

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CONSERVAÇÃO E  
MANEJO DE RECURSOS NATURAIS – NÍVEL MESTRADO

SALETE DE PAULA

CARACTERIZAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO LARVAL DO PACU, *PIARACTUS*  
*MESOPOTAMICUS* (HOLMBERG, 1887): MORFOMETRIA E CRESCIMENTO  
ISOMÉTRICO

CASCAVEL-PR

Agosto/2012

SALETE DE PAULA

CARACTERIZAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO LARVAL DO PACU, *PIARACTUS*  
*MESOPOTAMICUS* (HOLMBERG, 1887): MORFOMETRIA E CRESCIMENTO  
ISOMÉTRICO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Conservação e Manejo de Recursos Naturais – Nível Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais

Área de Concentração: Conservação e Manejo de Recursos Naturais

CASCADEL-PR

Agosto/2012

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)**  
**Biblioteca Central do Campus de Cascavel – Unioeste**  
**Ficha catalográfica elaborada por Jeanine da Silva Barros CRB-9/1362**

P349c Paula, Salete de  
Caracterização do desenvolvimento larval do pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887): morfometria e crescimento isométrico. / Rosimeri de Oliveira Fragoso — Cascavel, PR: UNIOESTE, 2012.  
35 p.

Orientadora: Profa. Dra. Maristela Cavicchioli Makrakis  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná.  
Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde.  
Bibliografia.

1. Alometria. 2. Ictioplâncton. 3. *Piaractus mesopotamicus*. 4. Morfometria. 5. Biologia pesqueira. I. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. II. Título.

CDD 21.ed. 597.05248

## FOLHA DE APROVAÇÃO

SALETE DE PAULA

Caracterização do desenvolvimento larval do pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887): morfometria e crescimento isométrico.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação stricto sensu em Conservação e Manejo de Recursos Naturais - Nível de Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, pela comissão Examinadora composta pelos membros:

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maristela Cavicchioli Makrakis

Universidade Estadual do Oeste do Paraná(Presidente/Orientador)

---

Prof<sup>o</sup> Dr. Paulo Vanderlei Sanches

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elaine Antoniassi Luiz Kashiwaqui

Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul

Aprovada em

Local da defesa: Unioeste, Prédios de sala de aula, sala 56, Cascavel-PR

*Dedico á minha família, pai, mãe, irmãs e sobrinha por sempre me apoiarem e acreditarem na minha vitória. Ao meu esposo Rodrigo pelo amor companheirismo, compreensão e incentivo que me serviram de suporte durante esse período.*

*“Toda vitória é alcançada com luta e sofrimento. Porém a luta passa. O sofrimento é apenas temporário, mas a vitória que se conquista é para sempre!”*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, por tudo que tem feito em minha vida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais da Unioeste – Cascavel/PR pela oportunidade de realizar esse curso.

À minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maristela Cavicchioli Makrakis, pela grande oportunidade, paciência, dedicação, apoio, confiança, inúmeras e importantes sugestões e principalmente pela orientação.

À todos os professores do programa, em especial a Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Norma Catarina Bueno coordenadora do Mestrado, que com muito empenho e trabalho vem conseguindo fazer com que o mestrado seja reconhecido e respeitado.

À Fundação Araucária, pela bolsa concedida durante o período do mestrado.

À Unioeste de Toledo-PR, por ter me acolhido durante o desenvolvimento da pesquisa.

Ao grupo de pesquisa GETECH pelo fornecimento do laboratório e equipamentos utilizados na pesquisa.

À Companhia Energética de São Paulo-CESP pelo fornecimento do material estudado.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Elaine Antoniassi Luiz Kashiwaqui, da Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul, por ter aceito o convite para participar desta Banca examinadora e pelas valiosas sugestões e colaboração nas análises estatísticas.

Ao Prof Dr. Pitágoras Augusto Piana pelo auxílio nas análises estatísticas.

Ao Prof Dr. Sérgio Makrakis por ter aceito os convites para participar das bancas examinadoras do pré projeto e da qualificação e pelas importantes sugestões.

Às amigas de Cascavel Marinês, Eliana e Alessandra que me recebiam em suas casas sempre que precisava ficar em Cascavel.

Às amigas Micheli e Joana pelo apoio, carinho e amizade.

Aos meus colegas, companheiros e amigos do Laboratório de ovos e larvas da UNIOESTE de Toledo, em especial as minhas queridas amigas MSc Patricia, MSc Lucileine e futura MSc Ariane, pela companhia nas horas de trabalho no laboratório, pelas palavras amigas e acolhedoras, por não me deixarem fraquejar, pelo ombro amigo a mim oferecido sempre que precisasse, por todo ensinamento dessa área de pesquisa que eu não conhecia, por me possibilitarem a construção de uma grande amizade que permanecerá por muito tempo. À você Ari agradeço ainda, por me

acolher em sua casa, juntamente com a Micheli e a Joana, nos últimos dias que permaneci em Toledo e por tantos outros motivos que não caberiam nesse trabalho, serei sempre grata.

Aos meus pais Gregório e Leonice por sempre me apoiarem e insentivarem a continuar, mesmo não entendendo muito bem do que se tratava, sabiam que seria muito importante para minha vida a conclusão desta etapa.

À minha irmã Margarete, que mesmo de longe sempre me auxiliou com tantas palavras de incentivo, carinho, apoio e amizade, por saber de todos os obstáculos enfrentados até aqui.

À minha linda sobrinha e afilhada Carol por ser a luz da minha vida e mesmo sendo tão pequena sempre entendeu essa trajetória que percorri.

A todos o meu muito obrigado!

**SUMÁRIO**

<b>RESUMO.....</b>	<b>VII</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>VIII</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>3</b>
<b>3 RESULTADOS.....</b>	<b>6</b>
3.1 Desenvolvimento morfológico das larvas .....	6
3.2 Crescimento alométrico .....	9
<b>4 DISCUSSÃO .....</b>	<b>14</b>
Caracterização morfológica .....	14
<b>5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>18</b>
<b>ANEXO I.....</b>	<b>23</b>

## RESUMO

Este estudo descreveu o desenvolvimento e os padrões de crescimento alométrico de larvas de *Piaractus mesopotamicus* provenientes de reprodução induzida. Desde a eclosão até o 19º dia, vinte indivíduos foram selecionados para oito estágios de desenvolvimento (larval vitelino, pré-flexão, início de flexão, flexão, final de flexão, início de pós-flexão, pós flexão e final de pós-flexão). Posteriormente, foram tomadas medidas morfométricas: comprimento da cabeça, comprimento do tronco, comprimento da cauda anal posterior, altura da cabeça, altura do corpo, altura do músculo em nível do ânus, diâmetro do olho, comprimento da boca, altura do pedúnculo caudal e comprimento do pedúnculo caudal. Os coeficientes de crescimento alométrico foram calculados por meio de regressões lineares; as alterações ocorridas nos coeficientes de crescimento referem-se as mudanças nas prioridades ontogenéticas das larvas. Durante os estágios de desenvolvimento de larval vitelino e pré-flexão (média CT= 3,36 e 5,89 mm) as larvas apresentaram uma evidente prioridade para as capacidades de alimentação e natação. A partir do estágio de flexão (média CT= 9,33 mm) foi observada uma mudança nas prioridades de crescimento, principalmente as relacionadas com a altura do corpo, característica importante para essa espécie. No estágio de pós-flexão (média CT=16,25 mm) uma propensão maior a isometria ficou evidente, para todos os coeficientes de crescimentos. Esses resultados confirmam as informações de que existem padrões diferenciados de crescimento para funções prioritárias durante a ontogenia inicial de larvas. Este estudo sobre morfometria e crescimento alométrico das larvas de *Piaractus mesopotamicus*, poderá auxiliar a biologia pesqueira, subsidiando as estratégias de manejo e conservação das populações naturais.

Palavras-chave: Alometria, crescimento, estágios iniciais, ictioplâncton.

## ABSTRACT

This study describes the development and allometric growth patterns of larval *Piaractus mesopotamicus* from induced reproduction. From hatching until the 19th day, twenty individuals were selected for eight stages of development (yolk sac larval, preflexion, initial of flexion, flexion, end of flexion and post flexion). Later, morphometric measurements were taken of each individual: total length, head length, trunk length, tail (post anal) length, head height, body height, muscle height at anus level, eye diameter, mouth length, caudal peduncle height and caudal peduncle length. Allometric growth coefficients were calculated by linear regression; the changes in the coefficients of growth relate to ontogenetic changes in the priorities of the larvae. During the developmental stages of larval yolk and pre-flexion (mean CT = 3.363 and 5.89 mm), the larvae showed an evident priority for feeding and swimming capabilities. From the flexion stage (mean CT = 9.33 mm) was observed a change in growth priorities, especially those relating to body height, important characteristic for this species. From the post-flexing stage (mean CT = 16.25 mm) a greater propensity to isometry was evident for all coefficients growths. These results confirm the information that there are different growth patterns for priority functions during ontogeny initial larvae. This study of morphometric and allometric growth of larvae *Piaractus mesopotamicus*, may assist the fisheries biology, supporting management strategies and conservation of natural populations.

Keywords: Allometry, growth, early stages, ichthyoplankton

## 1 INTRODUÇÃO

Informações detalhadas sobre o desenvolvimento inicial dos peixes são imprescindíveis para o conhecimento biológico das espécies (PINTO & CASTAGNOLLI, 1986; MATKOVIC *et al.*, 1985), principalmente nos aspectos relacionados à mudança na ontogenia, morfologia, crescimento, alimentação, comportamento e mortalidade (HEMPEL, 1973).

A morfologia baseia-se em observações diretas de estruturas e mudanças que surgem ao longo do desenvolvimento larval (NAKATANI, *et al.*, 2001). As mudanças na forma do corpo levam à formação de características morfológicas específicas e padrões de crescimento alométrico (GISBERT *et al.*, 2002). Já a morfometria está inserida na morfologia, que contempla a biologia, a estatística e a geometria (MONTEIRO & REIS, 1999). Para Strauss (1985), este método utiliza estimativas numéricas para a análise da forma corporal em relação ao tamanho do indivíduo, permitindo comparar os diferentes estágios de desenvolvimento, juntamente com outras características como: altura do corpo, comprimento do tronco, altura da cabeça, diâmetro do olho, comprimento da boca entre outros.

