequências, dos intervalos e dos horários das coletas dos ovos e larvas ao longo dos meses amostrados.....	21
Tabela 4: Valores médios e desvio padrão ( $x \pm sd$ ) dos fatores ambientais de cada localidade, ao longo dos meses de coletas de ovos e larvas.....	24
Tabela 5: Ajuste do modelo linear generalizado (com distribuição Binomial Negativa) para a função: Ovos~CP1+CP2+CP3+Periodo+Profundidade+Margem+Rio+offset(Fluxo).....	29
Tabela 6. Ajuste do modelo linear generalizado (com distribuição Binomial Negativa) para a função: Larvas ~ P1+CP2+CP3+Periodo+Profundidade+Margem+Rio+offset (Fluxo).....	30

### Capítulo3

Table 1: Environmental variables measured throughout the incubation of <i>Prochilodus vimboides</i> the eggs and larvae.....	41
Table 2: Description of morphological events occurring after the fertilisation of <i>Prochilodusvimboides</i> eggs, according to developmental stages.....	42
Table 3: Description of the main ontogenetic events in <i>Prochilodus vimboides</i> larvae.....	45
Table 4: Mean ( $x$ ), standard deviation ( $sd$ ) and range of variation (range) of the morphometric and meristic variables obtained from <i>Prochilodus vimboides</i> larvae.....	46
Table 5: Allometric coefficients (regression on standard length) for the different larval growth stages of <i>Prochilodus vimboides</i> .....	50

Table 6: Body proportions (%), means (x), standard deviations (sd) and range of variation (range) of the morphometric and meristic variables obtained from <i>Prochilodus vimboides</i> larvae.....	52
---	----

#### Capítulo 4

Tabela 1: Número de dias de desenvolvimento (DD), horas após a eclosão (HAE), horas-grau (HG) dos desenvolvimentos das fases larvais de <i>Salminus brasiliensis</i> , <i>Brycon insignis</i> , <i>Leporinus steindachneri</i> , <i>Prochilodus vimboides</i> e <i>Prochilodus lineatus</i> .....	64
Tabela 2: Médias (x) e desvios padrão (dp) em milímetros, das variáveis morfométricas obtidas a partir das mensurações das larvas de <i>Salminus brasiliensis</i> , <i>Brycon insignis</i> , <i>Leporinus steindachneri</i> , <i>Prochilodus vimboides</i> e <i>Prochilodus lineatus</i> .....	65
Tabela 3: Coeficientes alométricos para os estágios de pré-flexão.....	66
Tabela 4: Relações corporais (%), das variáveis morfométricas de <i>Salminus brasiliensis</i> , <i>Brycon insignis</i> , <i>Leporinus steindachneri</i> , <i>Prochilodus vimboides</i> e <i>Prochilodus lineatus</i> .....	66
Tabela 5: Coeficientes alométricos para os estágios de flexão e pós-flexão.....	68
Tabela 6: Coeficientes da função discriminante para a fase de pré-flexão de <i>B. insignis</i> , <i>L. steindachneri</i> , <i>S. brasiliensis</i> .....	69
Tabela 7: Matriz de classificação da análise discriminante linear com validação cruzada (procedimento com Jackknife, deixando um indivíduo fora da análise de cada vez) com dados referentes o estágio de pré-flexão.....	71
Tabela 8: Coeficientes da função discriminante para os estágios de flexão e pós-flexão de <i>B. insignis</i> , <i>L. steindachneri</i> , <i>S. brasiliensis</i> , <i>P. vimboides</i> e <i>P. lineatus</i> .....	71
Tabela 9: Matriz de classificação da análise discriminante linear com validação cruzada (Procedimento com Jackknife, deixando um indivíduo fora da análise de cada vez).....	73

## Resumo

Ecologia e ontogenia inicial de ovos e larvas de peixes do curso Médio Inferior do rio Paraíba do Sul e dos seus tributários

O conhecimento sobre o desenvolvimento dos ovos e das larvas de peixes neotropicais ainda são escassos face ao elevado número de espécies existentes. A mesma escassez de informações também ocorre na linha de pesquisa voltada para a ecologia de ictioplâncton dificultando assim, um maior entendimento sobre as interações dos fatores ambientais com a abundância dos ovos e das larvas de peixes de água doce. Nesse sentido, a presente tese, abordou temas voltados para a correlação espaço temporal do ictioplâncton aos fatores ambientais em quatro rotas migratórias na bacia hidrográfica do rio Paraíba do Sul; Desenvolvimento inicial dos ovos e das larvas de *Prochilodus vimboides* Kner, 1859 seguido das descrições alométricas das larvas; e por fim, morfometria e alometria de larvas de cinco espécies de peixes Characiformes da Bacia Hidrográfica do Rio Paraíba do Sul, com ocorrência no Curso Médio Inferior do Rio Paraíba do Sul. Como resultados encontrados sugere-se que o aumento da vazão seja a variável preponderante para culminar o processo reprodutivo, ao menos para os rios estudados, uma vez que os valores das demais variáveis ambientais em grande parte foram em consequência do aumento da vazão. No que diz respeito ao número de indivíduos coletados, o rio Pomba foi que apresentou maior abundância, seguido pelos rios Paraíba do Sul, Negro e Areias. Baseado no tempo de desenvolvimento inicial de *Prochilodus vimboides* Kner, 1859, compreendido entre o período da fecundação até o estágio de juvenil, evidencia, como em muitas outras espécies potamódromas, que esse tempo é rápido, e ao longo do mesmo ocorrem fases distintas de desenvolvimento alométrico. Quando comparado o desenvolvimento morfométrico dessa espécie com os de *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816), *Leporinus steindachneri*, Eigenmann, 1907, *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1837) piabanha *Brycon insignis*, Steindachner, 1877, tornou-se possível agrupá-las por tempo de desenvolvimento e por morfotipo. De acordo com a classificação por validação cruzada da análise discriminante, baseado nas sete variáveis morfométricas analisadas, foi possível classificar *B. insignis* em 90%, *L. steindachneri* 83%, *P. lineatus* com 91%, *P. vimboides* com 80% e *S. brasiliensis* em 96% de exatidão.

Palavras-chave: ictioplâncton, desenvolvimento inicial, variáveis morfométricas, alométricas e rio Paraíba do Sul.

## Abstract

Ecology and early ontogeny of eggs and Lower East Course fish larvae Paraiba do Sul River and its tributaries.

Knowledge about the development of eggs and larvae of neotropical fish are still scarce given the large number of species. The same lack of information also occurs in the line of research focused on the ecology ichthyoplankton difficult thus a better understanding of the interactions of environmental factors with plenty of eggs and freshwater fish larvae. In this sense, this thesis addressed issues facing the timeline correlation ichthyoplankton to environmental factors in four migratory routes in the basin of the Paraiba do Sul River; Early development of eggs and larvae of *Prochilodus vimboides* Kner, 1859 followed by allometric descriptions of the larvae; and finally, morphometry and allometry larvae of five species of fish Characiforms Basin of the Paraiba do Sul River, occurring in the Middle Lower Course of the Paraiba do Sul River. As found results it is suggested that increasing the flow rate is variable leading to culminate the reproductive process, at least for the studied rivers, since the values of other environmental variables were largely a result of increased flow. With regard to the number of individuals, the river Dove was with the highest abundance, followed by Paraiba do Sul River, and Black Sands. Based on the initial development time of *Prochilodus vimboides* Kner, 1859, between the period of fertilization to the juvenile stage, shows, as in many other species migrating potamodromous, that time is fast, and along the same place different stages of development allometric. Compared the morphometric development of this species with the *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816), *Leporinus steindachneri*, Eigenmann, 1907 *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1837) piabanha *Brycon insignis*, Steindachner, 1877, made it possible to group them by development time and by morphotype. According to the classification by cross-validation of discriminant analysis, based on morphometric analyzed seven variables, it was possible to classify B. insignis 90%, 83% steindachneri L., P. lineatus 91%, 80% vimboides P and S .brasiliensis in 96% accuracy.

Keywords: Ichthyoplankton, early development, morphometric variables, Allometric and Paraiba do Sul River

## **Introdução Geral**

O Brasil ocupa o primeiro lugar no mundo em número de espécies de peixes de água doce (McAllister *et al.* 1997). No entanto, segundo a Lista Nacional de Espécies Ameaçadas de Extinção, do Ministério de Meio Ambiente, Instrução Normativa 52/2005, Portaria 445/2014, de um total aproximado de 3.200 espécies de peixes de água doce, 311 espécies estão ameaçadas no território Nacional. Os motivos dizem respeito ao aumento da poluição, ao desmatamento, aos barramentos hidrelétricos dentre outros impactos que de forma conjunta promovem a perda de habitat para as espécies e por sua vez, a ameaça de extinção (Agostinho *et al.*, 2003).

Dentro desse contexto ecológico, o estudo do ictioplâncton tem-se mostrado como uma ferramenta de grande importância por fornecer informações tanto para a ictiologia como para o inventário ambiental, monitoramento de estoques e manejo da pesca (Nappi, 2008). No entanto, a grande semelhança morfológica entre espécies congêneres nas fases iniciais da vida (Snyder, 1981), a falta de chaves taxonômicas (Bialecki *et al.*, 1998) dificultam o processo de entendimento. A escassez de informações sobre dados alométricos e morfométricos das larvas e juvenis também acabam por deixarem lacunas de conhecimentos em ecologia de ictioplâncton, uma vez que as mudanças alométricas e morfométricas estão em consonância com as necessidades de sobrevivência no ambiente natural (Sala *et al.* 2005; Devlin *et al.* 2012).

Diante dessas lacunas de conhecimento, almeja-se com os resultados que serão apresentados nos capítulos seguintes, contribuir para o maior entendimento sobre a dinâmica do ictioplâncton em águas continentais, e acima de tudo, de forma regional, contribuir no processo de conservação de uma das áreas mais ricas em biodiversidade aquática da bacia hidrográfica do rio Paraíba do Sul, o Domínio das Ilhas Fluviais.

### **1.1 Migração reprodutiva e ictioplâncton**

As estratégias reprodutivas variam entre as espécies e as bacias hidrográficas. Contudo, é verificado um padrão de migração nos seguintes termos: subida do rio (rumo às áreas de reprodução); descida do rio (rumo às áreas de alimentação); e movimentos laterais (rumo às regiões inundadas durante o período da inundação) seguido da deriva de ovos e larvas em direção as áreas de planície inundada (Carosfeld, 2003). Padrões semelhantes foram observados em outros continentes, como na Ásia (rio Mekong) (Warren, 2000), na Europa (rios da península Ibérica) (Rodríguez-Ruiz & Granado-Lorencio, 1992) e na

Oceania (Austrália, rio Murray) (Mallen-Cooper *et al.*, 2003). No rio Murray foi observada uma particularidade devido às características semiáridas regionais; quando o rio seca rapidamente e parte da população migrante acaba não voltando para jusante, presa em poços, e predada (Mallen-Cooper *et al.*, 2003). No continente africano, apesar de ocorrerem espécies potamódromas, poucos são os estudos sobre migração reprodutiva (Baran, 2006) e alimentar. Na América do Sul as espécies migratórias de longa distância como a curimba (*Prochilodus lineatus*), o dourado (*Salminus brasiliensis*), o dourado-cachorro (*Rhaphiodon vulpinus*), o bico-de-pato (*Sorubim lima*) e o pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*), geralmente desovam no canal principal, a montante dos criadouros, quando os ovos e larvas derivam e atingem as áreas berçários, onde completam os seus desenvolvimentos em áreas ricas em alimento (Lowe-McConnell, 1999; Agostinho & Zalewski, 1995; Agostinho *et al.*, 1997; Nakatani *et al.*, 1997; Cunico *et al.*, 2002; Agostinho *et al.*, 2003; Nakatani *et al.*, 2004; Makrakis *et al.*, 2012), em seguida retornam para as áreas de alimentação.

Em ambas as migrações, migração ascendente e descendente, os destinos são locais peculiares. Um deles, a montante, desempenha um importante papel para o sucesso reprodutivo porque promove o encontro e uma alta concentração de indivíduos de ambos os sexos em uma área apropriada para a fertilização dos ovos. O outro, a jusante, dispersa os indivíduos no momento pós-desova, para fins de alimentação; e mais abaixo, uma região propícia ao desenvolvimento das formas larvais. Portanto, a migração dos peixes está vinculada à adequação do ambiente para as desovas coletivas e lançamentos simultâneos de um enorme número de gametas, melhorando assim a fecundação e as chances de sobrevivência dos ovos e das larvas (Agostinho *et al.*, 2003). Dentro desse contexto, o comportamento de migração reprodutiva está intimamente relacionado ao processo reprodutivo. De forma progressiva os estímulos ambientais são captados pelos peixes migradores através de seus órgãos sensoriais (Venturieri & Bernadino, 1999) de forma a estimularem a maturação gonadal e a liberação de hormônios esteroides das gônadas (Baldisserotto, 2002) que por sua vez, estimularão a liberação dos produtos sexuais na água ocorrendo a fecundação no meio líquido. Todo esse processo de fisiologia reprodutiva de peixes tropicais está intimamente correlacionado aos fatores físico-químicos da água, onde o aumento progressivo da vazão, da turbidez, da temperatura e do fotoperíodo influenciam o desenvolvimento gonadal dos peixes migradores sulamericanos (Godoy 1975; Barbieri *et al.* 2000; Vazzoler *et al.* 1997), indicando que um único fator não atua isoladamente no processo reprodutivo (Barbieri *et al.*, 2000). Essa relação é intrínseca a ponto de influenciar a distribuição da ictiofauna (Junk *et al.*, 1983; Savino *et al.*, 1989) e a composição do



ictioplâncton (Baumgartner, 2001; Nakatani *et al.* 2001; Nascimento *et al.*, 2006; e Baumgartner *et al.*, 2008).

Outro fator importante no processo reprodutivo das espécies migradoras é a efetividade das rotas migratórias. Essas podem ser longas ou curtas tornando-se um fator limitante no processo de migração e que variará de espécie para espécie. Muitas espécies de peixes sul-americanos migram mais do que 1.000 km, com deslocamentos de 16 km por dia (Welcomme, 1985). Espécies migradoras geralmente desovam no canal principal do rio ou dos tributários, liberando ovos pelágicos. Durante a deriva, ovos e larvas são carregados em direção às áreas inundadas, onde iniciam seu desenvolvimento em áreas ricas em alimento natural (Nakatani *et al.*, 1997). Esse padrão é coerente com o princípio da continuidade fluvial (Vannote *et al.*, 1980), pelo qual a região de cabeceira exporta nutrientes em direção à foz do rio, o que incrementa a produção primária e, conseqüentemente, a disponibilidade de plâncton para as larvas de peixes. O sincronismo entre o período reprodutivo e as cheias assegura quali-quantitativamente a máxima disponibilidade de alimento às fases iniciais de desenvolvimento, propiciando um rápido crescimento às larvas (Welcomme, 1979).

No Brasil, os estudos com ictioplâncton têm contemplado, em sua maioria, a bacia amazônica (Araújo-Lima *et al.*, 2001, Leite *et al.*, 2006), a bacia do rio Uruguai (Hermes-Silva, 2003; Nappi, 2008; Figueiredo, 2009) e a bacia do rio Paraná (Nakatani *et al.*, 1997, Bialecki *et al.*, 1999, Galuch *et al.*, 2003; Nascimento *et al.*, 2006; Baumgartner *et al.*, 2008; Daga *et al.* 2009, González *et al.* 2010, Kipper *et al.* 2011). Para a bacia hidrográfica do rio Paraíba do Sul, poucas publicações abordam o tema. Dentre os poucos estudos existentes merece destaque o de Teixeira (2013), o qual estudou a variação espacial e temporal na abundância e composição do ictioplâncton em seção transversal do trecho inferior do rio Paraíba do Sul. Essa escassez de informações acaba por dificultar o entendimento de regiões para a conservação da ictiofauna, como exemplo o Domínio das Ilhas Fluviais (DIF) (PAN Paraíba do Sul, 2010). O DIF corresponde ao trecho Médio Inferior do rio Paraíba do Sul, no estado do Rio de Janeiro, considerado como região de grande importância para a ictiofauna por abrigar grande diversidade de espécies (Bizerril, 1998).

Com o intuito de elucidar a importância do DIF para a conservação das espécies de peixes migradoras, o segundo capítulo dessa tese teve como objetivo associar a abundância de ovos e larvas a fatores ambientais em modelos preditivos dos eventos reprodutivos em quatro rotas migratórias do DIF e seu entorno. Para tanto, foram utilizados dois questionamentos: a) Os diferentes fatores abióticos mensurados influenciam da mesma

forma o processo de reprodução dos peixes durante o período de reprodução? b) O DIF e os tributários localizados em seu entorno são sítios de desova ou berçários durante o período de reprodução?

## 1.2 Desenvolvimento Inicial

Apesar da grande riqueza de espécies que ocorrem no Brasil, poucas foram as espécies que tiveram seus desenvolvimentos iniciais descritos. Como exemplos, Maciel-Jr (1996) descreveu a ontogenia de *Prochilodus marggravii*; Nakatani *et al.*, (1998) *Hypophthalmus edentatus*; Bialetzki *et al.*, (2001), *Auchenipterus osteomystax*; Romagosa *et al.*, (2001), *Brycon cephalus*; Santos *et al.*, (2002), *Salminus brasiliensis*; Borçato *et al.* (2004), *Leporinus piau*; Reynalte-Tataje *et al.*,(2004), *Brycon orbignyanus*; Souza (2004), *Brycon insignis*; Amorim *et al.*, (2009), *Rhamdia quelen*; Botta *et al.*, (2010), *Prochilodus lineatus*; Gomes *et al.*,(2011), *Brycon orthotaenia*; Honji *et al.*, (2012), *Steindachneridion parahybae*. Como no estudo de ictioplâncton, essas poucas informações também acabam por dificultar o entendimento da ecologia das espécies durante os seus desenvolvimentos iniciais.

O desenvolvimento inicial dos peixes se caracteriza por uma série de importantes mudanças na estrutura, funções fisiológicas e de hábitos e comportamentos pelos quais passam embriões, larvas e juvenis durante o seu desenvolvimento (Balon, 1981; Noakes & Godin, 1988) até a maturidade reprodutiva (Graciano, 1997). Esse processo é dinâmico (Kelso & Rutherford, 1996), com as mudanças no estado ontogênico coincidindo frequentemente com as mudanças na alimentação, no microhabitats, no comportamento e no desempenho (Maciel, 2006), ou seja, uma série de etapas susceptíveis a fatores externos (Bialetzki *et al.*,1998).

O processo inicia-se com a fecundação do óvulo pelo espermatozoide, via micrópila. Após a fertilização, o ovo absorve água e ocorre a formação do espaço perivitelínico, com a separação do córion da membrana vitelina (Woynarovich & Horváth, 1983).

Durante o período embrionário ocorre um conjunto de mudanças que incluem a rápida proliferação de células, a diferenciação de novos tecidos, e a reorganização ou perda dos já existentes (Fuiman, 2002). Esse desenvolvimento ocorre através da utilização da energia oriunda das reservas de vitelo, uma vez que os ovos dos peixes são telolécitos, com um elevado suprimento de vitelo, do qual o embrião nutrir-se-á durante a embriogênese, e ainda manterá a larva, durante um tempo, após a eclosão (Nakatani *et al.*, 2001). No entanto, o tempo do período embrionário varia entre os grupos taxonômicos, uma vez que os modos reprodutivos são diversificados, de forma que a ontogenia inicial possa durar alguns dias a

meses dependendo da espécie e da temperatura (Nakatani, 2001). Ovos de determinadas espécies eclodem em um estado bem desenvolvido, especialmente quando abrange a ovoviviparidade, viviparidade ou ainda, quando outro tipo de cuidado parental estiver envolvido, ou quando o período de incubação for longo; no entanto, outros eclodem num estado muito inicial do desenvolvimento (Maciel, 2006).

Próximo ao final do período de desenvolvimento inicial ocorre a diferenciação progressiva dos caracteres adultos, tais como raios das nadadeiras e ossificação do esqueleto; o sangue torna-se pigmentado; as escamas e o pigmento aparecem na superfície do corpo; os caracteres merísticos como raios das nadadeiras, são completados e a forma do corpo torna-se igual à do adulto (Nakatani, 2001), quando o indivíduo passa a ser considerado juvenil (Blaxter, c1988). No entanto, a duração do período embrionário e o padrão de desenvolvimento inicial variam consideravelmente entre as diferentes espécies de peixes (Balon, 1981) sendo a temperatura da água o fator ambiental que mais influencia esse desenvolvimento (Chambers & Leggett, 1987; Souza, 2004).

Entre as espécies existe um “conforto térmico” a ponto da temperatura da água influenciar positivamente ou negativamente o processo de desenvolvimento inicial. Como exemplo, durante a embriogênese da *Lota lota* temperaturas  $\leq 2^{\circ}\text{C}$  são favoráveis à embriogênese, enquanto temperaturas mais altas causam distúrbios no desenvolvimento e até diminui a taxa de eclosão (Lahnsteiner *et al.*, 2012). Rana (1990) e Polo *et al.*, 1991, citados por Maciel Júnior (1996), observaram que, em espécies de clima tropical, a elevação da temperatura antecipa a eclosão. Blaxter (1969), Naesje & Jonson (1988) citados pelo mesmo autor, acrescentaram que temperaturas elevadas podem acelerar o metabolismo e intensificar os movimentos da larva e que, associados ao aumento da atividade das enzimas de eclosão, facilitam o rompimento do córion. Já na embriogênese de *Salmo trutta*, o período de incubação diminui com o aumento da temperatura (Ojanguren & Brand, 2003). Nesse sentido, o estágio larval pode durar de alguns dias a meses, dependendo da temperatura e também da espécie. Como forma de mensurar o tempo do desenvolvimento embrionário correlacionado com a temperatura da água, muitos pesquisadores tem utilizado a métrica hora-grau que é o somatório dos valores de temperatura da água, a intervalos de uma hora, durante o processo de incubação (Borçato *et al.*, 2004; Souza, 2004; Reynalte-Tataje *et al.*, 2004).

A padronização da terminologia é importante para a compreensão da literatura e para a descrição comparativa dos estágios de desenvolvimento (Maciel, 1997). No entanto, devido à diversidade de espécies torna-se difícil padronizar uma nomenclatura que atenda a

ampla variação existente durante o processo de ontogenia dos peixes. Alguns autores são favoráveis a que se atribua um maior número de estágios, outros preferem poucos; alguns sugerem uma terminologia baseada apenas no tamanho, outros ressaltam considerações ecológicas (Blaxter, c1988). A grande maioria dos pesquisadores que estudam espécies de peixes neotropicais tem seguido as fases de desenvolvimento embrionário e larval preconizado por Ahlstrom e Ball (1954); Kendal, Ahlstrom e Moser (c1984), modificado por Nakatani *et al.*, 2001, como: clivagem inicial (estágio em que ocorre a formação das primeiras células); embrião inicial (estágio em que ocorre a diferenciação do embrião); cauda livre (estágio em que a cauda se desprende do vitelo); embrião final (estágio em que o embrião se encontra completamente formado e pronto para a eclosão).

Após a eclosão, e segundo os mesmos autores, as larvas são classificadas em quatro estágios, de acordo com o grau de flexão da notocorda e o desenvolvimento da nadadeira caudal e seus elementos de suporte: larval vitelino (estágio de desenvolvimento compreendido entre a eclosão e o início da alimentação exógena); pré-flexão (estágio de desenvolvimento que se estende desde o início da alimentação exógena até o início da flexão da notocorda com o aparecimento dos elementos de suporte da nadadeira caudal); flexão (estágio de desenvolvimento que se caracteriza pelo início da flexão da notocorda, com o aparecimento dos elementos de suporte da nadadeira caudal, até a completa flexão da mesma, aparecimento do botão da nadadeira pélvica e início da segmentação dos raios das nadadeiras dorsal e anal); juvenil (estágio em que compreende a fase da completa formação dos raios das nadadeiras e surgimento das escamas até a primeira maturação gonadal).

A seguir serão abordadas as fases de desenvolvimento embrionário e larval preconizadas por Ahlstrom & Ball (1954); Kendal, Ahlstrom e Moser (c1984), modificado por Nakatani *et al.*, 2001: clivagem inicial, embrião inicial, embrião cauda livre, embrião final, larval vitelino, pré-flexão, flexão e juvenil.

### **1.2.1 Clivagem inicial**

Assim que ocorre a penetração do espermatozoide no ovócito é desencadeado uma série de eventos conhecidos coletivamente como reação cortical, entre os quais: (a) fusão da membrana dos alvéolos corticais com a membrana plasmática do ovo; (b) extrusão do conteúdo dos alvéolos corticais; (c) elevação do córion; (d) constituição do espaço perivitelínico; (e) endurecimento do córion com a formação do envelope de fertilização (Brasil, 2001). De forma concomitante a esses eventos ocorrem rearranjos de organelas e inclusões no citoplasma do óvulo, quando a maior parte do citoplasma concentra-se no polo

animal que, juntamente com os pró-núcleos masculino e feminino, constituirão o blastodisco (Brasil, 2001). A fusão dos pró-núcleos ou cariogamia ocorre depois da liberação do corpúsculo polar para o espaço perivitelínico e em seguida forma-se a célula ovo ou zigoto para então iniciar a clivagem inicial, através de repetidas divisões mitóticas (Brasil, 2001).

A etapa clivagem é dividida nas seguintes fases (Bagenal; Braum, 1978; Woynarovich & Horváth, 1980):

Ovo recém-fertilizado compreende a fase a partir da fertilização até a organização dos pólos animal (representado pelo blastodisco) e vegetativo (representado pelo vitelo); segmentação – caracterizada por clivagens sucessivas do blastodisco, originando os blastômeros; blastulação - fase na qual o blastodisco apresenta-se estratificado e alto, com pequenas cavidades entre os blastômeros e a presença de uma lâmina sincicial perivitelina; gastrulação - as células do blastodisco deslocam-se e separam-se em epiblasto (futuro folheto externo) e hipoblasto (notocorda, meso e endoderme). O epiblasto e a lâmina sincicial perivitelina expandem-se como um manto que recobre inicialmente metade do vitelo, em seguida 3/4 e, finalmente, fecha o blastóporo. No início do desenvolvimento, a blastoderme forma uma placa celular na região do vitelo, ocorrendo a multiplicação das células. Nesse momento caracteriza-se a fecundação.

### **1.2.2 Embrião inicial**

Nessa fase ocorre o alongamento do corpo do embrião e a diferenciação das suas extremidades fazendo com que seja possível distinguir as regiões cefálica e caudal (Nakatani *et al.*, 2001; Borçato *et al.*, 2004; Botta *et al.*, 2010; Amorim *et al.*, 2009). A formação dos somitos, da vesícula óptica e do tubo neural também são características marcantes que se evidenciam durante essa fase (Gomes *et al.*, 2011; Faustino *et al.*, 2010; Honji *et al.*, 2012). Outras estruturas morfológicas também são constatadas, como: o desenvolvimento da vesícula de Kupffer na região cefálica e do mesoencéfalo dos embriões (Botta *et al.*, 2010; Perini *et al.*, 2010; Weber *et al.*, 2012). Faustino *et al.*, (2010) constataram o desenvolvimento do sistema nervoso central de *Brycon goudingi*, formando as três primeiras vesículas: pró-encéfalo, médio-encéfalo e rombocéfalo. Souza (2004) observou em ordem cronológica a evidência das seguintes estruturas em *Brycon insignis*: vesícula óptica, vesícula de Kupffer, vesícula auditiva e 16 pares de somitos bem como a evidência da notocorda.

### **1.2.3 Embrião de cauda livre**

Conforme o corpo se alonga, os somitos e a região caudal aumentam em número e em comprimento ao longo dessa fase (Puvaneswari *et al.*, 2009). A nadadeira embrionária é hialina e está por toda a região ventral e parte da região dorsal, estendendo-se desde a margem anterior do saco vitelínico (circundando a região caudal) até a porção mediana dorsal do corpo (Guimarães-Cruz *et al.*, 2009). A região cranial passa a se desenvolver paulatinamente apresentando novas estruturas como: os orifícios olfatórios e da vesícula auditiva (Reynalte-Tataje *et al.*, 2004); e a diferenciação da retina, no primórdio óptico, dando início a diferenciação da vesícula óptica (Shaytner, 2009). O início dos batimentos cardíacos (Perini *et al.*, 2010) também são evidenciados nessa fase. Ao final dessa fase o embrião ocupa grande parte de espaço interno e já apresenta muitas contrações corporais por minuto (Puvaneswari *et al.*, 2009).

### **1.2.4 Embrião final**

Nessa fase o embrião já está praticamente formado. Islan (2005) observou que três horas antes da eclosão, a vesícula de Kupfer de *Pangasiussutchides* desaparece e o coração está situado acima da porção superior do saco vitelino. Próximo ao final dessa fase os movimentos dentro do ovo são mais intensos e vigorosos possibilitando o rompimento do córion chegando, no caso de *Heteropneustes fossilis*, a 18 a 20 contrações corporais por minuto (Puvaneswari *et al.*, 2009).

Em *Prochilodus lineatus* (Characiforme) a ruptura do córion ocorre precocemente, às 18 horas (h) após a fecundação (AF), a uma temperatura de 25 °C e a larva está muito pouco desenvolvida (Botta *et al.*, 2010). Em *Parauchenipterus galeatus* (Siluriforme) o momento da eclosão ocorre tardiamente, 64 h AF, a uma temperatura de 27-28 °C (Sanchez *et al.*, 1999). Esse tempo de embriogênese é longo quando comparado ao tempo de desenvolvimento de outras espécies de siluriformes. No entanto, apesar do desenvolvimento de *Parauchenipterus galeatus* ser mais tardio, a larva já nasce bem desenvolvida com a boca e intestino formado, com barbilhões mentonianos presentes, olhos pigmentados e cromatóforos distribuídos pelo corpo (Sanchez *et al.*, 1999).

### **1.2.5 Larval Vitelino**

No início dessa fase as larvas apresentam-se pouco desenvolvidas (Oliveira *et al.*, 2012). No entanto, é nessa fase que ocorrem grandes mudanças corporais, devido à fase de transição da alimentação endógena para a exógena. De uma forma geral as larvas de

espécies de teleósteos de água doce eclodem com ausência de pigmento (Guimarães-Cruz *et al.*, 2009; Maciel Jr.,1996; Godinho *et al.*, 2003; Carvalho,2001; Botta *et al.*, 2010), ou levemente pigmentada (Romagosa *et al.*,2001). O padrão de ausência de pigmentação observado logo após a eclosão é considerado como estratégia de escape contra predação durante o período mais vulnerável da larva (Bone *et al.*, 1995; Maciel- Jr., 1996).

O aumento gradual dos pigmentos após a eclosão é considerado comum às espécies de comportamento essencialmente pelágicopodendo apresentar mudanças no padrão da pigmentação quando passam a explorar outras regiões (Bone *et al.*,1995; Galuch *et al.*,2003). Nakatani *et al.* (2004) relataram que mudanças no padrão de pigmentação ocorrem quando a larvas passam a explorar as zonas litorâneas das áreas inundadas, intensamente cobertas com macrófitas aquáticas, tais como o desenvolvimento de bandas, máculas e outras marcas no corpo e região próxima a cabeça.

Em espécies dos gêneros *Brycon* e *Salminus*, por exemplo, na região cefálica, com o passar de tempo desenvolve-sea glândula de aderência, acima dos olhos, na região dorsal e anterior da cabeça (Souza, 2004; Santos & Godinho, 2002; Gomes *et al.*, 2011). Essa glândula possui a funcionalidade de manter a larva presa a um substrato durante a fase em que a larva apresenta natação errática ou não direcionada. Ainda na região cranial, os órgãos dos sentidos como as glândulas olfativas, o encéfalo e a vesícula ótica começam a se desenvolver (Guimarães-Cruz *et al.*, 2007), assim como o desenvolvimento do primeiro par de barbilhões (Luz *et al.*, 2001) e das aberturas nasais, que, no caso de *Brycon insignis*, são simples e circulares (Souza, 2004). Nessa fase, com aumento da região cranial, o sistema respiratório passa a ser mais complexo, devido ao início da formação do opérculo e dos arcos branquiais, os quais já apresentam filamentos branquiais diferenciados (Souza, 2004).

Em relação à reserva vitelínica, no início, e de uma forma geral, o saco vitelínico é arredondado, grande, e devido ao seu peso a larva tem a natação comprometida conforme o constatado para *Pangasius sutchi* (Islan 2005). Com o passar das horas o saco vitelínico passa a alongado reduzindo muito até o final deste estágio (Souza, 2004). Na região superior do saco vitelínico é possível observar o início do desenvolvimento do botão da nadadeira peitoral (Souza, 2004; Oliveira *et al.*, 2012). Próximo à exaustão da reserva vitelínica, a boca já se encontra com dentes e aberta, os globos oculares já estão desenvolvidos (Souza, 2004), o trato digestivo e o anus vão se tornando funcionais (Perini *et al.*, 2010). Segundo Lasker *et al.* (1970), a pigmentação dos olhos e a abertura da boca e do intestino estão relacionadas com o início da alimentação exógena da larva.

