



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP
CAUNESP**



**DESENVOLVIMENTO INICIAL E DENSIDADE DE
ESTOCAGEM DE LARVAS DE ARACU-RISCADO,
Leporinus agassizii (CHARACIFORMES: ANOSTOMIDAE)**

Luana Malheiros Ferreira

Jaboticabal, São Paulo
2015



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP
CAUNESP**



**DESENVOLVIMENTO INICIAL E DENSIDADE DE
ESTOCAGEM DE LARVAS DE ARACU-RISCADO,
Leporinus agassizii (CHARACIFORMES: ANOSTOMIDAE)**

Luana Malheiros Ferreira

Orientadora: Dra. Elizabeth Romagosa

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP - CAUNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

Jaboticabal, São Paulo
2015

F383d Ferreira, Luana Malheiros
Desenvolvimento inicial e densidade de estocagem de larvas de aracu-riscado, *Leporinus agassizii* (Characiformes: Anostomidae) / Luana Malheiros Ferreira. -- Jaboticabal, 2015
viii, 60 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro da Aquicultura, 2015
Orientadora: Elizabeth Romagosa
Banca examinadora: Sérgio de Medeiros Ferraz, Sérgio Ricardo Batlouni
Bibliografia

1. Desenvolvimento embrionário. 2. Indução hormonal. 3. Larvas. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.3:034

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

REITORIA

CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Desenvolvimento inicial e densidade de estocagem de larvas de Aracu-riscado, *Leporinus agassizii* (CHARACIFORME: ANOSTOMIDAE).

AUTORA: LUANA MALHEIROS FERREIRA

ORIENTADORA: Profa. Dra. ELIZABETH ROMAGOSA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Aqüicultura , pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. ELIZABETH ROMAGOSA

Centro de Pesquisa Em Peixes Ornamentais / Instituto de Pesca de São Paulo

Prof. Dr. SERGIO RICARDO BATLOUNI

Laboratório de Reprodução de Peixes / Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"

Prof. Dr. EDUARDO DE MEDEIROS FERRAZ

Centro de Aqüicultura / Instituto de Pesca de São Paulo

Data da realização: 27 de maio de 2015.

AGRADECIMENTOS

À Prof. Dra. Elizabeth Romagosa, pela orientação, amizade, paciência, conselhos, estímulos e persistência durante a realização deste trabalho. Por ser sempre uma pessoa gentil em busca de soluções, por dar o exemplo e a oportunidade para me transformar em uma pessoa melhor. Sinto-me extremamente honrada por conhecê-la;

Ao MSc. Geraldo Bernardino, Secretário Executivo de Pesca e Aquicultura do Amazonas, pela valiosa contribuição no início do Mestrado. Por conceder as matrizes e as instalações do Centro de Tecnologia, Treinamento e Produção de Balbina (CTTPA) em experimentos “piloto”;

Aos funcionários do CTTPA, MSc. Mário Baracho, Antonia Hipy, Alencar, Alexandre, Samuel, José Raimundo, Orlando, Manoel Pio, MSc. Ronan Freitas, José Alves e Leôncio Rolim, por me fornecerem os conhecimentos sobre reprodução de peixes desde o ensino técnico, graduação e agora no mestrado, muito obrigada pela amizade, incentivo, confiança, pela presteza dedicada na primeira etapa deste mestrado e incrível capacidade de encarar os desafios de maneira leve e alegre;

À todos os funcionários da Fazenda Experimental da UFAM, pela obstinação ao ajudar, durante mais de um ano, a tentar superar um obstáculo que era impossível, visto que não dependia somente de nossos esforços;

Aos colegas e amigos com os quais dividi os momentos mais árdusos, Caroline Lopes, Jeferson, Ataídio, Rodrigo Palheta, “Latino”, Helen e Luís Fernando, por lançar mão de valiosos dias, finais de semana, feriados e madrugadas na Fazenda Experimental da UFAM, em prol de um trabalho em conjunto que poderia dar resultados satisfatórios, mas que serviram apenas para amadurecimento pessoal e profissional;

Aos amigos, Dr. Sandro Lóris de Aquino (EMBRAPA-RR) e Leonardo Maeda (Gaya Soluções Ambientais) por aparecerem no meio do caminho propondo soluções;

Ao Prof. Rondon Yamane, pela inestimável ajuda no experimento, acreditando, incentivando-me e ajudando em um recomeço difícil;

À Prof. MSc. Sarah Ragonha, às alunas do curso técnico em Agropecuária Joyce Melgueiro e Abgail Silva, e ao técnico em Aquicultura Gabriel Lima, pelo auxílio e empenho durante a realização do experimento;

Aos funcionários do IFAM/CSGC, Joaquim Garrido; Claudedir, José Miguel, Barroso, Afonso, Natanael, Virgílio, Alessandro, Efrain, Edilson e Márcia Aguiar por fazer funcionar a engrenagem desta IFE, tornando possível a implantação e o andamento deste trabalho;

Ao Prof. MSc. Vinícius Retamoso Mayer e sua família (Marize Gonçalves, Heitor e Lívia), pela ajuda na superação das dificuldades, pela amizade e momentos de convívio, agradeço muitíssimo, reconheço o quanto foi importante o apoio de vocês;

Aos meus professores de São Gabriel da Cachoeira que foram responsáveis por minha formação na juventude, e hoje são meus amigos no trabalho, Prof. MSc. Francinete Martins, Prof. MSc José Walter dos Santos e Prof. Edilene Trindade, pelo apoio, confiança e incentivo constante;

À todos os colegas do IFAM/CSGC (técnicos de campo, vigilantes, terceirizados, administrativo, professores, diretoria) pelo apoio na realização deste trabalho;

À Prof. Aracy Coimbra Marques, diretora do Núcleo de Ensino Superior de São Gabriel da Cachoeira da Universidade do Estado do Amazonas, e à professora do IFAM/CSGC Dra. Cleoni Vigílio, pelo empréstimo de equipamentos e materiais utilizados no experimento;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas - FAPEAM, pelo auxílio concedido na forma de Bolsa de Mestrado;

Ao Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP) pela oportunidade oferecida;

Ao Prof. Dr. Sergio Ricardo Batlouni, pela responsabilidade na Coordenação do Curso;

À todos docentes do CAUNESP, pelos ensinamentos;

À Secretaria de pós-graduação do CAUNESP, nas pessoas de Veralice Cappatto e David Lorente, pela atenção dispensada sempre de maneira cordial;

À banca examinadora, Dr. Eduardo de Medeiros Ferraz e Dr. Sérgio Ricardo Batlouni, pelo aprendizado proporcionado nas valiosas sugestões às melhorias desde trabalho;

Aos colegas e amigos da pós-graduação do CAUNESP, em especial aos meus conterrâneos, Gelcirene Costa, Talísia Martins, Thíssia Bonfim, Jesaías Ismael e Roosevelt Barbosa;

Ao meu companheiro nestes dois anos, Carlos Ferreira, que com amor, força e coragem não mediu esforços para ajudar em todos momentos, por ser incansável nas tarefas mais difíceis, por dividir o peso das angústias e frustrações, pela capacidade de transformar os obstáculos em superação;

Aos meus pais, Geraldo e Yolanda, pelo exemplo de força, coragem e determinação, pelo amor com que educaram e me encaminharam até aqui, por serem meu porto seguro, por darem o suporte incondicional para que pudesse concretizar este sonho;

Ao meu filho, Geraldo Neto, meu agradecimento por ser a razão da minha vida, e minhas desculpas, espero que um dia possa compreender minha ausência;

À minha irmã Loyane e minha sobrinha Camile, por fazerem parte desta história, por estarem sempre por perto nos momentos mais difíceis;

À minha avó, Maria Malheiros, por me tranquilizar nas horas de angústias e por suas incansáveis orações;

Aos meus familiares pelo suporte, amizade e por todos os momentos de convívio, que me deram força para continuar até aqui;

À todos aqueles que não tenham sido citados, mas estiveram presentes nestes dois anos;

Á todos, muito obrigada!

SUMÁRIO

1. REVISÃO DE LITERATURA.....	09
1.1 A espécie <i>Leporinus agassizii</i>.....	09
1.2 Reprodução natural e induzida.....	11
1.3 Embriogênese e larvicultura.....	14
1.4 Densidade de estocagem.....	16
2. REFERÊNCIAS.....	18
3. ARTIGO: Desenvolvimento inicial e densidade de estocagem de larvas de aracu-riscado, <i>Leporinus agassizii</i> (Characiformes: Anostomidae).....	26
Resumo.....	27
Abstract.....	29
1. Introdução.....	31
2. Material e Métodos.....	32
3. Resultados.....	35
4. Discussão.....	42
5. Conclusão.....	44
Agradecimentos.....	45
Referências.....	45
Anexo 1 – Documentação fotográfica.....	52
Anexo 2 – Normas do periódico internacional.....	59

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1 A espécie *Leporinus agassizii*

Os Characiformes encontram-se dentre as ordens mais diversas de peixes com escamas de água doce, incluindo aproximadamente 2.078 espécies, distribuídas em 23 famílias (Britski et al., 1999; Nelson, 2006; Eschmeyer e Fong, 2014). A família Anostomidae é distinguível de todos os Characiformes pela presença de uma série única de apenas três ou quatro dentes em cada pré-maxilar (Garavello e Britski, 2003). São 147 espécies válidas de Anostomideos (Eschmeyer e Fong, 2014), dentre as quais 100 pertencem ao gênero *Leporinus* (Garavello e Britski, 2003; Eschmeyer, 2014). Os representantes deste gênero são fundamentais como recursos pesqueiros nos países da América do Sul, sendo explorados pela pesca comercial (Ruffino, 2004; Van Damme et al., 2011), artesanal (Ruffino, 2004; Campos e Rojas, 2010), esportiva e ornamental (Coy e Córdoba, 2000; Campos e Rojas, 2010), além de serem utilizados na piscicultura (Saint-Paul, 1986; Castagnolli, 1992; Santos et al., 2000; Campos e Rojas, 2010).

Dentro deste gênero, o *L. agassizii* (**Figura 1**) destaca-se por ser uma das espécies apreciadas pela pesca devido ao porte, podendo alcançar 35,0 cm (Santos et al., 2006) e 1,6 Kg (ISA/FOIRN, 2007). Apesar de ser economicamente insignificante em algumas regiões como no Baixo rio Amazonas, Alto e Médio rio Solimões (Ruffino, 2004; Santos et al., 2006), em outras, como no Alto rio Negro, possui extrema importância socioeconômica (Calbazar, 2005; ISA/FOIRN, 2007; Wright III, 2009). Esta diferença provavelmente seja devido à composição e a quantidade de pescado existente na área de pesca, ou à preferência regional (Ruffino, 2004). Na região do Alto Rio Negro/AM, o *L. agassizii* é uma das principais fontes de proteína da população majoritariamente indígena, que vem praticando a criação desde 1999 (Calbazar, 2005; Calbazar e Ricardo, 2006; ISA/FOIRN, 2007; Wright III, 2009). Em cativeiro a espécie apresenta características propícias, como aclimação ao ambiente de cultivo; hábito alimentar onívoro aceitando ração e outros alimentos alternativos (frutos, sementes e insetos), apresenta rápido crescimento, além de alta fecundidade e respostas satisfatórias na reprodução induzida (Calbazar, 2005; ISA/FOIRN 2007).



Figura 1. Exemplar de *Leporinus agassizii*

Steindachner (1876) identificou o *L. agassizii* durante sua expedição na Amazônia Central, em 1876. O *L. semivittatus*, descrito em 1895, por Boulenger, é sinonímia ao *L. agassizii* (Boulenger, 1895; Garavello e Britski, 2003). Endêmico da Bacia do rio Amazonas (Santos e Jegu, 1996; Santos et al., 2006) e Orinoco (Mojica et al., 2005; Maldonado-Ocampo, 2006), o *L. agassizii* ocorre principalmente nos tributários de água clara e escura (Calbazar, 2005; Santos et al., 2006; Calbazar et al., 2010), distribuindo-se nos países do Brasil, Colômbia, Peru e Venezuela (Taphorn et al., 1997; Garavello e Britski, 2003; Maldonado-Ocampo, 2006; Santos et al., 2006; Ortega et al., 2012). São vulgarmente conhecidos como aracu-riscado, aracu-cabeça-gorda, platanote e lisa (Santos e Jegu, 1996; Taphorn et al., 1997; Salinas-Coy e Agudelo-Córdoba, 2000; Calbazar, 2005; Santos et al., 2006; Costa e Freitas, 2011; Ortega et al., 2012). Esta espécie tem como características evidentes a coloração acinzentada, linha lateral com 39,0 a 41,0 escamas; apresentando uma faixa escura no meio do corpo, que se estende ao longo da linha lateral, do início da nadadeira dorsal ao término do pedúnculo caudal; e nadadeira adiposa com o centro alaranjado e a extremidade escura (Santos et al., 2006; Salinas-Coy e Agudelo-Córdoba, 2000; Calbazar, 2005). Possui hábito alimentar onívoro, consome principalmente frutos e sementes, além de folhas, flores, insetos e pequenos peixes (Calbazar, 2005; Santos et al., 2006; ISA/FOIRN, 2007).

1.2 Reprodução natural e induzida

O consumo de peixe tem aumentado devido a uma combinação de fatores, tais como, crescimento populacional, aumento da renda e à expansão da aquicultura (FAO, 2014). A produção mundial de peixes da aquicultura dobrou, passando de 32,4 milhões de toneladas em 2000, para 66,6 milhões em 2012, deste total, 58% são provenientes da aquicultura interior (FAO, 2014). Para que haja criação em grande escala de peixes destinados ao consumo é necessário ter o controle dos processos reprodutivos em cativeiro (Woyrnarovich e Horváth, 1983; Donaldson, 1996; Mylonas e Zohar, 2001; Zaniboni-Filho e Weingartner, 2007). Além disto, o domínio sobre as técnicas de reprodução auxilia o manejo das populações naturais, que vem sendo afetadas por fatores antrópicos (Santos e Jeju, 1996; Lopes et al., 2000; Murgas et al., 2012).

Os processos fisiológicos envolvidos na reprodução de peixes incluem a diferenciação das gônadas, gametogênese, liberação de gametas, fertilização e eclosão dos ovos (Mylonas e Zohar, 2001; Ribeiro e Moreira, 2012). Todos estes eventos são controlados por inúmeros fatores endócrinos ao longo do eixo Hipotálamo-Hipófise-Gônadas (Urbinati, 2005; Zohar et al., 2010; Ribeiro e Moreira, 2012). O cérebro traduz estímulos ambientais em sinais neuroendócrinos, que regulam a secreção de neurohormônios, cujo principal chama-se hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), estando presente em diversas regiões cerebrais e hipotalâmicas (Yamamoto, 2003; Zohar e Mylonas, 2007). O GnRH estimula a adeno-hipófise à sintetizar e liberar gonadotrofinas (GtH I e II) na corrente sanguínea, as quais estimulam a produção de esteróides gonadais, que promovem a maturação, liberação e fertilização dos gametas na água (Nagahama, 1994). Existe também um neurohormônio chamado dopamina, que atua como inibidor da síntese do GnRH (Peter et al., 1990).

Em peixes migradores da América do Sul, os fatores ambientais considerados importantes no processo reprodutivo são o pH, nível fluviométrico, chuvas, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica e temperatura (Barthem e Goulding, 1997; Lowe-Mcconnell, 1999; Pankhurst e Porter, 2003). No cativeiro, sem os estímulos ambientais inerentes da migração, os peixes produzem gametas, porém, há necessidade da realização de induções hormonais para garantir as etapas finais do processo reprodutivo (Godinho et al., 1984; Zaniboni-Filho e

Rezende, 1988; Castagnolli, 1992, Romagosa, 1998; Batlouni et al., 2006; Zohar e Mylonas, 2007; Mylonas et al., 2010; Romagosa, 2010).