Alometria é um processo de crescimento ontogenético diferencial, onde ocorrem mudanças na morfologia, plasticidade fenotípica e comportamental das espécies em ambientes específicos (SIMONOVIC *et al.*, 1999; OSSE *et al.*, 1995; VAN SNIK *et al.*, 1997; GISBERT, 1999) durante o desenvolvimento, que é regulada pela expressão do gene, resultando em fenótipos diferentes (GILBERT E BOLKER, 2003). Alguns padrões de crescimento apontam como prioridades, o desenvolvimento dos órgãos de sobrevivência e sistemas produzidos nas funções primárias (OSSE e VAN Den BOOGAART, 2004), o que é considerado uma resposta adaptativa para suportar pressões ambientais, aumentando a probabilidade de sobrevivência e crescimento durante o início do desenvolvimento larval, já que esta etapa, para a maioria das larvas de peixes, é caracterizada por um período crítico de mudanças drásticas (PEÑA & DUMAS, 2009).

*Piaractus mesopotamicus* também conhecido popularmente como pacu, pertencente à ordem dos Characiformes, família Characidae e subfamília Myleinae (NAKATANI *et al.*, 2001), originário da bacia dos rios Paraná, Paraguai e Uruguai (GODOY, 1975) é um peixe de água doce migrador de longa distância

(AGOSTINHO *et al.*, 2003; MAKRAKIS *et al.*, 2007). Possui corpo arredondado e robusto, com dorso cinza escuro e ventre amarelado (BRITSKI *et al.*, 2007), possui hábito alimentar onívoro, rápido crescimento e fácil adaptação a alimentação artificial (HAHN *et al.*, 2004).

O pacu apresenta grande potencial para a aquicultura, pois suas características de precocidade, rusticidade, carne saborosa e de alto valor comercial, além do ótimo crescimento e adaptação à alimentação artificial, propiciam o sucesso da criação em sistemas de cultivo intensivo (CASTAGNOLI & CYRINO, 1986). Tesser & Portella (2006) afirmam que atualmente, a criação inicial de pacu no Brasil é feita em sistema semi-intensivo de produção, que resulta em baixas taxas de sobrevivência.

Embora demonstre excelentes características de adaptação ao cativeiro, a espécie vem apresentando redução progressiva de sua população natural (LOPERA-BARRENO *et al.*, 2008). Seus estoques têm diminuído nas últimas décadas devido principalmente à sobrepesca (RESENDE, 2003) além das alterações em seu habitat (SMITH *et al.*, 2003; MAKRAKIS *et al.*, 2007).

Várias pesquisas foram realizadas com a espécie durante os estágios iniciais de vida, abordando aspectos relacionados à biologia reprodutiva (GODINHO & GODINHO, 1986; ROMAGOSA *et al.*, 1988; LIMA *et al.*, 1991), alimentação inicial (BEERLI, 2004), predação larval (SIPAÚBA-TAVARES & BRAGA, 1999), ontogênese e comportamento natatório larval (SANTOS & GODINHO, 1996). Contudo, estudos referentes ao desenvolvimento morfológico e morfométrico associados ao crescimento alométrico durante os estágios iniciais de vida desta espécie ainda são escassos.

Tendo em vista que informações sobre padrões de crescimento alométrico durante o desenvolvimento larval podem contribuir para o manejo pesqueiro e aquicultura, caracterizando padrões normais de crescimento sob certas condições e otimização de protocolos de cultivo, se anormalidades no desenvolvimento larval são detectadas (PENÃ & DUMAS, 2009), o objetivo deste estudo foi descrever o desenvolvimento e padrões de crescimento alométrico de larvas de *Piaractus mesopotamicus* criadas sob condições de cultivo, verificando a ocorrência de crescimento diferencial durante o desenvolvimento das larvas da espécie.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

As larvas de *P. mesopotamicus* foram obtidas através de reprodução induzida realizada com machos e fêmeas capturados no rio Verde, alto rio Paraná, Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. A desova, fertilização, incubação dos ovos e larvicultura foram desenvolvidos no período de novembro a dezembro de 2008, na Estação de Piscicultura de Jupia, pertencente à Companhia Energética de São Paulo (CESP), no município de Castilho, Estado de São Paulo, Brasil. Os ovos fertilizados foram incubados a 25-27 °C, com a eclosão ocorrendo cerca de 7 horas após a fertilização.

Após a eclosão, as larvas foram coletadas durante um período de 19 dias. As larvas coletadas foram previamente anestesiadas com benzocaína e, posteriormente fixadas em uma solução de formol a 4% tamponado com carbonato de cálcio. As larvas foram separadas de acordo com o grau de desenvolvimento em diferentes estágios, baseado no grau de flexão da notocorda e dos elementos de sustentação: larval vitelino (LV) (Fig.02A), pré-flexão (PréF) (Fig.02B), início de flexão (IF) (Fig.02C), flexão (F) (Fig.02D), final de flexão (FF) (Fig.02E), início de pós flexão (IPF) (Fig.02F), pós flexão (PósF) (Fig.02G), e final de pós flexão (FpósF) (Fig.02H), segundo Ahlstrom & Ball (1954).

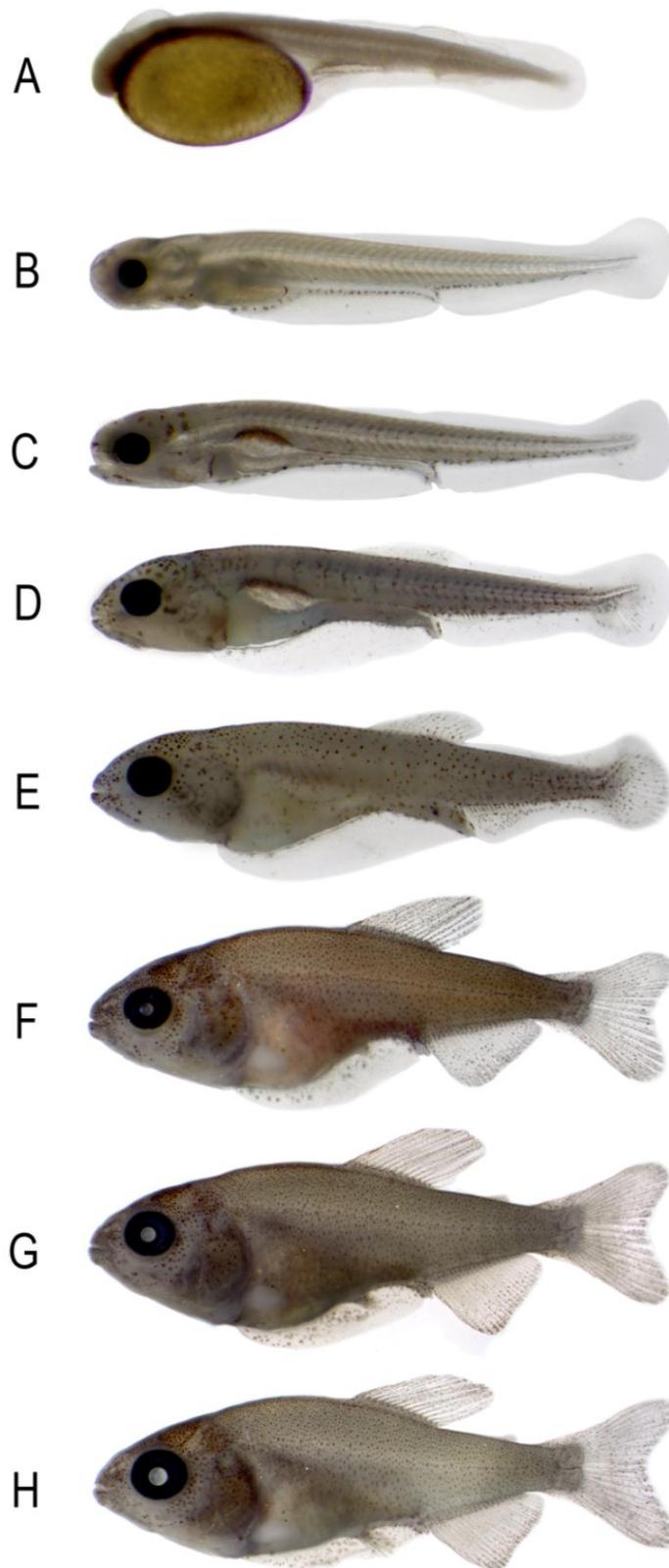


Figura 02- Larvas de *Piaractus mesopotamicus* em diferentes estágios de desenvolvimento. A) Larval vitelino, B) Pré-flexão, C) Início de flexão, D) Flexão, E) Final de flexão, F) Início de pós-flexão, G) Pós-flexão, H) Final de pós-flexão.

Além da descrição de cada estágio larval ser baseada no grau de desenvolvimento, ainda foram observadas as ocorrências dos principais eventos morfológicos, e escolhido pelo menos um indivíduo de cada estágio, os quais foram fotografados, para representar as características do referido estágio. As fotografias das larvas foram obtidas em microscópio estereoscópico (marca Olympus, modelo SZX7), equipado com câmera digital DP-25 com captura de imagem.

Para a caracterização do desenvolvimento inicial, as larvas foram separadas em vinte indivíduos de cada estágio posteriormente foram pesadas e realizadas, quando possíveis, as seguintes medidas corporais expressas em milímetros: comprimento total: do focinho a extremidade da nadadeira caudal (CT); comprimento da cabeça: do focinho até a extremidade do opérculo (CCA); comprimento do tronco: a partir do final do opérculo até o ânus (CTR); comprimento da cauda: do ânus até o final da nadadeira caudal anal (CAU); altura da cabeça: da cavidade bucal até o topo da cabeça (ACA); diâmetro do olho em um plano ântero-posterior (DOL); comprimento da boca (na altura da maxila superior) (CBO); altura do corpo: região de maior altura - no nível da nadadeira peitoral (ACO); altura da musculatura: região do tronco ao nível do ânus (AMU); altura da cauda: ao nível do pedúnculo caudal (APE); comprimento da cauda: ao nível do pedúnculo caudal (CPE) (Fig.01).