Em *Brycon insignis* durante o período da regressão da glândula de aderência, ocorre o desenvolvimento da bexiga natatória que passa a se tornar visível, no caso inflada (Souza, 2004), possibilitando a natação horizontal. Pinder & Gozlan (2004) e Maciel *et al.*, (2010) observaram que a abertura da boca ocorre ao mesmo tempo em que a larva é capaz de nadar até a superfície para abocanhar o ar e, por sua vez, inflar a bexiga natatória. Antes de essas estruturas estarem formadas, as larvas possuem apenas movimentos verticais ascendentes, até a superfície da água (Huysentruyt *et al.*, 2009), para em seguida, retrocederem ao ponto de origem, sem, contudo utilizarem movimentos musculares.

Neste contexto, pode-se inferir que a regressão da glândula de aderência, isso pra algumas espécies, o desenvolvimento da nadadeira peitoral e dos órgãos dos sentidos, e o enchimento da bexiga natatória, que contribuem para que a larva tenha uma natação horizontal, ocorrem em sincronismo com o sistema digestório. Para muitas espécies tem-se então o início da alimentação endógena.

#### **1.2.6 Pré-flexão**

Durante esse período ocorre o aumento da pigmentação, contudo, ainda sob a forma de aglomerados pontuais (Taguti *et al.*, 2009; Oliveira *et al.*, 2012). Em relação a boca, as narinas e ao opérculo, esses já estão bem desenvolvidos (Taguti *et al.*, 2009; Nakatani *et al.*, 1998). No que diz respeito às nadadeiras, a peitoral, apesar de já evidente, ainda não possui raios (Santim *et al.*, 1998). Em relação a membrana embrionária, essa ainda segue o mesmo padrão de distribuição do estágio anterior, porém, apresenta-se parcialmente absorvida, e já é possível observar o delineamento das nadadeiras dorsal e anal (Oliveira *et al.*, 2012). Segundo os mesmos autores, na região ventral, pós-abertura anal, observa-se a formação dos pterigióforos dos raios da nadadeira anal e, horas depois, os ossos hipurais são visíveis na porção terminal da notocorda.

Ao final dessa fase, com as nadadeiras mais desenvolvidas e a ponta da notocorda iniciando a flexão, a larva já possui movimentos direcionados na coluna d'água.

#### **1.2.7 Flexão**

De uma forma geral, o saco vitelino está exaurido no início dessa fase, como em *Parauchenipterus galeatus* (Siluriforme) (Sanchez *et al.*, 1999) e *Prochilodus magdalenae* (Characiforme) (Arias-Gallo *et al.*, 2010). Em siluriformes os barbilhões já estão bem desenvolvidos. Em *Auchenipterus osteomystax* os barbilhões maxilares ultrapassam o comprimento da cabeça, enquanto os mentonianos não apresentam crescimento considerável



em relação ao estágio anterior (Bialetzki *et al.*, 2001). Como desenvolvimento de outras estruturas, as aberturas nasais estão muito evidentes, os olhos, de uma forma geral, são esféricos e completamente pigmentados, e ao longo do intestino as estrias transversais já são visíveis (Oliveira *et al.*, 2012); e o opérculo encontra-se formado (Sanches *et al.*, 2001). Em algumas espécies os pigmentos se polarizam e formam primórdios de máculas, como observado em *Pyrrhulina australis* (Taguti *et al.*, 2009), e faixas transversais, como as observadas em *Leporinus friderici* (Sanches *et al.*, 2001). Devido a pouca pigmentação e ao pouco tecido muscular, em *Hypophthalmus edentatus*, a notocorda ainda é visível (Nakatani *et al.*, 1998). A nadadeira embrionária ainda está presente na região dorsal e ventral de muitas espécies, no entanto, para algumas, na região caudal, ela está sendo substituída por nadadeira com raios, como em *Hypophthalmus edentatus*, *Bryconamericus stramineus* e *Brycon hilari* (Nakatani *et al.*, 1998; Galuch *et al.*, 2003; Oliveira *et al.*, 2012). Devido a flexão da notocorda, a nadadeira caudal é a que mais se desenvolve nessa fase, embora nem todas as espécies apresentem nadadeira caudal com raios ao final desse período. Existem, entretanto, espécies como *Pyrrhulina australis*, em que já se observa a formação dos raios das nadadeiras caudal, anal e dorsal (Taguti *et al.*, 2009). O mesmo padrão foi observado para *Bryconamericus stramineus* (Galuch *et al.*, 2003). Em outra espécie, como *Auchenipterus osteomystax*, ao final desse estágio, além da formação dos raios da nadadeira caudal, ocorre a formação de raios nas nadadeiras peitorais e anales e o aparecimento do botão da nadadeira pélvica (Bialetzki *et al.*, 2001). Nesse sentido, os padrões de desenvolvimento das nadadeiras se distinguem um pouco de espécie para espécie, mas todas já possuem deslocamento bem direcionado na coluna d'água.

### 1.2.8 Pós-flexão

Nesse Estágio a pigmentação intensifica-se sobre todo o corpo. Nos gêneros *Leporinus* e *Prochilodus*, os melanóforos e cromatóforos se intensificam deixando as faixas transversais nas laterais do corpo ainda mais nítidas (Sanches *et al.*, 2001; Arias-Gallo *et al.*, 2010) e no gênero *Brycon*, uma mancha umeral torna-se uma característica logo após o opérculo (Oliveira *et al.*, 2012). Esses padrões de distribuição da pigmentação pelo corpo da larva são características sistemáticas marcantes contribuindo no processo de identificação das espécies (Nascimento & Araújo-Lima, 1993; Meijide & Guerrero, 2000; Godinho *et al.*, 2003).

Nessa fase o aparelho digestório já se encontra bem desenvolvido. A posição da boca, na maioria das espécies, já segue o padrão do indivíduo adulto. Em *Leporinus fridericia*

boca é subsuperior (Sanches *et al.*, 2001); em *Brycon hilarii* é terminal com duas fileiras de dentes de formato cônico nos ossos pré-maxilar e dentário (Oliveira *et al.*, 2012); em *Hypophthalmus edentatus* a boca é terminal, com uma série de pequenos dentes na maxila (Nakatani *et al.*, 1998); contudo o intestino ainda está em processo de diferenciação. Em *Auchenipterus osteomystax* ocorre o aumento do comprimento do intestino e a abertura anal localiza-se no meio do corpo (Bialecki *et al.*, 2001). O mesmo ocorre para os órgãos sensoriais. Estes ainda estão em transformação. As narinas ao longo dessa fase passam a ser duplas (Galuch *et al.*, 2003). Nos siluriformes, os barbilhões aumentam proporcionalmente em relação ao corpo (Nakatani *et al.*, 1998). Em *A. osteomystax* os barbilhões maxilares ultrapassam a nadadeira peitoral e os mentonianos alcançam a borda posterior do olho (Bialecki *et al.*, 2001). No que diz respeito à linha lateral, aparentemente é ausente em *P. australis* (Taguti *et al.*, 2009). Na grande maioria das espécies, o corpo é mais esguio se comparado à altura. No entanto, em *Plagioscion squamosissimus*, o tronco e a cabeça são relativamente robustos (Nakatani *et al.*, 1997b). Segundo os mesmos autores a região do opérculo e pré-opérculo é ornamentada com vários acúleos. O mesmo foi observado na região pré-opercular em *H. edentatus* (Nakatani *et al.*, 1998). Em relação às nadadeiras, estas ainda estão em pleno desenvolvimento, salvo a embrionária que vai regredindo gradualmente. A sequência do desenvolvimento das nadadeiras, em relação ao aparecimento dos primeiros raios para *L. friderici*, é: caudal, dorsal, anal, pélvicas e peitorais (Sanches *et al.*, 2001).

Em *P. Squamosissimus* os acúleos das nadadeiras dorsal e anal já estão diferenciados em raios duros e moles (Nakatani *et al.*, 1997).

A nadadeira adiposa é uma característica anatômica das ordens Characiformes e Siluriformes e, presumivelmente, está entre as últimas nadadeiras a se desenvolver.

Próximo ao final deste estágio ocorre à formação das escamas e os miômeros deixam de ser visíveis (Taguti *et al.*, 2009). Já a bexiga natatória e notocorda ainda são visíveis por transparência (Bialecki *et al.*, 1998).

### **1.2.9 Juvenil**

Nessa fase os pigmentos se intensificam ainda mais ao longo de todo o corpo (Nakatani *et al.*, 1997; Galuch *et al.*, 2003), contudo os padrões de pigmentações já estão consolidados. O formato do corpo já segue ao de um indivíduo adulto e a superfície já está recoberta por escamas; as nadadeiras já estão formadas, inclusive apresentando raios duros e moles (Nakatani *et al.* 1997; Nakatani *et al.*, 1998; Bialecki *et al.*, 2008; Neumann, 2008).

A fim de melhorar a compreensão sobre o desenvolvimento inicial dessa espécie foram levantados dois questionamentos no Capítulo 3: a) O tempo e a forma de desenvolvimento inicial de *P. vimboides* segue os padrões das outras espécies migradoras pertencente à ordem Characiformes? b) A larva de *P. vimboides* possui padrões de crescimento durante o período larval?

### 1.3 Morfometria

As lacunas de conhecimento referente aos estudos sobre ictioplâncton e ontogenia, somadas à grande similaridade morfológica entre as espécies nos primeiros estágios de vida (Snyder, 1981) e as escassas chaves taxonômicas, tornam-se assim, um dos maiores obstáculos no momento de identificação do material biológico coletado no ambiente natural (Bialetzki *et al.*, 1998). O mesmo é relatado por Silva (2010) enfatizando que o conhecimento sobre o desenvolvimento inicial dos peixes é essencial para a correta identificação dos ovos e das larvas em seu ambiente, uma vez que a grande semelhança entre as diferentes espécies de peixes dificulta o trabalho dos taxonomistas, em estudos de biologia pesqueira e ecologia do ictioplâncton (Silva, 2010). Ahlstrom *et al.* (1976) ressaltam a importância das coleções de ictioplâncton por permitirem estabelecer a história de vida, unindo a história larval aos adultos, principalmente através dos caracteres merísticos, mas também usando uma variedade de caracteres osteológicos, morfométricos e padrões de pigmentação.

Atualmente, o reconhecimento taxonômico sobre o ictioplâncton é baseado em dois métodos de descrição das larvas: 1) a partir de caracteres obtidos de indivíduos criados sob condições artificiais, e 2) a partir de caracteres obtidos de indivíduos capturados na natureza (Nascimento *et al.*, 2000). Nascimento *et al.* (2000) coletaram amostras de larvas oriundas de reprodução induzida e elaboraram uma chave ilustrada contendo as descrições de larvas das principais espécies de peixes utilizadas pela pesca no Pantanal: pacu (*Piaractus mesopotamicus*), curimatá (*Prochilodus lineatus*), dourado (*Salminus brasiliensis*), piavuçu (*Leporinus macrocephalus*), pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) e cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*). Os mesmos autores confrontaram as descrições dessas larvas, com larvas das mesmas espécies capturadas no ambiente natural e constataram não haver diferenças significativas entre elas. Nesse sentido, a utilização de ovos e larvas originários de reproduções induzidas contribuem eficazmente com o processo de descrição

do desenvolvimento inicial, para a identificação taxonômica e, por conseguinte, com os estudos voltados à ecologia.

Partindo dessa premissa, dificuldade na identificação, a morfometria pode ser utilizada como importante ferramenta estatística. A morfometria em uma de suas definições mais clássicas designa qualquer análise quantitativa da variação morfológica dos organismos, que reflete as adaptações ecológicas das espécies (Moraes, 2003). Também costuma ser definida como o estudo da forma e do tamanho, e como estas variáveis se relacionam entre si. Esse conjunto de técnicas tem evoluído ao longo dos séculos desde o estabelecimento de proporções entre as diversas partes do corpo, ainda hoje utilizadas nas descrições taxonômicas (Moraes, 2003; Cavalcanti & Lopes, 1991) e por sua vez, os caracteres morfológicos, como a forma do corpo e contagens merísticas, têm sido muito utilizados para identificações de peixes (Willig *et al.*, 1986; Keenlyne *et al.*, 1994; Boussou *et al.*, 2010). A maioria dos estudos morfométricos recentes faz uso de técnicas de análise estatística multivariada, que permitem expressar padrões de variação e covariação de caracteres em um número reduzido de dimensões, fornecendo meios de visualizar graficamente e comparar esses padrões entre diferentes grupos de organismos (Blackith & Reyment, 1971).

Dentro deste contexto, o quarto e último capítulo tiveram como objetivo determinar e comparar os padrões morfométricos e alométricos de larvas de cinco espécies da ordem Characiformes: dourado (*Salminus brasiliensis*) (Cuvier, 1816), piaucaboclo (*Leporinus steindachneri*, Eigenmann, 1907), curimatã (*Prochilodus lineatus*) (Valenciennes, 1837), grumatã (*Prochilodus vimboides* Kner, 1859) e piabanha (*Brycon insignis*, Steindachner, 1877), todas com ocorrência na bacia hidrográfica do rio Paraíba do Sul/Brasil. Para atingir o objetivo proposto foram utilizados dois questionamentos: a) Emerge um padrão alométrico e morfométrico de crescimento entre as cinco espécies estudadas? b) As variáveis mensuradas são boas métricas para definir padrões morfométricos, a ponto de contribuir com o processo de identificação taxonômica?

## CAPÍTULO 2

**Relações entre fatores ambientais e a distribuição de ovos e larvas de peixes do Curso Médio Inferior do rio Paraíba do Sul e seus tributários.**

## 2.1 Resumo

O Domínio das Ilhas Fluviais (DIF) corresponde ao trecho Médio Inferior do rio Paraíba do Sul, no estado do Rio de Janeiro, uma região de grande importância para a reprodução de espécies de peixe migratórias. O objetivo deste estudo foi associar a abundância de ovos e larvas de peixes à fatores ambientais em modelos preditivos dos eventos reprodutivos. As coletas de ictioplâncton ocorreram em quatro rios do DIF, rios Pomba (RP), Paraíba do Sul (RPS), Negro (RN) e Areias (RA), no período de setembro de 2011 a março de 2012. Para as coletas do ictioplâncton foram utilizadas redes de plâncton do tipo cônico-cilíndrica, com malha 0,5 mm e fluxômetro acoplado. Durante o período das coletas foram realizadas 1.713 amostragens as quais resultaram em 2.513 ovos e 1.189 larvas capturadas, sendo a maior abundância nos períodos de noite e madrugada comparados ao período diurno. A maior abundância de ovos e larvas foi observada em RP, com 1.829 ovos (72,78%), 738 larvas (62,06%), seguido por RPS, com 497 ovos (19,77%) e 170 larvas (14,30%), por RN, com 132 ovos (5,25%) e 151 larvas (12,70%) e por RA, com 55 ovos (2,18%) e 130 larvas (10,93%). Modelos lineares generalizados predizendo a abundância de ovos e larvas a partir dos fatores ambientais apresentaram coeficientes positivos e significativos para a vazão e a temperatura e coeficientes negativos para a condutividade elétrica, o oxigênio dissolvido e a transparência, sendo a profundidade e o sítio de coleta (margens/meio) fatores não significativos. Ficou evidente que os maiores picos de abundância de ovos e larvas se correlacionaram com os primeiros picos de vazão ocasionados pelo início do período chuvoso, sendo as demais variáveis ambientais em grande parte consequência do aumento da vazão. As localidades amostradas apresentaram predominância de ovos sobre larvas, evidenciando, portanto, sua importância como regiões de desova e influenciando a manutenção dos estoques pesqueiros do rio Paraíba do Sul em seu Curso Médio Inferior e Baixo.

Palavras-chave: Domínio das Ilhas Fluviais; Ictioplâncton; Abundância.

## 2.2 Abstract

The Domain of River Islands (DIF) is the Lower East stretch of the Paraiba do Sul River in the state of Rio de Janeiro, a region of great importance for the reproduction of migratory fish species. The objective of this study was to associate the abundance of eggs and larvae of fish to environmental factors in predictive models of reproductive events. The ichthyoplankton collections occurred in four rivers of DIF, rivers Pomba (RP), Paraiba do Sul (RPS), Negro (RN) and Areias (RA), from September 2011 to March 2012. For the collections of ichthyoplankton were used networks of plankton tapered cylindrical-type, mesh 0.5 mm and coupled flow meter. They were held in 1713 samples and captured 2,513 eggs and larvae in 1189, with greater abundance during periods of evening and night compared to daytime. The highest abundance of eggs and larvae was observed in RP, with 1,829 eggs (72.78%), 738 larvae (62.06%), followed by RPS, with 497 eggs (19.77%) and 170 larvae (14, 30%) for infants, with 132 eggs (5.25%) and 151 larvae (12.70%) and RA with 55 eggs (2.18%) and 130 larvae (10.93%). Generalized linear models predicting the abundance of eggs and larvae from environmental factors showed positive and significant coefficients for flow and temperature; and negative coefficients for electrical conductivity dissolved oxygen, temperature and transparency, and depth and collection site (banks / middle) not significant factors. It was evident that the highest peaks of abundance of eggs and larvae correlated with the first peak flows caused by the onset of the rainy season, and other environmental variables largely a result of increased flow. The sampling sites showed predominance of eggs on larvae, showing thus its importance as spawning areas and influencing the maintenance of fish stocks in the Paraiba do Sul River in its middle course and lower down.

Keywords: Domain of River Islands; ichthyoplankton; Abundance

### 2.3 Introdução

A bacia do rio Paraíba do Sul situa-se na região sudeste do Brasil. Ocupa uma área de aproximadamente 55.500 km<sup>2</sup>, abrangendo os estados de São Paulo (13.900 km<sup>2</sup>), Rio de Janeiro (20.900 km<sup>2</sup>) e Minas Gerais (20.700 km<sup>2</sup>), o que totaliza 180 municípios (IBGE, 1993). O rio Paraíba do Sul resulta da confluência dos rios Paraíbauna e Paraitinga, em São Paulo, e ao longo dos seus 1.150 km percorredomínios geoambientais distintos até desaguar no oceano Atlântico, na região Norte Fluminense, e como nos demais rios brasileiros, a calha do rio Paraíba do Sul e seus afluentes já estão barradas por inúmeros empreendimentos hidrelétricos.

Em se tratando de ictiofauna, tais empreendimentos hidrelétricos, inevitavelmente, influenciam a dinâmica reprodutiva das espécies migradoras, a ponto de ser uma das principais causas da diminuição de populações de peixes no mundo (Agostinho *et al.*, 2007; Fontes-Júnior *et al.*, 2012; Liermann *et al.*, 2012).

No último trecho do Curso Médio Inferior do rio Paraíba do Sul, no estado do Rio de Janeiro, entre São Sebastião do Paraíba, e a foz do rio Dois Rios, encontra-se o Domínio das Ilhas Fluviais (Bizerril, 1998). Este domínio geoambiental está caracterizado por possuir inúmeras ilhas, ainda recobertas por vegetação nativa. O hidrodinamismo alterna trechos de correntezas com de remansos, rasos e profundos onde deságuam importantes afluentes como o rio Pomba, o rio Dois Rios (confluência do rio Negro com o rio Grande) e o ribeirão das Areias.

Apesar de barrados por empreendimentos hidrelétricos, tais rios ainda apresentam trechos à jusante com extensões viáveis para que ocorra o processo reprodutivo das espécies potamódromas e por sua vez, a deriva de ovos e larvas para o Baixo Curso do Rio Paraíba do Sul.

Sabe-se que o período de reprodução da maioria das espécies de peixes de água doce é sazonal e está relacionado às condições favoráveis que maximizam a fecundação e o desenvolvimento da prole (Agostinho *et al.*, 2004). No entanto, a fauna de peixes neotropicais é muito diversificada em consequência de um processo evolutivo longo e complexo (Vianna *et al.*, 2008), cujos aspectos reprodutivos são peculiares e podem variar entre as bacias hidrográficas (Humphries *et al.*, 1999).

Outra importante constatação é que as ordens Siluriformes e Characiformes, além de abrangerem a maior biomassa dos grandes rios da América Latina (Lowe-McConnell, 1999), reúnem algumas espécies que necessariamente precisam migrar rio acima, para que ocorra o processo reprodutivo (Godinho *et al.*, 1991). No entanto, ainda existem muitas lacunas de



conhecimento quando o tema está relacionado aos fatores ambientais que desencadeiam o processo de migração, e por fim, a reprodução.

Em se tratando da bacia hidrográfica do rio Paraíba do Sul, as informações sobre o processo de migração dos peixes potamódromos correlacionados aos fatores ambientais são ainda mais escassas, uma vez que a grande maioria dos estudos estão voltados para a bacia do Prata (Bialetzi *et al.*, 1999; Baumgartner *et al.*, 2004; Baumgartner *et al.*, 2008; Reynalte-Tataje *et al.*, 2011; Reynalte-Tataje *et al.*, 2012; Ziober *et al.*, 2012).

Assim, considerando a escassez de informação a respeito do ictioplâncton na bacia do rio Paraíba do Sul, este estudo objetiva associar a abundância de ovos e larvas de peixes aos fatores ambientais em modelos preditivos dos eventos reprodutivos durante o período de reprodução dos peixes, em quatro rotas migratórias do Domínio das Ilhas Fluviais e seu entorno.

## 2.4 Metodologia

As coletas foram realizadas na calha do rio Paraíba do Sul e em três dos seus afluentes, todas as estações de coletas localizadas no Domínio das Ilhas Fluviais (DIF) seu entorno: Pomba, Negro e ribeirão das Areias (Figura 1).

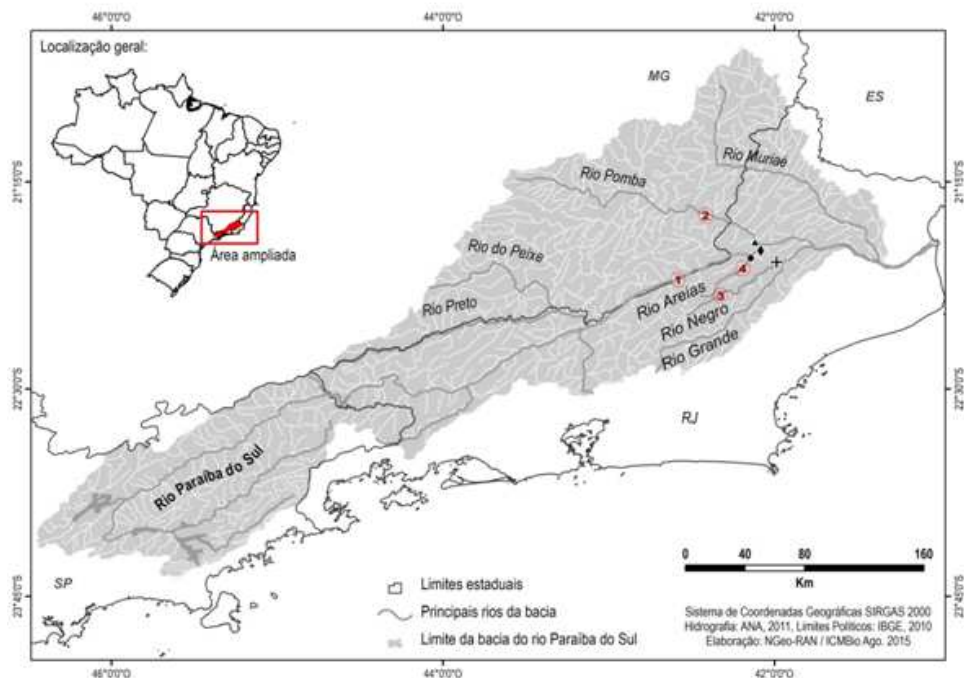


Figura 1: Localidades de coleta de ovos e larvas de peixes em quatro supostas rotas migratórias da região do Domínio das Ilhas Fluviais e seu entorno: rios Pomba (▲), Paraíba do Sul (◆), Negro (+) e ribeirão das Areias (●). 1 – Usina Hidrelétrica Ilha dos Pombos; 2 – Usina Hidrelétrica Barra do Braúna; 3 – Pequena Central Hidrelétrica Chave do Vaz; 4 – Central Geradora Hidrelétrica Engenho Central.

O DIF está localizado na porção final do Curso Médio Inferior rio Paraíba do Sul, onde deságuam alguns afluentes, como os rios Pomba, Dois Rios (confluência dos rios negro e Grande) e Areias. Este domínio geoambiental tem início em São Sebastião do Paraíba, em Cantagalo – RJ e término em São Fidélis – RJ. A presença de elevado número de ilhas e a declividade deste trecho do rio Paraíba do Sul possibilita a presença de correntezas intercaladas por áreas de remanso, assim como por áreas rasas e profundas.

As características das estações de coletas estão descritas na Tabela 1. As distâncias dos empreendimentos hidrelétricos até as estações de coletas, à jusante, estão discriminadas na Tabela 2.

Tabela 1: Localizações geográficas e descrições físicas das quatro estações de coletas na Bacia do Rio Paraíba do Sul. CG: coordenadas geográficas; LM: largura média do rio; CL: composição do leito; FVC: faixa de vegetação ciliar.

Estações de Coletas	CG	LM (m)	CL	FVC
Rio Paraíba do Sul	21°39'51.32"S / 42° 5'0.08" O	600	pedra e areia	inexistente
Rio Pomba	21°36'50.36"S / 42° 6'59.10" O	200	pedra e areia	estreita
Rio Negro	21°44'4.44"S / 41°59'12.00"O	16	pedra e areia	estreita
Ribeirão das Areias	21°42'40.86"S / 42° 8'35.50"O	7	areia	estreita

Tabela 2: Distância dos empreendimentos hidrelétricos até as estações de coletas. EH: empreendimentos hidrelétricos; CGEH: coordenadas geográficas dos empreendimentos hidrelétricos; DEH: distância dos empreendimentos hidrelétricos até as estações de coletas à jusante, em quilômetros; STP: sistema de transposição de peixes. UHE: Usina Hidrelétrica; PCH: Pequena Central Hidrelétrica.

Estações de Coletas	EH	CGEH	DEH/Km	STP
Rio Paraíba do Sul	UHE Ilha dos Pombos	21°50'15.35"S / 42° 34'55.76"O	63	presente
Rio Pomba	PCH Barra do Braúna	21° 27'1.95" S / 42° 24' .53" O	52	ausente
Rio Negro	PCH Chave do Vaz	21° 56'5.28" S /42° 19'26.99"O	93	ausente
Ribeirão das Areias	CGH Engenho Central	21°46'15.89"S /42° 11'28.35"O	14	ausente

As coletas de campo ocorreram entre os meses de setembro de 2011 a março de 2012. Nos dois primeiros meses, setembro e outubro, os intervalos entre as coletas foram de 30 a 15 dias respectivamente, por serem períodos em que os rios estudados possuíam baixa vazão e supostamente pouca atividade reprodutiva dos peixes migradores. As frequências, os intervalos e os horários das coletas estão descritos na Tabela 3.

Para as coletas de ovos e larvas foram utilizadas redes de plâncton do tipo cônico-cilíndrica, com malha de 500 micras, área da boca da rede de 0,11m<sup>2</sup>, as quais foram expostas por 10 minutos cada uma.

Tabela 3: Distribuições das frequências, dos intervalos dos horários das coletas dos ovos e larvas ao longo dos meses amostrados.

Meses das Coletas	Frequência das coletas/Estação	Intervalos entre as coletas/dia	Horários das coletas/hora
Setembro	1	30	
Outubro	2	15	
Novembro	3	10	
Dezembro	3	10	12:00, 20:00 e 04:00
Janeiro	3	10	
Fevereiro	3	10	
Março	3	10	

Foram realizadas amostragens nas margens e no meio do rio, tanto na superfície quanto no fundo totalizando seis coletas por ciclo de oito horas (manhã, noite e madrugada), perfazendo 18 amostragens por localidade. As escolhas dos horários estiveram vinculadas ao fotoperíodo: 12:00 horas (grande intensidade luminosa), 20:00 horas (interface entre período luminoso com o período escuro) e 04:00 horas (baixa luminosidade).

As amostragens de fundo foram realizadas com rede igual, contudo acoplada a uma estrutura estabilizadora, tipo trenó, a qual também ficou exposta por 10 minutos.

Ambas as redes foram equipadas com fluxômetro, marca General Oceanics INC modelo 2030, para obtenção do volume de água filtrada. O volume de água filtrada pela rede de plâncton foi estimado através da expressão:  $V = A \cdot \text{rot} \cdot f$ ; onde: V = Volume de água filtrada ( $\text{m}^3$ ); A = Área da boca da rede ( $\text{m}^2$ ); rot. = n° de rotações do fluxômetro; f = Fator de calibração do fluxômetro.

Em todas as estações de coletas, e durante todos os ciclos nictemerais foram mensurados os seguintes fatores ambientais: oxigênio dissolvido (mg/l), temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), condutividade elétrica ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ), pH, transparência e profundidade. Para tal foram utilizados os seguintes equipamentos: oxímetro YSI550<sup>a</sup> com termômetro com precisão de de 0,01 mg /L de água, pHgâmetro digital Hanna HI 8424 com precisão de duas casas decimais e condutímetro Pinpoint I759746 com precisão de 1mS, Disco de Sechii e profundímetro.

Ao final do período de coletas, mediante contatos prévios, foram conseguidos os dados de vazão junto aos empreendimentos hidrelétricos mais próximos de cada ponto de coleta, com exceção do Ribeirão das Areias que não teve sua vazão calculada.

Ainda no campo, as amostras foram acondicionadas em potes de polietileno, com volume de 500 ml, etiquetadas e conservadas em solução de formalina 4% tamponada ( $\text{CaCO}_3$ ). As amostras seguiram para as dependências do Projeto Piabanha Centro Socioambiental (organização não governamental dedicada à pesquisa e proteção do rio

Paraíba do Sul), localizada no município de Itaocara (RJ), onde há estrutura física e laboratorial para dar suporte a esta pesquisa. Após o período de coletas no campo, as amostras contendo ovos e larvas foram separadas do restante do material em suspensão com o auxílio de microscópio estereoscópico trinocular (Quimis Q740SZ-T), sobre placa de acrílico tipo Bogorov. Uma vez triados, os ovos e as larvas foram conservados em tubos plásticos com tampa, contendo de formalina 4% tamponada (Ca CO<sub>3</sub>). Os tubos receberam uma identificação contendo os dados dos pontos de coleta, e em seguida foram acondicionados em caixas de papelão apropriadas e individualizadas por ponto de coleta para posterior contagem dos ovos e das larvas.

Para verificar relação entre os fatores ambientais e a abundância de ovos e larvas coletados, primeiramente foi realizada uma Análise de Componentes Principais (ACP) (Monteiro & Reis, 1999) das variáveis abióticas (pH + OD + Temperatura + Transparência média + Condutividade média + Vazão média) para determinar a existência de gradientes ambientais e evitar a multicolinearidade entre os preditores. A ACP foi realizada a partir da matriz de correlações dentro de grupos, utilizando os rios para agrupar as amostras. Desta maneira, a variabilidade explicada incorporou apenas a variação temporal dentro das estações de coleta, desconsiderando as diferenças entre médias dos rios na variação ambiental. Os componentes principais dentro dos grupos mostraram eixos que caracterizam gradientes ambientais na variação temporal comum às estações de coleta entre rios.

Os escores dos componentes principais mostrando diferentes gradientes ambientais foram utilizados como preditores da abundância de ovos e larvas em modelos lineares generalizados, utilizando a distribuição Binomial Negativa, a qual permite modelar contagens de ocorrência com superdispersão da variável, pois o parâmetro de dispersão não é fixo em 1 (Venables & Ripley, 2002). O modelo ajustado para as contagens de ovos foi: Ovos ~ Componentes principais ambientais + Período + Profundidade + Margem + Rio. Os dados do Ribeirão das Areias foram excluídos do modelo por não apresentarem dados de vazão. O mesmo modelo foi utilizado para prever a abundância de larvas, substituindo a abundância de ovos pela de larvas na variável dependente. Como o fluxo medido nas redes variou de acordo com a vazão do rio (o tempo de submersão foi fixo em 10 minutos), um parâmetro de *offset* = fluxo foi inserido no modelo para levar em consideração as diferenças de esforço entre unidades amostrais. Todas as análises e gráficos foram realizados no ambiente R (R Core Team, 2015).