O desenvolvimento das técnicas de reprodução induzida em peixes migradores ocorreu a partir de 1930, quando Houssay (1930), na Argentina e Rodolpho von Ihering (1935), no Brasil, realizaram induções a reprodução por meio da administração de hipófises frescas extraídas de peixes maduros, homogeneizados em solução fisiológica (Houssay, 1930; Ihering e Azevedo, 1936; Ihering, 1937; Donaldson e Hunter, 1983). Com o desenvolvimento da piscicultura, crescem os estudos sobre aplicação de novas tecnologias na reprodução em cativeiro (Donaldson e Devlin, 1996; Hew e Fletcher, 2001). O uso de GnRH, e uma variedade de análogos, com ou sem antagonistas da dopamina (domperidona, pimizida, metoclopramida) está substituindo a utilização de preparações hipofisárias (Woynarovich e Horváth, 1983; Sherwood et al., 1988; Donaldson, 1996; Mylonas e Zohar, 2001; Bombardeli et al., 2006; Phelps, 2010; Aya e Arias, 2011). Além disto, as técnicas de administração se diversificam, utilizando-se injeção aquosa intramuscular e intraperitoneal, indução por via oral e implantes de liberação rápida ou lenta (Sherwood et al., 1988; Donaldson, 1996; Mylonas e Zohar, 2001; Zaniboni-Filho e Weingartner, 2007; Phelps, 2010).

Migrador de longo percurso, o *L. agassizii* se reúne em densos cardumes durante a época de reprodução, ocorrida entre os meses novembro e abril, durante períodos conhecidos como “repiquetes” (Calbazar, 2005; Santos et al., 2006). Este fenômeno é caracterizado pela rápida elevação e queda do nível da água, antes das enchentes (Ramalho et al., 2010). Dependendo do regime das chuvas o período de desova desta espécie pode se estender até maio (ISA/FOIRN, 2007). A maturação gonadal termina águas acima, realizando desova total na calha do rio e sem cuidado parental (Calbazar, 2005; Santos et al., 2006; ISA/FOIRN, 2007). Assim como os outros migradores, o *L. agassizii* parece direcionar a produção dos jovens no período do ano mais favorável para a sobrevivência, época em que os locais recém-inundados têm alimento abundante, poucos predadores e maior proteção (Woynarovich e Horváth, 1983; Ribeiro, 1983; Zaniboni-Filho, 1985; Lowe-McConnell, 1999; Mylonas et al., 2010). A primeira maturação das fêmeas, em geral, ocorre depois de completados dois anos e a dos machos após cerca de um ano e meio de idade (ISA/FOIRN, 2007). Os óvulos possuem diâmetro inferior a 2,0 mm,

de coloração ligeiramente azul-esverdeada, hidratando-se logo após o contato com a água (ISA/FOIRN, 2007). Em cativeiro, a ovulação e espermição de *Leporinus* é geralmente obtida com Extrato Bruto de Hipófise de Carpa (EBHC), aplicando-se, nas fêmeas, duas injeções com 0,5 e 5,0 mg.Kg⁻¹, espaçadas entre 8 a 14 horas (Reynalte-Tataje et al., 2001; Atencio-García et al., 2003; Landines-Parra e Benítez, 2005; Mojica et al., 2005; Sampaio e Sato, 2009; Campos e Rojas, 2010; Rojas, 2010; Pereira, 2013), enquanto nos machos utiliza-se 1,0 a 2,5 mg.Kg⁻¹ de EBHC, aplicada em uma única injeção, coincidindo com a segunda aplicação das fêmeas (Sampaio e Sato, 2009; Campos e Rojas, 2010; Rojas, 2010; Pereira, 2013). A aplicação geralmente ocorre abaixo da nadeira peitoral (Campos e Rojas, 2010; Rojas, 2010). O *L. agassizii*, *L. copelandii*, *L. elongatus*, *L. friderici*, *L. macrocephalus*, *L. obtusidens*, *L. piau* são as principais espécies estudadas quanto à indução com EBHC, respondendo satisfatoriamente ao tratamento hormonal (Silva-Filho, 1981; Garadi et al., 1988; Sato et al., 1988; Resende et al., 1996; Sato, 2000; Reynalte-Tataje et al., 2001; Calbazar, 2005; ISA/FOIRN, 2007; Sampaio e Sato, 2009; Rojas, 2010, Silvidanes et al., 2013). Há também relatos sobre o uso de EBHC em três doses na reprodução de *Leporinus* (Reynalte-Tataje et al., 2001). Reynalte-Tataje et al. (2001), testando protocolos de indução hormonal no *L. macrocephalus*, verificou que os valores das taxas de fertilização são semelhantes (95,7%), aplicando-se duas (0,5 e 5,0 mg.Kg⁻¹) ou três doses (0,25; 0,5 e 5,0 mg.Kg⁻¹) de EBHC. Reynalte-Tataje et al. (2001) constataram que a desova semi-natural proporciona maiores valores das taxas de fertilização dos ovos (94,5 %), quando comparada com a desova por extrusão (25,8 %), bem como, maior taxa de sobrevivência dos reprodutores, com valores de 100% e 66,7%, respectivamente.

O *L. obtusidens* desova geralmente em 180-210 horas-grau (Rojas, 2010). O *L. friderici* desova em 195-225 horas-grau, com valores de taxas de fertilização de 48% (Campos e Rojas, 2010). O *L. piau* desova entre 8,0 e 8,5 h a temperatura de 25,0 e 26,0°C (Sampaio e Sato, 2009), enquanto o *L. macrocephalus* desova a 200 horas-grau (Campos e Rojas, 2010).

Outros tipos de hormônios foram estudados na indução reprodutiva de *Leporinus*. Pereira (2013) verificou que a gonadotrofina coriônica humana (hCG) não foi capaz de provocar a ovulação em *L. macrocephalus*, enquanto, os indutores GnRH sintético na forma sólida (mGnRHa – S/Ovopel/Interfish) e GnRH

sintético na forma líquida (mGnRHa – L/Conceptal/Intervet), ambos associados a metoclopramida, provocaram ovulação em 100% dos reprodutores de *L. macrocephalus*, porém o mGnRHa – L, obteve taxa de fertilização inferior e não houve eclosão. Neste mesmo estudo, o período de latência foi maior quando utilizou-se EBHC (19,34h), enquanto que menores períodos foram observados para mGnRHa – L (12h) e mGnRHa – S (10,5 h) (Pereira, 2013). Os machos de *L. macrocephalus* também podem ser induzidos com hipófise de frango em aplicação única de 5,0 mg.Kg⁻¹(Moraes et al., 2004). Não recomenda-se utilizar extrato de hipófise de coelho (EHCo) em machos *L. macrocephalus*, pois está associado à incidência de espermatozoides anormais (Moraes et al., 2004). O sêmen de *L. obtusidens* pode ser congelado usando-se dimetilsulfóxido a 5 e 10 % (Coser et al., 1988).

1.3 Embriogênese e Larvicultura

O desenvolvimento de técnicas reprodutivas de peixes em cativeiro tem sido relevante tanto quanto os avanços do manejo de larvas, assim como os aspectos nutricionais e sanitários (Phelps, 2010). Apesar disto, um dos principais entraves enfrentado pela piscicultura de peixes nativos é a fase de larvicultura (tipo de cultivo e condições de alimentação) (Weingartner, 2002; Luz e Portella, 2005).

É crescente a necessidade por tecnologias específicas para peixes nativos na fase larval (Lopes et al., 1994), visto que, neste período ocorrem os maiores valores das taxas de mortalidade (Hallare et al., 2005) e, cada espécie possui características biológicas distintas, portanto, tecnologias desenvolvidas para uma espécie em particular não são diretamente transferíveis para outras espécies. As larvas, além de serem morfologicamente distintas dos adultos, apresentam exigências ecológicas qualificadas, com particularidades quanto ao habitat, alimentação e comportamento (Leis e Trnski, 1989; Vazzoler, 1996). A sobrevivência destes organismos pode ser influenciada por fatores, tais como, temperatura, fotoperíodo, pluviosidade, condutividade elétrica, pH, corrente de água, oxigênio dissolvido, disponibilidade de alimento e fatores hormonais (Baldisseroto, 2009).

Os experimentos com larvas são minuciosos devido ao tamanho reduzido dos exemplares, podendo apresentar alterações mínimas dos resultados, tais como, variações presumivelmente mínimas nas medições (Pedreira et al., 2008).

As larvas de *L. obtusidens* e *L. friderici*, após a fertilização, permanecem em incubadoras cônicas, com renovação contínua de água, em uma densidade de 1,0 a 2,5 g de ovos.L⁻¹. Os valores médios de temperatura da água na incubadora não deve ultrapassar os 29°C e a concentração de oxigênio deve ser superior a 4,0 mg.L⁻¹ (Rojas, 2010).

Os ovos do *L. macrocephalus* se apresentam livres, transparentes, pequenos, esféricos e com um grande espaço perivitelínico. Depois de 11h30min da fertilização, a uma temperatura média de 28,2°C ocorre a eclosão (Reynalte-Tataje, 2001). Os valores médios de comprimento total das larvas recém-eclodidas são de 2,39 ± 0,12 mm e peso médio de 0,5 ± 0,1 mg (Reynalte-Tataje, 2001).

As larvas de *L. piau* eclodem 21 horas após a fertilização dos ovos, com médias de temperatura da água entre 23,0 e 24,0°C (Sampaio e Sato 2009). O *L. obtusidens* eclodem entre 18 a 20 horas após a fertilização (Rojas, 2010). As larvas são translúcidas, pequenas, com saco vitelínico de tamanho médio e olhos com pouca pigmentação (Campos e Rojas, 2010). A larva permanece semi-transparente até o início da alimentação, três dias depois da eclosão (Campos e Rojas, 2010).

Em *L. obtusidens*, a partir do quarto dia de vida, ministra-se juntamente com o plâncton, uma ração balanceada em pó (35 e 40% de PB), a cada 4 horas. Nos primeiros três dias de desenvolvimento as larvas de *Leporinus* não consomem alimento externo, se nutrindo exclusivamente do conteúdo do saco vitelínico, cuja velocidade de reabsorção é em função direta dos valores de temperatura da água (Campos e Rojas, 2010). Água levemente salinizada (2,0 g.L⁻¹) proporciona maior crescimento em *L. piau*, otimizando-se o uso de náuplios de *Artemia* como alimento vivo (Jomori et al., 2013). O uso de alimento natural (náuplios de artemia) nos cinco primeiros dias de criação mostra a incidência de canibalismo entre as larvas de piavuçu, *L. macrocephalus* (Radünz Neto et al., 2001).

Os resultados de estudos do desenvolvimento embrionário em espécies de *Leporinus* provenientes de reprodutores induzidos com EBHC obtidos na literatura pertinente foram compilados na **Tabela 1**.

Tabela 1. Principais fases do desenvolvimento inicial em *Leporinus*

	AUTOR	Silvidanes et al., 2013	Borçato et al., 2004	Reynalte-Tataje, 2001	Sanches et al., 2008
	ESPÉCIE	<i>L. copellandii</i>	<i>L. piau</i>	<i>L. macrocephalus</i>	<i>L. friderici</i>
PRINCIPAIS EVENTOS	Temperatura	27,7±0,8°C	24,0°C	28,2 ± 0,9°C	27,6°C
	Primeira segmentação	25min	-	30min	20min
	Mórula	01h31min	1h20min-	1h40minn	02h20min
	Blástula	01h52min	1h35min	3h20min	-
	Gástrula (início)	03h17min	02h00min	-	-
	Fechamento do blastóporo	05h35min	6h15min	4h35min a 5h5min	-
	Eclosão	22h50min	21 h	11h30min	13h20min

1.4 Densidade de estocagem

A densidade de estocagem (DE) é um importante fator biológico atuando sobre a sobrevivência e o desenvolvimento dos peixes. A determinação dos efeitos em diferentes fases de desenvolvimento do peixe auxilia na criação, reduzindo custos e aumentando a produtividade (Marques et al., 2004). Baixas densidades de estocagem levam ao menor aproveitamento do espaço disponível para a criação dos peixes. Contudo, altas densidades podem provocar alterações fisiológicas de estresse, ocasionando redução no crescimento e substancial mortalidade (Kebus et al. 1992)

Jomori et al. (2013) cultivando larvas de *L. macrocephalus* com três dias de vida, em unidades experimentais de 1000 mL, à densidade de 40 larvas.L⁻¹, alimentadas com náuplios de *Artemia* durante quatro dias, obtiveram valores de taxas de sobrevivência de 92%. Luz e Zaniboni-Filho (2002), ao estudar o efeito da densidade de estocagem de pós-larvas de *Pimelodus maculatus* observaram que a utilização de baixas densidades de estocagem (5 pós-larvas.L⁻¹) proporcionaram maiores valores de sobrevivência (35,6%), e indivíduos com pesos superiores (0,25±0,1 mg) aos cultivados em densidade de 30 pós-larvas/L, obtendo 20,6% de sobrevivência e peso de 0,19 ± 0,1 mg. Do mesmo modo, larvas de *Pseudoplatystoma corruscans* cultivadas em menores densidades (15 larvas.L⁻¹) apresentaram maiores valores das taxas de sobrevivências (52%) (Campagnolo e Nuñez, 2006). Tachibana et al. (2008) cultivando pós-larvas de tilápia-do-Nilo em

densidades de 1, 3, 5 e 7 pós-larvas.L⁻¹, observaram maior ganho em crescimento nas densidades superiores.

Larvas de *L. alexandri* podem ser criadas, durante os 10 primeiros dias de vida com alimentação exógena, em água doce ou salinizada a 2‰ com maior produção de juvenis na densidade 60 larvas.L⁻¹ (Luz e Santos, 2008). Pode-se obter melhores taxas de sobrevivência em larvas de *Brycon orbignyianus* cultivadas em densidade de 10 pós-larvas.L⁻¹, ministrando-se alimento a cada três horas (Silva et al., 2009).

2. REFERÊNCIAS

ATENCIO-GARCÍA, V. J. Producción de alevinos de peces migratorios continentales en Colombia. In: Memorias I Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura (CIVA), p.263-270, 2003.

AYA, E.; ARIAS, J. Reproducción inducida de *Pimelodus pictus* con extracto de hipófisis de carpa (EHC) y Ovaprim. Revista científica de la Faculdade de Medicina Veterinária y Zootecnia da Universidade de Córdoba, v.16, n.1, p.2317-2323, 2011.

BALDISSEROTTO, B. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. 3. ed., Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, 2009, 352p.

BARTHEM, R.; M. GOULDING. Os bagres balizadores: ecologia, migração e conservação de peixes Amazônicos. Brasília: Sociedade Civil Mamirauá, CNPq, 1997, 130p.

BATLOUNI, S. R.; ROMAGOSA; E. BORELLA, M. I. The reproductive cycle of male catfish, cachara *Pseudoplatystoma fasciatum* (Teleostei, Pimelodidae) revealed by changes of the germinal epithelium. Animal Reproduction Science, v.96, n.1, p.116-132, 2006.

BOMBARDELLI, R. A.; SYPERRECK, M. A.; SANCHES, E. A. Hormônio liberador de gonadotrofinas em peixes: aspectos básicos e suas aplicações. Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR, v.9, n.1, p.59-65, 2006.

BORÇATO, F. L.; BAZZOLI, N.; SATO, Y. Embriogenesis and larval ontogeny of the “piauí – gordura”, *Leporinus piau* (Fowler) (Pisces, Anostomidae) after induced spawning. Revista Brasileira de Zoologia, v.21, n.1, p.117-122, 2004.

BOULENGER, G. A. Descriptions of two new South-American characinoid fishes. Annals and Magazine of Natural History, v.15, Series 6, n.89, 1895, 540p.

BRITSKI, H. A.; SILIMON, K. Z. S.; LOPES, B. S. Peixes do Pantanal: Manual de identificação. Brasília: Embrapa-SP, 1999, 184p.