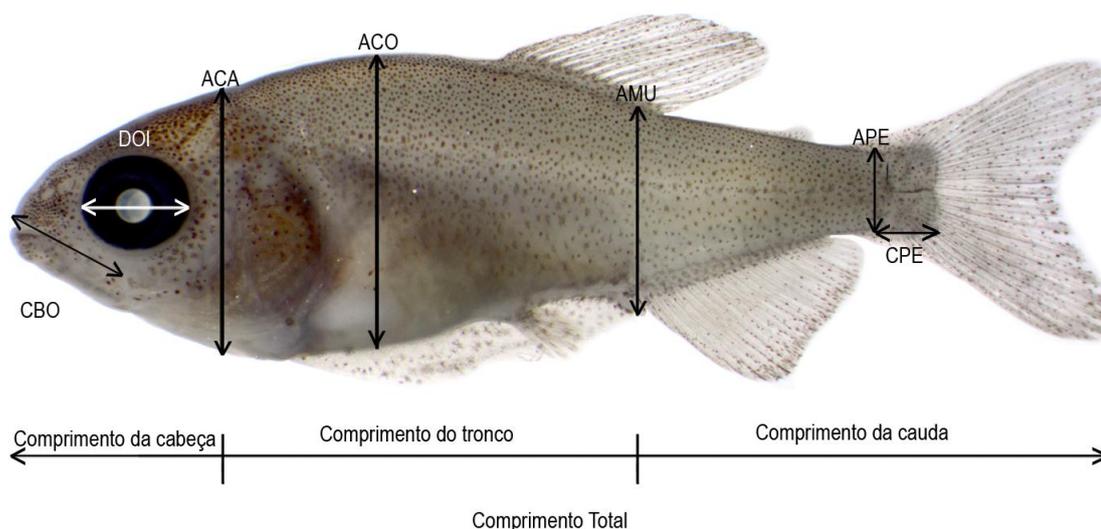


Figura 01 – Foto esquemática das medidas morfométricas realizadas em *Piaractus mesopotamicus* nos diferentes estágios de desenvolvimento larval: CBO=comprimento da boca; DOL=diâmetro do olho; ACA=altura da cabeça; ACO=altura do corpo; AMU=altura da musculatura ao nível do ânus; APE=altura do pedúnculo caudal e CPE=comprimento do pedúnculo.

Em cada fotografia as larvas foram posicionadas lateralmente de forma que facilitasse a obtenção das medidas, a fim de seguir um padrão de imagens e medidas. As medidas morfométricas das imagens das larvas obtidas no microscópio estereoscópico foram feitas utilizando o software DP2-BSW. No entanto, as larvas em estágio de pós-flexão (PósF) e final de pós-flexão (FPósF) foram medidas através de ocular micrométrica acoplada ao mesmo microscópio estereoscópico, devido ao tamanho das larvas, o que não possibilitou a realização das medidas através da imagem. A leitura do peso das larvas foi feita por meio de uma balança analítica (0,00001 g), modelo AW220 SHIMADZU.

Para a análise do crescimento foram feitas regressões lineares com dados transformados em  $\log(x)$ . Como não apresentaram relações lineares entre comprimento total e idade, bem como, peso e idade foi aplicado o modelo exponencial ( $y=a^{bx}$ ) utilizando os valores de  $a$  e  $b$  da regressão linear realizada no passo anterior. Também foram obtidos os valores de  $r^2$  e  $p$ .

Para as análises dos padrões de crescimento alométrico foram feitas regressões lineares de dados transformados por  $\log(x+1)$  para a obtenção do valor de  $b$  (coeficiente de crescimento) extraído da equação  $y=a+bx$ , onde  $y$  é a variável dependente (medidas das partes do corpo),  $x$  é a variável independente (comprimento total),  $a$  é o intercepto e  $b$  é o coeficiente de crescimento. Através dos valores do coeficiente de crescimento obtido, foi descrito os padrões de alometria e isometria para todos os estágios de desenvolvimento, sendo que se  $b < 1$  ocorre um crescimento alométrico negativo, se  $b > 1$  o crescimento alométrico será positivo e se  $b = 1$  o crescimento será isométrico. Também foram calculados os pontos de inflexão onde ocorre as mudanças de declive (VAN SNIK *et al.*, 1997) para as seguintes partes do corpo: ACA; CB; DO; ACO; AMU e APE as demais medidas não foram utilizada pois não apresentavam valores em todos os estágios.

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Desenvolvimento morfológico das larvas

O período larval de *P. mesopotamicus* foi caracterizado em diferentes estágios de desenvolvimento sendo que as três primeiras fases foram caracterizadas por mudanças relevantes na forma larval.

**Larval Vitelino (Fig 2A)** As larvas neste estágio apresentaram comprimento total variando entre 3,17 a 3,48mm (média de 3,36 ± desvio padrão de 0,07 mm) e peso médio de 0,0005g. Nesse estágio, 01 dia após a eclosão, ficaram evidentes cromatóforos dendríticos contornando a região caudal da larva com o esboço da nadadeira peitoral. Uma pigmentação evidente foi observada na região ventral estendendo-se até próximo a cabeça, sem esboço do olho, corpo circundado por uma membrana embrionária, estendendo-se da região dorsal da cabeça até o final da nadadeira caudal. O saco vitelino apresenta forma ovoide e está repleto de glóbulos de vitelo individualizados.

**Pré – Flexão (Fig 2B)** As larvas apresentaram comprimento total variando entre 5,71 a 6,06mm (média de 5,89 ± desvio padrão de 0,096 mm) e peso médio de 0,0008g. Caracterizado pelo início da formação da boca, abertura do ânus e a pigmentação dos olhos, que tornou-se visível 02 dias após a eclosão. Nesse estágio também ficou evidente o início da formação da nadadeira peitoral, onde foi possível visualizar a existência do botão da nadadeira, além da absorção quase que total do saco vitelino.

**Início de Flexão (Fig 2C)** Neste estágio, 06 dias após a eclosão, o comprimento total variou entre 5,51 e 6,09mm (média de 5,85 ± desvio padrão de 0,138 mm) pesando em média 0,0083g. Esse estágio foi caracterizado pela transição da alimentação endógena para a exógena, no qual o saco vitelino foi completamente absorvido e as aberturas da boca e do ânus evidentes, além de apresentarem pigmentação distribuída na região dorsal estendendo-se pela cabeça, redução da membrana embrionária, notocorda levemente flexionada, intestino completamente formado, dorso levemente ovalado e sinais iniciais de formação dos raios da nadadeira caudal.

**Flexão (Fig 2D).** Em torno de 10 dias após a eclosão. O comprimento total das larvas variou entre 8,34 a 10,82mm (média de 9,33 ± desvio padrão de 0,719 mm) e um peso médio de 0,0058g. As principais características observadas nesse estágio foram: flexão da notocorda, formação dos raios das nadadeiras caudal e início da dorsal, com uma diminuição acentuada da membrana embrionária.

**Final de Flexão (Fig 2E).** Esse estágio ocorreu cerca de 11 dias após a eclosão com comprimento total variando de 10,02 a 12,02mm (média de 11,082 ± desvio padrão de 0,53 mm) e um peso médio de 0,0135g, caracterizado pela

completa flexão da notocorda, formação da nadadeira anal, pigmentação bem distribuída nas regiões da cabeça, dorsal e ventral, assim como nas nadadeiras dorsal, caudal e anal.

**Início de Pós Flexão (Fig 2F).** As características pertencentes às larvas desse estágio ocorreram 13 dias após a eclosão com comprimento total médio variando entre 13,04 a 16,06mm (média de 14,751  $\pm$  desvio padrão de 0,956 mm) e um peso médio de 0,0403g, onde foi possível visualizar o botão da nadadeira pélvica, além de apresentar os raios das demais nadadeiras totalmente formados, com exceção da nadadeira peitoral.

**Pós Flexão (Fig 2G).** Esse estágio teve início nas larvas com 15 dias após a eclosão, com um comprimento variando entre 15,03 a 18,76mm (média de 16,25  $\pm$  desvio padrão de 1,09 mm) e um peso médio de 0,0643g, sendo possível a visualização dos raios da nadadeira pélvica e o início do desenvolvimento da nadadeira adiposa.

**Final de Pós Flexão (Fig 2H).** O final do período larval ficou evidente com 19 dias após a eclosão, onde as larvas apresentaram um comprimento total entre 16,30 a 21,30mm (média de 18,92  $\pm$  desvio padrão de 1,71 mm) e um peso médio de 0,0972g. As nadadeiras dorsal, anal e caudal ficaram bem definidas e totalmente formadas, bem como a nadadeira pélvica apresentou os raios formados. Apenas a nadadeira peitoral ainda não possuía os raios totalmente formados, detalhe importante que difere este estágio do estágio juvenil.

As larvas cresceram e ganharam peso de acordo com a idade, conforme o esperado seguindo um modelo de desenvolvimento exponencial mostrados nas figuras 3 A e B. Inicialmente as larvas (larval vitelino) apresentaram o comprimento total médio de 3,36 mm e peso de 0,0005g, após os 19 dias alcançaram o comprimento total de 18,92 mm e peso 0,10g.

O aumento acentuado no tamanho das larvas ocorreu principalmente a partir de 10 dias de vida com média de 9,33mm, no estágio de flexão (Fig. 03A), porém com respeito ao aumento em peso, este foi muito pronunciado a partir de 15 dias de vida, com média de 0,064g no estágio de início de pós-flexão (Fig. 03B).