## 2.5 Resultados

Ao longo dos meses de amostragens valores da temperatura da água apresentaram flutuações sendo os maiores picos de temperaturas registrados para o mês de março, exceto no ribeirão das Areias, que foi em fevereiro. As médias das temperaturas foram próximas entre as localidades rio Paraíba do Sul (RPS),  $27,88 \pm 1,34$ , rio Pomba (RP),  $27,74 \pm 1,05$ , e rio Negro (RN),  $27,47 \pm 0,83$ , sendo esta última localidade com a maior amplitude de temperatura  $21,10 - 28,60$  °C ( $\neq 7,5$  °C), seguido por ribeirão das Areias (RA):  $21,50 - 27,50$  ( $\neq 6,00$  °C); rio Pomba (RP):  $24,30 - 29,90$  °C ( $\neq 5,60$  °C) e rio Paraíba do Sul (RPS):  $24,00 - 29,45$  °C ( $\neq 5,45$  °C) (Tabela 4). Já o pH da água apresentou médias descendentes em todas as localidades, ao longo do período de coleta. Considerando as quatro localidades de coleta, as maiores médias de pH foram registradas no mês de setembro, com a maior média registrada para o rio Negro,  $8,03 \pm 0,09$ , enquanto as menores médias foram registradas para o mês de março em todas as localidades amostradas (Tabela 4). O mesmo padrão decrescente foi observado para a variável oxigênio dissolvido (OD). Em setembro, a maior concentração média foi mensurada no RPS,  $8,14 \text{ mg.L}^{-1}$ , e a menor média, em janeiro, no rio Negro (RN),  $4,70 \pm 0,40 \text{ mg.L}^{-1}$ . A condutividade elétrica (CE) não mostrou sazonalidade, exceto para a localidade rio Paraíba do Sul (RPS), quando em outubro, final do período da estação da seca, passou de  $231,10 \text{ } \mu\text{S/cm}$ , para  $65,20 \pm 6,12 \text{ } \mu\text{S/cm}$ , em novembro, estabilizando em médias mensais próximas (Tabela 4).

O aumento das vazões foi contínuo até o mês de janeiro decrescendo posteriormente. O RPS foi a localidade que apresentou maior média de vazão,  $703,53 \pm 446,26 \text{ m}^3/\text{s}$ , em janeiro, 352% a mais se comparado ao mês de setembro, seguido do RP ( $443,33 \pm 268,08 \text{ m}^3/\text{s}$ ) e por fim, o RN ( $19,01 \pm 15,05 \text{ m}^3/\text{s}$ ). O RA não teve sua vazão determinada.

As séries temporais das variáveis ambientais e abundância de ovos e larvas amostrados estão discriminadas nas Figuras 2a, 2b, 2c e 2d.

Apesar de todos os trechos já estarem barrados por usinas hidrelétricas, ovos e larvas de peixes foram coletados em todas as localidades.

Nas 1713 amostragens foram capturados 2.513 ovos e 1.189 larvas com maiores ocorrências de ovos e larvas para os meses de novembro e dezembro, nos rios Pomba e Paraíba do Sul; em dezembro e janeiro, no rio Negro; e em outubro, no ribeirão das Areias.

Para os ovos e larvas, a maior densidade foi capturada entre os meses de novembro a dezembro. A maior abundância de ovos e larvas foi constatada para o RP, com 1.829 ovos (72,78%), 738 larvas (62,06%), seguido por RPS, com 497 ovos (19,77%) e 170 larvas (14,30%); RN, com 132 ovos (5,25%) e 151 larvas (12,70%) em RA, com 55 ovos (2,18%)

e 130 larvas (10,93%). Os valores de abundâncias dos ovos foram maiores quando comparados aos das larvas, salvo na localidade de coleta rio Negro (RN), na qual ocorreu o inverso.

Tabela 4: Valores médios e desvio padrão ( $\bar{x} \pm sd$ ) dos fatores ambientais de cada localidade, ao longo dos meses de coletas de ovos e larvas. RPS: Rio Paraíba do Sul; RP: Rio Pomba; RN: Rio Negro; RA: Ribeirão das Areias. pH: potencial de Hidrogênio; OD: Oxigênio dissolvido; T: temperatura; CE: condutividade elétrica; Transp: transparência; Prof: profundidade e Vaz: vazão;  $\bar{x} \pm sd$ : desvio padrão.

RPS	Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Março	Total
	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$
Ph	7,82±0,13	7,42±1,25	6,91±0,23	6,90±0,12	6,65±0,02	6,38±1,10	6,07±0,91	6,19±0,39
Od (mg/l)	8,14±0,21	7,70±1,31	7,44±0,33	7,43±0,12	7,36±0,16	6,56±1,09	6,69±0,93	6,83±0,19
T (°C)	23,96±0,27	24,61±4,33	25,83±0,79	26,68±0,23	28,50±0,00	28,07±4,77	27,33±3,98	27,88±1,34
CE (µS/cm)	0,13±0,00	0,13±0,02	0,13±0,00	0,11±0,01	0,13±0,00	0,13±0,24	0,14±0,02	0,14±0,01
Transp (cm)	87,66±4,13	77,70±22,60	10,00±0,00	10,00±0,00	21,00±0,00	47,00±47	17,00±17	32,00±16,54
Prof (cm)	245,00±61,03	228,74±82,31	268,88±88,90	241,11±89,36	225,00±63,63	216,50±90,52	209,87±79,94	215,78±76,40
Vaz (m3)	200,96±29,94	164,64±37,96	290,36±147,80	562,04±285,94	703,53±446,26	250,65±120,66	217,90±84,72	232,03±62,90
RP	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$
pH	7,76±0,07	7,38±0,09	7,25±0,12	6,79±0,23	6,58±0,26	6,39±0,41	6,17±0,37	6,41±0,41
Od (mg/l)	7,87±0,39	8,01±0,11	7,56±0,32	7,73±0,20	7,74±0,16	6,87±0,16	6,89±0,16	7,17±0,43
T (°C)	25,37±0,49	24,63±0,13	26,39±0,57	26,73±1,10	27,03±0,26	28,49±1,07	27,80±0,94	27,74±1,05
CE (µS/cm)	0,129±0,01	0,13±0,00	0,15±0,03	0,13±0,01	0,12±0,01	0,12±0,01	0,15±0,03	0,13±0,02
Transp (cm)	94,00±0,00	72,00±0,00	53,33±21,60	18±7,70	12,00±0,00	19,33±7,34	47,00±16,78	26,78±17,98
Prof (cm)	203,89±104,39	249,44±130,13	221,70±124,66	214,44±74,00	209,44±67,77	183,33±64,64	160,55±64,32	185±70,59
Vaz (m3)	62,60±4,95	81,19±25,43	132,44±142,26	223,84±105,11	443,33±268,08	227,76±131,10	142,05±46,33	187,60±89,85
RN	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$
pH	8,03±0,09	7,78±0,85	7,14±0,01	7,08±0,08	6,90±0,27	6,75±0,93	6,48±0,88	6,59±0,38
Od (mg/l)	7,38±0,05	7,10±1,27	5,62±0,16	4,06±0,46	5,02±0,51	0,76±0,00	4,95±0,94	5,03±0,74
T (°C)	23,06±0,61	23,21±2,87	25,53±0,88	23,76±0,60	28,25±1,08	27,31±3,67	27,02±3,44	27,47±0,83
CE (µS/cm)	0,21±0,01	0,16±0,04	0,20±0,00	0,20±0,00	0,18±0,01	0,19±0,031	0,21±0,05	0,21±0,04
Transp (cm)	91,00±0,00	100,00±0,00	23,00±0,00	19,00±0,00	15,00±0,00	14,31±4,32	20,01±10,53	21,20±9,74
Prof (cm)	149,44±43,62	181,13±97,87	176,66±40,92	323,33±117,34	213,33±39,05	197,84±61,92	175,76±60,23	181,33±55,15
Vaz (m3)	1,90±0,07	3,35±1,92	5,54±4,54	10,09±6,38	19,01±15,05	9,50±6,26	6,71±1,54	8,05± 8,69
RA	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$
pH	7,77±0,80	7,40±0,08	7,47±0,15	7,04±0,17	6,35±0,87	6,59±0,99	6,21±0,12	5,85±0,12
Od (mg/l)	6,31±0,57	6,60±0,09	5,54±0,35	4,96±0,40	5,01±0,76	4,88±0,77	4,62±0,30	4,58±0,31
T (°C)	23,36±1,38	25,10±0,22	22,44±1,34	25,75±0,71	25,76±3,40	26,75±3,66	26,15±0,43	25,36±0,43
CE (µS/cm)	0,18±0,01	0,19±0,01	0,20±0,02	0,18±0,01	0,16±0,02	0,21±0,07	0,27±0,04	0,23±0,04
Transp (cm)	70,00±0,00	90,00±0,00	31,12±9,33	21,00±6,87	11±3,21	23,00±7,98	23,12±7,14	17,00±01
Prof (cm)	48,33±16,02	70,00±21,90	75,04±38,10	177,96±135,64	286,66±51,99	88,33±104,62	107,5±44,02	146,66±44,01

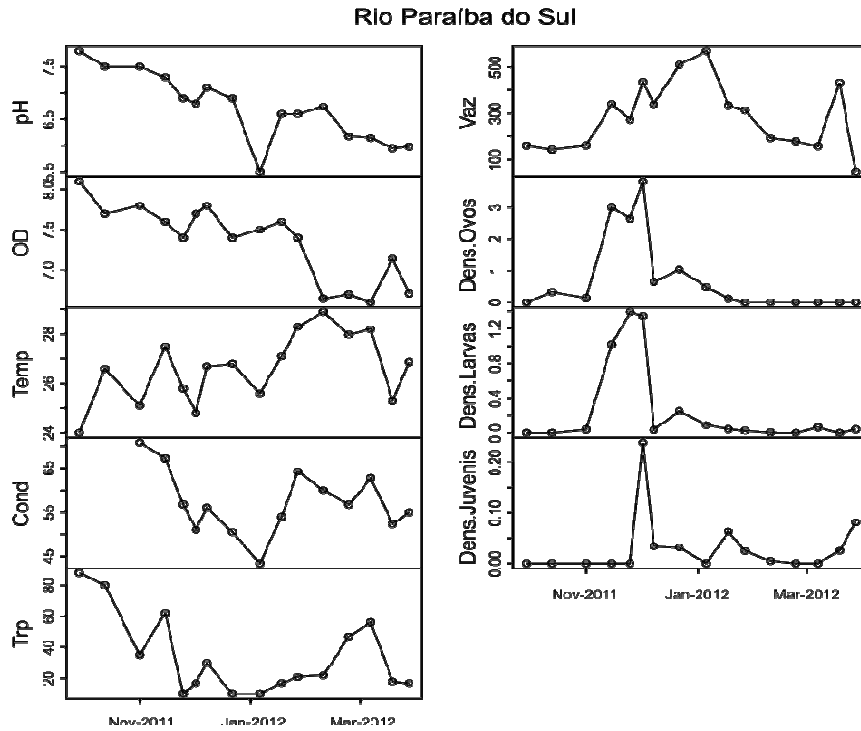


Figura 2 a: Séries temporais das variáveis ambientais e abundância de ovos e larvas amostrados no rio Paraíba do Sul, em Itaocara/RJ, durante o período de setembro de 2011 a março de 2012. OD = oxigênio dissolvido (mg/l); Temp = temperatura da água (°C); Cond = condutividade elétrica (µS/cm); Trp = transparência da água e Vaz.= vazão média.

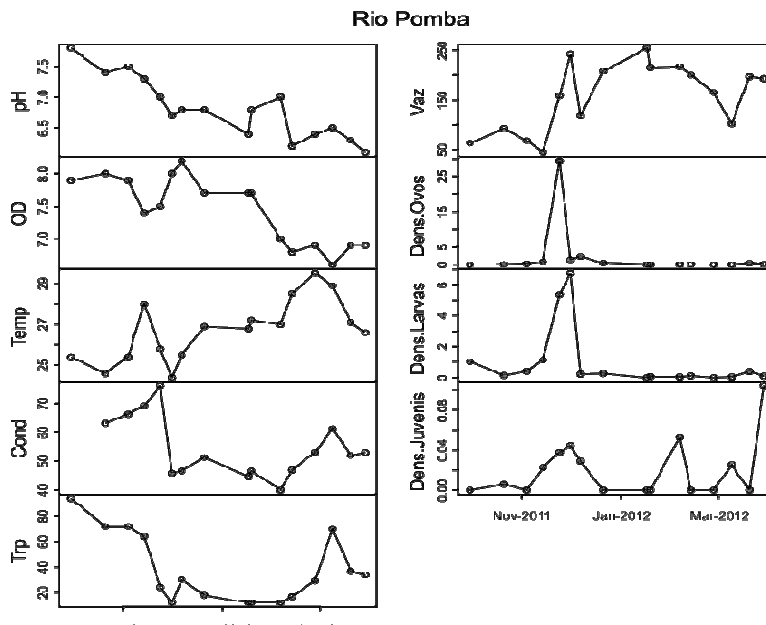


Figura 2 b: Séries temporais das variáveis ambientais e abundância de ovos e larvas amostrados no rio Pomba, em Aperibé/RJ, durante o período de setembro de 2011 a março de 2012. OD = oxigênio dissolvido (mg/l); Temp = temperatura da água (°C); Cond = condutividade elétrica (µS/cm); Trp = transparência da água e Vaz.= vazão média.



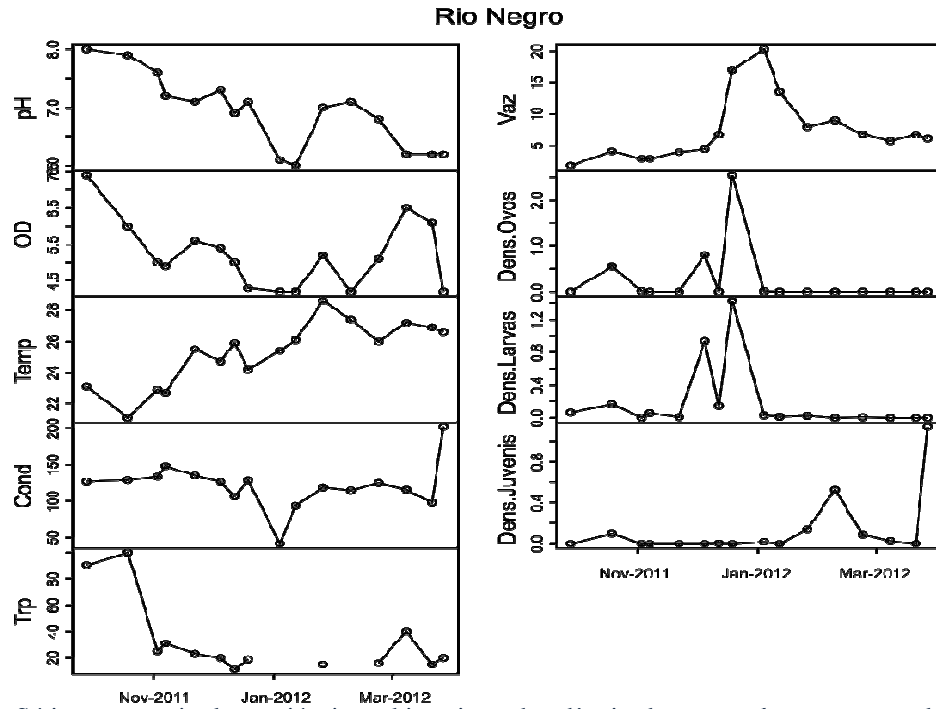


Figura 2 c: Séries temporais das variáveis ambientais e abundância de ovos e larvas amostrados no rio Negro, em Itaocara/RJ, durante o período de setembro de 2011 a março de 2012. OD = oxigênio dissolvido (mg/l); Temp = temperatura da água (°C); Cond = condutividade elétrica ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ); Trp = transparência da água e Vaz.= vazão média.

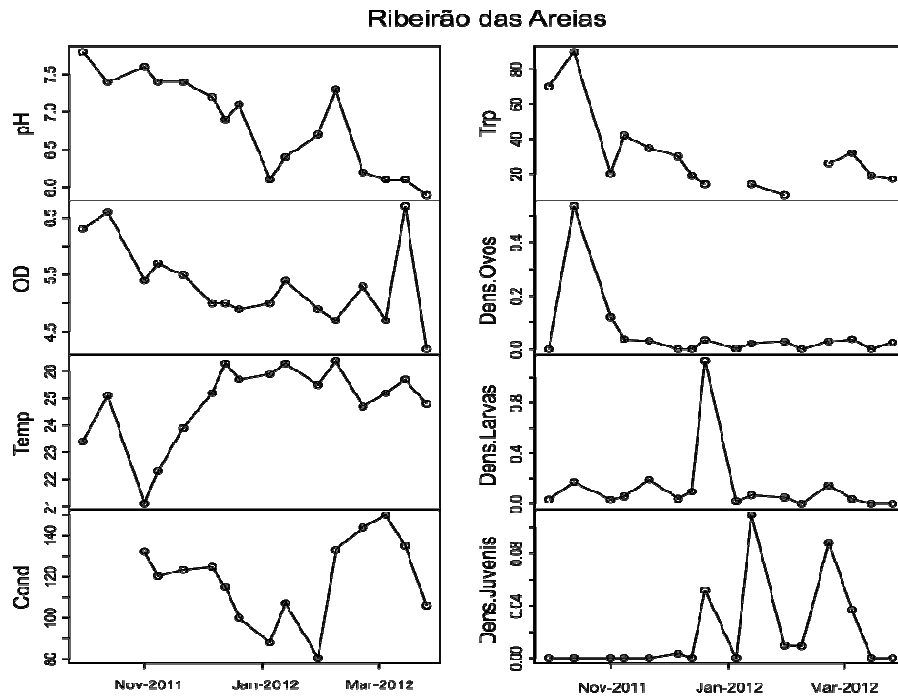


Figura 2 d: Séries temporais das variáveis ambientais e abundância de ovos e larvas amostrados no ribeirão das Areias, em Itaocara/RJ durante o período de setembro de 2011 a março de 2012. OD = oxigênio dissolvido (mg/l); Temp = temperatura da água (°C); Cond = condutividade elétrica ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ); Trp = transparência da água.

A análise de componentes principais concentrou aproximadamente 80% da variabilidade dos fatores abióticos nos três primeiros componentes. Os dois primeiros



componentes explicaram proporções de variações muito próximas da variabilidade temporal dentro dos rios (Figura 3).

O primeiro componente principal apresentou 36,4% de variabilidade e contrasta vazão e temperatura no lado positivo, contra oxigênio dissolvido, pH, transparência e condutividade no lado negativo, inferindo que os maiores valores de vazão influenciaram negativamente os valores da transparência, do pH, da condutividade elétrica e do oxigênio dissolvido em todos os pontos de coletas amostrados.

Os escores positivos correspondem às observações realizadas a partir de dezembro, ao passo que os escores negativos correspondem às observações anteriores a dezembro. O segundo componente apresentou 29% de variabilidade e está principalmente associado à variabilidade temporal no rio Paraíba do Sul, e contrasta vazão e oxigênio dissolvido no lado positivo contra temperatura e condutividade no lado negativo (Figura 3). Os escores das observações indicam uma distribuição associada a um aumento da temperatura e da condutividade nos meses a partir de fevereiro, com diminuição da vazão e temperatura.

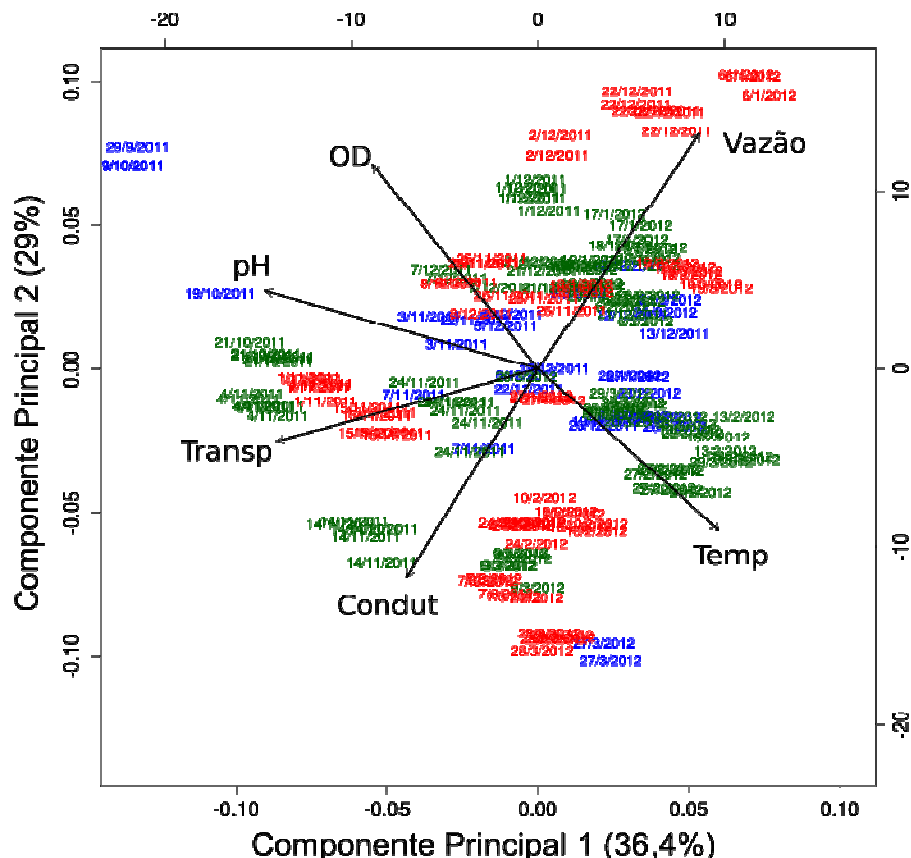


Figura 3. Biplot da análise de componentes principais dentro dos grupos, mostrando escores de unidades amostrais com respectivas datas de amostragem e vetores das variáveis ambientais para o primeiro e segundo componente. As observações de um mesmo rio estão separadas dos demais por cor: vermelho = rio Paraíba do Sul, azul = rio Negro, verde = rio Pomba. pH: potencial de Hidrogênio; Transp: transparência; Condut: condutividade elétrica; Temp: temperatura; OD: oxigênio dissolvido.



um decréscimo significativo do número de ovos na superfície em relação ao fundo (Tabela 5). Os rios Pomba e Paraíba do Sul apresentaram diferenças médias positivas na abundância de ovos em relação ao rio Negro, indicando diferenças espaciais na distribuição entre sub-bacias, independentes dos fatores abióticos (Tabela 5). A margem do rio não influenciou o modelo.

Tabela 5. Ajuste do modelo linear generalizado (com distribuição Binomial Negativa) para a função: Ovos ~ CP1+CP2+CP3+Periodo+Profundidade+Margem+Rio+offset(Fluxo). Variação do número de ovos explicada pelo modelo = 56,6%. CP1: componentes principais 1; CP2: componentes principais 2; CP3: componentes principais 3; PeriodoM: período da manhã; PeriodoN: período da noite; ProfundidadeS: superfície; Margem II: meio do rio; MargemIII: margem direita; RioRP: Rio Pomba; RioRPS: Rio Paraíba do Sul.

	Coeficiente	Erro padrão	Prob
(Intercepto)	-5,1343	0,4373	<0,0001
CP1	-0,8601	0,0933	<0,0001
CP2	0,037	0,1051	<0,0001
CP3	-2,0299	0,1879	<0,0001
PeriodoM	-3,3484	1,0746	0,0018
PeriodoN	1,6867	0,2784	<0,0001
ProfundidadeS	-1,2141	0,704	0,0000
MargemII	-0,2000	0,3282	0,5422
MargemIII	-0,4710	0,3352	0,1600
RioRP	1,1287	0,3632	0,0019
RioRPS	0,8364	0,3852	0,0299

O modelo predizendo a abundância de larvas explicou aproximadamente 21% da variação, sendo apenas os fatores ambientais significativos. Foi observado um coeficiente positivo associado ao componente principal 2 e um coeficiente negativo associado ao componente principal 3, montando um gradiente associado positivamente com a vazão média e negativamente com a temperatura (Tabela 6).

É importante ressaltar que os coeficientes dos modelos são parciais, mostrando a influência de uma variável enquanto mantém as demais padronizadas. Os diagnósticos baseados em resíduos dos modelos observados (não mostrados aqui) sugerem um bom ajuste dos modelos e a ausência de observações atípicas ou extremamente influentes. Os resíduos não apresentam autocorrelação temporal significativa, além da grande similaridade de observações entre superfície e fundo tomadas nos mesmos pontos. Fica evidente que os maiores picos de abundância de ovos e larvas estiveram correlacionados aos primeiros picos de vazão ocasionados no início do período chuvoso, novembro/dezembro, sendo as demais

variáveis ambientais em grande parte consequência do aumento da vazão (Tabelas 5 e 6; Figura 2 a, b, c, d).

No entanto, para as localidades de coleta rio Paraíba do Sul (RPS) e ribeirão das Areias (RA), o início do período reprodutivo ocorreu em outubro, enquanto nas outras duas localidades ocorreram em sua maioria, em novembro. Já o término da deriva dos ovos ocorreu, em todas as localidades, ao final do mês de janeiro, correspondendo o decréscimo da vazão.

Tabela 6. Ajuste do modelo linear generalizado (com distribuição Binomial Negativa) para a função: Larvas ~ CP1+CP2+CP3+Período+Profundidade+Margem +Rio+offset(Fluxo). Variação do número de ovos explicada pelo modelo = 21,5%. CP1: componentes principais 1; CP2: componentes principais 2; CP3: componentes principais 3; PeríodoM: período da manhã; PeríodoN: período da noite; ProfundidadeS: superfície; Margem II: meio do rio; MargemIII: margem direita; RioRP: rio Pomba; RioRPS: rio Paraíba do Sul.

	Coefficiente	Erro padrão	Prob
(Intercepto)	-1.9889	0.4809	<0.0001
CP1	-0.1290	0.1135	0.2560
CP2	0.6795	0.1420	<0.0001
CP3	-0.9684	0.2156	<0.0001
PeríodoM	-1.0888	0.7427	0.1430
PeríodoN	-0.4376	0.3484	0.2090
ProfundidadeS	-0.3681	0.3415	0.2810
MargemII	-0.5602	0.4097	0.1710
MargemIII	0.2857	0.3961	0.4710
RioRP	0.6223	0.4320	0.1500
RioRPS	0.0201	0.4702	0.9660

## 2.6 Discussão

Os peixes, assim como os outros grupos de animais, apresentam particularidades reprodutivas que estão intimamente relacionadas aos locais em que elas habitam. Nas localidades amostradas as maiores atividades reprodutivas ocorreram durante o período da cheia, com maiores picos de reprodução durante os meses de novembro e dezembro, e a noite. Condições semelhantes, como grandes concentrações de ovos e larvas durante o período da cheia dos rios (Nascimento & Nakatani, 2006; Sanches *et al.*, 2006; Ziober *et al.*, 2014) e coletados durante a noite (Bialetzki *et al.*, 1999; Baumgartner, 2001) foram relatados para vários rios brasileiros. Durante esse período, várias espécies de peixes se reproduzem, sejam migradoras ou não migradoras (Sanches *et al.*, 2006). Em relação às espécies migradoras potamódromas, estas possuem seus ciclos reprodutivos intimamente

relacionados com o aumento da variação do nível do rio (Sanches *et al.*, 2006). Em ambientes lóticos a geomorfologia e as variações sazonais, causadas principalmente pela precipitação pluviométrica, interferem nos parâmetros físico-químicos da água (pH, oxigênio dissolvido, temperatura, vazão, condutividade, dentre outros) (Allan, 1997; Lowe-McConnell, 1999), condições observadas no presente estudo, a ponto de influenciarem o desenvolvimento gonadal dos peixes (Vazzoler, 1996). Segundo a mesma autora, a maioria das espécies mostra uma periodicidade em seu processo reprodutivo, quando, de forma gradativa, as gônadas se desenvolvem ao longo dos meses, até completar a maturação gonadal no momento em que as condições ambientais forem ideais à fecundação e ao desenvolvimento de sua prole (Vazzoler, 1996). Todo esse processo de mudança fisiológico-reprodutiva e o início da migração reprodutiva coincidem com as mudanças físico-químicas do ambiente (Shubart, 1954; Godoy, 1962; Bayley, 1973; Agostinho *et al.*, 2003; Capeleti *et al.*, 2006), indicando inclusive, que dificilmente um único fator atua isoladamente no processo reprodutivo (Barbiere, 2000; Binder *et al.*, 2011). Então, propõe-se que a elevação do índice pluviométrico e, por sua vez, o aumento da vazão seja a variável preponderante para culminar o processo reprodutivo, lançamento dos gametas sexuais na água, ao menos para os rios estudados do Domínio das Ilhas Fluviais e seu entorno, uma vez que os valores das demais variáveis ambientais em grande parte foram em consequência do aumento da vazão. Resultados parecidos foram constatados para os rios Paraná, Ivinhema e Uruguai, onde a vazão e a temperatura foram fatores significativos quando correlacionados a abundância de ovos e larvas (Fernandes *et al.*, 2009; Reynalte-Tataje *et al.*, 2011; Reynalte-Tataje *et al.*, 2012). No que concerne a maior atividade reprodutiva durante a noite, e em uma baixa transparência da água, pode estar relacionado a estratégia de diminuir a predação durante o processo de deriva dos ovos e das larvas. Agostinho *et al.*, (2002) menciona que com alta transparência da água, as larvas de espécies migradoras estão mais vulneráveis a predação, até mesmo por espécies de peixes pequenos pertencendo a diversos hábitos alimentares (por exemplo, forrageiras, insetívoros e planctófagos).

Os rios Pomba e Paraíba do Sul apresentaram diferenças médias positivas na abundância de ovos em relação ao rio Negro indicando diferenças espaciais na distribuição entre sub-bacias, independentes dos fatores abióticos. Supostamente deve estar correlacionado com as distâncias que separavam os pontos de coletas com os barramentos hidrelétricos localizados à montante. Nos dois primeiros rios, tais barramentos não estão muito distantes. O mesmo não foi observado para a abundância de larvas, uma vez que no rio Negro foram coletadas mais larvas do que ovos. Dentro deste contexto, o rio Negro é o rio

que apresenta maior trecho de continuidade fluvial. Noventa e dois quilômetros separam a hidrelétrica Chave do Vaz até o ponto de coleta. Autores reportam que o tempo de eclosão dos ovos das espécies potamódromas neotropicais é relativamente rápido (Luz *et al.*, 2001; Borçato *et al.*, 2004; Amorim *et al.*, 2009; Botta *et al.*, 2010) quando comparado ao tempo de eclosão das espécies migradoras de clima temperado. Esses autores encontraram entre representantes potamódromos das ordens Characiformes e Siluriformes tempos de eclosões variando entre 18 a 25 horas após a fecundação. Segundo Lucas & Baras (2001), o ponto da desova necessariamente deve estar em consonância com o tempo de desenvolvimento inicial da espécie, e com a distância a ser percorrida pelo ovo e por sua vez, pela larva até a região berçário, onde as larvas encontrarão abrigo e alimentação. Sob esse aspecto levando em consideração que as coletas nas margens, meio, superfície e profundidade não apresentaram diferenças significativas, uma vez que os rios são retilíneos e correntosos, sugere-se que existam áreas berçários não só no Baixo Curso rio Paraíba do Sul (Teixeira, 2013), como também na porção terminal do curso Médio Inferior, a qual abrigaria as larvas do rio Negro, em estágios avançados de desenvolvimento (fases de pré-flexão e flexão).

Muito embora todos os rios estudados já possuam empreendimentos hidrelétricos, os atuais comprimentos das continuidades fluviais ainda permitem a migração reprodutiva e a reprodução propriamente dita, caracterizando a região como áreas de reprodução.

Supostamente o encurtamento dessas rotas migratórias - região do DIF e seus afluentes, ocasionados por novos empreendimentos hidrelétricos, poderão vir a comprometer o processo reprodutivo dos peixes potamódromos, assim como a sobrevivência das larvas, tendo em vista que essas chegarão às regiões berçários, no Baixo Curso rio Paraíba do Sul, em estágios de desenvolvimentos prematuros, inadequados a natação e a alimentação. Sendo assim, estudos voltados para a identificação e determinação dos estágios de desenvolvimento inicial dos ovos e larvas são fundamentais para entender a importância de cada uma dessas rotas no contexto de manutenção dos estoques pesqueiros dos cursos Médio Inferior e Baixo rio Paraíba do Sul.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem ao Projeto Piabanha Centro Socioambiental e a Empresa de Pesquisas Agropecuário do Estado do Rio de Janeiro - PESAGRO-RIO, pelo apoio logístico durante o período de coleta dos ovos e das larvas; ao Sr. José Roberto Marinho e ao CNPq pelo suporte financeiro a essa pesquisa.