CALBAZAR, A (org.). Peixe e gente no Alto Rio Tiquié: Conhecimentos Tukano e Tuyuka, ictiologia, etnologia. São Paulo: Instituto Socioambiental (ISA), 2005, 339p.

CALBAZAR, A.; RICARDO, C. A. Povos indígenas do rio Negro: Uma introdução à socioambiental do noroeste da Amazônia brasileira. 3. ed., São Paulo: Federação das Organizações Indígenas do Rio Negro (FOIRN), 2006, 128p.

CALBAZAR, A. et al. Manejo ambiental e pesquisa do calendário ambiental no rio Tiquié. In: CALBAZAR A. (Organizador); RICARDO, B.; ALBERTA, L. (Colaboradores Manejo do Mundo - Conhecimentos e Práticas dos Povos Indígenas do Rio Negro, Noroeste amazônico. São Paulo: Instituto Socioambiental (ISA); São Gabriel da Cacheira, AM: Federação da Organizações Indígenas do Rio Negro (FOIRN), p.46-55, 2010.

CAMPAGNOLO, R.; NUÑER, A. P. O. Sobrevivência e crescimento de larvas de surubim, *Pseudoplatystoma corruscans* (Pisces, Pimelodidae), em diferentes densidades de estocagem. Acta Scientiarum Animal Sciences, v.28, n.2, p.231-237, 2006.

CAMPOS; J. L.; ROJAS, M. T. Genero *Leporinus* (boga). In: Peces nativos de agua dulce de América del Sur de interés para la acuicultura: In: A. FLORES-NAVA, A. BROWN (ed.). Peces nativos de agua dulce de América del Sur de interés para la acuicultura: Una síntesis del estado de desarrollo tecnológico de su cultivo. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), Serie Acuicultura en Latinoamérica, n.1, p.71-80, 2010.

CASTAGNOLLI, N. Criação de peixes de água doce. Jaboticabal: FUNEP, 1992, 189p.

COSER, A. M. L.; GODINDO, H. L.; TORQUATO, V. C. Observações preliminares sobre sêmen congelado de piau, *Leporinus obtusidens*. In: Associação Mineira de Aquicultura. Resumos dos Encontros 1982/1987. Brasília: Ministério da Irrigação, p.73, 1988.

COSTA, I. D.; FREITAS; C. E. C. Estrutura de Assembleias de Peixes em uma Área de Exploração Petrolífera na Amazônia (Bacia do Rio Urucu, Amazonas, Brasil). Boletim do Laboratório de Hidrobiologia, v.24, n.2, p.09-18, 2011.

COY, Y. S.; CÓRDOBA, E. A. Peces de importancia económica en la cuenca amazónica colombiana. Bogotá: Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas, 2000, 140p.

DONALDSON, E. M.; HUNTER G. M. Induced final maturation, ovulation, and spermiation. Fish physiology, v.9, p.351-403, 1983.

DONALDSON, E. M. Manipulation of reproduction in farmed fish. Animal Reproduction Science, v.42, n.1, p.381-392, 1996.

DONALDSON, E.M.; DEVLIN, R.H. Uses of biotechnology to enhance production. In: PENNELL, W.; BARTON, B. Principles of Salmonid Culture. Elsevier, v.29, p.969-1020, 1996.

ESCHMEYER, W. N.; FONG, J. D. [ed.]. Catalog of Fishes on-line. California: Academy of Sciences. Disponível em: <http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>. Acesso: 01 de novembro de 2014.

ESCHMEYER, W. N. [ed.]. Catalog of Fishes on-line. California: Academy of Sciences. Disponível em: (<http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>). Acesso: 01 de novembro de 2014.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State of World Fisheries and Aquaculture. Opportunities and challenges, Rome, 2014, 243p.

GARADI, R; ARAÚJO, O.; FIGUEIROA N. C. Reprodução artificial do piau verdadeiro, *Leporinus elongatus*, Valenciennes, 1849, cruzado com piau branco, *Schizodon knerii*, Steindachner, 1875. Estudos de Piscicultura. Brasília, p.13-16, 1988.

GARAVELLO, J. C. e BRITSKI, H. A. Family Anostomidae. In: REIS, R. E.; KULLANDER, S.; FERRARIS, C. F. Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America, Porto Alegre: Edipucrs, p.71-84, 2003.

GODINHO, H. M.; ROMAGOSA, E.; CESTAROLLI, M. A. et al. Reprodução induzida de curimatá *Prochilodus scrofa* Steind, 1881 sob condições de cultivo experimental. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.8, n.2, p.113-119, 1984.

HALLARE, A. V. et al. Combined effects of temperature and cadmium on developmental parameters and biomarker responses in zebrafish *Danio rerio* embryos. Journal of Thermal Biology, v.30, p.7-17, 2005.

HEW, CHOY L. G.; FLETCHER, L. The role of aquatic biotechnology in aquaculture. Aquaculture, v.197, p.191-204, 2001.

HOUSSAY, B. A. Acción sexual de la hipófisis en los peces y reptiles. Rev Soc Arg. Biol., v.6, p.686-688, 1930.

IHERING R. V. Die wirkung von Hypophyseinjektion auf den Laichakt von Fischen. Zoologischer Anzeiger, v.111, p.273-279, 1935.

IHERING, R. V.; AZEVEDO, P. de. As piabas dos açudes nordestinos (Characidae: Tetragnopterinae). Archivos do Instituto Biológico de São Paulo, v.7, p.75-106, 1936.

IHERING, R. V. A method for inducing fish to spawn. The Progressive Fish-Culturist, v.4, n.34, p.15-16, 1937.

ISA - Instituto Socioambiental/ FOIRN - Federação das Organizações Indígenas do Rio Negro. Piscicultura Indígena no Alto Rio Negro. Espécies Criadas, 2007. Disponível em: <http://www.socioambiental.org/pisci/especies.shtm>. Acesso em: 29/09/2014.

JOBLING, M. Fish Bioenergetics. London: Chapman e Hall, 1994, 309p.

JOMORI, R. K. et al. Água levemente salinizada aumenta a eficiência da larvicultura de peixes neotropicais. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.48, n.8, p.809-815, 2013.

LANDINES-PARRA, M. Á. L.; BENÍTEZ, H. O. M. Manejo y Reproducción de Carácidos en cautiverio. In: DAZA, P. V.; LANDINES- PARRA, M. A.; OCHOA, A. I S. Reproducción de los peces en el trópico. Bogotá: Instituto Colombiano de Desarrollo Rural, Universidade Nacional de Colombia, Faculdade de Medicina Veterinaria y Zootecnia, p.105-122, 2005.

LEIS, J. M.; TRNSKI, T. The Larvae of Indo-Pacific Shorefishes. Honolulu: University of Hawaii, 1989, 371p.

LOPES, C. A.; BENEDITO-CECILIO, E.; AGOSTINHO, A. A. The reproductive strategy of *Leporinus friderici* (Characiformes, Anostomidae) in the Paraná River basin: the effect of reservoirs. Revista Brasileira de Biologia, vol.60, n.2, p.255-266, 2000.

LOPES, R. N. M.; SENHORINI, J. A.; SOARES, M. C. F. Crescimento e sobrevivência de larvas de matrinxã *Brycon cephalus* Güther, 1869, (Pisces, Characidae) sob diferentes dietas alimentares. Boletim Técnico - CEPTA, Pirassununga, v.7, p. 41-48, 1994.

LOWE-MCCONNELL, R. H. Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais. In: Coleção Base. Edusp, 1999, 271p.

LUZ, R. K.; PORTELA, M. C. Tolerance to the air exposition test of *Hoplias lacerdae* larvae end juvenile during its initial development. Brazilian Archives of Biology and Technology, Curitiba, v.48, n.4, p.567-573, 2005.

LUZ, R. K.; SANTOS, J. C. E. Densidade de estocagem e salinidade na larvicultura do pacamã. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.43, n.7, p.903-909, 2008.

LUZ, R. K.; ZANIBONI-FILHO, E. Larvicultura do mandi-amarelo *Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803 (Siluriformes: Pimelodidae) em diferentes densidades de estocagem nos primeiros dias de vida. Revista Brasileira de Zootecnia, v.31, n.2, p.560-565, 2002.

MALDONADO-OCAMPO, J. A. et al. Peces del río Tomo, cuenca del Orinoco, Colombia. Biota Colombiana, v.7, n.1, p.113-128, 2006.

MARQUES, N.R. et al. Influência da densidade de estocagem no cultivo de alevinos de matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869) em condições experimentais. Acta Scientiarum. Biological Sciences, v.26, p.55-59, 2004.

MOJICA et al. Peces de la Cuenca del Río Amazonas en Colombia: Región de Leticia. Biota Colombiana, v.6, n.2, p.191-210, 2005.

MORAES, G.V.; STREIT JR., D.P.; RIBEIRO, R.P. et al. Ação de diferentes indutores reprodutivos hormonais no aparecimento de anormalidades morfológicas em espermatozóides de piavuçu *Leporinus macrocephalus*, curimatá *Prochilodus lineatus* e carpa comum *Cyprinus carpio*. Boletim do Instituto de Pesca, v.30, n.2, p.109-116, 2004.

MURGAS, L. D. S. et al. Manipulação do ciclo e da eficiência reprodutiva em espécies nativas de peixes de água doce. Revista Brasileira de Reprodução Animal, n.6, p.70-76, 2009.

MURGAS, L. D. S. et al. Eficiência reprodutiva em espécies nativas de peixes de água doce. Ciência Animal, v.22, n.1, p.197-206, 2012.

MYLONAS, C. C.; FOSTIER, A.; ZANUY, S. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. General and Comparative of Endocrinology, v.165, p.516-534, 2010.

MYLONAS, C. C.; ZOHAR, Y. Use of GnRHa – delivery system for the control of reproduction in fish. Reviews in Fish Biology and Fisheries, v.10, p.463-491, 2001.

NAGAHAMA, Y. Endocrine regulation of gametogenesis in fish. International Journal of Developmental Biology, v.38, p.217-217, 1994.

NELSON, J. S. Fishes of the world. John Wiley and Sons, Inc. New York. 4ed., 2006, 601p.

ORTEGA, H. et al. Lista anotada de los peces de aguas continentales del Perú: Estado actual del conocimiento, distribución, usos y aspectos de conservación. Ministerio del Ambiente, Dirección General de Diversidad Biológica, Museo de Historia Natural, UNMSM, 2012, 58 p.

PANKHURST, N.W.; PORTER, M.J.R. Cold and dark or warm and light: variations on the theme of environmental control of reproduction. *Fish Physiology and Biochemistry*, v.28, p.385-389, 2003.

PEDREIRA, M. M. et al. Fontes de erros na mensuração do comprimento e peso de larvas de peixes. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, v.30, n.3, p.245-251, 2008.

PEREIRA, T. S. B. Efeito de diferentes indutores hormonais sobre o processo de maturação final e ovulação em *Leporinus macrocephalus*. 2013, 45 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Curso de Pós Graduação em Aquicultura, Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

PETER, R.E., LIN, H.R.; VAN DER KRAAK, G. Induced ovulation and spawning of cultured freshwater fish in China: advances in application of GnRH analogues and dopamine antagonists. *Aquaculture*, v.74, p.1-10, 1988.

PETER, R.E.; K.L. YU; T.A. MARCHANT Y P.M. ROSENBLUM. Direct neural regulation of the teleost adenohypophysis. *Journal of Experimental Zoology*, v.256, n.S4, p.84-89, 1990.

PHELPS, R. P. Recent advances in fish hatchery management. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.39, p.95-101, 2010.

RADÜNZ NETO, J. et al. Substituição parcial de levedura de cana por farelo de soja na alimentação de larvas de piavuçu *Leporinus macrocephalus*. *Pesquisa Agropecuária Gaúcha*, v.7, p.151-158, 2001.

RAMALHO, E. E. et al. Ciclo hidrológico nos ambientes de várzea da Reserva de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá - Médio Rio Solimões, Período de 1990 a 2008. *Uakari*, v.5, n.1, p.61-87, 2009.

RESENDE, E. K. et al. Alimentação de peixes carnívoros da planície inundável do Rio Miranda, Pantanal, Mato Grosso do Sul, Brasil. Corumbá: EMBRAPA-CPAP, 1996, 36p.

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

RIBEIRO, C. S; MOREIRA, R. G. Fatores ambientais e reprodução dos peixes. *Revista da Biologia*, v.8: p.58-61, 2012.

RIBEIRO, M. C. L. B. As migrações dos jaraquis (Pisces, Prochilodontidae) no Rio Negro, Amazonas, Brasil. 1983. 192f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Água Doce e Pesca Interior) – curso de Pós-Graduação em Biologia de Água Doce e Pesca Interior, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Universidade do Amazonas (FAO), Manaus.

ROJAS, M. T. Protocolo de reproducción artificial para *Brycon orbignianus*, *Brycon hilarii*, *Leporinus obtusidens*, *Pseudoplatystoma coruscans*, *Prochilodus lineatus* y *Salminus brasiliensis*. In: FLORES-NAVA, A.; BROWN A (ed.). Peces nativos de agua dulce de América del Sur de interés para la acuicultura: Una síntesis del estado de desarrollo

tecnológico de su cultivo. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), Serie Acuicultura en Latinoamérica, n.1, p.140-149, 2010.

ROMAGOSA, E. Desenvolvimento gonadal (morfologia; ultra-estrutura) e indução da reprodução do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) em cativeiro. 1998. 221f. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Curso de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

ROMAGOSA, E. Reproductive status in females of the Brazilian catfish, *Pseudoplatystoma fasciatum* reared in cages. *Journal Applied Ichthyology*, v.26, p.806-811, 2010.

RUFFINO, M. L., 2004. A Pesca e os recursos pesqueiros na Amazônia brasileira. Manaus: IBAMA/ProVárzea, 2004, 272p.

SAINT-PAUL, U. Potencial for aquaculture of South American freshwater fishes: a review. *Aquaculture*, v.54, n.3, p.205-240, 1986.

Salinas-Coy e Agudelo-Córdoba. Peces de importancia económica en la cuenca amazónica colombiana. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas. Ministerio del Medio Ambiente. Bogotá, D.C., Colombia, 2000,140p.

SAMPAIO, V. E.; SATO, Y. Aspectos reprodutivos de *Leporinus piau* Fowler, 1941 (Osteichthyes, Anostomidae) da bacia Rio São Francisco, submetido à desova induzida. *Ciência Animal Brasileira*, v.10, n.1, p.157-165, 2009.

SANCHES, P. V. et al. Caracterização do desenvolvimento inicial de *Leporinus friderici* (Osteichthyes, Anostomidae) da bacia do rio Paraná, Brasil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v.23, p.383-389, 2008.

SANTOS, G. O. et al. Aspectos biológicos importantes para a piscicultura do gênero *Leporinus* Spix, 1829 — Uma revisão. *Pesquisa Agropecuária*, v.6, n.1, p.151-156, 2000.

SANTOS, G. M.; FERREIRA, E.J.G.; ZUANON, J. A. S. Peixes comerciais de Manaus. *Ibama/AM, ProVárzea*, 2006, p.144.

SANTOS, G. M.; JEGU, M. Inventário Taxonômico dos Anostomideos (Pisces, Anostomidae) da Bacia do Rio Uatumã - AM, Brasil, com descrição de duas espécies novas. *Acta Amazônica*, v.26, p.151-184, 1996.

SATO, Y; CARDOSO, E. L.; CAPUCHINHO, S. A. Reprodução induzida do piau-verdadeiro *Leporinos elongatus* da bacia do São Francisco (Nota preliminar) In: Associação Mineira de Aqüicultura: Resumos dos encontros 1982/ 1987, Brasília, Ministério da Irrigação (CODEVASF), 106-107, 1988.

SATO, Y.; N. FENERICH-VERANI; J.R. VERANI; L.J.S. VIEIRA Y H.P. GODINHO. Induced reproductive responses of the neotropical anostomid fish *Leporinus elongates*. *Val. under captive breeding. Aquaculture Research*, v.31, p.189-193, 2000.