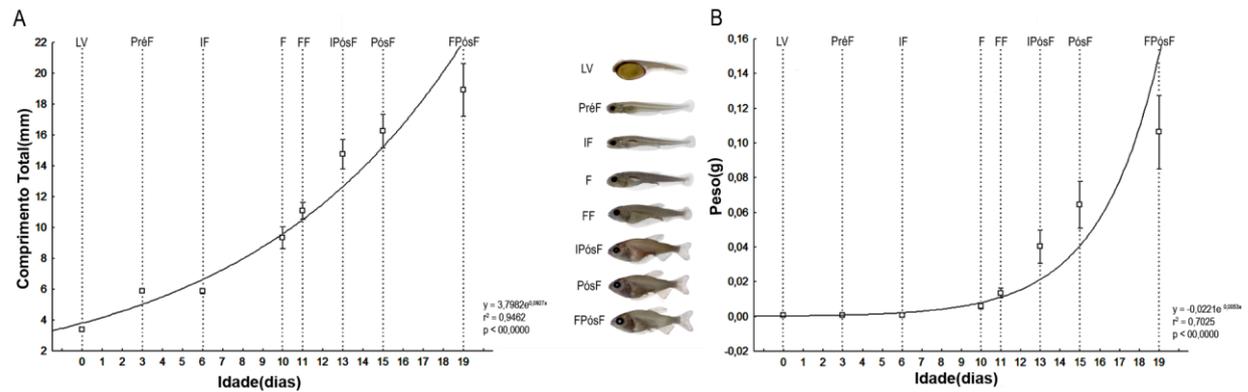


Figura 03- A) Relação comprimento total e idade e B) relação do peso e idade das larvas de *Piaractus mesopotamicus* desde a eclosão até o 19º dia em diferentes estágios de desenvolvimento. LV: larval vitelino; PréF: pré-flexão; F: flexão; IPósF: início de pós flexão; PósF: pós flexão e FPósF: final de pós flexão

### 3.2 Crescimento alométrico

Durante o estágio de pré-flexão a cabeça apresentou um crescimento alométrico negativo ( $b=0,15$ ;  $r^2= 0,02$ ) em relação ao comprimento total, enquanto o tronco demonstrou um crescimento alométrico positivo ( $b=1,52$ ;  $r^2= 0,35$ ), e a cauda teve um crescimento isométrico ( $b=0,98$ ;  $r^2=0,38$ ) (Fig. 04A).

Na fase de início de flexão, a cabeça e o tronco mantiveram um crescimento alométrico negativo ( $b=0,11$ ;  $r^2=0,08$  e  $b=0,35$ ;  $r^2=0,08$ ), porém, a cauda mostrou uma alometria positiva ( $b=1,38$ ;  $r^2=0,69$ ) (Fig.04B). Durante o estágio de flexão, os comprimentos da cabeça e da cauda mostraram valores com crescimento alométrico positivo próximo a isometria ( $b=0,92$ ;  $r^2=0,89$  e  $b=0,87$ ;  $r^2=0,78$ , respectivamente), enquanto o tronco demonstrou um crescimento alométrico negativo ( $b=0,54$ ;  $r^2=0,58$ ) (Fig.04C). Cabeça e tronco, no estágio de final de flexão, apresentaram um crescimento próximo a isometria e alométrico ( $b=0,87$ ;  $r^2=0,82$  e  $b=0,33$   $r^2=0,20$ ; respectivamente), no entanto, a cauda mostrou um crescimento alométrico positivo ( $b=1,27$ ;  $r^2=0,81$ ) (Fig. 04D).

No estágio de Início de pós flexão, o crescimento da cabeça apresentara uma tendência significativa a isometria, enquanto a cauda mostrou um crescimento alométrico poitivo ( $b=0,95$ ;  $r^2=0,88$  e  $1,15$ ;  $r^2=0,96$  respectivamente), porém o tronco mostrou alometria negativa ( $b=0,52$ ;  $r^2=0,65$ ) (Fig.04E). No estágio de pós flexão os coeficientes de crescimento da cabeça e cauda demonstraram crescimento alométrico negativo, enquanto o tronco apresentou crescimento alométrico positivo

( $b=0,65$ ;  $r^2=0,62$ ,  $b=0,43$ ;  $r^2=0,44$  e  $0,62$ ;  $r^2=0,62$  respectivamente) (Fig.04F). No estágio de final de pós-flexão, os crescimentos da cabeça, tronco e cauda foram alométricos negativos, porém próximo a isometria ( $b=0,95$ ;  $r^2=0,93$ ,  $b=0,76$ ;  $r^2=0,88$  e  $b=0,82$ ;  $r^2=0,91$ , respectivamente) (Fig.04G) (Tabela 01).

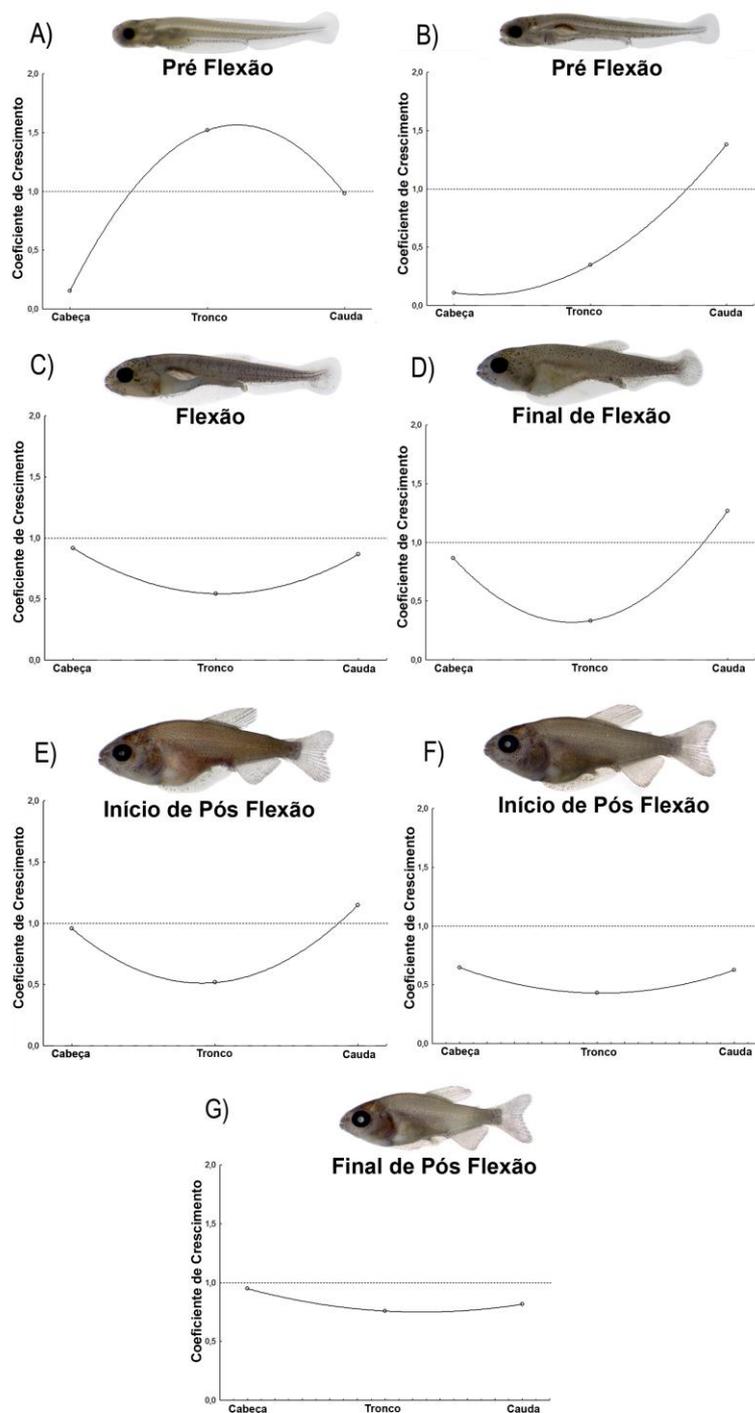


Figura 04 - Coeficientes de crescimento da cabeça, tronco e cauda durante o desenvolvimento larval de *Piaractus mesopotamicus*. Cada gráfico apresenta os coeficientes de crescimento durante um estágio de desenvolvimento.

Durante os estágios de desenvolvimento foram calculados os coeficientes de crescimento das medições corporais possíveis de serem realizadas em cada estágio. No estágio de pré flexão foi possível calcular apenas para ACA, DOL, ACO e AMU. No estágio de início de flexão foi possível calcular além destes, também CBO, ACO e AMU. Para os demais estágios, além de todas as outras medidas, foram calculados para APE e CPE.

Durante o estágio de pré flexão, as larvas demonstraram um crescimento alométrico negativo (Fig. 05A) para as medidas de: ACA ( $b=0,11$ ;  $r^2=0,005$ ), DOL ( $b=0,12$ ;  $r^2=0,015$ ), ACO ( $b=-0,45$ ;  $r^2=0,028$ ) e AMU ( $b=-0,33$ ;  $r^2=0,052$ ).

No estágio de início de flexão, o CBO mostrou uma evidência no crescimento próximo a isometria ( $b=0,82$ ;  $r^2=0,151$ ), enquanto que as demais ACA ( $b=0,44$ ;  $r^2=0,242$ ), DOL ( $b=0,02$ ;  $r^2=0,001$ ), ACO ( $b=0,27$ ;  $r^2=0,042$ ) e AMU ( $b=0,18$ ;  $r^2=0,029$ ) evidenciaram um crescimento alométrico negativo (Fig. 05B).

Já no estágio de flexão, ACA ( $b=0,52$ ;  $r^2=0,583$ ), DOL ( $b=0,37$ ;  $r^2=0,622$ ), ACO ( $b=0,65$ ;  $r^2=0,632$ ) e AMU ( $b=0,42$ ;  $r^2=0,413$ ) demonstraram crescimento alométrico negativo, no entanto, CBO ( $b=-0,37$ ;  $r^2=0,290$ ) teve um determinado destaque por apresentar uma significativa alometria negativa (Fig. 05C).