**Suporte financeiro**

Esta pesquisa teve suporte financeiro do Sr. José Roberto Marinho, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico–CNPq e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro – FAPERJ.

## CAPITULO 3

### **Early development and allometric growth patterns of the grumatã (*Prochilodus vimboides* Kner, 1859)**



### 3.1 Resumo

O objetivo deste estudo foi caracterizar o início do desenvolvimento e do crescimento alométrico do grumatã (*Prochilodus vimboides*). Ao todo foram descritos 266 amostras de ovos e larvas obtidas através de reprodução induzida. Os ovos são esféricos (média de 3,7 milímetros de diâmetro) e possuem vitelo amarelo. Após a fertilização e hidratação os ovos não são adesivos, mas pelágicos. O tempo decorrido entre os estágios de clivagem e de pós-flexão foi considerado curto (328 horas, 8054 horas-graus) em relação aos tempos de desenvolvimento de outras espécies reofílicas neotropicais, mas o tempo de incubação foi consideravelmente maior do que em outras espécies do gênero *Prochilodus*. As alterações anatómicas mais notáveis foram observadas entre o fim da fase larval vitelino e o início da fase de pré-flexão, quando as larvas possuíam natação direcionada e o sistema digestivo se tornou funcional, possibilitando a transição da alimentação endógena para a alimentação exógena. Após a eclosão, as larvas passaram de 6,04 para 15,15 milímetros em média (comprimento total). Duas fases de crescimento foram observadas nesta etapa: uma curva assintótica não linear durante a fase larval vitelino, e uma fase de crescimento linear após o início da alimentação exógena.

O crescimento alométrico da cabeça foi positivo quando comparado ao comprimento padrão e ao diâmetro do olho. Na fase posterior, as alturas do corpo e da cabeça cresceram mais quando comparado ao comprimento padrão.

O desenvolvimento morfológico e o crescimento alométrico em diferentes fases larvais impuseram alterações anatômicas e fisiológicas drásticas, supostamente sincrônicas com mudanças de habitat e os ciclos de inundação durante o período de desenvolvimento inicial.

Palavras-chave: larva; clivagem; reprodução induzida; alimentação exógena.

### 3.2 Abstract

The objective of this study was to characterise the early development and allometric growth of the *grumatã* (*Prochilodus vimboides*). We describe a sample of 266 eggs and larvae obtained through induced spawning. The eggs were spherical (mean 3.7 mm diameter), exhibited a yellow yolk and were non-adhesive and pelagic after fertilisation and hydration. The time elapsed between the early cleavage and post-flexion stages was considered short (328 hours, 8054 hour-degrees) in regard to the development times of other Neotropical rheophilic species, but time to hatching was considerably longer than in other *Prochilodus* species. The most notable anatomical changes were observed between the end of the yolk larval stage and the beginning of the pre-flexion stage, when the larvae displayed directed swimming and the digestive system became functional, enabling the transition from endogenous to exogenous feeding. After hatching, the larvae grew from 6.04 to 15.15 mm in Total Length average. Two growth phases were observed at this stage: a non-linear asymptotic curve in yolk-sac larvae, and a linear constant-rate growth phase after exogenous feeding started. Allometric growth related to standard length was positive for head length, negative for eye diameter, and switched between phases from negative to positive in body depth and head height. Morphological development and allometric growth in different larval phases impose drastic anatomical and physiological changes that are synchronic with habitat changes and the flood cycles during the early development.

Keywords: larvae; clivage; induced spawning; exogenous feeding

### 3.3 Introduction

The *Prochilodus* genus comprises 13 described species (Reis *et al.*, 2003), occurring in nearly every major South American watershed (Castro & Vari, 2004). All species of the genus *Prochilodus* are iteroparous and exhibit a single seasonal spawning event, high fecundity, external fertilisation and an absence of parental care (Lowe-McConnell, 1999). The grumatã (*Prochilodus vimboides* Kner 1859) occurs between the Jucuru and Paraíba do Sul Rivers, the Uruguai River and the headwaters of both the tributaries of the upper Paraná River and the São Francisco River (Castro & Vari, 2004). The conservation status of *P. vimboides* is vulnerable despite showing a wide geographic distribution. Still, there is no available ecological information regarding the initial and adult forms of the species. Studying early life stages is key for successful conservation programs, and morphological description is an important tool for distinguishing congeneric or sympatric species (Oliveira *et al.*, 2012). The great morphological similarity amongst congeneric species in early life stages (Snyder, 1981) and the lack of taxonomic keys are obstacles to the identification of material collected in the natural environment (Bialetzki *et al.*, 1998). Ahlstrom & Moser (1976) highlighted the importance of biological collections of ichthyoplankton because they enable the determination of life history characteristics, linking larval history to the adult phase. Such links are made mainly through meristic characters, also using a number of osteological characters, morphometric characters and pigmentation patterns. The species indicated above is an ecologically relevant species with a delicate population status. Thus, this study aims to describe the initial ontogeny of *P. vimboides* using morphological and meristic characters of the eggs and larvae and to determine allometric patterns of larval growth.

### 3.4 Material and methods

The breeding individuals of *P. vimboides* used to obtain egg and larvae samples were derived from the *ex-situ* bank of endangered species from the Paraíba do Sul River watershed maintained by the non-governmental organisation the Piabanha Project, at Itaocara/Rio de Janeiro/Brazil (21°38'6.33"S 42°1'59.25"W). The breeding stock for this species is composed by individuals captured in the Imbé River basin. We used 3 females and 6 males with approximately 2 years of age. During the pre-experimental period, the fish were housed in a density of individual/5m<sup>2</sup>.

Reproduction was induced using pituitary extract, followed by scheduled egg and larvae sampling, which occurred in November 2011 in the incubators of the Piabanha Project. The observed fertilization rate was approximately 80%. The induced reproduction method followed the technique adapted by Woynarovich & Horváth (1983). The temperature, dissolved oxygen, pH and conductivity of the water were monitored at the time of the second dose until the pituitary time of extrusion of the oocytes, using, respectively, oximeter accuracy of 0.01 mg/L water (YSI 550<sup>a</sup>), electronic conductivity with 1mS accuracy YSI – EC300.

The egg and larvae samples in the incubators were obtained following the protocol used by Romagosa *et al.* (2001), which consisted of sampling eggs every hour after fertilisation (AF) until hatching. Beginning on the second day, the methodology was changed. Samples were collected every two hours on the second day, every three hours on the third day, and every four hours on the fourth day. The samples ceased to be collected from the incubators when the beginning of exogenous feeding became clear. Thereafter, the larvae were transferred to a 1,700 m<sup>2</sup> ground tank that was previously prepared and provided with abundant natural food, receiving daily commercial feed powder (50% crude protein). For the next fifteen days, daily samples were collected from the tank using a net with a 500-micron mesh opening, all at the same time of day. The sampling procedures ceased on the nineteenth day, when the individuals started to exhibit a shape similar to the adults. The hour-degrees were recorded (sum of the water temperature values in degrees centigrade, measured during the incubation and nursery processes) using the thermometer of an oximeter (brand YSI 550<sup>a</sup>) during the sampling procedures for early developmental stages. A total of 266 individuals, comprising embryos (108) and larvae (158), were sampled and measured.

The swimming behaviour of the larvae was first recorded in the incubator soon after hatching and persisted until the pre-flexion stage. The records of swimming behaviour were subsequently correlated with the type of fish displacement and morphological changes observed in the larvae. Samples of embryos, larvae and juveniles were stored in numbered *Eppendorf* tubes with a buffered 4% formalin solution. The numbers represented the sequence of egg and larva sampling. Morphological descriptions and measurements were performed using a Bell Photonics stereomicroscope fitted with a digital camera (5 megapixels) and the software EUREKAM 10.0. The method proposed by Ahlstrom & Moser (1976), modified by Nakatani *et al.* (2001) was employed to describe the initial biometrics and ontogeny of the eggs and larvae originating from the artificial induction process. The

following measurements (in millimetres; mm) were obtained for the eggs: egg area (EgA), egg perimeter (EP), egg radius (ER), embryo area (EmA), embryo perimeter (EmP) and embryo radius (EmR).

The size of the perivitelline space was categorised in regard to its contribution to the total volume of the egg according to the recommendations made by Nakatani *et al.* (2001), as follows: restricted (0 – 9.9%), moderate (10 – 19.9%), wide (20 – 29.9%) and very wide ( $\geq 30.0\%$ ).

The following larval measurements were performed (mm): total length (TL), standard length (SL), yolk length (YL), yolk height (YH), head length (HL), head height (HH), rostrum length (RL), body height (BH), eye perimeter (EP), eye diameter (ED), snout-dorsal fin distance (SDFD) and snout-anal fin distance (SAFD).

The embryonic stages were categorised into developmental stages following Ahlstrom & Ball (1954) and Kendall *et al.* (1984) and the modification made by Nakatani *et al.* (2001). The developmental stages were as follows: early cleavage (EC; when the first cells are formed); early embryo (EE; when the embryo is differentiated); free-tailed embryo (FT; when the tail is released from the yolk); and final embryo (FE; when the embryo is completely formed and ready for eclosion).

After eclosion, the larvae were classified into five categories according to notochord flexion and to the development of the caudal fin and its supporting elements (following Ahlstrom & Ball, 1954; Kendall, *et al.*, 1984; Nakatani *et al.*, 2001). The categories were as follows: yolk-sac larva (YL; stage between hatching and the first exogenous feeding), pre-flexion (PF; from the beginning of exogenous feeding until the beginning of notochord flexion, when supporting elements of the caudal fin appear), flexion (FL; from the beginning of notochord flexion, when supporting elements of the caudal fin appear, until complete flexion of the notochord, the appearance of the pelvic fin bud and the beginning of dorsal and anal fin ray segmentation) and post-flexion (POF; from full notochord flexion, the appearance of the pelvic fin bud and the beginning of dorsal and anal fin ray segmentation until the full formation of the pectoral fin rays, absorption of the embryonic fin and the appearance of scales) and juvenile (JU; regarded as small adults, characterised by the complete formation of the fin rays and the appearance of scales, until the first indication of sexual maturity).

The following traits were emphasised in the larval ontogeny: the appearance of pigmentation, the appearance and regression of the embryonic fin, the appearance of branchial arches, the formation of the digestive tract, the emergence of gill slits and the

operculum, the appearance and quantity of fin rays, the quantity of myomeres, the position of the mouth area, the appearance of the olfactory hole, the appearance of the gas bladder and the appearance of the operculum.

Growth patterns in different larval stages were assessed by fitting four growth models to the relationship between total length (TL) and hour-degrees (HD): linear, von Bertalanffy, Gompertz and Logistic (Katsanevakis, 2006; Katsanevakis & Maravelias, 2008), separating the curves for yolk-sac larvae and peri-flexion larvae (combining pre-flexion, flexion and post-flexion stages). The linear model presents the simplest growth pattern, with a constant growth rate, whereas the remaining models decelerate growth towards an asymptotic body size. Model fitting was assessed by information criteria (AIC), and the model with the smallest AIC value was selected as best fitting.

The allometric patterns during different larval stages were modelled based on the SL power function, and the allometric coefficients were calculated with the power function  $Y = aX^b$ , where Y is the dependent variable (measured characteristic); X the independent variable (SL – Standard Length); *a* is the intercept; and *b* is the allometric coefficient. Isometric growth occurred when  $b = 1$ , positive allometric growth when  $b > 1$  and negative allometric growth when  $b < 1$ . The morphometric variables (response variables) were plotted against standard length, and the relationships were described using regression models for log-transformed variables (Kováč *et al.*, 1999).

### 3.5 Results

The extrusion occurred 288.9 degree-hours (DH) (°C), after hormonal induction. Under the following physicochemical average water temperature (°C), pH, dissolved oxygen (mg/l) and electrical conductivity (µS):  $28.89 \pm 0.44$  °C;  $6.7 \pm 0.43$ ;  $4.88 \pm 1.44$  e  $73.71 \pm 0.65$  µS. The number of hours leased after fecundation (per stage), the incubation water temperature and the recorded hour-degrees are described in Table 1.

Table 1: Environmental variables measured throughout the incubation of *Prochilodus vimbooides* eggs and larvae.

Stage	HAF	TH	temp $\pm$ sd	temp range (C°)	HD range
EC	8	8	28.00 $\pm$ 1.19	26-29	29-224
EE	4	12	26.00	26	250-328
FTE	10	22	25.40 $\pm$ 0.51	25-26	354-582
FE	2	24	26.50 $\pm$ 0.70	26-27	608-635
YS	64	88	26.26 $\pm$ 1.32	24-29	693-2294
PF	48	136	-	24	2870-3446
FL	120	256	-	24	4022-6326
POF	72	328	-	24	6902-8054

EC: early cleavage, EE: Early embryo, FTE: free-tailed embryo, FE: final embryo, YS: Yolk-sac larva, PF: pre-flexion, FL: flexion, POF: post-flexion, HAF: hours after fecundation per stage, TH: total hour, temp  $\pm$  sd: temperature  $\pm$  standard deviation, temp range C°: temperature range in degrees centigrade, HD range: hour-degree range.

The description of early development was divided into embryonic and larval stages. Six stages were observed within the embryonic development stage. The six stages lasted 24 hours at an average temperature of  $26.48 \pm 1.41$  C°. The most relevant events in early development are shown in Table 2.

The eggs were spherical, exhibited a yellowish yolk and were non-adhesive and pelagic after fertilisation and hydration. There were no significant differences in the egg perimeter observed amongst the cleavage stages (CL) until the final embryo (FE) stage.

The eggs presented a diameter range from 3.3 to 4.1 mm (mean  $\pm$  standard deviation:  $3.7 \text{ mm} \pm 0.19$ ) and an egg perimeter ranging from 10.21 to 12.84 mm (mean  $\pm$  standard deviation:  $11.52 \text{ mm} \pm 0.60$ ). The embryos exhibited an area of  $1.88 \text{ mm}^2 \pm 0.26$  (mean  $\pm$  standard deviation) and occupied  $17.30 \% \pm 2.46$  of the inner volume (a 12.98– 23.07 range) of the egg (egg area was  $10.95 \text{ mm} \pm 1.06$ ). Therefore, the perivitelline space was categorised as “very wide” (Nakatani *et al.*, 2001).

Table 2 Description of morphological events occurring after the fertilisation of *Prochilodus vimbooides* eggs, according to developmental stages.

Stage	HAF	HD	Description of development	
EC	1	29	cytoplasm reorganisation into the animal pole and vegetal pole	
	2	58	end of early cleavages	
	3	87	blastoderm with a domed shape	
	4	116	animal pole covering 40 % of the vegetal pole	
	5	144	animal pole covering 60 % of the vegetal pole	
	6	171	animal pole covering 80 % of the vegetal pole	
	7	198	animal pole covering 90 % of the vegetal pole	
	8	224	blastopore closure	
EE	9	250	cranial region distinct from the tail of the embryo	
	10	276	evidence the of optic vesicle	
	12	328	occurrence of 18 somites	
FTE	13	354	tail of the embryo detached from the yolk sac	
	14	379	yolk sac expanded parallel to the embryo's body	
	15	404	occurrence of 20 somites	
	16	429	otolith formation	
	19	504	development of the embryonic membrane of the primordial fin	
	FE	24	635	embryo body lengthening, increased frequency of tail beating, chorion rupture.

HAF: hours after fertilisation, HD: hour-degrees, EC: early cleavage, EE: early embryo, FTE, free-tailed embryo, FE: final embryo.

### 3.5.1 Early cleavage

The reorganisation of the cytoplasm into the animal pole and vegetal pole occurred in the first hour, along with the early cleavages (Fig. 1a b). Early cleavage ended in the second hour. The "blastocyst" stage began in the third hour, when the blastoderm exhibited a domed shape (Fig. 1c). "Gastrulation" occurred between the fourth and eighth hour, when epiboly increased, and the animal pole covered 40 % (Fig. 1d), 60 % (Fig. 1e), 80 % (Fig. 1f) and 90 % (Fig. 1g) of the animal pole during the 4<sup>th</sup>, 5<sup>th</sup>, 6<sup>th</sup> and 7<sup>th</sup> hour, respectively. The animal pole completely covered the vegetal pole in the eighth hour, corresponding to the blastopore closure stage (Fig. 1h). At this point, the embryo area ranged from 1.49 mm<sup>2</sup> to 1.84 mm<sup>2</sup> (1.66 mm<sup>2</sup> ± 0.14).



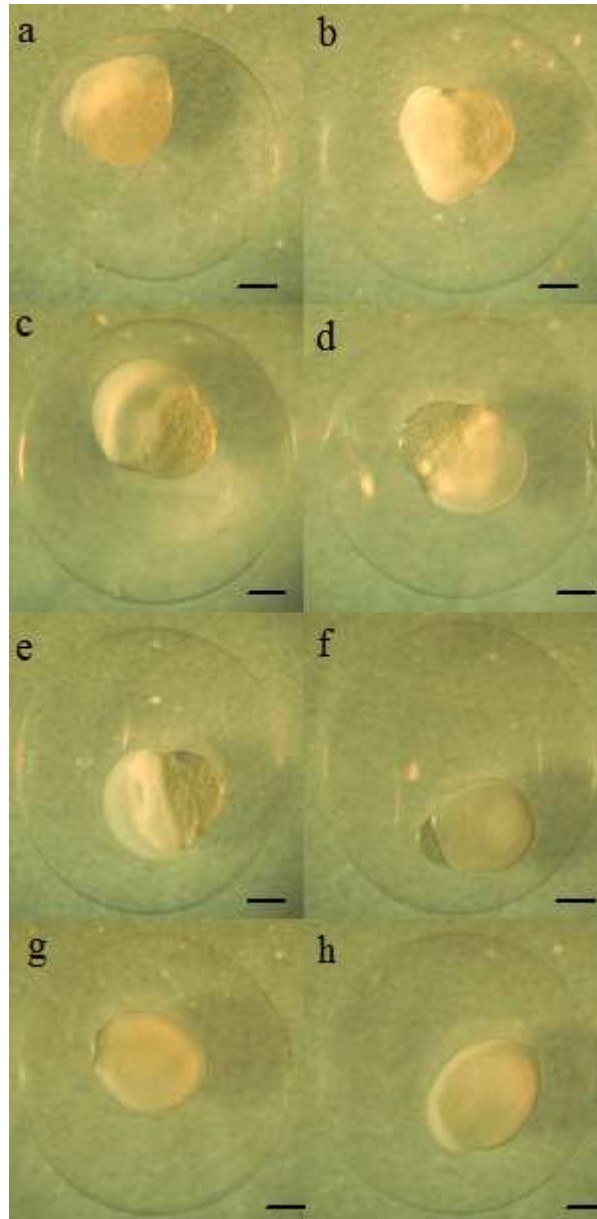


Figure 1: Early developmental stages of *Prochilodus vimboides*. (a and b) cleavage, first and second hour after fertilisation (HAF); (c) blastula, third HAF; (d) gastrula, fourth HAF (40% epiboly); (e) gastrula, fifth HAF (60% epiboly); (f) gastrula, sixth HAF (80% epiboly); (g) gastrula, seventh HAF (90% epiboly); (h) gastrula, eighth HAF (blastopore closure). Scale bars represent 0.28 mm.

### 3.5.2 Early embryo

Embryo differentiation began nine hours after fertilisation, when the cranial region and the tail of the embryo could be distinguished (Fig. 2a). The optic vesicle was clear in the 10<sup>th</sup> hour, and the embryo displayed 18 somites at the 12<sup>th</sup> hour.

### 3.5.3 Free-tailed embryo

The most relevant change in this stage occurred in the 13<sup>th</sup> hour, when the tail of the embryo was detached from the yolk sac. The yolk sac expanded parallel to the embryo's body at the 14<sup>th</sup> hour. Twenty somites were observed in the 15<sup>th</sup> hour, and the formation of otoliths began in the following hour. Another remarkable body change was observed only in the 19<sup>th</sup> hour, when the embryonic membrane of the primordial fin developed on the periphery of the caudal region of the larvae (Fig. 2b).

### 3.5.4 Final embryo

This stage occurred in two hours (23<sup>rd</sup> and 24<sup>th</sup>) (Fig. 2c), during which no relevant body changes occurred. However, the embryo ruptured the chorion at the end of this stage.

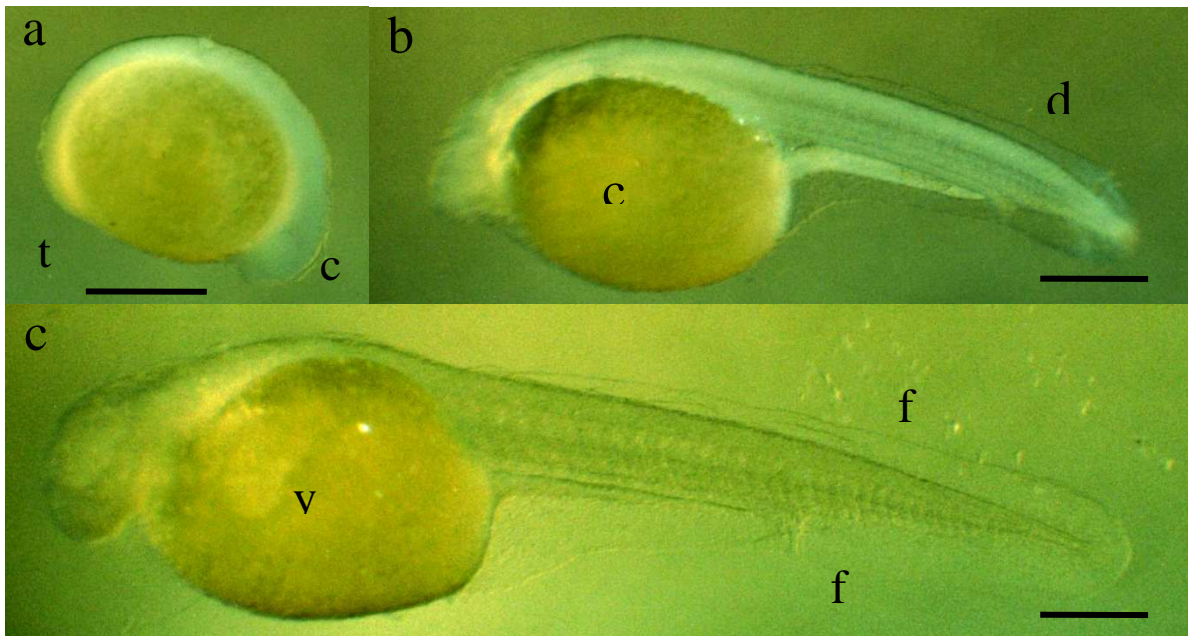


Figure 2: Early developmental stages of *Prochilodus vimboides*. (a) Early embryo, 9 hours after fecundation (HAF); (b) Free-tailed embryo, 19 HAF; (c) Final embryo, 24 HAF. Scale bars represent 1.0 mm. Abbreviations: cr – cranium; t – tail; ys – yolk sac; pf – primordial fin.

### 3.5.5 Larval development

Larval development lasted 302 hours, including 62 hours in the yolk larval stage, 48 hours in the pre-flexion stage, 120 hours in the flexion stage and 160 hours in the post-flexion stage. The most relevant events, morphometric data, meristic data and development times of the larval phases are shown in Tables 3 and 4.

Table 3 Description of the main ontogenetic events in *Prochilodus vimboides* larvae.

E	HAF	HD	Event description
	26	693	Invagination in the hyaline fin, delimiting the anus region.
	32	859	Dorsal portion of the hyaline fin beginning at the 6 <sup>th</sup> myomere; conspicuous optic vesicle and eyeball
	34	913	Pectoral fin bud; oral region ventrally located; regression of yolk tube expansion; appearance of appendices that make up the opercular region
	36	965	Differentiation and development of the brain vesicles; apparent heart.
	38	1017	Differentiated branchial arches and filaments; disappearance of yolk tube expansion.
	40	1071	Fourth ventricle and cerebellum apparent.
	42	1125	Early jaw differentiation; early operculum development; developing the pectoral fin in the region of the third pre- anal myomere; well-pigmented retina.
YS	46	1233	Visible olfactory openings; jaw extremity reaching the middle region of the eyeball from a perpendicular axis.
	51	1368	Digestive tract located above the yolk sac; early swimming bladder formation.
	57	1527	Subterminal mouth.
	60	1605	Terminal mouth.
	72	1906	Volume of the swimming bladder equivalent to the yolk sac volume; premaxillary bones.
	76	2006	End of the pectoral fin, still without rays, without surpassing the fourth pre-anal myomere.
	80	2102	Yolk sac with 1/3 of the original size.
	84	2198	Swimming bladder occupying 50% of the abdominal cavity.
PF	101	2629	Functional digestive tube and beginning of exogenous feeding; terminal mouth; yolk exhaustion.
	136	3446	Transverse streaks along the digestive tract; beginning of dorsal, caudal (with rays) and anal fin formation; early flexion of the notochord.
	160	4022	Flexion of the tip of the notochord; well-developed operculum.
FL	184	4598	Macula forming in the dorsal fin; all fins pigmented; gills visible through the operculum.
	208	5174	Caudal fin is homocercal in shape; horizontal expansion of the swim bladder to the 13th myomere.
	256	6326	Transverse bands along the flanks; dorsal fins with 11 rays, anal fin with 10 rays and caudal fin with 19 rays; formation of the pelvic fin bud.
POF	304	7478	Early adipose fin formation.
	328	8054	Appearance of scales.

E: stages = YS: yolk-sac larva, PF: pre-flexion, FL: flexion, POF: post-flexion, HAF: hours after fecundation, HD: hour-degrees.

Table 4 Mean (x), standard deviation (sd) and range of variation (range) of the morphometric and meristic variables obtained from *Prochilodus vimboides* larvae (n: number of individuals evaluated, YS: yolk-sac larva, PF: pre-flexion, FL: flexion, POF: post-flexion).

Stage	YS		PF		FL		POF	
N	125		4		30		10	
	x ± sd	range	x ± sd	range	x ± sd	range	x ± sd	range
TL	6.04±0.54	4.37-7.44	8.90±0.62	8.28-10.08	11.84±1.39	9.92-14.49	15.15±1.01	12.79-16.76
SL	5.80±0.52	4.26-6.99	7.68±2.40	8.02-1.39	9.95±1.05	8.43-11.93	12.45±0.69	10.86-13.52
YL	1.23±0.34	2.02-0.39	0.62±0.09	0.55-0.68	na	na	na	na
YH	0.75±0.21	1.41-0.36	0.58±0.15	0.47-0.68	na	na	na	na
RL	0.34±0.05	0.24-0.38	0.50±0.07	0.42-0.59	0.83±0.15	0.60-1.09	1.21±0.11	1.02-1.43
ED	0.29±0.05	0.18-0.38	0.52±0.04	0.46-0.58	0.69±0.08	0.56-0.86	0.94±0.09	0.82-1.08
HL	0.94±0.28	0.40-1.56	2.04±0.23	1.54-2.25	2.85±0.40	2.33-3.51	3.97±0.46	3.01-4.74
HH	0.08±0.10	0.54-1.04	1.50±0.20	1.23-1.67	2.06±0.371	1.67-2.81	3.09±0.37	2.43-3.74
BH	1.09±0.13	0.71-1.77	1.79±0.17	1.62-2.08	2.49±0.49	1.69-3.51	3.50±0.33	2.74-3.99
SDFD	na	na	na	na	5.20±0.96	4.39-8.51	6.13±0.46	2.74-3.99
SAFD	na	na	na	na	7.70±0.88	5.58-9.01	9.80±0.62	5.25-6.86
Myom.								
n	24		5		0		0	
	range		range		range		range	
Pra	24-25		24-25		dv	dv	dv	dv
Poa	12-13		12-13		dv	dv	dv	dv
rays								
P	na	na	na	na	na	na	na	dv
L	na	na	na	na	na	na	na	3-5
D	na	na	na	na	na	7-11	na	11-12
A	na	na	na	na	na	10-11	na	11-12
C	na	na	na	11	na	18-20	na	20-28

TL: total length, SL: standard length, YL: yolk length, YH: yolk height, RL: rostrum length, ED: eye diameter, HL: head length, HH: head height, BH: body height; SDFD, snout-dorsal fin distance, SAFD: snout-anal fin distance, P: pectoral fin, L: Pelvic fin, D: dorsal fin, A: anal fin, C: caudal fin, dv: difficult visualisation, na: not available, Myom: myomeres, Pra: pre-anal, Poa: post-anal). The absence of measurements is a consequence of the incomplete development of the larvae.

### 3.5.6 Yolk-sac larva

This stage showed the greatest number of bodily changes. The larvae spent most of the time resting and clustered in the bottom of the incubator after hatching. The larvae performed vertical movements leading to the surface or near the surface in a short time span, then passively returned to the bottom with their head turned downward. The following structures developed in this stage: pectoral fins (without rays), the swimming bladder, and the optical and brain vesicles. In addition, the number of myomeres increased along the

torso; the respiratory system (composed of the arches, gill filaments and opercula) developed; and the heart and nasal opening began to be formed.

These structural acquisitions occurred along with the initiation of horizontal swimming (72 hours after fecundation). The digestive system developed; the mouth was terminal and open; the digestive tract was elongated, and the anus was open; and there was a reduction of the yolk reserve, which was nearly exhausted at this point. Pigments were present in several body parts (Fig. 3a).

### **3.5.7 Pre-flexion**

The punctate and dendritic chromatophores increased progressively on the snout, the back of the head and the sides of the body, extending to the early portion of the anal region during the pre-flexion stage of the notochord. The number of myomeres along the torso increased, and the height of the hyaline fin was reduced along with the development of the caudal (with rays) and anal fins. In the pre-flexion stage, the larvae undergo more active movement in all directions in the water column. Food was observed in the digestive tract lumen based on transparency, along with the exhaustion of the yolk reserve. Notochord flexion began at the end of the pre-flexion stage Fig. 3b. The numbers of pre-anal and post-anal myomeres (24-25 and 12-13 myomeres, respectively) were the same in the yolk-sac and pre-flexion stages (Table 3). In the flexion and post-flexion stages, it was not possible to quantify the number of myomeres throughout the body due to body growth and the occurrence of additional pigment.

### **3.5.8 Flexion**

Flexion of the tip of the notochord began at the flexion stage. A high concentration of pigments was observed in the eyeballs, around the borders of the myomeres and on the dorsal fin, beginning the formation of a macula. Hours later, pigmentation intensified in the flanks forming transverse bands. The opercula were more developed. The caudal, anal and dorsal fins started to show rays, and the pelvic fin bud began to form (Fig. 3c).

### **3.5.9 Post-flexion**

This was the longest larval development stage, lasting 160 hours. The regression of the hyaline fin in the dorsal area, except for in the caudal peduncle region, and adipose fin formation occurred in this stage. Fin development, considering the presence of rays, occurred in the following order: pectoral, caudal, dorsal, anal, pelvic and adipose. At the end



of the post-flexion phase, the caudal, dorsal, anal and pelvic fins already exhibited rays. The quantification of pectoral fin rays was difficult because these rays were difficult to see. The adipose fin does not present rays at any life stage in this species. Finally, scales appeared, and complete regression of the hyaline fin occurred. The hyaline fin still exists in the caudal peduncle and in the early juvenile stage, when individuals begin to resemble adults in shape (Fig. 3d).



Figure 3: Early developmental stages of *Prochilodus vimboides*. (a) Yolk-sac larva, 42 HAF; (b) Pre-flexion, 136 HAF; (c) Flexion, 256 HAF; (d) Post-flexion, 304 HAF. Scale bars represent 1.0 mm. Abbreviations: dt – digestive tube; ys – yolk sac; m – macula; n – flexed notochord; od – developed operculum. HAF: hour after fecundation

### 3.6 Growth and Allometry

Two larval growth stages, alternating with a stabilisation stage, were observed after the hatching of *P. vimboides* eggs. The first growth stage occurred throughout most of the yolk-sac larva phase (except the last hours), 88 hours AF or 2.294 HD. In this first stage, the non-linear growth models were all equivalent according to AIC criteria (Gompertz AIC = 13.44, Logistic AIC = 14.61, von Bertalanffy AIC = 16.37) as the difference between the lowest AIC and the remaining ones is  $< 3$ . The linear model performed significantly worse (linear AIC = 208.68), suggesting a deceleration of growth towards the asymptotic length of 6.73 mm (sd = 0.0693mm) (Fig. 4a). There was no significant growth once the yolk was nearly consumed (Fig. 4b).