SHERWOOD, N.M. et al. Sustained hormone release. I. Characteristics of in vitro release of gonadotropin-releasing hormone analogue (GnRH-a) from pellets. *Aquaculture*, v.74, n.1-2, p.75-86,1988.

SILVA, M.O. et al. Crecimiento y Supervivencia de Post larvas de Piracanjuba *Brycon orbignyanus*. *Archivos de Zootecnia*, v.58, n.222, p.285-288, 2009.

SILVA-FILHO, J.A. Contribuição ao estudo da reprodução induzida da piapara, *Leporinus obtusidens*, em cativieiro, com uso da hipófise fresca de piava catiguda *Schizodon fasciatus* e Pregnyl. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA, 2, 1981, Recife. Anais do II Congresso de Engenharia de Pesca. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, p.179-185,1981.

SILVIDANES, V. P. et al. Desenvolvimento embrionário do piau vermelho *Leporinus copelandii* (Steindachner, 1875). *Revista Cultivando o Saber*, v.6, n.1, p.85-94, 2013.

STEINDACHNER, F. Ichthyologische Beiträge (V). Sitzungsberichte der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften. Mathematisch-Naturwissenschaftliche Classe, 74, p.49-240.

TACHIBANA, L. et al. Densidade de estocagem de pós-larva de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante a fase de reversão sexual. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, v.34, n.4, p.483-488, 2008.

TAPHORN, D. et al. Lista actualizada de los peces de agua dulce de Venezuela. In: LA MARCA, E. Catálogo zoológico de Venezuela, Vertebrados actuales y fosiles de Venezuela. Venezuela: Museo de Ciencia y Tecnologia de Mérida, v.1, p.55-100, 1997.

URBINATI, E. C. Bases fisiológicas de la reproducción de los peces en el Trópico. In: DAZA, P. V.; LANDINES-PARRA, M. A.; OCHOA, A. I. S. Reproducción de los peces en el trópico. Bogotá: Ministerio de Agricultura. Universidade Nacional de Colombia, p.23-42, 2005.

VAN DAMME, P.A. et al. Pesca comercial en la cuenca amazónica boliviana In: _____. Los peces y delfines de la Amazonía boliviana: hábitats, potencialidades y amenazas. Cochabamba, Bolívia: INIA, p.247-293, 2011, 490p.

VAZZOLER, A. E. A. M. Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática. Maringá: EDUEM, 1996, 169p.

WEINGARTNER, M. Larvicultura do pintado amarelo *Pimelodus maculatus* (Lacépède 1803): tipo de dieta, concentração de presa, salinidade da água e cor do tanque. 2002, 55f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura). Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

WOYNAROVICH, E. HORVÁTH, L. A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão. Brasília: Food and Agriculture Organization the United Nations (FAO), 1983, p.225.

WRIGHT III, H. M. As adaptações dos índios Tukano e Maku-Hup'du no rio Tiquié: nichos ecológicos distintos ou competição por recursos?, 2009, 85 f.. Dissertação (Mestrado em Ecologia). Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus.

YAMAMOTO, N. Three gonadotropin – releasing hormone neural groups with special reference to teleosts. *Anatomical Science International*, v.78, p.139-155, 2003.

ZANIBONI FILHO, E.; REZENDE, E. Anatomia de gônadas, escala de maturidade e tipo de desova do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (Teleostei: Characidae). *Revista Brasileira Biologia*, v.48, n.4, p.833-844, 1988.

ZANIBONI FILHO, E. Biologia da reprodução do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (Teleostei, Characidae), 1985. 138f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Água Doce e Pesca Interior) - Fundação Universidade do Amazonas e Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus.

ZANIBONI-FILHO, E.; WEINGARTNER, M. Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.31, n.3, p.367-373, 2007.

ZOHAR, Y., MUÑOZ-CUETO, J. A., ELIZUR, A., KAH, O., Neuroendocrinology of reproduction in teleost fish. *General Comparative Endocrinology*, v.165, p.438-455, 2010.

ZOHAR, Y.; MYLONAS, C. C. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*, v.197, p.99-136, 2007.

3. ARTIGO

Este artigo foi redigido conforme as normas de publicação do periódico internacional, *Aquaculture Reports* (ISSN: 2352-5134).

Desenvolvimento inicial e densidade de estocagem de larvas de aracuriscado, *Leporinus agassizii* (Characiformes: Anostomidae)

Resumo

Estudos para produção de formas jovens de peixes são fundamentais para o desenvolvimento da piscicultura e o manejo das populações naturais. *Leporinus agassizii* é apreciado nas distintas modalidades de pesca (comercial, artesanal, ornamental e esportiva), além de apresentar características desejáveis para a criação. Objetivou-se descrever o desenvolvimento embrionário e a densidade de estocagem de larvas do aracu-riscado, *L. agassizii*. Reprodutores foram submetidos a reprodução induzida por hipofisacção, com a temperatura da água a $28,6 \pm 0,7^\circ\text{C}$, no Centro de Capacitação e Produção de Alevinos, pertencente ao Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia, São Gabriel da Cachoeira, Amazonas, Brasil, no mês de setembro de 2014. Logo após a fertilização, os ovos foram mantidos em incubadoras (60L), com a temperatura média da água de $28,4 \pm 0,7^\circ\text{C}$. Coletaram-se amostras de ovos em intervalos de 10 min, durante as primeiras três horas pós-fertilização (PF) e, posteriormente, em intervalos de 30min até a eclosão das larvas, para observação em estereomicroscópio equipado com câmera CMOS digital colorida, 10.0 MP e software para captura e análise de imagens (ISCapture). O efeito da densidade de estocagem de larvas do *L. agassizii* foi avaliado ao longo do 4º e 14º dias após a eclosão (DAE). Foram utilizadas 3600 larvas no 4º DAE, encontrando-se estas com o saco vitelínico totalmente absorvido, boca aberta e mantidas em jejum. As larvas foram submetidas às densidades de 5 (D5), 15 (D15) e 25 (D25) larvas.L⁻¹, em caixas de polietileno (0,63 x 0,45 x 0,32 m), com 20 L de água. Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. As larvas foram alimentadas seis vezes ao dia, sendo cada refeição composta por náuplios de *Artemia*, na proporção 50 náuplios.larva⁻¹ (4º ao 6º DAE), 100 (7º ao 9º DAE), 200 (10º ao 11º DAE) e 400 (12º ao 13º DAE) e por ração comercial (55% PB), na ordem de 10% do peso. Diariamente foi ajustada a quantidade de alimento em função das larvas mortas. As larvas foram medidas (mm) e pesadas (mg) no início (4º DAE) do experimento, 6º, 8º, 10º, 12º e 14º DAE e, avaliadas as médias de comprimento e peso ao longo do tempo, a sobrevivência final calculada pela contagem individual das larvas remanescentes. Os ovos de *L. agassizii* são esféricos e não-adesivos, apresentando coloração verde-acinzentada, córion rígido, grande espaço perivitelínico, elevado aumento de tamanho após 15min de hidratação, apresentando diâmetro de $2,94 \pm 0,57$ mm.

Após 1h10min da fertilização o embrião encontrava-se com 32 blastômeros. Com 5h30min PF notou-se o final da gástrula e o fechamento do blastóporo. A diferenciação dos folhetos embrionários foi registrada com 7h PF. O crescimento e alongamento do embrião pelo eixo céfalo-caudal pôde ser constatado às 10h PF. A eclosão das larvas ocorreu entre 11h30min e 13h PF. O comprimento total das larvas recém-eclodidas foi de $4,03 \pm 0,19$ mm. O desenvolvimento embrionário e larval de *L. agassizii* é similar ao de outras espécies do mesmo gênero. O cultivo de larvas de *L. agassizii* na menor densidade D5, resultou em um crescimento mais elevado, comparando-se com D25, porém, ambos não apresentaram diferenças significativas com D15. Os valores das taxas de sobrevivência não foram significativamente diferentes entre os tratamentos. Portanto, faz-se necessário adotar densidades maiores em estudos futuros, afim de verificar uma densidade que proporcione maior produtividade, condizente com a realidade dos piscicultores na região amazônica, para sua criação em escala comercial.

Palavras-chave: Anostomidae; desenvolvimento embrionário; indução hormonal, larvas; laboratório

Abstract

Studies for the production of young fish shapes are key to the development of fish farming and the management of natural populations. *Leporinus agassizii* is appreciated in the different fishing methods (commercial, craft, ornamental and sports), and present desirable features for creation. This study aimed to describe the embryonic and larval stocking density of aracu-riscado, *L. agassizii*. Larvae underwent reproduction induced hypophysation, with the water temperature at 28.6 ± 0.7 °C, the Centro de Capacitação e Produção de Alevinos belonging to the Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, São Gabriel da Cachoeira, Amazonas, Brazil, in September 2014. After fertilization, the eggs were kept in incubators (60 Litre), with the average water temperature of 28.4 ± 0.7 °C. Samples were collected 10 min intervals on eggs during the first three hours after fertilization (AF) and thereafter at intervals of 30 minutes until the outbreak of the larvae, for observation in stereo equipped with digital color CMOS camera, 10.0 MP and software to capture and analyze images (ISCapture). The effect of larval stocking density of *L. agassizii* was assessed over 4th and 14th days after hatching (DAH). 3600 larvae were used in the 4th DAH, meeting these with the yolk sac fully absorbed, mouth open and fasted. The effect of larval stocking density of *L. agassizii* was assessed over 4th and 14th (DAH). 3600 larvae were used in the 4th DAH, meeting these with the yolk sac fully absorbed, mouth open and fasted. The larvae were subjected to density of 5 (D5), 15 (D15) and 25 (D25) larvae.L⁻¹, in polyethylene boxes (0.63 x 0.45 x 0.32 m) with 20 Litre of water. We used a completely randomized design with four replications. The larvae were fed six times a day, each meal consisting of *Artemia* in the proportion 50 náuplios.larva⁻¹ (4th to 6th DAH), 100 (7th to 9th DAH), 200 (10th to 11th DAH) and 400 (12th to 13th DAH) and commercial diet (55% CP) in the order of 10% by weight. Daily was adjusted to amount of food as a function of dead larvae. Larvae were measured (mm) and weight (mg) in the top (4th DAH) of the experiment, 6th, 8th, 10th, 12th and 14th DAH and evaluate the average length and weight over time, calculated by the final survival individual counting of the remaining larvae. The eggs of *L. agassizii* are spherical and non-adhesive, with gray-green color, hard chorion, large perivitelline space, high increase in size after 15 minutes of hydration, with diameter 2.94 ± 0.57 mm. 1:10 after fertilization the embryo found with 32 blastomeres. With 5:30 AF was

noted the late gastrula and the closing of the blastopore. The differentiation of germ layers was recorded 7:00 AF. The growth and elongation of the embryo cephalic-caudal axis could be seen at 10 AF. The hatching of larvae occurred between 11:30 and 13:00 AF. The total length of newly hatched larvae was 4.03 ± 0.19 mm. The embryonic and larval development of *L. agassizii* is similar to other species of the same genus. The cultivation of larvae *L. agassizii* in lower density D5 has resulted in higher growth, compared with D25, however, both showed no significant differences with D15. The rate values of the survival rates were not significantly different between treatments. Therefore, it is necessary to adopt higher densities in future studies in order to verify a density that provides greater productivity, consistent with the reality of fish farmers in the Amazon region, for their creation on a commercial scale.

Key-words: Anostomidae; embryonic development; hormonal induction, larvae; laboratory

1. Introdução

Estudos sobre comunidade de peixes iniciam-se pelo conhecimento das fases iniciais do ciclo de vida (Santos et al., 2000). Logo, a caracterização de aspectos morfológicos e fisiológicos ao longo do desenvolvimento de ovos e larvas de peixes, fornecem informações relevantes acerca da biologia, ecologia e taxonomia das espécies (Lindsey, 1988). Tais informações podem contribuir para altas taxas de sobrevivência na produção de formas jovens de peixes, em quantidade e tamanho suficiente, podendo também garantir o manejo das populações naturais e viabilizar tecnicamente a criação (Lopes et al., 1994; Luz e Zaniboni-Filho, 2002; Andrade e Yasui, 2003). Atualmente é crescente a necessidade por tecnologias específicas para peixes nativos durante a fase inicial (Lopes et al., 1994), visto que, neste período ocorrem os maiores valores das taxas de mortalidades (Hallare et al., 2005) e, é sabido que cada espécie possui características biológicas distintas, portanto, tecnologias desenvolvidas para uma espécie em particular não são diretamente transferíveis para outras espécies (Donaldson, 1996).

Dentre os gargalos da larvicultura, a densidade de estocagem é considerada um dos principais fatores, pois influencia no crescimento (Duffy e Epifanio, 1994; Hecht e Uys, 1997; El-Sayed, 2002), sobrevivência (Li e Mathias, 1982; El-Sayed, 2002), alimentação (Bonga, 1997; Kestemont et al., 2003) e comportamento (Mackinnon, 1982; Hecht e Uys, 1997; Barcellos et al., 1999, Baskerville-Bridges e Kling, 2000; Luz e Santos, 2008; Silva et al., 2009). É difícil estabelecer uma densidade ideal, pois isto depende da espécie, tamanho, condições de cultivo, tipo de alimentação, entre outros (Wallace, 1988; Luz e Zaniboni-Filho, 2002).

Leporinus é o gênero mais diverso da família Anostomidae (Characiformes), com aproximadamente 100 espécies válidas (Eschmeyer, 2014). Este gênero apresenta relevância socioeconômica nos países da América do Sul, sendo explorado pela pesca comercial, artesanal, ornamental e esportiva (Bittencourt e Cox-Fernandes, 1990; Godinho, 1993; Ruffino, 2004; Salinas-Coy e Agudelo-Córdoba, 2000; Van Damme et al., 2011; Campos e Rojas, 2010).

Algumas espécies de *Leporinus* são mais apreciadas pela pesca, como o *L. agassizii*, que pode alcançar 35,0 cm (Santos et al., 2006) e 1,6 Kg (ISA/FOIRN, 2007), tendo como característica evidente, uma faixa escura no meio do corpo, que se estende desde a nadadeira dorsal até a caudal (Calbazar, 2005; Santos et al., 2006). Endêmica de grandes bacias – Amazonas (Brasil, Colômbia e Peru) e Orinoco (Venezuela) – o *L. agassizii* é economicamente insignificante em algumas regiões, como no Baixo rio Amazonas e Médio rio Solimões (Santos et al., 2006), enquanto em outras regiões, como no Alto rio Negro, constitui o principal recurso pesqueiro (Calbazar, 2005; ISA/FOIRN, 2007). Esta variação pode ser devido a composição e quantidade de pescado existente em cada região, além da preferência da população (Ruffino, 2004). O *L. agassizii* vem sendo cultivado desde 1999 por comunidades indígenas no Alto Rio Negro/AM (Calbazar, 2005; ISA/FOIRN 2007). Os registros sobre a criação indicam uma espécie promissora para a piscicultura, devido a aclimação ao cativeiro; o hábito alimentar onívoro, alta taxa de crescimento e fecundidade; além de apresentar respostas satisfatórias à reprodução induzida (Calbazar, 2005; ISA/FOIRN 2007).

Apesar da importância, a quantidade de informação sobre o *L. agassizii* é reduzida, aspectos da reprodução e desenvolvimento larval são reportados por Calbazar (2005) e ISA/FOIRN (2007), não havendo registro sobre o desenvolvimento embrionário, bem como, tecnologias de criação. Baseado nisto, objetivou-se descrever os eventos morfológicos ocorridos na embriogênese do *L. agassizii*, obtidos por meio de indução hormonal, além de avaliar o crescimento (comprimento e peso) e os valores das taxas de sobrevivência de larvas mantidas à diferentes densidades de estocagem, em condições laboratoriais.