No estágio de final de flexão DOL ( $b=0,34$ ;  $r^2=0,375$ ), CBO ( $b=0,74$ ;  $r^2=0,198$ ) e CPE ( $b=0,17$ ;  $r^2=0,008$ ), apresentaram crescimento alométrico negativo sendo que ACO ( $b=1,16$ ;  $r^2=0,892$ ) mostrou um crescimento alométrico positivo, ACA ( $b=1,07$ ;  $r^2=0,868$ ), AMU ( $b=0,94$ ;  $r^2=0,814$ ) e APE ( $b=0,17$ ;  $r^2=0,008$ ) demonstraram crescimento isométrico (Fig. 05D).

No estágio de Início de pós flexão, o crescimento de ACA ( $b=1,21$ ;  $r^2=0,845$ ) e ACO ( $b=1,16$ ;  $r^2=0,789$ ) foram alométrico positivo, AMU foi isométrico ( $b=0,93$ ;  $r^2=0,784$ ) e DOL ( $b=0,60$ ;  $r^2=0,577$ ), CBO ( $b=0,62$ ;  $r^2=0,339$ ), APE ( $b=0,63$ ;  $r^2=0,559$ ) e CPE ( $b=0,51$ ;  $r^2=0,290$ ) demonstraram crescimento alométrico negativo (Fig. 05E).

O estágio de pós flexão foi evidenciado por uma alometria negativa para ACA ( $b=0,74$ ;  $r^2=0,598$ ), DOL ( $b=0,29$ ;  $r^2=0,244$ ), APE ( $b=0,65$ ;  $r^2=0,574$ ) e CPE ( $b=0,75$ ;  $r^2=0,674$ ), no entanto ACO ( $b=0,94$ ;  $r^2=0,036$ ) e AMU ( $b=0,96$ ;  $r^2=0,544$ ) apresentaram isometria e CBO ( $b=1,12$ ;  $r^2=0,426$ ) evidenciou alometria positiva (Fig. 05F).

No estágio de final de pós flexão, houve uma diminuição no coeficiente de crescimento de todas as proporções do corpo, sendo que ACA ( $b=1,01$ ;  $r^2=0,714$ ) e AMU ( $b=1,09$ ;  $r^2=0,890$ ) foram isométricos e DOL ( $b=0,61$ ;  $r^2=0,792$ ), CBO ( $b=0,71$ ;

$r^2=0,256$ ), ACO ( $b=0,70$ ;  $r^2=0,032$ ), APE ( $b=0,69$ ;  $r^2=0,762$ ) e CPE ( $b=0,58$ ;  $r^2=0,691$ ) demonstraram alometria negativa (Fig. 05G) (Tabela 02).

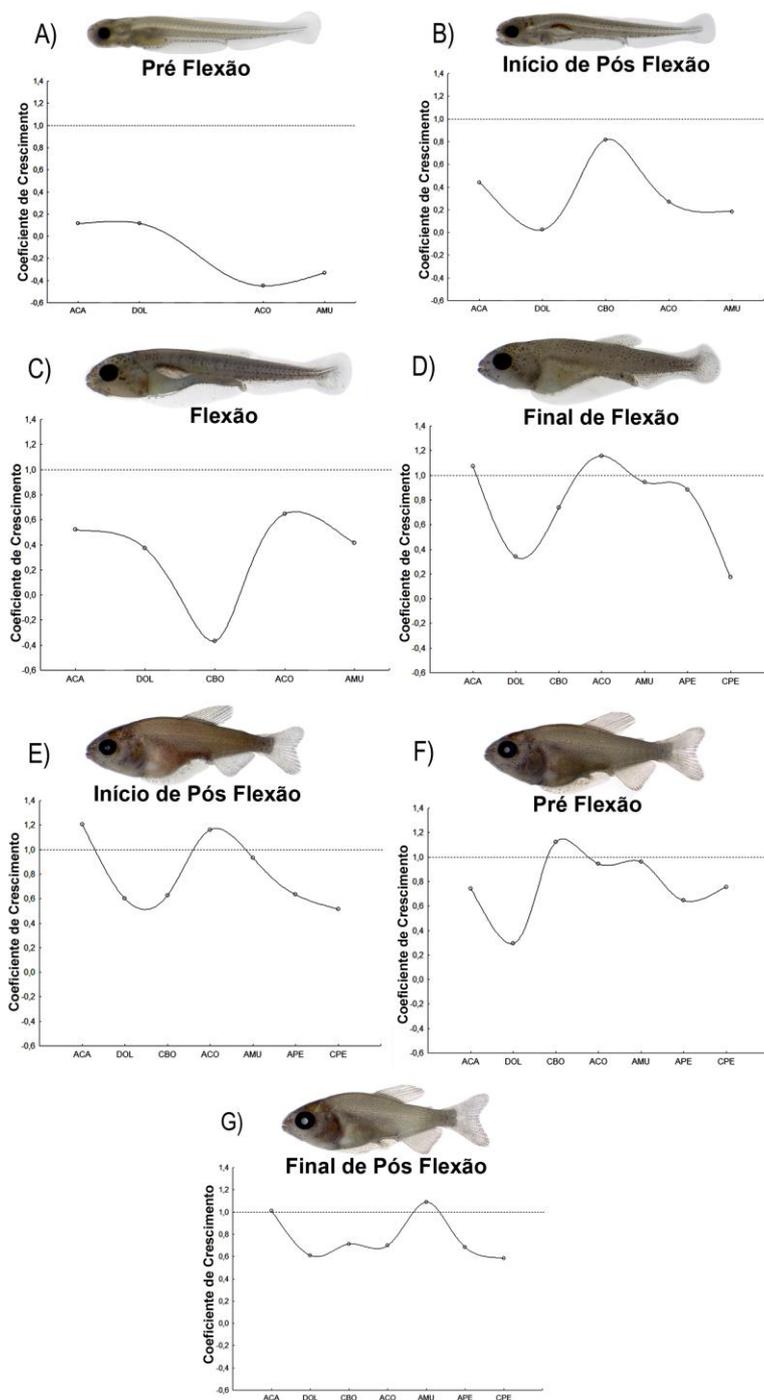


Figura 05 - Coeficientes de crescimento das proporções corporais durante o desenvolvimento larval de *Piaractus mesopotamicus*. Cada gráfico representa os coeficientes de crescimento durante um estágio de desenvolvimento. ACO, altura do corpo; DOL, diâmetro do olho; ACA, altura da cabeça; AMU, altura da musculatura ao nível do ânus; CBO, o comprimento da boca; APE, altura do pedúnculo caudal; CPE, comprimento do pedúnculo caudal.

Pontos de inflexão são determinados pontos onde ocorre mudança significativa de crescimento, os mesmos foram calculados para as medidas de ACA; CB; DO; ACO; AMU e APE e ocorreram durante o estágio de início de pós-flexão, entre os dias 12 e 15 com uma média de comprimento total de 13,41 mm, exceto para o diâmetro do olho (DOL) que apresentou um crescimento isométrico em quase todos os estágios estudados (Fig.06A a 06G).

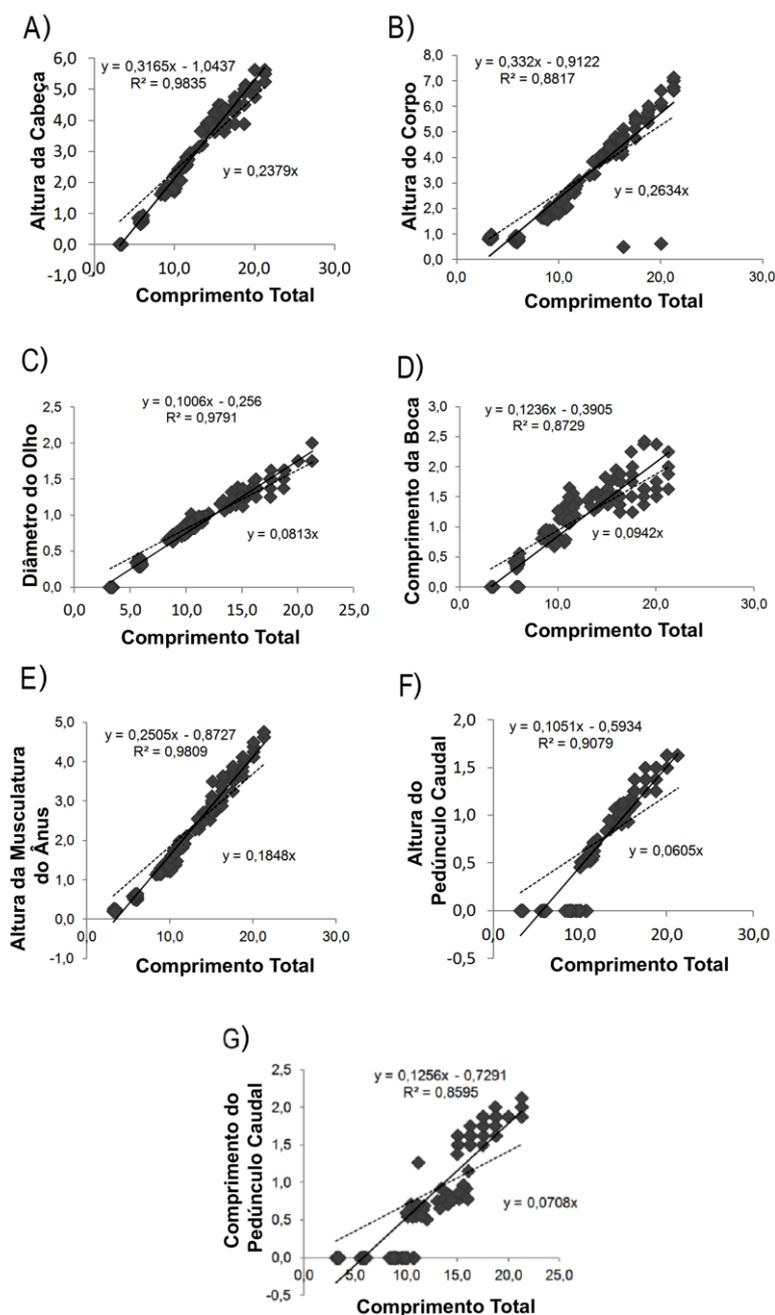


Figura 06 - Crescimento alométrico entre as proporções do corpo em relação ao comprimento total medido durante o desenvolvimento de *Piarractus mesopotamicus*. A linha tracejada representa o ponto de inflexão do crescimento.