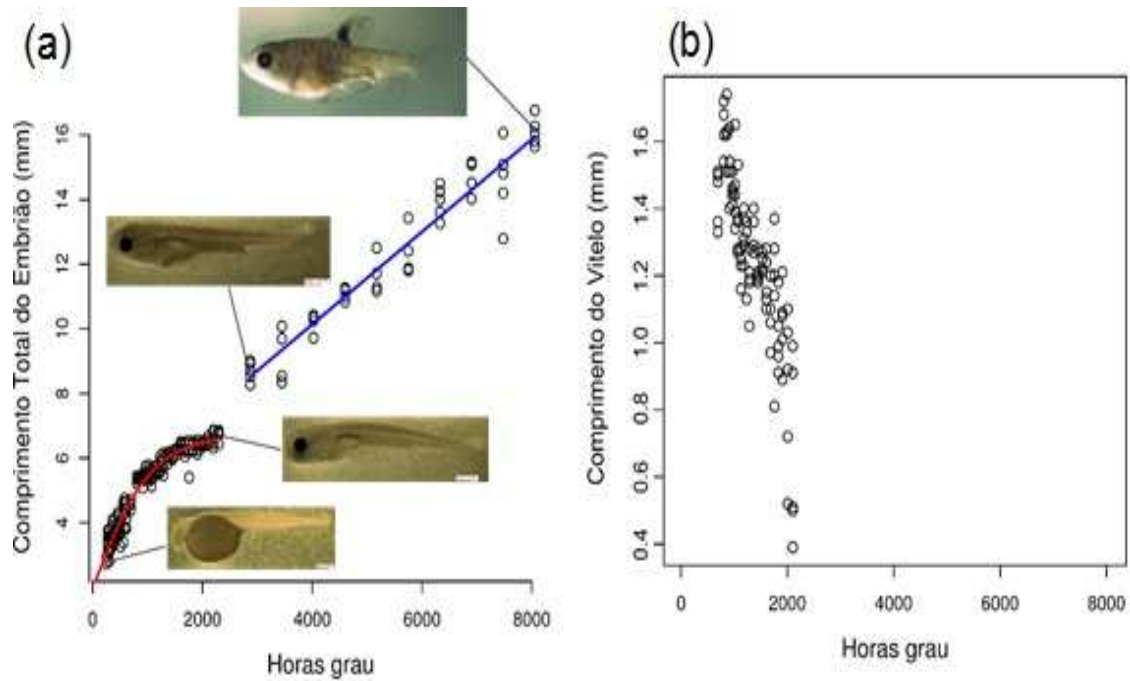


Figure 4: (a) Growth curves for the different developmental stages, indicating the models with the best fit. The Gompertz model (red line) showed the best fit (AIC criterion) in the yolk-sac larval stage, and the linear model (blue line) showed the best fit in the flexion, pre- and post-flexion (peri-flexion) stages. (b) Scatter plot showing the decrease in yolk length with hour-degrees in *Prochilodus vimboides* during the yolk-sac larva phase.

The second growth phase combined the period before and after notochord flexion, and the fit of the models were all equivalent (Linear AIC = 99.60, Logistic AIC = 101.21, Gompertz AIC = 101.35, von Bertalanffy AIC = 105.84). In this case, we parsimoniously selected the linear model as the best fit and assume a constant growth rate of 0.00144 mm/hour-degree (Fig. 4A) throughout the flexion stages, all the way to the juvenile stage.

Because of the biphasic growth, allometric coefficients were calculated for each larval stage separately (Table 5, Fig. 5).

Given that head length is partially determined by rostrum length, its positive allometry must be due to the growth of the braincase. Eye diameter (ED) exhibited negative allometry in all phases (Table 5, Fig. 5C), decreasing its relative proportion relative to the head (Table 6). The allometric coefficient of body height (BH) was not significant (actually a negative relation) in the larval yolk phase (Table 5, Fig. 5E). This negative association is due to the reduction of the yolk sac, causing a “decrease” in body height as the length increases. In later stages, body height displayed a positive allometric coefficient, causing an increase in the body proportion for this variable (Table 6). The distances from the snout to the dorsal and anal fins were both isometric (Table 5, Fig. 5F), but could only be measured in the peri-flexion stages.

Table 5 Allometric coefficients (regression on standard length) for the different larval growth stages of *Prochilodus vimboides*.

Yolk-sac larva stage						
Variable	Coefficient	Stand. Error	LL	UL	Allometry	
HL	1.739	0.077	1.58	1.8	positive	
HH	0.382	0.037	0.30	0.4	negative	
RL	0.259	0.355	-0.52	1.0	NS	
BH	-0.141	0.048	-0.23	-0.0	NS	
ED	0.406	0.029	0.34	0.4	negative	
Peri-flexion stage						
HL	1.30	0.054	1.19	1.4	positive	
HH	1.31	0.054	1.21	1.4	positive	
RL	0.97	0.036	0.90	1.0	isometry	
BH	1.32	0.037	1.25	1.4	positive	
ED	0.60	0.032	0.53	0.6	negative	
SAFD	1.04	0.024	0.99	1.0	isometry	
SDFD	0.92	0.042	0.83	1.0	isometry	

The 95% lower (LL) and upper (UL) confidence limits based on a *t* distribution. The peri-flexion stage is the sum of the pre-flexion, flexion and post-flexion stages. HL: head length, HH: head height, RL: rostrum length, BH: body height, ED: eye diameter, SAFD: snout-anal fin distance, SDFD: snout-dorsal fin distance, NS: not-significant



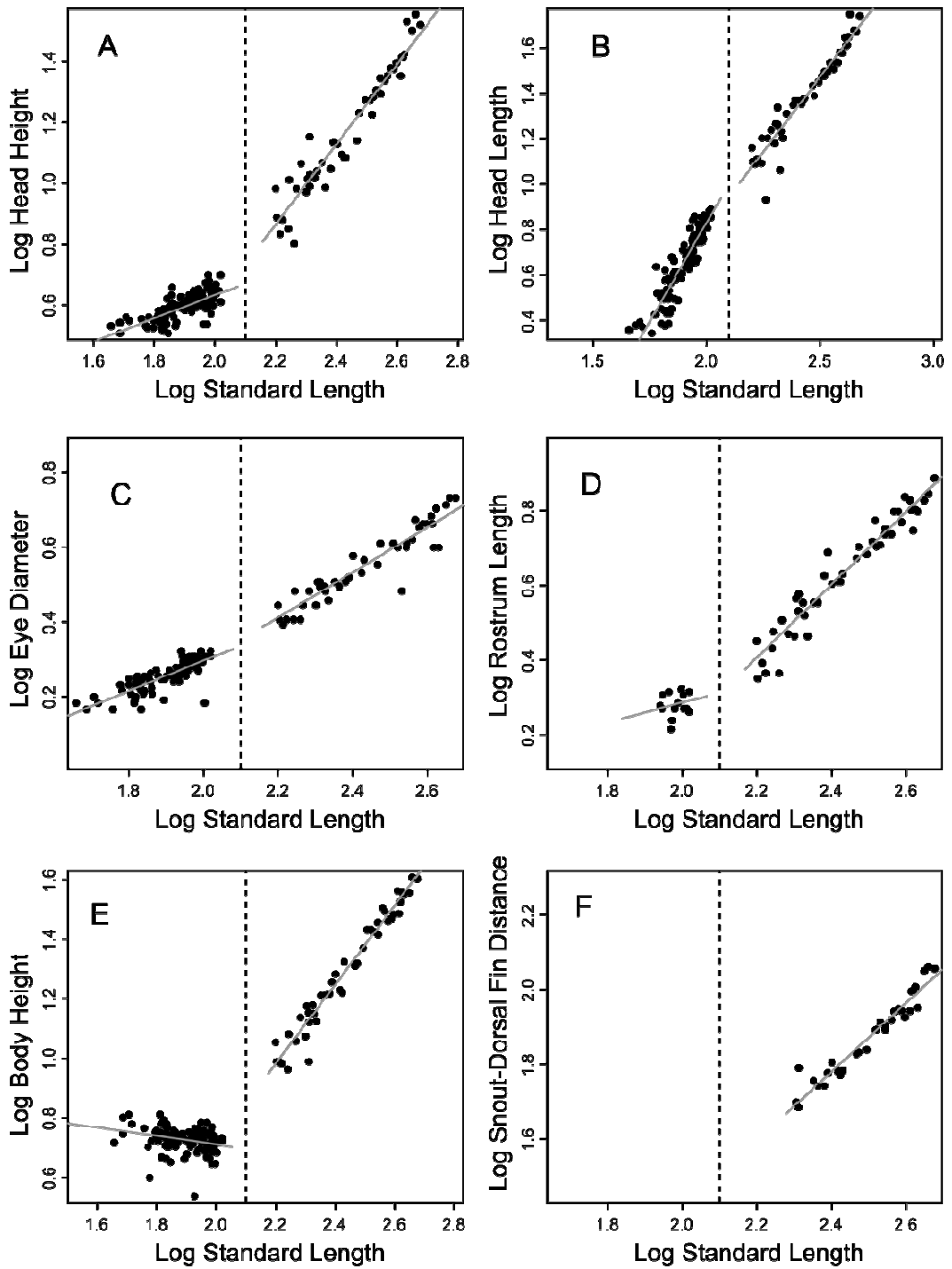


Figure 5: Allometric regression lines between log-transformed variables (A) head height, (B) head length, (C) eye diameter, (D) rostrum length, (E) body height and (FF) snout-dorsal fin distance relative to standard length of *Prochilodus vimboides* during the yolk-sac larva stage (to the left of the vertical dotted line) and pre-flexion, flexion and post-flexion stages (peri-flexion, to the right of the dotted line), a total of 19 days after fertilisation.

Table 6 Body proportions (%), means (x), standard deviations (sd) and range of variation (range) of the morphometric and meristic variables obtained from *Prochilodus vimbooides* larvae. n: number of individuals evaluated, BP: body proportions, YS: yolk-sac larva, PF: pre-flexion, FL: Flexion, POF: post-flexion, SL: standard length, YL: yolk length, YH: yolk height, RL: rostrum length, HL: head length, HH: head height, SDFD, snout-dorsal fin distance, SAFD: snout-anal fin distance, ED: eye diameter; na: measurement not available. The absence of measurements is a consequence of the incomplete development of the larvae.

Stage	YS		PF		FL		POF	
N	78		5		21		15	
	x±sd	range	x±sd	range	x±sd	range	x±sd	range
BP (%)								
YL/SL	21.40±6.65	7.40-32.63	na	na	na	na	na	na
YH/SL	13.11±13.97	5.95-24.60	na	na	na	na	na	na
RL/SP	na	na	5.97±0.68	5.13-7.11	0.07±0.02	0.04-0.12	9.86±0.46	9.30-10.57
ED/HL	32.68±7.62	23.53-59.57	25.47±2.79	22.22-32.46	24.81±2.82	17.91-33.86	23.70±2.44	17.29-27.90
HL/SL	16.37±3.67	8.64-23.32	24.9±2.55	17.94-27.30	28.41±2.04	2052-30.88	27.71±36.80	31.83-32.60
HH/SL	14.26±2.07	9.71-18.67	17.75±2.14	14.33-20.83	20.65±1.85	18.86-23.87	28.10±1.33	25.23-30.02
BH/SL	19.19±2.94	12.09-29.55	21.18±1.33	19.28-23.31	24.77±2.33	18.59-29.42	28.10±1.33	25.23-30.02
SAFD/SL	na	na	na	na	75.79±6.55	49.42-79.59	78.68±1.05	76.51-79.83
SDFD/SL	na	na	na	na	49.23±1.65	47.42-50.65	49.24±1.49	46.89-51.61

### 3.7 Discussion

The duration of the embryonic period and the early development pattern vary considerably among different fish species (Balon, 1981). Water temperature is the environmental factor that most strongly influences development in these organisms (Chambers & Leggett, 1987; Souza, 2004; Ninhaus-Silveira *et al.* 2006) and higher temperatures speed the early development process. Longer photoperiods during incubation also accelerates the initial development and egg hatching (Hernández Cuadrado, 2013). *P. vimbooides* showed a slightly longer hatching time (24 hours after fecundation - HAF) at an average temperature of  $26.5 \pm 1.41$  °C when compared with the hatching times of other species belonging to the same family (Characidae) at similar or lower temperatures, such as *Leporinus frederici* 13 HAF at 27 °C (Sanches *et al.*, 2001), *L. piau* 21 HAF at 24 °C (Borçato *et al.*, 2004), *Prochilodus magdalenae* 14 HAF at 24 °C (Arias-Gallo *et al.*, 2010), and *P. lineatus* 18 HAF at 25 °C (Botta *et al.*, 2010; Hernández Cuadrado, 2013). Although egg size in *P. vimbooides* lies well within the range of other species in the genus (2.23-4.25 mm) (Nakatani *et al.*, 2001; Arias-Gallo *et al.*, 2010), the yolk-sac larvae are larger (mean = 5.8 mm) than in other *Prochilodus* species (Arias-Gallo *et al.*, 2010). Hatching times can be adaptive as part of life history strategies, as they can be related to environmental particularities and species-specific developmental rates (Fuiman, 2002). The delayed

hatching in *P. vimboides* might be adaptive, as their larvae hatch with larger size than other *Prochilodus* species. It is, however, difficult to assess the relative influence of environmental factors other than temperature (light, pH, oxygen) in this comparison.

*P. vimboides* larvae hatch with a large yolk sac in relation to their body length (~30%), becoming quite heavy and spending much of the time at the bottom of the incubator. A change in swimming patterns from vertical to horizontal was observed during the larval development. Initially, the larvae performed only vertical ascending movements until reaching the water surface and then returned passively to their original position. After the development of sense organs and pectoral fins (though without rays), the individuals became capable of swimming both vertically and horizontally. Mouth opening and filling of the swimming bladders occurred simultaneously, as larvae were able to swallow air to inflate the gas bladder (Pinder & Gozlan, 2004). The development of fins facilitates balance and direction in the water column, being also responsible for the swimming behaviour changes in other species (Santos, 1992; Santos & Godinho, 2002; Beerli *et al.*, 2004; Mukai *et al.*, 2010).

In the pre-flexion stage (101 HAF), a transition occurred from endogenous to exogenous feeding. The mouth, digestive tract and anus became functional, enabling the larvae to capture, digest and excrete food. The same pattern of anatomical development is observed in the pre-flexion stage of the congeneric species *P. magdalenae*, 106 hours after fecundation (HAF), when the yolk reserve becomes depleted (Arias-Gallo *et al.*, 2010). Similar transitions have been described for *Engraulis mordax* (Lasker *et al.*, 1970); *Cyprinus carpio*, *Clarias gariepinus* (Van Snik *et al.*, 1997); *Danio rerio* (Jardine & Litvak, 2003); *Leporinus piau* (Borçato *et al.*, 2004) and *Steindachneridion parahybae* (Honji *et al.*, 2012).

Yolk depletion and the food transition proved to be the time of stabilisation in the growth of *P. vimboides* larvae. Yolk consumption in teleost fish occurs in three distinct stages, the first of which is the final embryo stage, while the other two occur during the yolk-sac larva stage (Heming & Buddington, 1998; Peña & Dumas, 2009). In contrast, *P. vimboides* undergoes two separate growth stages, before and after the beginning of the pre-flexion stage. The first at the expense of yolk consumption, with a decelerating growth rate. The second, based on exogenous feeding, with a constant growth rate (at least for the period measured). This switching of growth phases is critical from a nutritional point of view and may kill the larvae if they do not find exogenous food (Bailey & Houde, 1989). According to Blaxter (1988), the larvae must have a functional mouth and intestine and developed eyes after absorbing the yolk to be able to seek exogenous dietary sources (e.g., plankton and/or

organic particles). The allometric positive growth of head dimensions is associated with changes in feeding habits, with brain mass development and with the development of bones in the oral region (Kováč, *et al.*, 1999), indicating that many relevant morphological changes with ecological importance are accomplished even before they are functionally needed (Gisbert, 1999). The mouth must be open, and all organs related to prey capture (eyes, sensory organs, fins) and food intake (absorption, digestion and assimilation) must be formed for development to continue (Yúfera & Darias, 2007).

Changes in the oral region began in *P. vimboides* at the yolk-sac larva stage. In this period, the oral region shifted from a ventral to a terminal position, which is apparently synchronised with the food transition phase. Head allometry was positive throughout all development phases, however, the eye showed negative allometry and progressively decreased its proportion relative to head length after exogenous feeding began. Eye development with positive allometry is usually related to visual acuity (Fuiman, 2002) and its relevance to visualize prey and rheotactic behaviour (Gisbert, 1999; Gisbert *et al.*, 2002), and allometric positive growth of eye diameter during the yolk-sac larva phase is common (Gisbert, 1999; Fuiman, 2002; Gisbert *et al.*, 2002; Kupren *et al.*, 2014). This pattern suggests that the ability of *P. vimboides* larvae to capture prey may not depend on visual development.

In the post-flexion stage, body length and depth increased, fin development occurred, and the larvae moved rapidly in the water column. Better performance in propulsion leads to increased efficiency in prey capture, in both quality and quantity, and enables greater agility in escaping predators (Blaxter, 1988; Bailey & Houde, 1989; Fuiman, 2002). Such abilities should positively influence the survival of *P. vimboides* larvae, as observed for *P. magdalanae* and *P. lineatus*, due to the similarities in the early development of these species.

The external morphology of *P. vimboides* resembled that of an adult at the end of the post-flexion stage, when the specimens exhibited a fusiform and tall body, long pectoral fins and a developed caudal fin. These morphological characteristics are typical of species inhabiting regions with strong river currents (Alexandre *et al.*, 2014). It may be inferred that the larvae of *P. vimboides* inhabit marginal lakes that are abundant in natural food, at least in the pre- and post-food transition stages. Cunico *et al.* (2002) indicated that marginal lakes represent genuine natural nurseries that meet the feeding needs of growing fish larvae. Therefore, a relationship between species morphology and ecology may occur in the early stage of ontogeny, as the chronology of the early development of the eggs and larvae of *P.*

*vimboides* appear to be in line with the transition stages from lotic (river channel) to lentic (flooded marginal areas) and again to lotic environments (when the juveniles return to the river channel). The description of larval development presented here allows for the identification of specimens in ecological field studies, where a number of species breed at the same time. The synchrony of the reproductive period, larval drift and floods ensure maximum food availability in the early stages of development, enabling rapid growth through the early larval stages, which are vulnerable to more intense predation (Fuiman, 2002). The connection between fish reproduction and flood cycles through larval development enables the maintenance of viable populations and is relevant for management and decision taking by environmental agencies.

### **Acknowledgements**

The authors thank the Piabanha Centro Socioambiental Project and Agricultural Research Enterprise of Rio de Janeiro State (Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro - PESAGRO-RIO) for the logistical support provided during the egg and larval sampling periods. The manuscript has been greatly improved by the suggestions of Prof. I. V. Isler and Prof. W. A. Olaniyi.

### **Financial Support**

Work by the authors is supported by Mr. José Roberto Marinho, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ.

## CAPÍTULO 4

**Morfometria e alometria de larvas de cinco espécies de peixes Characiformes da Bacia Hidrográfica do Rio Paraíba do Sul com ocorrência no Curso Médio Inferior do Rio Paraíba do Sul.**

#### 4.1 Resumo

O objetivo deste estudo foi analisar a morfometria e alometria de larvas pertencentes a cinco espécies potamódromas. Reprodutores de cinco espécies pertencentes à ordem Characiformes: *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816), *Leporinus steindachneri*, Eigenmann, 1907, *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1837), *Prochilodus vimboides* Kner, 1859 e *Brycon insignis*, Steindachner, 1877, foram utilizados para a obtenção das amostras de larvas durante as fases de desenvolvimento pré-flexão, flexão e pós-flexão. Quando observados o tempo dos valores das amplitudes das horas-grau (HG), a alometria ea morfometria dentro do período compreendido entre as fases pré-flexão a pós-flexão, constatou-se a existência de três grupos de desenvolvimento. O Grupo 1 composto pelas espécies *S. brasiliensis* e *B. insignis*; o Grupo 2 formado por *P. lineatus* e *P. vimboides*; e o Grupo 3, formado por *L. steindachneri*. O Grupo 1 apresenta menor tempo de desenvolvimento e larvas mais esguias. O Grupo 2 possui tempo moderado de desenvolvimento e larvas com formato mais arredondado. O Grupo 3 apresenta maior tempo de desenvolvimento e larvas com morfologia moderada. Durante a fase de pré-flexão de *B. insignis* os resultados alométricos indicam que a larva apresenta taxas de crescimento da cabeça, focinho, diâmetro do olho e altura corporais proporcionalmente menores que a do comprimento total, caracterizando a larva como alongada. *S. brasiliensis* acompanha parcialmente esse padrão alométrico, diferindo, contudo, em relação às proporções comprimento da cabeça e altura do corpo, as quais são isométricas. *L. steindachneri* apresenta coeficientes alométricos não significativos para comprimento do focinho, altura do corpo e diâmetro do olho; e comprimento da cabeça isométrico de forma que o comprimento da cabeça cresce proporcionalmente ao comprimento total da larva caracterizando-a também como larva alongada. Categoricamente, ao final da fase de pós-flexão, as cinco espécies se enquadraram em três categorias: *P. lineatus* e *P. Vimboides* como larvas mais “arredondadas” e *S. brasiliensis* e *B. insignis* como larvas mais esguias, e *L. steindachneri* como larva com morfologia moderada. De acordo com a classificação por validação cruzada da análise discriminante, baseado nas sete variáveis morfométricas, foi possível classificar *B. insignis* em 90%, *L. steindachneri* 83%, *P. lineatus* com 91%, *P. vimboides* com 80% e *S. brasiliensis* em 96% de exatidão. Esses resultados contribuirão com o processo de identificação sistemática.

Palavras-chave: larvas, desenvolvimento inicial, potamódromos, variáveis morfométricas.

## 4.2 Abstract

The aim of this study was to analyze the morphology and allometry larvae belonging five potamódromas species. Five species of breeding belonging to the order Characiformes *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816), *Leporinus steindachneri*, Eigenmann, 1907), *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1837), *Prochilodus vimboides* Kner, 1859) and *Brycon insignis*, Steindachner, 1877, were used to obtain larvae samples during the stages of pre-flexing development, post-flexing and juvenile. When observed the time of the values of the amplitudes of the hour-grade (HG), the allometry and morphometry within the period between the pre-flexing phase post-flexing, it was found that there are three development groups. Group 1 consists of the species *S. brasiliensis* and *B. insignis*; Group 2 consists of *P. lineatus* and *P. vimboides*; And Group 3, formed *L. steindachneri*. Group 1 has less development time and more slender larvae. Group 2 has moderate development time and larvae with more rounded shape. Group 3 presents greater development time and with moderate larvae morphology. During the pre-flexing *B. insignis* the allometric results indicate that the larva has growth rates head, nose, eye diameter and body height proportionately smaller than the total length, characterized larvae and elongated. *S. brasiliensis* partially accompanies this allometric pattern, differing, however, in the relative proportions of the length of the head and body height, which are isometric. *L. steindachneri* presents no significant allometric coefficients to snout length, body height and diameter of the eye; Isometric and length of the head so that the length of the head increases in proportion to the total length of the larva characterizing it also as elongated larvae. Categorically, after the end of the juvenile phase, the five species not fit into three categories: *P. lineatus* and *P. vimboides* larvae as more "rounded" and *B. insignis* and *S. brasiliensis* as more slender and *L. steindachneri* larvae with moderate morphology. According to the classification by cross-validation of discriminant analysis, based on seven morphometric variables, it was possible to classify *B. insignis* in 90%, *L. steindachneri* in 83%, *P. lineatus* with 91%, *P. vimboides* with 80% and *S. brasiliensis* in 96% accuracy. These results contribute to the systematic identification process.

Keywords: larvae, early development, potamódromos, morphometric variables.



### 4.3 Introdução

O conhecimento sobre o desenvolvimento inicial dos peixes é essencial para a correta identificação dos ovos e das larvas em seu ambiente, uma vez que a grande semelhança entre as diferentes espécies de peixes dificulta o trabalho dos taxonomistas, não só em estudos de biologia pesqueira, sobretudo em ecologia do ictioplâncton (Silva, 2010).

No Brasil existem 2.587 espécies de peixes distribuídas entre 517 gêneros e 39 famílias pertencentes a nove ordens (Buckup *et al.* 2007). Contudo, grande parte dessas espécies ainda não possui sua ontogenia inicial descrita. Essas lacunas de conhecimento somadas à grande similaridade morfológica entre as espécies nos primeiros estágios de vida (Snyder, 1981) e as escassas chaves taxonômicas, tornam-se grandes obstáculos no momento da identificação do material coletado no ambiente natural (Bialetzki *et al.*, 1998). A dificuldade intensifica-se, pois o desenvolvimento inicial das larvas dos peixes é um contínuo de eventos e transições que se expressam de forma gradual ou abrupta (Webb, 1999).

Durante o desenvolvimento inicial, larvas de peixes passam por rápidos e complexos processos de morfogênese e diferenciação (Kupren *et al.* 2008), incluindo mudanças nas relações morfométricas, alterações fisiológicas e por sua vez, no comportamento (Comabella *et al.* 2014). Este desenvolvimento, que é regulado pela expressão gênica e influenciado pelo ambiente (Gilbert & Bolker 2003), resulta em diferentes fenótipos com coeficientes de crescimento diferenciais, definidos como alometria (Gilbert & Doroshov 2006), e estão em consonância com as necessidades de sobrevivência no ambiente natural (Sala *et al.* 2005; Devlin *et al.* 2012).

Como complemento ao estudo de ontogenia inicial, destaca-se a morfometria obtida através da análise de função discriminante que é uma técnica multivariada que permite a identificação do grupo a que pertencem determinados espécimes a partir de uma função matemática (a função discriminante) baseada em variáveis morfológicas medidas nos próprios indivíduos (Monteiro & Reis, 1999).

No presente trabalho foi analisado o desenvolvimento inicial de cinco espécies da Ordem Characiformes *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816) (dourado), *Leporinus steindachneri*, Eigenmann, 1907 (piaú-caboclo), *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1837) (curimatã), *Prochilodus vimboides* Kner, 1859 (grumatã) e *Brycon insignis*, Steindachner, 1877 (piabanha), todas com ocorrência na bacia hidrográfica do rio Paraíba do Sul/Brasil. Para tanto foram utilizadas técnicas morfométricas, na análise de diferentes

etapas de desenvolvimento, usando uma abordagem comparativa. Foram levantadas duas questões principais, a fim de melhorar a compreensão das transições do desenvolvimento inicial, assim como, através da morfometria, fortalecer o processo de identificação sistemática: (1) emerge um padrão alométrico de crescimento nas cinco espécies estudadas? (2) as variáveis mensuradas são boas métricas para definir padrões morfométricos, a ponto de contribuir com o processo de identificação taxonômica?

#### **4.4 Metodologia:**

Reprodutores de cinco espécies pertencentes à ordem Characiformes *S. brasiliensis*, *L. steindachneri*, *P. lineatus*, *P. vimboides* e *B. insignis*, sendo as duas últimas ameaçadas de extinção, foram utilizados para a obtenção das amostras de larvas. Os adultos são oriundos do banco “*ex-situ*” de espécies de peixes da bacia hidrográfica do rio Paraíba do Sul mantido pela organização não governamental Projeto Piabanha, em Itaocara/Rio de Janeiro (21°38'6.33"S / 42° 1'59.25"O).

As reproduções induzidas, seguidas de coletas programadas das larvas ocorreram em novembro de 2011, nas incubadoras do Projeto Piabanha.

O indutor utilizado para maturação gonadal foi a hipófise desidratada de carpa comum, na forma de extrato bruto, injetado na base da nadadeira pélvica ou da nadadeira peitoral. As fêmeas receberam duas dosagens, sendo a primeira de 0,5 mg de hipófise/kg de peso vivo e a segunda de 5,0 mg de hipófise/kg de peso vivo, com intervalo entre as doses de 08 a 14 horas. Os machos receberam uma única dose, na concentração de 2,5 mg de hipófise/kg de peso vivo, simultaneamente à segunda dose das fêmeas. Esta metodologia foi uma adaptação da técnica descrita por Woynarovich & Horváth (1983) e adaptada para as espécies alvo dessa pesquisa.

Os ovos foram incubados em incubadoras cilíndrico-cônicas de 200 litros, em densidade de 0,5 grama de ovos/litro. Com o objetivo de promover aporte de oxigênio para ovos e larvas e a retirada de metabólitos, foi mantida uma vazão de água de valor constante de aproximadamente 100 ml/s.

Em relação às coletas das larvas nas incubadoras foi seguido o protocolo utilizado por Romagosa *et al.*, (2001) com modificações (Souza, 2004). No segundo dia de incubação, após a eclosão, as coletas de larvas nas incubadoras ocorreram a cada duas horas; no terceiro dia a cada três horas; no quarto dia a cada quatro horas e no quinto dia, a cada cinco horas. Após esse período as larvas foram transferidas para tanques de terra, de 1.700 m<sup>2</sup>,

previamente preparados, com abundância de alimento natural e passaram a receber diariamente ração comercial em pó, contendo 50% de proteína bruta.

As amostragens nos tanques foram diárias, utilizando rede com malha 500 micras, ocorrendo em uma mesma hora, e foram encerradas quando os indivíduos, de cada espécie, finalizaram a fase pós-flexão.

Durante as coletas das fases de desenvolvimento inicial foram registradas as horas-grau (somatório dos valores das temperaturas da água, em graus centígrados, mensuradas durante o processo de incubação e alevinagem) utilizando o termômetro do oxímetro marca YSI 550A.

As amostras de larvas foram acondicionadas em tubos de plástico com tampa, numerados, contendo solução de formalina 4% tamponada (Ca CO<sub>3</sub>).

Após a eclosão, as larvas foram classificadas de acordo com o grau de flexão da notocorda e desenvolvimento da nadadeira caudal e seus elementos de suporte (segundo Ahlstrom & Ball, 1954; Kendal, Jr. *et al.*, 1984 e Nakatani *et al.*, 2001: larval vitelino (LV) estágio de desenvolvimento compreendido entre a eclosão e o início da alimentação exógena (olho completo ou parcialmente pigmentado; abertura do ânus e da boca); pré-flexão (PF): estágio que se estende desde o início da alimentação exógena até antes do início da flexão da notocorda com o aparecimento dos elementos de suporte da nadadeira caudal); flexão (FL) estágio que se caracteriza pelo início da flexão da notocorda, com o aparecimento dos elementos de suporte da nadadeira caudal, até a completa flexão da mesma, aparecimento do botão da nadadeira pélvica e início da segmentação dos raios das nadadeiras dorsal e anal) e pós-flexão (POF) estágio que se caracteriza pela completa flexão da notocorda, aparecimento do botão da nadadeira pélvica e início da segmentação dos raios das nadadeiras dorsal e anal até a completa formação dos raios da nadadeira peitoral, absorção da nadadeira embrionária e o aparecimento das escamas.

Para a determinação dos coeficientes alométricos durante os estágios de PF até POF foram utilizados 198 indivíduos pertencentes a cinco espécies, sendo 86 *S. brasiliensis*, 74 *B. insignis*, 38 *L. steindachneri*, 45 *P. lineatus* e 26 *P. vimboides*. Para a análise discriminante, durante o estágio de pré-flexão, foram utilizadas medidas de 126 indivíduos sendo 70 larvas de *S. brasiliensis*, 35 *B. insignis* e 21 *L. steindachneri*. As espécies *P. lineatus* e *P. vimboides* não foram utilizadas nesse estágio por não terem um número amostral significativo para este tipo de análise. Em relação ao estágio de flexão e pós-flexão as variáveis morfométricas foram baseadas em 143 larvas, sendo 39 *B. insignis*, 18 *L. steindachneri*, 46 *P. lineatus*, 24 *P. vimboides* e 16 *S. brasiliensis*.

As medições das larvas, duas a cinco unidades amostrais/tubo, foram realizadas com o auxílio de um microscópio estereoscópico Bell Photonics equipado com câmera digital (5 megapixel) e software EUREKAM 10.0.

A metodologia proposta por Ahlstrom, Butler e Sumida (1976) com modificações, foi utilizada para obter a biometria das larvas originárias do processo de indução artificial. Foram mensurados (mm): comprimento total (CT), comprimento padrão (CP), comprimento da cabeça (CCA), altura da cabeça (ACA), comprimento do focinho (CFO), altura do corpo (ACO) e diâmetro do olho (DOL). Além dessas foi utilizada a medida do comprimento da nadadeira caudal (CNC) aqui proposta experimentalmente como medida adicional (Figura 1).