2. Material e métodos

O experimento foi realizado no Setor de Piscicultura, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas, Campus São Gabriel da Cachoeira (IFAM/CSGC), no período de 02 a 18/09/2014. Os ovos e larvas foram obtidos por indução hormonal de três fêmeas e quatro machos de *L. agassizii*. Os reprodutores foram selecionados a partir de um lote de 22 peixes adultos, capturados entre os meses de janeiro à maio de 2012 no rio Negro, Amazonas, Brasil (0°09'28.77" S,

66°57'23.66" O), mantidos em cativeiro e alimentados com ração comercial (32 % PB). Foram selecionados os machos que liberaram sêmen ao sofrer leve pressão na região da cavidade abdominal, e as fêmeas que apresentaram abdômen abaulado e macio, além de papila genital entumecida e avermelhada. Após a seleção, os reprodutores permaneceram em um tanque de alvenaria (2,4 x 0,90 x 0,90 m), com constante vazão de água (40 L.min⁻¹) oriunda de igarapé e aeração por meio de compressor, mantendo-se fêmeas e machos separados por meio de tela, dividindo assim o tanque em duas áreas. Os reprodutores receberam injeções intramusculares com Extrato Bruto de Hipófise de Carpa (EBHC), sendo nas fêmeas aplicadas duas doses de 0,5 e 5 mg.Kg⁻¹, em intervalo de 12 horas (Sampaio e Sato, 2009). Os machos receberam 1,5 mg.Kg⁻¹ de EBHC no momento da segunda dose das fêmeas (Rojas, 2010). Após o processo de fertilização a seco, os ovos hidratados foram transferidos para incubadoras-tipo funil com vazão de água constante, sendo monitorado a qualidade da água. Utilizou-se três incubadoras de 60 L para realizar o acompanhamento do desenvolvimento embrionário, e três incubadoras de 200 L, para obtenção de larvas.

Entre 10-15 ovos e embriões foram coletados a cada 10 minutos de intervalos, nas primeiras 3 horas, e a cada 30 min até a eclosão. Os diferentes estágios de desenvolvimento embrionário foram observados e documentados utilizando-se um estereomicroscópio (Bioptika) equipado com câmera CMOS digital colorida, 10.0 MP e software para captura e análise de imagens (ISCapture). As fotos foram separadas de acordo com o grau de desenvolvimento, segundo Nakatani et al (2001) e a descrição de cada estágio foi baseada na observação dos principais eventos morfológicos.

Larvas com 84 horas após eclosão, apresentando boca aberta, sem reserva vitelínica e mantidas em jejum, foram aleatoriamente retiradas das incubadoras e contadas 3600 larvas, distribuindo-as ao acaso, em 12 Unidades Experimentais (UEs). As UEs foram constituídas por caixas de polietileno (0,63 x 0,45 x 0,32 m) com 20 L de água e aeração constante através de um soprador. O experimento foi inteiramente casualizado, com três tratamentos constituídos pelas densidades de 5 (**D5**), 15 (**D15**) e 25 (**D25**) larvas.L⁻¹, havendo quatro repetições. As larvas foram alimentadas seis vezes ao dia, sendo cada refeição composta por náuplios de *Artemia*, na proporção 50 náuplios.larva⁻¹ (4° ao 6° DAE), 100 (7° ao 9° DAE), 200

(10° ao 11° DAE) e 400 (12° ao 13° DAE), e por ração comercial (55% PB), na ordem de 10% do peso vivo. Esta metodologia foi baseada segundo Jomori et al. (2013). Diariamente, os detritos acumulados no fundo das UEs foram sifonados, e aproximadamente 50% do volume da água renovado. A quantidade de alimento foi ajustada em função das mortalidades observadas durante a sifonagem.

Os náuplios foram obtidos por incubação dos cistos (2g.L^{-1}) em água salinizada a 20 g.L^{-1} , em incubadoras cônicas com 40 L de água, aeração por meio de compressor e iluminação contínua sobre a superfície da água. Para a coleta dos náuplios, após 36 horas de incubação, interrompeu-se a aeração por 10 minutos, os náuplios acumulados no fundo foram coletados com rede de plâncton (malha de $120\ \mu\text{m}$), lavados em água corrente e concentrados em incubadora contendo 10 L de água doce. Quantificaram-se os náuplios por estimativa, retirando-se quatro alíquotas de 1mL da incubadora com o “concentrado”. Imagens das amostras foram digitalizadas e realizadas a contagem dos náuplios, com o auxílio de câmera CMOS (10.0 MP) acoplada ao estereomicroscópio trinocular (Ocular 10x; Objetiva 2x) e do programa de captura e análise de imagem ISCapture.

Duas vezes ao dia, às 08h00min e 17h00min, foram mensuradas as variáveis físico-químicas da água (temperatura, pH e oxigênio), com o auxílio de aparelhos digitais. E a cada três dias, a alcalinidade e a concentração de amônia, pelo método colorimétrico.

Foram realizadas biometrias parciais a cada dois dias (cinco biometrias), utilizando-se duas larvas de cada UE e, uma biometria ao final do experimento (sexta biometria), sendo nesta retiradas entre 20 e 40 larvas de cada UE. As larvas foram fotografadas com câmera digital CMOS (10.0 MP) acoplada ao estereomicroscópio trinocular (Ocular 10 x; Objetiva de 1 a 2x) e o comprimento do focinho à base da nadadeira caudal de cada peixe foi medido a partir das imagens digitais, utilizando o software ISCapture. O peso foi determinado por uma balança analítica com precisão de 0,01 mg. Utilizou-se papel filtro para retirada do excesso de líquido das larvas.

Para os testes de diferenças dos dados biométricos e de sobrevivência, foram utilizadas análises de variância (ANOVA) e testes de média (Tukey) em nível de 95% de probabilidade.

3. Resultados

A extrusão dos ovos de *L. agassizii* ocorreu 8h após a segunda dose hormonal, com médias de temperatura da água de $28,6 \pm 0,7^\circ\text{C}$. Os ovócitos, no momento da liberação, eram esféricos, com formação do espaço perivitelínico, córion, de coloração verde-acinzentada e não-adesivos. Após a fertilização foi possível visualizar o pólo animal e vegetativo dos ovos. O diâmetro dos ovócitos aumentou gradativamente de $1,43 \pm 0,47$ mm para $2,94 \pm 0,57$ mm após 15 min de hidratação. O tempo da embriogênese durou em média 12h15min à temperatura de $28,4 \pm 0,7^\circ\text{C}$. Na **Tabela 1**, observa-se a sequência de eventos em *L. agassizii* durante o desenvolvimento embrionário.

Após a fertilização, o pólo animal começou a se definir aos 10 minutos após fertilização (PF), ocorrendo o término aos 30 minutos PF (**Fig.1A**). As clivagens ocorreram entre 30min a 1h10min PF, dividindo o pólo animal em dois blastômeros de igual tamanho, formando em seguida quatro, oito, 16 até 32 blastômeros (**Fig. 1B e 1C**). Posteriormente, com 1h20min até às 1h40min PF, observou-se a fase de mórula (**Fig. 1D**), que se caracteriza pela formação de um maciço celular semelhante a uma “meia amora”. Em seguida, 1h50min PF, visualiza-se a fase de blástula, caracterizada pela formação de uma cúpula acima da massa do vitelo (**Fig. 1E**).

Na fase da gástrula, pôde-se observar o início do movimento de epibolia às 02h20min PF. Com 3h40min PF a fertilização visualizou-se 50% de epibolia (**Fig. 1F**), às 4-5 PF, cerca de 70% (**Fig. 1G**), e ao final do movimento, se completou a formação de uma porção de vitelo não recoberta pelo blastoderme, denominada de tampão vitelínico (**Fig. 1H**). Com 5h30min PF houve o fechamento do blastóporo (**Fig. 1I**).

No início da fase de organogênese, com 7h PF, notou-se o desenvolvimento das regiões cefálica e caudal (**Fig. 1J**). Às 8h30min PF, observaram-se os primeiros somitos (**Fig. 1K**). Às 9h30min PF Houve o desprendimento da região caudal e o início da diferenciação dos miômeros. O crescimento e alongamento do embrião pelo eixo céfalo-caudal pôde ser constatado, às 10h PF (**Fig.1L**). Às 11h30min PF, o movimento dos embriões tornou-se mais forte (**Fig. 2A**) e, finalmente, entre as

12h e 13h PF, as larvas eclodiram, após o rompimento do córion (**Fig. 2B**). A temperatura de incubação foi de $28,4 \pm 0,7$ °C.

As larvas recém-eclodidas apresentaram-se transparentes e distendidas. Desprovidas de pigmentos, acuidade visual e capacidade natatória. A cabeça encontrava-se na posição ventral, aderida a região anterior ao saco vitelínico. No momento da eclosão, o comprimento das larvas foi de $4,03 \pm 0,19$ mm

Tabela 1. Características estruturais do desenvolvimento embrionário de *Leporinus agassizii* nas distintas fases.

Fases	Tempo após a fertilização	Descrição
Zigoto	0 - 30min	Migração do citoplasma e formação do pólo animal (Fig. 1A).
Clivagem	30min -1h10min	Clivagem com sucessivas divisões celulares em 2, 4, 8, 16, 32 blastômeros (Fig. 1B e 1C).
Mórula	1h20min-1h40min	Fase da mórula (Fig. 1D).
Blástula	1h50min	Fase da blástula (Fig. 1E).
Gástrula	2h20min	50% epibolia (migração das células embrionárias) (Fig. 1F).
	3h40min	70% epibolia (migração das células embrionárias) (Fig. 1G).
	4h -5h	90% epibolia (migração das células embrionárias) (Fig. 1H).
	5h 30min	Gástrula final: Fechamento do blastóporo (Fig. 1I).
Embrião	7h	Formação do eixo embrionário; diferenciação das regiões cefálica e caudal (Fig. 1J).
	8h 30min	Aparecimento da vesícula ótica e dos primeiros somitos (Fig. 1K).
	9h 30min	Destacamento da região caudal.
	10h	Alongamento do embrião pelo eixo céfalo-caudal (Fig. 1L).
Larvas	11h30min -13h	Primeiros movimentos (Fig. 2A). Rompimento do córion (Fig. 2B). Larva recém-eclodida, sem pigmentos no corpo, com comprimento total de 4,03 ± 0,19 mm

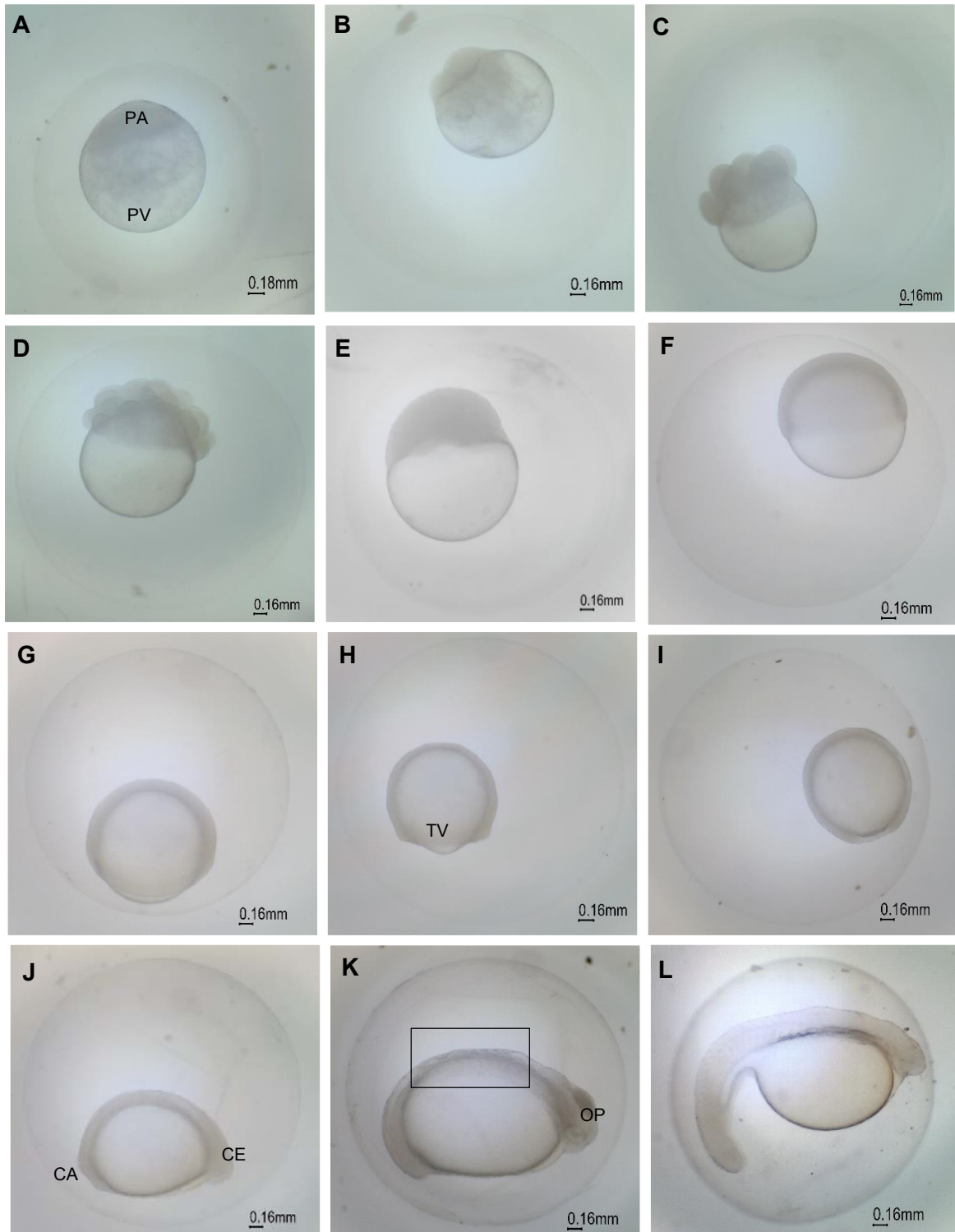


Fig. 1. Morfologia externa de ovos (A-I) e embriões (J-L) de *L. agassizzi*. **A)** pólo animal (PA) e vegetativo (PV); **B)** Formação de dois blastômeros; **C)** Formação de oito blastômeros. **D)** Mórula. **E)** Blástula. **F)** Gástrula com vitelo recoberto em cerca de 50%; **G)** Gástrula com vitelo recoberto em cerca de 70%; **H)** Gástrula com vitelo recoberto em cerca de 90% e com formação do tampão vitelínico (TV); **I)** Fechamento do blastóporo; **J)** Formação do eixo embrionário com diferenciação das regiões cefálica (CE) e caudal (CA); **K)** Primeiros somitos e vesícula óptica (OP). **L)** Alongamento do embrião pelo eixo céfalo-caudal.

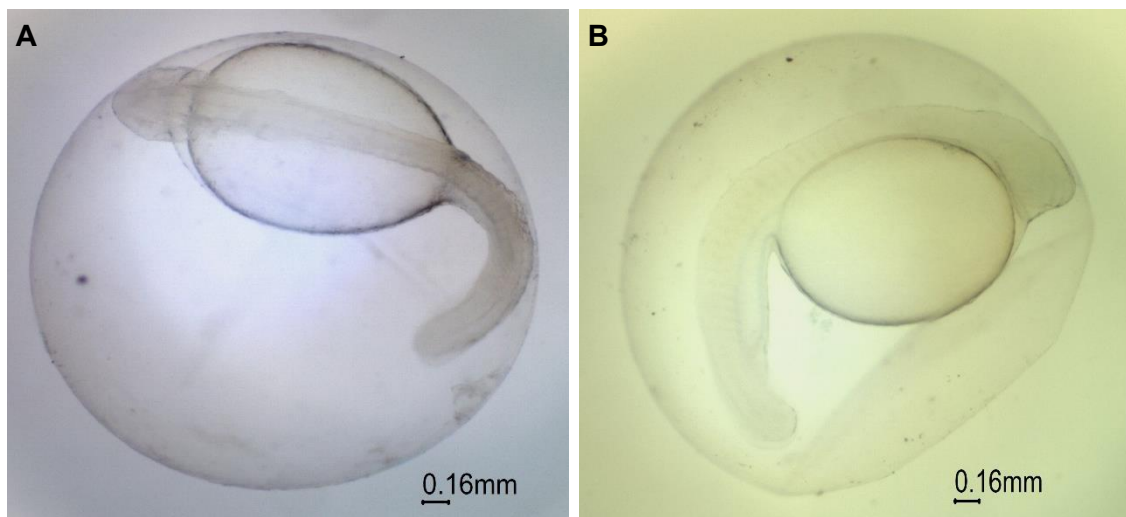


Fig. 2. Morfologia externa de larvas de *L. agassizii*. **A)** Primeiros movimentos (11h30min após a fertilização); **B)** Rompimento do córion (Eclosão) (12-13 horas após a fertilização).