## 4 DISCUSSÃO

### Caracterização morfológica

Geralmente, as mudanças ontogenéticas dos peixes variam de acordo com a espécie, além de estarem associadas à temperatura, disponibilidade de alimento no meio (HUET *et al.*, 1978) e ainda à sua hereditariedade (BURNHAN-CURTIS 1993). Para a espécie aqui analisada observou-se um rápido desenvolvimento corporal. Esta afirmação está concomitante com Oliveira *et al.*, (2012), que espécies migradoras apresentam uma passagem rápida entre as fases de desenvolvimento, característica esta que garante a sua sobrevivência sem o cuidado parental, sendo assim, uma adaptação ecológica da espécie em superar a vulnerabilidade das larvas aos fatores bióticos (predação e competição) e abióticos (variações físico-químicas).

O início da formação da boca e a completa pigmentação dos olhos foram constatados no estágio de pré-flexão. A abertura completa da boca só ocorreu no início de flexão, onde foi observada a total absorção do saco vitelino, bem como a abertura do ânus. Para Lasker *et al.*, (1970) a pigmentação dos olhos e a abertura da boca são eventos que podem ocorrer ao mesmo tempo e estão associados à alimentação exógena. Inicialmente até o estágio de pré-flexão, a membrana embrionária forma uma barreira física que impede a abertura do ânus, logo, somente no estágio de início de flexão percebe-se o rompimento da mesma e, conseqüentemente a abertura do ânus, que provavelmente pode estar relacionada à formação do intestino. Nesta espécie o intestino é longo, pois alcança até a região mediana do corpo. Para Filho *et al.* (2000) e Baldisseroto (2002) o comprimento do intestino está relacionado à absorção de nutrientes.

A partir de 10 dias após a eclosão, no estágio de flexão foi observada a flexão da notocorda. Para Blaxter (1988) a flexão da notocorda determina o início da formação da nadadeira caudal, o que proporciona e favorece maior eficiência da natação e da captura de presas, tanto em qualidade quanto em quantidade, além de representar maior agilidade na fuga dos predadores.

Com relação à formação das nadadeiras da espécie estudada, a nadadeira peitoral já é evidenciada logo após a eclosão, no estágio larval vitelino. A completa formação de todas as nadadeiras (dorsal, anal, pélvica e adiposa) foi observada

apenas no estágio de pós-flexão, com exceção da nadadeira peitoral que ainda não apresentaram os raios. Webb & Weihs (1986) afirmam que a primeira nadadeira a se formar (embrionária) é aquela que dá suporte à formação das ímpares (dorsal, adiposa, anal e caudal) e que serve de órgão propulsor para orientação, enquanto as mesmas não são formadas. O autor ainda relata o surgimento das nadadeiras pares peitorais logo após a eclosão e da pélvica no estágio de flexão.

*Piaractus mesopotamicus* apresentou um rápido desenvolvimento em relação ao comprimento e peso conforme os dias. No entanto, o aumento da taxa destes parâmetros foi notavelmente evidente a partir do estágio de flexão. Isto pode ser explicado pelo fato do peixe já ter concluído o desenvolvimento de determinadas partes do corpo que são prioridades para os estágios larvais (FUIMAN, 1983). Para Duran e Loubens (1969), o crescimento em comprimento está relacionado com modificações na estrutura dos ossos, enquanto modificações fisiológicas podem alterar, momentaneamente, o peso dos peixes. Lembrando que o grau de desenvolvimento dos peixes em geral está relacionado a uma série de fatores, dentre os quais se pode ressaltar a disponibilidade de alimento (SANTIN *et al.*, 2004) e condições de temperatura (KAMLER, 1992).

#### Crescimento alométrico

As mudanças na forma corporal e, conseqüentemente, no desenvolvimento funcional ocorrem rapidamente durante o início dos estágios de desenvolvimento, onde os processos de diferenciação, são evidenciados, principalmente durante o período de alimentação endógena, o que garante uma transição bem sucedida da alimentação endógena para exógena (PEÑA & DUMAS, 2009). O coeficiente de crescimento determinado para larvas de *Piaractus mesopotamicus* apresentou crescimento diferencial nas proporções do corpo durante os estágios de desenvolvimento, o que confirma a hipótese de que para aumentar a probabilidade de sobrevivência, há uma transição nas prioridades ontogenéticas durante o desenvolvimento (Osse *et al.*, 1997; Osse e van den Boogaart, 2004).

A análise das relações morfométricas revela as consideráveis mudanças existentes no desenvolvimento larval, principalmente nos estágios de larval vitelino, pré-flexão e flexão (Bialetzki *et al.*, 2001). Tais mudanças estão relacionadas às

variações das dimensões de partes específicas do corpo, tais como: comprimento da cabeça; tronco; cauda, boca entre outros, pelos quais levam a um padrão de crescimento alométrico, onde existe diferenciação no desenvolvimento das partes corporais, ou isométrico, onde o crescimento de todas as variáveis corporais tornam-se praticamente igual.

No primeiro estágio (pré-flexão) a cabeça teve um crescimento alométrico negativo que difere dos padrões encontrados em trabalhos realizados com outras espécies, que afirmam que o crescimento alométrico positivo da cabeça é uma característica comum no início da ontogenia de peixes (VAN SNIK *et al.*, 1997; GISBERT, 1999; GISBERT & BOLKER, 2003; OSSE E VAN DEN BOOGART, 2004). Gisbert & Doroshov (2006) relatam que esta característica da maioria dos peixes é concomitante com o desenvolvimento do cérebro e dos sistemas sensoriais, além dos órgãos respiratórios e de alimentação. Ainda no estágio de pré-flexão o comprimento do tronco apresentou crescimento alométrico positivo, e a altura do corpo teve uma alometria negativa. Já nos próximos estágios a partir do início de flexão esta característica não foi evidente, ou seja, o comprimento do tronco diminuiu em relação a altura do corpo. Isto pode estar relacionado com a formação e desenvolvimento dos órgãos digestórios e digestivos na região do tronco (Dettlaff *et al.*, 1993), ou provavelmente pode ter relação com a morfologia desta espécie, que apresentam um formato corporal arredondado (SHIBATA *et al.*, 2006).

Já o aumento significativo da cauda no estágio de pré-flexão pode estar associado com as funções locomotoras e de natação da espécie. Peña e Dumas (2009) e Fuiman (1983) também constataram para outras espécies de peixes que o crescimento da cauda provavelmente está relacionado ao aumento da capacidade de alimentação e natação das mesmas nesta fase. O autor ainda afirma que a capacidade de natação precoce é uma vantagem para estas formas de motilidade, diminuindo então a sua vulnerabilidade à predadores bem como a habilidade ao ataque de presas, o que garante a sua sobrevivência.

O crescimento das larvas de *P. mesopotanicus* tendeu a isometria somente a partir do estágio de início de pós-flexão, o que indica uma mudança nas prioridades de crescimento. Este mesmo resultado também foi constatado por Peña & Dumas (2009) para larvas de *Paralabrax maculatofasciatus*, Fuiman (1983) para larvas de *Catostomidae-Catostomus commersoni*, *C. latipinnis* *Cyprinidae-Couesius plumbeus*; *Osmeridae-Osmerus mordax*; *Percidae-Percina caprodes*, e Gisbert & Doroshov

(2006) para larvas de Esturjão verde (*Acipenser medirostris*) no qual relatam, que tendo sido cumpridas todas as prioridades de crescimento é possível verificar uma tendência à isometria que prevalece a partir desta fase, preparando as larvas para o período juvenil e posteriormente para o adulto.

O desenvolvimento constitui em uma sequência longa de etapas estáveis que são interrompidas por uma rápida alteração no seu desenvolvimento, caracterizando uma fase de metamorfose larval (Balon, 1984). Estas alterações vêm de relações de variáveis corporais que podem apresentar um crescimento abrupto, ou seja, um ponto de quebra. Para Kovác *et al.* (1999), este ponto de quebra é considerado significativo se for associado a algum evento morfológico, fisiológico ou de sobrevivência. Para a espécie analisada dos 6 caracteres mensurados (ACA, ACO, DOL, CBO, AMU, APE e CPE) apenas 5 apresentaram ponto de quebra, que só foram evidenciados no estágio de início de pós-flexão exceto o diâmetro do olho que apresentou um crescimento isométrico para quase todos períodos estudados. No entanto, conclui-se que após o ponto de quebra ocorreu uma mudança significativa do crescimento no final do estágio de desenvolvimento. Resultados semelhantes foram encontrados por BIALETZKI *et al.*, (2008) que estudou *Hoplias aff. Malabaricus* e TAGUTI *et al.*, (2009) que estudou o desenvolvimento de larvas de *Pyrrhulina australis*.

Durante a realização desse estudo, ficou evidente um crescimento alométrico no início dos estágios de desenvolvimento de *Piaractus mesopotamicus*, o que demonstra mudanças nas prioridades ontogenéticas das larvas para as capacidades de alimentação, respiração e natação, porém, uma tendência a isometria foi observada a partir do estágio de flexão, onde ocorreram alterações nas prioridades de crescimento, principalmente as relacionadas com a altura do corpo, sendo essa, uma característica morfológica importante para a espécie, esses resultados confirmam a hipótese da existência de padrões diferenciados de crescimento para determinadas funções prioritárias durante a ontogenia de larvas de peixes.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agostinho, A. A., L. C. Gomes., H. I. Suzuki & H. F. Júlio Jr. 2003 Migratory fishes of the Upper Paraná River Basin Brazil, in: Carolsfeld, J., B. Harvey, C. Ross & A. Baer (Eds.), Migratory fishes of South America: Biology, Fisheries and Conservation Status. Vitoria, World Bank, pp. 19-89.