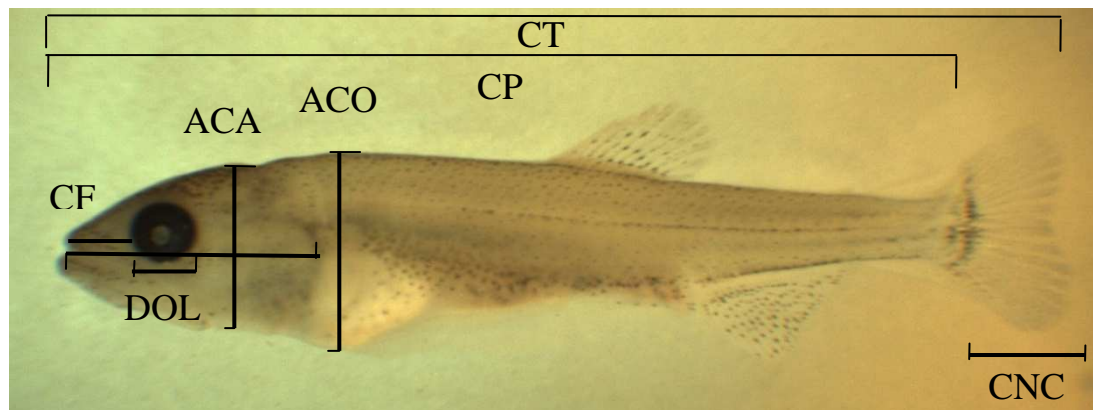


Figura 1: Variáveis biométricas utilizadas. Larva de *Salminus brasiliensis*, fase pós-flexão. Comprimento total (CT), comprimento padrão (CP), comprimento da cabeça (CCA), altura da cabeça (ACA), comprimento do focinho (CFO), altura do corpo (ACO) e diâmetro do olho (DOL). Além dessas foi utilizada a medida comprimento da nadadeira caudal (CNC).

As características biométricas serão expressas pelas relações corporais, como proposto por Leis e Trnski (1989), modificado por Nakatani *et al.* (2001):

Altura do corpo (ACO) em função do comprimento padrão (CP): corpo muito longo (ACO < 10% do CP); corpo longo (ACO entre 10,01 e 20% do CP); corpo moderado (ACO entre 20,01 e 40% do CP); corpo alto (ACO entre 40,01 e 70% do CP); corpo muito alto (ACO  $\geq$  70,01 % do CP); Comprimento da cabeça (CC) em função do comprimento padrão (CP): cabeça pequena (CC < 20% do CP); cabeça moderada (CC entre 20,01 e 33% CP); cabeça grande (CC  $\geq$  33,01% do CP); Diâmetro do olho (DOL) em função do comprimento da cabeça (CC): olho pequeno (DOL < 25% do CC); olho moderado (DOL entre 25,01 e 33% do CC); olho grande (DOL  $\geq$  33,01% CC).

Os padrões alométricos de crescimento durante os estágios larvais foram modelados a partir de regressões entre cada variável logaritmizada e o CT. Os padrões foram descritos a

partir do coeficiente alométrico na equação  $Y = aX^b$ , onde  $Y$  é a variável dependente (característica mensurada) e  $X$ , a variável independente (CT),  $a$  é o *intercept* e  $b$ , o coeficiente alométrico. O crescimento isométrico ocorreu quando  $b = 1$ . O crescimento alométrico positivo ocorreu quando  $b > 1$ , e o crescimento alométrico negativo quando  $b < 1$ . As variáveis morfométricas (variáveis resposta) foram plotadas contra os comprimentos padrão, e ou comprimento total.

Os padrões de diferenciação morfométrica multivariada foram avaliados por uma análise discriminante linear, a qual busca eixos transformados do espaço original, onde a variação entre grupos (espécies neste caso) é maximizada, mantendo a variação dentro dos grupos padronizada. Os eixos discriminantes são funções das variáveis originais onde os indivíduos são ordenados de acordo com semelhanças morfológicas inferidas a partir das relações entre as variáveis originais e os eixos discriminantes (coeficientes das funções discriminantes) (Monteiro & Reis, 1999; Klingenberg & Monteiro, 2005). A partir das distâncias entre cada indivíduo e a média de cada espécie no espaço das funções discriminantes (também chamadas Distâncias de Mahalanobis), é possível realizar a identificação taxonômica individual (Krzanowski, 2000). Para evitar circularidade a validação das funções discriminantes é realizada a partir de um procedimento de “Jackknife”, onde a função é recalculada várias vezes, sempre deixando um dos indivíduos de fora da amostra e predizendo a sua identificação (Venables & Ripley, 2002). Este procedimento é chamado de validação cruzada (cross-validation) e permite uma verificação da confiabilidade dos resultados e sua significância biológica. Todas as análises foram realizadas no ambiente R (R Core Team, 2015), com funções especializadas do pacote MASS (Venables & Ripley, 2002).

#### 4.5 Resultados

As amplitudes obtidas referentes ao número de dias de desenvolvimento (DD), as horas de desenvolvimento após a eclosão (HAE) e ao número de horas-grau (HG) estão descritas na Tabela 1. Já as médias referentes às variáveis morfométricas estão discriminadas na Tabela 2. As temperaturas médias de incubação (°C) foram:  $28,61 \pm 1,04$  (*B. insignis*),  $26,80 \pm 0,90$  (*S. brasiliensis*),  $26,60 \pm 1,22$  (*L. steindachneri*),  $27,98 \pm 1,30$  (*P. lineatus*) e  $26,67 \pm 0,57$  (*P. vimboides*).

Tabela 1: Número de dias de desenvolvimento (DD), horas após a eclosão (HAE), horas-grau (HG) dos desenvolvimentos das fases larvais de *Salminus brasiliensis*, *Brycon insignis*, *Leporinus steindachneri*, *Prochilodus vimbooides* e *Prochilodus lineatus* (n: número; amp: amplitude; PF: pré-flexão; F: flexão; POF: pós-flexão; FPOF: flexão + pós-flexão).

Espécie	Fases	DD	HAE	HG
		n	amp	amp
<i>S. brasiliensis</i>	PF	2-5	48-112	976,5-1428,5
	F	5	117-122	1457,5-2105,5
	POF	6-9	146-218	2753,5-4625,0
	FPOF	5-9	117-218	1457,0-4625,0
<i>B. insignis</i>	PF	3-4	64-93	1125,4-1355,2
	F	5	97-126	1385,6-2128,5
	POF	6-10	150-246	2788,5-5428,5
	FPOF	5-10	97-246	1385,6-5428,5
<i>L. steindachneri</i>	PF	6-12	249-393	1473,5-5362,7
	F	13-16	441-489	6010,7-7306,7
	POF	17-21	537-585	8602,7-9850,7
	FPOF	13-21	441-585	6010,7-9850,7
<i>P. vimbooides</i>	PF	5-6	112-136	2870,0-3446,0
	F	7-11	160-256	4082,0-6632,0
	POF	12-15	280-352	7270,0-9170,0
	FPOF	7-15	160-352	4082,0-9170,0
<i>P. lineatus</i>	PF	6-9	140-164	3587,6-4223,6
	F	10-18	188-380	4859,6-9947,6
	POF	19-22	428-452	11219,6-11855,6
	FPOF	10-22	188-452	4859,6-11855,6

Quando correlacionadas as médias das variáveis CT e ACO aos valores das amplitudes das HG, dentro do período compreendido entre os estágios pré-flexão a pós-flexão, constatou-se a existência de três grupos de desenvolvimento. O Grupo 1 composto pelas espécies *S. brasiliensis* (CT: 13,53±1,30 mm; ACO: 2,662±0,50 mm; HG: 976,5-4625,00 °C) e *B. insignis* (CT: 14,54±0,87 mm; ACO: 2,90±0,26 mm; HG: 1125,4-5428,50 °C) possuem médias e amplitudes de desenvolvimento próximas, quando atingem maiores tamanhos em uma menor HG. Já o Grupo 2 é formado por *P. lineatus* (CT: 12,90±0,34 mm; ACO: 3,77±0,01 mm; HG: 3587,6-11855,60 °C), *P. vimbooides* (CT: 12,77±0,63 mm; ACO: 3,69±0,40 mm; HG: 2870,00-9170,00 °C). *Leporinus steindachneri* compõe o Grupo 3 (CT: 10,50±1,61 mm; ACO: 2,20±0,64 mm; HG: 1473,5-9850,7 °C). Os dois últimos grupos apresentam menores médias, no entanto, maiores amplitudes de desenvolvimento em HG. No entanto, o estágio pré-flexão de *L. steindachneri* quando



analisada individualmente apresenta um desenvolvimento distinto das demais espécies. O tempo de desenvolvimento no estágio pré-flexão, em horas, 393, é muito superior ao de *S. brasiliensis*: 112 horas; *B. insignis*: 93 horas; *P. lineatus*: 136 horas e *P. vimboides*: 164 horas (Tabela 1), durante o mesmo estágio.

Tabela 2. Médias (x) e desvios padrão (dp), em milímetros, das variáveis morfométricas obtidas a partir das mensurações das larvas de *Salminus brasiliensis*, *Brycon insignis*, *Leporinus steindachneri*, *Prochilodus vimboides* e *Prochilodus lineatus* (CP: comprimento padrão; CT: comprimento total; CCA: comprimento da cabeça; ACA: altura da cabeça; CFO: comprimento do focinho; ACO: altura do corpo; DOL: diâmetro do olho; Fa: fase; PF: pré-flexão; F: flexão; POF: pós-flexão; FPOF: flexão + pós-flexão.

Espécie	P	CT	CCA	ACA	CFO	ACO	DOL	
		x ± dp	x ± dp	x ± dp	x ± sd	x ± sd	x ± sd	
<i>S. brasiliensis</i>	Fa							
	PF	9,19±1,38	9,62±1,44	1,98±0,42	1,54±0,23	0,52±0,10	1,79±0,42	0,45±0,09
	F	12,52±0,28	12,97±0,40	3,00±0,24	1,97±0,14	0,73±0,09	2,46±0,22	0,68±0,07
	POF	13,53±1,3	14,84±1,7	3,61±0,56	2,382±0,26	0,93±0,14	2,662±0,50	0,86±0,16
	FPOF	13,08±1,07	14,01±1,60	3,34±0,54	2,30±0,30	0,84±0,15	2,56±0,40	0,78±0,15
<i>B. insignis</i>	PF	9,57±0,97	9,92±0,98	2,40±0,26	1,71±0,17	0,55±0,10	2,04±0,18	0,59±0,06
	F	11,58±0,59	11,97±0,57	3,06±0,22	2,17±0,07	0,74±0,12	2,69±0,17	0,75±0,05
	POF	14,54 ± 0,87	16,48 ± 1,38	4,46±0,46	2,90±0,26	1,14 ± 0,19	3,36 ± 0,42	1,15 ± 0,13
	FPOF	13,12±1,68	14,31±2,52	3,79±0,80	2,55±0,42	0,95±0,25	3,05±0,47	0,96±0,23
<i>L. steindachneri</i>	PF	6,17±0,45	6,44±0,48	1,37±0,14	0,86±0,05	0,29±0,05	0,88±0,08	0,32±0,02
	F	8,32±0,31	8,66±0,35	1,95±0,18	1,23±0,08	0,42±0,05	1,34±0,14	0,48±0,02
	POF	10,50±1,61	11,46±2,02	2,78±0,76	1,79±0,43	0,70±0,24	2,20±0,64	0,66±0,16
	FPOF	9,31±1,54	9,93±1,96	2,32±0,66	1,50±0,40	0,55±0,22	1,73±0,61	0,56±0,14
<i>P. vimboides</i>	PF	8,27±0,35	8,68±0,52	2,08±0,11	1,51±0,15	0,49±0,07	1,76±0,12	0,51±0,04
	F	9,82±1,00	11,62±1,36	2,82±0,39	2,04±0,35	0,81±0,15	2,43±0,47	0,68±0,08
	POF	12,77±0,63	15,68±1,00	4,06±0,33	3,18±0,32	1,28±0,01	3,69±0,40	1,00±0,09
	FPOF	10,87±1,65	13,05±2,29	3,29±0,70	2,44±0,63	0,98±0,26	2,90±0,74	0,80±0,18
<i>P. lineatus</i>	PF	7,66±0,36	7,99±0,38	1,86±0,68	1,35±0,17	0,41±0,09	1,40±0,17	0,46±0,06
	F	10,00±1,05	11,45±1,73	2,88±0,49	2,11±0,41	0,67±0,14	2,41±0,53	0,71±0,14
	POF	12,90±0,34	16,03±0,40	4,32±0,10	3,30±0,09	1,21±0,09	3,77±0,01	1,08±0,03
	FPOF	9,98±1,60	11,45±2,45	2,89±0,73	2,13±0,60	0,69±0,23	2,41±0,73	0,71±0,19

#### 4.5.1 Padrões de alometria

##### 4.5.1.1 Estágio pré-flexão

Durante o estágio de pré-flexão de *B. insignis* as variáveis comprimento da cabeça (CCA), altura da cabeça (ACA), comprimento do focinho (CFO), altura do corpo (ACO) e diâmetro do olho (DOL) apresentam alometrias negativas em função do CT (Tabela 3).

Tabela 3. Coeficientes alométricos para os estágios de pré-flexão. Intervalos de confiança de 95% entre parênteses.

	<i>B. insignis</i>	<i>L. steindachneri</i>	<i>S. brasiliensis</i>
CCA	0,715(0,537-0,893)	0,662(0,263-1,061)	0,947(0,868-1,025)
ACA	0,575(0,448-0,702)	0,291(0,007-0,575)	0,691(0,635-0,747)
CFO	0,454(0,276-0,632)	0,350(-0,048-0,747)	0,398(0,320-0,477)
ACO	0,380(0,173-0,586)	0,399(-0,063-0,861)	1,053(0,961-1,144)
DOL	0,305(0,217-0,392)	0,064(-0,131-0,258)	0,362(0,323-0,400)

CCA: comprimento da cabeça; ACA: altura da cabeça; CFO: comprimento do focinho; ACO: altura do corpo; DOL: diâmetro do olho.

Estas indicam que a larva apresenta taxas de crescimento da cabeça, focinho, diâmetro do olho e altura corporal proporcionalmente menores que a do comprimento total. Baseado nas características biométricas expressas pelas relações corporais a larva está caracterizada como apresentando olhos pequenos, cabeça e corpo moderados. As relações corporais, em percentagem, são apresentadas na Tabela 4. (Tabela 4). *Salminus brasiliensis* acompanha parcialmente esse padrão alométrico, diferindo, contudo, em relação às variáveis CCA e ACO, as quais são isométricas (Tabela 3). No entanto, quando considerada as relações corporais, a larva de *Salminus brasiliensis* também está caracterizada como cabeça e corpo moderados; e com olhos pequenos (Tabela 4). *Leporinus steindachneri* apresenta coeficientes alométricos não significativos para CFO, ACO e DOL (Tabela 3). Já a variável ACA possui alometria negativa como nas demais espécies, e a variável CCA, como em *S. brasiliensis*, é isométrica de forma que os comprimentos das cabeças crescem proporcionalmente ao comprimento total das larvas, no entanto também estão caracterizando-as como larvas com olhos pequenos, e com cabeça e corpo moderados (Figura 2).

Tabela 4. Relações corporais (%), das variáveis morfométricas de *Salminus brasiliensis*, *Brycon insignis*, *Leporinus steindachneri*, *Prochilodus vimboides* e *Prochilodus lineatus*.

Espécies	pré-flexão			flexão e pós-flexão				
	<i>Sb</i>	<i>Bi</i>	<i>Ls</i>	<i>Sb</i>	<i>Bi</i>	<i>Ls</i>	<i>Pv</i>	<i>Pl</i>
Fase								
RC (%)								
CCA / CP	21,54	25,08	22,20	25,53	28,90	24,92	30,26	2,89
ACO/CP	19,48	21,31	14,26	19,57	19,51	18,60	26,70	24,15
DOL/CCA	22,72	24,60	23,35	23,35	25,33	24,14	24,31	24,57

*Sb*: *S. brasiliensis*; *Bi*: *B. insignis*; *Ls*: *L. steindachneri*; *Pv*: *P. vimboides*; *Pl*: *P. lineatus*; RC%:

Relações corporais em percentagem; CP: comprimento padrão, CCA: comprimento da cabeça, ACA: altura da cabeça, ACO: altura do Corpo, DOL: diâmetro do olho.



Devido ao baixo número de amostras de *P. lineatus* e *P. vimboides*, durante a fase de pré-flexão, não foi possível analisar os coeficientes alométricos.

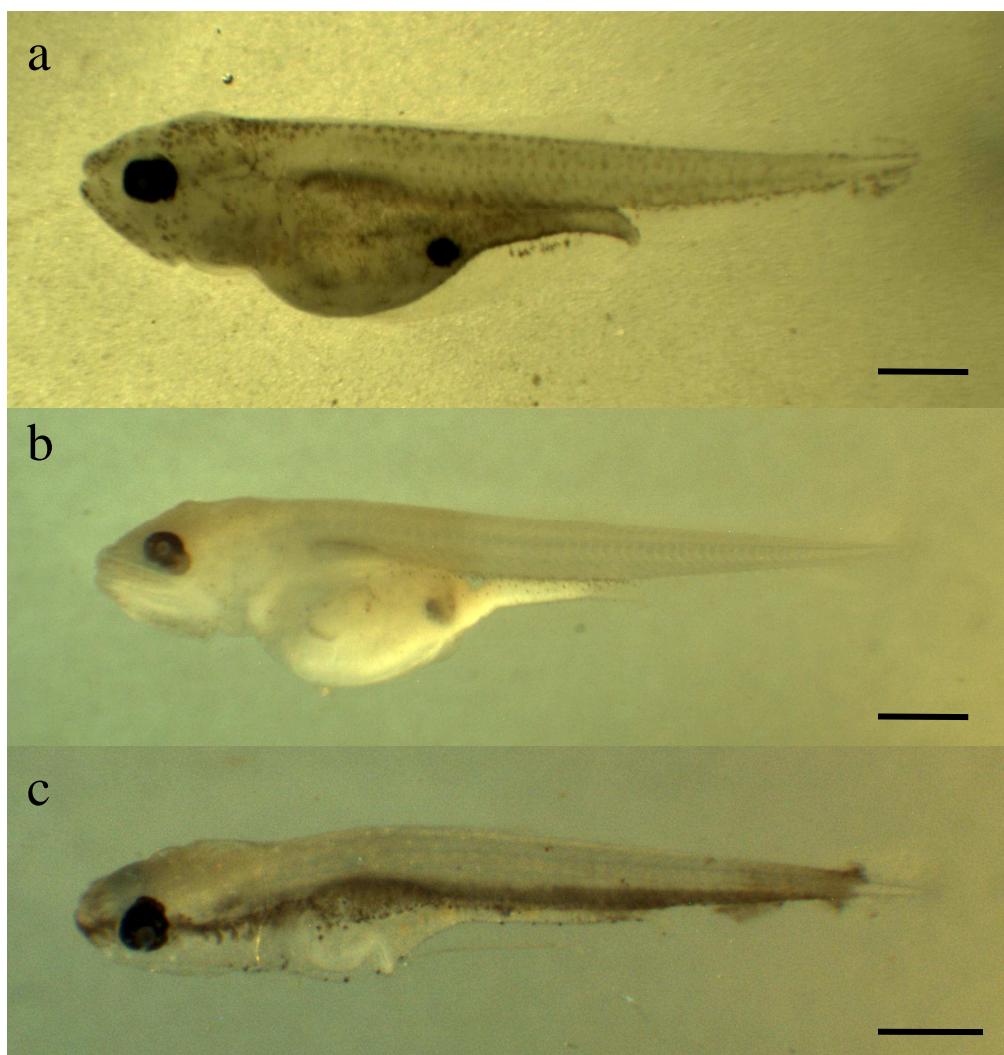


Figura 2: Desenvolvimento inicial, estágio pré-flexão, de *Brycon insignis* (a) 70 horas AE; *Salminus brasiliensis* (b), 63 horas AE; *Leporinus steindachneri* (c), 257 horas AE). AE: após eclosão. Barra de escala representa 1,00 mm.

#### 4.5.1.2 Estágios de flexão e pós-flexão

Nas fases de flexão e pós-flexão, as proporções e coeficientes de crescimento relativos mudam consideravelmente. Tanto o CCA quanto a ACA possuem crescimento alométrico positivo para a maioria das espécies, salvo em *S. brasiliensis*, cuja variável ACA é isométrica (Tabela 5). Já as variáveis DOL e CFO apresentam coeficientes negativos e, dessa forma, não acompanham a proporcionalidade do aumento da cabeça. A variável ACO de *L. steindachneri* ( $1,50 \pm 0,40$  mm), *P. lineatus* ( $2,41 \pm 0,73 \pm 0,60$  mm) e *P. vimboides* ( $2,90 \pm 0,74$  mm), passa a alométrica positiva para as três espécies (Tabela 5). O mesmo não ocorre para *S. brasiliensis*, com  $2,56 \pm 0,40$  mm de ACO, cujo coeficiente é isométrico e para *B. insignis*, com  $3,05 \pm 0,47$  mm de ACO, que apresenta coeficiente negativo para essa mesma

variável. Por fim, a variável CNC apresenta alometria positiva para *B. insignis* e *P. lineatus*, ao passo que as outras três espécies possuem coeficientes isométricos. Ao final da fase de pós-flexão, as larvas *S. brasiliensis*, *B. insignis* e *L. steindachneri* apresentaram o comprimento do corpo alongado, comprimento da cabeçamoderado e olhos pequenos, salvo para *B. insignis* a qual apresentou olhos moderados. *Prochilodus lineatus* e *P. vimboides* possuem alturas corporais maiores se comparadas as outras três espécies. Ainda em relação a essas duas espécies, suas cabeças possuem tamanho moderado e os seus olhos são pequenos. (Tabela 4; Figura 3).

Tabela 5. Coeficientes alométricos para os estágios de flexão e pós-flexão. Intervalos de confiança de 95% entre parênteses.

	<i>B. insignis</i>	<i>L. steindachneri</i>	<i>P. lineatus</i>	<i>P. vimboides</i>	<i>S. brasiliensis</i>
CCA	1,238(1,119-1,358)	1,160(0,995-1,326)	1,282(1,175-1,390)	1,150(1,017-1,284)	1,577(1,288-1,867)
ACA	1,293(1,142-1,445)	1,551(1,341-1,761)	1,995(1,859-2,131)	1,749(1,581-1,919)	1,190(0,824-1,556)
CFO	0,517(0,425-0,610)	0,466(0,338-0,595)	0,513(0,430-0,596)	0,612(0,509-0,716)	0,600(0,375-0,825)
ACO	0,808(0,664-0,952)	1,332(1,132-1,532)	1,556(1,426-1,686)	1,339(1,179-1,501)	0,926(0,577-1,275)
DOL	0,874(0,777-0,972)	0,569(0,433-0,704)	0,860(0,772-0,948)	0,633(0,524-0,742)	0,742(0,506-0,979)
CNC	2,867(2,427-3,308)	1,271(0,660-1,882)	2,723(2,327-3,119)	1,251(0,759-1,743)	1,770(0,703-2,837)

CCA: comprimento da cabeça, ACA: altura da cabeça, CFO: comprimento do focinho; ACO: altura do corpo, DOL: Diâmetro do Olho e CNC: comprimento da nadadeira caudal.

## 4.5.2 Morfometria e análise discriminante linear

### 4.5.2.1 Estágio de pré-flexão

A análise discriminante aplicada aos dados de seis variáveis morfométricas (CT, CCA, ACA, CFO, ACO e DOL) de *B. insignis*, *L. steindachneri* e *S. brasiliensis*, explicam 60,26 % da variação entre espécies através do eixo LD1 e 39,74 % através do eixo LD2 (Tabela 6). A projeção dos escores mostra uma clara separação das espécies nos dois eixos (Figura 4).

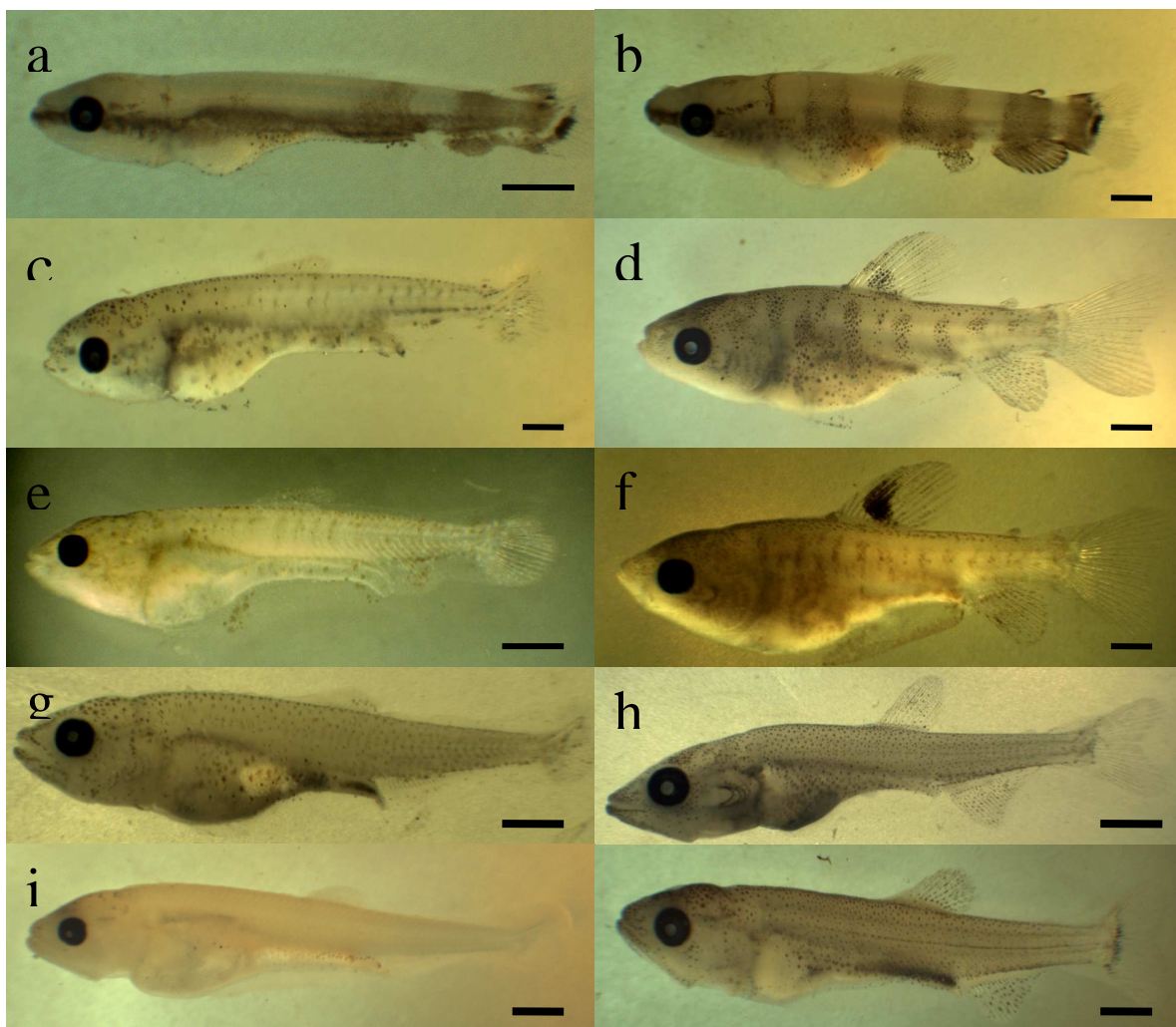


Figura 3: Desenvolvimento inicial, estágio flexão e de pós-flexão *Leporinus steindachneri* (a, b), 257 e 329 horas após a eclosão (HAE); *Prochilodus lineatus* (c, d), 185 e 449 HAE; *Prochilodus vimboides* (e,f), 136 e 304 HAE; *Salminus brasiliensis* (g,h), tubo 120 e 218 HAE; *Brycon insignis* (i,j), 101 e 246 horas AE. Barra de escala representa 1,00 mm.

Tabela 6. Coeficientes da função discriminante para a fase de pré-flexão de *B. insignis*, *L. steindachneri*, *S. brasiliensis*. CT: comprimento total; CCA: comprimento da cabeça; ACA: altura da cabeça; CFO: comprimento do focinho; ACO: altura do corpo; DOL: diâmetro do olho. LD1: eixo 1; LD2: eixo 2.

	LD1	LD2
CT	2,199	0,057
CCA	-4,676	-2,954
ACA	-1,704	7,218
CFO	2,998	0,612
ACO	1,049	0,418
DOL	-23,23	-0,338
%		
Explicada	60,26	39,74

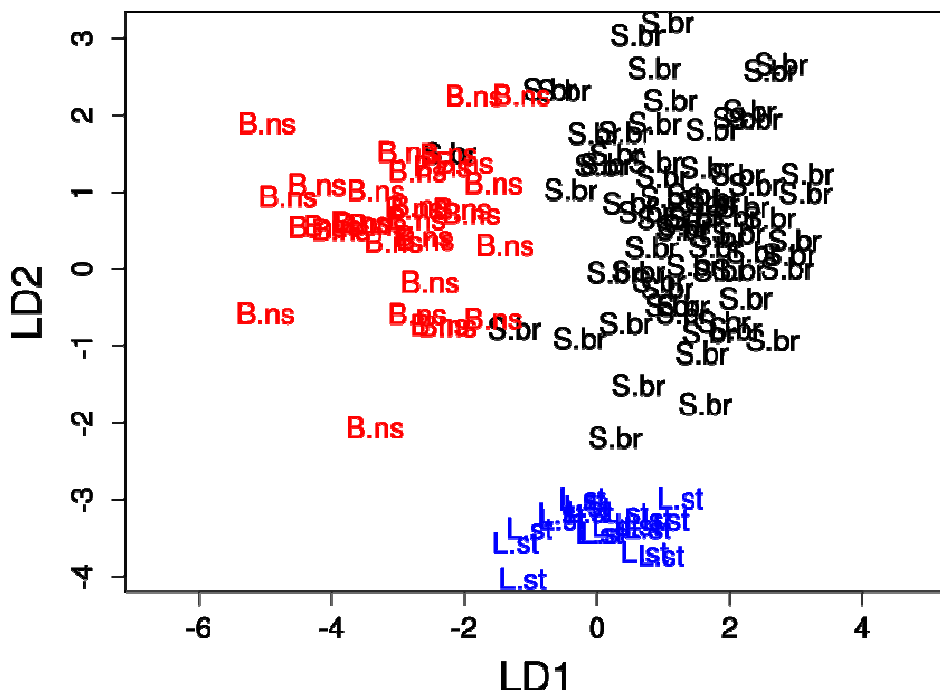


Figura 4. Ordenação dos escores para os dois eixos discriminantes da fase de pré-flexão. B.ns: *Brycon insignis*; S.br: *Salminus brasiliensis*; Lst: *Leporinus steindachneri*. LD1: eixo 1; LD2: eixo 2.

Durante o estágio de pré-flexão *S. brasiliensis* apresenta escores positivos nos dois eixos, *B. insignis* apresenta escores negativos no LD1 e positivos no LD2, enquanto *L. steindachneri* apresenta escores próximos do zero no LD1 e negativos no LD2. As variáveis CT, CFO e ACO apresentam associações positivas com o eixo LD1, enquanto as variáveis CCA, ACA e DOL apresentam associações negativas com o LD1. As diferenças entre espécies são representadas neste sistema como um contraste de razões entre as variáveis com coeficientes positivos e negativos nos eixos, os quais são utilizados para o cálculo dos escores. O contraste principal do eixo LD1 indica que, proporcionalmente, a larva de *B. insignis* caracteriza-se por cabeça e olhos maiores, altura do corpo, comprimento total e focinho menor que a larva de *S. brasiliensis*. No segundo eixo (LD2), as larvas de *L. steindachneri* se caracterizam por cabeça mais alongada dorso ventralmente e baixa, com olhos proporcionalmente maiores, focinho e altura do corpo menores que as larvas de *B. insignis* e *S. brasiliensis*. A matriz de classificação por validação cruzada da análise discriminante (Tabela 7) baseada nas seis variáveis morfométricas mensuradas identificou corretamente 97% das larvas de *B. insignis*, 100% de *L. steindachneri* e 96% de *S. brasiliensis*.



Tabela 7. Matriz de classificação da análise discriminante linear com validação cruzada (procedimento com jackknife, deixando um indivíduo fora da análise de cada vez) com dados referentes ao estágio de pré-flexão.