Os valores da temperatura da água das unidades experimentais oscilaram em média de 24,3 a 30,1°C, entre o período da manhã (08:00 h) e à tarde (17:00h). Os valores do pH da água apresentaram-se alcalino, variando entre 6,40 a 7,21. Os valores das concentrações de oxigênio dissolvido da água das UEs variaram de 5,3 a 6,9 mg.L⁻¹. A amônia ficou abaixo de 0,2 mg.L⁻¹ e a alcalinidade em torno de 40 mg.L⁻¹ de CaCO₃. Estes dados mantiveram-se dentro dos padrões considerados normais para a aquicultura.

As médias de comprimentos não se diferenciaram entre os tratamentos até a quinta biometria, a única diferença significativa ocorreu na última coleta onde a densidade D25 apresentou comprimento 7% menor que o tratamento D5 ($p = 0,03$). Nesta coleta o tratamento D15 obteve valores intermediários entre os outros dois tratamentos não apresentando diferença significativa com nenhum deles, contudo, D15 obteve valores mais semelhantes com o tratamento D5 ($p = 0,479$) do que com o tratamento D25 ($p = 0.194$) (**Fig.3**).

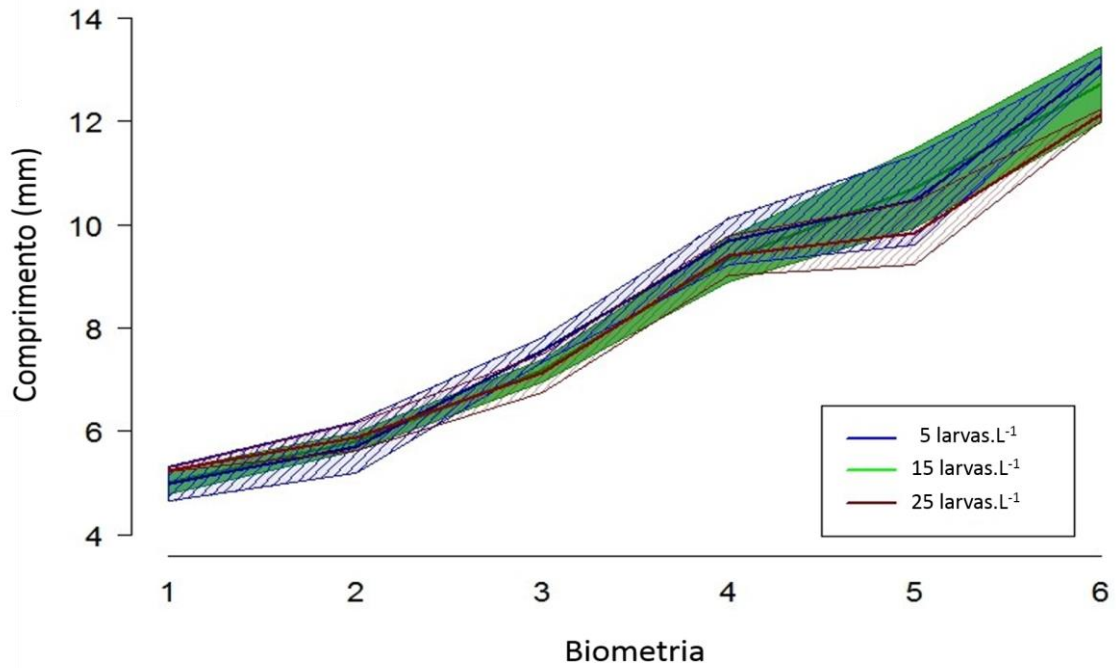


Fig. 3. Comprimento das larvas de *Leporinus agassizii* por tratamento nas diferentes biometrias. As linhas centrais nos polígonos representam os valores médios de cada tratamento e as limitrofes são os desvios-padrão.

As médias de pesos diferenciaram-se entre os tratamentos a partir da quinta biometria, essas diferenças foram superiores na sexta biometria, onde o tratamento D5 foi 40% maior que o tratamento D25 e não apresentaram diferenças significativas com o tratamento D15 (**Fig. 4**).

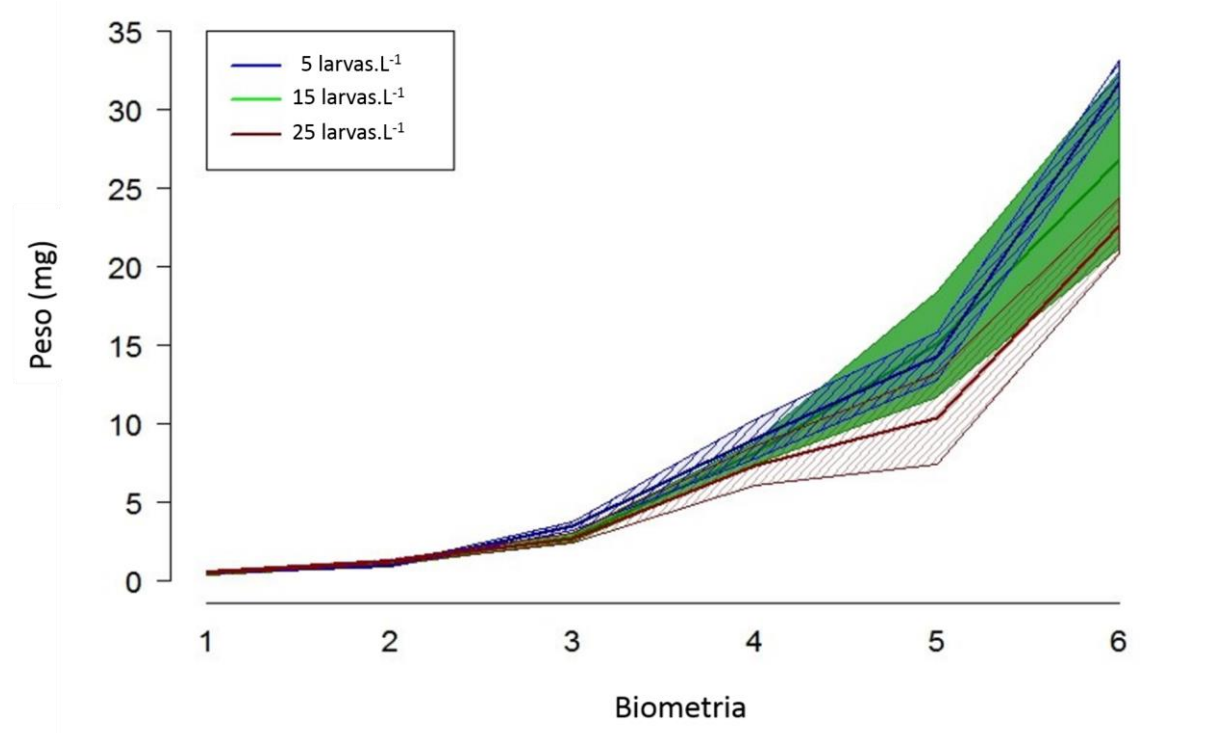


Fig. 4. Peso das larvas por tratamento nas diferentes coletas. As linhas centrais nos polígonos representam os valores médios de cada tratamento e as limitrofes são os desvios-padrão.

Os valores das taxas de sobrevivências totais não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos ($p = 0.547$) (**Fig. 5**). as mortalidades ocorreram em sua maioria nas primeiras 72 h de experimento, e após este tempo manteve-se estável. Os índices de sobrevivência final obtiveram valores de 88,05; 90,23; e 88,67% respectivamente, para D5, D15 e D25 (**Fig. 5**).

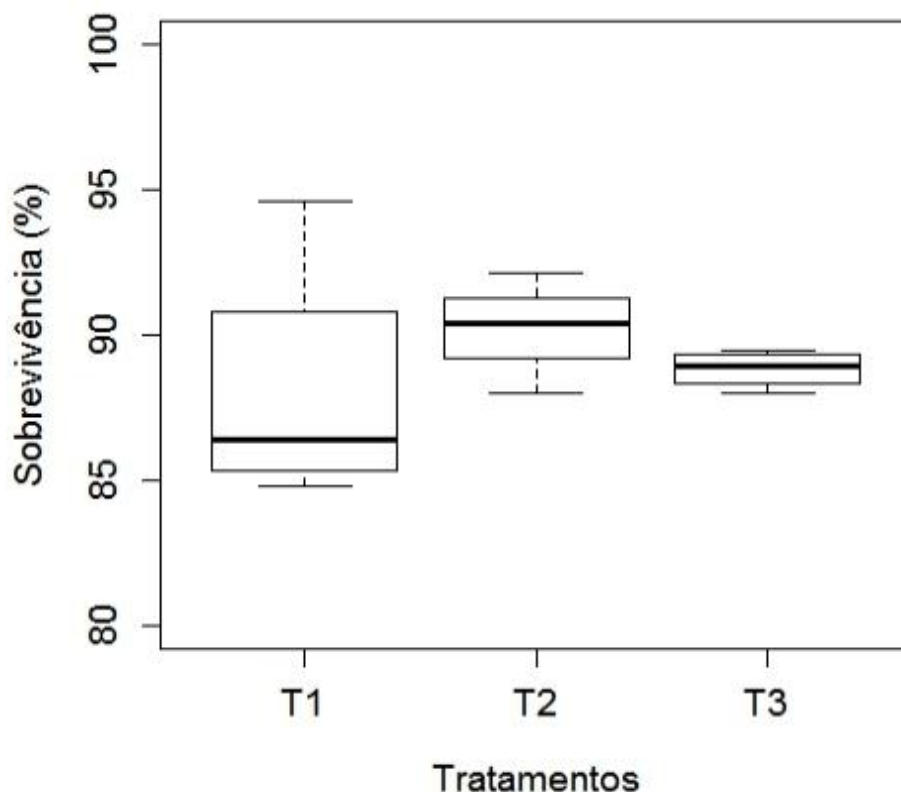


Fig. 5. Sobrevivência de larvas de *Leporinus agassizii* dos tratamentos (T1) 5 larvas.L⁻¹, (T2) 15 larvas.L⁻¹ e (T3) 25 larvas.L⁻¹

4. Discussão

Os ovos de *L. agassizii*, assim como os de outros Characiformes, possui uma grande região correspondente ao pólo vegetativo, similar a outras espécies do gênero *Leporinus*, como *L. elongatus* (Dumont-Neto, 2000); *L. friderici* (Sanches et al., 2001); *L. macrocephalus* (Reynalte-Tataje et al., 2001), *L. taeniatus* (Sato et al., 2003; *L. piau* (Borçato et al., 2004). De acordo com Blaxter (1984), o tamanho do ovo pode influenciar no tempo de desenvolvimento inicial dos peixes e, em geral, os ovos grandes possui maior quantidade de reserva vitelínica, portanto, o tempo de duração dos eventos são prolongados.

A sequência de eventos observada durante o período de embriogênese da espécie *L. agassizii* é similar à descrita para outras espécies do gênero, como *L. copelandii* (Silvidanes, et al., 2013); *L. elongatus* (Dumont-Neto, 2000); *L. friderici* (Sanches et al., 2001); *L. macrocephalus* (Reynalte-Tataje, 2001) e *L. piau* (Borçato

et al., 2004), assim como para outros teleósteos, *Brycon gouldingi* (Faustino et al., 2011); *B. insignis* (Andrade-Talmelli et al., 2001), *B. cephalus* (Lopes et al., 1994; Romagosa et al., 2001), *B. orbignyanus* (Reynalte-Tataje et al., 2004); *Prochilodus lineatus* (Ninhaus-Silveira et al., 2006) e *Zungaro jahu* (Marques, 2008). Os mecanismos básicos de desenvolvimento dos teleósteos são similares, diferenciando-se apenas na cronologia dos eventos (Falk-Petersen, 2005).

O movimento de epibolia, no qual as células embrionárias divergiam no sentido do pólo vegetativo, caracterizou a fase de gástrula. O início da fase de organogênese no *L. agasszii*, ocorreu após o término da epibolia e formação do tampão vitelínico como também observado em *Brycon insignis* (Andrade-Talmelli et al. 2001), *Leporinus piau* (Borçato et al. 2004), *Prochilodus lineatus* (Ninhaus-Silveira et al. 2006), *B. gouldingi* (Faustino et al., 2011).

A temperatura da água pode influenciar na duração do período de incubação dos ovos (Woynarovich e Horváth, 1983; Falk-Petersen, 2005). Os ovos de *L. agasszii* utilizados no presente experimento foram mantidos em incubadoras cuja temperatura média foi de $28,4 \pm 0,7^{\circ}\text{C}$, e eclodiram entre 11h30min a 13h após fertilização. Este resultado é semelhante ao descrito por Sanches et al., (2001) para a espécie *L. friderici* que eclodiram 10h30min após fertilização, a uma temperatura média de 24 a $26,5^{\circ}\text{C}$:

As observações realizadas para *L. agasszii* com relação ao crescimento, evidenciam interação entre os fatores densidade de estocagem e crescimento. Estas mesmas observações foram confirmadas em experimentos conduzidos em condições de laboratório, na qual, em geral, mostram que o maior crescimento é superior em menores densidades de estocagem na larvicultura de várias espécies de peixes nativos como, *Piaractus mesopotamicus*, *Colossoma macropomum*, *Brycon cephalus* (Gomes et al.; Luz et al., 2000), *Pimelodus maculatus* (Luz e Zaniboni Filho, 2002) e tilápia-do-Nilo da linhagem tailandesa (Tachibana, 2008).

O efeito acentuado no crescimento da larvas em menor densidade (D5), sugere que ocorreu melhor aproveitamento do alimento fornecido. Todavia, as causas da redução do crescimento em peso e comprimento, dos peixes submetidos às diferentes densidades, segundo Barton e Iwama (1991), pode ser um conjunto de fatores que atuam modificando o estresse metabólico, consumo de alimento, interação social, alteração nos hormônios, enzimas e fatores de crescimento.

Segundo Kebus et al. (1992) o estresse crônico ocasionado pelas altas densidades de estocagem, por longos períodos, acarreta redução no crescimento, pois a energia consumida na dieta e as reservas corporais são mobilizadas para as alterações fisiológicas do estresse.

Assim como no presente estudo, Saccol-Pereira e Nuñez (2003) não encontraram diferenças significativas nos valores das médias de sobrevivência entre as diferentes densidades de estocagem de larvas de *Brycon. orbignyanus*. A semelhança entre os valores das taxas de sobrevivência final nas diferentes densidades estocagem pode ter sido relacionada à oferta de alimento suficiente, que levaram as larvas à saciedade e evitou disputas territoriais (Saccol-Pereira e Nuñez, 2003).

No presente estudo, os valores das taxas de mortalidade ocorreram em sua maioria nas primeiras 72 h do experimento, e após este tempo manteve-se estável, assim como, no estudo de *L. obtusidens*, em condições semelhantes (Gosmann, 2012).

5. Conclusão

Ovos de *L. agassizii* são esféricos, não-adesivos, de coloração verde-acinzentada, córion rígido, grande espaço perivitelínico, elevado aumento de tamanho após 15 minutos de hidratação e diâmetro de $2,94 \pm 0,57$ mm. A sequência de eventos do desenvolvimento embrionário, desde o zigoto até a gástrula teve duração de 5 horas e 30 minutos, enquanto a formação do embrião ocorreu entre 7 horas e 10 horas pós-fertilização. Na temperatura de incubação de $28,4 \pm 0,7$ °C a eclosão das larvas ocorreu após 11 horas e 30 minutos.