Ahlstrom, E.H., Moser H.G.,1976. Eggs and larvae of fishes and their role inasystematic investigations and in fisheries. Revue des Travaux de L'institut des Peches Maritimes. 40, 285-402.

Baldisserotto, B., 2002. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura, ed. UFSM. Santa Maria, RS.

Balon, E.K., 1984. Reflections on some decisive events in the early life of fishes, in: Taylor & Francis (Eds.), Transactions of the American Fisheries Society. pp 178–185.

Beerli, E.L., Logato, P.V.R., Freitas, R.T.F., 2004. Alimentação e comportamento de larvas de pacu, *Piaractus mesopotamcus* (Holmberg, 1887). Ciência e agrotecnologia, 28, 149-155.

Bialetzki, A., Baumgartner, G., Sanches P.V., Galuch, A.V., Luvisuto, M.A., Nakatani K., Cavicchioli-Makrakis, M., Borges, M.E.E., 2001. Caracterização do desenvolvimento inicial de *Auchenipterus osteomystax* (Osteichthyes, Auchenipteridae) da bacia do rio Paraná, Brasil. Acta. Sci. Biol. Sci. 23, 377-382.

Bialetzki, A., Nakatani, K., Baumgartner, G., Bond-buckup, G., 1997. Occurrence of *Macrobrachium amazonicum* (Heller) (Decapoda, Palaemonidae) in Leopoldo's inlet (Ressaco do Leopoldo), upper Paraná river, Porto Rico, Paraná, Brazil. Rev. Bras. Zool.14, 379-390.

Blaxter, J. H. S. 1988. Pattern and variety in Development, in: Hoar, W. S. & Randall, D. J. (Eds.), Fish physiology, ed. Academic Press, San Diego, pp.1-48.

Bolker, J.A., 2003. Ecological developmental biology: preface to the symposium. *Evol. Dev.*, 5, 3-8.

Britski, H. A., Silimon, K. Z. S., Lopes, B.S., 2007. Peixes do Pantanal: Manual de Identificação, ed. Embrapa, Brasília.

Burnham-Curtis, M. K. 1993. Intralacustrine speciation of *Salvelinus namaycush* in Lake Superior: an investigation of genetic and morphological variation and evolution of lake trout in the Laurentian Great Lakes. Tese de Doutorado. Ann Arbor, University of Michigan, pp 285.

Castagnolli, N., Cyrino, J. E. P., 1986. Piscicultura nos trópicos, ed. Manole, São Paulo.

Dettlaff, T.A., Ginsburg, A.S., Schmalhausen, O.I., 1993. Sturgeon fishes: developmental biology and aquaculture, ed. Springer-Verlag, Berlin.

Fuiman, L.A., 1983. Growth gradients in fish larvae. *J. Fish Biol.*, 23, 117-123.

Gilbert, S.F., Bolker, J.A., 2003: Ecological developmental biology: preface to the symposium. *Evol. Dev.* 5, 3-8.

Godoy, M. P., 1975. Peixes do Brasil, sub-ordem Characoidei da Bacia do Rio Mogi Guassú, ed. Franciscana, Piracicaba.

Gisbert, E. & Doroshov, S. I., 2006. Allometric growth in green sturgeon larvae. *Journal of Applied Ichthyology*, 22, 202-207.

Gisbert, E., Merino, G., Muguet, J.B., Bush, D., Piedrahita, R.H., Conklin, D.E., 2002. Morphological development and growth patterns in hatchery-reared California halibut larvae. *Journal of Fish Biology*, 61, 1217-1229.

Gisbert, E., 1999. Early development and allometric growth patterns in Siberian sturgeon and their ecological significance. *J. Fish Biol.*, 54, 852-862.

Hahn, N. S., Fugi, R., Andrian, I. F., 2004. Trophic ecology of fish assemblages, in: The Upper Paraná River Floodplain: physical aspects, ecology, and conservation. S.M. Thomaz, A.A. Agostinho, N.M. Hahn (Eds), Bachuys Publishers, Leiden, pp 247-269.

Hempel, G., 1973 On the use of ichthyoplankton surveys. FAO Fisheries Technical Paper Rome, Stockholm, 122, 1-2.

Gauch Jr. H. G. 1986. Multivariate analysis in community ecology, ed. Cambridge University Press. Cambridge, Australia.

Godinho, H. P.; Godinho, A. L., 1986. Induced spawning of the pacu, *Colossoma mitrei*, by hypophysation with crude carp pituitary. *Aquaculture*, 55, 69-72.

HUET, M., 1978. Tratado de Piscicultura, 2ª Ed. Revisada, Ediciones Madri, ed. Mundi-Prensa, Espanha.

Jackson, D.A., 1993. Stopping rules in principal component analysis: a comparison of heuristical and statistical approaches. *Ecology*, 74, 2204–2214.

LASKER, R., Feder, H.M., Theilacker, G.H., May R.C., 1970 Feeding, growth and survival of *Engraulis mordax* larvae reared in the laboratory. *Marine. Biology*, 5, 345-353.

Kamler, E., 1992. Early life history of fish: an energetics approach, ed. Chapman e Hall, London.

Kováč, V., Copp, G.H. & Francis, M.P. 1999. Morphometry of the stone loach, *Barbatula barbatula*: do mensural characters reflect the species life history thresholds? *Environ. Biol. Fish.* 56,105-115.

Lima, R. V. A., 1991. Tecidos germinativos e ciclo reprodutivo de pacus *Piaractus mesopotamicus* mantidos em cativeiros. *Boletim Técnico CEPTA*, 4, 1-46.

Lopera-barrero, N. M., Povh, J. A., Ribeiro, R. P., Gomes, P.C., Jacometo, C.B., Lopes, T.S., 2008. Comparación de protocolos de extracción de ADN con muestras de aleta y larva de peces: extracción modificada com sal (NaCl). *Ciencia e Investigación Agrária*, 35,15-24.

Makrakis, M. C, Miranda, L. E, Makrakis, S, Xavier, A. M. M, Junior, H. M. F, Morlis, W. G., 2007. Migratory movements of pacu, *Piaractus mesopotamicus*, in the highly impounded Parana River. *Journal Applied of Ichthyology*, 23, 700–704.

Matkovic, M., Cussac V., Cukier, M., Guerrero, G., Maggese, M., 1985. Desarrollo embrionario de *Rhamdia sapo* (Valenciennes, 1840) Eigenmann y Eigenmann, 1888 (Pisces, Pimelodidae) I. Segmentación, morfogénesis y organogénesis temprana. *Revista Brasileira de Biología*, 45, 39-50.

Monteiro, L.R.M., Reis, S.F.,1999. *Princípios de morfometria geométrica*, ed. Holos, Ribeirão Preto, São Paulo.

Nakatani, K.; Agostinho, A. A.; Bialezki, A.; Baumgartner, G.; Sanches, P. V.; Makrakis, M.; Pavanelli, C. S., 2001. *Ovos e larvas de peixes de água doce: Desenvolvimento manual de identificação de ovos e larvas de peixes brasileiros de água doce*. Ed. EDUEM, v.1, p.378, 2001.

Osse, J.W., van den Boogaart, J.G.M., van Snik, G.M.J and van der Sluys, L., 1997. Priorities during early growth of fish larvae. *Aquaculture*, 155, 249-258.

Osse, J.W. and van den Boogaart, J.G.M., 2004. Allometric growth in Fish Larvae: Timing and Function. In: Govoni, J.J. (ed.), *The Development of Form and Function in Fishes and the Question of Larval Adaptation*, American Fisheries Society, Symposium 40, Bethesda, pp. 167-194.

Oliveira, F.G, Bialezki, A., Gomes, L.C., Santin, M., Taguti, T.L., 2012. Desenvolvimento larval de *Brycon hilarii* (Characiformes, Characidae). *Iheringia, Série Zoologia*, 102, 62-70.

Peña, R., Dumas, S. and Rodríguez-Jaramillo, C, 2009. Development and distribution of intestinal enzymatic activity in *Paralabrax maculatofasciatus* (Steindachner, 1868) larvae fed live prey. *Aquacult. Res.* 40, 218-224.

Pinto, M., Castagnolli, N., 1983. Desenvolvimento inicial do pacu *Colossoma mitrei*, in Simpósio Brasileiro de Aquicultura, n.4., São Carlos. Anais. São Carlos: UFSCar, p. 523-535, 1984.

Resende, E.K. Migratory fishes of the Paraguay-Paraná Basin Excluding the Upper Paraná River, in: J. Carolsfeld, B. Harvey, C. Ross, A. Baers (eds), *Migratory fishes of South America: biology, fisheries and conservation states*. World Bank, Victoria, pp 99-155.

Romagosa, E., Paiva, P., Godinho, H.M., Storfer, E.B., 1988. Desenvolvimento dos ovócitos de *Piaractus mesopotamicus* e *Colossoma mitrei* em condições de cultivo intenso. *Ciência e Cultura*, 40, 60-64.

Santos, J.E.; Godinho, H.P. 1996. Ontogênese e comportamento natatório das larvas do pacu, *Piaractus mesopotamicus* mantidas experimentalmente em três regimes de fotoperíodo. *BIOS*, 4, 11-16.

Sipaúba-Tavares, L.H., Braga, F.M.S., 1999. Study on feeding habits of *Piaractus mesopotamicus* (pacu) larvae in fish ponds. *Naga: The Iclarm Quartely*, Yaounde, 22, p. 24-29.

Santin, M., Bialezki, A., Nakatani, K., 2004. Mudanças ontogênicas no trato digestório e na dieta de *Apareiodon affinis* (Steindachner, 1879) (Osteichthyes, Parodontidae). *Acta Scientiarum*, 26, 291-298.

Smith, W.S., Espindola, E.L.G., Petrere, M. Jr., Rocha, O., 2003. Fishing modification due dam, pollution and introduction fish species in the Tiete River, *Monograph Collation*, SP, Brazil, 494p.