	<i>B.insignis</i>	<i>L.steindachneri</i>	<i>S.brasiliensis</i>	% Correta
<i>B. insignis</i>	33	0	1	97
<i>L. steindachneri</i>	0	20	0	100
<i>S. brasiliensis</i>	2	1	69	96

#### 4.5.2.2 Estágios de flexão e pós-flexão

A análise discriminante dos dados das sete variáveis morfométricas (CP, CCA, ACA, CFO, ACO, DOL e CNC) de *B. insignis*, *L. steindachneri*, *S. brasiliensis*, *P. vimboides* e *P. lineatus* explica 72,45% da variação dos dados através do eixo LD1; 17,34% através do eixo LD2; 7,30 através do eixo LD3 e 2,91 através o eixo LD4 (Tabela 8). Durante a fase de flexão e pós-flexão *B. insignis* apresenta escores positivos nos eixos LD1 e LD2 e negativos no eixo LD2; *S. brasiliensis* apresenta escores positivos no eixo LD1 e negativo no LD2; *P. lineatus* e *P. vimboides* apresentam escores negativos no eixo LD1. Em relação ao eixo LD2 as duas espécies divergem, *P. lineatus* apresenta escores positivos e *P. vimboides* negativos. *Leporinus steindachneri* apresenta escores próximos do zero no LD1 e LD2, assim como escores positivos e negativos nos dois eixos (Figura 5).

Tabela 8. Coeficientes da função discriminante para os estágios de flexão e pós-flexão de *B. insignis*, *L. steindachneri*, *S. brasiliensis*, *P. vimboides* e *P. lineatus*. CT: comprimento total; CCA: comprimento da cabeça; ACA: altura da cabeça; CFO: comprimento do focinho; ACO: altura do corpo; DOL: diâmetro do olho; CNC: comprimento da nadadeira anal. LD1: eixo 1; LD2: eixo 2; LD3: eixo 3; LD4: eixo 4.

	LD1	LD2	LD3	LD4
CT	134.693.966	-1.837.150	0.4308786	10.451.154
CCA	-0.14128495	5.296.847	19.126.723	-0.8754410
ACA	-126.888.753	2.271.744	-24.316.425	46.512.717
CFO	-154.247.444	-9.517.002	-61.713.306	-46.376.257
ACO	-0.04376445	0.704975	-0.9133773	-19.820.436
DOL	324.685.282	5.744.293	-20.061.923	-89.991.482
CNC	-200.138.633	-1.941.645	10.088.689	0.8935111
%	72,45	17,34	7,02	2,91
Explicada				

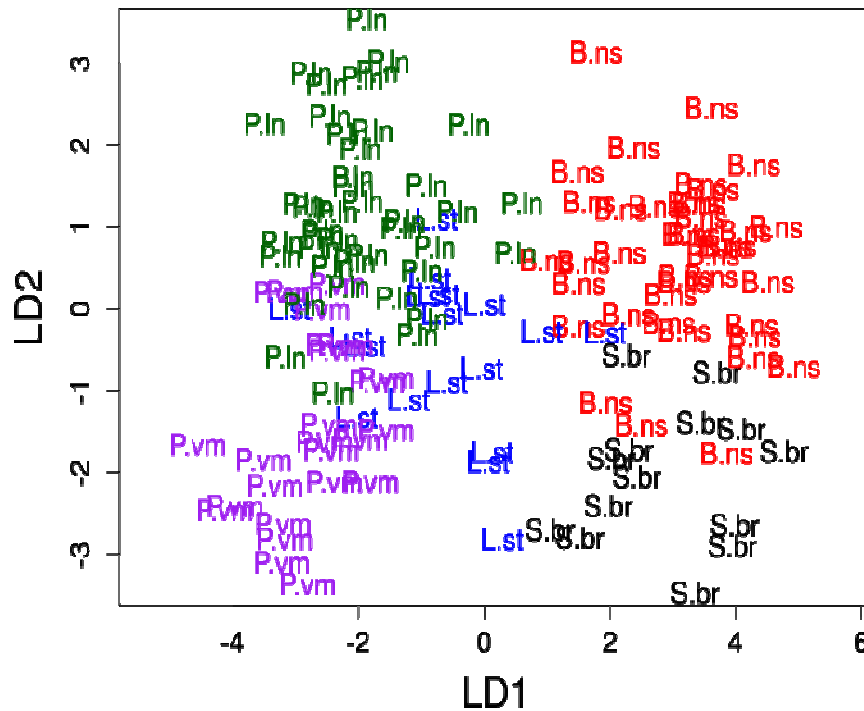


Figura 5. Ordenação dos escores para os dois primeiros eixos discriminantes das fases de flexão e pré-flexão. S.br: *S. brasiliensis*; B.ns *B. insignis*; L.st: *L. steindachneri*; P.v.m: *P. vimboides*; P.l.n: *P. lineatus*; LD1: eixo 1; LD2: eixo 2;

As variáveis CT, DOL demonstram associações positivas com o eixo LD1, enquanto as variáveis CCA, ACA, CFO, ACO e CNC apresentam associações negativas ao mesmo eixo. O contraste principal da ordenação no eixo LD1 indica que, proporcionalmente, as larvas de *P. Lineatus* e *P. vimboides*, quando confrontado seus escores aos de *B. insignis* e *S. brasiliensis*, caracterizam-se por possuírem menores olhos e comprimento total, maiores dimensões para a cabeça, CFO, ACO e CNC. *L. steindachneri* apresenta alguma variabilidade, mas seus escores encontram-se distribuídos próximos à origem do eixo.

No eixo LD2 as variáveis CT, CFO e CNC apresentam associações negativas e as variáveis CCA, ACA, ACO e DOL associações positivas ao mesmo eixo. Proporcionalmente, a larva de *B. insignis* apresenta maiores escores em relação às variáveis CCA, ACA, ACO e DOL, de forma que a cabeça e os olhos são grandes e o corpo é alto quando comparada a *S. brasiliensis*, cujos CT, CFO e CNC são maiores. Quando considerada as relações corporais e que caracterizam a larva como mais esguia. Padrão semelhante é observado entre *P. lineatus* e *P. vimboides*. *P. lineatus* diferencia-se por possuir maior tamanho de cabeça e maior altura corporal; e menores valores de CT, CFO e CNC, contudo quando considerada as relações corporais ambas olhos pequenos, cabeça e comprimento moderado, apresentando um morfotipo mais "arredondado" quando comparado às demais espécies presentes nesse estudo. Grande parte dos escores de *L. Steindachneri* estão no eixo negativo da LD2, como *P. vimboides*. Quando comparada aos

escores positivos de *P. lineatus*, no eixo LD2, a larva de *L. steindachneri* apresenta menor CCA, ACA, ACO e DOL, o que caracteriza a larva como alongada, com cabeça pequena e baixa. Na ordenação dos escores entre os eixos LD3 ao LD1 (Figura 6), *B. insignis*, *P. lineatus* e *P. vimboides* apresentam-se distribuídas entre os lados negativo e positivo LD3. Já *S. brasiliensis* e *L. steindachneri*, concentraram seus escores no eixo positivo LD3. Já o eixo LD4 explicou uma porcentagem muito pequena da variabilidade entre espécies e não foi considerado relevante para a classificação (Figura 6).

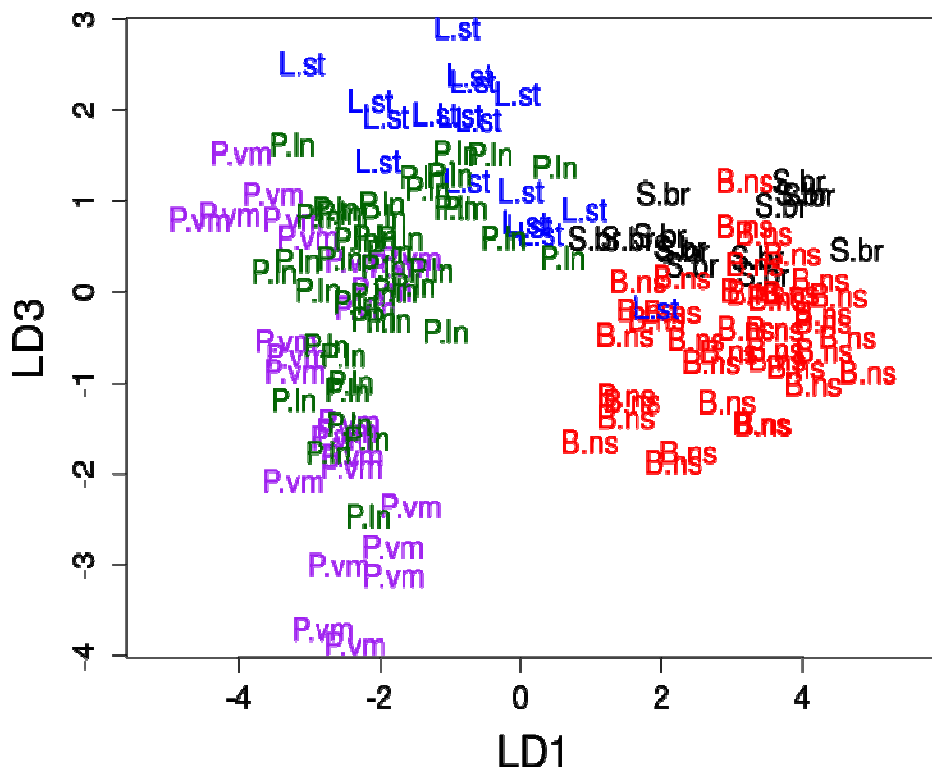


Figura 6. Ordenação dos escores para os eixos discriminantes 1 e 3 das fases de flexão e pós-flexão. B.ins: *Brycon insignis*; S.br: *Salminus brasiliensis*; L.st: *Leporinus steindachneri*; P.in: *Prochilodus lineatus*; P.v: *Prochilodus vimboides*. LD1: eixo 1; LD3: eixo 3;

De acordo com a classificação por validação cruzada da análise discriminante, baseado em setes variáveis morfológicas, foi possível classificar *B. insignis* com 90%, *L. steindachneri* 83%, *P. lineatus* com 91%, *P. vimboides* com 80% e *S. brasiliensis* com 96% de exatidão (Tabela 9).

Tabela 9. Matriz de classificação da análise discriminante linear com validação cruzada (procedimento com jackknife, deixando um indivíduo fora da análise de cada vez). Foram utilizadas as fases de flexão e pós-flexão.

	<i>B. insignis</i>	<i>L. steindachneri</i>	<i>P. lineatus</i>	<i>P. vimboides</i>	<i>S. brasiliensis</i>	% Correta
<i>B. insignis</i>	36	0	0	0	4	90%
<i>L. steindachneri</i>	1	15	2	0	0	83
<i>P. lineatus</i>	0	1	41	3	0	91
<i>P. vimboides</i>	0	2	3	21	0	80
<i>S. brasiliensis</i>	2	0	0	0	12	86

#### 4.6 Discussão

Em larvas de peixes as mudanças morfológicas ocorrem de forma contínua e são reguladas pela expressão gênica e influenciadas pelo ambiente (Gilbert & Bolker 2003), o que resulta em fenótipos com crescimentos relativos diferenciais, a ponto da duração do período de desenvolvimento inicial variar consideravelmente entre as espécies (Balon, 1981). No caso das espécies *Brycon insignis* e *Salminus brasiliensis*, estas demonstram desenvolvimentos iniciais rápidos e aproximados. O mesmo é observado entre *Prochilodus lineatus* e *Prochilodus vimboides*, no entanto apresentam tempos de desenvolvimentos maiores quando comparados às duas primeiras espécies. E por fim, *Leporinus steindachneri*, com um tempo de desenvolvimento ainda mais longo quando comparado aos desenvolvimentos das demais espécies. Muito embora a temperatura da água seja o fator que mais influencia no tempo de desenvolvimento (Chambers & Leggett, 1987; Souza, 2004; Ninhaus-Silveira *et al.*, 2006) a expressão gênica nesse caso parece sobrepor à influência da temperatura, uma vez que a temperatura da água (°C) durante os desenvolvimentos das cinco espécies foram próximas. Nesse sentido, observa-se que os tempos de desenvolvimentos das espécies foram mais similares entre as espécies mais próximas filogeneticamente.

Os padrões alométricos de crescimento demonstraram complementar parcialmente a categorização proposta por Leis & Trnski (1989), modificado por Nakatani *et al.* (2001). Quando confrontados os resultados das variáveis obtidas pela análise de regressão com a citada categorização, a variável altura do corpo (ACO) em *L. steindachneri*, por exemplo, apresentou divergência. A primeira metodologia apresenta valor alométrico positivo para a variável ACO, o que a caracteriza como morfotipo alto, enquanto a segunda caracteriza-a como morfotipo alongado. Sendo assim, sugere-se um ajuste nas percentagens das relações corporais, ao menos para essa variável, isto por família ou gênero taxonômico.



Em muitos peixes teleósteos as grandes mudanças comportamentais durante o desenvolvimento inicial ocorrem concomitantemente às mudanças morfológicas (desenvolvimento da natação, alimentação, sistemas sensorial e respiratório), o que acaba por permitir que a larva ocupe diferentes habitats dependendo do estágio de desenvolvimento em que ela esteja (Balon, 1985). O crescimento alométrico durante o desenvolvimento larval inicial é considerado uma resposta adaptativa para neutralizar pressões ambientais (Osse & van den Boogard, 2004). Este aumenta a probabilidade de sobrevivência e de crescimento durante o desenvolvimento inicial, produzindo alterações na forma corporal devido a um crescimento diferenciado dos órgãos e sistemas envolvidos em funções básicas (ou seja, alimentação, respiração e locomoção) (Fuiman, 1983), ao invés de órgãos que têm menor prioridade para a sobrevivência (Osse & van den Boogard, 1995). Nesse sentido, as estruturas corporais destinadas à alimentação e ao deslocamento são de fundamental importância para a sobrevivência das larvas no ambiente natural e essas se originam de formas proporcionais e simultâneas. Segundo Pena & Dumas (2009), a alometria positiva da cabeça contribui com o processo de alimentação, de forma que uma maior proporção da cabeça reflete em uma maior proporção do sistema nervoso, dos órgãos sensoriais e uma melhor efetividade na alimentação, o que contribui para a detecção e ingestão das presas. A precoce diferenciação do sistema nervoso (cérebro), da visão (alometria positiva dos olhos) e do sistema de alimentação (alometria positiva da boca) contribuem para o aumento da probabilidade de detecção do zooplâncton (Fuiman, 1983; Koumoundouros *et al.*, 1999). Já o desenvolvimento da região opercular (brânquias e arcos branquiais) promove um aumento na oxigenação sanguínea, o que acaba por contribuir com uma maior atividade natatória (Gisbert *et al.*, 2002). Considerando os resultados das cinco espécies analisadas, as grandes proporções das cabeças parecem estar mais relacionadas ao desenvolvimento da região cerebral e opercular, uma vez que olhos e os focinhos tiveram crescimentos negativos. Nesse sentido, ao menos nos últimos estágios analisados (flexão e pós-flexão), a detecção dos alimentos supostamente deva estar mais relacionada aos outros órgãos dos sentidos, como o olfato e ou, as vibrações das presas em meio à massa d' água.

Durante o desenvolvimento inicial, a diminuição da altura da cabeça e do comprimento do focinho parece estar associados à transição de comportamento, pelágico para os estágios larva/juvenil, e bentônico, para o estágio juvenil (Kupren *et al.*, 2013). Segundo os mesmos autores essa transição resulta em uma clara mudança nas proporções da cabeça, que passa a ser mais alongada e achatada se comparada aos estágios anteriores. Considerando as espécies *P. lineatus*, *P. vimboides* e *L. steindachneri*, bentônicas na fase

adulta, a transição da fase pelágica para a fase bentônica deve ocorrer apenas após o estágio de pós-flexão. Já as larvas de *B. insignis* e *S. brasiliensis* possuem alometria positiva para o comprimento da cabeça durante os estágios de flexão e pós-flexão, e parece manter essa tendência até a forma adulta quando continuarão a ter o comportamento pelágico. Em relação ao comprimento do focinho, tal variável já possui alometria negativa para ambas as espécies, durante os estágios de flexão e pós-flexão e deve se manter nos estágios posteriores de *P. lineatus*, *P. vimboides* e *L. steindachneri*, e se modificar em *B. insignis* e *S. Brasiliensis* a partir do estágio de juvenil.

Entre as larvas estudadas foram observados diferentes padrões morfológicos quando considerado o comprimento e a altura corporal, como larvas mais alongadas e larvas mais altas. Corpos mais alongados estão atrelados a agilidade de natação (Osse *et al.*, 1997; Fuiman, 1983) facilitando a obtenção de alimento e a fuga contra predadores (Van Snik *et al.* 1997, Gisbert, 1999). Supõe-se que o morfotipo alongado de *B. insignis* e parcialmente observado para *S. brasiliensis* possibilitam uma natação mais rápida durante o momento de captura das presas, que em sua maioria são outras larvas. Ainda em relação ao padrão corporal alongado sugere-se que, ao menos para as espécies potamódromas ictiófagas, tal característica também se constitua em uma forma favorável para acomodar as larvas ingeridas durante o processo de digestão das larvas forrageiras. Essas formas e padrões contibuem para o processo de identificação, contudo por serem muito semelhantes nos primeiros estágios, às larvas acabam por serem difíceis de identificar. A dificuldade se potencializa quando as espécies são mais próximas filogeneticamente. No entanto, através do presente estudo constatou-se que as larvas de *L. steindachneri*, *B. insignis* e *S. brasiliensis* durante o estágio de pré-flexão possuem características morfométricas bem marcantes, a ponto das variáveis morfométricas utilizadas, serem boas métricas para a identificação por validação cruzada. O mesmo pode-se dizer quando considerado os estágios de flexão e pós-flexão, quando comparado os escores das cinco espécies mensuradas.

Como conclusão, o presente estudo mostrou que as alometrias larvais durante o desenvolvimento inicial das cinco espécies analisadas compõem padrões de desenvolvimento capazes de serem agrupados por tempo de desenvolvimento (horas-grau) e por desenvolvimentos morfológicos. Padrões de desenvolvimentos estão atrelados espaço-temporalmente aos habitats utilizados (Gisbert *et al.*, 1999). E por fim, vários métodos morfométricos têm se mostrado muito eficientes em separar grupos de organismos próximos, de modo que vários taxonomistas vêm utilizando esses métodos para confirmar a identificação de espécies, justificar sinonímias, bem como para o reconhecimento de novos

táxons em nível de espécie (Daly, 1985). Dentro desse contexto, a identificação das larvas a partir da análise discriminante, mostrou-se como uma boa metodologia para definir padrões morfométricos. No entanto, não reduz a importância das descrições ontogênicas, mas a análise utilizada contribui com a correta identificação das larvas capturadas no ambiente natural.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem ao Projeto Piabanha Centro Socioambiental e a Empresa de Pesquisas Agropecuárias do Estado do Rio de Janeiro - PESAGRO-RIO, pelo apoio logístico durante o período de coleta dos ovos e das larvas;

### **Suporte financeiro**

Essa pesquisa teve o suporte financeiro do Sr. José Roberto Marinho, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico–CNPq e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro – FAPERJ.

## **5.0 Conclusão geral**

Como nas demais bacias hidrográficas brasileiras, os primeiros pulsos de deriva de ovos e larvas, ocorreram no início no período das chuvas, o que na região acontece no final de outubro e início de novembro. Então, propõe-se que a elevação do índice pluviométrico e, por sua vez, o aumento da vazão, seja a variável preponderante para culminar o processo reprodutivo, lançamento dos gametas sexuais na água, ao menos para os rios estudados do Domínio das Ilhas Fluviais (DIF) e seu entorno, uma vez que os valores das demais variáveis ambientais em grande parte foram em consequência do aumento da vazão. Muito embora os rios Paraíba do Sul, Pomba, Negro e Areias já possuam empreendimentos hidrelétricos, os atuais comprimentos das continuidades fluviais ainda permitem a migração reprodutiva ascendente e por sua vez, a reprodução propriamente dita, caracterizando a região do DIF, como área de reprodução, sendo a rota migratória rio Pomba a que apresentou a maior a abundância de ovos e de larvas.

Outrossim, baseado nos tempos de desenvolvimento inicial das espécies analisadas, os mesmos comprimentos das rotas migratórias parecem ser suficientes para que ocorram os desenvolvimentos iniciais durante as suas derivas em meio à massa d' água, em direção ao Baixo Curso Paraíba do Sul. Conclui-se, baseado em Balon (1985), que durante a trajetória espaço-temporal descendentes, ocorrem às mudanças morfológicas as quais

permitem que as larvas ocupem diferentes habitats dependendo dos estágios de desenvolvimentos em que elas estejam, e quando atingem o estágio de pré-flexão já estão aptas a nadarem horizontalmente e se alimentarem nas lagoas marginais da baixada de Campos dos Goytacazes.

Supostamente o encurtamento dessas rotas migratórias - região do DIF e seus afluentes, ocasionados por novos empreendimentos hidrelétricos, comprometerão o processo reprodutivo dos peixes potamódromos, assim como as sobrevivências das larvas, tendo em vista que as larvas chegarão às regiões berçários, no Baixo Curso rio Paraíba do Sul, em estágios de desenvolvimentos prematuros, inadequados à natação e a alimentação.

Sendo assim, estudos voltados para as descrições dos desenvolvimentos iniciais, das alometrias e das morfometrias de novas espécies, assim como trabalhos de georreferenciamentos das lagoas marginais são cruciais para um melhor entendimento do processo de ecologia de ovos e larvas e por sua vez, do processo de recrutamento pesqueiro dos Cursos Médio Inferior e Baixo Rio Paraíba do Sul.

## 5.1 Referências bibliográficas

- Abelha, M. C. F., Agostinho, A. A., Goulart, E. Plasticidade trófica em peixes de água doce. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 23, n. 2, p. 425-434. 2001.
- Ahlstrom, E. H. & Ball, O. P. Description of eggs and larvae of jack mackerel (*Trachurus symmetricus*) and distribution and abundance of larvae in 1950 and 1951. **Fish. Bull.** v. 56, p. 209-45, 1954.
- Ahlstrom, E. H., J. L. Butler, and B. Y. Sumida. 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. **Bull. Mar. Sci.** v. 26, n. 3, p. 285-402, 1976.
- Ahlstrom, E. H. & Moser, H. G. Eggs and larvae of fishes and their role in systematic investigations and in fisheries. **Rev. Trav. Inst. Peches Marit.** v. 40, p. 379-98. 1976.
- Alexandre, C. M., Quintella, B. R., Ferreira, A. F., Romão, F. A. & Almeida, P. R. Swimming performance and ecomorphology of the Iberian barbel *Luciobarbus bocagei* (Steindachner, 1864) on permanent and temporary rivers. **Ecol. Freshw. Fish.** v. 23, p. 244-58. 2014
- Agostinho, A. A.; Zalewski, M. The dependence of fish community structure and dynamics on floodplain and riparian ecotone zone in Paraná River, Brazil. **Hydrobiologia** (The Hague), Dordrecht, The Netherlands, v. 303, p. 141-148. 1995.

- Agostinho, A. A.; Gomes, L.C.; Fernandez, D. R.; Suzuki, H. I.; Efficiency of fish ladders for neotropical ichthyofauna. **River Res. Appl.**v. 18, p. 299–306. 2002.
- Agostinho, A. A.; Gomes, L.C.; Suzuki, H. I. & Julio Jr; H. F. Migratory fishes of the Upper Paraná River Basin, Brazil.P. 19–98. In: Carolsfeld, J.; Harvey, B.; Ross, C. & Baer, A. (Eds.): **Migratory fishes of South America: biology, fisheries, and conservation status**.Victoria, Canada: World Fisheries Trust/IDRC/World Bank, 2003. 372 p.
- Agostinho, A. A., L. C. Gomes, S. V., Okada, E. K. Flood regime, dam regulation and fish in the Upper Paraná River: effects on assemblage attributes, reproduction and recruitment. **Rev. Fish. Biol. Fisheries**, v. 14, p. 11- 19. 2004.
- Agostinho,A. A.; Gomes, L. C.; Pelicice, F. M. Ecologia e manejo de recursos pesqueiros em reservatórios do Brasil.Maringá: Eduem, 2007. 501p.
- Allan, J. D. Stream ecology: structure and function of running waters.London, Chapman & Hall, XII,1997.388p.
- Amorim, M. P., Gomes, B.V. C., Martins, Y. S., Sato, Y., Rizzo, E. & Bazzoli, N. Early development of the silver catfish *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) (Pisces: Heptapteridae) from the São Francisco River Basin, Brazil. **Aquac. Res.** v.40, 172–80. 2009.
- Andrade, F., Makrakis, M. C., Lima, A. F. , Assumpção, L., Makrakis, S., Pini, S. F. Desenvolvimento embrionário, larval e juvenil de *Hemisorubim platyrhynchos* (Siluriformes, Pimelodidae) da bacia do rio Paraná. **Iheringia, Sér. Zool.**, Porto Alegre, v. 104, n. 1, p. 70-80, Mar. 2014.
- Arias-Gallo, M., Jiménez-Segura, L. F., Dorado, M. P. Desarrollo larval de *Prochilodus magdalenae* (Steindachner, 1879) (Pisces: Prochilodontidae), río Magdalena, Colombia. **Rev. Actual. Biol.** v. 32, p. 199-208.2010.
- Bagenal, T. B., Tesch, F. W. Age and growth. In: T.B. Bagenal, Methods for assessment of fish production in freshwater, 3rd edition. **Blackwell Scientific Publication**, Oxford, UK.:101–136 p.1978.
- Bayley, P. B., Studies on the migratory characin, *Prochilodus platensis* Holmberg, 1889, (Pisces, Characoidei) in the River Pilcomayo, South America. **J. Fish. Biol.**v. 5, p. 25-40. 1973.
- Bailey, K. & Houde, E. D. Predation on eggs and larvae of marine fish and the recruitment problem.**Adv. Mar. Biol.** v. 25, p. 1-83. 1989.
- Bagenal, T. B.,Tesch, F. W. Age and growth. In: T.B. Bagenal, Methods for assessment of fish production in freshwater, 3rd edition. **Blackwell Scientific Publication**, Oxford, UK.:101–136 p.1978.
- Baldisserotto, B. Fisiologia de Peixes aplicada à Piscicultura. Editora UFSM, Santa Maria-RS, 212p.2002.

- Balon, E. K. Saltatory processes and altricial to precocial forms in the ontogeny of fishes. **Am. Zool.** v. 21, p. 573-96. 1984.
- Baran, E. Fish migration triggers in the Lower Mekong Basin and other tropical freshwater systems. **MRC Technical Paper.** Mekong River Commission, Vietiane. No. 14, 56 pp, 2006.
- Barbieri, G; Salles, F. A, Cestarolli, M. A. Influência de fatores abióticos na reprodução do dourado, *Salminus brasiliensis*, e do curimatá, *Prochilodus lineatus*, do Rio Mogi Guaçu (Cachoeira das Emas, Pirassununga/SP). **Acta Limnol.**, v. 12. p. 85-91. 2000.
- Barthem, R., Goulding, M. Os bagres balizadores. Ecologia, migração e conservação de peixes amazônicos. Tefé: Sociedade Civil Mamirauá, MCT; CNPq, IPAAM, 1997.
- Baumgartner, G. Determinação dos locais de desova e criadouros naturais de peixes e influência dos fatores abióticos sobre abundância de larvas no alto rio Paraná, Brasil. 2001. 62 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais) – Curso de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais, Universidade Estadual de Maringá, Maringá. 2001.
- Baumgartner, G., Nakatani, K., Gomes, L. C., Bialetzki, A., Sanches, P. V., Makrakis, M. C. Identification of spawning sites and natural nurseries of fishes in the upper Paraná River, Brazil. **Environ. Biol. Fish.** Dordrecht, v. 71, n. 2, p. 115-125, Oct. 2004.
- Baumgartner, G., Nakatani, K., Gomes, L. C., Bialetzki, A; Sanches, P. V.; Makraki, S M. C. Fish larvae from the upper Paraná River: Do abiotic factors affect larval density? **Neot. Ichth.** Porto Alegre Oct/Dec. vol.6 no.4.6(4):551-558. 2008.
- Beerli, E. L., Logato, P. V. R., Freitas, R.T. F. Alimentação e comportamento de larvas de pacu [Food and behaviour of pacu larvae], *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Ciênc. Agrotec.**v. 28, p. 149-55. 2004.
- Bialetzki, A., Sanches, P.V., Baumgartner, G. & Nakatani, K. Caracterização morfológica e distribuição temporal de larvas e juvenis de *Apareiodon affinis* (Steindachner) (Osteichthyes, Parodontidae) no alto rio Paraná, Paraná [Morphological characterisation and temporal distribution of the larvae and juveniles of *Apareiodon affinis* (Steindachner) (Osteichthyes, Parodontidae) in the high Paraná River, Paraná] **Rev. Bras. Zool.**15, 1037-47.1998.
- Bialetzki, A., Sanches, P.V., Cavicchioli, M., Baumgartner, G., Ribeiro, R. P., Nakatani, K. Drift of ichthyoplankton in two channels of the Paraná River, between Paraná and Mato Grosso do Sul States, **Braz. Arch. of Biol. Tech.**, Curitiba, v. 42, n. 1, p. 53-60. 1999.
- Bialetzki, A. Drift of ichthyoplankton in two channels of the Paraná river and Mato Grosso do Sul states. **Braz. Arch. Biol. Tech.**, Curitiba, v. 42, n. 1, p. 26. 1999.
- Bialetzki, A., Baumgartner, G., Sanches, P. V., Galuch, A. V., Luvisuto, M. A., Nakatani, K., Makrakis, M. C., Borges, M. E. E. Caracterização do desenvolvimento inicial de *Auchenipterus osteomystax* (Osteichthyes, Auchenipteridae) da bacia do rio Paraná, Brasil. **Act. Scient. Biol. Sci.** Maringá, v. 23, n.2, p. 377-382, 2001.

- Bialezki, A. Ecologia de ovos e larvas de peixes do rio Baía, alto rio Paraná, Mato Grosso do Sul, Brasil. 2002, Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2002.
- Binder, T. R., Cooke, S. J., Hinch, S. G. The biology of fish migration. In: Farrell A.P., (ed.), **Enc. fish Phys.** From Geome to Environment, San Diego: Academic Press, v. 3, p. 1921–1927. 2011.
- Bizerril, C.R.S.F. (1998) A ictiofauna: Diversidade biológica e padrões biogeográficos. In: Bizerril, C.R.S.F., Araújo, L.M.N., Tosin, P.C. *Contribuição ao conhecimento da bacia do rio Paraíba do Sul - Coletânea de Estudos*. ANEEL/CPRM, 15-48.
- Blackith, R.E & Reyment, R.A., 1971. Multivariate Morphometrics. Academic Press, London, 410 p.
- Blaxter, J. H. S. Pattern and variety in development. In: Hoar, W.S. & Randall, D.J. (Eds.), **Fish Phys.** New York: Academic Press, pp. 1-48. 1988.
- Bone, Q., Marshall, N.B., Blaxter, J.H.S. *Biology of fishes*. 2.ed. London: Blackie Academic & Professional, 1995. 332p.
- Borçato, F. L., Bazzoli, N. & Sato, Y. Embriogenesis and larval ontogeny of the “piaugordura”, *Leporinus piau* (Fowler) (Pisces, Anostomidae) after induced spawning. **Rev. Bras. Zool.** v. 21, p. 117-22. 2004.
- Botta, P., Sciarra, A., Arranja, S., Musgas, L.D.S., Pereira, G.J.M. & Oberlender, G. Study of the embryonic development in sábalo (*Prochilodus lineatus*). **Arch. Med. Vet.** v. 42, p. 109-14. 2010.
- Boussou, C.K., Konan, F. K., Edia, E. O.; Ouattara, M., Yves, K. B., Ouattara, A., Gourène, G. Morphometric analysis of populations of *Chromidotilapia guntheri* (Sauvage, 1882) (Cichlidae, perciformes) in four coastal rivers of Côte d’Ivoire (West Africa). **Pan - American Journal of Aquatic Sciences**, 5(3): 387-400, 2010.
- Brasil, D. F. Análise estrutural e ultraestrutural da maturação final do ovócito, fertilização e primeira clivagem em curimatá, *Prochilodus lineatus* Valenciennes, 1836. 2001. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Curso de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP. 86p. 2001.
- Brito, M. F. G. Atividade reprodutiva dos peixes do rio Macaé (RJ) em função do gradiente longitudinal. 2007. Tese (Doutorado) – Rio de Janeiro, RJ. Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ, 170 p. 2007.
- Buckup, P. A., Menezes, N. A., Ghazzi, M.S. Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil. Rio de Janeiro, Museu Nacional. 2007, 195p.
- Capeleti, A. R. and Petrere J. R., M. Migration of the curimatá *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) (Pisces, Prochilodontidae) at the waterfall “Cachoeira de Emas” of the Mogi-Guaçu River – São Paulo, Brazil. **Braz. J. Biol.**, v. 66(2B): p. 651-659. 2006.