Em relação a densidade de estocagem verificou-se que apesar de D5 apresentar o maior crescimento em relação a D25, ambos não apresentaram diferença significativa com D15. A densidade de estocagem também não influenciou significativamente nos valores das taxas de sobrevivência, portanto, é necessário realizar novos estudos com densidades maiores, levando em consideração uma maior produtividade.

Estas observações foram descritas pela primeira vez para o *L. agassizii*, fornecendo informações sobre as características biológicas desta espécie de

grande interesse para a atividade pesqueira e piscícola. Os resultados obtidos são úteis ao cultivo de *L. agassizii*, além de ser uma ferramenta para estudos taxonômicos, ecológicos e de melhoria da gestão.

Agradecimentos

Este trabalho teve apoio financeiro do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas Campus São Gabriel da Cachoeira (IFAM/CSGC). Os autores querem agradecer aos professores *Rondon Yamane* e MSc. *Sarah Ragonha*, às alunas do curso técnico em Agropecuária, *Abgail Silva* e *Joyce Melgueiro*, e ao Técnico em Aquicultura, *Gabriel Lima* pela colaboração técnica durante a realização da reprodução e no decorrer do experimento. A primeira autora teve bolsa de estudos no nível de Mestrado, através do Edital RH-Interiorização, da FAPEAM (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas).

Referências

- [Andrade e Yasui, 2003](#) D.R. Andrade, G.S. Yasui
Reprodução natural e artificial e sua importância na produção de peixes no Brasil
Rev. Bras. Reprod. Animal, 27 (2003), pp. 166–172
- [Andrade-Talmelli et al., 2001](#) E.F. Andrade-Talmelli, E.T. Kavamoto, E. Romagosa, N. Fenerich-Verani
Embryonic and larval development of the “piabanha”, *Brycon insignis* Steindachner, 1876 (Pisces, Characidae)
Bol Inst Pesca, 27 (2001), pp. 21–27
- [Barcellos et al, 2000](#) L.J.G. Barcellos, S. Nicolaiewsky, S.M.G. Souza, F. Lulhier
The effects of stocking density and social interaction on acute stress response in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings
Aquaculture Research, 30 (1999), pp: 887–892
- [Baskerville-Bridges e Kling, 2000](#) B. Baskerville-Bridges, L.J. Kling
Larval culture of Atlantic cod (*Gadus morhua*) at high stocking densities
Aquaculture, 181 (2000), pp. 61–69
- [Bittencourt e Cox-Fernandes, 1990](#) M.M. Bittencourt; C. Cox-Fernandes
Peixes migradores sustentam pesca comercial
Ciência Hoje, 11(1990), pp. 20–24

Blaxter, 1984 J.H.S. Blaxter

Ontogeny, systematics and fisheries

Amer. Soc. Ichthy. Herpet. Spec. Publ. 1 (1984), pp. 1–6

Bonga, 1997 S.E.W. Bonga

The stress response in fish

Physiological Reviews, 77(1997), pp.591–625

Borçato et al., 2004 F.L. Borçato; N. Bazzoli, Y. Sato

Embryogenesis and larval ontogeny of the “piau-gordura”, *Leporinus piau* (Fowler) (Pisces, Anostomidae) after induced spawning

Rev. Bras. Zool., 21 (2004), pp. 117–122

Calbazar, 2005 A. Calbazar (Org.)

Peixe e Gente no Alto Rio Tiquié: conhecimentos tukano e tuyuka, ictiologia, etnologia

Instituto Socioambiental, São Paulo (2005), p. 339

Donaldson, 1996 E.M. Donaldson

Manipulation of reproduction in farmed fish

Animal Reproduction Science, 42 (1996), pp. 381–392

Duffy e Epifanio, 1994 J.T.Duffy,C.E. Epifanio

Effects of larval density on the growth and survival of weakfish *Cynoscion regalis* in large-volume enclosures

Marine Ecology-Progress Series, 104 (1994), pp. 227–227

Dumont-Neto, 2000 R. Dumont-Neto

Efeito da triiodotironina no desenvolvimento inicial de piau verdadeiro, *Leporinus elongatus* Valenciennes, 1849), adicionada nos ovos por hidratação, durante a fertilização

Dissertação (Mestrado em aquicultura). Curso de Pós Graduação em Aquicultura. Centro de Aquicultura da UNESP, Jaboticabal (2000), pp. 40

El-Sayed , 2002 A.M. El-Sayed

Effects of stocking density and feeding levels on growth and feed efficiency of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry

Aquaculture, 33 (2002), pp. 621–626

Eschmeyer, 2014 W. N. Eschmeyer, (Ed)

Catalog of Fishes: Genera, Species, References 2014

(<http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>).

Acessado em 01 de novembro de 2014

Falk-Petersen, 2005 I. B: Falk-Petersen

Comparative organ differentiation during early life stages of marine fish.

Fish Shell Immunol, 19 (2005), pp. 397–412

Faustino et al., 2010 F. Faustino, L.S. Nakaghi, E. Neumann

***Brycon gouldingi* (Teleostei, Characidae): aspects of the embryonic development in a new fish species with aquaculture potential**

Zygote, 19 (2011), pp. 351-363

Godinho, 2010 A. L. Godinho

E os peixes de Minas em 2010

Ciência Hoje, 16 (1993), pp. 44–49

Gomes et al., 2000 L.C. Gomes, B. Baldisserotto, J.A. Senhorini

Effect of stocking density on water quality, survival, and growth of larvae of the matrinxã, *Brycon cephalus* Characidae, in ponds.

Aquaculture, 183(2000), pp.73–81

Gosmann, 2012 M.A. Gosmann

Incubação dos ovos e larvicultura da piava (*Leporinus obtusidens*): efeito do pH

Dissertação. Programa de pós-graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, (2012), pp. 42

Hallare et al. 2005 A.V. Hallare, M. Schirling, T. Luckenbach, H.R. Köhler, R. Tribskorn

Combined effects of temperature and cadmium on developmental parameters and biomarker responses in zebrafish (*Danio rerio*) embryos

Journal of Thermal Biology, 30 (2005), pp.7–17

Hecth e Uys, 1997 T. Hecth, W. Uys

Effect of density on the feeding and aggressive behaviour in juvenile African catfish (*Clarias gariepinus*)

South African Journal of Science, 93 (1997), pp. 537–541.

Houde, 1987 E.D. Houde

Fish early life dynamics and recruitment variability. In: Hoyt, R.D.; (ed). 10 Annual Larval Fish Conference

Miami, Florida, EEUU. 18-23 May 1986. American Fisheries Society Symposium, 2 (1987), pp. 17–29

ISA/FOIRN, 2014 ISA - Instituto Socioambiental/ FOIRN - Federação das Organizações Indígenas do Rio Negro

Piscicultura Indígena no Alto Rio Negro. Espécies Criadas (2007)

Disponível em: <http://www.socioambiental.org/pisci/especies.shtm>. Acesso em: 29/09/2014

Jomori et al. 2013 R.K. Jomori, R.K. Luz, R. Takata, T.E.H.P. Fabregat, M.C. Portella

Água levemente salinizada aumenta a eficiência da larvicultura de peixes neotropicais.

Pesq. agropec. bras., Brasília, 48 (2013), pp. 809–815

[Kebus et al., 1992](#) M.J. Kebus, M.T. Collins, M.S. Brownfield; C.H. Amundson, T.B. Kayes, J.A.C. Malison

Effects of rearing density on the stress response and growth of rainbow trout
Journal of Aquatic Animal Health, 4(1992), pp. 1–6

[Kestemont et al., 2004](#) P. Kestemont, S. Jourdan, M. Houbart, C. Mélard, M. Paspatis, P. Fontaine, A. Cuvier, M. Kentouri, E. Baras

Size heterogeneity, cannibalism and competition in culture predatory fish larvae: biotic and abiotic influences
Aquaculture, 227 (2003), pp. 333–356

[Lindsey, 1988](#) C.C. Lindsey

Factors controlling meristic variation.
Fish Physiol. 11(1988), pp. 197–274

[Li e Mathias, 1982](#) J.A. Li, S Mathias

Causes of high mortalith among cultured larval walleyes
Am. Fish. Soc., 3 (1982), pp. 710–720

[Lopes et al., 1994](#) R.N.M. Lopes, J.A. Senhorini, M.C.F. Soares

Crescimento e sobrevivência de larvas de matrinxã *Brycon cephalus* Güther, 1869, (Pisces, Characidae) sob diferentes dietas alimentares.
B. Téc. CEPTA, 7 (1994), pp. 41–48.

[Luz e Zaniboni-Filho, 2002](#) R.K. Luz, E. Zaniboni-Filho

Larvicultura do mandi-amarelo *Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803 (Siluriformes: Pimelodidae) em diferentes densidades de estocagem nos primeiros dias de vida
R. Bras. Zootec., 31 (2002), pp.560–565

[Luz e Santos, 2008](#) Luz, R.K. Luz, J.D. SANTOS

Densidade de estocagem e salinidade na larvicultura do pacamã
Pesq. Agropec. Bras., Brasília, 43 (2008), pp.903–909

[Mackinnon, 1983](#) M.R. Mackinnon

Barramundi breeding and culture in Thailand.
Queensland Department of Primary Industries Study Tour Report, Sohghkla (1982)

[Marques, 2008](#) C. Marques

Análise histológica e de microscopia eletrônica do desenvolvimento inicial de jaú (*Zungaro jahu*)
Dissertação (Mestrado em Aqüicultura). Centro de Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista – UNESP: Jaboticabal, (2008), pp. 89

[Nakatani et al., 2001](#) K. Nakatani, A.A. Agostinho, G. Baumgartner, A. Bialetzki, P.V. Sanches, M. Cavicchioli

Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação
Maringá: EDUEM/Nupélia, (2001), pp. 359

- [Ninhaus-Silveira et al, 2006](#) A. Ninhaus-Silveira, F. Foresti, A. Azevedo
Structural and ultrastructural analysis of embryonic development of *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) (Characiforme; Prochilodontidae).
Zygote, 14 (2006), pp. 217–229
- [Reynalte-Tataje et al., 2001](#) D. Reynalte-Tataje, E. Zaniboni-Filho; B. Muelbert
Stages of the embryonic development of the piavuçu *Leporinus macrocephalus* (Garavello e Britski, 1988)
Acta Scientiarum, Maringá, 23 (2001), pp. 823–827
- [Reynalte-Tataje et al., 2014](#) D. Reynalte-Tataje, E. Zaniboni-Filho, J.R. Esquivel
Embryonic and larvae development of piracanjuba, *Brycon orbignyanus* Valenciennes, 1849 (Pisces, Characidae)
Acta Sci, 26 (2004), pp. 67-71
- [Rojas, 2010](#) M.T. Rojas
Protocolo de reproducción artificial para *Brycon orbignianus*, *Brycon hilarii*, *Leporinus obtusidens*, *Pseudoplatystoma coruscans*, *Prochilodus lineatus* y *Salminus brasiliensis*. In: A. FLORES-NAVA, A. BROWN (ed.). **Peces nativos de agua dulce de América del Sur de interés para la acuicultura: Una síntesis del estado de desarrollo tecnológico de su cultivo.**
Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), Serie Acuicultura en Latinoamérica, 1 (2010), pp. 140–149, p. 274
- [Romagosa et al., 2001](#) E. Romagosa, M.Y. Narahara, N. Fenerich-Verani.
Stages of embryonic development of the “matrinxã”, *Brycon cephalus* (Pisces, Characidae).
Bol Inst Pesca, 27 (2001), pp. 29–32.
- [Ruffino , 2004](#) M. L. Ruffino, (Coordenador)
A Pesca e os recursos pequeiros na Amazônia brasileira.
IBAMA/ProVárzea, Manaus (2004) p. 272
- [Saccol-Pereira e Nuñez, 2003](#) A. Saccol-Pereira, A. P. O. Nuñez
Utilização de diferentes densidades, dietas e formatos de tanque na larvicultura da piracanjuba, *Brycon orbignyanus* Valenciennes, 1849 (Characiformes, Characidae).
Acta Scientiarum: Biological Sciences, 25 (2003), pp. 55-61.
- [Salinas-Coy e Agudelo-Córdoba, 2000](#) Y. Salinas-Coy, E. Agudelo-Córdoba
Peces de importancia económica en la cuenca amazónica colombiana
General: Donato-Rondón, JC, Sinchi (Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas), Bogotá, Colombia, 1 (2000).
- [Santos et al., 2006](#) G. Santos, E.J.G. Ferreira, J.A.S. Zuanon
Peixes comerciais de Manaus
Manuas: IBAMA/AM, ProVárzea (2006), p. 144

- [Sampaio e Sato, 2009](#) V.E. Sampaio, Y. Sato
Aspectos reprodutivos de *Leporinus piau* Fowler, 1941 (Osteichthyes, Anostomidae) da bacia Rio São Francisco, submetido à desova induzida
Ciência Animal Brasileira, 10 (2009), pp. 157–165
- [Silva et al., 2009](#) M. O. Silva, P.V.R. Logato, , L.D.S. Murgas, P.A.P. Ribeiro, , A.N. Maria
Crecimiento y supervivencia de postlarvas de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*)
Archivos de Zootecnia, 58 (2009), pp. 285–288
- [Sanches et al., 2008](#) P.V. Sanches, G. Baumgartner, A. Bialetzki, M.R. Suiberto, F.D.C. Gomes, , K. Nakatani, N. D. Campos-Barbosa
Caracterização do desenvolvimento inicial de *Leporinus friderici* (Osteichthyes, Anostomidae) da bacia do rio Paraná, Brasil
Acta Scientiarum. Biological Sciences, 23 (2008), pp. 383–389
- [Santos, 2000](#) G. O. Santos
Aspectos biológicos importantes para a piscicultura do gênero *Leporinus* Spix, 1829 — Uma revisão
Pesquisa Agropecuária, 6 (2000), pp. 151–156
- [Santos et al., 2006](#) Santos, G. M.; Ferreira, E.J.G.; Zuanon, J.A.S.
Peixes comerciais de Manaus
Ibama/AM, ProVárzea (2006), p.144
- [Sato et al., 2003](#) Y.SATO, N. FENERICH-VERANI, H.P. GODINHO.
Reprodução induzida de peixes da bacia do São Francisco, . In: H.P. GODINHO e A.L. GODINHO (Eds). Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais.
PUC Minas, Belo Horizonte (2003) pp.275–289, p. 468
- [Silvidanes et al., 2013](#) V. P. Silvidanes, E. M. Fries, J. A. Decarli³, A. Feiden, C. A. Hermes
Desenvolvimento embrionário do piau vermelho *Leporinus copelandii* (Steindachner, 1875).
Revista Cultivando o Saber, 6 (2013) pp.85–94
- [Tachibana et al., 2008](#) L. Tachibana, A.F.G. Leonardo, C.F. Corrêa, L.A. Saes
Densidade de estocagem de pós-larva de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante a fase de reversão sexual
Boletim do Instituto de Pesca, 34 (2008), pp. 483-488
- [Van Damme et al., 2011](#) P.A. Van Damme, F.M. Carvajal-Vallejos, A. Rua, L. Cordova, P. Becerra
Pesca comercial en la cuenca amazónica boliviana In: Los peces y delfines de la Amazonía boliviana: hábitats, potencialidades y amenazas
Edit. INIA, Cochabamba, Bolivia (2011), p. 490

Wallace et al., 1988 J.C. Wallace, A.G., Kolbeinshavn, T.G. Reinsnes

The effects of stocking density on early growth in articchar, *Salvelinus alpinus* (L.)

Aquaculture, 73 (1988), pp. 101–110

Woynarovich e Horváth, 1983 E. Woynarovich, L. Horváth

A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão.