Strauss, R.E., 1985. Evolutionary allometry and variation in body the south american catfish genus *Corydoras*. *Systematic zoology*, 34, p.381-96, 1985.

Simonovic, P.D., Garner, P., Eastwood, E.A., Kovac, V., Copp, G.H. 1999. Correspondence between ontogenetic shifts in morphology and habitat use in minnow *Phoxinus phoxinus*. *Environ. Biol. Fish.* 56, 117–128.

Seixas Filho, J.T., Brás, J.M., Gomide, A.T.M., Oliveira, M.G.A., Donzele, J.L., Menin, E., 2000. Anatomia Funcional e Morfometria dos Intestinos e dos Cecos Pilóricos do Teleostei (Pisces) de Água Doce *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 29, 313-324.

Shibatta, O.A.; Dias, J.H.P. 2006. 40 peixes do Brasil: CESP 40 anos, ed. Doiis, Rio de Janeiro.

Taguti, T.L., Kipper, D., Bialetzki, A., Sanches, P.V., Makrakis, M.C., Baumgartner, G., Fernandes, R., 2009. Desenvolvimento inicial de *Pyrrhulina australis* Eigenmann & Kennedy, 1903 (Characiformes, Lebiasinidae). *Biota Neotrop.*, 9, 59-65.

Tesser, M.B., Portella, M.C., 2006. Ingestão de ração e comportamento de larvas de pacu em resposta a estímulos químicos e visuais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35, 1887-1892.

Van Snik, G.M.J., van den Boogaart, J.G.M , Osse, J.W.M., 1997. Larval growth patterns in *Cyprinus carpio* and *Clarias gariepinus* with attention to the fanfold. *J. Fish Biol.*, 50, 1339-1352.

Webb, P.W.; Weihs, D., 1986. Functional locomotor morphology of early life history stages of fishes. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 115, 115-127.

## **ANEXO I**

### **Periódico *Aquaculture***

**Site:** <http://www.sciencedirect.com/science/journal/00448486>

**ISSN:** 0044-8486/ **Fator de impacto:** 1.678

## **Norma**

### **Use of wordprocessing software**

It is important that the file be saved in the native format of the wordprocessor 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 wordprocessor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. Do not embed "graphically designed" equations or tables, but prepare these using the wordprocessor's facility. 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>). Do not import the figures into the text file but, instead, indicate their approximate locations directly in the electronic text and on the manuscript. See also the section on Electronic illustrations. To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the "spell-check" and "grammar-check" functions of your wordprocessor.

## **LaTeX**

If the LaTeX file is suitable, proofs will be produced without rekeying the text. The article should preferably be written using Elsevier's document class "elsarticle", or alternatively the standard document class "article". The Elsevier LaTeX style file package (including detailed instructions for LaTeX preparation) can be obtained from the Quickguide: <http://www.elsevier.com/latex>. It consists of the file: elsarticle.cls, complete user documentation for the class file, bibliographic style files in various styles, and template files for a quick start.

## **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.

### ***Vitae***

Include in the manuscript a short (maximum 100 words) biography of each author, along with a passport-type photograph accompanying the other figures.

### **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.** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. 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 telephone and fax numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address.**
- **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. The abstract should be not longer than 400 words.

### **Keywords**

Immediately after the abstract, provide a maximum of 4-6 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.).

### **Nomenclature and units**

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other quantities are mentioned, give their equivalent in SI. You are urged to consult IUPAC: Nomenclature of Organic Chemistry: <http://www.iupac.org/> for further information.

1. Authors and editors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the International Code of Botanical Nomenclature, the International Code of Nomenclature of Bacteria, and the International Code of Zoological Nomenclature.
2. All biota (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals.
3. All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified.

4. For chemical nomenclature, the conventions of the International Union of Pure and Applied Chemistry and the official recommendations of the IUPAC IUB Combined Commission on Biochemical Nomenclature should be followed.

### **Accession numbers**

Accession numbers are unique identifiers in bioinformatics allocated to nucleotide and protein sequences to allow tracking of different versions of that sequence record and the associated sequence in a data repository [e.g., databases at the National Center for Biotechnical Information (NCBI) at the National Library of Medicine ('GenBank') and the Worldwide Protein Data Bank]. There are different types of accession numbers in use based on the type of sequence cited, each of which uses a different coding. Authors should explicitly mention the *type of accession number together with the actual number*, bearing in mind that an error in a letter or number can result in a dead link in the online version of the article. Please use the following format: accession number type ID: xxxx (e.g., MMDB ID: 12345; PDB ID: 1TUP). Note that in the final version of the *electronic copy*, accession numbers will be linked to the appropriate database, enabling readers to go directly to that source from the article. DNA sequences and GenBank Accession numbers. Many Elsevier journals cite "gene accession numbers" in their running text and footnotes. Gene accession numbers refer to genes or DNA sequences about which further information can be found in the databases at the National Center for Biotechnical Information (NCBI) at the National Library of Medicine. Authors are encouraged to check accession numbers used very carefully. **An error in a letter or number can result in a dead link.** Note that in the final version of the electronic copy, the accession number text will be linked to the appropriate source in the NCBI databases enabling readers to go directly to that source from the article.

Example 1: "GenBank accession nos. **AI631510**, **AI631511**, **AI632198**, and **BF223228**, a Bcell tumor from a chronic lymphatic leukemia (GenBank accession no. BE675048), and a Tcell lymphoma (GenBank accession no. **AA361117**)". Authors are encouraged to check accession numbers used very carefully. An error in a letter or number can result in a dead link.

In the final version of the printed article, the accession number text will not appear bold or underlined (see Example 2 below).

Example 2: "GenBank accession nos. A1631510, A1631511, A1632198, and BF223228), a Bcell tumor from a chronic lymphatic leukemia (GenBank accession no. BE675048), and a Tcell lymphoma (GenBank accession no. AA361117)". In the final version of the electronic copy, the accession number text will be linked to the appropriate source in the NCBI databases enabling readers to go directly to that source from the article (see Example 3 below).

Example 3: "GenBank accession nos. A1631510, A1631511, A1632198, and BF223228), a Bcell tumor from a chronic lymphatic leukemia (GenBank accession no. BE675048), and a Tcell lymphoma (GenBank accession no. AA361117)".

### **Math formulae**

Present simple formulae in the line of 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).

Give the meaning of all symbols immediately after the equation in which they are first used. In chemical formulae, valence of ions should be given as, e.g. Ca<sub>2+</sub> and not Ca<sup>++</sup>. Isotope numbers should precede the symbols, e.g., <sup>18</sup>O. The repeated writing of chemical formulae in the text is to be avoided where reasonably possible; instead, the name of the compound should be given in full. Exceptions may be made in the case of a very long name occurring very frequently or in the case of a compound being described as the end product of a gravimetric determination (e.g., phosphate as P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>).

### **Footnotes**

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article, using superscript Arabic numbers. Many wordprocessors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list. *Table footnotes* Indicate each footnote in a table with a superscript lowercase letter.

### **Artwork**

## ***Electronic artwork***

### *General points*

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Save text in illustrations as "graphics" or enclose the font.
- Only use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times, Symbol.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Produce images near to the desired size of the printed version.
- Submit each figure 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*

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalised, 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: Vector drawings. Embed the font or save the text as "graphics".

TIFF: color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi.

TIFF: Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF: Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required.

DOC, XLS or PPT: If your electronic artwork is created in any of these Microsoft Office applications please supply "as is".

**Please do not:**

- Supply embedded graphics in your wordprocessor (spreadsheet, presentation) document;
- Supply files that are optimised for screen use (like GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low;
- 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, EPS 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 on the Web (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 on the Web only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Please note: Because of technical complications which 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.

### ***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.

### ***Text graphics***

Present incidental graphics not suitable for mention as figures, plates or schemes at the end of the article and number them "Graphic 1", etc. Their precise position in the text can then be indicated. See further under Electronic artwork. Ensure that high-

resolution graphics files are provided, even if the graphic appears as part of your normal wordprocessed text file.

## **Tables**

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

## **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.

### ***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 management software***

This journal has standard templates available in key reference management packages EndNote (<http://www.endnote.com>) and Reference Manager

(<http://www.refman.com>). Using plugins to wordprocessing packages, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article and the list of references and citations to these will be formatted according to the journal style which is described below.

### **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. 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*. EPublishing Inc., New York, pp. 281-304.

### **Journal Abbreviations Source**

Define abbreviations that are not standard in this field at their first occurrence in the article: in the abstract but also in the main text after it. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

### **Supplementary and multimedia data**

Elsevier accepts electronic supplementary and multimedia data to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional

possibilities to publish supporting applications, movies, animation sequences, 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 ensure that data are provided 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. Video files: please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your supplementary information. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

### **Submission checklist**

It is hoped that this list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal's Editor for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

#### **Ensure that the following items are present:**

One Author designated as corresponding Author:

- E-mail address
- Full postal address
- Telephone and fax numbers All necessary files have been uploaded
- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes) Further considerations
- Manuscript has been "spellchecked" 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 Web)

- Color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print
- If only color on the Web is required, black and white versions of the figures are also supplied for printing purposes For any further information please visit our customer support site at <http://epsupport.elsevier.com>.

### ***Policy Statement of the Disease Section***

Please read. Does your manuscript comply with the Policy Statement of the Disease Section? In keeping with the scope of the journal, the Disease Section welcomes high quality research papers presenting novel data as well as original reviews, on various aspect of the diseases of aquatic animals and plants, so long as their content is relevant to solving aquaculture problems.

Please note, however, with respect to the probiotic potential of various bacteria and the antibacterial or immunostimulatory effects of herbal extracts a very large number of papers have already been published. As a result, Aquaculture will not continue to accept manuscripts that present further initial and preliminary investigations of these phenomena. Manuscripts addressing these topics will be accepted for review only if they are of the highest scientific quality and they represent a significant advance in our knowledge of the mechanisms

involved. Manuscripts may also be considered if they present clinical efficacy data generated in large-scale trials and economic cost-benefit analysis of these applications.