- Carvalho, F. Desenvolvimento do aparelho digestório em larvas de *Salminus brasiliensis* Valenciennes, 1849 (Characiformes, Characidae, Salmininae). 2001, (Monografia). Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa. 59p. 2001.
- Carolsfeld, J., Harvey, B., Ross, C., Baer, A. *Migratory fishes of South America: biology, fisheries and conservation status (Introduction: Fishes of the Floods)*. **World Fisheries Trust**. International Development Research Centre, (2003). 372 p.
- Castro, R. J., Nakatani, K., Bialecki, A., Sanches, P. V., Baumgartner, G. Temporal distribution and composition of the ichthyoplankton from Leopoldo's Inlet on the upper Paraná River floodplain (Brazil). **Journal of Zoology**, v. 256: p. 437-443. 2002.
- Castro, R. M. C. & Vari, R. P. Detritivores of the South American fish family Prochilodontidae (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes): a phylogenetic and revisionary study. **Smithsonian Contributions to Zoology**, p. 622, 1-89. 2004.
- Cavalcanti, M.J., Lopes, P.R.D. Morfometria comparada de *Ctenosciaena gracilicirrhus*, *Paralonchurus brasiliensis* e *Micropogonias furnieri* (Teleostei: ctenidae) pela análise multivariada de redes de treliças. **Revista Brasileira de Zoologia** 7(4): 627-635, 1991.
- Cavender-Bares, J., Ackerly, D. D., Baum, D. A. & Bazzaz, F. A. Phylogenetic overdispersion in Floridian oak communities. **The American Naturalist**, v. 163(6): p. 823-843. 2004.
- Chambers, R. C. & Leggett, W. C. Size and age at metamorphosis in marine fishes: an analysis of lab-reared winter flounder *Pseudopleuronectes americanus* with a review of variation in other species. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.** v. 44, p. 1936-47. 1987.
- Comabella, Y., Hurtado, A., Canabal, J., García-Galano, T. Crecimiento alométrico en larvas manjuarí (*Atractosteus tristoechus*). **Ecosistemas y Recursos Agropecuarios**, v. 29, n. 3, 2014.
- Cunico, M. A., Graça, W. J., Veríssimo, S., Bini, L.M. Influência do nível hidrológico sobre a assembléia de peixes em sazonalmente isolada da planície de inundação do alto rio Paraná. [Influence of water levels on fish assemblages seasonally isolated from the upper Paraná River floodplain.] **Acta Sci.** v. 24, p. 383-9. 2002.
- Daly, H. V. Insect morphometrics. **Annual Review of Entomology**, v.30, p.415-438, 1985.
- Devlin, R. H., Vandersteen, W. E., U.H.M., Stevens, E. D. Genetically modified growth effects allometry of eye and brain in salmonids. **Canadian Jour. Zool.**, v. 90: p. 193-202. 2012.
- Durães, R., Pompeu, P. S., Godinho, A. L. Alimentação de quatro espécies de *Leporinus* (Characiformes, Anostomidae) durante a formação de um reservatório no sudeste do Brasil. **Iheringia, Sér. Zool.**, Porto Alegre, n. 90, p. 183-191, May, 2001.
- Faustino, F., Nakaghi, L. S. O., Neumann, E. *Brycon gouldingi* (Teleostei, Characidae): aspects of the embryonic development in a new fish species with aquaculture potential. **Zygote**, v. 19 (November), p.351-363. 2010.



- Fernandes, R., Agostinho, A.A., Ferreira, E.A., Pavanelli, C. S., Suzuki, H.I., Lima Jr., D. P. and Gomes, L.C. Effects of the hydrological regime on the ichthyofauna of riverine environments of the upper Paraná River floodplain. **Braz. Jour. Biol.**, vol. 69, 2009.
- Ferreira, M.F.N. & Caramaschi, E.P. Aspectos da estratégia reprodutiva de machos de teleósteos na área de Influência da Usina Hidrelétrica Serra da Mesa, Alto Rio Tocantins, GO. *In*: Nogueira, M.G., Raoul, H. & Jorcin, A. Ecologia de Reservatórios: impactos potenciais, ações de manejo e sistemas em cascata. RIMA, São Carlos, 2005, 472p
- Figueiredo, G.M.M. - Distribuição Espaço-Temporal do Ictioplâncton no Rio do Peixe, sobre Influência de Pequenas Centrais Hidrelétricas (Alto Rio Uruguai, Brasil). 2009. Dissertação de mestrado, UFSC, Santa Catarina. 2009.
- Fink, G. Gonadotropin secretion and its control. In "The Physiology of Reproduction" (Knobil, E. and Neil, J., Eds.), New York: Raven Press. p.1349-1377. 1988.
- Fontes-Junior, H. M., Castro-Santos, T., Makrakis, S., Gomes, L. C., Latini, J. D., A barrier to upstream migration in the fish passage of Itaipu Dam (Canal da Piracema), Paraná River basin. **Neotropical Ichthyology**:v.10 (4), p. 697-704. 2012.
- Fuiman, L. A. Growth gradients in fish larvae. **J. fish Biol.**, v. 23: 117-123 p. 1983.
- Fuiman, L. A. Special Considerations of Fish Eggs and Larvae. In: Fuiman, L. A. & Werner, R. G. (Eds.). Fishery Science. The unique contributions of early life stages. Oxford: Blackwell Publishing, p. 1-32. 2002.
- Furuya, V. R. B., Hayashi, C., Furuya, W. M., Soares, C. M., e Eliana Maria Galdioli, E. M. Influência de plâncton, dieta artificial e sua combinação, sobre o crescimento e sobrevivência de larvas de curimatá (*Prochilodus lineatus*). **Act. Scient.** v.21 (3): p. 699-703. 1999.
- Galuch, A.V., Suiberto, M.R., Nakatani, K., Bialezki, A. & Baumgartner, G. Desenvolvimento inicial e distribuição temporal de larvas e juvenis de *Bryconamericus stramineus* Eigenmann, 1908 (Osteichthyes, Characidae) na planície alagável do alto rio Paraná, Brasil. **Acta Sci.** 25:335-343. 2003.
- Gisbert, E. Early development and allometric growth patterns in Siberian sturgeon and their ecological significance. **J. Fish Biol.** v. 54, p. 852-62. 1999.
- Gisbert, E., Merino, G., Muguet, J. B., Bush, D., Piedrahita, R. H., Conklin, D. E. Morphological development and allometric growth patterns in hatchery-reared California halibut larvae. **J. Fish Biol.** v. 61, p. 1217-29. 2002.
- Gilbert, S. F., Bolker J. A. Ecological developmental biology: preface to the symposium. **Evolution & Development**, v. 5: 3-8 p. 2003. Gisbert, E, Doroshov, S.I. Allometric growth in green sturgeon larvae. **Jour. Appl. Ichth.**, 22 (Suppl.1): p. 202-207. 2006.
- Godinho, H. P., Godinho, A. L., Formagio, P. S. & Torquato, V. C., Fish ladder efficiency in a southeastern Brazilian river. **Ciênc. E Cult.**, 43(1): 63-67. 1991.

- Godinho, H. P.; Santos, J. E., Sato, Y. Ontogênese larval de cinco espécies de peixes do São Francisco, p. 133-148. In: Godinho, H. P.; Godinho A. L. (org.). *Águas, Peixes e Pescadores do São Francisco das Minas Gerais*. Belo Horizonte: PUC Minas, 2003. 466p.
- Godinho, A. L. & Kynard, B. Migration and Spawning of Radio-Tagged Zulega *Prochilodus argenteus* in a Dammed Brazilian River. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 135: p. 811–824. 2006.
- Godoy, M.P. Age, growth, sexual maturity, behavior, migration, tagging and transplantation of the curimatá (*Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881) of the Mogi-Guaçu River, São Paulo State, Brazil. **Rev. Bras. Biol.**, v.31:3, p. 447–477. 1959.
- Godoy, M. P., Marcação, migração e transplantação de peixes marcados na bacia do rio Paraná superior. **Arq. Mus. Nac.**, v. 52: p. 105-113, 1962.
- Godoy, M. P. *Peixes do Brasil sub-ordem Characoidei – Bacia do rio Mogi Guassu*. Franciscana. Piracicaba, 1975. 854 p.
- Gomes, R. Z., Sato, Y., Rizzo, E., Bazzoli, N. Early development of *Brycon orthotaenia* (Pisces: Characidae). **Zygote**, v.7: p. 1-10. 2011.
- Graciano, M. M. C. A teoria biológica de Humberto Maturana e sua repercussão filosófica. 1997. Dissertação de Mestrado / UFM — Belo Horizonte: UFMG / FAFICH, 205 p. 1997.
- Grosjean, S., Vences, M., Dubois, A. Evolutionary significance of oral morphology in the carnivorous tadpoles of tiger frogs, genus *Hoplobatrachus* (Ranidae). **Biol. Jour. Linn. Soc.**, v. 81: p. 171-181. 2004.
- Guimarães-Cruz, R. J., Santos, J. E., Sato, Y., Veloso-Junior, V.C. Early development stages of the catfish *Lophiosilurus alexandri* Steindachner, 1877 (Pisces: Pseudopimelodidae) from the Sao Francisco River basin, Brazil. **J. Appl. Ichthyol.** V. 25, p. 321–7. 2009.
- Heming, T. A. & Buddington, R. K. Yolk absorption in embryonic and larval fishes. In: Hoar, W. S. & Randall, W. S. (Eds.). **Fish Physio**. New York: Academic Press, 1988. pp. 408-438.
- Hernández Cuadrado, E.E. Indução da atividade espermática e desenvolvimento embrionário e larval de curimba (*Prochilodus lineatus*) [Induction of spermatozoa activity and embryonic and larval development in curimba (*Prochilodus lineatus*)] 2013. Doctoral thesis, Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2013.
- Honji, R. M., Tolussi, C. E., Mello, P. H., Caneppele, D., Moreira, R. G., Embryonic development and larval stages of *Steindachneridion parahybae* (Siluriformes: Pimelodidae) – implications for the conservation and rearing of this endangered Neotropical species. **Neotrop. Ichthyol.** v.10, p.313-327. 2012.

- Houde, E. D. Patterns and consequences of selective processes in teleost early life histories. In: Chambers, C.; trippel, E.A. (Ed.). Early life history and recruitment in fish populations. London: Chapman & Hall, 1997. p. 173- 196.
- Humphries, P., King, A. J., Koehn, J. D. Fish, flows and flood plains: links between freshwater fishes and their environment in the Murray-Darling river system, Australia. **Environmental Biology of Fishes**, v. 56: p. 129-151. 1999.
- Huysentruyt, F., Moerkerke, B., Devaere, S., Adriaens, D. Early development and allometric growth in the armoured catfish *Corydoras aeneus* (Gill, 1858). **Hydrobiologia**, v. 627: p. 45-54. 2009.
- IBGE. Mapa de vegetação do Brasil. Rio de Janeiro. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-IBGE, 1993.
- Islan, A. Embryonic and larval development of Thai Pangas (*Pangas iussutchi* Fowler, 1937). **Develop. Growth Differ.** v.47, 1–6, 2005.
- Jones, F. R. H. Fish migration. New York: St. Martins. 1968, 325 pp.
- Jardine, D. & Litvak, M. K. Direct yolk sac volume manipulation of zebrafish embryos and the relationship between offspring size and yolk sac volume. **J. Fish Biol.** v. 63, 388-97. 2003.
- Junk, W. J., Soares, G. M., Carvalho, F. M. Distribution of fish species in a lake of the Amazon river floodplain near Manaus (lago Camaleão), with special reference to extreme oxygen conditions. **Amazoniana**, v. 7(4): p. 397-431. 1983.
- Katsanevakis, S. Modelling fish growth: model selection, multi-model inference and model selection uncertainty. **Fisher. Research.** v.81, p.229-235. 2006.
- Katsanevakis, S. & Maravelias, C. D. Modelling fish growth: multi-model inference as a better alternative to a priori using von Bertalanffy equation. **Fish and Fisheries**, 9, 178-187. 2008.
- Kelso, W. E.; Rutherford, D.A. Collection, preservation and identification of fish eggs and larvae. In: Murphy, D. W. (Ed.). **Fisheries Techniques**. 2. Ed. Bethesda: American Fisheries Society. p.255-302. 1996.
- Kendall, A.W., Ahlstrom, E. H., Moser, H. G. Early life history stages of fishes and their characters. In: Moser, H.G., Richards, W.J., Cohen, D.M., Fahay, M. P., Kendall, A.W. & Richardson, S.L. (Eds.), *Ontogeny and Systematics of Fishes*. Lawrence, KS: American Society of Ichthyologists and Herpetologists, pp. 11-22. 1984.
- Klingenberg, C.P., Monteiro, L. R. Distances and directions in multidimensional shape spaces: implications for morphometric applications. **Systematic Biology**, v. 54(4): p.678-688, 2005.

- Kováč, V., Copp, G. H. & Francis, M. Morphometry of the stone loach, *Barbatula barbatula*: do mensural characters reflect the species life history thresholds? **Environ. Biol. Fish.** v. 56, 105-115. 1999.
- Koumoudouros, G.; Divanach, P. & Kentouri, M. Ontogeny and allometric plasticity of *Dentex dentex* (Osteichthyes: Sparidae) in rearing conditions. **Marine Biology**, v. 135: p. 561-572. 1999.
- Krzanowski, W. J. 2000. Principles of multivariate analysis: a user's perspective. Oxford University Press, New York.
- Kupren, K., Mamcarz, A., Kucharczyk, D., Prusińska, M., Changes in morphometric parameters in selected early ontogenic stages of three fish species from the genus *Leuciscus* (teleostei, cyprinidae). **Arch. Pol. Fish.** v. 16, Fasc. 4, p. 421-436. 2008.
- Kupren, K., Trabska, I., Zarski, D., Krejszeff, S., Palinska-Zarska, K & Kucharczyk, D. Early development and allometric growth patterns in burbot *Lota lota* L. **Aquacult. Int.** 22: p. 29-39. 2013.
- Kupren, K., Prusinska, M., Zarski, D., Krejszeff, S. & Kucharczyk, D. Early development and allometric growth in *Nannacara anomala* Regan, 1905 (Perciformes: Cichlidae) under laboratory conditions. **Neotrop. Ichthyol.**, v. 12, 659-65. 2014.
- Lasker, R., Feder, H. M., Theilack, G. H. & May, R. C. Feeding, growth and survival of *Engraulis mordax* larvae reared in the laboratory. **Mar. Biol.** v. 5, 345-53. 1970.
- Leite, R. G.; Silva, J. V. V.; Freitas, C. E. Abundância e distribuição das larvas de peixes no Lago Catalão e no encontro dos rios Solimões e Negro, Amazonas, Brasil. **Acta Amaz.**, v. 36, n. 4, p. 557-562, 2006.
- Liermann, C. R., Nilsson, C., Robertson, J., Rebecca Y. N.G., Implications of dam obstruction for global freshwater fish diversity. **BioScience.** June, v. 62 no. 6. 2012.
- Lowe-McConnell, R.H. Estudos Ecológicos de Comunidades de Peixes Tropicais [Ecological Studies on Tropical Fish Communities]. São Paulo: **EDUSP.** 1999.
- Lucas, M.C., Baras, E. As migrações de peixes de água doce. Oxford, UK: **Blackwell Scientific Publications**, 2001, 420p.
- Luz, K. R., Reynalte-Tataje, D.A., Ferreira, A.A., Zaniboni-Filho, E., Desenvolvimento embrionário e estágios larvais do mandi-amarelo *Pimelodus maculatus*. **Bol. Inst. Pesca**, São Paulo, v. 27(1): p. 49-55. 2001.
- Mc Allister, D.E., Hammilton, A.L., Harvey, B. Global freshwater biodiversity: striving for the integrity of freshwater ecosystems. **Sea Wind**, 11:1-140p. 1997.
- Maciel Jr., A. Desenvolvimento inicial de larvas de Curimatá-Pacu (*Prochilodus marggravii* Walbaum, 1792) (Characiformes, Prochilodontidae) submetidas a diferentes

- temperaturas de incubação.1996. Dissertação (Mestrado em Aquicultura), Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG. 59 p. 1996.
- Maciel, C.M. R. Ontogenia de larvas de piracanjuba, *Brycon orbignyanus* Valenciennes (1849) (Charciformes, Characidae, Bryconinae). 2006. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Federal de Viçosa: Viçosa. 2006. 229 p.
- Makrakis, M. C., Silva, P. S., Lima, A. F., Assumpção, L., Paula, S., Miranda, L. E., Dias, J. H. P., Makrakis, S. Spawning and nursery habitats of Neotropical fish species in the tributaries of regulated river. Larvae: Morphology, Biology and Life Cycle. New York: **Nova Science Publishers**, v. 1, p. 1-15. 2012.
- Mallen-Cooper, M.; Stuart, I. G. Age, growth and non-flood recruitment of two potamodromous fishes in a large semi-arid/temperate river system. **River Research and Applications**, v. 19, n. 7, p. 697-719, 2003.
- Marques, C., Nakaghi, L.S.O., Faustino, F., Ganeco, L.N. & Senhorini, J.A. Observation of the embryonic development in *Pseudoplatystoma coruscans* (Siluriformes: Pimelodidae) under light and scanning electron microscopy. **Zygote**, 16, 333–42. 2008.
- Meijide, F. J., Guerrero, G. A. Embryonic and larval development of a substrate-brooding cichlid *Cichlasoma dimerus* (Heckel, 1840) under laboratory conditions. **J. Zool.** v. 252, p. 481–493. 2000.
- Menni, R. C., Almirón, A. E. Reproductive seasonality in fishes of man-made ponds in temperate South America. **Neotropica**, v. 40 (103-104): p. 75-85. 1994.
- Monteiro, L.R. & Reis, S. F. Princípios de morfometria geométrica. Holos, Ribeirão Preto. 1999.
- Moraes, D. A. A morfometria geométrica e a “Revolução na Morfometria” localizando e visualizando mudanças na forma dos organismos. São Paulo: USP. Departamento de Biologia-Instituto de Biociências, Boletim, Ano III, n. 3, 2003.
- Mukai, Y., Tuzan, A.D., Lim, L.S., Yahaya, S. Feeding behaviour under dark conditions in larvae of sutchi catfish *Pangasianodon hypophthalmus*. **Fish Sci.** v. 76, p. 921-30. 2010.
- Muller, U. K., Stamhuis, E. J. Videler J. J. Hydrodynamics of unsteady fish swimming and the effects of body size: comparing the flow fields of fish larvae and adults. **Jour. Exp. Biol.** 2000 203: p. 193-206.
- Nakatani, K., Baumgartner, G., Cavicchioli, M. Ecologia de ovos e larvas, 281-304 p. In: Vazzoler A. E. A., Agostinho, A. A. & Hahn, N.S. (Eds). A planície de inundação do alto rio Paraná. Aspectos físicos, biológicos e socioeconômicos. Maringá, Eduem, 1997, 460p.
- Nakatani, K., G, Baumgartner, M. S. T. Larval development of *Plagioscion squamosissimus* (Heckel) (Perciformes, Sciaenidae) of Itaipu reservoir (Paraná River, Brazil). **Rev. Bras. Zool.**, v. 14: p. 35-44. 1997b.

- Nakatani, K., Baumgartner, G.; Latini, J. D. Morphological description of larvae of the mapará *Hypophthalmus edentatus* (Spix) (Osteichthyes, Hypophthalmidae) in the Itaipu reservoir (Paraná River, Brazil). **Rev. Bras. Zool.**, Curitiba, v. 15, n. 3, p. 687-696, 1998.
- Nakatani, K., Agostinho, A.A., Baumgartner, G., Bialezki, A., Sanches, P.V., Makrakis, M.C. & Pavanelli, C.S. Ovos e Larvas De Água Doce: Desenvolvimento e Manual de Identificação. [Freshwater Eggs and Larvae: Development and Identification Manual]. Maringá: EDUEM. 2001.
- Nakatani, K., Bialezki, A., Baumgartner, G., Sanches, P. V., Makrakis, M. C. 2004. Temporal and spatial dynamics of fish eggs and larvae. . In: Sidinei Magela Thomaz; Angelo Antônio Agostinho; Norma Segatti Hahn. (Org.). The Upper Paraná River and its Floodplain: Physical Aspects, Ecology and Conservation.. 1ªed. Leiden, Netherlands: Backhuys Publishers, v. 1º, p. 293-308.
- Nappi, R. C., Hermes-Silva, S., Reynalte-Tataje, D., Zaniboni-Filho, E. Distribution and abundance of fish eggs and larvae in three tributaries of the Upper Uruguay River (Brazil). **Environm. Biol. Fish.**, Vol. 91, 51-61. 2011.
- Nascimento, F. L.; Araújo Lima, C. A. R. M. Descrição de larvas de *Psectrogaster amazônica* e *Potamorhina altamazonica* (Curimatidae, Pisces) da Amazonia Central. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 23, n. 4, p. 457-472, 1993.
- Nascimento, F. N., Nakatani, K. Relações entre fatores ambientais e a distribuição de ovos e larvas de peixes na sub-bacia do rio Ivinhema, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Acta Sci. Biol.** Maringá, v. 28, n. 2, p. 117-122. 2006.
- Neumann, E. Desenvolvimento inicial dajaturana, *Brycon amazonicus* (Teleostei, Characidae). 2008. 125 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticaba - SP. 2008.
- Nilsson, C., C., Reidy, A., Dynesius, M., Revenga, C. Fragmentation and flow regulation of the world's large river systems. **Science**, 308:405-408. 2005.
- Ninhaus-Silveira, A., Foresti, F. & Azevedo, A. Structural and ultrstructural analysis of embryonic development of *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) (Characiformes; Prochilodontidae). **Zygote**, v. 14, p. 217-29. 2006.
- Noakes, D. L.G.; Godin, J. J. Ontogeny of Behavior and concurrent developmental changes in sensory systems in teleost fishes. In: Hoar, W. S.; Handall, D. **J. Fish Physiology**, Vol. XI B. London: Academic Press, 1988. p. 345-394.
- Oliveira, F. G., Bialezki, A., Gomes, L. C., Santim, M., Taguti, T.L. Desenvolvimento larval de *Brycon hilarii* (Characiformes, Characidae). **Iheringia** [Larval development of *Brycon hilarii* (Characiformes, Characidae)]. Sér. Zool. V. 102, p. 62-70. 2012.
- Osse, J.W.M., van den Boogaart, J.G.M., van Snik, G.M.J., van der Sluys, L. Priorities during early growth of fish larvae. Priorities during early growth of fish larvae. **Aquaculture**, Vol. 155, N. 1, 20 Sep. 1997, pp. 249-258(10).

- Peña, R. & Dumas, S. Development and allometric growth patterns during early larval stages of the spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* (Percoidei: Serranidae). **Sci. Mar.** v. 73S1, p. 183-9. 2009.
- Perini, V. R., Sato, Y., Rizzo, E., Bazzoli, N. Biology of eggs, embryos and larvae of *Rhinelepis aspera* (Spix & Agassiz, 1829) (Pisces: Siluriformes). **Zygote** (Cambridge, England), v. 18, n. 2, p. 159–71, 2010.
- Pesoa, N. A.; Schulz, U. H. Migração e Movimentos do grumatã *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) (Characiformes, Prochilodontidae) no Rio dos Sinos, sul do Brasil. **Braz. J. Biol.**, São Carlos, v. 70, n.4, supl. p. 1169-1177, Dec. 2010.
- Pinder, A.C. & Gozlan, R. E. Early ontogeny of sunbleak. **J. Fish Biol.** v. 64, 762-75. 2004.
- Polaz, C. N. M., Bataus, Y. S. L., Desbiez, A., Reis, M. L. Plano de ação nacional para a conservação das espécies aquáticas ameaçadas de extinção da Bacia do Rio Paraíba do Sul – Brasília : Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, ICMBio, 2011. 140 p.
- Puvaneswari, S., Marimuthu, K., Karuppasamy, R., Haniffa, M. A., Early embryonic and larval development of Indian catfish, *Heteropneustes fossilis*. **EurAsia J. BioSci** 3, p. 84-96. 2009.
- R Core Team (2015). R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- Reis, R. E., Kullander, S. O. & Ferraris Jr., C. J. Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America. Porto Alegre: Edipucrs. 2003.
- Reynalte-Tataje, D., Zaniboni-Filho, E., Esquivel, J. R., Embryonic and Larvae development of piracanjuba, Valenciennes, 1849 (Pisces, Characidae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, v. 26, no. 1, p. 67-71. 2004.
- Reynalte-Tataje, D. A., Nakatani, K., Fernandes, R., Agostinho, A., Bialecki, A. Temporal distribution of ichthyoplankton in the Ivinhema River (Mato Grosso do Sul State/ Brazil): influence of environmental variables. **Neotrop. ichthyol.**, Porto Alegre, v. 9, n. 2, p. 427-436, June, 2011.
- Reynalte-Tataje, D. A., Nuñez, A. P. O., Nunes, M. C., Garcia, V., Lopes, C. A., & Zaniboni-Filho, E. Spawning of migratory fish species between two reservoirs of the upper Uruguay River, Brazil. **Neotrop. ichthyol.**, Porto Alegre, v. 10, n. 4, p. 829-835, Oct. 2012.
- Ribeiro, C. S., Moreira, R. G., Fatores ambientais e reprodução dos peixes. **Rev. Biol.**, v. 8: p. 58-61. 2012.
- Romagosa, E., Narahara, M.Y. & Fenerich-Verani, N. Stages of embryonic development of the “matrinxã”, *Brycon cephalus* (Pisces, Characidae). **Bol. Inst. Pesca**, v. 27, p. 27-32. 2001.

- Rodríguez-Ruiz, A. & Granado-Lorencio, C. Spawning period and migration of three species of cyprinids in a stream with Mediterranean regimen (SW Spain). **J. Fish. Biol.** 41: 545–556. 1992.
- Sala, R., Santamaría, C. A., Crespo, S. Growth of organ systems of *Dentex dentex* (L) and *Psetta maxima* (L) during larval development. **Jour. Fish Biol.**, v. 66: p. 315-326. 2005.
- Sanches, P.V.; Nakatani, K. & Bialetzki, A. Morphological description of the developmental stages of *Parauchenipterus galeatus* (Linnaeus, 1766) (Siluriformes, Auchenipteridae) on the floodplain of the upper Paraná River. **Rev. Bras. Biol.** v. 59(3): p. 429-438. 1999.
- Sanches, P.V., Baumgartner, G., Bialetzki, A., Suiberto, M.R., Gomes, F.D.C., Nakatani, K. & Campos Barbosa, N. D. Caracterização do desenvolvimento inicial de *Leporinus friderici* (Osteichthyes, Anostomidae) da bacia do rio Paraná, Brasil [Characterization of the early development of *L. friderici* (Osteichthyes, Anostomidae) from the Paraná river basin, Brazil]. **ActaSci.** 23, 383-9. 2001.
- Sanches, P. V., Nakatani, K., Bialetzki, A., Baumgartner, G., Gomes, L. C. & Luiz, E. A. Flow regulation by dams affecting ichthyoplankton: the case of the Porto Primavera Dam, Paraná River, Brazil. **River Research and Applications**, v. 22: p. 555-565. 2006.
- Santos, J. E. Ontogênese e comportamento larvais de seis espécies de peixes de água doce sob condições experimentais. [Ontogeny and larval behaviour of six species of freshwater fish under experimental conditions]. 1992. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil. 1992.
- Santos, J. E. & Godinho, H. P. Ontogenic events and swimming behaviour of larvae of the characid fish *Salminus brasiliensis* (Cuvier) (Characiformes, Characidae) under laboratory conditions. **Rev. Bras. Zool.** v. 19, p. 163-71. 2002.
- Savino, J. F., Stein, R. A. Behavioral interactions between fish predators and their prey: effects of plant density. **Anim. Behav.**, v. 37: p. 311-321. 1989.
- Schubart, O. A pesca na Cachoeira das Emas durante a piracema de 1942–43. **Rev. Ind. Anim.**, São Paulo, 6:95–116. 1943.
- Shaytner, C. D., Ontogenia inicial e consumo de vitelo em embriões de *Betta splendens*. 2009. Dissertação (Mestrado em Aquicultura Continental). Universidade Católica de Goiás. Goiânia. 52p. 2009
- Silva, A., C., G., Caracterização do desenvolvimento ontogênico inicial de *Anchoviella vaillanti* (Steindachner, 1908). 2010, Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Pesca e Aquicultura, Recife, 2010.
- Snyder, D.E. Contributions to a Guide to the Cypriniform Fish Larvae of the Upper Colorado River System in Colorado. Denver: United States Bureau of Land Management, Colorado Office. 1981.



- Souza, G. Reprodução induzida, ontogenia inicial, etologia larval e alevinagem da piabanha (*Brycon insignis*, Steindachner, 1877).2004.Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goitacazes,2004.
- Swartz, S. M., Freeman, P. W. & Stockwell, E. F. Ecomorphology of bats: comparative and experimental approaches relating structural design to ecology. **Bat Ecology**, p. 257-300.2003
- Taguti, T. L., Kipper, D. Bialecki, A., Sanches, P. V., Makrakis, M. C., Baumgartner, G., Fernandes, R. Desenvolvimento inicial de *Pyrrhulina australis* Eigenmann & Kennedy, 1903 (Characiformes, Lebiasinidae). **Biota Neotrop.**,v. 9, n. 4, p.59-65, 2009.
- Teixeira,G. E.Variação espacial e temporal na abundância e composição do ictioplâncton em seção transversal do trecho inferior do rio Paraíba do Sul. 2013, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2013.
- Ter Braak, C. J. F. Ordination. In: Jongman, R. H. G.: Ter Braak, C. J. F.: Van Tongeren, O. F. R. Data analysis in community and landscape ecology. Cambridge: **Cambridge University Press**. p. 91-173. 1995.
- Tofts, R. & Silvertown, J.A phylogenetic approach to community assembly from a local species pool. **Proceedings of the Royal Society of London**, v. 267: p.363-369. 2000.
- van Snik, G.M.J., van den Boogaart, J.G.M. & Osse, J.W.M. (1997). Larval growth patterns in *Cyprinus carpio* and *Clarias gariepinus* with attention to finfold. **Jour. Fish Biol.**50, 1339-52.
- Vazzoler, A. E. A. M. Biologia de reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática. Nupélia, Maringá, PR, 1996. 169 p.
- Vazzoler, A. E. A., M., Suzuki, H. I., Marques, E. E. & Lizama, M. A. P., 1997, Primeira maturação gonadal, períodos e áreas de reprodução, pp. 249-265. *In*: A. E. A. de M. Vazzoler, A. A. Agostinho, Hahn, N. S., A Planície de Inundação do Alto Rio Paraná. Maringá, EDUEM, 460p.
- Vazzoler, A. A. Agostinho, Hahn, N. S., A Planície de Inundação do Alto Rio Paraná. Maringá, EDUEM, 2007, 460p.
- Venables, W. N. & Ripley, B. D. Modern applied statistics with S. Springer, New York.2002.
- Venturieri, R., Bernadino, G. Hormônios na reprodução artificial de peixes. **Panorama da Aquicultura**. Setembro/outubro, v.09, n.55, p.39-49. 1999.
- Vianna, N. C., Nogueira, M. G. Ichthyoplankton and limnological factors in the Cinzas River an alternative spawning site for fish in the middle Paranapanema River basin (Brazil). **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 20, p. 117-130. 2008.
- Wallace, R. A. & Sellman, K. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts.**American Zoologist**, v. 21 (2): p. 325-343. 1981.

- Warren, T.J. Indigenous Mekong fish species with potential for aquaculture, stocking or translocation. Report on the project management of reservoir fisheries in the Mekong Basin II. 2000, Vientiane 2000, 92 pp
- Webb, J. F. Larvae in Fish Development and Evolution. En: The Origin and Evolution of Larval Forms. Academic Press. p. 109-158. 1999.
- Webb, C. Exploring the phylogenetic structure of ecological communities: an example for rain forest trees. **American Naturalist**, v. 156: 145-155. 2000.
- Weber, A. A., Sato, Y., Santos, E., Rizzo, E., Bazzoli, N. Eggs Ultrastructure and Early Development of *Franciscodoras marmoratus* (Pisces: Doradidae). **Anat. Histol. Embryol.** 41, 177–183, 2012.
- Welcomme, R. L. River fisheries. FAO Fish. Tech. Pa, p. 262–330. 1985.
- Willig, M. R., Owen, R. D., Colbert, R. L. Assessment of morphometric variation in natural populations: The inadequacy of the univariate approach. **Systematic Zoology**, 35 (2): 195 - 203, 1986.
- Ziober, S. R., Reynalte-Tataje, D. A., Zaniboni-Filho, E. The importance of a conservation unit in a subtropical basin for fish spawning and growth. **Environ Biol Fish**, v.98:725–737, 2015.