FAO/CODEVASF/CNPq, Brasília (1983), p. 225

Anexo 1 – Documentação Fotográfica



Fig 1. Reprodução artificial de *Leporinus agassizii*. **A)** Seleção de reprodutores; **B)** Exemplar fêmea; **C)** Exemplar macho; **D)** Indução hormonal através de injeção intramuscular de extrato bruto de hipófise de carpa.



Fig. 2. Coleta dos produtos sexuais e fertilização em *Leporinus agassizii*. **A)** Extrusão de ovócitos; **B)** Espermição; **C)** Pesagem dos ovócitos; **D)** Mistura dos gametas; **E)** Ativação dos espermatozoides.



Fig. 3. Incubação de ovos de *Leporinus agassizii*. **A)** Ovos hidratados; **B)** Incubação; **C)** Incubadoras; **D)** Ovos na incubadora.

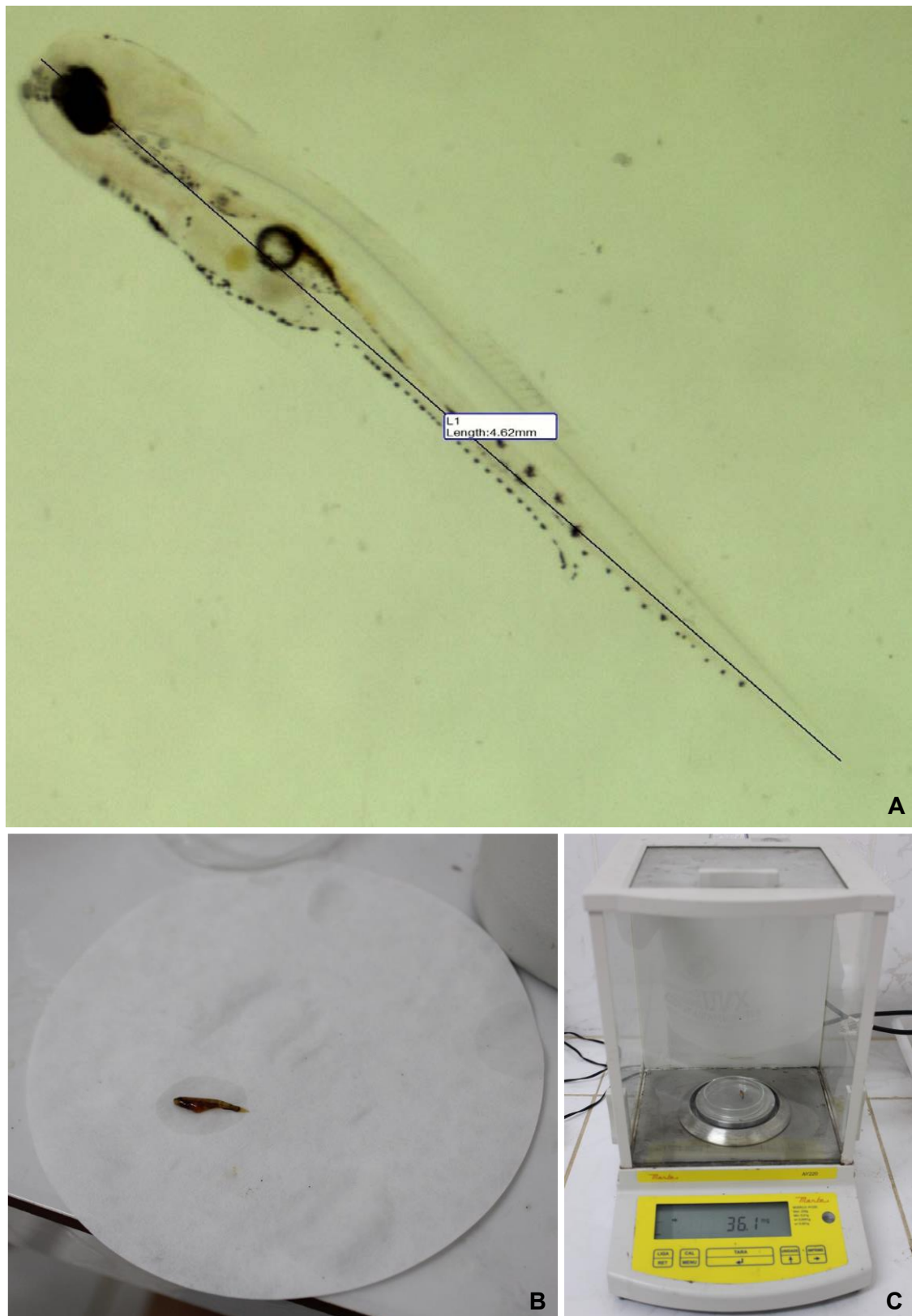


Fig. 4. Medição e pesagem de larvas de *Leporinus agassizii*. **A)** Larva com quatro dias após eclosão, medindo 4,62 mm [medição realizada com auxílio de estereomicroscópio (Aumento 10X, Objetiva 2X), máquina fotográfica e programa de captura e análise de imagens IS CAPTURE; **B)** Retirada do excesso de água da larva com papel filtro; **C)** Pesagem da larva em balança analítica com precisão de 0,01g.



Fig. 5. Produção de náuplios de *Artemia*. **A)** Incubadoras cilíndrico-cônicas de 60 L utilizadas para incubação de cistos de *Artemia*. **B)** Cistos em solução salina (20 g/L) sob luz contínua e oxigenação forte e constante. **C)** Interrupção de oxigenação após eclosão (24 – 36 horas após incubação) durante 10 -15 minutos, neste tempo os náuplios se separam das cascas dos cistos que flutuam, enquanto os náuplios se acumulam no fundo. **D)** Coleta de náuplios em uma malha submersa com orifícios de 120 μm . **E)** Enxágue dos náuplios em água doce corrente.



Fig. 6. Produção de náuplios de *Artemia*. **A)** Concentração de náuplios em incubadora contendo 20 L de água doce. **B)** Suspensão dos náuplios **C)** Coleta de amostra do concentrado de náuplios com Becker de 500 mL. **D)** Coleta de amostras de 1 mL a partir do Becker. **E)** Imagem de náuplios no computador digitalizadas com auxílio estereomicroscópio, câmera fotográfica e programa IS CAPTURE.



Fig. 7. Alimentação de larvas c=de *Leporinus. agassizii* com náuplios de *Artemia*. **A)** Medição do volume do concentrado de *Artemia* a ser fornecido por unidade experimental. **B) e C).** Coleta de náuplios em malha de 120 µm. **D) e E).** Unidades experimentais

Anexo 2 – Normas do Periódico



AQUACULTURE REPORTS

AUTHOR INFORMATION PACK

TABLE OF CONTENTS

• Description	p.1
• Editorial Board	p.1
• Guide for Authors	p.2



DESCRIPTION

Aquaculture Reports will publish original research papers and reviews documenting outstanding science with a regional context and focus, answering the need for high quality information on novel species, systems and regions in emerging areas of aquaculture research and development, such as integrated multi-trophic aquaculture, urban aquaculture, ornamental, unfed aquaculture, offshore aquaculture and others. Papers having industry research as priority and encompassing product development research or current industry practice are encouraged.

We welcome submissions on novel species or production systems and on species or production systems established locally or with regional significance, falling within the following categories: **Feeding management, nutrition and health:** all aspects of aquatic animal feed, nutrition, health and diseases relevant to aquaculture, including evaluation of regional feeds and feedstuffs as well as novel feed management practices and techniques. **Production, economics and sustainability:** production methods and systems for aquatic produce. Dissemination of interdisciplinary knowledge regarding the sustainable management of aquatic resources and resulting impacts on people and the environment. Articles which include economic analysis are encouraged. **Genetics, developmental biology, physiology and life cycle:** all aspects of farmed aquatic animals and plants relevant to solving problems related to their culture.

EDITORIAL BOARD

Executive Editors

W.C. Valenti (Americas), Campus Experimental do Litoral Paulista, UNESP, São Paulo State University, Praça Infante Dom Henrique s/n, 11330-900, São Vicente SP, Brazil

A.A. van Dam (Africa and Europe), Aquatic Ecosystems Group, Dept. of Water Science and Engineering, Unesco-IHE Institute for Water Education, P.O. Box 3015, 2601 DA, Delft, Netherlands

W. Zhang (Asia-Pacific), Key Lab of Aquaculture Nutrition and Feeds (KLANF), Ocean University of China, 5 Yushan Road, 266003, Qingdao, China

Editorial Advisory Board

E. Azim, Hatfield Consultants, North Vancouver, BC, Canada

A. de Vilhena Sykes, C.C.Mar - Centre of Marine Sciences, Universidade do Algarve, Faro, Portugal

P.P. Edwards, Asian Institute of Technology, Pathumthani, Thailand

S.-J. Fu, Chongqing University, Chongqing City, China

H. Komen, Wageningen Universiteit, Wageningen, Netherlands

Y.-H. Lin, National Pingtung University of Science and Technology, Taiwan

GUIDE FOR AUTHORS

Introduction

Aquaculture Reports is the new online only, author-pays, open access journal published by Elsevier.

Types of Papers

Regular articles represent original research results based on empirical data.

Reviews are in depth reviews of a particular topic or field. Only critical review papers will be considered. The format and length of review papers are more flexible than for a full paper.

Short Communications are short articles that report on brief but complete projects, significant observations, or are exceptional findings of continuing projects that warrant rapid publication. Short communications should not be used for preliminary results. Papers must contain sufficient data to establish that the research has achieved reliable and significant results.

Technical Papers should present new methods and procedures for either research methodology or culture-related techniques.

Policy reports are analyses of biological resource policies and other environmental and industrial policies, which influence the ways in which regional aquaculture is developed.

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journal-authors/ethics>.

Conflict of interest

All authors are requested to disclose any actual or potential conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations within three years of beginning the submitted work that could inappropriately influence, or be perceived to influence, their work. See also <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>. Further information and an example of a Conflict of Interest form can be found at: http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/286/p/7923.

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/sharingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service CrossCheck <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

Changes to authorship

This policy concerns the addition, deletion, or rearrangement of author names in the authorship of accepted manuscripts:

Before the accepted manuscript is published in an online issue: Requests to add or remove an author, or to rearrange the author names, must be sent to the Journal Manager from the corresponding author of the accepted manuscript and must include: (a) the reason the name should be added or removed, or the author names rearranged and (b) written confirmation (e-mail, fax, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Requests that are not sent by the corresponding author will be forwarded by the Journal Manager to the corresponding author, who must follow the procedure as described above. Note that: (1) Journal Managers will inform the Journal Editors of any such requests and (2) publication of the accepted manuscript in an online issue is suspended until authorship has been agreed.

After the accepted manuscript is published in an online issue: Any requests to add, delete, or rearrange author names in an article published in an online issue will follow the same policies as noted above and result in a corrigendum.

Article transfer service

This journal is part of our Article Transfer Service. This means that if the Editor feels your article is more suitable in one of our other participating journals, then you may be asked to consider transferring the article to one of those. If you agree, your article will be transferred automatically on your behalf with no need to reformat. Please note that your article will be reviewed again by the new journal. More information about this can be found here: <http://www.elsevier.com/authors/article-transfer-service>.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' (for more information see <http://www.elsevier.com/OAauthoragreement>). Permitted third party reuse of open access articles is determined by the author's choice of user license (see <http://www.elsevier.com/openaccesslicenses>).

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. For more information on author rights please see <http://www.elsevier.com/copyright>.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some authors may also be reimbursed for associated publication fees. To learn more about existing agreements please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

Open access

This is an open access journal: all articles will be immediately and permanently free for everyone to read and download. To provide open access, this journal has an open access fee (also known as an article publishing charge APC) which needs to be paid by the authors or on their behalf e.g. by their research funder or institution. Permitted third party (re)use is defined by the following Creative Commons user licenses (see <http://www.elsevier.com/openaccesslicenses>):

Creative Commons Attribution (CC BY)

Lets others distribute and copy the article, create extracts, abstracts, and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), include in a collective work (such as an anthology), text or data mine the article, even for commercial purposes, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, and do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation.

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)

For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

The open access publication fee for this journal is **USD 1000**, excluding taxes. For all articles submitted before **31-Dec-2015**, there is a **90%** discount off the open access publication fee so authors pay **USD 100**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <http://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's WebShop (<http://webshop.elsevier.com/languageediting/>) or visit our customer support site (<http://support.elsevier.com>) for more information.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Submit your article

Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/aqrep/>.

Referees

Please submit, with the manuscript, the names, addresses and e-mail addresses of four potential referees. Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.

PREPARATION

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Article structure

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

Theory/calculation

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Graphical abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. See <http://www.elsevier.com/graphicalabstracts> for examples. Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements: [Illustration Service](#).

Highlights

Highlights are a short collection of bullet points that convey the core findings of the article. Highlights are optional and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). See <http://www.elsevier.com/highlights> for examples.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Database linking

Elsevier encourages authors to connect articles with external databases, giving their readers one-click access to relevant databases that help to build a better understanding of the described research. Please refer to relevant database identifiers using the following format in your article: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN). See <http://www.elsevier.com/databaselinking> for more information and a full list of supported databases.

Math formulae

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:

<http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Please note: Because of technical complications that can arise by converting color figures to 'gray scale' (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

Illustration services

Elsevier's WebShop (<http://webshop.elsevier.com/illustrationservices>) offers Illustration Services to authors preparing to submit a manuscript but concerned about the quality of the images accompanying their article. Elsevier's expert illustrators can produce scientific, technical and medical-style images, as well as a full range of charts, tables and graphs. Image 'polishing' is also available, where our illustrators take your image(s) and improve them to a professional standard. Please visit the website to find out more.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is encouraged.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference formatting

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

Reference style

Text: All citations in the text should refer to:

1. *Single author:* the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;

2. *Two authors*: both authors' names and the year of publication;

3. *Three or more authors*: first author's name followed by "et al." and the year of publication.

Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically. For Notes containing more than one citation, references should be separated by a semi-colon.

Examples: "as demonstrated (Allan, 1996a, 1996b, 1999; Allan and Jones, 1995). Kramer et al. (2000) have recently shown"

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters "a", "b", "c", etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2000. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 1979. *The Elements of Style*, third ed. Macmillan, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 1999. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations:

<http://www.issn.org/services/online-services/access-to-the-ltwa/>.

Video data

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

AudioSlides

The journal encourages authors to create an AudioSlides presentation with their published article. AudioSlides are brief, webinar-style presentations that are shown next to the online article on ScienceDirect. This gives authors the opportunity to summarize their research in their own words and to help readers understand what the paper is about. More information and examples are available at <http://www.elsevier.com/audioslides>. Authors of this journal will automatically receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after acceptance of their paper.

Supplementary material

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please provide the data in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Submission checklist

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded, and contain:

- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)

Printed version of figures (if applicable) in color or black-and-white

- Indicate clearly whether or not color or black-and-white in print is required.
- For reproduction in black-and-white, please supply black-and-white versions of the figures for printing purposes.

For any further information please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>.

AFTER ACCEPTANCE

Use of the Digital Object Identifier

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information. Example of a correctly given DOI (in URL format; here an article in the journal *Physics Letters B*):

<http://dx.doi.org/10.1016/j.physletb.2010.09.059>

When you use a DOI to create links to documents on the web, the DOIs are guaranteed never to change.

Online proof correction

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author, at no cost, will be provided with a personalized link providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). This link can also be used for sharing via email and social networks. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's WebShop (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/offprints>). Authors requiring printed copies of multiple articles may use Elsevier WebShop's 'Create Your Own Book' service to collate multiple articles within a single cover (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/booklets>).

AUTHOR INQUIRIES

You can track your submitted article at http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/89/p/8045/.
You can track your accepted article at <http://www.elsevier.com/trackarticle>. You are also welcome to contact Customer Support via <http://support.elsevier.com>.

© Copyright 2014 Elsevier | <http://www.elsevier.com>